

CORTISOL [I-125] RIA KIT

Código RK-240CT.

Estuche para 100 determinaciones

Juego de reactivos para la determinación cuantitativa *in vitro* del Cortisol en suero humano, en el rango de 12-1600 nmol/L (4,34-580 ng/mL).

Introducción

El Cortisol es el más potente de los glucocorticoides producidos por la corteza suprarrenal. Se produce a partir del colesterol bajo la acción estimulante de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) mediante una serie de pasos catalizados por enzimas. En la circulación sanguínea se encuentra mayormente enlazado a la globulina transportadora de corticosteroides (CBG) y en menor medida a la albúmina. El Cortisol ejerce efectos en numerosos sistemas fisiológicos: regula el metabolismo de carbohidratos, proteínas, grasas y purina, el balance de agua y electrolitos, el tono vascular y la respuesta inflamatoria. La secreción de Cortisol sigue un ciclo circadiano, con niveles máximos por la mañana y mínimos por la noche. La determinación del Cortisol se utiliza para evaluar los defectos funcionales del sistema hipotálamo-hipófisis-suprarrenal. Se observan concentraciones elevadas en el síndrome de Cushing, en tumores suprarrenales así como en pacientes bajo estrés físico o psicológico. La disminución de los niveles de Cortisol es característica de la insuficiencia suprarrenal primaria y secundaria.

Principio del ensayo

Este ensayo está basado en una reacción competitiva entre el Cortisol no marcado, presente en las muestras y calibradores, con una cantidad fija de Cortisol marcado con ¹²⁵I por un número limitado de sitios de unión al anticuerpo anti-Cortisol. La cantidad de Cortisol marcado con ¹²⁵I que se une al anticuerpo es inversamente proporcional a la concentración de Cortisol no marcado presente en las muestras.

El inmuno-complejo se inmoviliza en la superficie reactiva de los tubos de ensayo durante un período de incubación de 2 horas bajo agitación constante. Después de la incubación se decantan los tubos y se mide la radiactividad enlazada en un contador gamma.

La concentración del antígeno es inversamente proporcional a la radiactividad medida en los tubos. Utilizando los calibradores de concentración conocida de Cortisol, se prepara una curva estándar a partir de la cual se determina por interpolación la concentración de Cortisol presente en las muestras.

Contenido del juego

1. TRAZADOR, 1 frasco con 55 mL, listo para usar, contiene < 260 kBq de Cortisol marcado con ¹²⁵I en solución tampón con 0,1 % NaN₃ y colorante rojo.
2. ANTISUERO, 1 frasco con 55 mL listo para usar, contiene anticuerpo anti-Cortisol en solución tampón con colorante azul y 0,1 % NaN₃.
3. CALIBRADORES (S1-S6), 6 frascos listos para usar con 0,5 mL de suero humano y 0,1% NaN₃. Los calibradores contienen: 0, 40, 100, 250, 650, 1600 nmol/L de Cortisol, respectivamente.
4. SUERO CONTROL, 1 frasco, contiene 0,5 mL de suero humano liofilizado con 0,1% NaN₃. La concentración del suero control está especificada en el certificado de calidad incluido.
5. TUBOS RECUBIERTOS: 2x50 tubos de 12x75 mm, empaquetados en cajas plásticas, listos para usar.

Materiales y equipos necesarios

Gradilla para tubos de ensayo, pipetas de precisión con puntas desechables (10 y 500 µL), agitador horizontal u orbital, lámina de polietileno, papel absorbente, contador gamma

Materiales y equipos recomendados:

Pipeta de repetición (500 µL)

Recolección y almacenamiento de las muestras

Las muestras de suero deben colectarse de acuerdo a los procedimientos habituales que se practican en los laboratorios clínicos. Las muestras

pueden conservarse entre 2 y 8 °C si el análisis se efectuará dentro de las 24 horas siguientes a su recolección, de lo contrario deben conservarse congeladas a una temperatura igual o menor que -20 °C hasta 4 meses. Las muestras congeladas deben descongelarse y mezclarse completamente antes de su uso. Evitar la congelación y descongelación repetida de las muestras.

Preparación y conservación de los reactivos

Conservar los reactivos entre 2 y 8 °C después de abiertos. A esta temperatura cada componente es estable hasta la fecha de vencimiento del juego. La fecha de caducidad exacta se especifica en la etiqueta del estuche y en el certificado de calidad.

El suero control se reconstituye con 500 µl de agua destilada. Para ello se debe mezclar suavemente evitando la formación de espuma. Permitir que la solución alcance la temperatura ambiente (20 a 30 °C) antes de su uso. Para usos posteriores, conservar entre 2 y 8 °C hasta la fecha de vencimiento.

PRECAUCIÓN!

Permitir que todos los reactivos y muestras alcancen la temperatura ambiente (mín. 1 hora). Homogenizar completamente los reactivos y muestras antes de su uso, evitando la formación de espuma.

Procedimiento para el ensayo

(Ver Tabla 1.)

1. Rotular los tubos recubiertos por duplicado para cada calibrador (S1-S6), suero control (C) y muestras (M). Opcionalmente, marcar dos tubos no recubiertos para los totales (T).
2. Añadir por duplicado 10 µL de calibrador, suero control y muestras en los tubos apropiados.
3. Añadir 500 µL de trazador en cada tubo.
4. Añadir 500 µL de antisuero en todos los tubos excepto T.
5. Fijar la gradilla con los tubos de ensayo firmemente en el agitador horizontal. Cubrir los tubos con una lámina de polietileno. Encender el agitador y ajustar la velocidad de manera tal que el líquido en los tubos esté rotando o agitándose constantemente.
6. Incubar los tubos en el agitador durante 2 horas a temperatura ambiente.
7. Aspirar o decantar el líquido de todos los tubos (excepto T) mediante la inversión de la gradilla. Colocar la gradilla sobre un papel absorbente por 2 minutos manteniendo la posición invertida.
8. Medir la radiactividad de cada tubo por 60 segundos en un contador gamma.
9. Calcular la concentración de Cortisol en las muestras como se describe a continuación.

Tabla 1. Protocolo del ensayo (volúmenes en microlitros)

	T	S1-S6	C	Mx
Calibrador		10		
Control			10	
Muestras				10
Trazador	500	500	500	500
Antisuero		500	500	500
Agitar 2 horas a temperatura ambiente				
Decantar y secar en papel absorbente				
Medir la radiactividad (60 s/tubo)				
Calcular los resultados				

Cálculo de los resultados

En la Tabla 2 y la figura 1 se muestran a manera de ejemplo los cálculos y una curva estándar típica de un ensayo.

Para los cálculos:

Hallar la media de los conteos por minuto (cpm) para cada par de tubos. Calcular el porcentaje B₀/T% para el calibrador de concentración cero (S₁) según la ecuación siguiente:

$$S_1 \text{ (cpm)}$$

$$B_0/T\% = \frac{\text{---}}{\text{---}} \times 100$$

$$T \text{ (cpm)}$$

B₀/T% es un parámetro opcional del control de calidad, no necesario para la determinación de la concentración de las muestras.

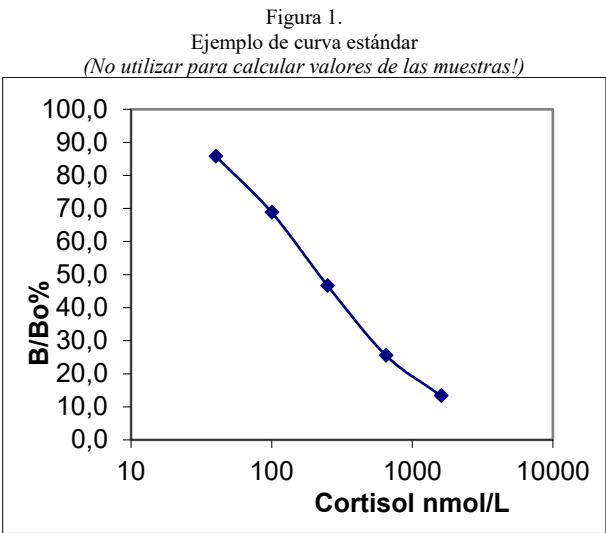
Calcular el porcentaje de unión para cada calibrador, control y muestra, utilizando la siguiente ecuación:

$$B/B_0(\%) = \frac{S_{2-6} / C / M_x \text{ (cpm)}}{S_1 \text{ (cpm)}} \times 100$$

Plotear los porcentajes B/B₀ (%) contra la concentración de Cortisol de cada calibrador en un papel semi-logarítmico. Determinar la concentración de Cortisol en las muestras por interpolación de la curva estándar. No extrapolar valores fuera del rango de la curva. Para el procesamiento automatizado de los datos pueden utilizarse programas de ajuste tipo spline o logit-log.

Tabla 2. Datos típicos del ensayo

Tubos	Media CPM (n = 20)	B/T %	B/B ₀ %	nmol/L
T	80956			
S1	59283	73,2		
S2	50888	62,9	85,8	
S3	40799	50,4	68,8	
S4	27652	34,2	46,6	
S5	15148	18,7	25,6	
S6	7915	9,8	13,4	
C	25223	31,2	42,5	293



Características del ensayo

Sensibilidad

Los Límites del Blanco (LoB), de Detección (LoD) y de Cuantificación (LoQ) fueron determinados según la guía del CLSI, documento EP17-A2.

LoB: 2 nmol/L
LoD: 7 nmol/L
LoQ: 12 nmol/L

Precisión

La precisión de un solo sitio se calculó utilizando cinco muestras a diferentes concentraciones de Cortisol, de acuerdo con el documento EP05-A3 del CLSI. Las muestras se midieron en veinte días, con dos ensayos por día y utilizando tres réplicas por muestra.

Muestra	Media (nmol/L)	Repetibilidad		Precisión intra-laboratorio	
		SD	CV%	SD	CV%
Pool 1	60,4	2,17	3,59	2,92	4,84
Pool 2	120,4	3,95	3,28	5,04	4,18
Pool 3	236,3	6,20	2,62	7,61	3,22
Pool 4	478,6	10,79	2,25	14,72	3,07
Pool 5	939,2	14,37	1,53	19,00	2,02

La precisión multi-sitio se calculó utilizando 5 muestras a diferentes concentraciones de Cortisol, de acuerdo con el documento EP05-A3 del CLSI. Las muestras se midieron en tres sitios diferentes, en cada sitio se realizaron cinco corridas, una corrida por día y utilizando cinco réplicas por corrida.

Muestra	Media (nmol/L)	Repetibilidad		Precisión intra-laboratorio		Reproducibilidad	
		SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%
Pool 1	57,9	4,6	8,0	4,7	8,1	5,7	9,8
Pool 2	119,3	7,8	6,6	7,9	6,6	7,9	6,6
Pool 3	232,1	13,6	5,9	13,7	5,9	14,1	6,1
Pool 4	478,4	15,5	3,2	15,6	3,3	15,9	3,3
Pool 5	925,4	31,9	3,4	33,1	3,6	33,2	3,6

Especificidad

Se prepararon soluciones de diferentes esteroides en un suero humano libre de esteroides y se determinó la concentración aparente de Cortisol.

Esteroides		Esteroides (nmol/L)	Cortisol aparente (nmol/L)	Reacción cruzada %
Hormonas esteroideas	11-Deoxy Cortisol	30079	29	0,1
		3008	ND	-
		301	ND	-
	11-Deoxy Corticosterona	31229	ND	-
		3123	ND	-
		312	ND	-
	21-Deoxy Cortisol	29790	820	2,8
		2979	100	3,4
		298	12	4,0
	Corticosterona	29670	1600	5,4
2967		195	6,6	
297		29	9,8	
Drogas esteroideas	Triamcinolona	25956	14	0,1
		2596	ND	-
		260	ND	-
	Dexametasona	24142	97	0,4
		2414	16	0,7
		241	ND	-
	Fludrocortisona	26961	>1600	
		2696	1237	45,9
		270	151	56,0
	Prednisona	28620	ND	-
		2862	ND	-
		286	ND	-
Prednisolona	28577	>1600		
	2858	403	14,1	
	286	77	26,9	

ND = menor que el límite de detección (<7 nmol/L)

Prueba de Recuperación

La recuperación se determinó como la diferencia porcentual entre el incremento observado y el incremento esperado, luego de añadir concentraciones conocidas de Cortisol a 16 muestras de suero con concentraciones endógenas diferentes. La recuperación obtenida fue de 92 % ± 7 % (media ±SD).

Linealidad

La linealidad se evaluó de acuerdo con el documento EP06-A del CLSI. El método resultó lineal desde 2 nmol/L hasta 1746 nmol/L, con un margen de error <10 % en este intervalo.

Valores de referencia

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.

Los valores presentados a continuación fueron determinados por duplicado en donantes de sangre aparentemente saludables (90 hombres y 90 mujeres). Las muestras de sangre fueron tomadas durante la mañana (8-11 am).

Media ± SD = 353 ± 139 nmol/L

Mín - Max = 127 - 859 nmol/L

El rango normal de Cortisol basado en el intervalo del 95% de la distribución es:

147 - 726 nmol/L

Interferencia:

Las pruebas de interferencia se realizaron de acuerdo con el documento EP07-A2 del CLSI. No se observa interferencia hasta las siguientes concentraciones:

Bilirrubina	285 µmol/L
Triglicéridos	10,9 mmol/L
Hemoglobina	3,7 g/L
Biotina	800 ng/mL
Factor Reumatoide	400 IU/mL
Paracetamol	15,6 mg/dL
Ácido acetilsalicílico	3,0 mg/dL
Ácido ascórbico	5,25 mg/dL
Diclofenaco	2,4 mg/dL
Ibuprofeno	21,9 mg/dL

Conversión de las unidades de medida

1 nmol/L = 0,362 ng/mL

Limitaciones del procedimiento

- Los reactivos provistos en este juego están optimizados para la medición de Cortisol en suero.
- Las muestras hemolizadas, turbias o lipémicas pueden dar resultados falsos, evite su uso.
- Los resultados solo deben ser interpretados dentro del contexto clínico apropiado y nunca como prueba única e infalible de anomalía o enfermedad

Notas acerca del procedimiento

1) **Fuente de error!** Los tubos recubiertos no están marcados individualmente. Se debe evitar la mezcla con tubos de ensayo comunes. Para minimizar este riesgo, no se deben sacar de la caja más tubos de los necesarios, de igual manera los tubos no utilizados en una serie deben ser guardados de nuevo en su caja. Se recomienda rotular los tubos con marcador permanente.

2) **Fuente de error!** Para asegurar la agitación eficiente de los tubos se debe utilizar una gradilla que los ajuste firmemente. Una agitación inadecuada puede provocar un rendimiento deficiente del ensayo y falsos resultados.

Atención! No mezclar los componentes de lotes diferentes o con productos de otro fabricante!

Precauciones

Material radiactivo

Este producto contiene material radiactivo. Es responsabilidad de cada laboratorio cumplir con las regulaciones locales referentes a la manipulación, conservación y desecho de materiales radiactivos.

Material potencialmente infeccioso

El suero humano utilizado en este producto ha sido analizado con métodos aprobados y no ha presentado positividad para anticuerpos frente a los virus de Inmunodeficiencia Humana (Anti-HIV-1/2) y Hepatitis-C (HCV), anticuerpos anti-Treponema y el antígeno de superficie de la Hepatitis-B (HBsAg). Ninguno de los métodos analíticos disponibles actualmente puede garantizar por completo la eliminación de posibles riesgos biológicos. Se deben manipular todos los reactivos y muestras de sangre como *material potencialmente infeccioso*.

Peligro químico

Algunos componentes de este juego contienen azida sódica como preservante. Al verter los desechos no radiactivos al sistema de desagüe se debe diluir con grandes cantidades de agua, para evitar la acumulación de azidas metálicas explosivas en las tuberías de plomo y cobre. Este producto contiene en total 114 mg de azida sódica.

MSDS: La hoja de datos de seguridad está disponible públicamente en el sitio web www.izotop.hu/immunoassay.

Literatura

1: Michels A, Michels N. Addison disease: early detection and treatment principles. *Am Fam Physician*. 2014 Apr 1;89(7):563-8.

2: Speiser PW, Arlt W, Auchus RJ, Baskin LS, Conway GS, Merke DP, Meyer-Bahlburg HFL, Miller WL, Murad MH, Oberfield SE, White PC. Congenital Adrenal Hyperplasia Due to Steroid 21-Hydroxylase Deficiency: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2018 Nov 1;103(11):4043-4088.

3: Annane D, Pastores SM, Rochwerf B, Arlt W, Balk RA, Beishuizen A, Briegel J, Carcillo J, Christ-Crain M, Cooper MS, Marik PE, Umberto Meduri G, Olsen KM, Rodgers SC, Russell JA, Van den Berghe G. Guidelines for the Diagnosis and Management of Critical Illness-Related Corticosteroid Insufficiency (CIRCI) in Critically Ill Patients (Part I): Society of Critical Care Medicine (SCCM) and European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) 2017. *Crit Care Med*. 2017 Dec;45(12):2078-2088.

4: Bornstein SR, Allolio B, Arlt W, Barthel A, Don-Wauchope A, Hammer GD, Husebye ES, Merke DP, Murad MH, Stratakis CA, Torpy DJ. Diagnosis and Treatment of Primary Adrenal Insufficiency: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016 Feb;101(2):364-89.

5: Fassnacht M, Tsagarakis S, Terzolo M, Tabarin A, Sahdev A, Newell-Price J, Pelsma I, Marina L, Lorenz K, Bancos I, Arlt W, Dekkers OM. European Society of Endocrinology clinical practice guidelines on the management of adrenal incidentalomas, in collaboration with the European Network for the Study of Adrenal Tumors. *Eur J Endocrinol*. 2023 Jul 20;189(1):G1-G42.

6: Roldán-Sarmiento P, Lam-Chung CE, Hinojosa-Amaya JM, Morales-García M, Guillén-Placencia MF, Pérez-Flores GE, León-Suárez A, León-Domínguez J, Balbuena-Álvarez S, Nava de la Vega A, Pérez-Guzmán CM, Gómez-Sámano MÁ, Enriquez-Estrada V, Gómez-Pérez FJ, Cuevas-Ramos D. Diabetes, Active Disease, and Afternoon Serum Cortisol Levels Predict Cushing's Disease Mortality: A Cohort Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2021 Jan 1;106(1):e103-e111.















7: Wilkinson SM. Corticosteroid cross-reactions: an alternative view. *Contact Dermatitis*. 2000 Feb;42(2):59-63.

8: Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.

9: Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline—Third Edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.

10: Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP6-A. Wayne, PA; 2003.

11: Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Second Edition. CLSI document EP7-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA; 2005.

	Fecha de vencimiento		Número de lote
	Almacenar entre 2 y 8 °C		Suero Control
	Precaución		Calibrador
	Peligro biológico		Tubos recubiertos
	Consulte las instrucciones		Trazador
	Dispositivo para diagnóstico <i>in vitro</i>		Antisuero
	Fabricante		Material radiactivo
REF	Número de referencia		

CE

Sitio WEB: <http://www.izotop.hu>

E-mail técnico: immuno@izotop.hu

E-mail comercial: commerce@izotop.hu



INSTITUTE OF ISOTOPES Ltd.

1535 Budapest. Pf.: 851.

Tel.: +36 1 392-2577, Fax: +36 1 395-9247

Edición: Julio/2025