A00B7710J1-02
体外診断用医薬品

＊2024年3月改訂（第2版）
2022年7月作成（第1版）
製造販売届出番号 13E1X80174002023

この電子化された添付文書をよく読んでから使用してください。

血液検査用２５-ヒドロキシビタミンＤキット

ＡＩＡ－パックCL®　25-OHビタミンD

CLEIA法による血清、ヘパリン血漿又はEDTA血漿中の
25-ヒドロキシビタミンＤ（25-OHビタミンＤ）測定用試薬

[全般的な注意]

1. 本品は体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的には使用しないでください。
2. 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ください。
3. 本電子添文に記載された方法及び目的以外での使用については保証を致しません。
4. 使用する装置添付の取扱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. 反応試薬
   (1) 磁性微粒子試薬
   磁性微粒子固定化抗25-OHビタミンＤヒツジモノクローナル抗体
   (2) 酵素標識試薬
   アルカリ性ホスファターゼ標識25-OHビタミンＤ誘導体
2. 前処理試薬
   (1) (劇)変性剤
   1カップあたり水酸化ナトリウム0.6 mgを含有
   (2) 緩衝剤
3. 基質セット　（ＡＩＡ－パックＣＬ用）
   (1) 基質液
   ＤＩＦＵＲＡＴ®（化学発光基質）
   （３－（５－*tert*－ブチル－４，４－ジメチル－２，６，７－トリオキサビシクロ［３，２，０］ヘプト－１－イル）フェニルリン酸エステル　ジナトリウム塩）
   (2) 基質補助液
4. 洗浄液　（ＡＩＡ－パックＣＬ用）
5. 分注液　（ＡＩＡ－パックＣＬ用）

[使用目的]

血清又は血漿中の25-ヒドロキシビタミンＤ（25-OHビタミンＤ）の測定

[測定原理]

本法の原理は、抗25-OHビタミンＤヒツジモノクローナル抗体を用いたディレイ1ステップCLEIA競合法です。25-OHビタミンＤは血中でたんぱく質と結合しているため、前処理によって検体中の25-OHビタミンＤを遊離させ、測定に用います。

反応試薬の試薬カップには２つのセル（セル（1)､セル（2））があります。セル（1）には磁性微粒子に固定化された抗25-OHビタミンＤヒツジモノクローナル抗体を含む凍結乾燥体が、セル（2）にはアルカリ性ホスファターゼ標識25-OHビタミンＤ誘導体を含む凍結乾燥体が封入されています。この試薬カップのセル（1）に分注水と前処理された検体を、セル（2）には分注水を加え、それぞれ凍結乾燥試薬を溶解します。前処理された検体が注入されたセル（1）においては凍結乾燥試薬が溶解すると同時に第一反応が開始します。一定時間、一定温度でインキュベートした後、セル（2）の内容物を一定量、セル（1）に移すことにより第二反応が開始されます。一定時間、一定温度でインキュベートした後、洗浄水で洗浄することにより、未反応の酵素標識抗原と検体成分を除去します（B/F分離）。B/F分離後、磁性微粒子に結合した酵素活性を測定するために基質としてＤＩＦＵＲＡＴを添加し、酵素による分解で得られる発光強度を測定することにより、検体中の25-OHビタミンＤ濃度を知ることができます。

[操作上の注意]

1. 測定試料の性質、採取法
   1) 検体には新鮮な血清又は血漿を使用してください。血漿にはヘパリン血漿又はEDTA血漿を用いてください。検体を分取する場合は、溶血させないように注意してください。
   2) 検体に溶血が認められた場合は高値となる可能性があるため使用を避けてください。
   3) 検体を保存する場合は、２～８℃で保存し、７日以内に測定してください。７日以内に測定しない場合は、−20℃以下で凍結保存し、60日以内に測定してください。２～８℃保存又は凍結保存した検体をご使用の際には、15～25℃に戻してから使用してください。
   4) 検体に検体由来成分（フィブリン等）が存在する場合は、遠心分離を行い、除去してから使用してください。
   5) 凍結保存検体の凍結融解の繰り返しは避けてください。

2. 妨害物質・妨害薬剤
   遊離型ビリルビンは17 mg/dLまで、抱合型ビリルビンは19 mg/dLまで、脂質は230 mg/dLまで、アルブミンは0.5 g/dLまで、アスコルビン酸は20 mg/dLまで、ヘパリンは100 U/mL（日本薬局方定量法による）まで、EDTA・2Kは10 mg/mLまで、それぞれ検体に添加しても測定値に影響を与えないことが確認されています。ヘモグロビンは検体に添加することで測定値に影響を与えることが確認されています。

3. その他
   本キットは全自動化学発光酵素免疫測定装置　AIA®-CL2400又はそれと同等の性能を有する専用機器の専用試薬であり、他の装置では使用できません。

[用法・用量（操作方法）]

1. 試薬の調製方法
   1) 反応試薬
   そのまま使用します。
   2) 前処理試薬
   そのまま使用します。
   3) 基質セット
   そのまま使用します。
   4) 洗浄液
   精製水で希釈して洗浄水を調製し、使用します。
   5) 分注液
   精製水で希釈して分注水を調製し、使用します。

2. 必要な器具・器材・試料等
   - 全自動化学発光酵素免疫測定装置　AIA-CL2400又はそれと同等の性能を有する専用機器
   - 基質セット　（ＡＩＡ－パックＣＬ用）
   - 洗浄液　（ＡＩＡ－パックＣＬ用）
   - 分注液　（ＡＩＡ－パックＣＬ用）
   - ＡＩＡ－ＣＬ用　２５-ＯＨビタミンＤ　較正試薬セット
   - ＡＩＡ－ＣＬ用　検出器検定カップ
   - サンプルカップ
   - ピペットチップ
   - チップラック

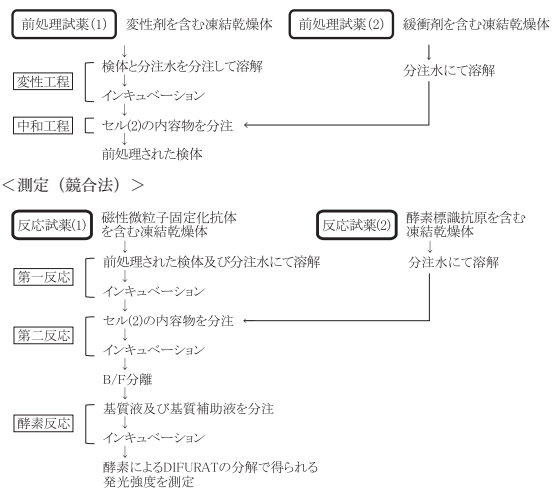
   使用方法は装置の取扱説明書の他、各製品の添付文書又は説明書をご参照ください。

3. 測定（操作）法
   1) 試薬の準備
   ① 反応試薬の防湿袋を開封して装置にセットしてください。
   ② 前処理試薬の防湿袋を開封して装置にセットしてください。
   ③ 基質セットは開封後、そのまま装置の所定位置にセットしてください。
   ④ 洗浄液及び分注液は濃縮液です。使用する装置により以下のいずれかに従って洗浄水及び分注水を調製してください。
   (a) 装置自動調製
   洗浄液（150 mL入り／品番：0029703）、分注液（100 mL入り／品番：0029704）を用いてください。
   装置上で精製水により自動調製されますので、装置の取扱説明書に従ってセットしてください。
   (b) 用手法調製
   洗浄液（150 mL入り／品番：0029703）、分注液（60 mL入り／品番：0029708）を用いてください。
   洗浄液ボトル１本（150 mL）を精製水で希釈して３Ｌとし、濃度勾配を生じないよう十分に混和して、洗浄水を調製してください。
   分注液ボトル１本（60 mL）を精製水で希釈して３Ｌとし、濃度勾配を生じないよう十分に混和して、分注水を調製してください。

   2) 測定方法
   測定に必要な以下の操作は装置により自動で行われます（全自動化学発光酵素免疫測定装置　AIA-CL2400の例を表示）。
   ＜前処理＞
   ① 前処理試薬のアルミシールを破ります。
   ② 前処理試薬のセル（1）に検体20 μＬと分注水30 μＬを加え、37℃で10分間反応させます（検体変性）。セル（2）には分注水75 μＬを加えて内容物を溶解します。
   ③ 前処理試薬のセル（1）にセル（2）の内容物50 μＬを加え、検体の前処理を完了させます（検体中和）。

   ＜測定（競合法）＞
   ① 反応試薬のアルミシールを破ります。
   ② 反応試薬のセル（1）に分注水10 μＬと前処理された検体40 μＬを加え、37℃で16分間反応させます（第一反応）。セル（2）には分注水75 μＬを加えて内容物を溶解します。
   ③ 反応試薬のセル（1）にセル（2）の内容物50 μＬを加え、37℃で3分間反応させます（第二反応）。
   ④ 反応試薬のセル（1）を洗浄水で洗浄し、未反応の酵素標識抗原と検体成分を除去します（B/F分離）。
   ⑤ 反応試薬のセル（1）に基質液及び基質補助液をそれぞれ25 μＬ注入し撹拌した後、37℃で4分間反応させ発光強度を測定します。

＜反応の概略＞



   3) キャリブレーション
   ① 本試薬のマスターカーブ情報は、反応試薬の小箱ラベルのＱＲコード®に記録されています。小箱ラベルのＱＲコードを装置に読み込み、マスターカーブを装置に記憶させます。
   ② 別売のＡＩＡ－ＣＬ用　２５-ＯＨビタミンＤ　較正試薬セットは防湿袋を開封して装置にセットします。濃度値は較正試薬の小箱ラベルのＱＲコードから読み取らせてください。
   ③ 装置の取扱説明書に従い較正試薬を測定し、較正試薬に対する発光強度からマスターカーブを較正します。

   4) 検体の測定
   ① 装置の取扱説明書に従って検体をセットし、検体に対する発光強度を測定します。
   ② 検体中の25-OHビタミンＤ濃度は較正されたマスターカーブから自動的に算出されます。
   ③ 測定結果が150 ng/mLを超えたときは、“＞150 ng/mL”として報告してください。検体を希釈して測定した場合は、測定結果の信頼性は保証できません。

5) 精度管理
検体測定時には精度管理用サンプルを測定し、ご施設での日常の精度管理を実施してください。なお、精度管理用サンプルとしては、別売の弊社コントロールをお勧めします。

[測定結果の判定法]
1. 測定結果の判定
1) 日本小児内分泌学会による「ビタミンD欠乏性くる病・低カルシウム血症の診断の手引き」(*1*) においては、ビタミンD欠乏は20 ng/mL以下（15 ng/mL以下であればより確実）と示されています。
2) 米国内分泌学会のガイドライン（*2*）及び日本内分泌学会、日本骨代謝学会、厚生労働省難治性疾患克服研究事業ホルモン受容機構異常に関する調査研究班による「ビタミンD不足・欠乏の判定指針」(*3*) において提示された基準値は以下のとおりです。
ビタミンD充足状態： 30 ng/mL以上
ビタミンD不足： 20 ng/mL以上30 ng/mL未満
ビタミンD欠乏： 20 ng/mL未満

なお、参考基準範囲は種々の要因で変動することがありますので、各施設において設定願います。

2. 判定上の注意
1) 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ください。
2) 検体には異好抗体を含むものがあり、正しい測定値が得られないことがあります。また、各種疾患の治療等の目的でご使用になった薬物の影響により、測定値が変動することがあります。
3) 検体に含まれる不溶物（フィブリン等）や自己抗体の影響により非特異反応が起こり正確な測定値が得られない場合があります。
4) フルオレセインが投与されている患者の検体は、測定値に正の誤差を与える可能性があります。フルオレセインは蛍光眼底造影剤として静脈注射によって投与される場合があります。
5) 単位変換について
本電子添文においては25-OHビタミンD濃度をng/mL単位で表記しています。nmol/Lへの変換には次の関係式を用いることができます。
nmol 25-OHビタミンD/L = ng 25-OHビタミンD/mL × 2.5

[性能]
1. 感度
1) 標準試料（1）※1の発光強度は1,800 cps以上です。
2) 標準試料（1）を測定した場合の発光強度と、標準試料（2）※2を測定した場合の発光強度の比※3は42 %以下となります。
※1 25-OHビタミンDフリーヒト血清
※2 25-OHビタミンD（合成品）を添加して25-OHビタミンD濃度64～96 ng/mLに調製したヒト血清
※3 発光強度の比＝A／B × 100
A：標準試料（2）の発光強度 (cps)
B：標準試料（1）の発光強度 (cps)
cps: counts per second

2. 正確性
25-OHビタミンD濃度の異なる3種類（4～50 ng/mL、51～100 ng/mL、101～150 ng/mL）の濃度既知コントロール※4を測定するとき、それぞれの測定値は表示濃度の100±20 %以内です。
※4 濃度既知コントロールとは、東ソー25-OHビタミンD標準品を対照として本キットを用いて測定し、表示濃度を定めたヒト血清又は血漿です。
なお、東ソー25-OHビタミンD標準品とは、「東ソー25-OHビタミンD一次標準品」及び「東ソー25-OHビタミンD一次標準品を基準にして調製した標準品」を総称したものです。

3. 同時再現性
25-OHビタミンD濃度の異なる3種類（4～50 ng/mL、51～100 ng/mL、101～150 ng/mL）の濃度既知コントロールを5回同時に測定するとき、それぞれの測定値の変動係数は15 %以下です。

4. 測定範囲：4.0～150 ng/mL

5. 交叉反応性

対象物質	濃度（ng/mL）	交叉率（mol%）
25-OH vitamin D_2	30	101
3-epi 25-OH vitamin D_3	30	103
24,25-$(OH)_2$-vitamin D_3	100	15.8
Vitamin D_3	1,000	< 0.01
Vitamin D_2	1,000	0.872

6. 相関性試験成績
1) 血清に関する相関性
① 本法（y）と他社ECLIA法（x）との相関性を検討した結果は以下のとおりです。
y = 1.07 x − 3.11
r = 0.93
n = 120
② 本法（y）と他社CLEIA法（x）との相関性を検討した結果は以下のとおりです。
y = 0.92 x + 0.36
r = 0.90
n = 111
2) 検体種に関する相関性
① 本法でヘパリン血漿（y）と血清（x）との相関性を検討した結果は以下のとおりです。
y = 0.999 x + 0.695
r = 0.995
n = 157
② 本法でEDTA血漿（y）と血清（x）との相関性を検討した結果は以下のとおりです。
y = 1.01 x + 0.342
r = 0.995
n = 157

7. 較正用基準物質
NIST（National Institute of Standards and Technology）SRM 2972
(ID-LC-MS/MS法を対照とした相関性試験結果に基づき社内標準品の濃度を設定)

なお、上記に基づき設定した社内標準品により、本キットはNIST SRM 972aへトレーサブルであることを確認しています。

[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り扱ってください。検査にあたっては感染の危険を避けるために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。
2) 基質セット、洗浄液、分注液には保存剤としてアジ化ナトリウムが、前処理試薬には水酸化ナトリウムが含まれています。使用に際しては、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。

2. 使用上の注意
1) ご使用になるまで試薬は2～8 ℃で保存してください。指定の貯法以外で保存した試薬や使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
2) 試薬トレイ間での試薬カップの載せ替えは、試薬の誤った識別につながりますので、絶対に行わないでください。
3) マスターカーブを較正する場合には、新しく防湿袋を開封した反応試薬及び前処理試薬を使用してください。
4) 反応試薬のマスターカーブは、次の場合に較正しなおしてください。
① 反応試薬のロットの変更時
② 同一の反応試薬ロットにおいて、較正後90日を超えた場合
③ 精度管理用サンプルの値が変動するなど較正が適切でないと考えられた場合
5) AIA-CL2400において2つの測定ユニットで測定する場合は、それぞれマスターカーブを較正してください。
6) 反応試薬及び前処理試薬は防湿袋を開封後、2～8 ℃又は試薬カップソーター（冷却機能付）内で保存した場合30日間有効です。15～25 ℃での取扱いは累積時間として240時間以内にしてください。例えば､1日あたり15～25 ℃に8時間、2～8 ℃に16時間保存することを毎日繰り返した場合は30日に相当します。
7) 基質セット（各50 mL入り／品番：0029701）の基質液及び基質補助液は開封後、装置にセットしてからそれぞれ60日間有効です。
8) 基質セット（各0.35 mL入り／品番：0029709）は防湿袋を開封後、使用する分の試薬カップを取り出して装置にセットし、残りは2～8 ℃に保存してください。2～8 ℃に保存した試薬カップは使用期限までに使用してください。安定性が低下しますので、2～8 ℃以外での保存は避けてください。装置にセットした後（15～25 ℃）は、3日以内に使用してください。
9) 洗浄液及び分注液は装置にセット後又は用手法調製後、それぞれ30日間有効です。
10) 基質セットは清浄な状態で装置にセットしてください。基質液又は基質補助液が汚染された場合、基質成分の分解等の理由により、正確な測定が出来なくなる恐れがあります。
11) 基質液及び基質補助液のボトルをセットした後は、交換時まで取外しは避けてください。基質液及び基質補助液の注ぎ足しは同一ロットであっても絶対に行わないでください。残液は廃棄してください。
12) 試験器具などの汚れは判定を誤らせることがありますので、清浄なものを使用してください。
13) 正確な測定を行うために、精製水は常に新しいものを使用してください。

3. 廃棄上の注意
1) 基質セット、洗浄液、分注液には保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。アジ化ナトリウムは鉛管及び銅管と反応して爆発性のある金属アジドを生成することがありますので、廃棄する場合は、多量の水で薄めるようにしてください。
2) 検体の付着したピペットチップ、手袋などの器具、及び測定終了後の試薬カップはオートクレーブ（例えば121 ℃、20分以上）などで滅菌後廃棄してください。
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。
4) 試薬、廃液などが飛散した場合には、拭き取りと消毒を行ってください。

[貯蔵方法・有効期間]
1. 貯蔵方法 2～8 ℃保存
2. キットの有効期間 13ヶ月
各構成試薬の有効期間
反応試薬 25ヶ月
前処理試薬 25ヶ月
基質セット 13ヶ月
洗浄液 13ヶ月
分注液 13ヶ月
※ 使用期限は、各構成試薬の外箱等のラベルに記載されています。

[包装単位]

品番	品名	包装
0029146	ＡＩＡ－パックＣＬ　２５-ＯＨビタミンＤ 反応試薬	96回測定分
0029546	ＡＩＡ－パックＣＬ　２５-ＯＨビタミンＤ 前処理試薬	96回測定分
0029701	基質セット　（ＡＩＡ－パックＣＬ用）※5 基質液 基質補助液	 50 mL入り ×2本 50 mL入り ×2本
0029702	基質セット　（ＡＩＡ－パックＣＬ用）※5 基質液 基質補助液	 100 mL入り ×2本 100 mL入り ×2本
0029709	基質セット　（ＡＩＡ－パックＣＬ用）※5 ※6 基質液 基質補助液	各0.35 mL入り ×96試薬カップ
0029703	洗浄液　（ＡＩＡ－パックＣＬ用）※5	150 mL入り ×4本
0029704	分注液　（ＡＩＡ－パックＣＬ用）※5 ※7	100 mL入り ×4本
0029708	分注液　（ＡＩＡ－パックＣＬ用）※5 ※8	60 mL入り ×4本

関連製品※5

品番	品名	包装
0029246	ＡＩＡ－ＣＬ用　２５-ＯＨビタミンＤ 較正試薬セット	較正試薬(1)､(2)､(3)：各4回較正分

※5 これらの製品は別売です。
※6 AIA-CL300用
※7 装置自動調製用
※8 用手法調製用

[主要文献]
1. 日本小児内分泌学会「ビタミンＤ欠乏性くる病･低カルシウム血症の診断の手引き」
2. Holick MF et al.: Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline, J Clin. Endocrinol Metab., 96(7), 1911-1930 (2011).
3. 日本内分泌学会雑誌「ビタミンＤ不足・欠乏の判定指針」, Vol.93 Suppl. Mar., (2017).

“ＡＩＡ”、“ＡＩＡ－パックＣＬ”及び“ＤＩＦＵＲＡＴ”は東ソー株式会社の登録商標です。

“ＱＲコード”は株式会社デンソーウェーブの登録商標です。

[問い合わせ先]
東ソー株式会社 バイオサイエンス事業部
カスタマーサポートセンター
〒252-1123 神奈川県綾瀬市早川 2743-1
フリーダイヤル®　0120-17-1200
TEL.（0467）76-5384
FAX.（0467）79-2550

＊[製造販売業者の氏名又は名称及び住所]

製造販売元

TOSOH 東ソー株式会社
東京都中央区八重洲 2-2-1

製造元

TOSOH 東ソー･エイアイエイ株式会社
富山県富山市岩瀬古志町 2 番地