使用に際してはこの添付文書をよくお読みください。
また、必要な時に読めるように保管しておいてください。

Ｑ２Ａ０４Ｔ

体外診断用医薬品

製造販売承認番号：22400AMX00672000

**2019年 4月改訂（第3版）
*2017年11月改訂（第2版）

抗デスモグレイン抗体キット
抗表皮基底膜部抗体キット

抗表皮自己抗体検出キット「ＦＲ」

■重要な基本的注意

後天性表皮水疱症の患者血清においては抗表皮基底膜部抗体が産生されているため、本試薬では水疱性類天疱瘡患者血清と類似の蛍光像が基底膜部に検出されます。そのため、本試薬では水疱性類天疱瘡と後天性表皮水疱症との鑑別をすることはできません。
水疱性類天疱瘡と後天性表皮水疱症の最終的な鑑別法としては、1mol/L食塩水処理によって表皮と真皮を分離したヒト正常皮膚切片を基質とした蛍光抗体間接法があります。水疱性類天疱瘡血清は表皮側と反応し、後天性表皮水疱症血清は真皮側と反応することで鑑別ができます。

■全般的な注意

1. 本試薬は体外診断用のみに使用し、それ以外の目的に使用しないでください。
2. 添付文書に記載された方法に従って使用してください。記載された操作法および使用目的以外での使用については、検査結果の信頼性を保証いたしかねます。
3. 本試薬による検査結果は、臨床症状や他の検査結果と併せて総合的に判断し、臨床診断するための補助にしてください。
4. 使用する機器・器具等の取扱説明書をよく読んでから使用してください。
5. 本試薬および検体は感染の危険があるものとして十分注意して取り扱ってください。
6. 蛍光色素標識抗体、検体希釈液、リン酸緩衝液、およびグリセロール溶液にはアジ化ナトリウムが含まれています。誤って試薬が目や口に入った場合には、水で十分洗い流す等の応急処置を行い、必要であれば医師の手当て等を受けてください。

■形状、構造等（キットの構成）

内容	包装
1. 抗原スライド ウサギ食道組織切片(5切片/スライド)	2スライド×2袋
2. 蛍光色素標識抗体 FITC標識抗ヒトIgGヤギポリクローナル抗体	20μL×1本
3. 検体希釈液	10mL×4本
4. リン酸緩衝液	500mL×1本
5. グリセロール溶液	5mL×1本

■使用目的

血清中の抗デスモグレイン1抗体および抗デスモグレイン3抗体の検出または測定(天疱瘡の診断の補助)、血清中の抗表皮基底膜部抗体(主に抗BP180抗体)の検出または測定(水疱性類天疱瘡の診断の補助)

■測定原理

本試薬は、間接蛍光抗体法(IF法)を利用して血清中の抗デスモグレイン抗体(抗デスモグレイン1抗体および抗デスモグレイン3抗体)、抗表皮基底膜部抗体(主に抗BP180抗体)を検出または測定する試薬です。

スライド上のウサギ食道組織切片の表皮細胞間に存在するデスモグレイン、基底膜部に存在するBP180等の抗原と、ヒト血清中の抗デスモグレイン抗体または抗表皮基底膜部抗体を抗原抗体反応により結合させます。次いでFluorescein isothiocyanate（FITC）標識抗ヒトIgGヤギポリクローナル抗体を抗デスモグレイン抗体または抗表皮基底膜部抗体に結合させ、蛍光顕微鏡で観察します。

ヒト血清中に抗デスモグレイン抗体が存在すると、ウサギ食道上皮組織の表皮細胞間に特異的な網目状の蛍光が観察され、抗デスモグレイン抗体の検出または測定を行うことができます。また、ヒト血清中に抗表皮基底膜部抗体が存在すると、ウサギ食道組織切片の基底膜部に沿って特異的な線状の蛍光が観察され、抗表皮基底膜部抗体の検出または測定を行うことができます。

■操作上の注意

1. **測定試料の性質、採取法**
(1) 検体はできるだけ新鮮なものを使用してください。
(2) 高脂血清や溶血した検体の使用は避けてください。
(3) 検体に濁りがある場合は、測定前に再度遠心分離し除去してください。
(4) 検体相互の汚染による判定誤差を防止するため、検体毎にピペットのチップを交換してください。
(5) 希釈した検体は、当日中に使用してください。
(6) 検体中には、非特異反応を起こす物質が含まれていることがあり、検鏡時に非特異蛍光が観察されることがあります。その場合、検体を希釈して測定すると非特異反応が低減される場合があります。
(7) 検体中に自己抗体である抗核抗体価が高い場合には、抗デスモグレイン抗体を検出できない場合があります。

2. **妨害物質・妨害薬剤**
血清検体を用いて、妨害物質の影響を確認したところ、溶血ヘモグロビン476mg/dL、抱合型ビリルビン6.48mg/dL、非抱合型ビリルビン5.88mg/dL、乳び1,410ホルマジン濁度まで結果に影響を与えませんでした。

■用法・用量（操作方法）

1. **試薬の調製**

(1) 抗原スライド
抗原スライドは常温(15～25℃)に戻し、そのまま用います。
(2) 蛍光色素標識抗体
調製したリン酸緩衝液で250倍に希釈して使用します。
(3) 検体希釈液
検体希釈液は常温(15～25℃)に戻し、そのまま用います。
(4) リン酸緩衝液
精製水で10倍に希釈して使用します。
(5) グリセロール溶液
そのまま用います。

2. **必要な器具・器材・試料等**

(1) 湿潤箱
(2) マイクロピペット(10～200μL)
(3) メスシリンダー
(4) 洗浄槽
(5) カバーガラス
(6) 蛍光顕微鏡
(7) 染色カゴ
(8) 洗瓶

3. **測定（操作）法**

(1) 検体の希釈
検体を検体希釈液で20倍に希釈します。なお定量する場合は、さらに検体を2倍連続希釈して目的の希釈倍数まで調製します。
(2) 一次反応
・20倍希釈した検体50μLを抗原スライド上のウェルに滴下します。
・スライドを湿潤箱に移し、37℃で30分間反応させます。
(3) 洗浄
・スライドを湿潤箱から取り出し、洗瓶などを使用してリン酸緩衝液で未反応の検体を静かに洗い流します。
・スライドを染色カゴに立て、予めリン酸緩衝液を入れた洗浄槽に5分間浸し、洗浄槽から取り出す直前に軽く振とうします。
・この洗浄操作を3回繰り返し行った後、スライドを取出し、軽く振って水切りします。スライドの付着水をペーパータオルなどの上で軽くたたいて除いた後、速やかに次のステップに進んでください。
(4) 二次反応
蛍光色素標識抗体50μLをスライド上のウェルに滴下し、再び湿潤箱に移し、37℃で30分間反応させます。この際、過剰の光が当たらないようにしてください。
(5) 洗浄
(3)と同様の洗浄操作を行います。
(6) マウントおよび検鏡
各ウェルにグリセロール溶液2～3滴を滴下してマウントし、カバーガラスを静かに載せ、蛍光顕微鏡(200倍が適当)で観察します。検鏡はマウント後ただちに行うか、止むを得ない場合には遮光して冷所(2～8℃)に保存して、24時間以内に観察してください。

■測定結果の判定法

1. **判定法**
(1) 陰性の判定
20倍希釈で、抗原スライドウェルのウサギ食道組織切片上の重層扁平上皮細胞の広範囲にわたり、細胞間に網目状の特異蛍光を認めなければ、抗デスモグレイン抗体陰性と判定します。また、ウサギ食道組織切片上の基底膜部に沿って線状の特異蛍光を認めなければ、抗表皮基底膜部抗体陰性と判定します。
(2) 陽性の判定
20倍希釈で、抗原スライドウェルのウサギ食道組織切片上の重層扁平

上皮細胞の広範囲にわたり、細胞間に網目状の特異蛍光を認めるとき、抗デスモグレイン抗体陽性と判定します。また、ウサギ食道組織切片上の基底膜部に沿って線状の特異蛍光を認めるとき、抗表皮基底膜部抗体陽性と判定します。抗体価は検体希釈倍数をもって抗体価とします。

(3) 参考正常値
抗デスモグレイン抗体(抗デスモグレイン1抗体および抗デスモグレイン3抗体)：陰性
抗表皮基底膜部抗体(主に抗BP180抗体)：陰性

2. **判定上の注意**
重層扁平上皮細胞の細胞間以外に認められる蛍光や、全体的に一様な蛍光が認められる場合は、非特異蛍光の可能性があります。また、後天性表皮水疱症の患者血清では、水疱性類天疱瘡患者血清と類似の蛍光像が基底膜部に検出されます。

■性能

1. **性能試験**

（感度試験）管理用試料を測定するとき、その抗体価は既知抗体価の1管差内にあります。
（正確性試験）既知判定の陽性および陰性検体を測定するとき、既知判定と同じ陽性または陰性の結果を示します。
（同時再現性試験）同一検体を5回同時に測定するとき、その抗体価は最頻値の1管差内にあります。

2. **測定範囲**

希釈倍数による測定下限は20倍です。高値検体については、必要なだけ希釈倍数を上げることで蛍光を観察する最終希釈倍数を半定量できます。

3. **相関性試験**

(1) **厚生省特定疾患調査研究班による天疱瘡抗体価測定標準法との相関性を(表1)に示しました。**

(表1)天疱瘡抗体価測定標準法との相関性

		天疱瘡抗体価 測定標準法		合計
		陽性	陰性	
本試薬	陽性	13	0	13
	陰性	1(1)	25	26
合計		14	25	39

n＝39例
陽性一致率92.85%（13例/14例）
陰性一致率100.0%（25例/25例）
全体一致率97.4%（38例/39例）

(1) 不一致例1例(本試薬陰性、標準法陽性)の診断名は尋常性天疱瘡でした。

*(2) **酵素免疫測定法(ELISA法)による抗デスモグレイン1抗体および抗デスモグレイン3抗体との相関性を(表2)に示しました。**

(表2)酵素免疫測定法(ELISA法)
抗デスモグレイン1および3抗体との相関性

		対照品(ELISA法)			合計
		陽性	判定保留	陰性	
本試薬	陽性	33	0	1 (2)	34
	陰性	14(1)	6 (3)	46	66
合計		47	6	47	100

n＝100例
陽性一致率70.2%（33例/47例）
陰性一致率97.9%（46例/47例）
全体一致率84.0%（79例/94例）

(1) 不一致例14例(本試薬：陰性、対照品：陽性)の診断名は、3例が尋常性天疱瘡、2例が後天性表皮水疱症、各1例が、(優勢)栄養障害型表皮水疱症、外傷性口内潰瘍、元瘢痕性類天疱瘡、水疱性天疱瘡、線状IgA水疱性皮膚炎、全身性エリテマトーデス（SLE)、多形滲出性紅斑（EEM）、類似性自己免疫疾患、劣勢栄養障害型表皮水疱症でした。

(2) 不一致例1例(本試薬：陽性、対照品：陰性)の診断名は、水疱性天疱瘡でした。

(3) 対照品(ELISA法)での判定保留検体6例の診断名は、4例が水疱性類天疱瘡、1例が全身性強皮症、1例が中毒疹でした。

(3) **酵素免疫測定法(ELISA法)による抗BP180抗体との相関性を(表3)に示しました。**

(表3)酵素免疫測定法(ELISA法)抗BP180抗体との相関性

		対照品(ELISA法)		合計
		陽性	陰性	
本試薬	陽性	24	9(1)	33
	陰性	6(2)	61	67
合計		30	70	100

n＝100例
陽性一致率80.0%（24例/30例）
陰性一致率87.1%（61例/70例）
全体一致率85.0%（85例/100例）

(1) 不一致例9例(本試薬：陽性、対照品：陰性)の診断名は、5例が水疱性類天疱瘡、3例が後天性表皮水疱症、1例が悪性関節リウマチでした。

(2) 不一致例6例(本試薬：陰性、対照品：陽性)の診断名は、5例が水疱性類天疱瘡、1例が尋常性天疱瘡でした。

(4) **天疱瘡における確定診断との関係は、(表4)のとおりでした。**

(表4)天疱瘡における確定診断との関係

		確定診断		合計
		天疱瘡	非天疱瘡	
本試薬	陽性	33	1(1)	34
	陰性	3(2)	63	66
合計		36	64	100

n＝100例
感度　91.7%（33例/36例）
特異度98.4%（63例/64例）

(1) 不一致例1例(確定診断：非天疱瘡、本試薬：陽性)の診断名は、水疱性類天疱瘡でした。

(2) 不一致例3例(確定診断：天疱瘡、本試薬：陰性)の診断名は尋常性天疱瘡でした。

(5) **水疱性類天疱瘡における確定診断との関係は(表5)のとおりでした。**

(表5)水疱性類天疱瘡における確定診断との関係

		確定診断		合計
		水疱性類天疱瘡	非水疱性類天疱瘡	
本試薬	陽性	27	6(1)	33
	陰性	5(2)	62	67
合計		32	68	100

n＝100例
感度　84.4%（27例/32例）
特異度91.2%（62例/68例）

(1) 不一致例6例(確定診断：非水疱性類天疱瘡、本試薬：陽性)のうち5例は後天性表皮水疱症であり、1例は悪性関節リウマチでした。

(2) 不一致例5例(確定診断：水疱性類天疱瘡、本試薬：陰性)は、全例水疱性類天疱瘡でした。

4. **較正用基準物質**

製造元製基準物質

■使用上または取扱い上の注意

1. **取扱い上（危険防止）の注意**

(1) 操作中は、保護具（ゴム手袋、マスク、保護メガネ等）を着用してください。
(2) 検体は、HIV、HBV、HCV等の病原微生物の感染のおそれがあるものとして取り扱い、検査にあたっては、保護具を着用するなど、適切な予防措置のもと慎重に取り扱ってください。
(3) 誤って試薬が目や口に入った場合、皮膚に付着した場合は、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当てを受けてください。
(4) 口によるピペッティングを行わないでください。
(5) 蛍光色素標識抗体、検体希釈液、リン酸緩衝液およびグリセロール溶液は、保存剤としてアジ化ナトリウムを含んでいます。使用に際しては、試薬が皮膚に付着したり、口や目に入らないように注意してください。

2. **使用上の注意**

(1) 試薬は調製後、ただちに使用してください。
(2) 常温(15～25℃)に戻した抗原スライドと検体希釈液は、当日中に使用してください。
(3) 使用濃度に希釈した蛍光色素標識抗体は、冷暗所(2～8℃)に保存し、1週間以内に使用してください。

(4) リン酸緩衝液は、冷蔵保存において結晶が析出する場合があります。結晶がみとめられた場合に常温(15～25℃)に戻し、よく撹拌し溶解してから使用してください。
(5) 操作は速やかに行い、速やかに次の操作に進んでください。
(6) 各反応は、必ず湿潤箱中で行い、試験中は抗原スライドの乾燥を避けてください。
(7) 蛍光顕微鏡による観察は、標本のマウント後速やかに行ってください。操作上やむをえない場合には、冷暗所(2～8℃)に保存し、24時間以内に検鏡してください。
(8) ロットの異なるキットの構成試薬を組み合わせて使用しないでください。また、同一製造番号の試薬であっても試薬の注ぎ足しはしないでください。
(9) 各構成試薬の貯法に従い保管してください。
(10) 使用期限の過ぎたキットは使用しないでください。

3. **廃棄上の注意**

(1) 検体に接触した器具・試薬および試薬容器等は、感染の危険があるものとし、オートクレーブ(121℃、20分以上)で滅菌処理するか、または次亜塩素酸の消毒液(0.1%以上)に1時間以上浸して処理してください。
(2) 本試薬の蛍光色素標識抗体、検体希釈液、リン酸緩衝液およびグリセロール溶液は、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管などと反応して爆発性の化合物を生成する可能性がありますので、未使用の試薬を廃棄する場合には、十分量の水で洗い流してください。
(3) 検査に使用した試薬・器具等を廃棄する場合には、廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物、産業廃棄物または感染性廃棄物として処理してください。
(4) 廃液の廃棄にあたっては、水質汚濁防止法などの規制に従って、医療廃棄物または産業廃棄物等区別して処理してください。
(5) 検体などが飛び散った場合には、次亜塩素酸などの消毒液を用いてよく拭き取ってください。拭き取りに使用したものは感染性廃棄物として処理してください。

■貯蔵方法、有効期間

1. **貯蔵方法**
(1) 抗原スライド　　－18℃以下
(2) 蛍光色素標識抗体　2～8℃
(3) 検体希釈液　　－18℃以下
(4) リン酸緩衝液　　2～8℃
(5) グリセロール溶液　2～8℃
2. **有効期間**
製造後6ヵ月（使用期限については、外箱の表示をご参照ください。）

■包装単位

20回用

**■主要文献

1. Beutner EH, Jordon RE. : Demonstration of skin antibodies in sera of pemphigus vulgaris patients by indirect immunofluorescent staining : Proc Soc Exp Biol Med. 1964 Nov;117:505-10.
2. 小川秀興、森岡眞治、真鍋求他：天疱瘡の診断基準、重症度判定基準および治療指針について：厚生省特定疾患、稀少難治性皮膚疾患調査研究班平成5年度研究報告書,P183-P190.
3. Judd KP, Mescon H. : Comparison of different epithelial substrates useful for indirect immunofluorescence testing of sera from patients with active pemphigus. : J Invest Dermatol. 1979 Jun;72(6):314-6.
4. Ng PP, Thng ST, Mohamed K, Tan SH. : Comparison of desmoglein ELISA and indirect immunofluorescence using two substrates (monkey oesophagus and normal human skin)in the diagnosis of pemphigus. : Australas J Dermatol. 2005 Nov;46(4):239-41.
5. 橋本隆.天疱瘡・類天疱瘡．検査と技術．36：384-389，2008.
6. 天谷雅行、谷川瑛子、清水智子他：天疱瘡診療ガイドライン.日皮会誌120(7) 1443-1460,2010.
7. 厚生労働省科学研究 稀少難治性皮膚疾患に関する調査研究診断治療ガイドライン2008.
8. 氏家英之、岩田浩明、山上淳他：類天疱瘡（後天性表皮水疱症を含む）診療ガイドライン.日皮会誌127（7）1483-1521,2017.

■問い合わせ先

富士レビオ株式会社　お客様コールセンター
TEL：0120-292-832

■製造販売元

富士レビオ株式会社
東京都八王子市小宮町５１番地

富士レビオ株式会社