

NTx Reag

058844/01-2011

体外診断用医薬品

I型コラーゲン架橋 N-テロペプチドキット  
ビトロス® NTx

承認番号: 30200EZX00012000

## 【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。
- 本添付文書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添付文書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、ProClin300 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。

\*; 専用の別売品

## 【形状・構造等(キットの構成)】

- 試薬パック
  - 固相ウエル
    - ビオチン化合成 NTx ペプチド
  - 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) 標識抗 NTx マウスモノクローナル抗体
- ビトロス発光試薬 A, B
  - 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
  - ビトロス発光試薬 B\*

## 【使用目的】

尿中の I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (NTx) の測定

## 【測定原理】

本製品は、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、尿中の NTx (I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド) の測定キットです。

固相ウエルに検体及びコンジュゲートを分注することにより、コンジュゲート中のホースラディッシュペルオキシダーゼ (以下 HRP) 標識抗 NTx マウスモノクローナル抗体に対して、検体中の NTx と、ウエルに固相化されたビオチン化合成 NTx ペプチドが競合します。

非結合物質を洗浄試薬により洗い流した後、固相ウエルに基質 (発光試薬 A) を加えて発光させ<sup>1</sup>、その発光量を自動分析装置で読み取ります。検体中の NTx 濃度は、発光量に反比例し、NTx 既知濃度のキャリブレーションにより補正した標準曲線より求めます。測定値は、nM BCE (nanomoles bone collagen equivalents per liter) の単位で表示されます。なお測定値は、尿中クレアチニン値による尿量希釈の補正が必要であり、測定結果は nM BCE/mM-Cr として表します。

## 測定原理模式図



## 【操作上の注意】

- 測定試料の性質、採取法
  - 採取前の患者への特別な処置は不要です。
  - 早朝第 2 尿を用いることが推奨されます。
  - 連続測定の際、尿検体は、1 日の同時刻に採取することを推奨します。
  - 測定値に影響を与える場合がありますので、濁った検体や血液の混入が認められる尿は使用しないで下さい。
  - 尿検体に保存剤を添加しないで下さい。
  - ヘモグロビンのコンタミネーションが疑われる検体は使用しないで下さい。検体の再採取が推奨されます。
  - 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。<sup>2</sup>
  - 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。
  - 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 5 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。
- 妨害物質・妨害薬物
  - ビトロス NTx に影響を与える物質に対する評価は CLSI 文書 EP7 に従って行いました。一般的な物質は 2 ロットの試薬で検査しました。検査された化合物のうち、ヘモグロビンはビトロス NTx に干渉する可能性があります。
  - ヘモグロビン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	妨害物質の濃度		単位: nM BCE	
			測定物質の濃度*	誤差**
ヘモグロビン	3.1 μmol/L	5mg/dL	498	80

\*2 つの異なる試薬ロットを使用した多重測定の平均値

\*\*確認された差の平均値の推定値

- これらの結果は、代表的なものです。これ以外の濃度での干渉の程度を予測することができません。これ以外の干渉物質が患者検体で認められる可能性があります。
- ビトロス NTx は、CLSI 文書 EP07<sup>3</sup> に従って干渉に対する評価が行われています。NTx 濃度で 186-2325 nM BCE 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はありませんでした。

妨害物質	試験濃度	
	ビリルビン	0.21mmol/L
ピオチン	40.9 μmol/L	1.0mg/dL
グルコース	13.9mmol/L	250mg/dL
ヒト血清アルブミン	5.0g/L	500mg/dL
トリオレイン	33.9mmol/L	3000 mg/dL
ビタミンC	1.14mmol/L	20.0mg/dL

微生物	試験濃度
カンジダ(ATCC14053)	3.9×10 <sup>5</sup> CFU/mL
大腸菌(ATCC25922)	2.8×10 <sup>5</sup> CFU/mL
緑膿菌(ATCC27853)	2.4×10 <sup>5</sup> CFU/mL

尿ペプチドに関連するコラーゲンに対する、モノクローナル抗体の特異性については、文献を参照して下さい<sup>4</sup>。

### 3) その他

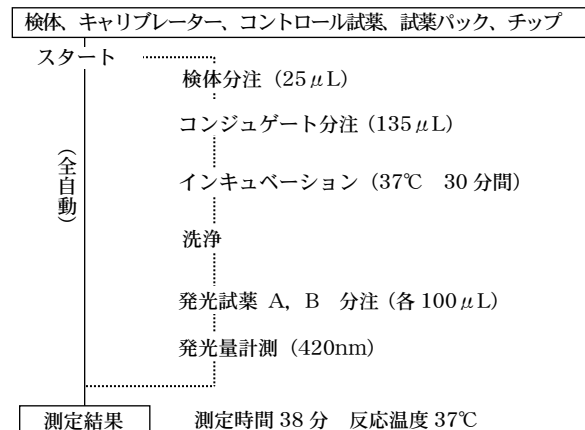
- 特定の薬剤及び臨床症状によって、体内の NTx の濃度が変動することが知られております。詳細については文献をご参照下さい<sup>5,7</sup>。
- 疾患の診断には他の検査成績や臨床症状を考慮して、総合的に判断して下さい。
- 本製品による試験は、骨吸収の指標として用いるものであり、骨粗鬆症の進行や、将来の骨折リスクの予測を立証するものではありません。
- 報告される測定結果には、時間の単位は含まれないため、一回の NTx の測定値で骨吸収率を提供することはできません。
- 本製品による試験は、原発性副甲状腺機能亢進症や甲状腺機能亢進症であることを立証するものではありません。
- 保存剤にアジ化物を使用したコントロール試薬は使用しないで下さい。
- ピオチンの経口又は静脈内投与後 24 時間までは、尿中のピオチン濃度は高い値を保ちます<sup>8</sup>。
- 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）】

- 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。
- 必要な器具・器材・試料等
  - 自動分析装置
  - コントロール試薬（別売）：本キットの精度管理用として弊社より供給されているピトロス NTx コントロールを使用することをお勧めします。
  - ピトロス NTx キャリブレーター1~3\*
  - ピトロス 希釈血清試薬パック A\*
  - ピトロス 洗浄試薬\*
  - ピトロス 発光試薬 A, B\*
- 測定(操作)法
  - 操作手順
    - 自動分析装置を使用します。
    - 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。
    - 検体及びキャリブレーター\*、コントロール試薬（別売）の最小必要量は、使用する容器によって異なります。詳細については装置の取扱説明書等を参照して下さい。
  - 検体希釈
    - 測定範囲を超える濃度の尿検体は、装置上において、ピトロス希釈血清試薬パック A\*で最大 20 倍（検体 1 に対して希釈液 19）まで希釈することができます。ピトロス希釈血清試薬パック A\*の取扱説明書を参照して下さい。
  - 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
      - 7 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
  - ピトロス NTx コントロールの使用を推奨します。このコントロールには、NTx 濃度が低・中・高 3 濃度のコントロールが含まれています。
  - 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。
  - 本試薬の性能を確認するために、コントロールを用いた制度管理を実施して下さい。
  - 臨床診断に係る濃度を確認する、コントロール濃度を選択して下さい。
  - コントロールの準備や保管、安定性に関する情報は、コントロールの製造元が提供する資料を参照して下さい。
  - 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。

### 測定概略



### \*【測定結果の判定法】

- 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、nM BCE の単位で表示されます。測定値は、尿中クレアチニン値によって尿希釈に対する補正が必要であり、nM BCE/mM・Cr として表します<sup>4</sup>。

尿中クレアチニン値による補正  
測定値は、尿希釈に対する補正が必要です。適切な方法を用いて、尿検体のクレアチニン濃度を決定します。

次の例に示すように、nM BCE/mM・Cr 値として尿検体の濃度値を記録します。

例) NTx 測定値=360 nM BCE  
 尿中クレアチニン値 = 60mg/dL / 11.3\* = 5.3 mM  
 360 nM BCE / 5.3 mM・Cr = 68 nM BCE/mM・Cr  
 \*mg/dL から mmol/L への変換係数

単位の設定は、装置の取扱説明書を参照して下さい。

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基準値を設定することを推奨します。

カテゴリー	検体数	平均年齢	年齢幅	平均NTx値 (nM BCE/mM・Cr)	基準範囲 (nM BCE/mM・Cr)
閉経後の女性	105	65	49-85	57	26-124
閉経前の女性	121	37	25-49	41	17-94
男性	88	35	23-52	41	21-83

(自社試験データによる)

これらの基準範囲は、314人(閉経後の女性、閉経前の女性、健常男性)の検査結果の中央値(Log10変換)から95%の範囲にあります。

なお、日本骨粗鬆症学会が提唱する尿NTxの基準値は以下の通りです。<sup>9</sup>

骨吸収マーカー	男性	女性(閉経前)	女性(閉経後)	単位
uNTX	13.0~66.2	9.3~54.3	14.3~89.0	nmol BCE/mmol・Cr

設定された基準範囲を超える測定値を示す患者検体に対し、本システムでは“LO”又は“HI”と表示するよう設定することが可能です。詳しくは装置の取扱説明書を参照して下さい。

【測定項目について】

人間の骨は、破骨細胞が媒介する骨吸収と、骨芽細胞が媒介する骨形成のプロセスによって、連続的に再構築されます。このプロセスの異常は、骨格量及び形状の変化を引き起こします。骨の有機基質の約90%がI型コラーゲンで、N末端及びC末端で架橋されたらせん状のタンパク質です。

α2(I)I型コラーゲン架橋N-テロペプチド(NTx)のアミノ酸配列及び配向性は、それが人間の骨吸収の特異的マーカーであることを示しています。NTxの分子は、骨上の破骨細胞によって生成され、続いて尿中に排泄されます。骨吸収の上昇は、多くの場合、加齢に関連する骨損失、骨量低下の主な原因であり、骨減少症を引き起こします。そしてそれは骨粗鬆症の主な原因となります。<sup>10-11</sup>

NTxレベルの上昇は、骨吸収の上昇を示しています。NTxは、閉経後の女性におけるホルモン補充療法(HRT)の骨格応答を予測することが示されています。<sup>12</sup>NTxは、閉経後の女性やバジェット病と診断された個人における骨吸収での再吸収抑制治療の効果を示すことが実証されています。<sup>10,13</sup>

【性能】

1) 性能

(1)品質管理の方法

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、NTx濃度83nM BCEの発光量(A)と、NTx濃度360nM BCE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、0.250以上、1.0未満の範囲内にあります。

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

②社内参照キャリブレーターを操作するとき、NTx濃度360nM BCEの発光量(D)と、NTx濃度1400nM BCE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、0.432以上、1.0未満の範囲内にあります。

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

2.正確性試験

既知濃度のコントロールを測定するとき、測定結果はそれぞれの既知濃度に対して、以下の範囲内にあります。

NTx濃度約120nM BCE ±18%

NTx濃度約500nM BCE ±15%

NTx濃度約2300nM BCE ±15%

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、NTx濃度約500nM BCE及び約2300nM BCEのCV値はそれぞれ10%以下になります。

2) 相関性試験成績

(1)尿検体127例を使用した、他法(ELISA法)との相関性試験成績は以下のとおりです(Passing-Bablok法<sup>14</sup>)。

尿中クレアチニン値による補正前

$$y=1.0583x-10.4965, \text{ 相関係数 } r=0.9890$$

尿中クレアチニン値による補正後

$$y=0.9871x-0.3118, \text{ 相関係数 } r=0.9362$$

3) 測定範囲(例示)

15~3,000 nM BCE

4) 校正用の基準物質(標準物質)

本品は、社内参照キャリブレーターに基づいて値が割り当てられています。

【使用上又は取扱い上の注意】

1) 取扱い上(危険防止)の注意

- 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、ProClin300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。
- 身体の汚染防止のため、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。又ピ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℃	使用期限まで
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15~30℃に戻し、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、廃液及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)又は2%グルタルアルデヒド液、1時間以上)又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）又は 2% グルタルアルデヒド液（1 時間以上浸漬）等の適切な消毒剤でふき取って下さい。

**【貯蔵方法・有効期間】**

1) 貯蔵方法

2~8℃で保存して下さい。

2) 有効期間

構成試薬	貯蔵方法	有効期間
試薬パック		
(1)固相ウェル	2~8℃	52週間
(2)コンジュゲート	2~8℃	52週間
ビトロス発光試薬A, B		
(3)発光試薬A	2~8℃	26週間
(4)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
058844	ビトロス NTx試薬パック	100テスト
068010	ビトロス 発光試薬A, B	各2本 (各28mL)

**\*【主要文献】**

- Summers M et al. Luminogenic Reagent Using 3-Chloro 4-Hydroxy Acetanilide to Enhance Peroxidase/Luminol Chemiluminescence. Clin Chem. 41 : S73 ; 1995.
- Calam RR. Specimen Processing Separator Gels : An Update. J Clin Immunoassay. 11 : 86-90 ; 1988.
- NCCLS. Interference Testing in Clinical Chemistry ; Proposed Guideline. NCCLS document EP7-P (ISBN 1-56238-020-6). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087, 1986.
- Hanson DA et al. A specific immunoassay for monitoring human bone resorption: Quantitation of Type 1 collagen cross-linked N-telepeptides in urine. J Bone and Min Res 7:1251-1258; 1992.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests ed. 4. Washington, D. C.: AACC Press ; 1995.
- Friedman RB, Young DS. Effects of Disease on Clinical Laboratory Tests. ed. 3. Washington, D. C.: AACC Press; 1997.
- 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.
- Scientific Committee on Food. Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Biotin. European Commission, SCF/CS/NUT/UPPLEV/55 Final, Brussels, 2001.
- 一般社団法人 日本骨粗鬆症学会 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
- Garnero P et al. Comparison of New Biochemical Markers of Bone Turnover in Late Postmenopausal Osteoporotic Women in Response to Alendronate Treatment. J Clin Endocrinol Metab 79:1693-1700 ; 1994.
- Garnero P et al. Increased Bone Turnover in Late Postmenopausal Women is a Major Determinant of Osteoporosis. J Bone Miner Res 11:337-349 ; 1996.
- Chesnut CH III et al. Hormone Replacement Therapy in Postmenopausal Women : Urinary N-Telopeptide of Type I Collagen Monitors Therapeutic Effect and Predicts Response of Bone Mineral Density. Am J Med 102:29-37 ; 1997.
- Papapoulos SE, Frolich M. Prediction of the Outcome of Treatment of Paget' s Disease of Bone with Bisphosphonates from Short-Term Changes in the Rate of Bone Resorption. J Clin Endocrinol and Metab 81:3993-3997 ; 1996.
- 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  
 〒141-0032 東京都品川区大崎 1-11-2  
 ゲートシティ大崎イーストタワー

**【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  
 〒141-0032 東京都品川区大崎 1-11-2  
 ゲートシティ大崎イーストタワー