

クレチンTSH ELISA II '栄研'

【一般的な注意】

1. 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できない。
2. 診断は、本製品による検査結果のみで行わず、他の検査結果や臨床症状を考慮して総合的に判断すること。
3. 添付文書に記載された内容に従い使用すること。それ以外の方法についての保証はできない。
4. 標準TSH血液ろ紙はヒト血液を含むので、感染の危険があるものとして注意して取り扱うこと。

【形状・構造等（キットの構成）】

	構成試薬名（括弧内略号）	主 な 成 分
1	TSH 抗体固相化プレート （TSH 抗体固相化プレート）	抗ヒトTSHマウスモノクローナル抗体 固相化プレート
2	酵素標識TSH 抗体 （酵素標識TSH 抗体）	ペルオキシダーゼ標識抗ヒトTSH マウスモノクローナル抗体
3	基質剤 （基質剤）	o-フェニレンジアミン二塩酸塩 （OPD）
4	溶解液 （溶解液）	過酸化水素水（30 %）
5	洗浄剤 （洗浄剤）	モノラウリン酸ポリオキシエチレン ソルビタン（20 E.O.）
6	（劇） 反応停止液 （反応停止液）	硫酸 1 ピン中 6.7 mL 含有
7	標準TSH血液ろ紙 （標準TSH血液ろ紙）	（A～G の 7 段階濃度）各スポット中 のTSH 濃度はろ紙に表示
（付属品）プレートシール		

【使用目的】

全血（血液ろ紙）中の甲状腺刺激ホルモン（TSH）の測定

【測定原理】

本製品は 1 ステップサンドイッチ法の Enzyme linked immunosorbent assay（ELISA）である。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質・採取法

乾燥血液ろ紙を使用する。冷所もしくは -20°C にて保存すること。

2. 交差反応性

社内で検討した結果、ヒト黄体形成ホルモン（LH）、ヒト卵胞刺激ホルモン（FSH）とは 100 mIU/mL、ヒト胎盤性性腺刺激ホルモン（HCG）とは 1000 IU/mL までは測定値に影響は認められない。

【用法・用量（操作方法）】

1. 試薬の調製方法

冷蔵庫から出した試薬は、室内温度に戻してから使用する。

1) 基質液

溶解液 1 ピンに基質剤 1 錠を加えて溶解する。

溶解後 30 分以内に使用し、使用後の試薬は再使用しないこと。

2) 洗浄液

洗浄剤を別の容器にとり、精製水を加えて全量を 2,000 mL とする。

$2\sim 8^{\circ}\text{C}$ に保存し、2 ヶ月以内に使用すること。

3) その他の試薬はそのまま使用する。

2. 必要な器具・器材・試料等

- 1) ディスクパンチャー（直径 3 mm 用）
- 2) マイクロピペット（100 μL ）
- 3) 連続分注器（300 μL ）又はプレート洗浄機
- 4) マイクロプレート用分光光度計
- 5) 恒温槽
- 6) プレートミキサー
- 7) 専用プレートローテーター
- 8) メスシリンダー（2,000 mL）

3. 測定（操作）法

測定は通常二重測定（2 ウェル）で行うこと。

◎ 直接法

I. 2 日法

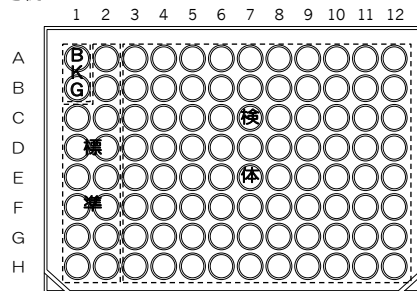
- 1) ウェルの A-1 及び B-1 をブランク（BK G）用にあけておく。ウェルの C～H の 1 列、A～H の 2 列を標準曲線作成用に使用する。
- 2) ウェルの C-1 及び D-1 に標準TSH血液ろ紙 A、ウェルの E-1 及び F-1 に次の濃度を直径 3 mm に打ち抜いたものを 1 枚ずつ入れ、以下同様に、順次ウェルの G-1、H-1、A-2、B-2、C-2、D-2、E-2、F-2、G-2、H-2 まで各標準TSH血液ろ紙を 1 枚ずつ入れる。
- 3) 残りのウェルに直径 3 mm に打ち抜いた検体血液ろ紙を 1 枚ずつ入れる。
- 4) 標準TSH血液ろ紙あるいは検体血液ろ紙を入れたウェルに、酵素標識TSH 抗体を 100 μL ずつ加え、軽く振とうさせた後、プレートシールを貼り 4°C （ $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ ）で 16～20 時間反応させる。
- 5) 内容液を排除した後、洗浄液を 300 μL ずつ分注し、液を排除する。この操作を 3 回繰り返す。このとき、ウェル内に血液ろ紙が残っていないことを確認する。
- 6) 各ウェルに基質液を 100 μL ずつ順序よく一定の速度で加える。プレートシールを貼り、遮光し、 25°C で 30 分間反応させる。
- 7) 各ウェルに基質液を入れた順序に従って、反応停止液を一定の速度で 100 μL ずつ加える。
- 8) マイクロプレート用分光光度計を用いて、波長 492 nm（480～500 nm）で、測定する。
- 9) 両対数方眼紙の横軸に標準TSH血液ろ紙の各濃度を取り、縦軸には吸光度をとって標準曲線を作成する。
- 10) 各検体の吸光度を、標準曲線にあてはめて各検体中の甲状腺刺激ホルモン（TSH）濃度を読みとる。

II. 短時間法

原則的には I. 2 日法と同じであるが、4) の操作で反応時間が異なる。相違点は以下の通りである。

- 25°C （ $20\sim 30^{\circ}\text{C}$ ）で、専用プレートローテーターで攪拌しながら、3～4 時間反応させる。

■ ウェル配置参考例



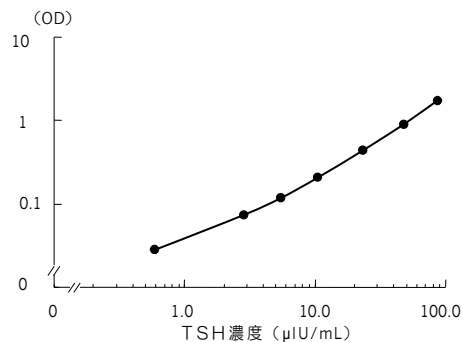
■ 操作手順プロトコール

標準TSH血液ろ紙又は検体血液ろ紙	$\phi=3\text{ mm}$, 1 枚
↓	
酵素標識TSH 抗体	100 μL
↓ 攪拌	
(2 日法) 4°C ($2\sim 8^{\circ}\text{C}$) 16～20 時間	(短時間法) 25°C ($20\sim 30^{\circ}\text{C}$) 3～4 時間
↓ デカント	
洗浄液	300 μL
↓ デカント	
洗浄液	300 μL
↓ デカント	
洗浄液	300 μL
↓ デカント	
基質液	100 μL
↓ 25°C で 30 分間インキュベート	
反応停止液	100 μL
↓	
吸光度の測定	測定波長 492 nm

◎ 溶出法

標準あるいは検体血液ろ紙にあらかじめ生理食塩水を加え溶出操作を行い、その溶出液を用いて測定する。

■標準曲線例



＜測定にあたっての注意＞

- 1) 試薬はアシ化ナトリウム、塩素イオン等の影響を受けるので、試薬の調製には必ず精製水を使用し、器具も精製水で十分に洗浄したものをを用いること。
- 2) 試薬調製後は速やかに使用すること。
- 3) 測定結果は、インキュベーションの時間や温度に影響されるので、検体及び標準血液ろ紙共に決められた条件下で同時に操作すること。特に溶出法の場合には影響を受けやすいので検体、標準血液ろ紙共に一定条件で同時に操作すること。
- 4) ウエル内に酵素標識 TSH 抗体を分注した後、十分に浸透攪拌して内容物を混和し、特に血液ろ紙が液に浸っていることを確認すること。
- 5) 洗浄操作中に血液ろ紙をウエル外に必ず排除すること。
- 6) 基質剤（錠剤）は直接溶解液容器に移し、手で触れたりしないこと。
- 7) 基質液の調製に際しては基質剤（錠剤）が溶けていることを確認し、攪拌してから使用すること。
- 8) 各反応段階で使用するプレートシールは、交換して使用すること。
- 9) 測定前にプレートの底面に汚れないことを確認し、汚れやゴミがある場合は酒精綿等で清拭後測定すること。
- 10) 検量線は測定の都度、新たに作成すること。
- *11) 逆性石けん液「例えば、塩化ベンザルコニウム等」の混入は測定値に影響を与えることがあるので、採血ろ紙に飛び散ることが無いように保管場所に留意すること、及び採血ろ紙を扱う前には逆性石けん液が手に残らないよう水で十分に洗い流すこと。

【測定結果の判定法】

同時測定時の新生児検体値の分布を作成し、その高値より 3～5 パーセントイルの検体について再検査を行い、更に 3 パーセントイル以上の検体について再採血又は精密検査を行う¹⁾。

【性 能】

1. 性 能

1) 感 度

- (1) TSH 濃度が $80 \pm 16 \mu\text{IU/mL}$ のときの吸光度 (B_{80}) は $0.7 \sim 2.5$ である。
- (2) TSH 濃度が $80 \pm 16 \mu\text{IU/mL}$ の吸光度 (B_{80}) と $5 \pm 1 \mu\text{IU/mL}$ の吸光度 (B_5) の比率 (B_{80}/B_5) は $5 \sim 20$ 倍である。

2) 正確性

濃度既知の管理用血液ろ紙を測定するとき、得られた値は表示値の $\pm 20 \%$ 以内である。

3) 同時再現性

同一検体を 10 回同時に測定するとき、得られた値の変動係数 (C.V.) は 15% 以下である。

2. 測定範囲

$0.5 (\pm 0.1) \sim 80 (\pm 16) \mu\text{IU/mL}$

3. 相関性試験成績

クレチン TSH ELISA ‘栄研’ との相関

比較対照	例数	相関係数	回 帰 式
クレチン TSH ELISA ‘栄研’	290	$r = 0.971$	$y = 1.026x + 0.016$

(y : 本法 (2 日法), x : クレチン TSH ELISA ‘栄研’)

4. 校正用基準物質に関する情報

本製品は、NIBSC WHO 80/558 を一次標準として性能を確認している。

【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 等の感染の危険があるものとして注意して取り扱うこと。
- 2) 感染を避けるため、検査時は使い捨て手袋を着用すること。
- 3) 口によるビベティングはしないこと。
- 4) 標準 TSH 血液ろ紙は、ヒト血液を材料としている。使用ヒト血液は、HBs 抗原、HIV (HIV-1, HIV-2) 抗体及び HCV 抗体検査を行い、陰性血液のみを使用しているが、感染の危険性及びその他の病原体の存在を否定しきれないため、患者検体と同様に注意して取り扱うこと。
- 5) 反応停止液には 2 mol/L の硫酸が含まれているので注意すること。誤って皮膚に付着したり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てを受けること。
- 6) 基質剤に含まれる α -フェニレンジアミン (OPD) には、変異原性が報告されている。取扱いの際は、目、皮膚、粘膜への接触を避け、粉末を吸引しないように注意すること。万一皮膚等に付着した場合には、直ちに水で十分に洗い流すこと。
- 7) 試薬が誤って目や口、皮膚に付着したときは、直ちに大量の水で十分に洗い流し、必要があれば医師の手当てを受けること。
- 8) フリップキャップを外すときは、手を切らないように注意すること。

2. 使用上の注意

- 1) 各試薬は指定の貯蔵方法で保存すること。
- 2) 使用期限を過ぎた試薬は使わないこと。
- 3) キット内の試薬は正確な測定値が得られるように組み合わせてあるので、製造番号の異なる試薬を組み合わせないこと。
- 4) 本製品中の容器、付属品等を再利用又は他の目的に転用しないこと。

3. 廃棄上の注意

- 1) 試料（検体）に接触した器具や廃液等は、次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素濃度 $1,000 \text{ ppm}$ 以上、1 時間以上浸漬）又はグルタルアルデヒド（ 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°C 、20 分間以上）による滅菌処理を行うこと。
- 2) 反応停止液には 2 mol/L の硫酸が含まれているので、廃棄する場合は中和する等の注意をはらうこと。
- 3) 試薬ボトルはガラスと PP、ゴム栓はゴム、キャップは金属と PP・PE、プレートは PS、アルミシートはアルミ、プレートシールは PET、キットケースは紙を主な材質としている。
- 4) 使用後の試薬や容器及び器具類は、医療廃棄物等に関する規定及び、水質汚濁防止法等の各種規制に従い、各施設の責任において処理すること。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法 : $2 \sim 8^\circ\text{C}$

有効期間 : 6 ヶ月間

【包装単位】

製 品 名	包装単位	製品コード
クレチン TSH ELISA II ‘栄研’	480 回分	I-DA79

【主要文献】

1) 社内資料

(その他参考となる文献)

- Klein, A.H., et al. : J.Pediatr., **81** : 912-915, 1972.
Sadler, W.A., et al. : Clin.Chem., **25** : 933-938, 1979.
松本 勝, 他 : 医学と薬学, **10** : 1317-1321, 1983.
諏訪 城三 : ホルモンと臨床, **31** : 1227-1233, 1983.

【問い合わせ先】

栄研化学株式会社 お客様相談窓口

フリーダイヤル ☎ 0120-308-421

【製造販売業者の名称及び住所】

栄研化学株式会社

〒329-0114 栃木県下都賀郡野木町野木 143 番地

製造販売元



栄研化学株式会社

栃木県下都賀郡野木町野木 143 番地