



クラスⅢ生化学・免疫・内分泌検査用シリーズ

コルチゾールキット

アクセス コルチゾール

ご使用に際しては、本添付文書をよくお読みください。

全般的な注意

1. 本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. 添付文書等に記載した内容以外の方法で使用した場合は、保証の対象とはなりません。
- **4. 本品は、Access イムノアッセイアナライザー、Access2 イムノアッセイシステム、Access2 イムノアッセイシステム PRO、ユニセル(UniCel)Dxl 800/600 システム用の試薬です。ご使用にあたっては、測定装置の取扱説明書をよく読んでからご使用ください。

形状・構造等(キットの構成)

1. 構成試薬

ラベル	構成試薬名	主要成分
R1	試薬パック	
R1a	抗体結合磁性マイクロビーズ	抗ウサギ IgG ヤギ抗体結合磁性マイクロビーズ アルカリフォスファターゼ標識コルチゾール
R1b	抗体液	抗コルチゾール ウサギ抗体
R2	基質液	ルミジェン PPD (4-メトキシ-4-(3-フォスフェイトフェニル)スピロ[1,2-ジオキセタン-3,2'-アダマンタン]ジナトリウム塩)

2. その他の試薬

ラベル	試薬名	主要成分
R3	洗浄液	トリス緩衝液
S0	キャリブレーション	ヒト血清
S1,S2, S3,S4, S5		ヒト血清、コルチゾール(約 2.5,10,25,60 μg/dL) (ロットにより濃度は異なります)
-		検体希釈液
-		

使用目的

血清、血漿及び尿中のコルチゾールの測定

測定原理

【測定法】 化学発光酵素免疫測定法

**【測定原理】

検体、抗コルチゾール ウサギ抗体、抗ウサギ IgG ヤギ抗体結合磁性マイクロビーズ、アルカリフォスファターゼ標識コルチゾールを反応させると、検体中のコルチゾールはアルカリフォスファターゼ標識コルチゾールと競合しながら、コルチゾール-抗コルチゾール ウサギ抗体-抗ウサギ IgG ヤギ抗体結合磁性マイクロビーズの免疫複合体を形成します。未反応のアルカリフォスファターゼ標識コルチゾールを洗浄後、化学発光基質(ルミジェン PPD)を加えて酵素反応を行います。ルミジェン PPD の分解による発光量は検体のコルチゾール濃度を反映するため、これを測定することによりコルチゾール濃度を求めます。

操作上の注意

1. 測定には血清、抗凝固剤にヘパリン、EDTA を用いた血漿、又は尿を使用してください。
2. 静脈穿刺に対する所定の注意事項を守って採血してください。
3. 遠心分離を行う場合は、十分に凝固させてから実施してください。遠心分離の条件は、採血管の推奨条件に従ってください。

4. 常に検体は密栓してください。
5. 遠心分離後、2 時間以内に上清をふた付きのチューブに 500 μL 以上分注し、直ちにふたをしっかりと閉じてください。室温(15~30℃)で 8 時間まで保存可能です。8 時間以内に測定しない場合は 2~8℃で保存してください。また、48 時間以内に測定しない場合や輸送する場合には-20℃以下で凍結してください。なお、検体の凍結融解は 1 回まで可能です¹⁾。
6. フィブリン残渣や細胞物質は分析前に取り除いてください。
7. 各検査室において、使用する採血管や血清分離剤の適合性を確認してください。採血管や血清分離剤については、製造メーカー間差やロット間差が存在する可能性があります。
8. 検体容器と装置デッドボリュームに加え、本品 1 測定につき検体 25 μL を使用します。検体最小必要量については、装置の取扱説明書及びヘルプシステムを参照してください。
9. 装置のデフォルト測定単位は、μg/dL です。SI 単位である nmol/L に変更する場合は、装置の取扱説明書及びヘルプシステムを参照してください。マニュアルで SI 単位に換算するためには、μg/dL に係数 27.59 を乗じてください。
10. 干渉物質
(1) ビリルビン 10 mg/dL まで測定値に影響ありません。
(2) ヘモグロビン 500 mg/dL まで測定値に影響ありません。
(3) 総タンパク 9 g/dL まで測定値に影響ありません。
(4) トリグリセライド 1,800 mg/dL まで測定値に影響ありません。
11. プレドニゾロンもしくはプレドニゾンを受けている患者では、交差反応性により、コルチゾール高値となる可能性があります。
12. 測定中の室温は、キャリブレーション時の室温±4℃の変動範囲内にしてください。室温がこれ以上に大きく変動した場合は、再キャリブレーションを実施してください。

用法・用量(操作方法)

1. 試薬の調製方法

試薬	調製法	開封後の貯法・有効期間
R1 試薬パック	調製は不要です。 装置に搭載する前に、バックを泡立たないよう静かに数回転倒混和してください。測定に使用する前に少なくとも 2 時間は 2~10℃に冷やしてください。	開封後、2~10℃で 14 日間安定です。
R2 基質液	調製は不要です。未開封状態で、15~30℃(室温)に少なくとも 18 時間以上放置してから使用してください。	開封後、装置に搭載した状態で 14 日間安定です。

**2. その他の試薬の調製方法

試薬(別売)	調製法	開封後の貯法・有効期間
R3 洗浄液	調製は不要です。	開封後、15~30℃で、ラベルに記載された有効期限前日まで安定です。
S0~S5 キャリブレーション	調製は不要です。 泡立たないよう静かに数回転倒混和してから使用してください。	開封して使用後、直ちに閉栓し、直立させて 2~10℃で保管した場合、70 日間安定です(箱に記載されている有効期限の方が短い場合は、箱に記載された有効期限が優先されます)。

3. 尿検体

1) 尿の採取

- ① 尿検体は、10 g のホウ酸塩が防腐剤として入った 24 時間蓄尿を使用します。
- ② 尿の総量を求めます。混和した 24 時間蓄尿から 10 mL を別容器に分注します(試料A)。もし、尿にくもりや沈殿が見られた場合は 700×g、5 分遠心分離を行います(測定にはこの尿検体を測定することも可能です)。

2) 尿の抽出

- ① 混和した試料 A を 12×75 mm ガラス管に 1 mL 分注します。
- ② 酢酸エチル(HPLC 等級)を 1 mL 分注し、しっかりと栓を閉じます(絶対に酢酸エチルは口で吸引しないでください)。
- ③ 30 秒間、よく攪拌します。
- ④ 700×g、5 分間遠心分離します。
- ⑤ ガラス管の酢酸エチル層(上清)の 200 μL を別のガラス管にピペットを用いて分注します。
- ⑥ 室素又は空気乾燥装置を用いて、室温で穏やかに乾燥させます。
- ⑦ ガラス管に 200 μL のアクセス コルチゾールキャリブレーション S0 を分注し、よく攪拌します。
- ⑧ サンプルカップに必要量移し測定します。

3) 測定結果

尿検体は抽出／非抽出にかかわらず、以下の式で値を算出してください。

尿コルチゾール=尿コルチゾール(μg/dL) × 24 時間尿総量(mL)
(μg/24 時間尿) 100

4. その他測定に必要なもの
- 精度管理用コントロール
製品番号 A23909 : アクセス イムノコントロール 1、2、3 など
- 希釈液
製品番号 33606 : コルチゾール S0 セット
- 反応チューブ
製品番号 81901 : アクセス用反応チューブ
製品番号 386167 : UniCel DxI 800 用ヴェッセル

5. 尿測定に必要なもの
- 1) 酢酸エチル(HPLC等) 2) ガラス管(12×75 mm)
3) 攪拌装置 4) ビベット(200～1,000 μL)
5) 遠心分離装置 6) 空気乾燥装置

6. 操作方法

試料の取扱、装置への測定項目設定、測定依頼、測定結果解釈については、装置の取扱説明書あるいはヘルプシステムを参照してください。

1) キャリブレーション

測定の際には、有効な検量線(キャリブレーションカーブ)が必要です。
アクセス コルチゾール キャリブレータ(別売)に同梱のキャリブレーションカード情報を装置に登録後、S0～S5 を検体と同様に操作し検量線を作成します。キャリブレーション理論、キャリブレータ登録、キャリブレータ測定依頼、キャリブレーションデータ解釈などの詳細については、装置の取扱説明書及びヘルプシステムを参照してください。検量線は 28 日間有効です。

2) 検体の測定

機器に付設する表示画面で検体の情報及び測定項目を入力した後、ラック又はサンプルトレイにセットした検体を機器に架設し、本装置を操作すると次の分析操作が行われます。

- ** ① 検体(25 μL)を希釈し、希釈検体に、抗ウサギ IgG ヤギ抗体結合磁性マイクロビーズ / アルカリフォスファターゼ標識コルチゾール、抗コルチゾール ウサギ抗体を加え、反応させる。
② 洗浄後、基質液を加え、反応させる。
③ 発光強度(λ max=540 nm)を測定する。
④ 検量線から、検体中のコルチゾール濃度を算出する。
検体の測定開始から約 30 分後に最初の結果が得られます。

7. 精度管理

精度管理用試料は患者試料の特質を反映し、免疫化学検査装置の性能をモニタリングするために必要なものです。アクセス イムノコントロール 1,2,3 又は市販の少なくとも 2 濃度以上の精度管理用試料を用いて、1 日 1 回以上測定してください²。調製及び保存条件は製造元の取扱説明書に従ってください。各施設においては、適切な性能を保証するために精度管理用試料の平均値及び許容範囲を設定してください。精度管理用試料の値が許容範囲に入らなかった場合は検査結果が無効である可能性があります。その検査においては、精度管理用試料が前回、許容範囲に入っていた時点に遡って、全てを再測定してください。精度管理用試料の結果値の評価については、本装置の取扱説明書あるいはヘルプシステムを参照してください。

測定結果の判定方法

1. 判定基準 参考基準範囲:
- 血清※ : 6.7～22.6 μg/dL³, 4.1～19.2 μg/dL⁴
抽出尿 : 21～111 μg/24 時間³
非抽出尿 : 58～403 μg/24 時間³

** ※午前採血の血清の値です。健康者では、一般的に血中コルチゾール濃度は起床の1～2時間前に急上昇し、朝に高く、日中は徐々に低下して真夜中頃に最低レベルになります⁵。

基準値は種々の要因から各検査室によって異なる可能性があるため、個々の検査室に適した基準値を設定してください。

2. 判定上の注意

- 1) 測定結果が検量線を超える値の場合は、キャリブレータ濃度(S5)以上と報告してください。また、希釈する場合は、検体とキャリブレータ S0 を 1:1 の割合で希釈し、再測定してください。
2) 測定結果が測定範囲下限以下の場合、測定範囲以下と報告してください。
3) 測定において、検体中の自己抗体やヒト抗マウス抗体(HAMA)などによる干渉が存在することがあります^{6,7}。測定結果は、症状、病歴、その他の検査データの総体的な臨床所見を基に解釈をしてください。症状、病歴、その他の検査データ及び他の適切な情報を含む患者の総体的な臨床所見を基に測定結果の解釈をしてください。
4) 血清中のコルチゾール濃度は、妊娠中やホルモン治療中の患者で低下する可能性があります。測定結果が臨床所見と合わない場合は、尿中コルチゾール濃度を測定してください。

** 臨床的意義

コルチゾールは副腎皮質から産生されるグルココルチコイドであり、タンパク質、脂質、炭水化物の代謝や、筋肉と心筋保全の管理、炎症及びアレルギー活性の抑制に重要な役割をもちます⁸。
副腎皮質から分泌されたコルチゾールの約 90%はコルチコステロイド結合グ

ロブリン及びアルブミンと結合します。結合型コルチゾールは利用可能ですが、一時的に不活性な状態で血中を循環しています。コルチゾールの生理活性は、血中に存在する少量の未結合コルチゾールの濃度に依存します⁹。

コルチゾールの合成及びその副腎皮質からの分泌は、副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)により活性化されます。ACTH は、視床下部から分泌される副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン(CRH)の刺激により、下垂体で生成・分泌されます。遊離型コルチゾールは、視床下部-下垂体-副腎皮質系でのネガティブフィードバック機構に作用します^{10,11}。さらに日内変動や、深刻な精神病あるいはトラウマや発熱を引き起こすようなストレスも、副腎皮質の神経内分泌機構に影響を及ぼします^{8,10,12}。

コルチゾール濃度の異常な変化は視床下部、下垂体、もしくは副腎の機能不全によって起こります。血清及び血漿中コルチゾールの測定(朝夕の測定値、ACTH 刺激試験やデキサメタゾン抑制試験などの負荷試験の利用)は副腎関連疾患の診断に有用です。クッシング症候群(副腎皮質機能亢進)ではコルチゾール値が非常に高くなり、一方、アジソン病(副腎皮質機能不全)では低下します¹³。

タンパク質に結合したコルチゾールは、肝臓による代謝から保護されています¹¹。血清中の結合していない(又は遊離)コルチゾールは肝臓で代謝され、その結果、さまざまな形態又は代謝物が生成されます。これらの代謝産物(抱合型、グルクロニド、硫酸塩)の多くは水溶性であり、尿中に急速に排泄されます。少量(< 100 μg/24 時間)のコルチゾール及びその他の抽出可能な代謝産物も尿中に排泄されます。

尿コルチゾールは、分析前に水溶性代謝産物の一部を除去する抽出操作を行うか、尿を直接分析することによって測定できます。イムノアッセイでは尿コルチゾール及び一部の免疫活性代謝産物が測定されるため、イムノアッセイ法ごとに代表的な基準範囲を確立する必要があります。尿中コルチゾールの測定は、血中の遊離型コルチゾールの量を反映し、クッシング症候群を含む副腎機能亢進症の診断に有用です^{11,14,15,16,17}。

性能³

【感度試験】

コルチゾール濃度 1 μg/dL の試料 B とコルチゾール濃度 0 μg/dL の試料 A を測定するとき、その発光強度の比 B/A は 0.3～0.5 である。

【特異性試験】

既知濃度の試料を測定するとき、既知濃度の±2SD以内の値を示す。

【再現性試験】

同一試料を同時に5回測定するとき、測定値の変動係数は10%以下である。

【測定範囲】 0.4～60 μg/dL

【相関性試験】

	血清検体	血漿検体	尿検体
試料数	N=148	N=48	N=51
相関係数	r =0.975	r =0.964	r =0.926
回帰式	Y=0.93X + 2.4	Y=0.988X – 0.163	Y=1.542X+ 8.983
他法(X)	FPIA 法	CLEIA 法	FPIA 法

【標準物質】 USP

使用上又は取扱い上の注意

1. 取扱い上の注意

- 1) システムでのご使用にあたっては、システム取扱説明書をよくお読みください。
2) システム上、測定範囲上限値はキャリブレータ最大濃度値となります。
3) 検体、キャリブレータ、コントロールは HIV、HBV、HCV 等の感染のおそれがあるものとして取り扱ってください。検査にあたっては感染の危険を避けるため、使い捨て手袋やゴーグルを着用し、また口によるピッチェィングを行わないでください¹⁸。
4) 本品には、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。誤って目や口に入ったり、皮膚に付着したりした場合には水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要であれば医師の手当てを受けてください。
5) 本品は、ProClin™ 300 を含有しており、皮膚等を刺激する場合があります。もし、皮膚や衣服に付いた時は速やかに水で洗い流してください。皮膚に炎症を生じた場合は医師の手当てを受けてください。

2. 使用上の注意

- 1) 本品は凍結しないでください。凍結された試薬は使用できません。また、試薬を注ぎ足して使用しないでください。
2) 開封後の試薬パックを転倒混和しないでください。
3) 有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
4) 基質液は空気酸化の影響を受けやすいので、ふたをしっかり閉め、ボトルの移し替えは避けてください。
5) 開封後の本品を別の装置に搭載しないでください。

3. 廃棄上の注意

- 1) 試薬及び器具等を廃棄する場合には、廃棄物の規定に従って処理してください。

- 2) 本品には、アジ化ナトリウムが含まれています。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応して爆発性の高い金属アジドを生成することがあるので、廃棄の際は大量の水と共に洗い流してください。

貯蔵方法・有効期間

試薬	製品名	貯法	有効期間
R1 試薬パック	アクセス コルチゾール 試薬パック	2～10℃	18 箇月
R2 基質液	アクセス 基質液（別売）	2～8℃	12 箇月

（使用期限：外装に記載してあります）

包装単位

試薬	製品番号	製品名	包装
R1 試薬パック	33600	アクセス コルチゾール試薬パック	50 テスト×2
R2 基質液	81906	アクセス 基質液（別売）	130 mL×4
R3 洗浄液	A16792	アクセス用洗浄液Ⅱ（別売）	1,950 mL×4
	A16793	UniCel DxI 800 用洗浄液Ⅱ（別売）	10 L
S0-S5 キャリブレータ	33605	アクセス コルチゾールキャリブレータ（別売）	4 mL /バイアル
検体希釈液	33606	アクセス コルチゾール S0 セット（別売）	4 mL×1

主要文献

** 1. Approved Guideline - Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests, GP44-A4. 2010. Clinical and Laboratory Standards Institute.
2. Cembrowski GS, Carey RN. Laboratory quality management: QC ÷ QA. ASCP Press, Chicago, IL, 1989.
3. ベックマン・コールター株式会社 社内データ
4. 国際研究プロジェクト:「臨床検査値の地域差分析と共有基準範囲の設定」2009 データ
5. Moore A, Raitken R, Burke C, Gaskell S, Groom G, Holder G, Selby C, Wood P. Cortisol assays: guidelines for the provision of a clinical biochemistry service. Annals of Clinical Biochemistry, 1985; V22: 435-454.
6. Kricka L. Interferences in immunoassays - still a threat. Clin Chem 2000; 46: 1037-1038.
7. Bjerner J, et al. Immunometric assay interference: incidence and prevention. Clin Chem 2002; 48: 613-621.
8. Bondy PK. The adrenal cortex. In Metabolic control and disease, eighth edition, 1980;
9. Beisel WR, DiRaimondo VC, Forsham PH. Cortisol transport and disappearance. Annals of Internal Medicine, 1964; 60: 641-652.
10. Travis JC (ed). Plasma cortisol. Rx: RIA for physicians, 1976; 1(8).
11. Labhart F. Clinical Endocrinology, 1974; 290-294. New York: Springer-Verlag.
12. Liddle GW, Melmon KL. The adrenals. In Textbook of endocrinology, fifth edition, 1974; 233-283. Edited by Williams RH, Philadelphia, PA: WB Saunders Co., Philadelphia.
13. Fujimoto WY. Disorders of glucocorticoid homeostasis. In Blue book of endocrinology, X edition, 1985; 43-59. Edited by Metz R, Larson E, Philadelphia, PA: WB Saunders Co.
14. Murphy BEP, Okuneff LM, Klein GP, Ngo SK. Lack of specificity of cortisol determinations in human urine. Journal of Clinical Endocrin Metab, 1981; V53: 91-99.
15. Schönesöfer M, Fenner A, Dulce HJ. Interferences in the radioimmunological determination of urinary free cortisol. Clin Chem Acta, 1980; V101: 125-134.
16. Gough RM, Ellis G. The radioimmunoassay of cortisol in urine. Difficulties experienced in the development of an assay and problems of specificity observed with commercial reagents supplied as kits. Clin Biochem, 1981; V14 (2): 74-81.
**17. The Diagnosis of Cushing's Syndrome: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline J Clin Endocrinol Metab. May 2008, 93(5):1526–1540.
**18. HHS Publication, 5th ed., December 2009. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.

IFU_2023_C58559C

問い合わせ先

ベックマン・コールター株式会社 お客様サポートセンター

〒135-0063 東京都江東区有明三丁目 5 番 7 号 TOC 有明ウエストタワー
TEL: 0120-566-730

製造販売業者の氏名又は名称及び住所

ベックマン・コールター株式会社

〒135-0063 東京都江東区有明三丁目 5 番 7 号 TOC 有明ウエストタワー