この添付文書をよく読んでから使用してください。

**2016年12月改訂（新様式第３版）
*2011年11月改訂（新様式第２版）
承認番号　20400AMZ00834000

体外診断用医薬品

**クラスⅡ免疫検査用シリーズ
抗デオキシリボ核酸抗体キット

MESACUP™ DNA-Ⅱテスト「ds」

［全般的な注意事項］

1．本品は、体外診断用でありそれ以外の目的に使用しないで下さい。
2．本品は、血清中の抗dsDNA抗体IgGクラスを測定するものであり、被験者の診断は、他の関連する検査結果や臨床症状等と合わせて総合的に判断して下さい。
3．添付文書以外の使用方法については保証を致しません。
*4．抗dsDNA抗体標準血清、陽性コントロール及び陰性コントロールは、ヒト血液由来成分が含まれています。体外診断用医薬品を用いてHBs抗原、HCV抗体及びHIV抗体が陰性であることを確認していますが、これらのウイルス及び他のウイルスを完全に否定できる試験方法ではないことから、検体同様、感染の可能性があるものとして注意して取り扱って下さい。
5．抗dsDNA抗体標準血清、陰性コントロール及び反応用緩衝液には0.09％アジ化ナトリウムを添加してあります。誤って目や口に入ったり、皮膚に付着したりした場合には水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当てを受けてください。

［形状・構造等（キットの構成）］

構成品	包装	数量
dsDNA固相化マイクロカップ	８ウェル×12本	１袋
２本鎖（ds）DNA画分		
抗dsDNA抗体標準血清１～６	1.5mL×各１本	１組
陽性コントロール（凍結乾燥品）	350μL	２本
陰性コントロール	1.5mL	１本
酵素標識抗体（101倍濃縮品）	300μL	１本
ペルオキシダーゼ標識マウス抗ヒトIgGモノクローナル抗体		
酵素標識抗体希釈液	24mL	１本
反応用緩衝液	50mL	２本
洗浄用緩衝液（10倍濃縮品）	100mL	１本
酵素基質Ａ液	10mL	１本
3,3',5,5'－テトラメチルベンジジン		
酵素基質Ｂ液	10mL	１本
過酸化水素		
反応停止液	20mL	１本
酵素標識抗体溶液用ビン	（付属品調製用）	１本
酵素基質液用ビン	（付属品調製用）	１本

［使用目的］

ヒト血清中の抗二本鎖DNA抗体の測定

［測定原理］

MESACUP DNA-Ⅱテスト「ds」はELISA法により血清中の抗dsDNA抗体を測定する試薬です。λファージ由来のdsDNAを感作したマイクロカップ（dsDNA固相化マイクロカップ）に検体を添加し抗原・抗体反応（一次反応）をさせます。洗浄後、ペルオキシダーゼ標識抗ヒトIgGモノクローナル抗体（酵素標識抗体）を添加して反応（二次反応）させ、抗原・抗体・酵素標識抗体の複合体を形成させます。再び洗浄後、テトラメチルベンジジンと過酸化水素の溶解液を基質溶液として添加し、酵素（ペルオキシダーゼ）により発色させ（酵素反応）、反応停止後吸光度（A_{450}）を測定して血清中の抗dsDNA抗体を定量します。

［操作上の注意］

1．検体について
検体は血清を用いてください。検体を保存する場合は血清を小分けして－20℃以下に保存して１ヶ月以内に使用して下さい。凍結融解の繰り返しは避けてください。
*2．共存物質の影響
自社施設において、検体における共存物質の影響を試験したところ、ヘモグロビン（484mg/dLまで）、ビリルビンF（18.7mg/dLまで）、ビリルビンC（20.9mg/dLまで）、プレドニゾロン（２mg/dLまで）、アスピリン（20mg/dLまで）、ウロキナーゼ（２U/dLまで）の添加においては、定量値に影響はみられませんでした。
ヘパリン及びEDTA２Naの添加による血漿検体では血清検体に比べ定量値が著しく異なることがあるので、検体には血清を用いて下さい。
3．検体の非働化の影響
検体の非働化は定量値に影響を及ぼしますので、非働化した検体は用いないで下さい。

［用法・用量（操作方法）］

*1．準備するもの
標準的な実験装置に加え、以下のものが必要です。
（１）マイクロプレートリーダー
（２）マイクロピペット

（3）マルチチャンネルマイクロピペット
（4）自動洗浄機または洗浄ビン
（5）一次反応準備用マイクロプレート
（6）リザーバー
（7）精製水

自動EIA機器を用いて測定する場合には、対応機種により操作法が異なる場合があります。使用する機種の操作方法に従って検査して下さい。
測定対応機種及び操作法については、弊社までお問い合わせ下さい。

2．試薬の調製

*キット構成品は室温（20～25℃）に戻してから使用して下さい。

（1）洗浄液
必要量の洗浄用緩衝液を精製水で10倍に希釈し、洗浄液とします。
洗浄液は必ず室温（20～25℃）のものを使用して下さい。

（2）酵素標識抗体溶液
酵素標識抗体は酵素標識抗体希釈液で101倍希釈して使用します。尚、希釈した酵素標識抗体溶液は保存できませんので当日内にご使用下さい。

（3）酵素基質液
室温に戻した酵素基質A液と酵素基質B液を等量混合し、酵素基質液とします。本調製は酵素反応の直前に行い、酵素基質液はできる限り遮光して下さい。なお、調製後の酵素基質液は保存できませんので必要量を用時調製して下さい。
注）精製水で充分に濯いだきれいな器具を使用して下さい。

*（4）陽性コントロール
精製水350μLに溶解後、直ちに使用して下さい。保存する場合、－20℃以下で保存して下さい。－20℃以下で保存した場合は、1週間安定です。又凍結融解の繰り返しは避けてください。

（5）その他
抗dsDNA抗体標準血清、陰性コントロールは希釈調製してありますので、そのままご使用下さい。

3．　操作法

（1）検体の希釈
検体を反応用緩衝液で101倍希釈して下さい。
*例）検体10μLを反応用緩衝液1mLに加えて、101倍希釈します。
標準血清、陽性コントロール、陰性コントロール及び希釈した検体を150μLずつ、一次反応準備用マイクロプレートに実際の測定と同じ配置になるように添加します。

*（2）一次反応
1）dsDNA固相化マイクロカップをアルミ袋より取り出し、一次反応準備用マイクロプレートに準備した標準血清、陽性コントロール、陰性コントロール及び希釈した検体をマルチチャンネルマイクロピペットで100μLずつ移します。
二重測定する場合は、1検体につき2ウエル使用します。
注意）dsDNA固相化マイクロカップに検体を添加した時点から反応が始まりますので、操作は短時間のうちに行って下さい。
2）室温（20～25℃）で1時間静置反応させます。

（3）洗浄
自動洗浄機（マイクロプレート専用機）または洗浄ビンを用いて洗浄液でdsDNA固相化マイクロカップを洗浄します。
洗浄回数：自動洗浄機…4回　洗浄ビン…4回
注意）自動洗浄機を用いた場合、使用する自動洗浄機によって設定方法及び最適洗浄回数が異なる場合があります。あらかじめ各施設で用いて自動洗浄機の設定方法及び最適洗浄回数を確認することをお勧めします。

（4）二次反応
1）dsDNA固相化マイクロカップに残った洗浄液を完全に除去した後、調製した酵素標識抗体溶液をリザーバーに移しマルチチャンネルマイクロピペットで100μLずつ添加します。
2）室温（20～25℃）で1時間静置反応させます。

（5）洗浄
（3）洗浄　と同様にdsDNA固相化マイクロカップを洗浄します。

（6）酵素反応
1）dsDNA固相化マイクロカップに残った洗浄液を完全に除去した後、二次反応終了直前に調製した酵素基質液をリザーバーに移し、マルチチャンネルマイクロピペットで100μLずつ添加します。
2）室温（20～25℃）で30分間静置反応させます。
注意）酵素標識抗体溶液を入れたリザーバーと酵素基質液を入れるリザーバーは必ず別のものをご使用下さい。

（7）反応停止
反応終了後、リザーバーに移した反応停止液をマルチチャンネルマイクロピペットで100μLずつ添加します。

（8）呈色後の吸光度測定
自動分光光度計（マイクロプレート専用機：垂直透過型）にdsDNA固相化マイクロカップをセットして、波長450nmの吸光度（副波長620nm）を測定します。
吸光度測定は反応停止後20分以内に行って下さい。

*（9）濃度の算出
自動分光光度計（マイクロプレート専用機：垂直透過型）にマイクロカップをセットして、吸光度（主波長：450nm、副波長：620nm）を測定し、濃度の算出を行います。濃度算出には専用のプログラムを使用し

ます。

注意）測定値が400IU/mLを超えた検体は「400IU/mL以上」として下さい。

［測定結果の判定法］

1．参考基準範囲

健常人血清500例を測定した結果、

平均値＝5.98IU/mL　　SD＝3.18

最大値＝19.8IU/mL　　最小値＝0.00IU/mL

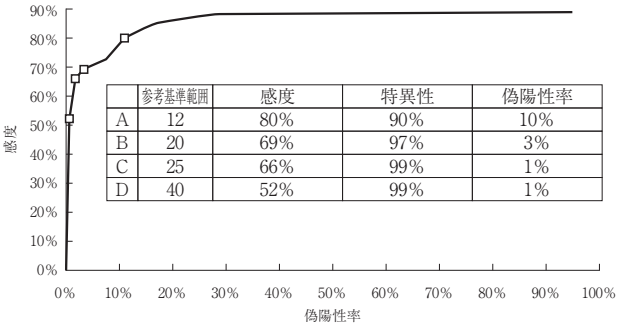
95％パーセンタイルによる上限　　12.0IU/mL

となりました。

上記の結果より、参考基準範囲は12.0IU/mL以下としました。

2．ROC解析による感度・擬陽性率

健常人血清500例、SLE症例100例およびSLE以外の膠原病症例121例を測定し、ROC解析を行った場合の感度･擬陽性の変化を下図に示しました。



	参考基準範囲	感度	特異性	偽陽性率
A	12	80%	90%	10%
B	20	69%	97%	3%
C	25	66%	99%	1%
D	40	52%	99%	1%

「判定上の注意」

1．上記の値はあくまでも参考であり、正常値は、母集団等種々の要因によって変動します。施設ごとに、目的に応じて基準となる数値を設定されることをお勧めします。

2．測定後は必ず以下に掲げる基準を確認ください。基準を満たさなかった場合は、再度、測定しなおして下さい。

（1）抗dsDNA抗体標準血清1の吸光度が0.090以下であること。

（2）抗dsDNA抗体標準血清6の吸光度が1.200以上であること。

（3）陽性コントロール、陰性コントロールの測定値がラベルの表示域に入ること。

*［臨床的意義］

自己免疫疾患患者血清中には様々な抗核抗体が検出されます。抗核抗体は細胞核成分に対する自己抗体の総称で、そのうちのいくつかは、全身性エリテマトーデス（SLE）、混合性結合組織病（MCTD）、シェーグレン症候群（SS）、全身性強皮症（SSc）などの自己免疫疾患の診断に有用であるとされています。中でも抗DNA抗体は、SLE患者血清中に高頻度、特異的に検出されることから、SLEの診断、治療の指針として利用されてきました。

抗DNA抗体の測定法としては、1990年代前半まではPHA法、間接蛍光抗体法、RIA法などが多く使用されていましたが、近年では、感度、特異性、定量性の面でより優れたELISA法が普及しています。MESACUP DNA－Ⅱテスト「ds」は、IgGクラスの抗dsDNA抗体を測定するELISA法を用いた体外診断用医薬品です。

抗dsDNA（double stranded DNA）抗体の測定は、診断、治療効果、経過観察に有用です。SLE以外のリウマチ性疾患においても検出されることがありますが、これらの場合には、ほとんど低抗体価であるのに対して、活動期のSLEでは多くの場合、高抗体価を有しています。またSLEの診断が確定される以前からしばしば抗dsDNA抗体価が上昇することや、SLEによる臓器病変であるループス腎炎の病態と強い相関が認められることから、治療方針の決定や疾患活動性のモニタリングに有用とされています。

このように抗dsDNA抗体の測定はSLEの診断に有用であることから、1997年に改定されたアメリカリウマチ学会（American College of Rheumatology）のSLE診断基準のひとつとなっています。

［性能］

1．性能

（1）感度

抗dsDNA抗体標準血清1を測定したとき、波長450nmにおける吸光度（A_{450}）は0.090以下であり、抗dsDNA抗体標準血清6を測定したとき、A_{450}は、1.200以上です。

（2）正確性

既知濃度の管理血清6例を測定したとき、定量値はいずれも期待値±15％以内であり、健常人血清5例を測定したとき、いずれも定量値は12IU/mL未満です。

（3）再現性

濃度の異なる検体3例をそれぞれ6回同時に測定したとき、定量値の変動係数はいずれも10％以下です。

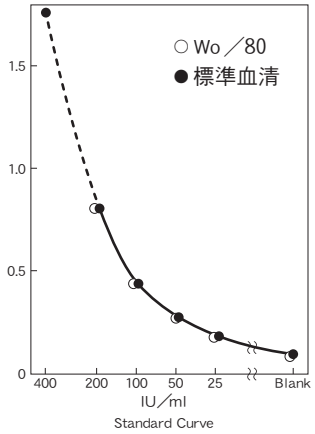
（4）測定範囲

本品の測定範囲は400IU/mLまでです。

（5）標準血清濃度（IU/mL）の設定

本品に付属の標準血清の値は、WHO First international standard, 1985（Wo/80）に準拠しており、結果はIU/mL（International Units/mL）で得られます。

本品に付属の標準血清、及びWHO standard（Wo/80）の2^n希釈系列を用いて得た標準曲線を下図に示しました。両者の標準曲線はよく一致します。尚、WHO standard（Wo/80）の濃度（200IU/mL）の2倍を400IU/mLとし、これを本品に添付の標準血清の上限としました。



［使用上又は取扱い上の注意］

1．取扱い上の注意

（1）検体はHIV、HBV、HCV等感染の恐れがあるものとして扱って下さい。検査にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用し、また、口によるピペッティングを行わないで下さい。

（2）試薬が誤って目や口に入った場合は、水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当てなどを受けてください。

2．使用上の注意

（1）有効期限切れの試薬は使用しないで下さい。

（2）異なるロットの試薬を組み合わせて使用しないで下さい。

（3）保存及び使用中は、試薬に直射日光を当てないで下さい。

（4）キットの構成品は、室温（20～25℃）に戻してから使用して下さい。

（5）検体、試薬への微生物の混入や試薬間のコンタミネーションを避けて下さい。

（6）反応温度、反応時間、検体の希釈率は厳守して下さい。

*（7）洗浄が適当でない場合、ばらつきや偽陽性、偽陰性を生じる場合がありますので、適切な洗浄条件を設定して下さい。

（8）マイクロカップの間のコンタミネーションを防ぐため、液の泡立ちや、周囲への付着が起こらないようにして下さい。

（9）洗浄用緩衝液は、2～8℃ で保存したとき、結晶を認められる場合がありますが、試薬性能に影響はありません。洗浄液調製時、十分に溶解してから使用して下さい。

（10）dsDNA固相化マイクロカップは湿気を嫌いますので、開封後はアルミ袋のチャックを確実に閉めて保存してください。

3．廃棄上の注意

（1）検体は感染の可能性があるものとして注意して取り扱って下さい。検査に使用した器具は、次のいずれかの方法で処理して下さい。

・最終濃度2％グルタルアルデヒド溶液に1時間以上浸漬する。

・0.1％次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素約1000ppm）に1時間以上浸漬する。

・121℃で20分間以上高圧蒸気滅菌する。

また、試薬及び器具等を廃棄する場合には、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従って処理して下さい。

（2）血清等が飛散した場合には、手袋着用の上、ペーパータオル等でふき取り、0.1％次亜塩素酸ナトリウム溶液にて清拭してください。また、使用した手袋、ふき取りに使用したペーパータオル等は廃棄上の注意（1）に従って、処理、廃棄して下さい。

（3）抗dsDNA抗体標準血清、陰性コントロール及び反応用緩衝液には0.09％アジ化ナトリウムを添加してあります。アジ化ナトリウムは、配管中で爆発性のアジ化銅やアジ化鉛を形成することが報告されています。これらの物質の形成を防ぐため、アジ化ナトリウムを含んだ廃液は十分量の水で洗い流して下さい。

［貯蔵方法・有効期間］

貯　　法：2～8℃

有効期間：製造後12箇月

（使用期限は外箱に表示されています。）

［包装単位］

Code7460　96ウェル

［主要文献］

1．E.J.Ter Borg et al, Arthritis and Rheumatism, 33(5), 634-643(1990)

2．D.A.Isenberg et al, Annals of the Rheumatic Diseases, 46, 448-456(1987)

3．R.T.Wold et al, Science, 161, 806-807(1968)

4．R.Smeenk et al, J.Immunol, 128, 73-78(1982)

5．R.Smeenk, Immunoassay Technology, 2, 145-166(1986)

*6．恒川伸二　他，MBL自己抗体精度管理，25年間の活動とその成果　－抗核抗体を中心に－，臨床病理，2010；58：131-138

*7．MBL自己免疫レポートNo.38, 2011

［問い合わせ先］

株式会社　医学生物学研究所　学術部

〒396－0002　長野県伊那市手良沢岡1063－103

TEL（0265）76－1777　FAX（0265）76－5827

［製造販売元］

株式会社　医学生物学研究所

〒396－0002　長野県伊那市手長沢岡1063－103

TEL（0265）76－1777　FAX（0265）76－0584