

Cortisol (CLIA)

Uso previsto

Inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA) para la determinación cuantitativa de cortisol en suero, plasma u orina.

Significación clínica

El cortisol es el principal glucocorticoesteroide segregado por la corteza suprarrenal. Afecta al metabolismo de proteínas, grasas y carbohidratos, el mantenimiento del músculo y la integridad miocárdicas, así como la supresión de actividades inflamatorias y alérgicas. La adrenocorticotrofina (ACTH) activa la síntesis y liberación de cortisol desde la corteza suprarrenal. La hipófisis produce y libera adrenocorticotrofina (ACTH) por estimulación de la hormona liberadora de corticotrofina (CRH) segregada por el hipotálamo. El cortisol sin unir actúa en un mecanismo de feedback negativo sobre el eje hipotalámico – hipofisario – suprarrenal (HPA) en los niveles de la hipófisis y el hipotálamo.

La globulina fijadora de cortisol y la albúmina unen aproximadamente el 90% del cortisol segregado por la corteza suprarrenal. Sólo el cortisol sin unir (cortisol libre) tiene actividad fisiológica. Los niveles de cortisol en plasma serán más altos por la mañana, y disminuyen casi a la mitad del valor máximo por la noche. Por lo general, se cree que el cortisol en orina refleja el nivel de cortisol en plasma sin unir. El cortisol en muestras de orina de 24 horas representa los niveles de todo el día y no está afectado por las variaciones diurnas en los niveles de cortisol en plasma.

El embarazo o el tratamiento con estrógeno podrían marcar niveles altos de cortisol. Otros estímulos, como estrés intenso, podría aumentar la producción de cortisol. Los cambios anómalos en los niveles de cortisol se producen por una disfunción suprarrenal, hipofisaria o del hipotálamo. Las mediciones de cortisol suelen realizarse junto con la supresión de dexametasona, pruebas de estimulación de ACTH y pruebas de tolerancia a la insulina. Se encuentran niveles excesivos de cortisol en el síndrome de Cushing (hiperfunción suprarrenal cortical), mientras que en la enfermedad de Addison los niveles disminuyen (insuficiencia suprarrenal cortical).

Fundamentos del método

Cortisol (CLIA) es un ensayo inmunoenzimático competitivo para determinar el nivel de cortisol en suero, plasma u orina. En el primer paso, se agregan a una cubeta de reacción, la muestra, las micropartículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpos de cabra anti-IgG de conejo, anticuerpo de conejo anti-cortisol y conjugado cortisol-fosfatasa alcalina. Luego de la incubación el cortisol de la muestra compete con el conjugado de cortisol-fosfatasa alcalina por los sitios de unión en el anticuerpo anti-cortisol. El complejo resultante se une al anticuerpo de cabra anti-IgG de conejo en las micropartículas que

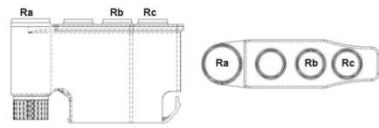
son capturadas magnéticamente. Las sustancias no fijadas se eliminan por lavado. En el segundo paso, se añade la solución de sustrato (Substrate Solution) a la cubeta de reacción.

La reacción quimioluminiscente producida por el conjugado se mide como unidades de luz relativas (RLU). La cantidad de cortisol presente en la muestra es inversamente proporcional a las unidades de luz relativas (RLU) generadas durante la reacción. La concentración de cortisol puede calcularse con la curva de calibración.

Reactivos provistos

Ra	Micropartículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpo de cabra anti-IgG de conejo en buffer TRIS.
Rb	Conjugado de cortisol y fosfatasa alcalina en buffer MES.
Rc	Anticuerpo policlonal de conejo anti-cortisol en buffer TRIS.

La posición de los componentes del kit se muestra en la siguiente figura:



Reactivos no provistos

- Cortisol Calibrators
- Immunoassay Multi Control (L)
- Immunoassay Multi Control (H)
- Wash Buffer
- Substrate Solution

Estos reactivos son provistos separadamente por Wiener lab.

Instrucciones para su uso

Los reactivos son listos para usar

Precauciones

- Para uso diagnóstico "in vitro".
- Mantener el kit de reactivos en posición vertical para asegurar que no se pierdan micropartículas antes del uso.
- No utilizar reactivos de otro origen.
- No utilizar reactivos después de la fecha de vencimiento.
- No intercambiar reactivos de distintos lotes.
- Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.
- Utilizar los reactivos respetando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio bioquímico.
- Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Estabilidad e instrucciones de

almacenamiento

El kit es estable a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Material requerido (no provisto)

Analizador de quimioluminiscencia Wiener lab. CLIA series

Muestra

Suero, plasma u orina

a) Recolección: obtener la muestra de sangre de la manera habitual. No utilizar muestras fuertemente hemolizadas ni inactivadas por calor.

Para las muestras de orina, recoger orina de 24 horas en un recipiente y registrar el volumen total obtenido. Tomar una alícuota de 10 mL de la muestra bien mezclada para utilizar en el ensayo.

b) Aditivos: en caso de utilizar plasma, se recomienda el uso de EDTA, heparina sódica o heparina de litio como anticoagulantes.

c) en las muestras de sangre, centrifugar y separar el suero o plasma antes de las dos horas. En el caso de orina, si es turbia o presenta precipitado, centrifugar a 700xg durante 5 minutos y utilizar el sobrenadante. Utilizar la muestra de orina después de haber realizado el procedimiento de extracción indicado más adelante.

d) Estabilidad e instrucciones de

almacenamiento: las muestras de suero o plasma deben ser preferentemente frescas. Si no se procesan antes de las 8 horas, deben conservarse refrigeradas a 2-8°C. De esta manera, las muestras son estables hasta 2 semanas refrigeradas a 2-8°C, o hasta 3 meses congeladas a -20°C o menos.

Evitar los ciclos de congelado y descongelado.

La muestra de orina es estable durante 1 semana a 2-8°C, 3 meses a -20°C. Evite más de tres ciclos de congelación.

Extracción de las muestras de orina

Para utilizar orina como muestra, la misma debe prepararse de la siguiente forma:

- 1) Medir con pipeta 1,0 mL de una muestra de orina de 24 horas, bien mezclada, y colocar en un tubo de vidrio.
- 2) Añadir 1,0 mL de acetato de etilo y tapar bien el tubo.
- 3) Agitar bien durante 30 segundos.
- 4) Centrifugar durante 5 minutos a 700 x g.
- 5) Pipetear 200 µL de la capa de acetato de etilo (superficial) del tubo de vidrio y colocar en otro tubo de vidrio limpio.
- 6) Evaporar el contenido hasta que se seque bajo una corriente suave de aire o nitrógeno a temperatura ambiente.
- 7) Añadir 200 µL del Calibrador C0 de Cortisol Calibrators y mezclar agitando.
- 8) Transferir la muestra bien mezclada a otro tubo y continuar con el procedimiento de

ensayo.

Las muestras de orina extraídas son estables durante 1 semana a 2-8°C o 4 semanas a -20°C. Evite más de tres ciclos de congelación.

Procedimiento

Antes de cargar los reactivos en el analizador se debe invertir suavemente el frasco de reactivos sin abrir por lo menos 30 veces para resuspender las micropartículas sedimentadas durante el almacenamiento. Realizar una inspección visual del frasco para asegurar la resuspensión de las micropartículas. Si las mismas continúan adheridas al frasco, seguir invirtiéndolo hasta su resuspensión completa. Si aún así las micropartículas no se resuspenden, se recomienda desechar el frasco.

El ensayo requiere 10 µL de muestra. En este volumen no se incluye el volumen muerto del contenedor de muestras.

Calibración

El kit **Cortisol (CLIA)** ha sido estandarizado de acuerdo con el procedimiento de medición de referencia IDMS (Isotope Dilution Mass Spectrometry).

La información específica de la curva maestra de calibración está contenida en el código bidimensional provisto. Se utiliza junto con los calibradores para la calibración del lote de reactivo específico. Al realizar la calibración, se debe escanear primero la información de la curva maestra de calibración del código bidimensional en el sistema. A continuación, utilizar los calibradores a tres niveles. Se requiere una curva de calibración válida antes de cualquier prueba de cortisol. Se recomienda una recalibración cada 4 semanas, cuando se utilice un nuevo lote de reactivos o los controles de calidad no se encuentren dentro de los intervalos especificados. Para obtener información detallada sobre la calibración, consulte el manual de funcionamiento del analizador.

Control de calidad

Immunoassay Multi Control (L) y **Immunoassay Multi Control (H)** de Wiener lab.

Cálculo de los resultados

El analizador calcula automáticamente la concentración de analito de cada muestra a partir de la curva maestra de calibración leída del código bidimensional y un ajuste de la curva logística de 4 parámetros (4PLC) con las RLU generadas por los 3 niveles de calibradores. Los resultados se muestran en µg/dL.

Factor de conversión: µg/dL x 27,59 = nmol/L.

Valores esperados

En un estudio realizado sobre una población de 399 individuos sanos (279 muestras de suero y 120 muestras de orina de 24 horas) se obtuvo el siguiente intervalo de referencia:

Categoría		Número de muestras	Percentilo 2,5-97,5%
Suero	7:00-10:00 AM	144	6,4~22,8 µg/dL
	16:00-20:00 PM	135	< 10 µg/dL
Orina de 24 horas	sin extraer	120	75~520 µg/24 horas
	extraída		22~115 µg/24 horas

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia.

Limitaciones del procedimiento

El límite superior del ensayo es de 60 µg/dL. Se puede determinar cuantitativamente una muestra con una concentración de cortisol inferior al límite superior, pero una muestra con una concentración mayor que el límite superior se informará como >60 µg/dL.

La concentración de cortisol en una muestra ensayada con distintos kits comerciales, puede variar debido a diferencias en los métodos de ensayo, calibración y especificidad de los reactivos. Los resultados del ensayo se deben utilizar junto con otros datos, como síntomas, resultados de otras pruebas, historia clínica, etc.

Muestras de individuos expuestos a anticuerpos monoclonales de ratón pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). Estas muestras pueden mostrar valores falsamente elevados o bajos con kits que utilicen anticuerpos de ratones monoclonales. Sin embargo, no se observaron interferencias evidentes de HAMA en este ensayo.

Performance

a) Sensibilidad analítica: ≤0,4 µg/dL.

b) Rango de medición: 0,4 - 60 µg/dL.

c) Especificidad:

- No se observan interferencias por hemoglobina hasta 1900 mg/dL, bilirrubina hasta 60 mg/dL, triglicéridos hasta 3000 mg/dL, proteínas totales hasta 10,0 g/dL, factor reumatoide hasta 1100 UI/mL ni anticuerpo antinuclear.

- No se observó reactividad cruzada significativa cuando se añadieron al calibrador C0 de Cortisol Calibrators las sustancias indicadas en la tabla siguiente. Los resultados se muestran en la tabla.

Sustancia	Concen-tración (µg/dL)	Reactividad cruzada	Criterio de aceptación
Dexametasona	1000	0,42%	1%
Allo-3α-Tetrahydrocortisona	100	4,61%	8%
Prednisolona	10	55,40%	100%
21-deoxi-cortisol	1000	5,09%	10%
6-α-metilprednisolona	100	4,25%	10%

Prednisolona	1000	0,58%	1%
Progesterona	1000	0,40%	1%
17-α-hidroxiprogesterona	1000	1,35%	3%
Corticosterona	100	11,32%	20%
Cortisona	100	0,46%	1%
Deoxicorticosterona	1000	0,83%	2%
11-desoxicortisol	1000	3,00%	5%
6-β-hidroxicortisol	100	55,41%	100%

e) Exactitud:

Se utilizaron dos controles con valores trazables y predefinidos para verificar la exactitud de este ensayo. Los resultados demostraron que las desviaciones relativas eran inferiores a ±10%. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestra	Cortisol Medio (µg/dL)	Cortisol predefinido (µg/dL)	Desvío relativo
Nivel 1	8,18	8,52	-3,99%
Nivel 2	21,25	20,79	2,21%

f) Precisión:

La precisión se determinó mediante el protocolo EP5-A2 del Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS). Se probaron dos niveles de controles de calidad por duplicado en dos series independientes por día, durante un total de 20 días.

Muestra	Valor medio (µg/dL)	CV intra-ensayo	CV inter-ensayo	CV total
1	8,50	3,11%	1,76%	3,55%
2	23,50	3,01%	2,17%	3,04%

g) Linealidad: la reacción en el rango 0,4-60 µg/dL

h) Correlación:

El kit **Cortisol (CLIA)** de Wiener lab. se comparó con un kit comercial de características similares, utilizando 421 muestras de suero y 424 muestras de orina. Los datos estadísticos obtenidos se muestran en la siguiente tabla.

Intervalo de concentración	Pendiente	Intersección	Coefficiente de correlación
0,4 ~ 60 µg/dL (suero)	1,0119	0,5741	0,9915
0 ~ 16000 µg/24h (orina)	1,1036	52,404	0,9955

Presentaciones

- 2 x 50 tests (cód. 1001058)
- 2 x 100 tests (cód. 1001059)

Referencias

- Perogamvros I, Ray DW, Trainer PJ. -Nat Rev Endocrinol 2012; 8:717-727.
- O'Connor TM, O'Halloran DJ, Shanahan F. -

O J Med 2000; 93:323-333.

- Ousova O, Guyonnet-Duperat V, Iannuccelli N, et al. - Mol Endocrinol 2004; 18(7):1687-1696.
- Nieman LK, et al. - J Clin Endocrinol Metab 2008; 93(5):1526-1540.
- Finding JW, Raff H. -J Clin Endocrinol Metab 2006; 91(10):3746-3753.
- Stefanie H, Bruno A. - Expert Opin Pharmacol 2005; 6(14):2407-2417.
- Boscato LM, Stuart MC - Clin Chem 1988; 34:27-33.
- Kricka L - Clin Chem 2000; 46:1037-1038.
- Bjerner J, et al. - Clin Chem 2002; 48:613-621.

Dir. Téc.: Viviana E. Cétola Bioquímica

SÍMBOLOS

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Elaborado por

 Uso diagnóstico "in vitro"

 Consultar instrucciones de uso

 Este lado arriba

 Límite de temperatura (conservar a)

 Número de lote

 Fecha de caducidad

 Número de catálogo

 Riesgo biológico

 Contenido

 SHENZHEN MINDRAY BIO-MEDICAL ELECTRONICS CO., LTD.
Mindray building. Keji 12th Road South. Hi-tech Industrial Park.

Fabricado para:
Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 Rosario - Argentina
http://www.wiener-lab.com
Producto Autorizado por A.N.M.A.T.
PM-1102-141