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

体外診断用医薬品

製造販売承認番号：30600EZX00026000　　2024 年 9 月作成（第 1 版）

I 型コラーゲン架橋N-テロペプチドキット

セビア　ＮＴＸ　血清

【全般的な注意】

1. 本製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. 添付文書に記載した内容以外の方法で使用した場合には、保証致しません。
4. 本キットの標準溶液及びコントロール血清に含まれるヒト由来成分は HBs 抗原、HIV 抗体及びHCV 抗体陰性を確認しておりますが、感染性のあるものとして慎重に取り扱ってください。
5. 使用する機器の添付文書又は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)】

本試薬は次の構成試薬及び付属品からなります。

構成試薬

A) 抗原結合プレート（8 ウェル×12 ストリップ）・・・　1枚
　合成 NTX 抗原（ストレプトアビジン-ビオチン化 I 型コラーゲン架橋NTX 複合体）

B) 検体希釈液（40 mL）・・・・・・・・・・・・・　1本
　保存剤として ProClin™ 300（0.05%）が含まれています。

C) 酵素標識抗体（原液）（0.4 mL）・・・・・・・・・・　1本
　ペルオキシダーゼ標識抗 NTX マウスモノクローナル抗体
　保存剤として ProClin™ 300（0.1%）が含まれています。

D) 酵素標識抗体希釈液（25 mL）・・・・・・・・・・・　1本
　保存剤として ProClin™ 300（0.05%）が含まれています。

E) 発色剤（0.9 mL）・・・・・・・・・・・・・・・・・　1本
　3,3',5,5'-テトラメチルベンジジンを含むジメチルスルホキシド（DMSO）溶液

F) 基質液（30 mL）・・・・・・・・・・・・・・・・・・　1本
　過酸化水素水溶液

G) 停止剤（25mL）・・・・・・・・・・・・・・・・・・　1本
　1N 硫酸溶液

H) 濃縮洗浄液（30 倍濃度）（125 mL）・・・・・・・・・・　1本

I) 標準溶液

（0）標準溶液　0 nM BCE（20 mL）・・・　1本
（5）標準溶液　5 nM BCE（0.4 mL）・・・　1本
（10）標準溶液　10 nM BCE（0.4 mL）・・・　1本
（20）標準溶液　20 nM BCE（0.4 mL）・・・　1本
（40）標準溶液　40 nM BCE（0.4 mL）・・・　1本

各標準溶液には、保存剤として ProClin™ 300（0.05%）がそれぞれ含まれています。

J) コントロール血清（各 0.4 mL）

（I）コントロール血清　低濃度用・・・・・・・・・・　1本
（II）コントロール血清　高濃度用・・・・・・・・・・　1本

各血清コントロールには、保存剤として ProClin™ 300（0.1%）がそれぞれ含まれています。

付属品

プレートシール・・・・・・・・・・・・・・・・・・・1パッド

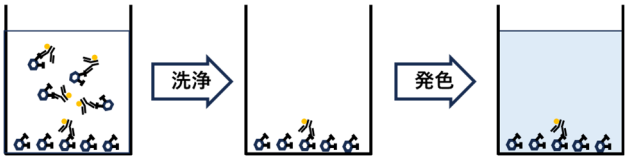
【使用目的】

血清中の I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド（NTX）の測定

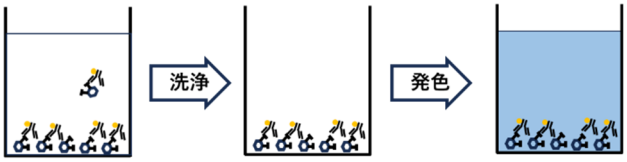
【測定原理】

本品は、ヒト血清中の NTX を、競合阻害酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）により測定する試薬です。合成 NTX 抗原（ストレプトアビジン-ビオチン化 NTX 複合体）が固相された抗原結合プレートのウェルに、標準溶液、コントロール血清及び検体を各ウェルに加え、さらに酵素標識抗体溶液を加えます。検体中の NTX はプレートウェル中の合成 NTX 抗原と競合し、検体中の NTX の量に反比 例して、固相された合成 NTX 抗原に結合する酵素標識抗体の量は減少します。洗浄により、検体中の NTX に結合した酵素標識抗体と未反応の酵素標識抗体を取り除きます。ウェルに発色試液を添加すると、プレートに固相された合成 NTX 抗原に結合した酵素標識抗体の量に応じて発色します。吸光度をプレートリーダーで測定し、同時に測定した標準溶液の吸光度より検量線を作成します。作成した検量線を用いて、検体の NTX の濃度を算出します。
測定値は、1 リットルあたりのナノモル骨コラーゲン当量（nmol/L Bone Collagen Equivalents : nM BCE）として報告されます。

検体中に NTX が多い場合



検体中に NTX が少ない場合



：NTX 抗原
：ペルオキシダーゼ標識抗 NTX モノクローナル抗体

【操作上の注意】

1. 検体の採取及び保存について

標準的な静脈穿刺法で採血された血清を用います。血漿検体及び尿検体は使用できません。血清は、血液を完全に凝固させたのち、血清を速やかに分取してください。血清検体は冷蔵した場合（2～8℃）で 24 時間以内に測定に使用してください。検体を長期保存する場合、凍結（-20℃以下）して保存してください。検体は、凍結融解 3 回まで繰り返しが可能です。NTX は日内変動を示すことが報告され

ているため、治療効果のモニタリング等、同一患者で値の比較を行う場合には、初回と同じ時刻に検体を採取することを推奨します[1)]。

2. 妨害物質等

検体中の共存物質として、ビリルビン、ブドウ糖、コレステロール、トリグリセライド、総タンパク、アルブミン、ヘモグロビン及びビオチンを含む成分を生理学的な基準値以上を検体に添加したとき、測定値に対する影響は認められませんでした。

【用法・用量（操作方法)】

本試薬の操作方法は次のとおりです。

1. 測定に必要な機器及び器具

- 校正済みの、シングル及びマルチチャンネルピペット
- 使い捨てピペットチップ
- 検体調製用マイクロチューブ
- 試薬を調製するための使い捨てプラスチック容器
- 試薬リザーバー
- プレートウォッシャー
- 450 nm 及び 630 nm のフィルターを備えたプレートリーダー（吸光度範囲0～3.000 以上を測定できるもの）
- 4 係数ロジスティック曲線作成用プログラム（推奨）
- 脱イオン水

2. 測定の準備

1)すべての検体と試薬は室温（18～28℃）に少なくとも 1 時間平衡化させてから測定を行ってください。加温を容易にするため、試薬はキットの箱から取り出してください。凍結された血清検体を用いる場合は、37℃でウォーターバスまたはインキュベーターで解凍し、室温に戻してから測定に使用してください。発色剤にはジメチルスルホキシドが含まれており、保管温度では固化することがありますが、室温では液体です。

2)洗浄液を調製します。濃縮 洗浄液を脱イオン水で 30 倍 に希釈し（希釈例：濃縮洗浄液 30 mL＋脱イオン水 870 mL）、最低 5 分間混合します。希釈した洗浄液は室温で 1 ヶ月間安定です。

3)標準溶液、血清コントロール、検体の位置を示すプレートマップを作成します。標準溶液と血清コントロールは二重測定することを推奨します。患者血清検体 10 検体を用いた場合のプレートマップの例を以下に示します。

	1	2	3
A	(0) 標準溶液	(40) 標準溶液	検体3
B	(0) 標準溶液	(40) 標準溶液	検体4
C	(5) 標準溶液	（Ⅰ）血清コントロール	検体5
D	(5) 標準溶液	（Ⅰ）血清コントロール	検体6
E	(10) 標準溶液	（Ⅱ）血清コントロール	検体7
F	(10) 標準溶液	（Ⅱ）血清コントロール	検体8
G	(20) 標準溶液	検体1	検体9
H	(20) 標準溶液	検体2	検体10

4)使用濃度の酵素標識抗体溶液を調製します。清潔な使い捨てプラスチック容器を使用し、酵素標識抗体（原液）を酵素標識抗体希釈液で 101 倍に希釈します。転倒混和のみで穏やかに混和してください。ボルテックスやマグネチックスターラーは使用しないでください。混合する際には、発泡を避けてください。また、容器の再利用をしないでください。使用するストリップ数と調製する必要な試薬量との関係について、以下の表をご参考願います。

使用するストリップの数	酵素標識抗体（原液）（μL）	酵素標識抗体希釈液（mL）
3－4	40	4
5－8	80	8
9－12	120	12

3. 測定方法

1) 抗原結合プレートをアルミ袋から取り出し、測定に必要な数のストリップを準備します。（使用しないストリップは、必ず乾燥剤の入った元のアルミ袋に入れシールしたのち、2～8℃に保存してください。）

2) 検体調製用マイクロチューブ等を用い、全ての標準溶液、コントロール血清及び検体を検体希釈液で 5 倍（検体 1 に対し、検体希釈液 4 の割合）に希釈します。

3) マルチチャンネルピペットを用いて、抗原結合プレートの各ウェルに、希釈した標準溶液、コントロール血清及び検体を各 100 μL ずつ加えます。

4) 調製した酵素標識抗体溶液 100 μL を各ウェルに加え、プレートシールをした後に15～20 秒間ゆるやかに撹拌を行います。この際、各ウェルの溶液が、ウェルの壁やプレートシールにはね上がらないように注意してください。

5) 室温（20～25℃）で 90 分±5 分、静置し反応させます（免疫反応）。

6) 免疫反応終了の約 5 分前に発色剤を基質液で 101 倍に希釈し、発色試液を調製します。発色試液の調製には清潔な使い捨てプラスチック容器を使用し、プラスチック容器は再利用しないでください。希釈時の撹拌は転倒撹拌で行い、ボルテックスミキサーやマグネチックスターラー等は用いないでください。調製した発色試液は無色でなければなりません。青色である場合は、試薬が汚染されている可能性があるので廃棄してください。目安として、1ストリップあたり 2 mL の発色試液（20 μL 発色剤を 2 mL 基質液と混合）を調製してください。

7) 反応終了後、注意深くプレートシールをはがし、各ウェルの溶液を吸引除去します。その後、プレート洗浄機などを用いて、5回洗浄を行います（1 回の洗浄液の量は1ウェル当たり 350 μL 以上で行ってください)。洗浄後、プレートを逆さまにして、ペーパータオル等に軽くたたきつけて、ウェルに残った洗浄液を完全に除去します。

8) 直ちに各ウェルに発色試液 200 μL を加え、新しいプレートシールをして、室温（20～25℃）で 30 分間暗所に静置します（酵素反応)。

9) 注意深くプレートシールをはがし、停止剤 100 μL を各ウェルに加え、酵素反応を停止させます。

10) 15～20 秒間ゆるやかに撹拌した後、室温（20～25℃）に5分間静置します。

11) 酵素反応停止後 30 分以内に波長 450 nm（副波長 630 nm）における吸光度を測定します。

4. NTX 値の算出方法

1)標準溶液を測定して得られた吸光度を縦軸に、NTX 濃度を横軸にプロットして、標準曲線を作成します（標準曲線の回帰には 4 係数ロジスティック曲線作成ソフトを用いることを推奨します)。検体を測定して得られた吸光度から NTX 濃度を読みとり、検体中の NTX 濃度を求めます。NTX 値は、1 リットルあたりのナノモル骨コラーゲン当量（nM BCE）で報告されます。

2)アッセイ結果は、以下の基準を満たす場合に有効です。

a. (0) 標準溶液　0 nM BCE の平均吸光度が 1.300 以上であること。

b. (0) 標準溶液　0 nM BCE と(40) 標準溶液　40 nM BCE の吸光度差が 0.900 以上であること。

3)検体を二重測定する場合、推奨する二重測定間の変動係数（CV（%））は 25%未満です。 CV(%)が 25%を超える場合は、再度測定しなおしてください。

4)(40) 標準溶液 40 nM BCE 吸光度値以下を示す患者検体は、（0）標準溶液 0 nM BCE で 2 倍希釈をしたのち、検体希釈液で 1：5 に希釈し、再検査してください。希釈した検体で得られた測定値に、係数 2 を乗じて測定値を算出します。

5)血清コントロール範囲は製造業者によって設定されています。

【測定結果の判定法】

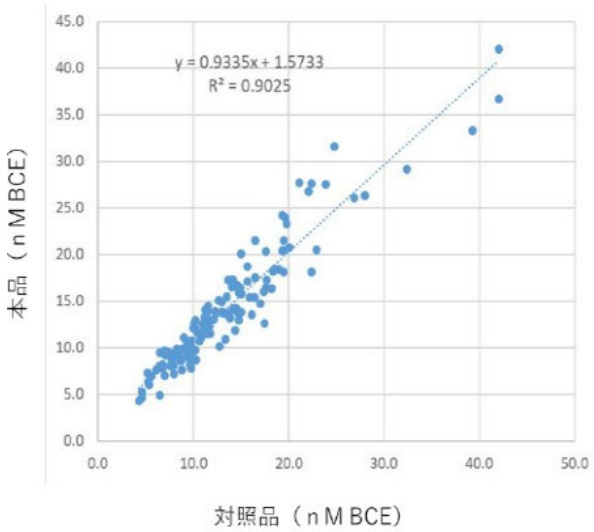
「骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン 2015 年版[5)]」において、同じ測定原理の試薬で得られている血清中 NTX の基準値、カットオフ値、異常高値、最小有意変化率は、下表のとおりです。

項目	基準値	測定法	カットオフ値	
			骨量減少	骨折
血清NTX	7.5～16.5#nmolBCE/L	EIA	13.6	16.5

#：40～44歳の閉経前の女性

項目	異常高値			最小有意変化(%)
	閉経前	閉経後	男性	
血清NTX	16.5＜	24.0＜	17.7＜	16.3

【性能】
操作方法に従い測定を行ったとき、感度、正確性、再現性及び測定範囲は以下のとおりです。
1) 感度
(0) 標準溶液 0 nM BCE 及び(40) 標準溶液 40 nM BCE の 450 nm における吸光度を測定するとき、(0) 標準溶液 0 nM BCE の吸光度は 1.300 以上、(0) 標準溶液 0 nM BCE と(40) 標準溶液 40 nM BCE の吸光度の差は 0.900 以上です。
2) 正確性
NTX 値が 10～40 nM BCE の範囲にある既知濃度の管理検体を測定するとき、その測定値は既知濃度の±25%の範囲にあります。
3) 再現性
NTX 値が 5～40 nM BCE の範囲にある既知濃度の管理検体を 4 回測定するとき、管理検体の測定値の変動係数は 20%以下です。
4) 測定範囲
血清中の NTX 濃度の測定限界は 3.2 nM BCE であり、測定上限は 40 nM BCE です。
5) 相関性
本品と同じ測定原理である既承認品との間で、150 例の検体について測定を行い相関性について検討した結果、相関係数 r＝0.95、回帰式y = 0.9335x + 1.5733 の相関が得られました。



【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) 検体は HIV、HBV、HCV 等の感染の可能性があるものとして、十分に注意して取り扱ってください。
(2) 停止剤には硫酸を用いているので、試薬が目や皮膚に付着しないよう十分に注意して取り扱ってください。誤って付着した場合には直ちに大量の水で洗い流し、必要に応じて医師の手当てを受けてください。
(3) 本品の多くの試薬には、保存剤として ProClin300 が含まれています。試薬が皮膚や目に入った場合、皮膚刺激又は重篤な眼の刺激を引き起こす可能性があります。
(4) 発色剤には溶媒としてジメチルスルホキシド（DMSO）を用いています。目や皮膚に付着した場合、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。付着した場合は、直ちに大量の水で洗い流してください。
(5) 検査にあたっては安全のため、使い捨ての手袋や、ゴーグル等を着用し、口によるピペッティングを行わないでください。また、検査終了後はよく手を洗ってください。
(6) 発色剤に含まれる3,3',5,5'-テトラメチルベンジジンは発がん性が確認されていますので、皮膚などに触れないよう、十分に注意して取り扱ってください。
2) 使用上の注意
(1) 検体には血清を用います。血漿や尿は使用できません。
(2) 検体を保存する場合には 2～8℃で保存し、24 時間以内に測定を実施してください。なお、検体を長時間保存する場合には、凍結（−20℃以下）して保管してください。検体は 3 回まで凍結融解による使用が可能です。
(3) 試薬の保管に際しては、2～8℃で保管してください。試薬使用後は、直ちに 2～8℃に保管し、2℃以下、あるいは 30℃以上の条件下に、試薬をさらさないでください。
(4) 保存や反応の間には、試薬に強い光を当てないでください。
(5) 使用期限の過ぎたキットは使用しないでください。
(6) 残ったストリップは、必ず乾燥剤の入った元のアルミ袋に入れシールをし、2～8℃に保存してください。
(7) 本品は同一製造番号の試薬間で正確な測定ができるように調製されているため、他の製造番号の試薬と組み合わせて使用しないでください。
(8) 検体、試薬への微生物の混入や、試薬間のコンタミネーションを避けてください。
(9) 正しい結果を得るために、使用する器具は清浄なものを使用してください。
(10) 各操作における反応時間、反応温度を厳守してください。
(11) 唾液の混入は測定値に影響を及ぼすので、測定の際に唾液が混入しないように注意してください。
(12) 標準溶液、検体及びコントロール血清を抗原結合プレートの各ウェルに分注する際にはウェルの底に添加し、ウェルの壁に触れないように注意してください。また、検体間の相互汚染を避けるため、検体毎に新しいチップを使用してください。
(13) 調製された発色試液は無色澄明な溶液です。使用前に青色に着色している場合には、汚染されているので使用しないでください。
(14) プレートシールは常に新しいものを用い、再使用しないでください。
(15) 測定後のストリップウェルは再使用できません。使用後は適切な方法で廃棄してください。
(16) 試験は適切な環境の下で実施し、過酷な環境の下では実施しないでください。

3) 廃棄上の注意
(1) 試料(検体)中には HIV、HBV、HCV 等の感染の可能性があるものとして注意して取り扱ってください。検査に使用した器具や廃液など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）またはグルタールアルデヒド（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たのち、廃棄して下さい。
(2) 本品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ください。
(3) 検体が飛散した場合は、手袋着用の上、ペーパータオルを用いて消毒用エタノール等で拭き取りと消毒を行ってください。

【貯蔵方法、有効期間】
貯蔵方法
凍結を避け2～8℃にて保存

有効期間
製造後15 か月（使用期限は外箱に表示）

【包装単位】
1キット（96 テスト）

【主要文献】
1) 日本骨粗鬆学会　骨代謝マーカー検討委員会．骨粗鬆症診療における骨代謝マーカーの適正使用ガイド2018年版．　（一般社団法人日本骨粗鬆症学会）
2) Shetty S, Kapoor N, Bondu JD, Thomas N, Paul TV. Bone turnover markers: Emerging tool in the management of osteoporosis. Indian J Endocrinol Metab. 2016 Nov-Dec;20(6):846-852.
3) Greenblatt MB, Tsai JN, Wein MN. Bone Turnover Markers in the Diagnosis and Monitoring of Metabolic Bone Disease. Clin Chem. 2017 Feb;63(2):464-474.
4) Li L, Shen X, Liang Y, Li B, Si Y, Ma R. N-telopeptide as a potential diagnostic and prognostic marker for bone metastasis in

human cancers: A meta-analysis. Heliyon. 2023 May 1;9(5):e15980.
5) 骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン作成委員会編．骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン 2015年版 （日本骨粗鬆学会、日本骨代謝学会、日本骨粗鬆症財団）

【問い合わせ先】
ＳＥＢＩＡ ＪＡＰＡＮ株式会社
住所 ： 〒108-0014　東京都港区芝四丁目13 番2号 田町フロントビル
電話番号 ：03-6722-6435
FAX 番号：03-6722-6438

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】
製造販売業者名称：ＳＥＢＩＡ ＪＡＰＡＮ株式会社
住所：〒108-0014　東京都港区芝四丁目13 番2号田町フロントビル
電話番号：03-6722-6435
外国製造所の国名：アメリカ合衆国
製造業者名称：Zeus Scientific, Inc.

SIU011_1