

체외진단의료기기

1. 품목정보

허가(신고)번호	체외 수인 17-4793 호	
품 목 명	자가면역질환검사시약	
분류번호(등급)	K03010.01 (2)	
모 델 명	ANA HEp-2 plus	
포장단위	용기 등의 기재사항 참조.	
제조번호	용기 등의 기재사항 참조.	
제조연월	용기 등의 기재사항 참조.	
수입원	상 호	아산제약(주)
	주 소	서울특별시 동대문구 청계천로 485
	전화번호	02-3290-5700
	F a x	02-3290-5750
제조사	상 호	GA Generic Assays GmbH(독일)
	(국가)	

2. 구성

2.1 체외진단의료기기

번호	명 칭	세부 구성	외관상 특징
1	Substrate Slides	단일	적색의 12웰 고체 슬라이드
2	Diluent	단일	무색의 액상시약(흰색 마개)
3	PBS Puffer	단일	흰색 파우더(흰색 마개)
4	Conjugate	단일	무색의 액상시약(파란 마개)
5	Mounting medium	단일	무색의 액상시약(흰색 마개)
6	Blotting templates	단일	흰색 종이
7	Positive control	단일	무색의 액상시약(적색 마개)
8	Negative control	단일	무색의 액상시약(녹색 마개)

2.2 별도판매구성품

해당 없음.

3. 작용원리

ANA-HEp-2Plus는 ANA 정성 및 반정량을 위한 간접면역형광분석법이다. 희석된 환자검체 및 컨트롤의 항체는 슬라이드에 고정화된 HEp-2 세포의 항원과 특이적으로 반응한다. 실온에서 30분간 배양한 후에 결합되지 못한 혈청성분들은 세척단계에서 제거된다. 결합된 항체들은 Alexa Fluor에 결합된 항-사람 IgG와 특이적으로 반응한다. 실온에서 30분간 배양한 후에, 잔여의 결합체는 추가적인 세척단계에 의해 고상면역복합체로부터 분리된다. 염색된 슬라이드는 형광현미경(여기파장: 490nm, 방출파장: 520nm)으로 관측한다. HEp-2 세포내에 조직배열에 특이적 형광염색을 검출할 수 있다.

4. 사용목적

사람의 혈청에서 항핵항체(ANA; anti-nuclear antibodies)를 간접면역형광분석법(IIFA; Indirect Immunofluorescence assay)으로 정성 및 반정량 하고, 전신성자가면역질환(systemic autoimmune diseases) 진단에 도움을 주는 체외진단용 의료기기.

5. 성능

번호	항목	결과
1	상관성	1) HEp-2 cell 패턴 비교 패턴분석을 위해 ANA HEp-2 Plus assay의 HEp-2 cell로 8개의 ANA 양성 혈청, 양성 대조군 및 음성 대조군의 혈청학적 염색을 실시하였다. HEp-2 cell의 세포핵 또는 세포질에서 상이한 면역형광패턴을 분석하고, 타사 제품과 비교하였다. 염색은 각 제품의 사용자 설명서에 따라 실시되었다. 염색된 슬라이드의 패턴은 수동적으로 평가되었다. 세 제품은 비슷한 평가결과를 보였으며 음성컨트롤은 예측대로 음성을 보였다. 양성혈청검체는 VIRGO HEp-2에서 음성을 보인 핵형질을 제외하고, GA ANA HEp-2 plus와 타 제품에서 모두 양성을 보였다. 2) 시험방법 비교

		ANA HEp-2 plus 시험의 분석은 기존의 HEp-2 cell의 자가항체 분석과 비교하여 평가되었다. 705개의 혈청 샘플에서 HEp-2 cell을 이용한 IIF(간접면역형광)법과 CytoBead ANA HEp-2 cell을 이용한 참고 IIF법으로 ANA를 검사하였다. 참고 IIF 시험법에서 측정된 데이터를 ANA HEp2-plus에서 측정된 데이터와 비교하였다. 참고 IIF 시험법과 ANA HEp-2 plus의 HEp-2 cell에서 IIF 시험법으로 측정된 ANA의 일치도가 매우 높았다($\kappa > 0.8$). McNemar 시험에 따르면, 중대한 변화는 발견되지 않았다($p=0.0768$). 하나의 참고 IIF 시험에 대한 조합 분석의 상대적 민감도는 시험법 비교로 계산된다. 상대적 민감도와 상대적 특이도는 아래 표와 같다.																										
		<table><tr><td></td><td colspan="2">ANA HEp-2 plus</td></tr><tr><td></td><td>pos</td><td>neg</td></tr><tr><td>Reference IIF assay</td><td>pos</td><td>406</td><td>2</td></tr><tr><td>CytoBead ANA Hep-2</td><td>neg</td><td>21</td><td>276</td></tr></table>		ANA HEp-2 plus			pos	neg	Reference IIF assay	pos	406	2	CytoBead ANA Hep-2	neg	21	276												
	ANA HEp-2 plus																											
	pos	neg																										
Reference IIF assay	pos	406	2																									
CytoBead ANA Hep-2	neg	21	276																									
		<table><tr><td>Cohen's Kappa</td><td>0.95</td></tr><tr><td>95% CI</td><td>0.929-0.975</td></tr><tr><td>Difference [%]</td><td>1.15</td></tr><tr><td>95% CI</td><td>0.11-1.96</td></tr><tr><td>P**</td><td>0.0768</td></tr><tr><td>Relative sensitivity [%]</td><td>99</td></tr><tr><td>Relative specificity [%]</td><td>96</td></tr></table>	Cohen's Kappa	0.95	95% CI	0.929-0.975	Difference [%]	1.15	95% CI	0.11-1.96	P**	0.0768	Relative sensitivity [%]	99	Relative specificity [%]	96												
Cohen's Kappa	0.95																											
95% CI	0.929-0.975																											
Difference [%]	1.15																											
95% CI	0.11-1.96																											
P**	0.0768																											
Relative sensitivity [%]	99																											
Relative specificity [%]	96																											
2	정밀도	1) Intra-assay 정밀도 ■형광강도 정밀도: Intra-assay 분산 측정에서, 12회 측정은 형광강도 +/-1의 결과를 보였다. ■형광패턴 정밀도: GA HEp-2 plus를 이용한 아홉 개의 서로 다른 패턴과 한 개의 건강한 기증 혈액에 대하여, 다섯 번의 측정은 형광강도 +/- 1 이내의 결과를 보였다. 5개의 슬라이드간의 패턴변화는 없었다. ■항체역가 정밀도: 하나의 혈청에 대한 세 번의 역가에서 형광강도 +/-1 이내에서 변화를 보였다.																										
3	Cut-off	2) Inter-assay 정밀도 ■형광패턴 정밀도: GA ANA HEp-2 plus를 이용한 아홉 개의 서로 다른 패턴과 하나의 건강한 기증 혈액의 측정은 형광강도 +/-1 이내의 결과를 보였다. 세 번의 측정간 형광 패턴의 변화는 없었다. ■항체역가 정밀도: 하나의 혈청에 대한 3개의 substrate slide의 세 번의 역가에서 측정은 형광강도 +/- 1 이내의 변화를 보였다.																										
4	민감도 및 특이도	FIRMA 그룹(Forum Interdisciplinare per la Ricerca sulle Malattie Autoimmuni)과 독일 드레스덴 기술대학교의 면역학 기관으로부터 얻은 총 705개의 혈청 샘플이 ANA HEp-2 plus 로 평가되었다. 평가에 사용된 참고 혈청은 전신성홍반루푸스(SLE, n=174), 전신 경화증(SSc, n=103), 쇼그렌 증후군(SjS, n=45), 류마티스 관절염(RA, n=36), 혼합결합조직병(MCTD, n=13), 근염(MYO, n=20), 갑염증(ID, n=31), 자가면역 간질환(ALD, n=93), 염증성 장질환(IBD, n=78), 파라단백혈증(PPA, n=11), 기증자의 혈액(BD, n=101)을 포함한다. ANA 측정 시험에서 환자그룹은 SLE, SSc, SjS, RA, MCTD와 MYO 그룹이다. ID, ALD, PPA, IBD와 BD그룹은 대조군으로 사용되었다. 스크리닝 분석에서 허용범위는 민감도 85%이상, 특이도 70%이상이다. 민감도와 특이도 값은 다음 표와 같다. 1) 민감도 <table><tr><td>Disease (n)</td><td>SSc (103)</td><td>SjS (45)</td><td>SLE (174)</td><td>RA (36)</td><td>MCTD (13)</td><td>MYO (20)</td></tr><tr><td>ANA HEp-2 Plus</td><td>100.0%</td><td>97.8%</td><td>98.9%</td><td>86.1%</td><td>100.0%</td><td>95.2%</td></tr></table> 2) 특이도 <table><tr><td>Disease (n)</td><td>ID (21)</td><td>BD (101)</td><td>PPA (11)</td><td>ALD (93)</td><td>IBD (78)</td></tr><tr><td>ANA HEp-2 Plus</td><td>84.9%</td><td>83.2%</td><td>90.1%</td><td>86.9%</td><td>100%</td></tr></table>	Disease (n)	SSc (103)	SjS (45)	SLE (174)	RA (36)	MCTD (13)	MYO (20)	ANA HEp-2 Plus	100.0%	97.8%	98.9%	86.1%	100.0%	95.2%	Disease (n)	ID (21)	BD (101)	PPA (11)	ALD (93)	IBD (78)	ANA HEp-2 Plus	84.9%	83.2%	90.1%	86.9%	100%
Disease (n)	SSc (103)	SjS (45)	SLE (174)	RA (36)	MCTD (13)	MYO (20)																						
ANA HEp-2 Plus	100.0%	97.8%	98.9%	86.1%	100.0%	95.2%																						
Disease (n)	ID (21)	BD (101)	PPA (11)	ALD (93)	IBD (78)																							
ANA HEp-2 Plus	84.9%	83.2%	90.1%	86.9%	100%																							
5	간섭	1) 내부간섭 (Endogenous): 양성혈청은 예상대로 더 강한 형광강도를 보였다. 형광 강도 측정은 +/-1 이내의 변화를 보였다. 2) 외부간섭 (Exogenous): EDTA는 혈청에 대하여 간섭을 보이지 않았으며, 혈청이 없는 대조군은 음성 반응을 보였다.																										
6	교차	교차 반응 결과가 0.0%에서 35.5%까지 나왔다. IBD에서는 교차반응																										

체외진단의료기기

반응	이 발견되지 않았고, ALD에서는 일부 ANA에서 양성 측정이 있었다. PPA에서는 더 높은 비율의 양성 ANA 패턴을 야기하는 IgG 레벨이 더 높았다. ID 그룹은 어떠한 감염이 진단되는지 알 수 없는 그룹이다. 항핵 항체는 감염 환경에서 일반적이지만, 전신 루푸스를 예측하지 않는다(Ann Rheum Dis 2004;63:1707-1708, Doi: 10.1136/ard.2003.020198). 따라서 허용기준을 달성하였다.
----	---

6. 사용방법

6.1 검체 준비 및 저장방법

1) 검체 채취 및 저장방법

혈액은 정맥천자를 통해 채취한다. 혈청은 원심분리에 의해 응고된 후에 분리된다. 검체는 2-8℃에서 2일간 보관할 수 있다. 장기보관이 필요할 경우, -20℃에 보관한다. 검체의 냉·해동을 반복하는 것을 금한다. 만일 검체를 여러 분석법에 사용해야 한다면, 처음에 검체를 분취하고 -20℃에서 보관한다.

※ 검체준비 시 주의사항

유미혈청은 세포기질을 덮는 막을 형성할 수 있으므로 사용해서는 안 된다. 오염된 혈청은 세포기질을 소화하는 단백질분해효소를 포함하고 있을 수 있으므로 사용해서는 안 된다. 사용 전에 모든 검체를 실온으로 둔다. 균질성을 보장하기 위해 혈청검체를 부드럽게 휘저어 준다.

2) 검체 희석 방법

■ 정성분석 (Screening): 환자검체는 사용 전에 1:80 (v/v) 으로 희석되어야 한다.

e.g. 5ul 환자검체 + 395 검체희석용액(B)

■ 반정량분석 (Titration): 검체희석용액(B)을 사용하여 1:80(v/v) 희석에 대해 4배 계단희석을 준비한다.

e.g. 100ul 환자검체+300ul 희석액(B)로 다음의 희석배수를 만들어 낸다.

1:80, 1:320, 1:1280, 1:5120 등.

6.2 검사 전 준비과정

1) 시약의 준비

■사용 전에 모든 시약을 실온으로 둔다. (18~25℃)

■거품이 생기지 않도록 시약을 부드럽게 섞어준다.

2) 검체 희석

■정성검사(Screening) : 환자혈청은 사용 전에 1:80(v/v)으로 희석되어야 한다.

e.g. 5ul 환자혈청+395ul 희석액(B)

■반정량검사(Titration) : 희석액(B)으로 1:80(v/v)의 희석에 대해 4배 계단희석을 준비한다.

e.g. 100ul 환자혈청+300ul 희석액(B)

: 1:80, 1:320, 1:1280, 1:5120 등.

6.3 검사과정

1) 사용 전에 모든 시약을 실온에 놔두고(18-25℃), 거품이 형성되지 않도록 부드럽게 섞어준다.

사용 직전에 슬라이드를 파우치에서 꺼내고 마킹펜으로 슬라이드를 확인한다.

2) 양성/음성 대조용액 1방울(25-30ul)과 희석된 환자검체 25ul을 각각의 웰에 분주하고, 항원표면을 만지지 않는다.

3) 습윤챔버 내에서 실온으로 30분간 배양한다.(20-25℃)

4) 눌러서 짤 수 있는 세척통을 사용하여 PBS용액으로 부드럽게 행귀 준다. PBS용액을 웰 위에 직접적으로 흘려보내지 않는다. 교차오염을 방지하기 위해 웰간 세척을 금한다. 12웰 슬라이드의 경우, 두 줄을 따라 연속 슬라이드의 중앙에서부터 가장자리까지 PBS스트림을 실시한다.

5) PBS용액을 바꿔서 coplin jars 혹은 staining dishes에서 2X5분 동안 세척하고, 제거 전에 전반적으로 흔들어 준다.

6) 슬라이드를 한 번에 하나씩 세척에서 제거하고, 흡수타올 위에 얹

어진 슬라이드의 가장자리를 두드려 잔여 PBS를 방출한다. 템플릿(F)을 사용하여 웰 주변을 조심스레 건조한다.

7) 집합체 1방울(25-30ul)을 슬라이드의 각 웰에 분주하고 커버로 덮는다.

8) 직사광을 피해 습윤챔버 내에서 30분간 실온으로(20-25℃) 배양한다.

9) 눌러서 짤 수 있는 세척통을 사용하여 PBS용액(C에서 만들어진)으로 부드럽게 행귀준다. (4에 명시된 대로)

10) PBS용액을 바꿔서 coplin jars 혹은 staining dishes에서 2X5분 동안 세척하고, 제거 전에 전반적으로 흔들어 준다.

11) 슬라이드는 세척단계에서 제거하고, 잔여 PBS를 방출하고, 템플릿(F)을 사용하여 웰 주변을 건조한다.

12) 슬라이드 전체에 봉입제 1방울을 분주한다. 봉입제가 커버슬립과 슬라이드 사이에 연속적인 층을 형성할 수 있도록 커버슬립의 가장자리 부분을 슬라이드의 아랫부분에 댄다. 공기방울이 생기지 않도록 슬라이드의 하단에서 슬라이드 상단으로 커버슬립을 부드럽게 넣는다. 흡습제로 슬라이드 가장자리에서 잔여 봉입제를 따라낸다.

13) 형광현미경을 사용하여 염색된 슬라이드를 판독한다. 형광퇴색을 최소화하기 위해 한 가지범위에 오래 노출시키지 말아야 한다.

6.4 결과판정

1) 결과판정 기준: 형광강도

형광강도는 다음의 가이드라인에 따라 반정량 된다. (CDC, Atlanta, USA)

4+ = 최고형광, 밝은 황록색

3+ = 조금 밝은 황록색 형광

2+ = 분명하게 구별 가능하지만, 흐린 황록색 형광

1+ = 매우 흐릿한 형광

① 정성검사(양/음성) 판정

■양성결과 : 혈청희석은 형광염색이 명확히 식별 가능한 패턴으로 1+ 강도 or 그 이상에서 ANA 양성으로 간주한다.

■음성결과 : 혈청희석은 HEp-2 cell이 1+ 보다 적은 형광을 보일 경우와 명확히 식별 가능한 패턴이 부족해 보일 경우 ANA 음성으로 간주한다. Cell은 에반스 블루 대조염색(Evans blue counterstain)으로 인해 주홍색을 나타낸다.

② 반정량검사(역가) 판정

반정량 역가법이 실시된다면, 결과는 명확히 식별 가능한 패턴을 가진 1+ apple-green 형광강도가 검출되는 마지막 희석배수의 역수로 보고되어야 한다.

권장되는 4-배 연속 희석법으로 endpoint titer를 추정할 수 있다:

1:80 = 3+

1 "320 = 2+

1:1280 = +/-

1:5120 = - 추정 역가는 640

일반적으로 90 및 160의 역가는 약-양성으로 간주되고, 320 및 640은 중간역가, 1280은 강-양성으로 간주 된다.

2) 결과해석 기준

HEp-2 cell의 핵과 세포질 염색에 따라서 다양한 염색무늬를 나타낸다.

① Homogeneous: 핵소체의 외견가림(apparent masking)이 있거나 없는 전체 핵의 균질염색(Diffuse staining). 특히, 항체가 endpoint에 도달하면 패턴이 파립형으로 나타날 수 있다. 유사분열세포의 염색체 영역은 밝은 양성 염색 패턴을 나타낸다.

항원: DNA, histones

관련질환: 높은 역가는 SLE를 암시하고, 낮은 역가는 SLE와 RA에서 발견된다; 히스톤 항체 자체는 약물유발성루푸스와 높은 연관이 있다.

체외진단의료기기

② Peripheral: 주로 핵의 바깥부분 주위에 부드럽게 염색되고 중앙에 약하게 염색된다. 반드시 모든 cell이 Peripheral을 나타내는 것은 아니고, 일부 cell은 Homogeneous를 보일 수 있다. 유사분열세포의 염색체 영역은 밝은 양성염색패턴을 보여준다.

주의: mitotic cell 내의 염색체 영역의 염색이 없는 핵 주변에 얇고 분명한 선은 peripheral ANA가 아니지만 핵막 패턴이다.

항원: DNA, histones

관련질환: 높은 역가는 active SLE를 암시하고, 낮은 역가는 SLE와 다른 결합 조직 질병들을 암시한다.

③ Speckled: 형광물질은 핵 전체에 응집되며 존재하는 항체타입에 따라 응집이 거칠어 질 수 있다. 하나의 검체에 하나 이상의 반점이 발견될 수 있다.

유사분열세포의 염색체 영역은 보통 음성이다.

a) Sm and nRNP 항체: 보통 coarse speckles로 나타나며, 핵소체는 종종 염색되지 않는다. 유사분열기세포의 염색체는 음성이다.

관련질환: Sm 항체는 SLE에 매우 특이적이며 다음 질환의 표지자로 보인다; nRNP 항체의 고농도만이 MTCD의 특징이며, 다른 유형의 ANA anti-nRNP는 SLE, RA, PSS에서 발견된다.

b) SS-A 및 SS-B 항체: SS-A 및 SSA-B 항체는 유사분열세포의 염색체 부위가 음성인 균일분포 내의 작은 균일반점으로 나타난다.

관련질환: SS-A 및 SS-b 항체는 RA가 없는 쇼그렌증후군 환자에서 빈번히 발견되며, SLE환자에서는 자주 발견되진 않는다. 항-SS-A는 선천성심부전(Congenital heart block) 및 신생아홍반(neonatal lupus)에서 많이 발견된다.

c) Scl-70 항체: Scl-70 항체는 핵소체 및 유사분열세포의 염색체부분의 양성염색으로, 반점이 세밀하게 밀집된 모양으로 표시된다.

관련질환: 항-Scl-70은 PSS (전신피부경화증)의 표지자로 본다.

d) PCNA 항체

세포의 약 30-60 %에서 미세한 거친 얼룩의 다양한 형광으로 존재한다.

관련질환: 항-PCNA는 SLE (전신성홍반성루푸스) 환자에서 낮은 비율로 발견된다.

④ Centromere: 핵 전반에 분리된 균일 반점이 정상염색체 수의 배수만큼 있다.

유사분열세포의 염색패턴은 염색체의 염색패턴을 따르며, 세포분열 중기동안 2쌍의 점으로 염색체의 적도면에 정렬되고, 세포분열후기 동안 각 세포중심소체를 향해간다.

주의: 유사염색(multiple nuclear dots; 다수의 핵 점)은 NSP-1(SPI100)항체에 의해 발생된다. 이런 항체는 유사분열세포의 염색체 부위가 염색이 되지 않는 점에서 동위원소 항체(Centromere antibody)와 구별될 수 있다.

항원: 염색체의 동위원소 단백질

관련질환: 동위원소항체는 크레스트 증후군의 표지자로 분류되며, 드물게 광범위피부경화증 및 레이노병에서 발견된다.

⑤ Nucleolar: 세포핵 소체의 형광염색은 염색되지 않은 핵질에서 급격히 분리된다. 핵소체형광염색은 homogeneous, speckled 혹은 clumpy로 염색될 수 있다. 대개 반점무늬를 동반하여 염색된다.

항원: PMSI, RNA 중합효소 1, 피브릴라린

관련질환: 높은 역가는 전신피부경화증(PSS)을 암시하고 다발성근염(Polymyositis)과 겹친다. 낮은 역가는 SLE, 쇼그렌증후군, 레이노병에서 발견된다.

⑥ Anti-spindle antibodies: 유사분열세포 내의 중심체를 연결하는 실망.

항원: 유사분열 중인 세포의 방추체.

관련질환: 일부 자가면역질환 및 비자가면역질환에서 빈도가 낮다. (RA; 류마티스관절염, SLE; 전신홍반루푸스, PBC; 원발성담즙성 간경변증, Carpal Tunnel Syndrome; 수근관증후군)

⑦ Cytoplasmic fluorescence (세포질 형광): 세포질 내에 아주 작은 알갱이모양 혹은 섬유질 모양의 형광염색

a) Ribosomal RNP: 세포질 전반에 아주 작은 알갱이모양의 형광염색이 퍼져있다. (적절한 조직부위의 확인이 권장된다.)

b) Jo-1 (PL-7, PL-12): 일반적으로 핵주위에 집중된 낮은 형광강도의 미세한 반점.

관련질환: 다발성근염(Polymyositis), 피부근염(dermatomyositis)

c) Mitochondrial: 섬유망 내 세포질 전반에 이산 얼룩

(적절한 조직부위의 확인이 권장된다.)

관련질환: RBC(원발성담즙성 간경변증)의 표지자

d) Cytoskeleton (세포골격): 세포막으로부터 연결되는 가늘고 긴 망의 세포질 내 형광가닥은 액틴항체(평활근항체) 및 세포골격의 다른 성분 (비멘틴, 튜불린)에 의해 생성, 적절한 조직부위의 확인을 권장한다.

관련 질환: 항-액틴 항체가 자가면역간염과 감염 질환에서 흔히 발견한다.

6.5 정도관리

본 시약에 제공되는 양성 및 음성 컨트롤은 반드시 각 검사마다 포함해야 한다. 본 컨트롤은 검사샘플을 판독하기 이전에 반드시 검사되어야 하며, 다음의 결과를 증명해야 한다.

음성컨트롤: 세포는 1+형광 미만을 나타내야 하고 대조염색에 의한 붉은 오렌지형광을 나타내야 한다.

양성컨트롤: 세포는 형광강도가 3+, 4+로 라벨에 명시된 염색패턴을 나타내야 한다.

위에 언급된 품질관리기준을 충족하지 못할 시, 재검을 실시해야 하고, 검사절차가 올바르게 진행되었는지 확인해야 한다. (배양시간 및 온도, 검체 및 세척액 희석, 세척 단계 등). 결과가 반복해서 품질관리 기준을 충족하지 못하면 담당자에게 연락을 취한다. 문제해결 가이드는 실험실 검사절차를 확인하는데 사용될 수 있다.

7. 사용 시 주의사항

1. 체외진단용(전문가용)으로만 사용한다.
2. 검사지침을 주의 깊게 따른다.
3. GA GENERIC ASSAYS GmbH 및 대리점은 설명서에 기재된 절차를 변경하거나 수정함으로써 간접적으로 또는 결과적으로 초래된 손해에 대해 책임을 지지 않는다.
4. 본 키트는 숙련된 검사자만 사용해야 한다.
5. 개별라벨이 명시된 유효기간을 준수해야 하며, 명시된 유효기간은 재구성시약에 대해서도 동일하게 준수해야 한다.
6. 기질슬라이드는 보호가스로 밀봉된 파우치 안에 개별 포장되어 있다. 파우치에 표기된 대로, 파우치에 구멍이 있으면 사용하지 않는다.
7. 다른 로트의 시약 혹은 다른 제조사의 시약을 혼합하여 사용할 경우 시험결과가 달라질 수 있다.
8. 시약을 파이렛 할 때 시간차를 주지 않는다.
9. 모든 시약은 사용 전에 2-8℃에서 보관해야 한다.
10. 몇몇 시약은 보존제로 소량의 Sodium azide(<0.1%)를 포함하고 있으므로 삼키거나 피부에 접촉해서는 안 된다.
11. 본 시약을 제조하는데 사용된, 인간체액 혹은 기관에서 추출한 원료물질을 검사하여 HBsAg 및 HIV 뿐만 아니라 HCV항체에서도 음성임을 확인하였으나, 바이러스인자가 없음을 보장하는 것은 아니므로 모든 시약 및 환자검체는 잠재적 위험성을 가진 것으로 취급한다.
12. 본 시약은 잠재적 위험성을 가진 물질들을 함유하고 있으므로, 다음의 주의사항을 준수해야 한다.
 - 본 시약을 취급하는 동안, 흡연, 음식 및 음료를 섭취하지 않는다.
 - 항상 보호 장갑을 착용한다.
 - 구성품을 입으로 물지 않는다.

체외진단의료기기

- 유출물을 즉시 닦아내고, 오염된 표면을 제거제로 완전히 세척한다.
- 13. 본 시약을 사용하여 단독으로 임상적 진단을 내려서는 안 된다.
- 14. 전문의는 진단할 수 있는 모든 임상 및 검사소견을 고려하여야 한다.
- 15. 정상성인인구의 약 10%까지는 항-핵 항체를 보인다.
ANA는 연령 및 성별과 관련이 있다고 알려져 있다. 연령이 증가함에 따라 ANA 발생률이 증가한다. 따라서 약-양성 역가결과는 다른 임상소견을 보이지 않는 특정 개인에게는 정상일 수 있다. 하지만 연령이 낮은 정상인에서는 ANA가 발견되지 않는다.
스테로이드치료를 받고 있는 SLE(전신성홍반성루푸스)환자 혹은 병에 차도가 있는 환자는 ANA음성을 보일 수 있다. 몇몇 양성 ANA는 결합조직병을 앓고 있는 환자의 친척에서 나중에 ANA관련 질병이 발병할 수 있다고 보고된다.
- 16. 엔드포인트역가결정은 사용되는 형광현미경의 종류와 상태에 따라 달라질 수 있으며 실험자의 주관적인판단에 따라 달라질 수 있다.

8. 저장방법 및 사용기한

용기 등의 기재사항 참조.