



# Cortisol Elisa

***KAPDB270***



DIAsource ImmunoAssays S.A. - Rue du Bosquet, 2 - B-1348 Louvain-la-Neuve - Belgium

---

Version: 230901

# History

---

## Summary of change :

Previous Version :	Current Version :
230629	230901
<b>RECOVERY</b> Recovery % value for S3 +10 µg/dL (1:1) = 90.8 µg/dL	<b>RECOVERY</b> Recovery % value for S3 +10 µg/dL (1:1) = 89.9 µg/dL



# Cortisol Elisa

en

For the direct quantitative determination of Cortisol by enzyme immunoassay in human serum.

## KAPDB270 IN VITRO DIAGNOSTIC

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium - Tel: +32 10 84 99 11 - Fax : +32 10 84 99 90

### INTENDED USE

For the quantitative measurement of Cortisol in human serum by an ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay).

This kit is intended for professional use only and is for laboratory use only. For in vitro diagnostic use only. Intended to be used manually but may be adaptable to open automated analyzers. The user is responsible for validating the performance of this kit with any automated analyzers.

### PRINCIPLE OF THE TEST

The Cortisol ELISA is a competitive immunoassay. Competition occurs between cortisol present in calibrators, controls, patient samples and an enzyme-labelled antigen (HRP conjugate) for a limited number of anti-cortisol antibody binding sites on the microplate wells. After a washing step that removes unbound materials, the TMB substrate (enzyme substrate) is added which reacts with HRP to form a blue-coloured product that is inversely proportional to the amount of cortisol present. Following an incubation, the enzymatic reaction is terminated by the addition of the stopping solution, converting the colour from blue to yellow. The absorbance is measured on a microplate reader at 450 nm. A set of calibrators is used to plot a calibrator curve from which the amount of cortisol in patient samples and controls can be directly read.

### CLINICAL APPLICATIONS

Cortisol is the most abundant circulating steroid and the major glucocorticoid secreted by the adrenal cortex. Cortisol is physiologically effective in blood pressure maintenance and anti-inflammatory activity. It is also involved in calcium absorption, gluconeogenesis as well as the secretion of gastric acid and pepsin. Measurement of blood cortisol levels can be used as an indicator of adrenal function and the differential diagnosis of Addison's and Cushing's diseases as well as adrenal hyperplasia.

Most circulating cortisol is bound to cortisol binding globulin or transcortin. Cortisol in blood shows a diurnal rhythm with the highest levels in the morning and the lowest levels at night.

### PROCEDURAL CAUTIONS AND WARNINGS

1. This kit is for use by trained laboratory personnel (professional use only). For laboratory *in vitro* use only.
2. Practice good laboratory practices when handling kit reagents and specimens. This includes:
  - Do not pipette by mouth.
  - Do not smoke, drink, or eat in areas where specimens or kit reagents are handled.
  - Wear protective clothing and disposable gloves.
  - Wash hands thoroughly after performing the test.
  - Avoid contact with eyes; use safety glasses; in case of contact with eyes, flush eyes with water immediately and contact a doctor.
3. Users should have a thorough understanding of this protocol for the successful use of this kit. Reliable performance will only be attained by strict and careful adherence to the instructions provided.
4. Do not use the kit beyond the expiry date stated on the label.
5. If the kit reagents are visibly damaged, do not use the test kit.
6. Do not use kit components from different kit lots within a test and do not use any component beyond the expiration date printed on the label.
7. All kit reagents and specimens must be brought to room temperature and mixed gently but thoroughly before use. Avoid repeated freezing and thawing of specimens.
8. When the use of water is specified for dilution or reconstitution, use deionized or distilled water.
9. Immediately after use, each individual component of the kit must be returned to the recommended storage temperature stated on the label.
10. A calibrator curve must be established for every run.
11. It is recommended to all customers to prepare their own control materials or serum pools which should be included in every run at a high and low level for assessing the reliability of results.
12. The controls (included in kit) must be included in every run and their results must fall within the ranges stated in the quality control certificate; a failed control result might indicate improper procedural techniques or pipetting, incomplete washing, or improper reagent storage.
13. When dispensing the substrate and stopping solutions, do not use pipettes in

which these liquids will come into contact with any metal parts.

14. The TMB Substrate is sensitive to light and should remain colourless if properly stored. Instability or contamination may be indicated by the development of a blue colour, in which case it should not be used.
15. Do not use grossly hemolyzed, grossly lipemic, icteric or improperly stored serum.
16. Samples or controls containing azide or thimerosal are not compatible with this kit, they may lead to false results.
17. Samples values above the measuring range of the kit may be reported as >40 µg/dL. If further dilution and retesting is required, only calibrator 0 may be used to dilute serum samples. The use of any other reagent may lead to false results.
18. Avoid microbial contamination of reagents.
19. To prevent the contamination of reagents, use a new disposable pipette tip for dispensing each reagent, sample, calibrator, and control.
20. To prevent the contamination of reagents, do not pour reagents back into the original containers.
21. Kit reagents must be regarded as hazardous waste and disposed of according to local and/or national regulations.
22. Consumables used with the kit that are potentially biohazardous (e.g., pipette tips, bottles or containers containing human materials) must be handled according to biosafety practices to minimize the risk of infection and disposed of according to local and/or national regulations relating to biohazardous waste.
23. This kit contains 1 M sulfuric acid in the stopping solution component. Do not combine acid with waste material containing sodium azide or sodium hypochlorite.
24. The use of safety glasses, and disposable plastic, is strongly recommended when manipulating biohazardous or bio-contaminated solutions.
25. Proper calibration of the equipment used with the test, such as the pipettes and absorbance microplate reader, is required.
26. If a microplate shaker is required for the assay procedure, the type and speed of shaker required is stated in the REAGENTS AND EQUIPMENT NEEDED BUT NOT PROVIDED section. Both the type and speed of shaker used can influence the optical densities and test results. If a different type of shaker and/or speed is used, the user is responsible for validating the performance of the kit.
27. Do not reuse the microplate wells, they are for SINGLE USE only.
28. To avoid condensation within the microplate wells in humid environments, do not open the pouch containing the microplate until it has reached room temperature.
29. When reading the microplate, the presence of bubbles in the wells will affect the optical densities (ODs). Carefully remove any bubbles before performing the reading step.
30. Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the competent authority of the European Member State in which the user and/or the patient is established.

### LIMITATIONS

1. This test is not intended to be used for screening purposes.
2. This test is not intended for home testing or self-testing.
3. The kit is calibrated for the determination of cortisol in human serum. The kit is not calibrated for the determination of cortisol in other specimens of human or animal origin.
4. There is an observed cross-reactivity of 16.3% with prednisone and 21.6% with prednisolone. Since prednisone is converted to prednisolone *in vivo*, caution must be exercised when assaying the cortisol levels of patients undergoing either therapy. Under the advice of a physician, prednisolone should be stopped 24 hours before performing a cortisol serum test to ensure no interference with the cortisol assay.
5. The results obtained with this kit shall never be used as the sole basis for a clinical diagnosis and for therapeutic decisions.
6. Although common interfering substances have been evaluated with this test, other substances that have not been evaluated such as drugs and the occurrence of heterophilic antibodies in patients regularly exposed to animals or animal products have the potential of causing interferences.

## SAFETY CAUTIONS AND WARNINGS

### POTENTIAL BIOHAZARDOUS MATERIAL

The reagents should be considered a potential biohazard and handled with the same precautions applied to blood specimens. All human specimens should be considered a potential biohazard and handled as if capable of transmitting infections and in accordance with good laboratory practices.

The calibrators and controls provided with the kit contain processed human serum/plasma that has been tested by approved methods and found to be negative for the presence of HBsAg and antibodies to HCV, HIV 1/2 and HIV NAT. However, no test method can offer complete assurance that any viable pathogens are absent. Therefore, these components should be considered a potential biohazard and handled with the same precautions as applied to any blood specimen, following good laboratory practices.

### CHEMICAL HAZARDS

Avoid direct contact with any of the kit reagents. Specifically avoid contact with the TMB Substrate (contains tetramethylbenzidine) and Stopping Solution (contains sulfuric acid). If contacted with any of these reagents, wash with plenty of water and refer to SDS for additional information.

### SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

Approximately 0.1 mL of serum is required per duplicate determination. Collect 4–5 mL of venous blood into an appropriately labelled tube and allow it to clot. Centrifuge at room temperature and carefully transfer the serum into a new storage tube or container. Serum samples may be stored at room temperature for up to 24 hours, 2–8°C for up to 5 days or at -20°C or lower for up to 30 days. Specimens may be more stable than indicated. Consider all human specimens as possible biohazardous materials and take appropriate precautions when handling.

### SERUM PRETREATMENT

Specimen pre-treatment is not required.

### REAGENTS AND EQUIPMENT NEEDED BUT NOT PROVIDED

- Calibrated single-channel pipette to dispense 20 µL.
- Calibrated multi-channel pipettes to dispense 50 µL and 150 µL.
- Calibrated multi-channel pipettes to dispense 350 µL (if washing manually).
- Automatic microplate washer (recommended).
- Disposable pipette tips.
- Distilled or deionized water.
- Calibrated absorbance microplate reader with a 450 nm filter and an upper OD limit of 3.0 or greater.

### REAGENTS PROVIDED

#### Rabbit Anti-Cortisol Antibody Coated Microwell Plate-Break Apart Wells - Ready To Use.

Contents: One 96 well (12x8) polyclonal antibody-coated microwell plate in a resealable pouch with desiccant.

Storage: Refrigerate at 2–8°C.

Stability: Unopened: Stable until the expiry date printed on the label.

After Opening: Stable for four weeks

#### Cortisol-Horseradish Peroxidase (HRP) Conjugate

Contents: One bottle containing Cortisol-Horse Radish Peroxidase (HRP) conjugate in a protein-based buffer with a non-mercury preservative

Volume: 20 mL/bottle

Storage: Refrigerate at 2–8°C

Stability: Unopened: Stable until the expiry date printed on the label.

After Opening: Stable for four weeks

#### Cortisol Calibrators - Ready To Use. N = 0 to 5

Contents: Six bottles of calibrator containing specified cortisol concentrations. Human serum-based matrix with a non-mercury preservative. Prepared by spiking matrix with defined quantities of cortisol.

\*Listed are approximate concentrations, please refer to vial labels for exact concentrations.

Calibrator	Concentration	Volume/Vial
Calibrator 0	0 µg/dl	1.0 mL
Calibrator 1	0.4 µg/dl	1.0 mL
Calibrator 2	1 µg/dl	1.0 mL
Calibrator 3	4 µg/dl	1.0 mL
Calibrator 4	10 µg/dl	1.0 mL
Calibrator 5	40 µg/dl	1.0 mL

Storage: Refrigerate at 2–8°C

Stability: Unopened: Stable until the expiry date printed on the label.

After Opening: Stable for four weeks.

#### CONTROL

#### Controls - Ready To Use.

Contents: Two bottles of control containing different cortisol concentrations. Human serum-based matrix with a non-mercury preservative. Prepared by spiking matrix with defined quantities of cortisol.

Refer to the QC certificate for the target values and acceptable ranges.

Volume: 1.0 mL/vial

Storage: Refrigerate at 2–8°C

Stability: Unopened: Stable until the expiry date printed on the label.

After Opening: Stable for four weeks.

#### WASH

#### SOLN

#### CONC

#### Wash Buffer Concentrate -

Contents: One bottle containing buffer with a non-ionic detergent and a non-mercury preservative.

Volume: 50 mL/bottle

Storage: Refrigerate at 2–8°C

Stability: Unopened: Stable until the expiry date printed on the label.

After Opening: Stable for four weeks.

Following Preparation: The wash buffer working solution is stable for 2 weeks following preparation, assuming Good Laboratory Practices are adhered to. To prevent microbial growth, prepare the wash buffer working solution in a clean container and store under refrigerated conditions (2–8°C) when not in use.

Preparation: Dilute 1:10 in distilled or deionized water before use. If the whole microplate is to be used dilute 50 mL of the wash buffer concentrate in 450 mL of distilled or deionized water.

#### CHROM

#### TMB

#### TMB Substrate - Ready To Use.

Contents: One bottle containing tetramethylbenzidine and hydrogen peroxide in a non-DMF or DMSO containing buffer.

Volume: 16 mL/bottle

Storage: Refrigerate at 2–8°C

Stability: Unopened: Stable until the expiry date printed on the label.

After Opening: Stable for four weeks

#### STOP

#### SOLN

#### Stopping Solution - Ready To Use.

Contents: One bottle containing 1M sulfuric acid.

Volume: 6 mL/vial

Storage: Refrigerate at 2–8°C

Stability: Unopened: Stable until the expiry date printed on the label.

After Opening: Stable for four weeks



Safety: Refer to product SDS.

## ASSAY PROCEDURE

#### Specimen Pre-Treatment: None

All kit components, controls and specimen samples must reach room temperature prior to use. Calibrators, controls, and specimen samples should be assayed in duplicate. Once the procedure has been started, all steps should be completed without interruption.

- After all kit components have reached room temperature, mix gently by inversion.
- Prepare the Wash Buffer Working Solution (See section Reagents Provided, Wash Buffer Concentrate).
- Plan the microplate wells to be used for calibrators, controls, and samples. Remove the strips from the microplate frame that will not be used and place them in the bag with desiccant. Reseal the bag with the unused strips and return it to the refrigerator.
- Pipette 20 µL of each calibrator, control, and specimen sample into assigned wells.
- Pipette 150 µL of the HRP Conjugate into each well (the use of a multi-channel pipette is recommended).
- Gently tap the microplate frame for 10 seconds to mix the contents of the wells and incubate the microplate at room temperature (no shaking) for 45 minutes.
- Wash the microplate wells with an automatic microplate washer (preferred) or manually as stated below.

**Automatic:** Using an automatic microplate washer, perform a **3-cycle** wash using **350 µL/well** of Wash Buffer Working Solution ( $3 \times 350 \mu\text{L}$ ). One cycle consists of aspirating all wells then filling each well with **350 µL** of Wash Buffer Working Solution. After the final wash cycle, aspirate all wells and then tap the microplate firmly against absorbent paper to remove any residual liquid.

**Manually:** For manual washing, perform a **3-cycle** wash using **350 µL/well** of Wash Buffer Working Solution ( $3 \times 350 \mu\text{L}$ ).

One cycle consists of aspirating all wells by briskly emptying the contents of the wells over a waste container, then pipetting **350 µL** of Wash Buffer Working Solution into each well using a multi-channel pipette. After the final wash cycle, aspirate all wells by briskly emptying the contents over a waste container and then tap the microplate firmly against absorbent paper to remove any residual liquid.

8. **Pipette 150 µL** of TMB Substrate into each well (the use of a multi-channel pipette is recommended).
9. Gently tap the microplate frame for 10 seconds to mix the contents of the wells and **incubate** the microplate at room temperature (no shaking) for **15 minutes**.
10. **Pipette 50 µL** of Stopping Solution into each well (the use of a multi-channel pipette is recommended) in the same order and speed as was used for addition of the TMB Substrate. Gently tap the microplate frame to mix the contents of the wells.
11. **Measure** the optical density (absorbance) in the microplate wells using an absorbance microplate reader set to **450 nm**, within 20 minutes after addition of the Stopping Solution.

## CALCULATIONS

1. Calculate the mean optical density for each calibrator, control and specimen sample duplicate.
2. Use a 4-parameter or 5-parameter curve fit with immunoassay software to generate a calibrator curve.
3. The immunoassay software will calculate the concentrations of the controls and specimen samples using the mean optical density values and the calibrator curve.
4. If a sample reads more than **40 µg/dL** and needs to be diluted and retested, dilute it with calibrator 0 not more than 1:10. The result obtained must be multiplied by the dilution factor.

## QUALITY CONTROL

When assessing the validity of the test results, the following criteria should be evaluated:

1. The calibrator 0 mean optical density meets the acceptable range as stated in the QC Certificate.
2. The calibrator with the highest concentration meets the % binding acceptable range as stated in the QC Certificate. % Binding =  $(\text{OD of calibrator}/\text{OD of calibrator } 0) \times 100$ .
3. The values obtained for the kit controls are within the acceptable ranges as stated in the QC certificate.
4. The results of any external controls that were used meet the acceptable ranges.

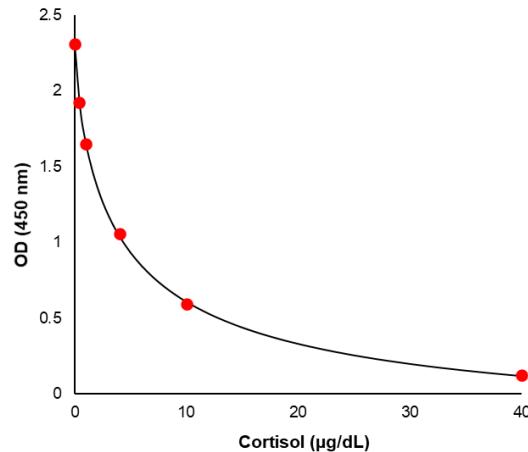
## TYPICAL TABULATED DATA

Sample data only. Do not use to calculate results.

Calibrator	Mean OD (450 nm)	% Binding	Value (µg/dL)
Calibrator 0	2.307	100	0
Calibrator 1	1.926	84	0.4
Calibrator 2	1.651	72	1
Calibrator 3	1.056	46	4
Calibrator 4	0.593	26	10
Calibrator 5	0.123	5	40
Unknown	0.738	-	7.5

## TYPICAL CALIBRATION CURVE

Sample curve only. Do not use to calculate results.



## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### SENSITIVITY

The analytical sensitivity study was performed according to the CLSI EP17-A2 guideline. The Limit of Background (LoB), Limit of Detection (LoD) and Limit of Quantitation (LoQ) are summarized in the table below

Parameter	Cortisol (µg/dL)
LoB	0.143
LoD	0.298
LoQ	0.300

### SPECIFICITY (CROSS REACTIVITY)

The following compounds were tested for cross-reactivity with cortisol cross-reacting at 100%. ND=Not detected.

Compound	% Cross-Reactivity
Cortisol	100
11-Deoxycorticosterone	3.8
11-Deoxycortisol	8.7
17-OH-progesterone	10.2
21-Deoxycortisol	ND
Aldosterone	0.8
Allopregnanolone	2.0
Androstenedione	1.0
Androsterone	ND
Corticosterone	14.2
Cortisone	8.8
Dehydroepiandrosterone	ND
DHEAS	ND
Dihydrotestosterone	ND
Estradiol	ND
Estriol	ND
Estrone	ND
Prednisolone	21.6
Prednisone	16.3
Pregnenolone	0.5
Testosterone	3.3

### INTERFERENCES

An interference study was performed according to the CLSI EP07 guideline. No significant interference was observed for concentrations of up to **2 g/L** haemoglobin, **20 mg/dL** Bilirubin (conjugated and unconjugated), **5.0 mg/mL** triglycerides, **1.2 µg/mL** HAMAS, **2.4 µg/mL** Biotin and **1500 IU/mL** Rheumatoid Factor.

### PRECISION

The precision study was performed according to the CLSI EP5-A3 guideline. The experimental protocol used a nested components-of-variance design with 8 serum samples, 10 testing days, two lots and two scientists per day. Each scientist ran two tests with two lots per day and two replicate measurements per run (a  $10 \times 2 \times 2 \times 2$  design) for each sample. The results were analyzed with a two-way nested ANOVA and summarized in the table below.

Sample	Mean ( $\mu\text{g/dL}$ )	Within Run SD ( $\mu\text{g/dL}$ )	Within Run CV%	Between Run SD ( $\mu\text{g/dL}$ )	Between Run CV%	Total SD ( $\mu\text{g/dL}$ )	Total CV%
1	3.520	0.097	2.7	0.188	5.3%	0.220	6.3
2	12.640	0.206	1.6	0.389	3.1%	0.440	3.5
3	32.347	0.349	1.1	0.551	1.7%	0.652	2.0
4	0.829	0.072	8.7	0.079	9.5%	0.107	12.8
5	15.358	0.341	2.2	0.350	2.3%	0.502	3.3
6	32.274	0.493	1.5	0.546	1.7%	0.736	2.3
7	9.461	0.179	1.9	0.295	3.1%	0.361	3.8
8	4.568	0.208	4.5	0.162	3.5%	0.274	6.0

## RECOVERY

Spiked samples were prepared by adding defined amounts of cortisol (2, 10 and 30  $\mu\text{g/dL}$ ) in a human serum matrix to three human serum samples (1:1 volume). The results (in  $\mu\text{g/dL}$ ) are tabulated below:

Sample	Observed Result	Expected Result	Recovery %
S1 Unspiked	12.374	-	-
+2 $\mu\text{g/dL}$ (1:1)	7.125	7.187	99.1
+10 $\mu\text{g/dL}$ (1:1)	10.941	11.187	97.8
+30 $\mu\text{g/dL}$ (1:1)	22.519	21.187	106.3
S2 Unspiked	10.44	-	-
+2 $\mu\text{g/dL}$ (1:1)	6.571	6.22	105.6
+10 $\mu\text{g/dL}$ (1:1)	9.689	10.22	94.8
+30 $\mu\text{g/dL}$ (1:1)	20.155	20.22	99.7
S3 Unspiked	8.488	-	-
+2 $\mu\text{g/dL}$ (1:1)	5.845	5.244	111.5
+10 $\mu\text{g/dL}$ (1:1)	8.308	9.244	89.9
+ 30 $\mu\text{g/dL}$ (1:1)	18.47	19.244	96.0

## LINEARITY

The linearity study was according to the CLSI EP06-A guideline using three human serum samples covering the range of the assay.

The samples were diluted in calibrator 0 at several equidistant concentration levels and up to a 1:10 dilution. Samples were tested in duplicate, and the regression equation of the results ( $y$ ) compared to the concentration ( $x$ ) predicted from the dilution factor was:  $y = 0.98x + 0.17$ ,  $r = 0.99$ .

The relative non-linearity was  $\leq 4.8\%$  at a dilution ratio up to 1:10 for all samples. The statistical analysis demonstrates that the assay is sufficiently linear throughout the dynamic range of the kit.

## COMPARATIVE STUDIES

The DiaSource Cortisol ELISA kit ( $y$ ) was compared to a competitor's commercial Cortisol ELISA kit ( $x$ ). The comparison of 71 human serum samples yielded the following linear regression results:  $y = 1.17x - 0.73$ ,  $r = 0.99$

## REFERENCE RANGES

Reference ranges (95%) were estimated using male and female human serum samples collected during the AM and PM. Samples were obtained from adult individuals of diverse races. Results are summarized below.

Each laboratory shall establish their own reference ranges.

Group	N	Median ( $\mu\text{g/dL}$ )	95% Confidence Range ( $\mu\text{g/dL}$ )
AM Collection	52	11.46	4.94 -18.32
PM Collection	52	6.82	3.23 -13.82

## LITERATURE

- D. Kumar, H. Singh and T. G. Shrivastav. Homologous ELISA for Detection of Prednisolone in Human Serum. Food and Agricultural Immunology 2018; 29(1): 369-385.
- T. Bashar, M. Pharm, M. N. H. Apu et al. Pharmacokinetics and Bioavailability Study of a Prednisolone Tablet as a Single Oral Dose in Bangladeshi Healthy Volunteers. Dose-Response: An International Journal. First Published July 25, 2018, <https://doi.org/10.1177/1559325818783932>.
- J. Brossaud, P. Barat, D. Gualde et al. Cross reactions elicited by serum 17-OH progesterone and 11-desoxycortisol in cortisol assays. Clinica Chimica Acta 2009; 407: 72-74.
- A. R. Genazzani, F. Petraglia, F. Bernardi et al. Circulating Levels of Allopregnanolone in Humans: Gender, Age, and Endocrine Influences. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1998; 83(6): 2099-2103.
- Aardal E, Holm, AC. Cortisol in saliva – Reference ranges in relation to cortisol in serum. Eur J Clin Chem Clin Biochem. 1995; 33(12):927–32.
- Vining RF, McGinley RA. The measurement of hormones in saliva:

- possibilities and pitfalls. J Steroid Biochem. 1987; 27:81–94.
- Rose JQ, Yurchak AM, Jusko JW. Dose dependent pharmacokinetics of prednisone and prednisolone in man. J Pharmacokinet Biopharm. 1981; 9:389–417.
- W. G. Sippell, H. G. Dorr, F. Bidlingmaier et al. Plasma levels of Aldosterone, Corticosterone, 11-Deoxycorticosterone, Progesterone, 17-Hydroxyprogesterone, Cortisol, and Cortisone During Infancy and Childhood. Pediat. Res. 1980; 14: 39-46.
- M. E. Pickup Clinical Pharmacokinetics of Prednisone and Prednisolone. Clinical Pharmacokinetics 1979; 4: 111-128.
- J. J. Pratt, M. G. Woldring, Ria Boonman et al. Specificity of Immunoassays. European Journal of Nuclear Medicine 1979; 4:159-170.
- Morris R. A Simple and Economical Method for the Radioimmunoassay of Cortisol in Serum. Ann Clin Biochem. 1978; 15(3):178–83.

Revision date : 2023-09-01

Other translations of this Instructions for Use can be downloaded from our website: <https://www.diasource-diagnostics.com/>



# Cortisol Elisa

es

Para la determination cuantitativa directa de cortisol con un immunoensayo enzimático en suero humano.

## KAPDB270 DIAGNOSTICO IN VITRO

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Bélgica - Tel: +32 10 84 99 11 - Fax : +32 10 84 99 90

### USO PREVISTO

Para la medición cuantitativa de cortisol en suero humano mediante ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas).

Este kit está diseñado solo para uso profesional y solo para uso en laboratorio. Sólo para uso de diagnóstico in vitro. Diseñado para usarse manualmente, pero puede adaptarse a analizadores automatizados abiertos. El usuario es responsable de validar el rendimiento de este kit con cualquier analizador automático.

### PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El Cortisol ELISA es un inmunoensayo competitivo. La competencia se produce entre el cortisol presente en los calibradores, controles, muestras de pacientes y un antígeno marcado con enzima (conjugado de HRP) por un número limitado de sitios de unión de anticuerpos anticortisol en los pocillos de la microplaca. Después de un paso de lavado que elimina los materiales no unidos, se agrega el sustrato TMB (sustrato enzimático) que reacciona con HRP para formar un producto de color azul que es inversamente proporcional a la cantidad de cortisol presente. Después de una incubación, la reacción enzimática termina con la adición de la solución de parada, convirtiendo el color azul en amarillo. La absorbancia se mide en un lector de microplacas a 450 nm. Se utiliza un conjunto de calibradores para trazar una curva de calibrador a partir de la cual se puede leer directamente la cantidad de cortisol en muestras de pacientes y controles.

### APLICACIONES CLÍNICAS

El cortisol es el esteroide circulante más abundante y el principal glucocorticoide secretado por la corteza suprarrenal. El cortisol es fisiológicamente eficaz en el mantenimiento de la presión arterial y la actividad antiinflamatoria. También participa en la absorción de calcio, la gluconeogénesis y la secreción de ácido gástrico y pepsina.

La medición de los niveles de cortisol en sangre se puede utilizar como indicador de la función suprarrenal y el diagnóstico diferencial de las enfermedades de Addison y Cushing, así como de la hiperplasia suprarrenal.

La mayor parte del cortisol circulante se une a la globulina transportadora de cortisol o transcortina. El cortisol en sangre muestra un ritmo diurno con los niveles más altos por la mañana y los niveles más bajos por la noche.

### PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS SOBRE EL PROCEDIMIENTO

1. Este kit es para ser usado por personal capacitado del laboratorio (solo para uso profesional). Solo para uso in vitro en laboratorio.
2. Siga siempre buenas prácticas de laboratorio al manipular los reactivos y las muestras del kit. Esto incluye:
  - No pipetear con la boca.
  - No fume, beba ni coma en áreas donde se manipulan muestras o reactivos del kit.
  - Use ropa protectora y guantes desechables.
  - Lávese bien las manos después de realizar la prueba.
  - Evite contacto visual. Use gafas de seguridad. En caso de contacto con los ojos, enjuáguelos inmediatamente con agua y consulte a un médico.
  - 3. Los usuarios deben tener un conocimiento completo de este protocolo para el uso exitoso de este kit. Solo se logrará un rendimiento fiable mediante el cumplimiento estricto y cuidadoso de las instrucciones proporcionadas.
  - 4. No utilice el kit más allá de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
  - 5. Si los reactivos del kit están visiblemente dañados, no utilice el kit de prueba.
  - 6. No use componentes del kit de diferentes lotes dentro de una prueba y no use ningún componente más allá de la fecha de vencimiento impresa en la etiqueta.
  - 7. Todos los reactivos del kit y las muestras deben llevarse a temperatura ambiente y mezclarse suave pero completamente antes de su uso. Evite congelar y descongelar repetidamente las muestras.
  - 8. Cuando se especifique el uso de agua para dilución o reconstitución, use agua desionizada o destilada.
  - 9. Inmediatamente después de su uso, cada componente individual del kit debe devolverse a la temperatura de almacenamiento recomendada que se indica en la etiqueta.
  - 10. Se debe establecer una curva de calibración para cada ejecución.
  - 11. Se recomienda a todos los clientes que准备 sus propios materiales de control o mezclas de suero que deben incluirse en cada ejecución a un nivel alto y bajo para evaluar la confiabilidad de los resultados.
  - 12. Los controles (incluidos en el kit) deben utilizarse en cada ejecución y sus resultados deben estar dentro de los rangos establecidos en el certificado de control de calidad; un resultado de control fallido puede indicar técnicas de

procedimiento o pipeteo inadecuadas, lavado incompleto o almacenamiento inadecuado de los reactivos.

13. Al dispensar el sustrato y las soluciones de parada, no utilice pipetas en las que estos líquidos entren en contacto con piezas metálicas.
14. El sustrato TMB es sensible a la luz y debe permanecer incoloro si se almacena correctamente. La inestabilidad o la contaminación pueden indicarse por el desarrollo de un color azul, en cuyo caso no se debe utilizar.
15. No utilice suero muy hemolizado, muy lipémico, icterico o mal almacenado.
16. Las muestras o controles que contengan azida o timerosal no son compatibles con este kit, pueden dar lugar a resultados falsos.
17. Los valores de las muestras por encima del rango de medición del kit pueden informarse como >40 ng/mL. Si se requiere una mayor dilución y una nueva prueba, solo se puede usar el calibrador 0 para diluir las muestras de suero. El uso de cualquier otro reactivo puede dar lugar a resultados falsos.
18. Evite la contaminación microbiana de los reactivos.
19. Para evitar la contaminación de los reactivos, utilice una punta de pipeta desechable nueva para dispensar cada reactivo, muestra, calibrador y control.
20. Para evitar la contaminación de los reactivos, no vuelva a verter los reactivos en los recipientes originales.
21. Los reactivos del kit deben considerarse desechos peligrosos y desecharse de acuerdo con las reglamentaciones locales y/o nacionales.
22. Los consumibles utilizados con el kit que son potencialmente biopeligrosos (p. ej., puntas de pipeta, botellas o recipientes que contienen materiales humanos) deben manipularse de acuerdo con las prácticas de bioseguridad para minimizar el riesgo de infección y desecharse de acuerdo con las reglamentaciones locales y/o nacionales relacionadas con residuos biopeligrosos.
23. Este kit contiene ácido sulfúrico 1 M en el componente de solución de parada. No combine ácido con material de desecho que contenga azida de sodio o hipoclorito de sodio.
24. Se recomienda encarecidamente el uso de gafas de seguridad y plástico desechable al manipular soluciones biopeligrosas o biocontaminadas.
25. Se requiere una calibración adecuada del equipo utilizado con la prueba, como las pipetas y el lector de microplacas de absorbancia.
26. Si se requiere un agitador de microplacas para el procedimiento de ensayo, el tipo y la velocidad del agitador requerido se indican en la sección REACTIVOS Y EQUIPO NECESARIO, PERO NO SUMINISTRADO. Tanto el tipo como la velocidad del agitador utilizado pueden influir en las densidades ópticas y los resultados de las pruebas. Si se utiliza un tipo de agitador y/o velocidad diferente, el usuario es responsable de validar el rendimiento del kit.
27. No reutilice los pocillos de la microplaca, son de UN SOLO USO.
28. Para evitar la condensación dentro de los pocillos de la microplaca en entornos húmedos, no abra la bolsa que contiene la microplaca hasta que alcance la temperatura ambiente.
29. Al leer la microplaca, la presencia de burbujas en los pozos afectará las densidades ópticas (DO). Retire con cuidado las burbujas antes de realizar el paso de lectura.
30. Cualquier incidencia grave que se haya producido en relación con el producto deberá ser comunicada al fabricante ya la autoridad competente del Estado miembro europeo en el que esté establecido el usuario y/o el paciente.

### LIMITACIONES

1. Esta prueba no está destinada a ser utilizada con fines de detección.
2. Esta prueba no está diseñada para realizar pruebas en el hogar ni para autoevaluarse.
3. El kit está calibrado para la determinación de cortisol en suero humano. El kit no está calibrado para la determinación de cortisol en otras muestras de origen humano o animal.
4. Se observa una reactividad cruzada del 16,3 % con prednisona y del 21,6 % con prednisolona. Dado que la prednisona se convierte en prednisolona in vivo, se debe tener precaución al analizar los niveles de cortisol de los pacientes que se someten a cualquiera de las terapias. Bajo el consejo de un médico, la prednisolona debe suspenderse 24 horas antes de realizar una prueba de cortisol en suero para garantizar que no interfiera con el análisis de cortisol.
5. Los resultados obtenidos con este kit nunca se utilizarán como única base para un diagnóstico clínico y para decisiones terapéuticas.
6. Aunque se han evaluado sustancias de interferencia comunes con esta prueba, otras sustancias que no se han evaluado, como medicamentos y la aparición de anticuerpos heterófilos en pacientes expuestos regularmente a animales o productos de origen animal, tienen el potencial de causar interferencias.

## PRECAUCIONES DE SEGURIDAD Y ADVERTENCIAS SOBRE MATERIAL POTENCIALMENTE BIOPELIGROSO

Los reactivos deben considerarse un riesgo biológico potencial y manipularse con las mismas precauciones que se aplican a las muestras de sangre. Todas las muestras humanas deben considerarse un riesgo biológico potencial y manipularse como si fueran capaces de transmitir infecciones y de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio.

Los calibradores y controles provistos con el kit contienen suero/plasma humano procesado que ha sido analizado mediante métodos aprobados y resultó negativo para la presencia de HBsAg y anticuerpos contra el VHC, VIH 1/2 y VIH NAT. Sin embargo, ningún método de prueba puede ofrecer una seguridad completa de que no haya ningún patógeno viable. Por lo tanto, estos componentes deben considerarse un riesgo biológico potencial y manipularse con las mismas precauciones que se aplican a cualquier muestra de sangre, siguiendo las buenas prácticas de laboratorio.

## PELIGROS QUÍMICOS

Evite el contacto directo con cualquiera de los reactivos del kit. Evite específicamente el contacto con el sustrato TMB (contiene tetrametilbencidina) y la solución de parada (contiene ácido sulfúrico). Si entra en contacto con alguno de estos reactivos, lave con abundante agua y consulte la SDS para obtener información adicional.

## TOMA DE MUESTRA Y ALMACENAJE

Se requieren aproximadamente 0,1 ml de suero por determinación por duplicado. Recoja de 4 a 5 ml de sangre venosa en un tubo debidamente etiquetado y deje que se coagule. Centrifugue a temperatura ambiente y transfiera con cuidado el suero a un nuevo tubo o recipiente de almacenamiento. Las muestras de suero se pueden almacenar a temperatura ambiente durante un máximo de 24 horas, entre 2 y 8 °C durante un máximo de 5 días o a -20 °C o menos durante un máximo de 30 días.

Las muestras pueden ser más estables de lo indicado.

Considere todos los especímenes humanos como posibles materiales biopeligrosos y tome las precauciones adecuadas al manipularlos.

## TRATAMIENTO PREVIO DEL SUERO

Este ensayo es un sistema directo; no es necesario el tratamiento previo de la muestra.

## REACTIVOS Y EQUIPO NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO

1. Pipeta mono canal calibrada para dispensar 20 µL.
2. Pipetas multicanal calibradas para dispensar 50 µL y 150
3. Pipetas multicanal calibradas para dispensar 350 µL (si se lava manualmente).
4. Lavador automático de microplacas (recomendado).
5. Puntas de pipeta desechables.
6. Agua destilada o desionizada.
7. Lector de microplacas de absorbancia calibrado con un filtro de 450 nm y un límite superior de OD de 3,0 o superior.

## REACTIVOS SUMINISTRADOS

### Microplaques - Lista para usar

Contenido: Una microplaca de 96 pocillos (12x8) recubierta con anticuerpo polyclonal anti cortisol en una bolsa resellable con desecante

Almacenaje: 2-8°C

Estabilidad: Sin abrir: Estable hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta.

Después de la apertura: Estable durante cuatro semanas

Ag HRP

### HRP Conjugado- Lista para usar

Contenido Una botella que contiene conjugado de cortisol-peroxidasa de rábano picante (HRP) en un tampón a base de proteínas con un conservante sin mercurio

Volumen : 20 ml/botella

Almacenaje: 2-8°C

Estabilidad: Sin abrir: Estable hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. Después de la apertura: Estable durante cuatro semanas..

CAL N

### Calibradores - Lista para usar N = 0 to 5

Contenido: Seis botellas de calibrador que contienen concentraciones específicas de cortisol. Matriz a base de suero humano con un conservante sin mercurio. Preparado enriqueciendo la matriz con cantidades definidas de cortisol. A continuación se enumeran las concentraciones aproximadas; consulte las etiquetas de los viales para conocer las concentraciones exactas.

Concentraciones: 0, 0,4, 1, 4, 10, 40 µg/dL

Calibrador	Concentraciones	Volumen/botella
Calibrador 0	0 µg/dL	1.0 mL
Calibrador 1	0.4 µg/dL	1.0 mL
Calibrador 2	1 µg/dL	1.0 mL
Calibrador 3	4 µg/dL	1.0 mL
Calibrador 4	10 µg/dL	1.0 mL
Calibrador 5	40 µg/dL	1.0 mL

Almacenaje: 2-8°C

Estabilidad: Sin abrir: Estable hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta.

Después de la apertura: Estable durante cuatro semanas..

**CONTROL**

### Controles - Listos para usar

Contenido: Dos frascos de control que contienen diferentes concentraciones de cortisol. Matriz a base de suero humano con un conservante sin mercurio. Preparado enriqueciendo la matriz con cantidades definidas de cortisol.

Consulte el certificado de control de calidad para conocer los valores objetivo y los rangos aceptables.

Volumen: 1.0 mL/frasco

Almacenaje: 2-8°C

Estabilidad: Sin abrir: Estable hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta.

Después de la apertura: Estable durante cuatro semanas.

WASH SOLN CONC

### Buffer de lavado concentrado - X10

Contenido: Una botella que contiene tampón con un detergente no iónico y un conservante sin mercurio.

Volumen:: 50 mL/botella

Concentrado; Requiere preparación

Almacenaje: 2-8°C

Estabilidad: Sin abrir: Estable hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta.

Después de la apertura: Estable durante cuatro semanas.

Después de la preparación: la solución de trabajo de tampón de lavado es estable durante 2 semanas después de la preparación, suponiendo que se cumplen las buenas prácticas de laboratorio. Para evitar el crecimiento microbiano, prepare la solución de trabajo del tampón de lavado en un recipiente limpio y guárdelo en condiciones de refrigeración (2-8 °C) cuando no esté en uso. Diluir 1:10 en agua destilada o desionizada antes de usar.

Si se va a utilizar toda la microplaca, diluya 50 ml del concentrado de tampón de lavado en 450 ml de agua destilada o desionizada.

CHROM TMB

### TMB Substrato - Lista para usar

Contenido: Una botella que contiene tetrametilbencidina y peróxido de hidrógeno en un tampón que no contiene DMF ni DMSO

Volumen: 16 mL/botella

Almacenaje: 2-8°C

Estabilidad:: Sin abrir: Estable hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. Despues de la apertura: Estable durante cuatro semanas.

STOP SOLN

### Solución de parada - Lista para usar.

Contenido:: Una botella que contiene ácido sulfúrico 1M.

Volumen: 6 mL/botella

Almacenaje:: Refrigerate at 2-8°C

Estabilidad: Sin abrir: Estable hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta.

Despues de la apertura: Estable durante cuatro semanas..



Seguridad:: Consulte la Hoja de seguridad del producto (SDS)

## Procedimiento de ensayo

### Tratamiento previo de la muestra: Ninguno

Todos los componentes del kit, los controles y las muestras de muestras deben llevarse a temperatura ambiente antes de su uso. Los calibradores, los controles y las muestras de muestras deben analizarse por duplicado. Una vez que se ha iniciado el procedimiento, todos los pasos deben completarse sin interrupción.

1. Despues de que todos los componentes del kit hayan alcanzado la temperatura ambiente, mezcle suavemente por inversión.
2. Prepare la solución de trabajo de tampón de lavado (consulte la sección *Reactivos proporcionados*, *Concentrado de tampón de lavado*).
3. Planifique los pocillos de la microplaca que se utilizarán para calibradores, controles y muestras. Consulte la sección *Diseño de ensayo recomendado*.
4. Pipete 20 µL de cada calibrador, control y muestra de muestra en los pocillos asignados.
5. Pipete 150 µL del conjugado HRP en cada pocillo (se recomienda el uso

de una pipeta multicanal).

6. Golpee suavemente el marco de la microplaca durante 10 segundos para mezclar el contenido de los pocillos e incube la microplaca a temperatura ambiente (sin agitar) durante 45 minutos.
7. Lave los pocillos de la microplaca con un lavador de microplacas automático (preferido) o manualmente, como se indica a continuación.
8. Pipetee 150 µL de sustrato TMB en cada pocillo (se recomienda el uso de una pipeta multicanal).
9. Golpee suavemente el marco de la microplaca durante 10 segundos para mezclar el contenido de los pocillos e incube la microplaca a temperatura ambiente (sin agitar) durante 15 minutos.
10. Pipetee 50 µL de solución de parada en cada pocillo (se recomienda el uso de una pipeta multicanal) en el mismo orden
11. Pipetee 150 µL de sustrato TMB en cada pocillo (se recomienda el uso de una pipeta multicanal). Golpee suavemente el marco de la microplaca durante 10 segundos para mezclar el contenido de los pocillos e incube la microplaca a temperatura ambiente (sin agitar) durante 15 minutos. Pipetee 50 µL de solución de parada en cada pocillo (se recomienda el uso de una pipeta multicanal) en el mismo orden y velocidad que se usó para la mejora del sustrato TMB. Golpee suavemente el marco de la microplaca para mezclar el contenido de los pozos

## CÁLCULOS

1. Calcule la densidad óptica media para cada duplicado de calibrador, control y muestra.
2. Use un ajuste de curva de 4 o 5 parámetros con software de inmunoensayo para generar una curva de calibrador.
3. El software de inmunoensayo calculará las concentraciones de los controles y muestras de muestras utilizando los valores medios de densidad óptica y la curva del calibrador.
4. Si en una muestra se lee más de 40 µg/dL y necesita diluirse y volver a analizarse, dilúyala con el calibrador 0 no más de 1:10. El resultado obtenido debe multiplicarse por el factor de dilución.

## CONTROL DE CALIDAD

Al evaluar la validez de los resultados de la prueba, se deben evaluar los siguientes criterios:

1. La densidad óptica media del calibrador 0 cumple con el rango aceptable como se indica en el Certificado de control de calidad.
2. El calibrador con la concentración más alta cumple con el rango aceptable de % de unión como se indica en el Certificado de control de calidad. % de fijación = (OD del calibrador/OD del calibrador 0) x 100.
3. Los valores obtenidos para los controles del kit se encuentran dentro de los rangos aceptables establecidos en el certificado de control de calidad.
4. Los resultados de los controles externos que se usaron cumplen con los rangos aceptables.

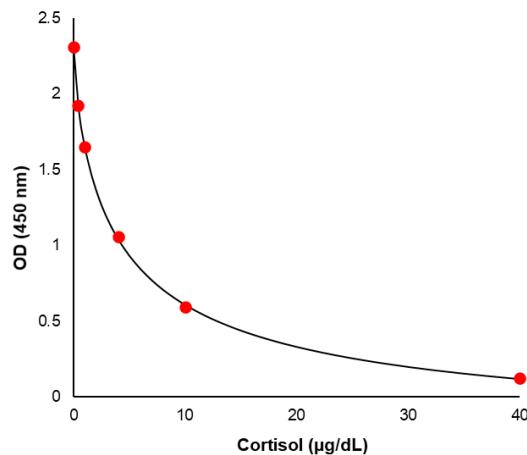
## DATOS TÍPICOS EN UNA TABLA

Solo datos de muestra. No utilizar para calcular resultados.

Calibrador	DO medio (450 nm)	% Vinculante	Valor (µg/dL)
A	2.307	100	0
B	1.926	84	0.4
C	1.651	72	1
D	1.056	46	4
E	0.593	26	10
F	0.123	5	40
Desconocido	0.738	-	7.5

## CURVA DE CALIBRACIÓN TÍPICA

Curva de ejemplo solamente. **No utilizar** para calcular resultados.



## CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

### SENSIBILIDAD

El estudio de sensibilidad analítica se realizó según la guía CLSI EP17-A2. El límite de fondo (LoB), el límite de detección (LoD) y el límite de cuantificación (LoQ) se resumen en la siguiente tabla:

Parámetro	Cortisol (µg/dL)
LoB	0.143
LoD	0.298
LoQ	0.300

## ESPECIFICIDAD (REACCIÓN CRUZADA)

Se analizó la reactividad cruzada de los siguientes compuestos con una reacción cruzada de cortisol al 100 %. ND=No detectado

Compuesto	% Reacción cruzada
Cortisol	100
11-Deoxicorticosterona	3.8
11-Deoxicortisol	8.7
17-OH-progesterona	10.2
21-Deoxicortisol	ND
Aldosterona	0.8
Allopregnanolona	2.0
Androstenediona	1.0
Androsterona	ND
Corticosterona	14.2
Cortisona	8.8
Dehidroepiandrosterona	ND
DHEAS	ND
Dihidrotestosterona	ND
Estradiol	ND
Estriol	ND
Estrona	ND
Prednisolona	21.6
Prednisona	16.3
Pregnenolona	0.5
Testosterona	3.3

## INTERFERENCIAS

Se realizó un estudio de interferencias según la directriz CLSI EP07.

No se observaron interferencias significativas para concentraciones de hasta 2 g/l de hemoglobina, 20 mg/dl de bilirrubina (conjugada y no conjugada), 5,0 mg/ml de triglicéridos, 1,2 µg/ml de HAMAS, 2,4 µg/ml de biotina y 1500 UI/ml de reumatoide Factor..

## PRECISION

El estudio de precisión se realizó de acuerdo con la directriz CLSI EP5-A3. El protocolo experimental usó un diseño anidado de componentes de varianza con 8 muestras de suero, 10 días de prueba, dos lotes y dos científicos por día. Cada científico realizó dos pruebas con dos lotes por día y dos mediciones repetidas por ejecución (un diseño de 10 x 2 x 2 x 2) para cada muestra. Los resultados se analizaron con un ANOVA anidado de dos vías y se resumen en la siguiente tabla.

Muestra	Media (ng/mL)	Dentro Run SD ( $\mu\text{g/dL}$ )	Dentro Run CV%	Entre Run SD ( $\mu\text{g/dL}$ )	Entre Run CV%	Total SD ( $\mu\text{g/dL}$ )	Total CV%
1	3.520	0.097	2.7	0.188	5.3%	0.220	6.3
2	12.640	0.206	1.6	0.389	3.1%	0.440	3.5
3	32.347	0.349	1.1	0.551	1.7%	0.652	2.0
4	0.829	0.072	8.7	0.079	9.5%	0.107	12.8
5	15.358	0.341	2.2	0.350	2.3%	0.502	3.3
6	32.274	0.493	1.5	0.546	1.7%	0.736	2.3
7	9.461	0.179	1.9	0.295	3.1%	0.361	3.8
8	4.568	0.208	4.5	0.162	3.5%	0.274	6.0

## RECUPERACIÓN

Las muestras enriquecidas se prepararon añadiendo cantidades definidas de cortisol (2, 10 y 30  $\mu\text{g/dL}$ ) en una matriz de suero humano a tres muestras de suero humano (volumen 1:1). Los resultados (en  $\mu\text{g/dL}$ ) se tabulan a continuación.

Muestrss	Resultado observado	Resultado Esperado	Recuperación %
S1 Unspiked	12.374	-	-
+2 $\mu\text{g/dL}$ (1:1)	7.125	7.187	99.1
+10 $\mu\text{g/dL}$ (1:1)	10.941	11.187	97.8
+30 $\mu\text{g/dL}$ (1:1)	22.519	21.187	106.3
S2 Unspiked	10.44	-	-
+2 $\mu\text{g/dL}$ (1:1)	6.571	6.22	105.6
+10 $\mu\text{g/dL}$ (1:1)	9.689	10.22	94.8
+30 $\mu\text{g/dL}$ (1:1)	20.155	20.22	99.7
S3 Unspiked	8.488	-	-
+2 $\mu\text{g/dL}$ (1:1)	5.845	5.244	111.5
+10 $\mu\text{g/dL}$ (1:1)	8.308	9.244	89.9
+30 $\mu\text{g/dL}$ (1:1)	18.47	19.244	96.0

## LINEALIDAD

El estudio de linealidad se realizó de acuerdo con la directriz CLSI EP06-A utilizando tres muestras de suero humano que cubrían el rango del ensayo.

Las muestras se diluyeron en el calibrador 0 varios niveles de concentración equidistantes y hasta una dilución de 1:10. Las muestras se analizaron por duplicado y la ecuación de regresión de los resultados (y) en comparación con la concentración (x) predicha a partir del factor de dilución fue:

$$y = 0,98x + 0,17, r = 0,99.$$

La no linealidad relativa fue  $\leq 4,8\%$  en una relación de dilución de hasta 1:10 para todas las muestras. El análisis estadístico demuestra que el ensayo es suficientemente lineal en todo el rango dinámico del kit.

## ESTUDIOS COMPARATIVOS

El kit DiaSource Cortisol ELISA (y) se comparó con un kit Cortisol ELISA comercial de la competencia (x). La comparación de 71 muestras de suero humano arrojó los siguientes resultados de regresión lineal:

$$y = 1,17x - 0,73, r = 0,99$$

## RANGOS DE REFERENCIA

Los rangos de referencia (95%) se estimaron utilizando muestras de suero humano masculino y femenino recolectadas durante la mañana y la tarde. Las muestras se obtuvieron de individuos adultos de diversas razas. Los resultados se resumen a continuación.

Cada laboratorio establecerá sus propios rangos de referencia

Grupo	N	Media ( $\mu\text{g/dL}$ )	95% Rango de confianza ( $\mu\text{g/dL}$ )
Colección AM	52	11.46	4.94 -18.32
Colección MP	52	6.82	3.23 -13.82

## BIBLIOGRAFIA

- D. Kumar, H. Singh and T. G. Shrivastav. Homologous ELISA for Detection of Prednisolone in Human Serum. Food and Agricultural Immunology 2018; 29(1): 369-385.
- T. Bashar, M. Pharm, M. N. H. Apu et al. Pharmacokinetics and Bioavailability Study of a Prednisolone Tablet as a Single Oral Dose in Bangladeshi Healthy Volunteers. Dose-Response: An International Journal. First Published July 25, 2018, <https://doi.org/10.1177/1559325818783932>.
- J. Brossaud, P. Barat, D. Gualde et al. Cross reactions elicited by serum 17-OH progesterone and 11-desoxycortisol in cortisol assays. Clinica Chimica Acta 2009; 407: 72-74.
- A. R. Genazzani, F. Petraglia, F. Bernardi et al. Circulating Levels of Allopregnanolone in Humans: Gender, Age, and Endocrine Influences. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1998; 83(6): 2099-2103.
- Aardal E, Holm, AC. Cortisol in saliva – Reference ranges in relation to cortisol in serum. Eur J Clin Chem Clin Biochem. 1995; 33(12):927-32.
- Vining RF, McGinley RA. The measurement of hormones in saliva: possibilities and pitfalls. J Steroid Biochem. 1987; 27:81-94.
- Rose JQ, Yurchak AM, Jusko JW. Dose dependent pharmacokinetics of prednisone and prednisolone in man. J Pharmacokinet Biopharm. 1981; 9:389-417.
- W. G. Sippell, H. G. Dorr, F. Bidlingmaier et al. Plasma levels of Aldosterone, Corticosterone, 11-Deoxycorticosterone, Progesterone, 17-Hydroxyprogesterone, Cortisol, and Cortisone During Infancy and Childhood. Pediat. Res. 1980; 14: 39-46.
- M. E. Pickup Clinical Pharmacokinetics of Prednisone and Prednisolone. Clinical Pharmacokinetics 1979; 4: 111-128.
- J.J. Pratt, M.G. Woldring, Ria Boonman et al. Specificity of Immunoassays. European Journal of Nuclear Medicine 1979; 4:159-170.
- Morris R. A Simple and Economical Method for the Radioimmunoassay of Cortisol in Serum. Ann Clin Biochem. 1978; 15(3):178-83.

Revision date : 2023-09-01

Estas Instrucciones de Uso, traducidas a otros idiomas, pueden descargarse en nuestra web:

<https://www.diasource-diagnostics.com/>