

この添付文書をよく読んでから使用してください

体外診断用医薬品

* * 2023 年 11 月改訂 (第 5 版)
* 2022 年 8 月改訂 (第 4 版)
認証番号 : 303ADEZX00032000

抗核抗体キット
IIFT: HEp-20-10 ユーロイミュン
IIFT: HEp-20-10 EUOPattern

【全般的な注意事項】

1. 本品は体外診断用医薬品です。それ以外の目的には使用できません。
2. 診断は、他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
3. 添付文書以外の使用方法については保証致しません。
4. 本品のポジティブコントロール(ANA)、ネガティブコントロールにはヒト血液由来成分が含まれており、感染の可能性のある物質として扱ってください。
5. 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用してください。

* * 【形状・構造等 (キットの構成)】

構成	FC 1522-2010 (200 テスト)	マーク
1. バイオチップスライド HEp-20-10 細胞	20 枚	SLIDE
2. FITC 標識抗ヒト IgG コンジュゲート 5-イソチオシアン酸フル オレセイン(FITC)標 識抗ヒト IgG ポリク ローナル抗体 (ヤギ)	6 mL ×1	CONJUGATE PI
3. ポジティブコントロール (ANA)	0.5 mL ×1	POS CONTROL
4. ネガティブコントロール	0.5 mL ×1	NEG CONTROL
5. PBS 濃縮	4 パック	PBS
6. Tween 20	2.0 mL ×4	TWEEN 20
7. 封入剤	3.0 mL ×1	GLYCEROL

付属品 : カバーガラス

構成	FC 1522-1050 (500 テスト)	マーク
1. バイオチップスライド HEp-20-10 細胞	10 枚	SLIDE
2. FITC 標識抗ヒト IgG コンジュゲート 5-イソチオシアン酸フル オレセイン(FITC)標 識抗ヒト IgG ポリク ローナル抗体 (ヤギ)	6 mL ×3	CONJUGATE PI
3. ポジティブコントロール (ANA)	0.25 mL ×1	POS CONTROL
4. ネガティブコントロール	0.25 mL ×1	NEG CONTROL
5. PBS 濃縮	5 パック	PBS
6. Tween 20	20 mL ×1	TWEEN 20
7. 封入剤	30 mL ×1	GLYCEROL

付属品 : カバーガラス

【使用目的】

血清中の抗核抗体(ANA)の測定

【測定原理】

本法は、間接蛍光抗体法 (IFT 法) を用い血清中の抗核抗体を検出し、検体の最高希釈倍数をもって抗体価を定量します。

【操作上の注意】

1. 検体の採取方法
 - ・ 本法には、ヒト血清を使用します。
 - ・ 細菌に汚染された検体、熱処理された検体、明らかに凝集塊のある検体は使用しないでください。
2. 検体の保存方法
 - ・ 検体は 2~8℃ で最大 14 日間保存できます。
 - ・ 検体は希釈後 8 時間以内にインキュベートしてください。
 - ・ 検体を室温で 8 時間以上放置しないでください。
 - ・ 測定が 8 時間以内に完了しない場合は 2~8℃ で保存してください。
 - ・ 測定が 48 時間以内に完了しない場合又は輸送する場合は -20℃ 以下で保存してください。
 - ・ 検体は凍結融解を繰り返さないでください。
 - ・ 凍結された検体は溶解後に必ず良く混和してから測定してください。

* 【用法・用量 (操作方法)】

1. 試薬の調製方法

- バイオチップスライド : そのまま使用します。スライドが室温に達してから保護カバーを取り外します (18~25℃。結露が基質を損傷する可能性があります)。バイオチップには直接触れないでください。保護カバーが破損している場合スライドを診断に使用しないでください。
- FITC 標識抗ヒト IgG コンジュゲート : そのまま使用します。初めて使用する前に穏やかに混和してください。コンジュゲートは光に敏感ですので日光が当たるのを避けて下さい。
- ポジティブコントロール (ANA) 及びネガティブコントロール : そのまま使用します。初回の使用時には穏やかに混和してください。
- PBS-Tween 液 : PBS 濃縮 1 パックを 1 リットルの蒸留水に溶解し、Tween 20 を 2 mL 混合 (均一になるまで 20 分間攪拌) します。調製した PBS-Tween 液は 2~8℃ で通常 1 週間保存できます。溶液が濁ったりコンタミネーションの恐れがある場合は PBS-Tween 液を使用しないでください。
- 封入剤 : そのまま使用できます。
- 試薬トレイ : 試薬トレイの反応部は親水性で周囲は疎水性です。必要に応じて、2%Deconex 11 universal (品番 : ZZ 9912-0101) にて 12 時間静置します。その後水で十分



にすぎ乾燥させます。

クリーニング：5%Extran MA 01（品番：ZZ 9911-0130）で試薬トレイをこすり大量の水ですすいでください。消毒するには、試薬トレイに Mikrozid AF（品番：ZZ 9921-0125）をスプレーして裏返して 5 分間放置します。その後水で十分にすぎ乾燥させます。

（保存条件）

スライド及び試薬は 2~8℃で保存してください。未開封のすべてのキット内の構成試薬は指定された有効期限（Expiry date）まで安定です。

2. 検体の調製

定性評価用サンプルの推奨希釈：検体を PBS-Tween 液 で 40 倍希釈します。例えば検体 5.1 µL を PBS-Tween 液 200 µL で希釈し 2 秒間ボルテックスすることで完全に混合します。
半定量的評価用の推奨希釈：検体の希釈には PBS-Tween 液を使用します。半定量的評価には、40 倍希釈を開始とし、2 倍希釈系列（1:80, 1:160・・・）での評価を推奨します。

希釈倍率	希釈方法	
1:40	200 µL PBS-Tween + 5.1 µL 希釈前検体	
1:80	100 µL PBS-Tween + 100 µL 40 倍希釈検体	
1:160	100 µL PBS-Tween + 100 µL 80 倍希釈検体	
:	:	
:	:	2つの希釈ステップごとに、キャリーオーバーを防ぐために新しいピペットチップを使用してください。

3. 必要な器具・器材

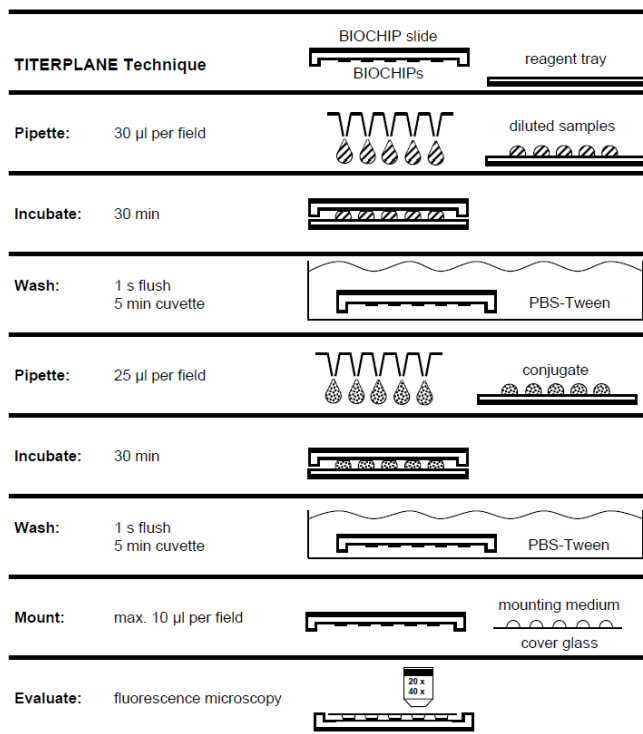
- ・トレイ：品番 ZZ 9999-0110-R（10 フィールド用）、ZZ 9999-0150-2-R(50 フィールド用)
- ・蛍光顕微鏡（励起波長：450-490 nm、カラーセパレーター：510 nm、バンドパスフィルター：515 -565 nm、LED Bluelight）又は EUROPattern ユーロイミューン 免疫蛍光分析装置（製造販売届出番号：13B3X10291000001）
- ・精製水又は脱イオン水
- ・ピペット（10 µL-200 µL）
- ・キュベット又は洗浄用又は染色用皿

4. 測定（操作）法

- 1) **ピペッティング**：気泡を避けて希釈検体 30 µL を試薬トレイの各反応フィールドに滴下します。インキュベーションを開始する前にテストするすべての検体移します（最大 200 ドロップレットまで）。ポリスチレンピペッティングテンプレートを使用します。
- 2) **インキュベーション**：バイオチップスライドを試薬トレイの対応する凹部に合わせて反応を開始します。各検体がバイオチップと接触し個々の検体が互いに接触しないようにします。室温（18~25℃）で 30 分間インキュベートします。

- 3) **洗浄**：バイオチップスライドを PBS-Tween 液を入れたビーカー内で洗い流し、その後すぐに PBS-Tween 液を含むキュベットに少なくとも 5 分間浸します。可能であればロータリーシェーカーで振とうしてください。バッファは最大洗浄 16 枚のスライド分に使用でき、更にスライドがある場合は PBS-Tween 液を新しいバッファに交換します。
- 4) **ピペッティング**：清潔な試薬トレイの各反応フィールドに FITC 標識抗ヒト IgG コンジュゲート 25 µL を滴下します。インキュベーションを続ける前にすべてのフィールドに加ええます。コンジュゲートは使用前に完全に混合する必要があります。検体のインキュベーション中にコンジュゲートを別々の試薬トレイにピペットで移しておく時間が節約できます。
- 5) **インキュベーション**：バイオチップスライドをキュベットから取り出します。5 秒間以内にスライド背面及び長辺側面だけをペーパータオルで吸い取りすぐにバイオチップスライドを試薬トレイのくぼみに入れます。反応フィールド間の領域を乾燥させないようにして下さい。バイオチップと液体が正しく接触しているか確認してください。続けて次のバイオチップスライドをセットします。この後はスライドを直射日光から保護してください。室温（18~25℃）で 30 分間インキュベートします。
- 6) **洗浄**：新しい PBS-Tween 液をキュベットに加ええます。バイオチップスライドを PBS-Tween 液を入れたビーカー内で洗い流し、新しい PBS-Tween 液を加えたキュベットに少なくとも 5 分間入れます。可能であればロータリーシェーカーで振とうしてください。バッファは最大 16 枚のスライド分に使用でき更にスライドがある場合は PBS-Tween 液を新しいバッファに交換します。
- 7) **マウント**：カバーガラス上にフィールドあたり最大 10 µL の封入剤を滴下します。ポリスチレン製のマウントトレイを使用します。PBS-Tween 液から 1 枚ずつバイオチップスライドを取り外し、背面と 4 面すべてをペーパータオルで乾かします。バイオチップを下向きにして、準備したカバーガラスの上にバイオチップスライドを置きます。カバーガラスがスライドのくぼみに正しくはまっていることをすぐに確認してください。必要に応じて位置を修正します。
蛍光顕微鏡で観察し、判定します。

一般的な推奨：20x 対物レンズ（組織切片、感染及びトランスフェクション細胞）、40x 対物レンズ（細胞）
励起波長：450-490 nm、カラーセパレーター：510 nm、ブロッキングフィルター：515 nm。
光源：UV ランプ 100 W
自動分析装置「EUROPattern ユーロイミューン免疫蛍光分析装置」の設定：20x 対物レンズ、1 ウェル当たり 1 イメージ



* 【測定結果の判定法】

- 核抗原 (ANA) に対する抗体は、数多くの基質上に見られます。抗核抗体の標的決定と染色型の識別のために、ヒト上皮細胞からなる基質 (HEp-20-10) が適しています。細胞核は、特定のパターンを特徴とする明確な蛍光を示します。陰性サンプルの場合、核は特定の蛍光を示しません。評価された各フィールドでは、間期核と有糸分裂細胞の両方が検査され、可能であればいくつかの領域で検査されます。蛍光パターンの概要は、抗核抗体 (ANA) www.anapatterns.org (ICAP) の Web サイトで確認できます。ポジティブコントロールが特定の蛍光パターンを示さない、またはネガティブコントロールが明確な特定の蛍光を示す場合、結果は使用せず、再検してください。

EUROIMMUN が推奨する定性判定

抗核抗体反応 (IgG)	判定
1 : 40 で特異的な蛍光が認められない	陰性。検体中に細胞核に対する検出可能な抗体はない
1 : 40 で特異的な蛍光が認められる	陽性

EUROIMMUN が推奨する半定量判定

力価は、特定の蛍光が識別可能なサンプル希釈係数として定義されます。これは、同等に希釈された陰性血清を使用し得られた反応と比較してください。

2. 染色型の判定

Autoantigens of the cell nuclei (細胞核の自己抗原)	Fluorescence pattern (蛍光パターン)
ポリヌクレオチド	dsDNA ssDNA RNA 均質型
ヒストン	H1, H2A, H2B, H3, H4, H2A-H2B complex 均質型
可溶性核抗原 (ENA)	U1-nRNP Sm SS-A (Ro) SS-B (La) 斑紋型
核小体の抗原	U3-nRNP/fibrillarin RNA polymerase I PM-Scl (PM-1) 7-2-RNP (To) 4-6-S-RNA 核小体型
セントロメア	Proteins of kinetochores セントロメア型
その他のタンパク質	Scl-70 Cyclin (PCNA) Nuclear dots Ku Mi-1 Mi-2 Lamins 斑紋型+核小体型 PCNA 型 核内斑点型 斑紋型 斑紋型 斑紋型 核膜型

【性能】

1. 性能

1) 感度

ネガティブコントロールを測定するとき陰性を示す。ポジティブコントロールを測定するとき希釈倍率は 1 : 40 ~ 1 : 320 を示す。

2) 正確性

陰性管理血清を測定するとき、蛍光が認められない。陽性管理血清を測定するとき、抗体価は既知抗体価の ±1 管以内です。

3) 同時再現性

陰性管理血清を 3 回同時に測定するとき蛍光が認められない。陽性管理血清を 3 回同時に測定するとき、抗体価は既知抗体価の ±1 管以内です。

測定範囲：希釈倍数による測定下限は 40 倍です。

検体は 40 倍に希釈できるため、希釈系列は 1 : 40、1 : 80 などになります。測定範囲に上限はありません。

2. 相関性

本品と他社試薬 (IFA 法) との相関は、以下のとおりでした。

		他社試薬 (IFA 法)	
		陽性	陰性
本品	陽性	35	2
	陰性	0	51

検体数 n=88、全体一致率=97.7%

3. 校正用の基準物質

ポジティブコントロール (ANA) 及びネガティブコントロールは、ヒト血清より製したものです。既知濃度管理検体は、ヒト血清をプールしたものです。



【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上の注意

- 1) 抗原基質でコーティングされたパイオチップは、消毒剤で処理されています。
- 2) 本品の陽性及び陰性コントロールは、HBsAg、HIV-1、HIV-2 及び HCV の抗体が陰性であることが確認されています。しかし、すべての構成試薬は感染の可能性がある物質として扱ってください。
- 3) 非常にわずかですが、アジ化ナトリウムを含む試薬があります。目及び皮膚に付着しないようにしてください。目及び皮膚に付着した場合は、大量の水で洗って下さい。

2. 使用上の注意

- 1) 自動化サンプルプロセッサやその他の液体処理装置の使用により、全体的または部分的に用手法によるテスト結果と違いが生じる可能性があります。各施設で自動化の手順により許容範囲内のテスト結果が得られることを検証してください。
- 2) 染色中にスライドの取り扱いを間違えると、特にステップ間でスライドが乾燥してしまうと、「washed out」パターンや、バックグラウンドが強く蛍光する可能性があります。
- 3) スライド洗浄に使用するコプリンジャーに残留物が含まれていないようにしてください。残留物を含むコプリンジャーを使用するとアーキテクが染色されることがあります。
- 4) 蛍光顕微鏡の光源、フィルター、光学ユニットは、アッセイの感度に影響を与える可能性があります。従来の水銀蒸気ランプシステムを使用する場合、顕微鏡の性能は、適切なメンテナンス、特にランプの調整と推奨期間後のランプの交換に依存します。光源として LED ブルーライトを備えた EUROIMMUN 蛍光顕微鏡には、多くの利点があります。詳細は EUROIMMUN にお問い合わせください。

3. 廃棄上の注意

- 1) 検査に使用した器具類及び廃液は、次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1,000 ppm、1 時間以上浸漬）、グルタールアルデヒド溶液（2%、1 時間以上浸漬）等での消毒、又はオートクレーブ処理（121℃、20 分間以上）を行ってください。
- 2) アジ化ナトリウムは防腐剤として使われています。アジ化ナトリウムは、鉛管や銅管と反応して爆発性のある金属アジ化物を形成します。試薬を廃棄にする場合は、金属アジ化物の形成を防ぐために大量の水と共に洗浄シンクに流してください。
- 3) 試薬および検査に使用する器具類、及び廃液を廃棄する場合は、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等に従って、廃棄してください。

* 【貯法・有効期限】

貯法 : 2~8℃
有効期間 : 18 箇月（使用期限は外箱に表示）

* 【包装単位】

製品番号	抗体	基質	スライド x フィールド
FC 1522-2010 FC 1522-1050	cell nuclei(ANA)	HEp-20-10 細胞	20 x 10 (200) 10 x 50 (500)

* 【問い合わせ先】

EUROIMMUN Japan 株式会社
東京都中央区日本橋堀留町 1-9-10
Tel/Fax: 03-6661-2117

製造販売元
EUROIMMUN Japan 株式会社
東京都中央区日本橋堀留町 1-9-10

製造元
EUROIMMUN AG（ドイツ）