

Inmunoensayo

REF CMD0302

100 pruebas

Micropartículas Cortisol CLIA

Este ensayo se basa en un inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (Micropartículas CLIA) para la determinación cuantitativa de la concentración de Cortisol en suero o plasmas humano (EDTA).

Todas las marcas registradas son propiedad de sus respectivos dueños.

Clave para los símbolos gráficos utilizados

LOT

Código de lote



uso para



fabricante



Contenido suficiente para <n> pruebas

IVD

Dispositivo medico de diagnóstico *in vitro*



Limitación de temperatura

REF

número de catalogo



Consulte instrucciones para uso

EC **REP**

Representante autorizado en la Comunidad Europea

OBELIS S.A
Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels
Belgium

EC **REP**

AUTOBIO DIAGNOSTICS CO., LTD



No.87 Jingbei Yi Road
National Eco & Tech Development Area
Zhengzhou
China
450016



Para asistencia técnica por favor contáctese con nosotros en

Ingles a:Email: customerservice@autobio.com.cn

Contáctese con los distribuidores locales para todas las preguntas relacionadas a los productos en su lenguaje local

Introducción

Se puede ordenar una prueba de cortisol para detectar y ayudar a diagnosticar el síndrome de Cushing, un grupo de signos y síntomas asociados con el exceso de cortisol. La prueba de cortisol en la sangre evalúa tanto el cortisol unido a la proteína como el cortisol libre, mientras que la prueba de orina evalúa solo el cortisol libre, que debe estar en correlación con los niveles de cortisol libre en la sangre. A veces, el cortisol salival también se ordena para ayudar a detectar el síndrome de Cushing. El cortisol sanguíneo también se usa para ayudar a diagnosticar la insuficiencia suprarrenal y la enfermedad de Addison, afecciones en las que las glándulas suprarrenales no funcionan correctamente.

Se pueden usar múltiples niveles de cortisol en sangre y/o saliva recolectados en diferentes momentos, como a las 8 am y las 4 pm, para evaluar tanto las concentraciones de cortisol como la variación diurna. Normalmente, el nivel de cortisol en la sangre sube y baja en un patrón de "variación diurna", alcanzando su punto máximo temprano en la mañana y luego disminuye a lo largo del día y alcanza su nivel más bajo alrededor de la medianoche. Una muestra de cortisol en orina de 24 horas no mostrará variación diurna; medirá la cantidad total de cortisol no unido excretado en 24 horas^{1,2,3}

Principio de medición

Este ensayo se basa en el método competitivo de un solo paso. Se agregan la muestra, micropartículas recubiertas con anticuerpos secundarios, cortisol marcado con enzimas y solución de anticuerpos. Durante la incubación, el antígeno marcado con enzimas y el cortisol presentes en la muestra compiten por unirse a los anticuerpos en la solución de anticuerpos, luego el compuesto se une al anticuerpo secundario recubierto en micropartículas. Después del lavado, se genera un complejo entre la fase sólida, el anticuerpo primario, el cortisol en la muestra o el antígeno ligado a enzimas mediante reacciones inmunológicas. Luego se agrega el sustrato quimioluminiscente y se cataliza por este complejo, lo que resulta en una reacción quimioluminiscente. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como RLU. La RLU es inversamente proporcional a la concentración de cortisol en la muestra del paciente.

Materiales provistos

1. Calibradores

En la siguiente tabla se muestran 6 viales que contienen 1,0 ml de calibrador A a F con las correspondientes concentraciones de cortisol aproximadas. La matriz es PBS (solución salina tamponada con fosfato) que contiene BSA (albúmina de suero bovino). Contiene 0.2% de conservante ProClin 300®. Calibradores suministrados listos para usar.

Calibrador	Concentración Cortisol (µg/dl)
A	0
B	2
C	5
D	10
E	25
F	60

2. Paquete de Reactivos

El paquete de reactivos provistos está listo para su uso.

● Solución de anticuerpos

1 vial que contiene 5,5 ml de anti-cortisol monoclonal de ratón en tampón Tris-NaCl que contiene BSA (albúmina de suero bovino).

Contiene 0.1% de conservante ProClin 300®.

● Conjugado de enzimas

1 vial que contiene 5,5 ml de antígeno cortisol marcado con rábano picante peroxidasa en tampón Tris-NaCl que contiene BSA (albúmina de suero bovino). Contiene 0.1% de conservante ProClin 300®.

● Solución de micropartículas

1 vial que contiene 2,3 ml de micropartículas recubiertas de anticuerpo de cabra anti-ratón en PBS (solución salina tamponada con fosfato) que contiene BSA (albúmina de suero bovino). Contiene 0.1% de conservante ProClin 300®.

Analizadores de ensayo en los que se puede utilizar el kit

- AutoLumo A2000
- AutoLumo A2000 Plus

El inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (Micropartículas CLIA) está diseñado para su uso en Analizador de Ensayos, que es AutoLumo A2000 o AutoLumo A2000 Plus.

Materiales Requeridos pero no Provistos

1. Analizador de ensayo
2. Recipiente(s) de reacción para muestra reactivo de reacción
3. Copa(s) de muestra o tubo(s) para contener muestra
4. Diluyente Universal
5. Sustrato Quimioluminiscente
6. Sistema de lavado para el lavado de la aguja de pipeteo.
7. Tampón de lavado utilizado en el procedimiento de lavado
8. Agua destilada o desionizada.
- 9.

Trazabilidad Metrológica De Calibradores

La medición o analito en los calibradores de cortisol es rastreable a los calibradores de trabajo del fabricante. El proceso de trazabilidad se basa en la norma EN ISO 17511.

Los valores asignados se establecieron utilizando muestras representativas de este lote de calibrador y son específicos de las metodologías de ensayo de los reactivos. Los valores asignados por otras metodologías pueden ser diferentes. Tales diferencias, si están presentes, pueden ser causadas por un sesgo inter-método.

Advertencias y Precauciones

Para los calibradores y el conjugado enzimático, que contienen 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-uno y 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, se aplican las siguientes declaraciones



H315 Causa irritación de la piel.

H319 Provoca irritación ocular grave.

H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

H412 Nocivo para la vida acuática con efectos de larga duración.

P261 Evitar respirar

polvo/humo/gas/niebla/vapores/spray.

GHS 07

Advertencia

P280 Usar guantes protectores/indumentaria de protección/protección ocular/protección facial.

P273 Evitar su liberación al medio ambiente.

P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS Enjuague cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quítense las lentes de contacto, si están presentes y son fáciles de hacer. Continuar enjuagando.

P321 Tratamiento específico (ver en esta etiqueta).

P501 Eliminar el contenido/el recipiente de acuerdo con las regulaciones locales/regionales/nacionales/internacionales.

1. Para uso profesional solamente.

2. Siga las instrucciones de uso con cuidado. La confiabilidad de los resultados del ensayo no se puede garantizar si hay alguna desviación de las instrucciones en este manual de uso.
3. Consulte la hoja de datos de seguridad del material y la etiqueta del producto para conocer los peligros químicos que pueden estar presentes en este ensayo.
4. Maneje los materiales y desechos potencialmente contaminados de manera segura de acuerdo con los requisitos locales.
5. PRECAUCIÓN: los calibradores contienen material de origen humano, que ha sido probado y no es reactivo para HBsAg, HIV-1 and HIV-2, HCV y sífilis. Se recomienda que todos los materiales de origen humano se consideren potencialmente infecciosos. Este ensayo contiene materiales de origen animal. Los componentes bovinos se originan en países donde no se ha notificado encefalopatía espongiforme (EEB).
6. Algunos reactivos que contienen ProClin 300® pueden causar sensibilización por contacto con la piel. Debe evitarse el contacto con la piel. Este material y su recipiente deben desecharse de forma segura. En caso de ingestión, consulte a un médico inmediatamente y muestre este envase o etiqueta.
7. No fume, beba, coma o use cosméticos en el área de trabajo.
8. Use ropa protectora y guantes desechables cuando trate con muestras y reactivos. Lavarse las manos luego de las operaciones.
9. Tenga cuidado al manipular muestras de pacientes para evitar contaminación cruzada. Se recomienda el uso de pipetas desechables o puntas de pipeta.
10. Conduzca el ensayo lejos de malas condiciones ambientales por ejemplo aire ambiente que contiene alta concentración de gas corrosivo, como ácido clorhídrico sódico, alcalino, acetaldehído, etc., o que contiene polvo.
11. No utilice reactivos más allá de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
12. No mezcle ni use componentes de kits con diferentes códigos de lote.
13. Cuando almacene los calibradores, asegúrese de que los viales estén bien sellados.
14. Asegúrese de que las micropartículas estén resuspendidas antes de cargarse en el analizador.
15. Evite formación de espuma en todos los reactivos y tipos de muestras (muestras, calibradores y controles).
16. No sustituya ningún reactivo en este kit de otros fabricantes u otros lotes.
17. Cuando se observe cualquier daño al empaque protector o cualquier cambio en el rendimiento analítico no use el kit.

Almacenamiento

1. Almacenar el kit a 2-8°C. No congelar. Evite la luz fuerte. Cuando se almacena según las indicaciones, todos los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad.
2. Refrigere el paquete de reactivos a 2-10°C durante un mínimo de 2 horas antes de su uso.
3. Almacene el paquete de reactivos en posición vertical a 2-10°C en el analizador. Pueden almacenarse en el analizador por un máximo de 28 días. Después de 28 días, el paquete de reactivos debe desecharse. Una vez que se retiran del analizador, guárdelos a 2-8°C en posición vertical. Para los reactivos almacenados fuera del analizador, se recomienda que se almacenen en sus bandejas y cajas originales para garantizar que permanezcan en posición vertical.
4. Una vez que el paquete de reactivos está abierto, se puede almacenar a 2-8°C durante 1 mes.

Muestra

1. Recolectar muestras de suero de acuerdo con las prácticas médicas

correctas.

2. No utilice muestras inactivadas por calor. No use conservante de azida de sodio en las muestras.
3. No utilice muestras con contaminación microbiana obvia.
4. Los sedimentos y los sólidos suspendidos en las muestras pueden interferir con el resultado de la prueba, que debe eliminarse mediante centrifugación. Asegúrese de que haya tenido lugar la formación completa de coágulos en las muestras de suero antes de la centrifugación. Algunas muestras, especialmente las de pacientes que reciben terapia anticoagulante o trombolítica, pueden mostrar un aumento del tiempo de coagulación. Si la muestra se centrifuga antes de que se forme un coágulo completo, la presencia de fibrina puede causar resultados erróneos. Asegúrese de que las muestras no estén descompuestas antes de usarlas.
5. Antes del envío, se recomienda retirar las muestras del coágulo, del separador de suero o de los glóbulos rojos.
6. El procesamiento insuficiente de la muestra o la interrupción de la muestra durante el transporte puede causar resultados deprimidos.
7. Evite muestras extremadamente hemolíticas, lipémicas o turbias.
8. Tape y almacene las muestras a 18-25 °C durante no más de 8 horas, para un uso más prolongado, las muestras se deben tapar y almacenar de 2 a 8 °C hasta 48 horas. O bien, congele las muestras que deben almacenarse o transportarse durante más de 48 horas a -20°C. Evitar múltiples ciclos de congelación y descongelación. Mezcle bien las muestras descongeladas mediante vórtice de baja velocidad o invirtiendo 10 veces. Inspeccione visualmente las muestras, si observa capas o estratificación, continúe mezclando hasta que las muestras sean visiblemente homogéneas. Después de descongelar, llevar a temperatura ambiente y mezclar bien agitando suavemente.
9. Centrifugar las muestras descongeladas que contengan glóbulos rojos o material particulado, o que tengan una apariencia brumosa o turbia, etc. antes de su uso para garantizar la consistencia en los resultados.
10. Tenga en cuenta que los niveles de interferencia de fibrina pueden estar presentes en muestras que no tienen partículas visibles o evidentes.
11. Si no se puede verificar la recolección y preparación adecuadas de la muestra, o si las muestras se han alterado debido al transporte o manejo de la muestra, se recomienda un paso de centrifugación adicional. Las condiciones de centrifugación deben ser suficientes para eliminar las partículas.
12. Para obtener resultados óptimos, inspeccione todas las muestras para detectar burbujas. Eliminar las burbujas con una punta antes de su análisis. Use una nueva punta para cada muestra para evitar la contaminación cruzada.

Procedimiento de medición

1. Comprobar los materiales consumibles.
 - Verifique que haya un volumen adecuado de materiales consumibles antes de realizar la prueba.
 - Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
2. Cargar el kit
 - Mezcle el contenido de los paquetes de reactivos nuevos (sin perforar) invirtiendo suavemente el paquete varias veces antes de cargarlo en el analizador. Evitar la formación de espuma en todos los reactivos. No invierta los paquetes abiertos (perforados). Si es necesario, agite suavemente para mezclar horizontalmente después de la primera carga.
 - Lea el código de barras en el paquete de reactivos automáticamente para obtener los parámetros requeridos para la prueba.
 - Si el código de barras no se puede leer en casos excepcionales, se pueden reconocer manualmente.

- Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
- 3. Orden de pruebas
- Coloque los vasos o tubos de muestra en el porta muestras, 25 µl de muestras y calibradores para cada prueba. Pero teniendo en cuenta el contenedor de muestra y 150 µl de volúmenes muertos del sistema, que pueden consultarse en los manuales apropiados del analizador de ensayos para obtener el volumen mínimo de muestra requerido.
- Cargue el soporte de muestra e ingrese la información de muestra en la interfaz del software del sistema.
- Seleccione "ejecutar" para iniciar la prueba, el analizador automáticamente ejecuta las pruebas. Realiza las siguientes funciones:
 - Mueve la muestra al punto de ajuste.
 - Carga un recipiente de reacción en la ruta del proceso.
 - Aspira y transfiere la muestra al recipiente de reacción.
 - Agrega solución de micropartículas, conjugado enzimático y la solución de anticuerpos al recipiente de reacción
 - Mezcla, incuba y lava la mezcla de reacción.
 - Agrega Sustrato Quimioluminiscente
 - Mide la emisión de quimioluminiscencia para determinar la cantidad de Cortisol en la muestra
 - Descarta el recipiente de reacción usado.
 - Calcula el resultado.
- Consulte el manual de operación del analizador de ensayos.
- 4. Calibrar la curva
- El analizador puede leer el código de barras en el paquete de reactivos automáticamente para obtener los parámetros necesarios para la prueba.
- Si el código de barras no se puede leer en casos excepcionales, se pueden reconocer manualmente.
- Transfiera los calibradores a los vasos o tubos de muestra y colóquelos en el soporte de muestra. Realizar la detección de duplicados en el sistema.
- Cargue el soporte de muestra y la información de los calibradores de entrada en la interfaz del software del sistema.
- Seleccione "ejecutar" para iniciar la prueba y generar la curva de calibración; se requiere una calibración cada 28 días.
- Una vez que se acepta y almacena una curva de calibración, todas las muestras posteriores pueden analizarse sin más calibración a menos que:
 - Los controles están fuera de rango después de mediciones repetidas
 - Se utiliza un kit de reactivos y un sustrato quimioluminiscente con un nuevo código de lote.
 - Más allá de la fecha de vencimiento de una curva de calibración
 - Partes importantes del analizador son reemplazadas o reparadas.
- Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
- 5. Diluir la muestra

Las muestras con un valor de Cortisol superior a 60 µg/dl pueden diluirse con el método de dilución automatizado. La muestra de baja concentración de cortisol se utiliza para diluir las muestras. Después de la dilución del analizador, el software automáticamente toma en cuenta la dilución al calcular la concentración de la muestra.

 - La concentración de la muestra después de la dilución no debe ser inferior a 0,1 µg/dl.

Resultados de medición

El software del sistema determina automáticamente los resultados de las pruebas de muestra utilizando un método de reducción de datos de ajuste de curva logística de 4 parámetros. La cantidad de cortisol en las muestras se determina a partir de la producción de luz medida por medio de los datos de calibración almacenados. Los

resultados de las pruebas de muestra se pueden revisar utilizando la pantalla apropiada. Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos para revisar los resultados de las muestras.

Procedimiento de control

El requisito de control recomendado para este ensayo es comprar los materiales de control por separado y probarlos junto con las muestras dentro de la misma ejecución. El resultado es válido si los valores de control se encuentran dentro de los rangos de concentración impresos en las etiquetas. Cuando un valor de control está fuera del rango especificado, puede indicar un deterioro de los reactivos o errores en la técnica. Los resultados de las pruebas asociadas pueden ser inválidos y pueden requerir una nueva prueba. La recalibración del ensayo puede ser necesaria. Se recomienda que cada laboratorio establezca su rango aceptado para garantizar un rendimiento de prueba adecuado.

Limitaciones de procedimiento

1. Este ensayo pretende ser una ayuda para el diagnóstico clínico. Lleve a cabo este análisis junto con el examen clínico, el historial médico del paciente y los resultados de otras pruebas.
2. Si los resultados son inconsistentes con la evidencia clínica, pruebas adicionales se sugiere confirmar el resultado.
3. Una técnica hábil y el estricto cumplimiento de las instrucciones son necesarios para obtener resultados confiables.
4. Un resultado dentro de la interferencia de referencia biológica no descarta la presencia de enfermedad y debe interpretarse junto con el cuadro clínico del paciente y otros procedimientos de diagnóstico.
5. Los resultados de las pruebas se reportan cuantitativamente. Sin embargo, el diagnóstico de una enfermedad no debe basarse en el resultado de una sola prueba, sino que debe determinarse junto con los hallazgos clínicos en asociación con el criterio médico.
6. Cualquier decisión terapéutica también debe tomarse caso por caso.
7. Los niveles de cortisol en edad pediátrica no han sido investigados.
8. El tiempo de recolección de la muestra debe tenerse en cuenta al interpretar los resultados debido al ritmo circadiano de la secreción de cortisol. Servir al estrés también puede dar lugar a niveles elevados de cortisol.
9. Esta prueba mide concentraciones dentro del rango de 0.1-60 µg/dl. Si se esperan concentraciones de cortisol por encima del rango de medición, se recomienda diluir las muestras con una muestra de baja concentración de cortisol, la dilución máxima es 1: 4 de esta prueba, lo que permite que las muestras se cuantifiquen hasta aproximadamente 300 µg/dl.

Intervalo de referencia biológica

Para las muestras recogidas en horas de la mañana: 7-9 a.m., se obtuvo un rango normal de 4,26 µg/dl a 24,85 µg/dl (intervalo de confianza del 95%) analizando muestras de plasma con EDTA de 408 individuos definidos como normales por un médico; Para las muestras recogidas en horas de la tarde a las 3 a 3 p.m., se obtuvo un rango normal de 2,9 µg/dl a 17,3 µg/dl (intervalo de confianza del 95%) al analizar muestras de plasma con EDTA de 412 individuos definidos como normales por un médico.

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal, que puede ser exclusivo de la población a la que sirve, según los factores geográficos, del paciente, de la dieta o ambientales.

Características de rendimiento

1. Precisión de medida

Este ensayo está diseñado para tener una precisión dentro de la ejecución de <10%. Se analizaron 3 miembros de panel basados en plasma humano (1, 2 y 3), utilizando 1 lote de reactivos, en réplicas de 10. Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla.

Miembros del Panel	Lote	n	Media	Precisión dentro de corrida	
				SD	%CV
1	1	10	2.69	0.10	3.85
2	1	10	20.78	0.59	2.83
3	1	10	39.35	0.63	1.60

Este ensayo está diseñado para tener una precisión entre ejecuciones de <15%. Se analizaron 3 miembros de panel basados en plasma humano (1, 2 y 3), utilizando 1 lote de reactivos, en réplicas de 10, una vez al día durante 3 días de prueba. Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla.

Miembros del Panel	Lote	n	Media	Precisión entre corridas	
				SD	%CV
1	1	30	2.27	0.26	9.77
2	1	30	19.48	0.49	2.52
3	1	30	35.68	2.33	6.55

2. Sensibilidad Analítica

La sensibilidad analítica, definida como la concentración correspondiente a las ALU medias de 20 repeticiones del calibrador A menos 2 desviaciones estándar, es $\leq 0.1 \mu\text{g/dl}$.

3. Especificidad Analítica

Reacción cruzada: a las muestras se agregaron compuestos de Cortisol relacionados estructuralmente, se encontraron las siguientes reactividades cruzadas (%).

Sustancia	Concentración ($\mu\text{g/dl}$)	Reacción cruzada %
Allotetrahydrocortisol	200	1.25
androstenediona	200	0.33
Cortisona	1220	1.42
α -cortol	200	3.40
α -cortolone	500	0.00
β -cortol	500	2.76
β -cortolone	200	0.02
Dehidrocorticosterona	500	2.13
11-desoxicortisol	675	0.28
20 α -dihidrocortisol	500	2.95
20 β -dihidrocortisol	1000	1.64
20 β -dihidrocortisona	1000	0.40
11 β -hydroxiandrosterona	1000	0.03
11 β -hydroxiethocholanolona	500	0.05
11 β -hydroxiprogesterona	2500	0.16
11-ceto-androsterona	1000	0.03
11-ceto-etiocholanolona	1000	0.02
Pregnanetriol	200	0.04
Pregnenolona	750	0.02
Tetrahydrocortisol	5000	0.07
Tetrahydrocortisona	2500	0.04
Prednisolona	1170	1.48
6-methyl-Prednisolona	2500	0.72
Testosterona	200	0.05
Prednisona	100	0.09
17-hydroxipregnenolona	100	1.37

Interferencia: No hay interferencia con 3000 mg/dl de hemoglobina, 20

mg/dl de bilirrubina, 3000 mg/dl de Intralipid.

4. Veracidad por Prueba de Recuperación

1 conjunto formado por una baja concentración y una alta concentración en la muestra de cortisol (muestras X e Y) se mezclaron en proporciones 4: 1, 3: 2, 2: 3 y 1: 4 y se analizaron, se midieron frente a las concentraciones de cortisol esperadas y se analizaron regresión lineal. Los coeficientes de correlación (r) oscilaron entre 0.996 y 1.000.

Dilución	Medición de concentración ($\mu\text{g/dl}$)	Concentración esperada ($\mu\text{g/dl}$)	Recuperación %
X	15.924	15.924	-
4:01	20.068	20.418	98.3
3:02	23.932	24.912	96.1
2:03	29.031	29.407	98.7
1:04	34.442	33.901	101.6
Y	38.396	38.396	-

5. Precisión de la Medición por Correlación

Se realizó un estudio en el que se analizaron muestras utilizando este ensayo y una prueba de cortisol que ya estaba disponible en el mercado. Los datos fueron analizados y se resumen en la siguiente tabla.

Método de correlación	Número de muestras	Intercepto	Inclinación	Coefficiente de Correlación
Regresión Lineal	222	0.1078	0.9854	0.9851

Literatura de Referencia

1. Direct Cortisol Assay and Plasma Cortisol Activity Assay Compared .Clinical Chemistry,2004 ; 50 (11): 2159-2161.
2. Aldosterone and Cortisol measurements [Review]. Ann ClinBiochem 2000;37:262-278.
3. Measurement of plasma Cortisol:a critical review of methodology. JRAAS, 2010;11(2): 89-90.

Approved by



Mr. Gongcheng Liu

Manager of R&D center, Autobio

郑州安图生物工程股份有限公司
AUTOBIO DIAGNOSTICS CO., LTD