3DA629K-K
体外診断用医薬品
承認番号 20600AMZ01144000

** 使用の前に本電子化された添付文書をよく読むこと。

** 2023年7月改訂（第6版）
* 2012年7月改訂（第5版）

17−ヒドロキシプロゲステロンキット

17−OHP D−ELISA‘栄研’Ⅱ

【全般的な注意】

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 17−OHP 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	第二抗体固相化プレート （第二抗体固相化プレート）	抗ウサギIgG ヤギIgG ポリクローナル抗体固相化プレート
2	酵素標識 17−OHP （酵素標識 17−OHP）	ペルオキシダーゼ標識 17−OHP
3	17−OHP 抗血清 （17−OHP 抗血清）	抗 17−OHP ウサギポリクローナル抗体
4	基質剤 （基質剤）	o-フェニレンジアミン二塩酸塩 （OPD）
5	溶解液 （溶解液）	過酸化水素水（30 %）
6	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（20E.O.）
7	(劇) 反応停止液 （反応停止液）	硫酸 1 ビン中 6.7 mL 含有
8	標準 17−OHP 血液ろ紙 （標準 17−OHP 血液ろ紙）	（A～Gの7段階濃度）各スポット中の 17−OHP 濃度はろ紙に表示
（付属品） プレートシール		

（標準品の設定根拠）
本製品に用いられる標準 17−OHP 血液ろ紙は、社内基準品を対照として検定したものである。

【使用目的】

全血（血液ろ紙）中の 17α−ヒドロキシプロゲステロン（17−OHP）の測定

【測定原理】

本製品は、競合法に基づく二抗体固相法の 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 ℃にて保存すること。

＊2．交差反応性

社内で検討した結果、本抗血清は、17α−ヒドロキシプロゲステロンに対する反応を 100 %とするとき、11−デオキシコルチゾールとは 4.57 %，17−ヒドロキシプレグネノロンとは 2.07 %，プロゲステロンとは 0.04 %，17−ヒドロキシプレグネノロン−3−サルフェートとは 0.19 %，コルチゾールとは 0.02 %の交差率を示し、11−デオキシコルチコステロン，テストステロン，コルチコステロン，アンドロステロン，エストリオール，エストラジオールとは 0.01 %以下の交差性であった。

【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
（1）2 日法 ：溶解液 1 ビンに基質剤 1 錠を加えて溶解する。
（2）短時間法 ：溶解液 1 ビンに基質剤 2 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。
2～8 ℃に保存し、2 ヵ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（50 μL，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）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ウエル）で行うこと。

◎ 直接法

Ⅰ．2日法

1）プレートのウエルのうち、A−1及びB−1 をブランク（BKG）用にあけておく。ウエルのC～Hの 1 列，A～Hの 2 列を標準曲線作成用に使用する。
2）ウエルのC−1及びD−1に標準17−OHP血液ろ紙A、ウエルの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、順次ウエルの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 17−OHP 血液ろ紙を 1 枚ずつ入れる。
3）残りのウエルに直径 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 17−OHP 血液ろ紙あるいは検体血液ろ紙を入れたウエルに、酵素標識 17−OHP を 50 μL ずつ加え、軽く振とうさせた後、1～2 分静置する。
5）標準 17−OHP 血液ろ紙あるいは検体血液ろ紙を入れたウエルに、17−OHP 抗血清を 50 μL ずつ加え、軽く振とうさせた後、プレートシールをして 25 ℃（20～30 ℃）で 16～20 時間インキュベートする。
6）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、ウエル内に血液ろ紙が残っていないことを確認する。
7）各ウエルに基質液を 100 μL ずつ順序よく一定の速度で加える。プレートシールをした後、遮光し、25 ℃（20～30 ℃）で 30 分間インキュベートする。
8）各ウエ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。
9）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。
10）測定後、A−1，B−1 の吸光度の平均値をBKGとする。
11）ウエルC−1 及びD−1 の 0 ng/mL の標準 17−OHP 血液ろ紙の吸光度の平均（B_0）を次式より算出する。

$$B_0 = \frac{（C-1の吸光度）+（D-1の吸光度）}{2} - BKG$$

BKG：基質液及び反応停止液を分注したものをブランクとする。

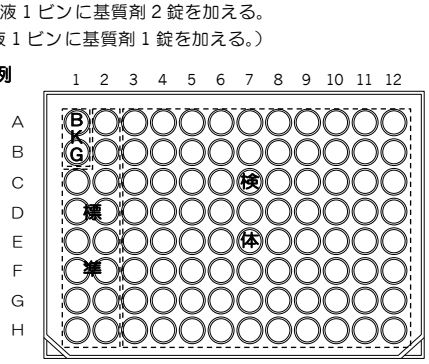
12）他のウエルについて上の式により吸光度の平均を求める。
13）片対数方眼紙の対数目盛（横軸）に標準17−OHP 血液ろ紙の各濃度をとり、整数目盛（縦軸）には吸光度をとってウエルのC～Hの 1 列，A～Hの 2 列で計算された吸光度をプロットし、標準曲線を作成する。
14）検体測定用ウエルについても、同様に吸光度を求め、標準曲線にあてはめて各検体中の 17α−ヒドロキシプロゲステロン（17−OHP）濃度を読みとる。

Ⅱ．短時間法

原則的には**Ⅰ．2日法**と同じであるが、5）及び 7）の操作で反応時間及び基質濃度が異なる。相違点は以下の通りである。

- 25 ℃（20～30 ℃）で、3 時間インキュベートする。
- 短時間法−溶解液 1 ビンに基質剤 2 錠を加える。
（2 日法−溶解液 1 ビンに基質剤 1 錠を加える。）

■ ウエル配置参考例



◎抽出法

標準あるいは検体血液ろ紙を直径 3 mm に打ち抜いたもの 1 枚を試験管に入れ、生理食塩水を 200 μL 加えて撹拌後、4 ℃で 16～20 時間溶出あるいは 10 分間超音波処理したものに、ジエチルエーテルを 1 mL 加えて撹拌し、抽出する。冷却遠心分離後、試験管ごと水層を凍結させ、ジエチルエーテル層のみを別の試験管に移し、加温して蒸発乾固させる。その後、酵素標識 17−OHP と 17−OHP 抗血清を各 50 μL ずつ加え、撹拌する。ついでこの混液を 70～90 μL ずつ抜き取り、プレートのウエルに移して、直接法（2 日法あるいは短時間法）と同様免疫反応を開始し、6）以降同様に操作する。

◎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直接法と同様に測定する。

■ 操作手順プロトコール

◎ 直接法の場合

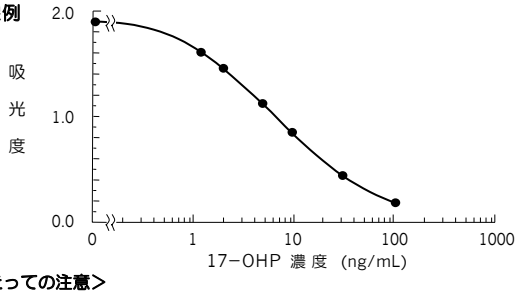
標準 17−OHP 血液ろ紙又は検体血液ろ紙	φ＝3 mm，1 枚
↓	
酵素標識 17−OHP	50 µL
17−OHP 抗血清	50 µL
撹 拌	
（2 日法）16〜20 時間 インキュベート 25 ℃（20〜30 ℃） （短時間法）3 時間	
↓ デカント	
洗浄液	300 µL
↓ デカント	
洗浄液	300 µL
↓ デカント	
洗浄液	300 µL
↓ デカント	
基質液	100 µL
↓ 25 ℃（20〜30 ℃）で30 分間インキュベート	
反応停止液	100 µL
↓	
吸光度の測定	測定波長 492 nm

◎ 抽出法の場合

大きめのガラス試験管（φ13 mm×120 mm 程度）を標準と検体数分用意する。

標準 17−OHP 血液ろ紙又は検体血液ろ紙	φ＝3 mm，1 枚
↓	
生理食塩水	200 µL
↓	
撹拌後、4 ℃で 16〜20 時間溶出あるいは 10 分間超音波処理	
↓	
ジエチルエーテル	1 mL
撹拌し、抽出する。	
↓ 冷却遠心分離	
↓ 水層の凍結	
ジエチルエーテル層を他の試験管に移す。	
↓ 蒸発乾固	
酵素標識 17−OHP	50 µL
17−OHP 抗血清	50 µL
撹 拌	
混液 70〜90 µL/ウエル	
以降は上記直接法（2 日法）あるいは（短時間法）と同様に操作する。	

■ 標準曲線例



＜測定にあたっての注意＞

1）試薬はアジ化ナトリウム、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、反応時間や温度に影響されるので、検体及び標準血液ろ紙ともに決められた条件下で同時に操作すること。特に溶出法あるいは抽出法の場合には影響を受けやすいので検体、標準血液ろ紙ともに一定条件で同時に操作すること。
4）ウエル内に試薬を分注した後、十分に浸透撹拌して内容液を混和し、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、撹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のないことを確認し、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】

参考基準範囲：2.13＋1.25 ng/mL（Mean±SD）[1)]

【性　能】

1．性 能

1）感度
（1）17−OHP 濃度が 0 ng/mL のときの吸光度（B_0）は 0.7 以上である。
（2）17−OHP 濃度が 100±20 ng/mL のときの吸光度（$B_{100±20}$）と B_0 との吸光度比（$B_{100±20}/B_0$）は 20 %以下である。
2）正確性
既知濃度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±20 %以内である。
3）同時再現性
同一検体を 5 回同時に測定するとき、測定値の変動係数（C.V.）は 20 %以下である。

2．測定範囲

1.0〜100±20 ng/mL

3．相関性試験成績

他法との相関

比 較 対 照	例 数	相関係数	回 帰 式
17−OHP D−ELISA ‘栄研’	222	r＝0.970	y＝0.701 x＋0.282

（y：本法（2 日法），x：他法）

【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）口によるピペッティングはしないこと。
4）標準 17−OHP 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 *o*-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。万一皮膚に付着した場合は、直ちに水で十分に洗い流すこと。
7）抽出法を行う際、ジエチルエーテルの蒸気を吸引しないように注意すること。
8）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。
9）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 ppm 以上，1 時間以上浸漬）又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に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 ： 2〜8 ℃
有効期間 ： 6ヵ月間

【包装単位】

製　品　名	包装単位	製品コード
17−OHP D−ELISA ‘栄研’Ⅱ	480 回分	I−DA62

【主要文献】

1）社内資料
（その他参考となる文献）
Franks, R.C.,et al.：J. Clin. Endocrinol. Metab.,**35**：831−835, 1972.
Hughes, I.A., et al.：J. Clin. Endocrinol. Metab.,**46**：98−104, 1978.
田苗 綾子，他：ホルモンと臨床，**28**：749−756, 1980.
Pang, S.,et al.：J. Clin. Endocrinol. Metab.,**45**：1003−1008, 1977.
下澤 和彦，他：日児誌，**89**：2678−2685, 1985.

【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