

ご使用に際しては、本電子化された添付文書をよくお読みください。

血液検査用コルチゾールキット

分類コード番号 : 43259000

コルチゾール-IBL

【全般的な注意】

- 本キットは、体外診断用の測定試薬です。それ以外の目的には使用しないでください。
- 測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果などと合わせて担当医師が総合的に判断してください。
- この添付文書に記載された使用方法に従って使用してください。記載された使用方法及び使用目的以外での使用については、測定値の信頼性を保証致しかねます。
- 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用してください。
- 標準液とコントロールにはヒト由来成分が含まれています。感染の危険がありますので感染性のあるものとして取り扱ってください。

【形状・構造等 (キットの構成)】

略号	構成試薬名	主成分	内容量
MTP	抗体プレート Microtiter Plate	抗コルチゾールポリクローナル抗体 (ウサギ)	96 ウェル × 1 枚
ENZCONJ	酵素標識抗原液 Enzyme Conjugate	HRP 標識コルチゾール	25mL × 1 本
CAL A	標準液 A Standard A	コルチゾール、ヒト血清 0 ng/mL	1mL × 1 本
CAL B	標準液 B Standard B	コルチゾール、ヒト血清 20 ng/mL	1mL × 1 本
CAL C	標準液 C Standard C	コルチゾール、ヒト血清 50 ng/mL	1mL × 1 本
CAL D	標準液 D Standard D	コルチゾール、ヒト血清 100 ng/mL	1mL × 1 本
CAL E	標準液 E Standard E	コルチゾール、ヒト血清 200 ng/mL	1mL × 1 本
CAL F	標準液 F Standard F	コルチゾール、ヒト血清 400 ng/mL	1mL × 1 本
CAL G	標準液 G Standard G	コルチゾール、ヒト血清 800 ng/mL	1mL × 1 本
CONTROL 1	コントロール 1 Control 1	コルチゾール、ヒト血清	1mL × 1 本
CONTROL 2	コントロール 2 Control 2	コルチゾール、ヒト血清	1mL × 1 本
TMB SUBS	TMB 基質液 TMB Substrate Solution	3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン	15mL × 1 本
TMB STOP	停止液 TMB Stop Solution	硫酸	15mL × 1 本
WASHBUF	濃縮洗浄液 Wash Buffer	リン酸ナトリウム緩衝液	100mL × 1 本
CONC	(10 倍濃縮) Concentrate (10x)		

上記の他に、カバーシール 1 枚が付属します。

【使用目的】

血清又は血漿中のコルチゾールの測定。

【測定原理】

本品は、競合法に基づいた酵素免疫測定 (ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay) 法により、血清又は血漿中のコルチゾールを測定するキットです。抗体プレートに検体と酵素標識抗原液を添加することで、固相抗体に対して検体中のコルチゾールと酵素標識抗原が競合的に反応します (抗原抗体反応)。このとき検体中のコルチゾールが多いほど、固相抗体に結合できる酵素標識抗原の量が少なくなります。抗原抗体反応後、未反応成分を洗浄除去し、酵素基質である TMB (3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン) 基質液を加えます。TMB は酵素により酸化され、青色に発色します (発色反応)。停止液にて発色反応停止後、この発色の吸光度を測定することでコルチゾール濃度が求められます。

【操作上の注意】

- 検体
検体には、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 血漿が使用できます。
静脈穿刺に関する所定の注意事項を守って採血してください。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、6 カ月以内に測定してください。加熱、直射日光を避けて保存し、凍結融解の繰り返しは避けてください。2~8℃保存又は凍結保存した検体をご使用の際には、室温 (18~25℃) に戻してから使用してください。
- 妨害物質
溶血 (遊離ヘモグロビン濃度 800 mg/dL)、黄疸 (ビリルビン濃度 100 mg/dL)、乳び (トリグリセリド濃度 9000 mg/dL) 検体やアジ化ナトリウム (0.1%) 添加検体は、各濃度まで測定に与える影響は±20%以内です。
溶血、黄疸、乳びが顕著にみられる検体は使用しないでください。検体に濁りが見られる場合には、使用前に遠心分離し粒子状物質を除去してください。
- その他
測定試料によっては非特異反応が生じる場合があります。診断は他の検査や臨床症状等を考慮して総合的に判断してください。

【用法・用量（操作方法）】

1. 試薬の調製方法

- (1) 抗体プレート : そのまま使用します。
- (2) 酵素標識抗原液 : そのまま使用します。
- (3) 標準液 A~G : そのまま使用します。
- (4) コントロール1~2 : そのまま使用します。
- (5) TMB 基質液 : そのまま使用します。
- (6) 停止液 : そのまま使用します。
- (7) 洗浄液 : 濃縮洗浄液を必要量とり、精製水（蒸留水又は脱イオン水）で 10 倍希釈して使用します。
 <希釈例> 濃縮洗浄液を 100mL とり、900mL の精製水で希釈します（濃縮洗浄液：精製水 = 1：9）
 調製後の洗浄液は 2~8℃ 保存により 8 週間安定です。

2. 測定（操作）法

- (1) 標準液 A~G、コントロール 1~2 及び検体を 20μL ずつ、抗体プレートのそれぞれのウェルに添加します。
- (2) 酵素標識抗原液 200μL をウェルに加ええます。
- (3) カバーシールで覆い、10 秒間よく振とうさせます。
- (4) 室温（18~25℃）で 60 分間放置し、抗原抗体反応させます。
- (5) カバーシールを取り除き、ウェルの反応液を除去したのち、1 回あたり 300μL の洗浄液を用いてプレートの洗浄を 3 回おこないます。洗浄後、抗体プレートを逆さにしてペーパータオル等に軽く叩きつけ、各ウェル内に残った洗浄液を除去します。
- (6) TMB 基質液 100μL を添加します。
- (7) 室温（18~25℃）で 15 分間放置します。
- (8) 停止液 100μL を添加します。
- (9) 停止液添加後 10 分以内に、抗体プレート底面のごれや水滴を拭き取り液面に気泡がないことを確認した後、波長 450nm(リファレンス波長:600~650nm)における吸光度を測定してください。

測定操作一覧

	操作手順	操作方法
(1)	標準液、コントロール、検体	各 20μL/ウェルずつ添加
(2)	酵素標識抗原液	200μL/ウェルずつ添加
(3)	振とう	10 秒間よく振とう
(4)	抗原抗体反応	室温（18~25℃） 60 分間放置
(5)	洗浄	反応液を除去後、ウェルを 300μL の洗浄液で 3 回洗浄
(6)	TMB 基質液	100μL/ウェルずつ添加
(7)	発色反応	室温（18~25℃） 15 分間放置
(8)	停止液	100μL/ウェルずつ添加
(9)	吸光度測定	10 分以内に波長 450nm における吸光度を測定

3. 品質管理

コントロール 1 及び 2 の測定値が、ラベルに表示されている濃度範囲内にあることを確認してください。表示されている濃度範囲から外れている場合は再測定をしてください。また、各施設で既知濃度の管理検体を設定することを推奨します。測定結果に誤差がある場合は、本品及び調製された試薬の使用期限や保管条件、ピペット、測定機器、反応条件（温度・時間）、洗浄方法等の技術的な問題を確認してください。

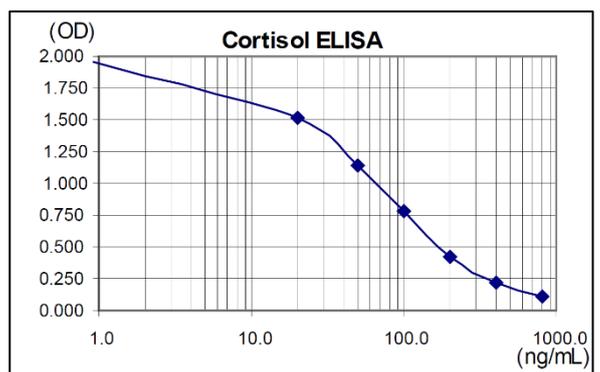
4. コルチゾール濃度の算出方法

- (1) グラフの X 軸に標準液濃度を、Y 軸にその吸光度をプロットします。各プロットに適当な標準曲線（例：cubic spline、4-Parameter、Logit-Log 等）を当てはめ、検量線を作成します。
- (2) 検体の吸光度を検量線に当てはめ、コルチゾール濃度を読みとります。

<検量線作成例>

標準液	コルチゾール (ng/mL)	Mean OD	OD / ODmax (%)
A	0	2.055	100
B	20	1.512	73.6
C	50	1.140	55.5
D	100	0.780	37.9
E	200	0.417	20.3
F	400	0.211	10.2
G	800	0.110	5.33

表中の値は一例です。
この値をコルチゾール濃度の算出に使用しないでください。



【測定結果の判定法】

*1. 参考基準範囲

例示になりますが、健常人を対象とした研究において以下の参考基準範囲が報告されています。^{3), 4)}

	年齢	参考基準範囲			
		男性		女性	
		ng/mL	nmol/L	ng/mL	nmol/L
血清	15~20	41.3~214.4	114~592	49.2~461.7	136~1274
	20~40	47.3~228.8	130~631	47.3~428.1	131~1181
	40~60	62.4~244.8	172~676	59.3~314.2	164~867
	60~80	66.4~233.4	183~644	55.4~257.1	153~709
血漿	0~80	48.6~240.7	134~664	43.9~253.7	121~700

基準範囲は、様々な要因の影響を受けて各施設で異なる可能性がありますので、各施設で独自に設定してください。

2. 判定上の注意

検体により、検体中の目的成分以外の物質との反応や妨害反応を生じることがあります。測定値や測定結果に疑問がある場合は、再検査や希釈再検査、あるいは他の検査方法にて確認してください。

3. 測定範囲外の高値検体

測定範囲外の高値検体は、標準液 A にて適切に希釈をおこなってから再測定してください。

希釈する際には、ガラス製のチューブを使用してください。検量線から読み取った値に高値検体の希釈倍率を乗じて検体中のコルチゾール濃度を算出してください。

【性能】

当社試験法による性能は以下の通りです。

1. 品目仕様

・感度

標準液 A (0 ng/mL) の吸光度は 1.5 より大きい。

標準液 G (800 ng/mL) の吸光度は 0.2 より小さい。

・正確性

濃度の異なる 3 種類の既知濃度管理検体を測定するとき、既知濃度に対する測定値は、80~120%の範囲です。

・同時再現性

濃度の異なる 3 種類の既知濃度管理検体について、4 回同時に測定するとき、変動係数 (CV 値) は 15%以下です。

2. 測定範囲 (例示)

* 4.03~564 ng/mL

3. 希釈直線性試験成績

血清検体 3 種類をそれぞれ 16 倍希釈 (濃度範囲 8.1 ~ 564 ng/mL) したとき、理論値に対する測定値の相対値は、102.7 (91.1 ~ 114.0) %です。

4. 添加回収試験成績

添加回収率 : 99.9% (77.4 ~ 116.8 %)

5. 測定精度

・日内再現性

血清検体 3 種類をそれぞれ 20 回同時に測定したとき、変動係数 (CV 値) は、3.0 (2.6 ~ 3.5) %です。

・日差再現性

血清検体 5 種類をそれぞれ各 10 回ずつ (N=2) 測定したとき、変動係数 (CV 値) は、4.1 (2.1 ~ 5.2) %です。

・ロット間差

本品 3 ロットを用いて、血清検体 5 種類を各 5 回ずつ (N=5) 測定したとき、変動係数 (CV 値) は、5.8 (4.6 ~ 7.8) %です。

**6. 交差反応

化合物	交差反応[%]	化合物	交差反応[%]
プレドニソロン Prednisolone	29.95	アンドロステロン Androsterone	≤0.01
11-デオキシコルチゾール 11-Deoxycortisol	19.86	デヒドロイソアンドロステロン Dehydroisoandrosterone	
コルチゾン Cortisone	10.70	デキサメタゾン Dexamethasone	
プレドニソン Prednisone	6.53	ジヒドロテストステロン Dihydrotestosterone	
17α-ヒドロキシプロゲステロン 17α-Hydroxyprogesterone	5.37	β-エストラジオール β-Estradiol	
6β-ヒドロキシコルチゾール 6β-Hydroxycortisol	4.36	エストリオール Estriol	
コルチコステロン Corticosterone	3.75	エストロン Estrone	
デオキシコルチコステロン Deoxycorticosterone	1.77	エピエストリオール Epiestriol	
プロゲステロン Progesterone	0.41	エチニルエストラジオール Ethynylestradiol	
メドロキシプロゲステロン 17α-Hydroxy-6α-Methyl-progesterone	0.34	17-酢酸メドロキシプロゲステロン Medroxyprogesterone 17-acetate	
17α-ヒドロキシプレグネノロン 17α-Hydroxypregnenolone	0.07	メチルテストステロン Methyltestosterone	
アンドロステンジオン Androstenedione	0.02	19-ノルエチンドロン 19-Norethindrone	
		プレグネノロン Pregnenolone	
		テストステロン Testosterone	

7. 相関性試験成績

- ・検体 : EDTA 血漿 (N=50)
- ・相関係数 : $r = 0.955$
- ・回帰式 : (x : 他法、 y : 本法) $y = 0.9393x + 9.2728$
- ・対照 : 既認証体外診断用医薬品 (CLIA)

8. 校正用基準物質に関する情報

IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements) ERM-DA192, ERM-DA193

【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 等の感染の恐れがあるものとして十分に取扱いに注意してください。
- (2) 標準液、コントロールはヒト由来の物質を含みます。誤って目や口に入った場合、皮膚に付着した場合は水で十分に洗い流す等の応急措置をおこない、必要があれば医師の手当てを受けてください。
- (3) 試薬は動物由来の物質を含みます。誤って目や口に入った場合、皮膚に付着した場合は水で十分に洗い流す等の応急措置をおこない、必要があれば医師の手当てを受けてください。
- (4) 酵素標識抗原液、標準液、コントロールには防腐剤としてプロクリン 300 が含まれておりますので、皮膚等を刺激する場合があります。誤って目や口に入った場合、皮膚に付着した場合は速やかに水で十分に洗い流す等の応急措置をおこない、必要があれば医師の手当てを受けてください。
- (5) 停止液には硫酸が含まれておりますので目や皮膚につかないように注意してください。誤って目に入った場合は速やかに流水で洗眼した後、医師の手当てを受けてください。皮膚や衣服についた場合は速やかに洗い流してください。

2. 使用上の注意

- (1) 使用期限を過ぎた試薬は、測定値の信頼性を保証しかねますので使用しないでください。
- (2) 凍結した試薬は使用しないでください。
- (3) 異なる製造番号の組み合わせで使用しないでください。

** (4) 本品は、最初の開封から 6 ヶ月間 (使用期限を超えない範囲で) 安定しています。開封後の抗体プレートは密閉袋に詰め、試薬はキャップを閉め、密閉後 2~8℃で保管してください。

3. 廃棄上の注意

- ** (1) 検査に使用した器具類や廃液等は、0.1%以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液に 1 時間以上浸すか、又はオートクレーブ (121℃、20 分間以上) で処理してください。
- (2) 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制に留意して処理してください。
- (3) 標準液、コントロール、検体又はこれらを含む溶液が飛散した場合は、感染を防止するために、0.1%以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液等でよく拭き取ってください。

4. その他の注意

- (1) 容器等は他の目的に転用しないでください。

【貯蔵方法、有効期間】

1. 貯蔵方法 : 2~8℃
2. 有効期間 : 製造後 18 ヶ月
(使用期限は外箱に記載してあります。)

【包装単位】 製品コード : 50191
製品名 : コルチゾール-IBL
包装 : 1 キット(96 テスト)
構成試薬 : 【形状・構造等 (キットの構成)】を参照ください。

** 【主要文献】

1. Kratsch, J. et al. Reference Intervals of Nine Steroid Hormones over the Life-Span Analyzed by LC-MS/MS: Effect of Age, Gender, Puberty, and Oral Contraceptives. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 2019, 193, 105409.
2. Eisenhofer, G. et al. Reference Intervals for Plasma Concentrations of Adrenal Steroids Measured by LC-MS/MS: Impact of Gender, Age, Oral Contraceptives, Body Mass Index and Blood Pressure Status. Clin. Chim. Acta 2017, 470, 115-124.

【問い合わせ先】

株式会社 免疫生物研究所 営業部
〒375-0005 群馬県藤岡市中 1091-1
電話番号 : 0274-50-8666
FAX 番号 : 0274-23-6055
E-mail : do-ibl@ibl-japan.co.jp

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

<製造元>



IBL International GmbH (a Tecan Group company)
Flughafenstrasse 52a 22335 Hamburg, Germany

<製造販売元>



株式会社 免疫生物研究所
群馬県藤岡市中 1091-1