

tVitD Reag

058851/02-2601

体外診断用医薬品

25-ヒドロキシビタミンDキット
ビトロス® 25 水酸化ビタミンD トータル

承認番号：23100EZ00003000

【全般的な注意】

- ・本製品は、体外診断用医薬品であり、それ以外の目的には使用しないで下さい。
- ・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下さい。
- ・本電子添文に記載された以外の使用方法については保証を致しません。
- ・全てのヒト由来の物質には感染の危険性があります。現在のところHBV、HCV、HIV及び他の感染症関連検査で感染性を完全に否定できる検査法はありませんので、感染の危険性があるものとして取り扱って下さい。
- ・使用する機器及び試薬の電子添文又は取扱説明書をよく読んでから使用して下さい。
- ・構成試薬（発光試薬 A*）は、アジ化ナトリウム（0.01%）及び四ホウ酸ナトリウム（1.4%）を含み、構成試薬（発光試薬 B*）は、アジ化ナトリウム（0.005%）を含むので、誤って目や口に入ったり皮膚に付着した場合には、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等を受けて下さい。また、アジ化ナトリウムは、金属アジ化物を形成するので、廃棄に際しては十分な量の水で洗い流して下さい。
- ・本製品には、ProClin950 が含まれています。アレルギー反応や過敏反応を引き起こす可能性がありますので、皮膚との接触を避け、適切な手袋を着用して下さい。

*：専用の別売品

【形状・構造等（キットの構成）】

- 1) 試薬パック
 - (1) 固相ウェル
ビオチン化抗ビタミンD ヒツジモノクローナル抗体
 - (2) コンジュゲート
ホースラディッシュペルオキシダーゼ（HRP）標識 25-ヒドロキシビタミンD
 - (3) アッセイ試薬
- 2) ビトロス発光試薬 A, B
 - (1) ビトロス発光試薬 A*
3-アミノフタルヒドラジンナトリウム
 - (2) ビトロス発光試薬 B*

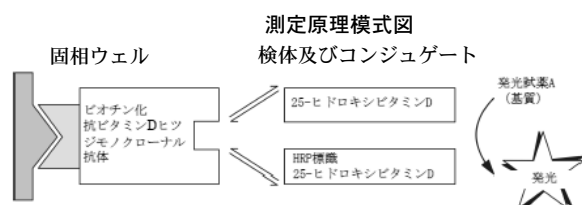
*【使用目的】

血清中の 25-ヒドロキシビタミンD の測定（ビタミンD 欠乏症の診断の補助並びに代謝性骨疾患におけるビタミンD 欠乏症の診断の補助及びビタミンD 不足状態の判定の補助）

【測定原理】

本品は、競合法の原理に基づいた、化学発光酵素免疫測定法（CLEIA法）による、25-ヒドロキシビタミンD の測定キットです。固相ウェルに検体、アッセイ試薬及びコンジュゲートを分注することにより、検体中の 25-ヒドロキシビタミンD がビタミンD 結合蛋白より離脱して、固相ウェル上のビオチン化抗ビタミンD ヒツジモノクローナル抗体と結合し、ホースラディッシュペルオキシダーゼ（HRP）標識 25-ヒドロキシビタミンD と競合反応を起こします。

非結合物を洗浄試薬により洗い流した後、固相ウェルに基質である 3-アミノフタルヒドラジンナトリウム（発光試薬 A）を加えて発光させ¹、その発光量を自動分析装置で読み取ります。検体中の 25-ヒドロキシビタミンD の量は、発光量に反比例し、25-ヒドロキシビタミンD 既知濃度のキャリブレーターにより補正した標準曲線より求めます。



【操作上の注意】

- 1) 測定試料の性質、採取法
 - ・採血前の患者への特別な処置は不要です。
 - ・血清を用いて下さい。
 - ・赤血球・その他の有形成分、沈殿物、浮遊物が含まれている検体では、測定値に影響を与える場合がありますので、正しい結果が得られるように、遠心または除去した後に使用して下さい。
 - ・血漿検体（抗凝固剤：クエン酸、ヘパリン、EDTA）は使用しないで下さい。
 - ・一般に、検体採取器具が測定に影響を与える場合があることが知られています。ご使用の検体採取器具が測定に適したものであることを確認して下さい。²
 - ・使用前には、検体を 15~30℃に戻し、十分に転倒混和してから測定して下さい。
 - ・装置上で使用する検体容器の最小充填量については、ご使用の装置の取扱説明書を参照して下さい。
 - ・検体の保管には、汚染や蒸発を防止するため、密閉可能な容器を使用して下さい。
 - ・患者検体の二次汚染を避けるため、検査室の手順に従って下さい。
 - ・装置上での検体の蒸発を防止するため、装置上への装填は最小限の時間として下さい。詳しくは装置の取扱説明書を参照して下さい。
 - ・検体は 2~8℃で 7 日間、-20℃で 4 週間保存可能です。
 - ・検体の凍結・融解の繰り返しは避けて下さい。
 - ・使用後の検体はできるだけ早く 2~8℃で保存するか、1 回の測定に必要な検体量のみを機器に装填して下さい。
 - ・各施設の手順に従い、検体を採取して下さい。
- 2) 妨害物質・妨害薬物
 - ・ビタミンD 誘導体であるパリカルシトールは、以下の濃度において正誤差を生じることが確認されています。

妨害物質の濃度	単位：ng/mL	
	測定物質の濃度	バイアス
24 ng/mL	10.5	125

・干渉物質

ビトロス 25 水酸化ビタミンD トータルは、CLSI 文書 EP07³ に従って干渉に対する評価が行われています。25 水酸化ビタミンD 濃度 30-80ng/mL の検体で行った検査では、検査対象化合物の中には 10%を超える誤差を引き起こすものではありませんでした。

化合物	濃度	
アセトアミノフェン	1324 μ mol/L	200 μ g/mL
アセチルサリチル酸	3.62 mmol/L	65.16 mg/dL
非飽和ビリルビン	513 μ mol/L	30 mg/dL
飽和ビリルビン	356 μ mol/L	30 mg/dL
ビオチン	61.35 nmol/L	1.5 μ g/dL
ヘモグロビン（溶血）	0.124 mmol/L	200 mg/dL
イブプロフェン	0.576 mmol/L	12 mg/dL
トリオレイン	33.0 mmol/L	3000 mg/dL

・内因性物質

CLSI 文書 EP7 A2-Section 8³ に準拠してピトロス 25 水酸化ビタミン D トータルの妨害物質を試験しました。正常群と疾患群又は臨床サブグループ群から検体を採取し、25-OH ビタミン D 濃度を測定しました。検体は比較試験として LC-MS/MS により試験し、正常群と疾患群の比較試験に対するバイアスを評価しました。信頼間隔は統計学的差異を示しませんでした。

サブグループ	濃度
コレステロール	306 mg/dL
HAMA	160,000 IU/mL
リウマチ因子	3800 IU/mL
総タンパク	12.5 g/dL
トリグリセリド	491 mg/dL

3) その他

- ・特定の薬剤及び臨床症状によって、体内の 25-ヒドロキシビタミン D の濃度が変動することが知られております。疾患の診断には他の検査成績や臨床症状を考慮して、総合的に判断して下さい。^{4,6}
- ・血清又は血漿中のヘテロフェリック抗体（異好性抗体）は、全ての抗原・抗体反応に干渉する恐れがあります⁷。この抗体は、定期的に動物を取り扱う人や、動物由来血清による治療を受けたことがある人から採取された血液検体に存在する可能性があります。
- ・本製品は分析機器ピトロスシリーズ用の体外診断用医薬品です。
- ・破損している又は封入が不完全など、目視により損傷が認められる場合は使用しないで下さい。

【用法・用量（操作方法）】

1) 試薬の調製法

- ・本製品は、調製済みです。そのまま使用して下さい。

2) 必要な器具・器材・試料等

- ・自動分析装置
- ・ピペット及びピペットチップ
- ・コントロール試薬（別売）
- ・ピトロス 25 水酸化ビタミン D トータル キャリブレーター1～2*
- ・ピトロス洗浄試薬*
- ・ピトロス発光試薬 A, B*

3) 測定(操作)法

(1)操作手順

- ・専用の分析機器ピトロスシリーズを使用します。
- ・測定を実施するのに十分な器具、関連試薬を準備して下さい。
- ・自動分析装置の操作の詳細については、使用する機器の取扱説明書を参照して下さい。

(2)検体希釈

- ・検体は、測定に先立って、測定対象物質の濃度が低値の適切なヒト血清で、最大 2 倍まで希釈することができます。
- 希釈方法
 - 1.検体を 25-ヒドロキシビタミン D が低濃度の患者血清で希釈します。
 - 2.再測定
 - 3.必要に応じて、希釈液の 25-ヒドロキシビタミン D 濃度で補正します。

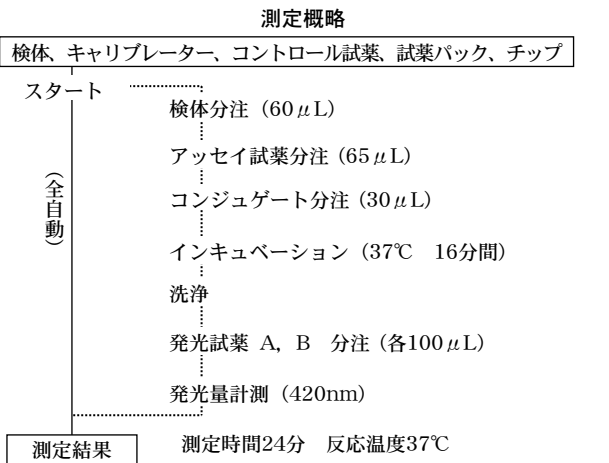
希釈係数を乗じるとともに、希釈液中の 25-ヒドロキシビタミン D 濃度を差し引いて、元の検体における 25-ヒドロキシビタミン D 濃度の理論値を求めます。

(3)キャリブレーション

- ・測定に先立ってキャリブレーションを実施して下さい。
- ・また以下のタイミングで、キャリブレーションを実施して下さい。
 - －ロット変更時
 - －28 日間毎
 - －定められたメンテナンスが実施された後
 - －コントロール試薬（別売）の測定結果が、連続して許容範囲を超えた時
- ・詳細については各自動分析装置の取扱説明書等を参照して下さい。

(4)精度管理

- ・25-ヒドロキシビタミン D を含む適切な濃度のコントロール試薬の使用を推奨します。
- ・市販のコントロール試薬（別売）を精度管理に用いる際は、測定の前に、本品との適合性を確認して下さい。
- ・保存剤、安定化剤、その他非生理的添加物が高濃度含まれる場合など、ヒト検体からかけ離れたコントロール試薬を用いると、他の製品と異なる測定結果が示されることがあります。
- ・適切な規格範囲を設定して下さい。
- ・システムの性能を検証するため、以下のタイミングで、コントロール試薬（別売）を測定して下さい。
 - －キャリブレーション実施後
 - －施設の規定に従う、又は、少なくとも各測定日毎に 1 回
 - －定められたメンテナンスが実施された後
- 施設の手順にて、上記タイミング以上の頻度で、コントロール試薬（別売）を用いた精度管理を行うよう求められる場合は、その規定に従って実施して下さい。
- ・コントロール試薬（別売）は、検体と同じ手順で測定して下さい。
- ・コントロール試薬（別売）の測定結果が許容範囲外の場合、測定結果の報告を検討する前に、原因を調査して下さい。
- ・推奨される精度管理の手順については、認知された規格やガイドラインを参照して下さい。
- 詳しくは装置の取扱説明書を参照して下さい。



【測定結果の判定法】

1) 測定結果の判定

測定結果は、装置によって自動的に計算されます。測定結果の単位は、ng/mL または nmol/L であらわされます。単位の設定は、装置の取扱説明書を参照して下さい。

慣用単位	代用単位
ng/mL(nmol/L×0.4)	nmol/L(ng/mL×2.5)

2) 参考基準範囲

各施設において、それぞれの患者集団に対する参考基準範囲を設定することを推奨します。文献にて報告されている参考基準値は以下のとおりです⁸。

状態	範囲
	ng/mL
ビタミンD欠乏状態	<20
ビタミンD不足状態	20-<30
ビタミンD充足状態	30-100
毒性を示す可能性がある状態	>100

【測定項目について】

ビタミン D は、ビタミン D₂（エルゴカルシフェロール）とビタミン D₃（コレカルシフェロール）の 2 つから構成される脂溶性のステロイドホルモンです。ビタミン D は、紫外線（UV-B 線）や日光照射で皮膚暴露されると体内で生成されるコレステロールから合成されるほか、食事により摂取することができます。ビタミン D は、肝臓で水酸化されて 25-OH ビタミン D になり、さらに腎臓で水酸化されて生物学的活性型の 1,25-(OH)₂ ビタミン D になります。

活性ホルモンは血漿副甲状腺ホルモンレベル、血清カルシウムやリンレベルに調整されます。活性型である 1,25-(OH)₂ ビタミン D は、骨代謝の調整に必要なカルシウムやリンの腸内（腸管）吸収を増加させます。ビタミン D 代謝産物は、ビタミン D 結合タンパクに結合し全身に循環（還流）されます。

1,25-(OH)₂ ビタミン濃度は 25-OH ビタミン D の 1000 倍低く、半減期は 4 時間です。2-3 週間の半減期により、25-OH ビタミン D は、ビタミン D の信頼性の高い臨床指標である代謝産物になります⁸。さらに、25-OH ビタミン D 濃度レベルは身体のビタミン D 貯蔵レベルの指標となり、ビタミン D 欠乏の臨床症状と関連します。⁹

18 世紀後半、ビタミン D はくる病予防の必須栄養素として認識されていました。近年の研究では、ビタミン D 欠乏は癌（乳がん、結腸がん、前立腺がん）、循環器疾患（心疾患）、骨粗しょう症、骨軟化症、特に一部の自己免疫疾患のような生活習慣病と関連があることが報告されています¹⁰。

【性能】

1) 性能

(1) 感度試験

①社内参照キャリブレーターを操作するとき、25-ヒドロキシビタミン D 濃度 40ng/mL の発光量(A)と、25-ヒドロキシビタミン D 濃度 50ng/mL の発光量(B)を用いて、下式で計算した発光量の差の割合(C)は、0.059 から 0.999 の範囲内となります。

$$(C)=(A-B)/A$$

②社内参照キャリブレーターを操作するとき、25-ヒドロキシビタミン D 濃度 90ng/mL の発光量(D)と、25-ヒドロキシビタミン D 濃度 110ng/mL の発光量(E)を用いて、下式で計算した発光量の差の割合(F)は、0.107 から 0.999 の範囲内となります。

$$(F)=(D-E)/D$$

(2) 正確性試験

既知濃度のコントロールを測定するとき、25-ヒドロキシビタミン D 濃度約 45.0ng/mL、約 65.0ng/mL 及び約 105ng/mL の測定結果は、それぞれ既知濃度の±18%以内となります。

(3) 同時再現性試験

既知濃度のコントロールを 4 回以上同時に測定するとき、25-ヒドロキシビタミン D 濃度約 45.0ng/mL 及び約 65.0 ng/mL の CV 値は 15%以下になります。

2) 相関性試験成績

* (1) 血清検体 110 例を使用した、他法（ECLIA 法）との相関性試験成績は以下のとおりです（Passing-Bablok 法）¹¹。

相関係数 $r=0.9682$

回帰式 $y=1.0916x-0.7967$

(2) 血清検体 105 例を使用した、他法（CLIA 法）との相関性試験成績は以下のとおりです（Passing-Bablok 法）¹¹。

相関係数 $r=0.9648$

回帰式 $y=1.1581x-1.9135$

(3) 血清検体 105 例を使用した、他法（CLEIA 法）との相関性試験成績は以下のとおりです（Passing-Bablok 法）¹¹。

相関係数 $r=0.9638$

回帰式 $y=1.1897x+0.2552$

(4) 血清検体 105 例を使用した、LC-MS/MS との相関性試験成績は以下のとおりです（Passing-Bablok 法）¹¹。

相関係数 $r=0.9538$

回帰式 $y=0.9693x-0.4780$

3) 測定範囲（例示）

8.00 – 150 ng/mL

4) 校正用の基準物質（標準物質）

キャリブレーターは、社内標準品に基づいて値付けされています。

5) 交差反応

25-ヒドロキシビタミン D を含む検体に、下記ビタミン D 代謝物を添加して、交差反応を評価した結果は以下の通りです。

対象物質	濃度	検体濃度	添加後の平均濃度	交差反応性
	ng/mL	ng/mL	ng/mL	%
ビタミンD ₂ (Ergocalciferol)	100	8.81	9.77	1.0
ビタミンD ₃ (Cholecalciferol)	100	8.81	9.66	0.9
25-OH ビタミンD ₂	100	8.10	113	104.9
25-OH ビタミンD ₃	100	8.10	107	98.9
1,25(OH) ₂ ビタミンD ₂	0.2*	8.81	10.1	>100
1,25(OH) ₂ ビタミンD ₃	0.2*	8.10	8.09	-5.0
24,25(OH) ₂ ビタミンD ₃	10*	7.92	11.4	34.8
3-epi 25-OH ビタミンD ₃	100	7.92	45.3	37.4

*試験濃度は内因性物質の通常濃度の 2 倍から 4 倍である。

%交差反応=[(添加したプールの平均値(ng/mL)－添加していないプール平均値(ng/mL))×100]／交差反応性物質の濃度(ng/mL)

【使用上又は取扱い上の注意】

1) 取扱い上（危険防止）の注意

- 全てのヒト由来の物質には感染の危険性があります。現在のところ、HBV、HCV、HIV 及び他の感染症関連検査で、感染性を完全に否定できる検査法はありませんので、検体や構成試薬は感染の危険性があるものとして取り扱って下さい。
- 構成試薬（発光試薬 A*）は、アジ化ナトリウム（0.01%）及び四ホウ酸ナトリウム（1.4%）を含み、構成試薬（発光試薬 B*）は、アジ化ナトリウム（0.005%）を含むので、誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合に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等を受けて下さい。
- 本製品には、ProClin950 が含まれています。アレルギー反応や過敏反応を引き起こす可能性があるため、実験衣、手袋、安全メガネ等を着用し、皮膚や目に付着しないよう注意して下さい。
- 身体汚染防止のため、作業室内ではゴム手袋、専用の実験衣、安全メガネを着用して下さい。
- 作業室内では、飲食・喫煙はしないで下さい。又ビペットを口で吸わないで下さい。

2) 使用上の注意

- 本品は、均一な液状の試薬です。装填前に、試薬を振る、混和することは不要です。
- 結露を防ぐため、冷蔵保存された試薬パックは直ちに機器に装填して下さい。
- 使用期限を過ぎた試薬類は使用しないで下さい。
- 試薬の凍結を避けて下さい。
- 開封した本製品は、システム上か、密封した乾燥剤入りの容器に保管して下さい。
- 本製品の試薬が泡立っていると、キャリブレーションや測定が実行出来なかったり、誤った結果を示す恐れがありますので、装填前に、試薬を振ったり、混和させたりしないようご注意ください。また転倒、落下、振動等の衝撃を与えないように取り扱って下さい。
- もし転倒、落下してしまった場合、コントロール試薬（別売）で確認してから使用して下さい
- 本製品は下記保管条件で、安定性欄に示す期間内において使用可能です。

試薬パック	保管条件	安定性
未開封	2～8℃	有効期限まで
開封済	装置上	≤8週
開封済	2～8℃	≤8週

- ・本製品とキャリブレーター*は同一ロットを使用して下さい。
 - ・キャリブレーター*は、使用前に検体を 15～30℃に直し、十分に転倒混和してから測定して下さい。
 - ・キャリブレーター*の保管には、汚染や蒸発を防止するため、密閉可能な容器を使用して下さい。
 - ・装置上でのキャリブレーター*の蒸発を防止するため、装置上への装填は最小限の時間として下さい。詳しくは装置の取扱説明書を参照して下さい。
 - ・キャリブレーター*は、使用後はただちに 2～8℃に戻すか、必要量のみを分注して使用して下さい。
 - ・発光試薬 A, B*は調製済みですので、そのままご使用いただけます。
 - ・発光試薬 A, B*は自動分析装置にローディング後、7 日間使用可能です。
 - ・作業室内全体の十分な換気をお勧めします。
 - ・試薬の注ぎ足しはしないで下さい。
- 3) 廃棄上の注意
- ・不要な検体、ヒト由来の試薬、測定済み試薬、廃液および汚染されたチップ類は、感染の危険性があるものとして適切な滅菌処理を行った後、廃棄して下さい。〔例：殺菌剤処理（次亜塩素酸ナトリウム液（有効塩素濃度 1,000ppm 以上）または 2%グルタールアルデヒド液、1 時間以上）またはオートクレーブ滅菌処理（121℃、20 分以上）〕
 - ・構成試薬（発光試薬 A*）は、アジ化ナトリウム（0.01%）及び四ホウ酸ナトリウム（1.4%）を含み、構成試薬（発光試薬 B*）は、アジ化ナトリウム（0.005%）を含みます。アジ化ナトリウムは金属アジ化物を形成するので、廃棄に際しては十分な水で洗い流して下さい。
 - ・検体、試薬、廃液及び器具等を廃棄する場合は、水質汚濁防止法等の規定に従って処理して下さい。
 - ・検体、試薬、廃液等が飛散した場合には、次亜塩素酸ナトリウム液（有効塩素濃度 1,000ppm 以上）または 2%グルタールアルデヒド液（1 時間以上浸漬）等の適切な消毒剤でふき取して下さい。

【貯蔵方法・有効期間】

- 1) 貯蔵方法
凍結及び直射日光を避け、2～8℃で保存して下さい。

構成試薬	貯蔵方法	有効期間
試薬バック		
(1)固相ウェル	2～8℃	46週間
(2)コンジュゲート	2～8℃	46週間
(3)アッセイ試薬	2～8℃	46週間
ビトロス発光試薬A, B		
(4)発光試薬A	2～8℃	26週間
(5)発光試薬B	2～8℃	26週間

使用期限は、製品に表示しております。

【包装単位】

製品コード	製品名	包装
058851	ビトロス 25水酸化ビタミン Dトータル試薬バック	100テスト
製品コード	製品名	包装
068010	ビトロス 発光試薬A, B	各2本 (各28mL)

【主要文献】

- 1.Summers M et al. Luminogenic Reagent Using 3-Chloro 4-Hydroxy Acetanilide to Enhance Peroxidase/Luminol Chemiluminescence. Clin Chem. 41 : S73 ; 1995.
- 2.Calam RR. Specimen Processing Separator Gels : An Update. J Clin Immunoassay. 11 : 86assayssayay
- 3.CLSI. Interference Testing in Clinical Chemistry ; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP7-A2 (ISBN 1-56238-584-4). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005.
- 4.Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. ed. 4. Washington, D. C. : AACC Press ; 1995.
- 5.Friedman RB, Young DS. Effects of Disease on Clinical Laboratory Tests. ed. 3. Washington, D. C. : AACC Press; 1997.

- 6.Tryding N, Tufvesson C, Sonntag O (eds). Drug Effects in Clinical Chemistry. ed. 7. Stockholm : The National Corporation of Swedish Pharmacies, Pharmasoft AB, Swedish Society for Clinical Chemistry ; 1996.
- 7.Levinson SS. The Nature of Heterophilic Antibodies and Their Role in Immunoassay Interference. J Clin Immunoassay. 15 : 108oassay. say.
- 8.Holick, MF et al. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency : an Endocrine Society Clinical PracticeGuideline ; J Clin Endocrin Metab. July 2011, 96(7).
- 9.Jeffrey K. C. Lai et al. : . Assessing vitamin D status : Pitfalls for the unwary. Mol. Nutr. Food Res. 2010, 54, 1-10.
- 10.Michael F. Holick. Vitamin D Deficiency. The New England Journal of Medicine. (2007) 357 : 266-281.
- 11.Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure of testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J. Clin Chem Biochem. 21 : 709-720, 1983.

* *【問い合わせ先】

オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社
お客様サポートセンター Tel. 0120-03-6527
〒104-0053 東京都中央区晴海二丁目 1 番 40 号
晴海プライムスクエア

* *【製造販売元】

オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社
お客様サポートセンター Tel. 0120-03-6527
〒104-0053 東京都中央区晴海二丁目 1 番 40 号
晴海プライムスクエア