

血液検査用 25-ヒドロキシビタミンD キット

ケミルミIM 25(OH)ビタミンD

■ 全般的な注意

- 本品は体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的に使用しないでください。
- 本品の測定結果は、患者の治療歴、臨床症状その他関連する他の検査結果等を考慮して総合的に判断ください。
- 電子添文に記載されている以外の使用方法については保証しません。
- ヒト由来成分を含む試薬は、感染性のあるものとして使用ください。
- 使用する機器の電子添文及び取扱説明書をよく読んでから使用ください。
- 適切な保護手袋、保護衣、保護用眼鏡及び顔防御マスクを使用し測定ください。

■ 形状・構造等（キットの構成）

1. ケミルミIM 25(OH)ビタミンD

基本試薬パック

構成試薬	内容量	成 分
標識試薬	5.0 mL	アクリジニウムエステル標識抗ビタミンDマウスモノクローナル抗体（略名：アクリジニウムエステル標識抗ビタミンD抗体）、アジ化ナトリウム（<0.1%）
固相化試薬	10.0 mL	抗フルオレセインマウスモノクローナル抗体結合磁性粒子（略名：抗フルオレセイン抗体結合磁性粒子）、アジ化ナトリウム（<0.1%）
補助試薬	5.0 mL	フルオレセイン結合ビタミンD類似体、アジ化ナトリウム（<0.1%）

補助試薬パック

構成試薬	内容量	成 分
前処理試薬	25.0 mL	緩衝液、アジ化ナトリウム（<0.1%）

校正剤

構成試薬	内容量	成 分
低濃度校正剤	2.0 mL/バイアル	25-ヒドロキシビタミンD、ヒト血漿含有ウシ血清アルブミン、アジ化ナトリウム（<0.1%）
高濃度校正剤	2.0 mL/バイアル	25-ヒドロキシビタミンD、ヒト血漿含有ウシ血清アルブミン、アジ化ナトリウム（<0.1%）

本キットにはマスターカーブカード、校正剤表示値カードが付属します。

2. 酸化剤/酸化補助剤（別売）

構成試薬	内容量	成 分
酸化剤	1500 mL / 本	0.5% 過酸化水素 0.1N 硝酸
酸化補助剤	1500 mL / 本	0.25N 水酸化ナトリウム

■ 使用目的

血清又は血漿中の25-ヒドロキシビタミンDの測定

■ 測定原理

本品の測定原理は、1ステップ競合法による化学発光免疫測定法です。本品は検体と前処理試薬を反応させ、ビタミンD結合タンパクと25-ヒドロキシビタミンD（以下、25(OH)D）を解離させます。これを標識試薬中のアクリジニウムエステル標識抗ビタミンD抗体と反応させ免疫複合体1を形成させます。これに固相化試薬と補助試薬を添加すると固相化試薬中の抗フルオレセイン抗体結合磁性粒子と補助試薬中のフルオレセイン結合ビタミンD類似体が、未反応のアクリジニウムエステル標識抗ビタミンD抗体と免疫複合体2を形成します。磁気を利用したB/F分離による洗浄後、酸化剤と酸化補助剤を添加すると、免疫複合体2のアクリジニウムエステルが化学発光します。この発光量を免疫化学発光測定装置により測定し、検体中の25(OH)D濃度に換算します。患者検体中の25(OH)ビタミンD量と機器によって検出されるRLUs（相対的発光量）の間には負の相関関係があります。

■ 操作上の注意

本品はケミルミ ADVIA Centaur XP/XPT（以下、ADVIA Centaur XP/XPT）の専用試薬です。

1. 測定試料の性質、採取法

本品の測定には血清又は血漿（EDTA、ヘパリンリチウム、ヘパリンナトリウム）検体を使用ください。

下記の記載内容はCLSI（Clinical and Laboratory Standards Institute）により推奨されている血液検体の取り扱い、保存方法です¹。それ以外の取り扱い、保存方法については各施設で検討の上、使用者の責任において設定ください。

- 静脈穿刺に関する感染予防措置を講じて、採血ください。
- 血清検体は遠心分離する前に完全に凝固させてください。
- 検体は常に栓をして立てた状態で保存ください。
- 採血後、検体は出来るだけ速やかに測定ください。
- 24時間を越えて室温に保存した検体は使用しないでください。
- 明らかに微生物汚染されている検体は使用しないでください。
- 24時間以内に測定が終了しない場合は、検体にしっかり栓をして2～8℃で冷蔵保存し、7日以内に測定ください。検体（血清）は血餅の上では6日まで保存が可能です²。
- 7日以内に測定を行わない場合は、-20℃以下で検体を凍結保存ください²。
- 検体の凍結は4回限りとし、融解後はよく混和ください²。
- 霜取り機能の無い冷凍庫で凍結保存ください。
- 保存検体は室温に戻してから使用ください。

検体を機器に装填する前に下記の事項を確認ください。

- 検体中には、フィブリンや浮遊物がないこと。浮遊物は遠心分離で除去ください（1000×g、10～15分間）。
- 検体には気泡がないこと。

2. 妨害物質・妨害薬剤

下記の濃度の内因性妨害物質による本品の測定結果への影響は、10%以下でした。

本試験はCLSI EP7-A2³に従って実施されました。

検体	濃度	
溶血	155 mg/dL	ヘモグロビン
脂肪血	540 mg/dL	トリグリセリド
黄疸性	40 mg/dL	抱合型ビリルビン
	40 mg/dL	非抱合型ビリルビン

物質	濃度
コレステロール	350 mg/dL
尿酸	20 mg/dL
ヒト免疫グロブリン	12 g/dL
フルオレセイン	0.1 μ g/mL

3. 特異性

本測定は、25 (OH) D₂ と 25 (OH) D₃ に高い特異性を示します。次の化合物を濃度既知の 25 (OH) ビタミン D (35 及び 115 ng/mL) を含む検体に添加したところ、下記の結果が得られました。

$$\text{交差反応 (\%)} = \frac{\text{検体の既知濃度}}{\text{化合物を添加した検体濃度}} \times 100$$

化合物	添加濃度 (ng/mL)	交差反応 (%)
1,25 (OH) ₂ ビタミン D ₂	100	4.0
1,25 (OH) ₂ ビタミン D ₃	100	1.0
25 (OH) ビタミン D ₂	30	104.5
25 (OH) ビタミン D ₃	30	100.7
パリアルシトール	24	0.1
3-エピ-25-OH ビタミン D ₃	100	1.1
ビタミン D ₂	1000	0.5
ビタミン D ₃	1000	0.3

■ 用法・用量（操作方法）

操作法の詳細は機器の取扱説明書を参照ください。

1. 試薬の調製と取扱い

校正剤を除く試薬は全て液状のためそのまま使用ください。
校正剤はメスピペットか精密ピペットを使って精製水 2.0 mL を分注し室温 (18～30℃) で 30 分静置します。溶解後、均一になるまで穏やかに転倒混和ください。

- (1) 基本試薬パックは機器に装填する前に手で混和ください。
- (2) 試薬パックの底の微粒子が全て分散し、試薬パックの底に沈殿物が無いことを確認ください。

注意：

- ・機器に装填後、28 日を経過した基本試薬パックは廃棄ください。
- ・使用期限の過ぎた試薬は使用しないでください。

2. 必要な器具・器材・試料等

- ・ADVIA Centaur XP/XPT
- ・ケミルミ 25 (OH) ビタミン D コントロール：ヒト血漿含有ウシ血清アルブミン、アジ化ナトリウム (<0.1%) 含有
- ・ケミルミ 25 (OH) ビタミン D 希釈液：アジ化ナトリウム (0.1%) 含有
- ・特殊洗浄液 1：アジ化ナトリウム (<0.1%) 含有

3. 機器への装填

- (1) 測定を開始する前に、機器に装填している試薬の量が測定に十分な量であることを確認ください。
- (2) 基本試薬パックをラベルの端にある矢印に合わせて、試薬挿入部に装填ください。
- (3) 装填後の試薬は、機器が自動的に攪拌するので、常に均一な懸濁液状に保たれています。
- (4) 補助試薬パックを補助試薬挿入部に装填します。

注意：補助試薬パックは基本試薬パックに対応しています。補助試薬パックのロットと異なるロットの基本パックと一緒にしないでください。
試薬の装填方法及び機器準備の詳細については機器の取扱説明書を参照ください。

4. 校正間隔と装填後の安定性

本品の校正には各キット中の 25 (OH) ビタミン D 校正剤を使用ください。校正剤は同梱の基本試薬パックに対応しています。

注意：各キット中の低濃度校正剤及び高濃度校正剤は同梱の基本試薬パック中の固相化試薬及び標識試薬に対応しています。校正剤のロットと異なるロットの基本試薬パックを組み合わせ使用しないでください。

機器装填後試薬（基本試薬パック）の安定性：28 日
校正間隔：28 日

以下の場合において校正剤による校正 (2 ポイントキャリブレーション) を実施ください。

- ・校正後、28 日経過したとき
- ・基本試薬パックのロットが変更になったとき
- ・機器の部品を交換したとき

- ・精度管理の結果が繰返し期待値から外れるとき

注意：ADVIA Centaur XP/XPT では、基本試薬パックの安定性で Use Beyond (期限を過ぎても使用) を選択している場合、機器は装填後の安定性期限が過ぎてもフラッグを表示しません。

- ・校正剤は機器に装填後 10 時間安定です。10 時間経過したサンプルカップに入った校正剤は廃棄ください。

- ・校正剤が蒸発している恐れがありますので、使用後の校正剤はバイアルに戻さないでください。性能に影響を及ぼす可能性があります。

- ・サンプルカップ中の校正剤の残量が少なくなったら注ぎ足さずに、必要に応じて新たに分注しなおしてください。

5. マスターカーブの校正

- ・新しいロットの試薬 (標識試薬、固相化試薬) を使用する際には、マスターカーブによって校正ください。
- ・ロットの変更ごとに、バーコードスキャナ又はキーボードで、試薬のマスターカーブ値を機器に入力ください。マスターカーブカードにマスターカーブ値が記載されています。
- ・マスターカーブ値の入力方法の詳細については機器の取扱説明書を参照ください。
- ・マスターカーブ値は、基本試薬パックのロットに対応しているので、校正剤ロットと異なる試薬ロットを組み合わせ使用しないでください。

6. 検体量

1 回の測定に必要な検体量は 20 μ L です。この検体量には、検体カップ内の測定に使用できない量 (dead volume)、2 重測定や再測定や自動希釈等を実施する際にさらに必要となる量は含まれていません。最小必要量の測定の詳細に関しては機器の取扱説明書を参照ください。

7. 希釈方法

- ・測定結果が 150ng/mL (375nmol/L) を超える場合は、正しい結果が得られるように希釈をしてから再測定ください。
- ・機器による自動希釈が可能です。
- ・自動希釈の場合、ケミルミ 25 (OH) ビタミン D 希釈液を機器に装填し、以下のとおりにパラメーターを設定ください。

Dilution point: $\leq$ 150ng/mL (375nmol/L)

Dilution factor : 2

自動希釈の設定方法に関しては、機器の取扱説明書を参照ください。

- ・自動希釈の測定結果が測定の直線性を超えた場合や、検査室で用手法による希釈を規定している場合は、用手法により検体を希釈ください。
- ・希釈した検体の測定結果が計算上およそ正しい値であるかを確認ください。機器に予め Dilution factor を設定入力した場合は、自動的に測定結果が算出されます。

注意：自動希釈に必要な検体量は、1 回の測定に必要な検体量と異なります。

8. 精度管理

精度管理の頻度については、行政当局の規制や許可条件に従ってください。コントロール値の入力方法を含めて精度管理の詳細については、機器の取扱説明書を参照ください。

機器の性能や測定値の傾向を管理するため、最低限の要求事項として、測定実施日ごとに 2 濃度 (低濃度・高濃度) の精度管理用コントロールで精度管理を実施ください。

校正 (2 ポイントキャリブレーション) を実施する際にも精度管理用コントロールを測定ください。精度管理用コントロールは全て患者検体と同様に取り扱いください。

本品の精度管理用コントロールには、その性能が保証できる少なくとも 2 濃度 (低濃度・高濃度) のコントロールを使用ください。適切に実施された検査室内の精度管理法によって測定した精度管理用コントロールの結果が本機器又は各施設の基準範囲内であるとき、機器の性能は基準に達しています。

コントロール測定手順

- 1) コントロール値がロット特異的な規定値に入っているか確認ください。
- 2) 必要な試薬が装填されているか確認ください。
- 3) 精度管理用コントロールをワークリストに設定ください。
- 4) ケミルミ 25 (OH) ビタミン D コントロール用レベル 1 とレベル 2 のバーコードラベルを 2 つの検体カップにそれぞれ貼付ください。

注意：サンプルカップはバーコードラベルが正しく読み取れる位置に設置ください。バーコードラベルはロット番号に特有です。異なるロットのコントロールには使用しないでください。

- 5) コントロールを穏やかに混和し、検体カップに少なくとも 200 μ L 分注ください。

注意：コントロールをそれぞれ二重測定できる十分な量を用いて実施ください。

- 6) 検体カップをラックに装填ください。
- 7) ラックを検体挿入ラインに装填ください。
- 8) 必要に応じて、スタートボタンを押して測定を開始ください。

注意：サンプルカップに入って10時間経過したコントロールは廃棄ください。サンプルカップ中のコントロールの残量が少なくなったら注ぎ足さずに、必要に応じて新たに分注しなおしてください。

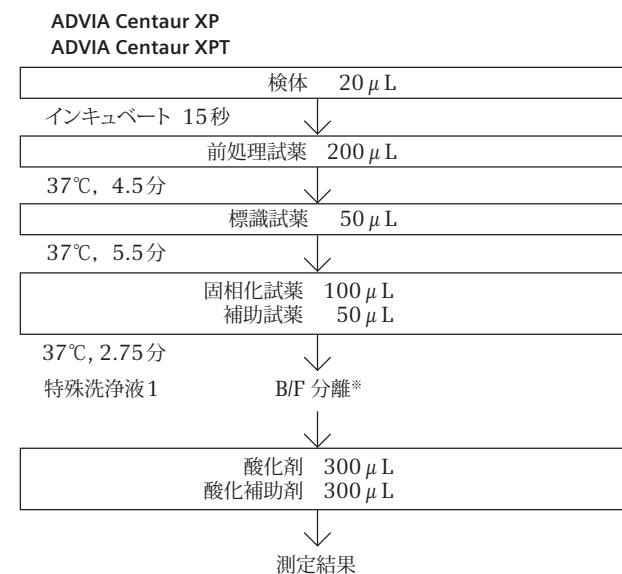
精度管理の結果が期待値あるいは検査室で設定した値の範囲から外れる場合は、測定結果をそのまま報告せず、次の操作を行ってください。

- ・試薬等の使用期限が切れていないか確認ください。
- ・必要な保守点検が行われたか確認ください。
- ・機器の取扱説明書や本電子添文の手順に従って測定されたか確認ください。
- ・新しいコントロールで再測定ください。
- ・再較正を行ってください。
- ・必要な場合は、当社に連絡ください。

9. 測定方法

検体の測定方法及び測定結果の算出方法の詳細については、機器の取扱説明書を参照ください。

測定機器により、次の動作が自動的に実行されます。



※ B/F分離とは、抗原抗体複合体(B,bound)と未反応の標識体(F,free)を分離することです。

■ 測定結果の判定法

測定結果の算出方法の詳細については、機器の取扱説明書を参照ください。

1. 結果の判定法

機器は、25(OH)Dの結果を、測定の設定時に規定した単位に応じてng/mL(慣用単位)又はnmol/L(SI単位)で報告します。換算式は1 ng/mL = 2.5 nmol/Lです。

2. 参考基準範囲

- (1) 文献での25(OH)Dの推奨値^{4,5,6,7,8}は以下の通りです。ビタミンDの毒性レベルについては、参考文献を参照ください^{9,10,11}。

ビタミンDの状態	成人範囲 ^{4,5,6,7,9}	小児範囲 ⁸
欠乏	<20 ng/mL (50 nmol/L)	<15 ng/mL (37.5 nmol/L)
不足	20~30 ng/mL (50~75 nmol/L)	15~<20 ng/mL (37.5~<50 nmol/L)
充足	30~100 ng/mL (75~250 nmol/L)	20~100 ng/mL (50~250 nmol/L)

- (2) 成人と小児の血清検体を用いてCLSI EP28-A3c¹²に従って25(OH)ビタミンDを測定しました。

成人の被験者集団は、21~93歳で肌の色合いが淡色~褐色である健康な男女291例からなります。小児の被験者集団は、1~3歳の32例、3~12歳の114例、及び13~21歳の91例の肌の色合いが淡色~褐色である男女237例からなります。

成人及び小児の検体は米国の異なる季節、異なる地域から集められました。本試験において成人検体は、1日あたりビタミンDを2000 IUを超えるサプリメントを服用しておらず、PTH、カルシウム、TSHが正常な検体を用いました。小児母集団は、PTHとTSHが正常

な検体を用いました。95%信頼区間に基づく血清検体の測定結果は以下のとおりです。

	成人	小児
25(OH)ビタミンD 中央値	22.5 ng/mL (56.3 nmol/L)	23.8 ng/mL (59.5 nmol/L)
2.5~97.5パーセンタイル	7.4~44.0 ng/mL (18.5~110.0 nmol/L)	11.4~45.8 ng/mL (28.5~114.5 nmol/L)

他の検査薬と同様に、参考基準範囲は各検査室において機器毎に設定ください¹²。上記の値は参考値として取り扱ってください。

3. 判定上の注意

- ・ヒト血清中の異好抗体は、試薬中の抗体と反応して、反応系を妨害することがあります¹³。動物や動物の血清に日常的に接触している患者では、この妨害が発生しやすく、測定結果が異常値を示すことがあります。診断にはさらなる情報を要することがあります。
- ・フルオレセインを含む検体は使用しないでください。0.10 μg/mL以上のフルオレセインを含む検体は高値を示すことがあります。臨床的に意味のある25(OH)D濃度(~25~50 ng/mL)は、3.13 μg/mL以上のフルオレセインナトリウムの干渉により、150 ng/mL以上を示すことがあります。
- ・網膜の蛍光眼底血管造影法を受けた患者は、最大48~72時間後にも体内にフルオレセインを保持することがあります。腎不全患者の場合は、保持時間が長くなる可能性があります。そのような検体は偽高値を示す可能性があるため、本品の測定には用いないでください¹⁴。
- ・溶血検体は使用しないでください。ヘモグロビン155 mg/dL以上で偽低値に報告されることがあります。

■ 臨床的意義

ビタミンDはカルシウムの腸内吸収とカルシウム恒常性の調整に関与するステロイドホルモンです。ビタミンDは、健康で丈夫な骨の構成と維持に必須です。ビタミンD欠乏は、不十分な太陽光線への露出、不十分な食事の摂取、吸収不良、異常代謝、ビタミンD抵抗性に由来します⁴。近年、癌^{15,16,17}、高血圧¹⁸や骨粗鬆症^{19,20}などの慢性疾患、いくつかの自己免疫疾患^{21,22,23}はビタミンD欠乏が関連しているとされています。消費される場合も産生される場合も、ビタミンD(D₂又はD₃)はいずれも肝臓によって25(OH)ビタミンDに代謝され、その後、肝臓又は腎臓で1,25-水酸化ビタミンDに変化します²⁴。ビタミンD代謝物は、血漿中の担体タンパクと結合し、全身に行き渡ります。血清又は血漿中の25(OH)ビタミンDレベルを反映し、25(OH)ビタミンDはビタミンD欠乏の臨床症状と相関するので、ビタミンDのもっとも信頼できる臨床指標は25(OH)ビタミンDです²⁵。

ビタミンDの取り組みの一環として、2010年11月にアメリカ国立衛生研究所(NIH)のOffice of Dietary Supplements(ODS)はビタミンD標準化プログラム(VDSP)を確立しました。ODSは、米国疾病予防センター(CDC)及び米国国立研究所(NIST)と協力し、全世界の国民健康調査における検査機関のビタミンDの測定を標準化しています。また、VDSPはNIST、CDC、Ghent大学とも相互協力しています。VDSPの目的は次のとおりです。

- ・米国の国民健康調査における血清中の総25(OH)ビタミンDの測定値を、NIST基準測定手順に連結して標準化する。
- ・米国国民健康調査の結果から、総25(OH)ビタミンDについての類似点と相違点を研究する。
- ・公的調査に加え、試薬製造業者及び臨床・研究機関に標準化サービスを拡大する。
- ・公衆衛生活動と患者治療に標準化データの使用を可能にする²⁶。

Ghent大学は、NIST Standard SRM2972にトレーサブルなヒト血清中ビタミンDのID-LC/MS/MS 25(OH)ビタミンD基準測定方法(RMP)を開発しました^{27,28}。この基準測定方法は、VDSPとCDCビタミンD認証プログラム(VDSCP)に使用する基準を開発するために、NIH及びCDCにより使用されました²⁹。CDCのVDSCPは、自家調製検査法(LDT)を使用する臨床検査機関又は製造業者の測定法の性能(バイアス及び不正確さ)を1年間にわたって評価します。

■ 性能

用法及び用量欄の操作方法により、感度・正確性・同時再現性の各試験を行った場合、下記の規格値に適合します。

1. 測定範囲
4.2~150 ng/mL(10.5~375 nmol/L)

2. 性能

用法及び用量欄の操作方法により、感度・正確性・同時再現性の各試験を行った場合、下記の規格値に適合します。

(1) 感度試験

低濃度管理用検体を測定するとき、その測定値は1.7 ng/mLより大きいです。

- (2) 正確性試験
既知濃度の管理用検体を測定するとき、測定値はあらかじめ定められた値に対し、±25%の範囲に入ります。
- (3) 同時再現性試験
既知濃度の管理用検体を3回以上同時に測定するとき、その変動係数(CV値)は20%以下です。

3. 相関性

・対照品 (CLIA法) との相関

本品(y)と他社品(x)を用いて135検体(6.8~139.0 ng/mL)における25(OH)ビタミンD濃度を測定したとき、測定結果の関係は以下の計算式及び相関係数で示されます。

$$y = 1.02x - 2.09 \quad \text{相関係数}(r) = 0.91$$

・対照品 (ECLIA法) との相関

本品(y)と他社品(x)を用いて134検体(3.00~59.92 ng/mL)における25(OH)ビタミンD濃度を測定したとき、測定結果の関係は以下の計算式及び相関係数で示されます。

$$y = 0.972x + 1.09 \quad \text{相関係数}(r) = 0.95$$

・ID-LC/MS/MS との相関

本品(y)とID-LC/MS/MS 25(OH)ビタミンD RMP(x)^{27,28}を用いて122検体(7.8~148.1 ng/mL)における25(OH)ビタミンD濃度を測定した時、測定結果の関係は以下の計算式及び相関係数で示されます。

$$y = 0.93x + 2.89 \quad \text{相関係数}(r) = 0.99$$

・採血管の相関

25(OH)ビタミンDの濃度が4.76~137.4 ng/mL(11.9~343.5 nmol/L)の69例から、異なる血清用採血管(プレーン、SST)を用いて測定した結果をDeming法で解析した結果は以下のとおりです。

試料		傾き	切片		相関係数
(x)	(y)		ng/mL	nmol/L	
血清(プレーン管)	血清(SST管)	0.98	0.25	0.63	0.997

・検体種の同等性

CLSI EP09-A3に従い重み付きDeming回帰によって求めました³³。同等性の結果は以下のとおりです。

検体種/採血管の種類	回帰式	濃度範囲 ng/mL(nmol/L)	N ^{*1}	r ^{*2}
血清分離剤入り採血管	$y = 0.97x + 0.87$	13.03 ~ 142.85	74	0.99
	$(y = 0.97x + 2.18)$	(32.57 ~ 357.11)		
血漿(EDTA-2K)	$y = 0.97x + 0.64$	13.03 ~ 142.85	74	0.99
	$(y = 0.97x + 1.61)$	(32.57 ~ 357.11)		
血漿(EDTA-3K)	$y = 0.96x + 0.68$	13.03 ~ 142.85	74	0.99
	$(y = 0.96x + 1.70)$	(32.57 ~ 357.11)		
血漿(ヘパリンリチウム)	$y = 0.99x - 0.18$	13.03 ~ 142.85	74	0.99
	$(y = 0.99x - 0.44)$	(32.57 ~ 357.11)		
血漿(ヘパリンナトリウム)	$y = 1.02x - 1.13$	13.03 ~ 142.85	74	0.99
	$(y = 1.02x - 2.83)$	(32.57 ~ 357.11)		

※1 検体数

※2 相関係数

本品は相関係数が0.95以上、傾きが0.90 ~ 1.10、切片が±5 ng/mLになるよう設計されています。
検体種の同等性は、試験デザイン及び使用した検体母集団により異なるため、各検査室で得られる測定結果は、示したデータと異なる場合があります。

4. 希釈回収試験

25(OH)ビタミンD濃度が145.0~163.0 ng/mL(362.5~407.5 nmol/L)の検体を、ケミルミ25(OH)ビタミンD希釈液を用いて2倍に希釈し、回収率を試験しました。回収率は95.0~104.0%で、平均値は97.8%でした。

検体	希釈倍率	期待値		測定値		回収率 (%)
		ng/mL	nmol/L	ng/mL	nmol/L	
1	2倍	69.5	173.8	72.7	181.8	96.0
2	2倍	72.8	182.0	74.5	186.3	98.0
3	2倍	72.9	182.3	75.1	187.7	97.0
4	2倍	82.6	206.5	79.7	199.3	104.0
5	2倍	77.4	193.5	81.6	204.0	95.0
平均						97.8

5. 直線性

直線性は、CLSI EP6-A³⁰に従い評価しました。高濃度25(OH)ビタミンD検体に複数種の濃度の低濃度25(OH)ビタミンD検体を加えて調製した検体を、ADVIA Centaurを用いて測定しました。本品は4.2~150 ng/mL(10.5~375.0 nmol/L)の範囲で直線性を認めました。

6. 精度

本法は、25(OH)ビタミンD濃度が20 ng/mLを超える検体で同時再現性CV8%以下、総再現性CV12%以下になるように設計されています。精度は、CLSI EP5-A2³¹に従って評価されました。6検体について、2重測定で2回、20日間にわたり測定を行った(各検体n=80)ところ、下記の結果が得られました。

平均 ng/mL	同時再現性		総再現性	
	SD(ng/mL)	CV(%)	SD(ng/mL)	CV(%)
13.6	0.64	4.7	1.61	11.9
17.2	0.91	5.3	1.70	9.9
28.2	1.45	5.2	2.02	7.2
46.1	1.79	3.9	2.79	6.1
73.2	2.71	3.7	4.36	6.0
114.1	3.44	3.0	4.71	4.2

7. 定量限界/検出限界

CLSI EP17-A³²に従い、ブランク上限(LoB)、検出限界(LoD)及び定量限界(LoQ)を求めました。

本法のLoBは1.7 ng/mL(4.3 nmol/L)、LoDは3.20 ng/mL(8.0 nmol/L)、LoQは4.2 ng/mL(10.5 nmol/L)です。

LoBは、ブランク試料で認められた最も高い測定値として定義され、LoDは95%の確率で検出することができる25(OH)ビタミンDの最低濃度で、LoQは20%の総CV値から検出できる25(OH)ビタミンDの最低濃度として定義されます。

8. 標準物質のトレーサビリティ

本品は質量分析(ID-LC/MS/MS)25(OH)ビタミンD RMP法^{27,28}に基づいた社内標準を用いて標準化されました。質量分析(ID-LC/MS/MS)は、NIST STR 2972にトレーサブルです。

177検体(5.0~100ng/mL)の本品(y)とID-LC/MS/MS 25(OH)ビタミンD RMP法(x)についてDeming法で解析した結果は以下のとおりです。

$$y = 0.99x + 0.53 \text{ ng/mL, 相関係数}(r) = 0.96$$

■ 使用上又は取扱い上の注意

1. 取扱い上の注意

・検体及びヒト由来成分を含む試薬は、HIV、HBV、HCV等の感染の恐れがあるものとして取扱いください。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ください。

・酸化剤は酸性溶液(pH<2)、酸化補助剤はアルカリ性溶液(pH13)です。使用に関しては、試薬が直接皮膚に付着したり、目に入らないように注意ください。

・試薬が誤って目や口に入った場合には、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等を受けてください。

・本測定で使用する試薬には、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれているものがあります。詳細は、**■形状・構造等**(キットの構成)又は**■用法・用量(操作方法)**の必要な器具・器材・試料等を参照ください。誤って眼や口に入ったり、皮膚に付着したりした場合は、水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。

・バイオハザードに関する注意

ヒト由来成分が含まれています。献血者の血液又は血液成分については、FDAで承認された方法で測定し、HIV 1/2抗体、HBs抗原、HCV抗体が陰性であることを確認しています(再試験陽性ではない)。いかなる検査方法もこれらの感染因子や他の感染因子が存在しないことを完全には保証できないため、本品は、Good Laboratory Practice (GLP)及び感染予防措置に従い取り扱いください。³³⁻³⁵

・本品は動物由来成分を含むので潜在的感染性のあるものとして取扱いください。

・次の試薬に関する危険有害性情報、注意事項を示します。

同梱の校正剤及びケミルミ 25 (OH) ビタミンDコントロールは、アジ化ナトリウムを含有しています。
H412 P273, P501
長期継続的影響により水生生物に毒性があります。 環境への放出を避けてください。内容物及び容器は、地方自治体及び国の規制に従い廃棄ください。

	酸化剤は、硝酸を含有しています。
	H290 P390, P501
	警告： 金属腐食のおそれがあります。
	物的被害を防止するためにも流出したものを吸収してください。内容物及び容器は、地方自治体及び国の規制に従い廃棄ください。

	酸化補助剤は、水酸化ナトリウムを含有しています。
	H290, H315, H319 P280, P305+P351+P338, P390, P501
	警告： 金属腐食のおそれがあります。皮膚に刺激があります。眼に強い刺激があります。
	保護手袋、保護衣、保護用眼鏡及び顔防御マスクを着用ください。眼に入った場合、水で数分間注意深く洗ってください。コンタクトレンズを着用していて容易に外せる場合は外してください。その後も洗浄を続けてください。物的被害を防止するためにも流出したものを吸収してください。内容物及び容器は、地方自治体及び国の規制に従い廃棄ください。

2. 使用上の注意

- ・試薬は立てた状態で2～8℃で保存ください。
- ・試薬パックは、全ての熱源及び光源を避けてください。機器に装填した試薬は遮光されます。未使用の試薬パックは2～8℃で遮光保存ください。未開封の試薬パックは、2～8℃で保存した場合には製品に記載されている使用期限まで安定です。
- ・基本試薬パックは、機器に装填する前に手で混和ください。
- ・パックの底の微粒子が全て分散し、試薬パックの底に沈殿物が無いことを確認ください。
- ・使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- ・異なるロットの組み合わせで使用しないでください。
- ・同一ロットであっても、試薬の注ぎ足しはしないでください。
- ・未開封の試薬はラベルに記載されている貯法において、記載されている使用期限まで使用できます。開封後・調整後の安定性と保存条件は次の通りです。ただし、各バイアルに記載した使用期限内に使用ください。

試 薬	貯法	安定性
低濃度校正剤、高濃度校正剤	2～8℃ 18～25℃ ≤-20℃	溶解後28日間 溶解後24時間 溶解後120日間
特殊洗浄液1	2～25℃	装填後1 ヶ月間
ケミルミ 25(OH)ビタミンD コントロール	≤-20℃ 2～8℃ 18～25℃	溶解後120日間 凍結融解は4回まで 溶解後28日間 溶解後24時間又は 装填後10時間
ケミルミ 25(OH)ビタミンD 希釈液	2～8℃	使用開始から28日間

3. 廃棄上の注意

- ・検体中にはHIV、HBV、HCV等の感染性のものが存在する場合がありますので、廃液、使用済み器具等は、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）又はグルタールアルデヒド溶液（2%、1時間以上浸漬）による消毒処理、あるいはオートクレーブ（121℃、20分以上）による滅菌処理を行ってください。

- ・試薬や検体等が飛散した場合には、拭き取り及び消毒を行ってください。
- ・危険性のある試薬又は感染性廃棄物は、検査室の基準に従い廃棄ください。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い処理ください。
- ・本測定で使用する試薬には、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれているものがあります。詳細は、**■形状・構造等**（キットの構成）又は**■用法・用量（操作方法）**の必要な器具・器材・試料等を参照ください。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応し、爆発性の強い金属アジドを生成することがあるため、廃棄の際には多量の水と共に流してください。各法令に従い廃棄ください。

■ 貯蔵方法・有効期間

1. 貯蔵方法

- （1）標識試薬、固相化試薬、補助試薬、前処理試薬、低濃度校正剤、高濃度校正剤：2～8℃で保存
- （2）酸化剤、酸化補助剤：4～25℃で保存

2. 有効期間

- （1）標識試薬、固相化試薬、補助試薬、前処理試薬、低濃度校正剤、高濃度校正剤：14 ヶ月
- （2）酸化剤、酸化補助剤：18 ヶ月

■ 包装単位

ケミルミ IM 25 (OH) ビタミンD	
基本試薬パック（標識試薬/固相化試薬/補助試薬/前処理試薬/低濃度校正剤/高濃度校正剤）	
500テスト用	品目コード：10699533
100テスト用	品目コード：10699201

〈別売〉

酸化剤 / 酸化補助剤	
5000 テスト用、各 1500mL/ 本 （ADVIA Centaur XP/XPT 用）	品目コード：03852677 （112219）

ケミルミ 25 (OH) ビタミンDコントロール (VitD QC)	品目コード：10699200
コントロール 1 3×2.0 mL	
コントロール 2 3×2.0 mL	

ケミルミ 25 (OH) ビタミンD 希釈液	品目コード：10494100
2×25.0 mL（自動希釈用）	

特殊洗浄液1	
2×2500mL（ADVIA Centaur XP/XPT 用）	品目コード：03773025
2×1500mL（ADVIA Centaur XP/XPT 用）	品目コード：01137199 （112351）

■ 主要文献

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline—Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2004. CLSI Document H18-A3.
2. Data on file at Siemens Healthcare Diagnostics.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Second Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. CLSI Document EP7-A2.
4. Holick MF. Vitamin D Deficiency. N Engl J Med. 2007;357:266–81.
5. Holick MF. MrOs is D-ficient. J Clin Endocrinol Metab. 2009;94(4):1092-3.
6. Rollins G. Vitamin D Testing—What’s the Right Answer? Labs Grapple with Confusing Analytics, Evidence. Clinical Laboratory News. July 2009;35(7): 1,6.
7. Freeman R. Vitamin D: The sunshine hormone. How and when to treat deficiencies. Menopausal Medicine. May 2009; S8-11.
8. Misra M, Pacaud D, Petrak Z, Collett-Solberg PF, Kappy M. Vitamin D Deficiency in Children and Its Management: Review of Current Knowledge and Recommendations, Pediatrics. 2008; 122:398-417
9. Holick MF. The role of vitamin D for bone health and fracture prevention. Curr Osteoporosis Rep. 2006;4(3):96-102.

10. Okazaki R, Ozono K, Fukumoto S, Inoue D, Yamauchi M, Minagawa M, Michigami T, Takeuchi Y, Matsumoto T, Sugimoto T. Assessment criteria for vitamin D deficiency/in sufficiency in Japan – proposal by an expert panel supported by Research Program of Intractable Diseases, Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan, The Japanese Society for Bone and Mineral Research and The Japan Endocrine Society. Endocrine Journal Advance Publication.
11. Özkan B, Hatun, Bereket A. Vitamin D intoxication. Turk J Pediatr. 2012;54:93-98.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline-Third Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010. CLSI Document EP28-A3c.
13. Boscatto LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem. 1988;34:27-33.
14. Inloes R, Clark, D and Drobnies A: Interference of fluorescein, used in retinal angiography with certain clinical laboratory tests. Clin Chem 1987, 33:2126-2127.
15. Blutt SE, Weigel NL. Vitamin D and prostate cancer. Proc Soc Exp Biol Med. 1999; 221(2):89-98.
16. Feskanich D, Ma J, Fuchs CS, et al. Plasma vitamin D metabolites and risk of colorectal cancer in women. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2004; 13(9):1502-1508.
17. Shin MH, Holmes MD, Hankinson SE, Wu K, Colditz GA, Willett WC. Intake of dairy products, calcium, and vitamin D and risk of breast cancer. J Natl Cancer Inst. 2002; 94(17):1301-1311.
18. Krause R, Buhning M, Hopfenmuller W, Holick MF, Sharma AM. Ultraviolet B and blood pressure. Lancet. 1998; 352(9129):709-710.
19. Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. Endocr Rev. 2001; 22(4):477-501.
20. Lips P, Hosking D, Lippuner K, et al. The prevalence of vitamin D inadequacy amongst women with osteoporosis: an international epidemiological investigation. J Unrestricted Med. 2006; 260(3):245-254.
21. Hypponen E, Laara E, Reunanen A, Jarvelin MR, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. Lancet. 2001; 358(9292): 1500-1503.
22. Munger KL, Zhang SM, O' Reilly E, et al. Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. Neurology. 2004; 62(1):60-65.
23. Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA, Saag KG. Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women' s Health Study. Arthritis Rheum. 2004; 50(1):72-77.
24. Hollis BW, Horst RL. The Assessment of Circulating 25(OH)D and 1,25(OH)2D: Where We Are and Where We Are Going. J Steroid Biochem Mol Biol. March 2007;103(3-5):473-76.
25. Hart GR. Medical Conditions Associated with Vitamin D Deficiency and the Clinical Consequences. Review Series Volume 1, Sept 2004;1-8.
26. National Institutes of Health - Office of Dietary Supplements. OSD Vitamin D Initiative -Vitamin D Standardization Program (VDSP). Accessed February 2, 2015. <http://ods.od.nih.gov/Research/VitaminD.aspx#vdsp>
27. Sempos CT, Vesper HW, Phinney KW, Thienpont LM, Coates PM, The Vitamin D Standardization Program(VDSP). Vitamin D Status as an International Issue: National Surveys and the Problem of Standardization. Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation, 2012;72(Suppl 243):32-40.
28. Thienpont LM, Stepan HCM, Vesper HW. Standardization of Measurements of 25-Hydroxyvitamin D3 and D2. Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation, 2012; 72(Suppl 243): 41-49.
29. Centers for Disease Control and Prevention Standardization of Measurement Procedures. Accessed February 2, 2015. http://www.cdc.gov/labstandards/hs_standardization.html
30. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2003. CLSI Document EP6-A.
31. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline-Second Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2004. CLSI Document EP5-A2.
32. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline-Second Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012. CLSI Document EP17-A2.
33. Centers for Disease Control. 1988. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 37:377-382, 387, 388.
34. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. CLSI Document M29-A3.
35. Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030.
36. Clinical and Laboratory Standard Institute. *Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline-Third Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013. CLSI Document EP09-A3.

■ 問い合わせ先

シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社
カスタマーケアセンター
電話：03-4582-5520

■ 製造販売元

シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社
東京都品川区大崎 1-11-1 ゲートシティ大崎ウエストタワー

輸入