体外診断用医薬品

2022年 1月作成(第1版)　　承認番号　30300EZX00081000

ご使用の際は，電子化された添付文書をよくお読みください

ｓｄＬＤＬ－コレステロールキット

ｓ　ＬＤＬ－ＥＸ「生研」

(直接法)

【全般的な注意】

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ください。
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．電子化された添付文書以外の使用方法については，測定値の信頼性を保証致しません。
４．使用する機器の電子化された添付文書及び取扱い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)】

１．酵素液－１　(R-1)
　コレステロールエステラーゼ　(ＣＨＥ)
　コレステロールオキシダーゼ　(ＣＯ)
　N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3-メチルアニリンナトリウム二水和物　(ＴＯＯＳ)
　カタラーゼ
　グッド緩衝液

２．酵素液－２　(R-2)
　ペルオキシダーゼ　(ＰＯＤ)
　4-アミノアンチピリン　(4-AA)
　グッド緩衝液

【使用目的】

血清又は血漿中のｓｍａｌｌ　ｄｅｎｓｅ　LDL-コレステロール(ｓｄＬＤＬ-コレステロール)の測定
(冠動脈性心疾患発症リスクの管理の補助)

【測定原理】

第一反応において，試料中のｓｄＬＤＬ以外のリポ蛋白が，酵素液－１中の界面活性剤と酵素の作用で破壊されます。これらｓｄＬＤＬ以外のリポ蛋白中コレステロールは，ＣＨＥ，ＣＯ，カタラーゼにより水と酸素に分解され，消去されます。次に第二反応として，試料中のｓｄＬＤＬ-コレステロールにＣＨＥ，ＣＯ，及び酵素液－２中の界面活性剤が作用して，コレステノンと過酸化水素が生成されます。生成した過酸化水素は，ＰＯＤ存在下で4-AAとＴＯＯＳの酸化縮合反応により赤紫色のキノン色素を生成します。この生成物を吸光度変化としてとらえた時，その変化量はｓｄＬＤＬ-コレステロール濃度に比例しますので，既知濃度の標準液を用いて作成した検量線から試料中のｓｄＬＤＬ-コレステロール濃度を求めます[1)]。

第一反応

＜ｓｄＬＤＬ以外のリポ蛋白中コレステロールの消去＞

$$\text{コレステロールエステル} \xrightarrow{\text{CHE}} \text{コレステロール＋脂肪酸}$$

$$\text{コレステロール＋}O_2 \xrightarrow{\text{CO}} \text{コレステノン＋}H_2O_2$$

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{カタラーゼ}} O_2 + 2H_2O$$

第二反応

＜ｓｄＬＤＬ-コレステロールの測定＞

$$\text{コレステロールエステル} \xrightarrow{\text{CHE}} \text{コレステロール＋脂肪酸}$$

$$\text{コレステロール＋}O_2 \xrightarrow{\text{CO}} \text{コレステノン＋}H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{4-AA} + \text{TOOS} \xrightarrow{\text{POD}} \text{キノン色素＋}4H_2O$$

【操作上の注意】

１．測定試料の性質，採取法

1) 検体は，血清又は血漿(EDTA-2K，EDTA-3K，ヘパリンLi)を使用します。
2) 血清を採取する場合は，血液が完全に凝固した後遠心分離してください。
3) 血清又は血漿は採血後冷蔵保管で３日間以内の新鮮なものをお使いください。３日以内に測定できない場合は，－80℃以下で凍結保存してください。凍結融解を繰り返したものは，リポ蛋白が変性していることがありますので，目的の測定結果が得られないことがあります。

２．妨害物質・妨害薬剤

1) アスコルビン酸は50mg/dL，ヘモグロビンは500mg/dL，ビリルビンは30mg/dLまでは，測定値に影響は見られませんでした。
2) 下記のいずれの物質についても，( )内の濃度まで影響は見られませんでした。
プラバスタチン(100ng/mL)，エラスターゼ(3ng/mL)，ピタバスタチン(400ng/mL)，アトルバスタチン(100ng/mL)，ロスバスタチン(80ng/mL)，シンバスタチン(50ng/mL)，フルバスタチン(1000ng/mL)，エゼチミブ(20ng/mL)，フェノフィブラート(60μg/mL)，γ－オリザノール(150ng/mL)，ベザフィブラート(20μg/mL)，プロブコール(40μg/mL)，ニコチン酸トコフェロール(3μg/mL)，酪酸リボフラビン(500ng/mL)

【用法・用量(操作方法)】

１．試薬の調製

酵素液－１(R-1)：そのまま使用します。
　開栓の状態では，2～8℃保存で1箇月間以内に使用してください。
酵素液－２(R-2)：そのまま使用します。
　開栓の状態では，2～8℃保存で1箇月間以内に使用してください。

２．測定操作

自動分析装置の操作法に従って，指定のパラメータを入力して測定を行います。

測定条件(日立7180形自動分析装置の例)

分析法	:	2ポイントエンド
測光ポイント	:	14-34
試 料	:	3.0μL
R-1	:	150μL
R-2	:	50μL
波 長(主／副)	:	600／700nm

日立7180形自動分析装置の場合，試料3.0μLにR-1を150μL加えて37℃で5分間反応後から，さらにR-2を50μL加えて37℃で5分間反応後までの吸光度変化量(主波長600nm，副波長700nm)を測定します。得られた吸光度変化量から，あらかじめ作成された検量線と指定の演算法により測定値が算出されます。

パラメータは使用する自動分析装置によって異なります。指定のパラメータについては問い合わせ先まで請求してください。
検量線を作成する際は，別売の脂質キャリブレーターＤを使用してください。
精度管理に用いる管理用試料には,別売の脂質コントロールⅠ，脂質コントロールⅡを使用することを推奨します。

F5-305-5/R01

【測定結果の判定法】

1．測定結果の判定法

将来の冠動脈性心疾患(ＣＨＤ)発症リスクの高低を判定するための臨床カットオフ値(判定例)として以下の報告があります。

ｓｄＬＤＬ-コレステロールの判定例[2) 3) 4)]

35mg/dL未満　：ＣＨＤ発症リスク低

35mg/dL以上　：ＣＨＤ発症リスク高

ただし，この判定例は限られた被験対象群で実施した試験結果をもとに設定されたものであり，参考値です。対象とする集団が異なる場合には最適なカットオフ値が異なることがあります。

「判定上の注意」

1) 検体によっては，まれに目的成分以外との反応や反応の妨害等により正しい結果が得られない場合があります。測定結果に疑問がある場合は，再検査により確認してください。

2) 非常に濃度の高い検体の場合，試薬性能の測定範囲の上限を超えることがあります。その際は，生理食塩液での希釈測定や減量測定はしないでください。希釈測定をされる場合には問い合わせ先までご連絡ください。

【臨床的意義】

ｓｄＬＤＬは，粒子の大きさや密度が異なるＬＤＬ亜分画のうち，より小さくて密度の高い分画です。ｓｄＬＤＬ分画に含まれるコレステロール量(ｓｄＬＤＬ-コレステロール)は，冠動脈性心疾患(ＣＨＤ)の発症リスクと関係していることが報告されています[2) 3) 4) 5) 6)]。

本品を用いた臨床性能評価は，日本の前向き疫学試験において評価されました[2) 3) 4)]。対象となる3080例の検体について，ｓｄＬＤＬ-コレステロール値を本品で測定し(ベースライン時)，その後の追跡期間(中央値 8.3年)におけるＣＨＤ発症リスクとの関連性が評価されました[2) 3) 4)]。

ｓｄＬＤＬ-コレステロール値とＣＨＤ発症との関連が評価され，ベースライン時のｓｄＬＤＬ-コレステロール値が高いほど，その後のＣＨＤ累積発症率が有意に高くなることが示されました。また，対象群をｓｄＬＤＬ-コレステロール値による四分位にてＱ１～Ｑ４の４群に分け，1000人年ごとのＣＨＤ罹患率及びＣｏｘ比例ハザード解析によるＣＨＤ発症リスク評価の結果を下表に示します。

sdLDL-C値による4群での1000人年ごとのCHD罹患率及びCHD発症リスク

四分位レベル	Q1	Q2	Q3	Q4	傾向性p値
sdLDL-C (mg/dL)	≤24.4	24.5-32.8	32.9-43.6	≥43.7	
対象者数	763	775	768	774	
CHD発症例数	6	18	24	31	-
CHD罹患率 /1000人年	1.04	3.37	4.67	5.58	<0.001
ハザード比 (95%信頼区間)					
ベースモデル	1.00 (Reference)	3.34 (1.32-8.44)	4.55 (1.85-11.20)	6.53 (2.67-15.95)	<0.001
Model 1	1.00 (Reference)	3.18 (1.25-8.09)	4.15 (1.66-10.40)	5.41 (2.12-13.82)	<0.001

sdLDL-C：ｓｄＬＤＬ-コレステロール

ベースモデルの補正因子：年齢，性別

Model 1の補正因子 ：年齢，性別，収縮期血圧，降圧薬服用，ＨｂＡ1ｃ，血糖降下薬服用，HDL-コレステロール，脂質治療薬服用，ＢＭＩ，ｅＧＦＲ，心電図異常，喫煙習慣，飲酒習慣，運動習慣

ｓｄＬＤＬ-コレステロールが最も高いＱ４群は最も低いＱ１群の5.41倍(95%信頼区間 ：2.12-13.82)のＣＨＤ発症リスクがあることが示されました。これらの結果から，ｓｄＬＤＬ-コレステロール値とＣＨＤ発症リスクには強い関連があり，ｓｄＬＤＬ-コレステロール値は日本人におけるＣＨＤ発症の一次リスクマーカーとして有用であると示されました。

また，カットオフ値(35mg/dL)により，対象群を高値群・低値群の2群に分け，Model 1と同一の補正因子を用いて解析した場合，高値群のＣＨＤ発症リスクは低値群の2.09倍(95%信頼区間：1.26-3.45)となり，ｓｄＬＤＬ-コレステロール値を用いて将来のＣＨＤ発症の高リスク群を判定することが可能であることが示されました。

【性　能】

1．性能

1) 感度

(1)生理食塩液を試料として操作する場合の吸光度は，0.025Abs.以下です。

(2)管理用検体を試料として操作する場合の吸光度からｓｄＬＤＬ-コレステロール100mg/dL当たりの吸光度を算出する場合，その吸光度は0.05～0.32Abs.の範囲内です。

2) 正確性

既知濃度の管理用検体を測定するとき，30mg/dL未満の場合に既知濃度の±3.4mg/dL以内，30mg/dL以上の場合に既知濃度の±10.4%以内です。

3) 同時再現性

管理用検体を10回同時に測定するとき，その変動係数(ＣＶ)値は，3%以下です。

4) 測定範囲(例示)

4～100mg/dL

2．相関性

1) 比較対照法との相関

本法(ｙ)と比較対照法(ｘ：超遠心法)との相関性は以下のとおりでした。

ｎ＝100，相関係数0.924，ｙ＝1.028ｘ－1.38

2) 血清血漿相関

本法血漿(ｙ)と本法血清(ｘ)との相関性は以下のとおりでした。

EDTA-2K：ｎ＝47，相関係数1.00，ｙ＝0.96ｘ＋0.0

EDTA-3K：ｎ＝47，相関係数1.00，ｙ＝0.93ｘ－0.1

ヘパリンLi：ｎ＝47，相関係数1.00，ｙ＝0.99ｘ－0.3

3．較正用の基準物質(標準物質)

社内標準物質

【使用上又は取扱い上の注意】

1．取扱い上(危険防止)の注意

1) 試料(検体)はＨＩＶ，ＨＢＶ，ＨＣＶ等の感染の恐れがあるものとして取扱ってください。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,マスクなどを着用し，また口によるピペッティングを行わないでください。

2) 本品が，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ください。

2．使用上の注意

1) 本品は，記載された操作法に従って使用してください。記載された操作法及び使用目的以外での使用については，測定値の信頼性を保証致しかねます。

2) 自動分析装置に使用する場合，使用の前に当該自動分析装置の取扱い説明書を熟読し，詳細は機器メーカーにお問い合わせください。また，自動分析装置は使用前に洗浄するなど，十分に調整してください。
なお，測定条件(パラメータ)の詳細については下記の問い合わせ先までお問い合わせください。

3) 本品は，指定された条件で保管し，使用期限を過ぎたものは使用しないでください。

4) 製造番号の異なる試薬を組み合わせて使用しないでください。
また，同一製造番号の試薬であっても試薬を注ぎ足すことは行わないでください。

5) 開封後の試薬については汚染等に注意し，十分な精度管理のもとで使用してください。なお，管理用試料の値が精度管理範囲を超えた場合は，検量線を作成し直す等の処置を行ってください。

3．廃棄上の注意

1) 試料(検体)，使用済みの容器及び検査に使用したすべての器具類は,次のいずれかの方法で滅菌処理を行ってください。

(1)最終濃度3.5vol%グルタルアルデヒド溶液に，30分間以上浸漬する。

(2)0.5w/v%次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素5000ppm)に，1時間以上浸漬する。
(3)121℃で，20分間以上高圧蒸気滅菌をする。

2) 構成試薬中の酵素液－２は，アジ化ナトリウムを0.05w/v%含んでいます。アジ化ナトリウムは，鉛や銅と反応して爆発性のある重金属アジ化物を生成することがありますので，大量の水とともに廃棄してください。
3) 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ください。

【貯蔵方法・有効期間】

1) 貯蔵方法　遮光して2～8℃
2) 有効期間　12箇月
（外箱，ラベルに表示の使用期限内に使用してください。）

【包装単位】

ｓ ＬＤＬ-ＥＸ「生研」

コードNo.	包　装		
562937	酵素液－１	R-1	18mL×1
	酵素液－２	R-2	6mL×1

別売品

脂質キャリブレーターＤ

コードNo.	包　装	
562128	脂質キャリブレーターＤ	1mL用×5

管理用試料

コードNo.	包　装	
561350	脂質コントロールⅠ	1mL用×10
561367	脂質コントロールⅡ	1mL用×10

【主要文献】

1) Ito Y, et al.: Development of a homogeneous assay for measurement of small dense LDL cholesterol. Clin Chem., 57(1), 57 (2011).
2) Higashioka M, et al.: Small dense low-density lipoprotein cholesterol and the risk of coronary heart disease in a Japanese community. J Atheroscler Thromb., 27(7), 669 (2020).
3) Higashioka M, et al.: The association of small dense low-density lipoprotein cholesterol and coronary heart disease in subjects at high cardiovascular risk. J Atheroscler Thromb., 28(1), 79 (2021).
4) 二宮利治，他：臨牀指針 血清small dense LDLコレステロール値と虚血性心疾患発症の関係：久山町研究. 臨牀と研究., 97(3), 349 (2020).
5) Hoogeveen RC, et al.: Small dense low-density lipoprotein-cholesterol concentrations predict risk for coronary heart disease: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. Arterioscler Thromb Vasc Biol., 34(5), 1069(2014).
6) Tsai MY, et al.: New automated assay of small dense low-density lipoprotein cholesterol identifies risk of coronary heart disease: the multi-ethnic study of atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol., 34(1), 196 (2014).

【問い合わせ先】

デンカ株式会社　試薬学術担当
〒103-8338　東京都中央区日本橋室町二丁目1番1号
フリーダイヤル　0120-206-072
受付時間　9:00～17:00　（土日祝日・弊社休業日を除く）

製造販売元
デンカ株式会社
新潟県五泉市木越字鏡田１３５９番地１

F5-305-5/R01