

Enzoinmunoanálisis [ELISA] de corticotropina

REF 7023

Análisis cuantitativo específico para la determinación de
corticotropina en plasma

enero 2018



I. USO PREVISTO

El enzoinmunoanálisis de corticotropina (ACTH) de Biomerica se utiliza para la determinación cuantitativa de corticotropina en el plasma humano. Este análisis se destina a uso diagnóstico *in vitro*.

II. RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La corticotropina u hormona adrenocorticotropa (ACTH) es una hormona péptida de 39 aminoácidos (MW=4500) secretada por la hipófisis para regular la producción de hormonas esteroides de la corteza adrenal. La secreción de corticotropina desde la adenohipofisis es controlada tanto por el mecanismo de control de retroinhibición clásico como por el sistema de control mediado por el estrés del SNC.¹ Diversos tipos de estrés o dolores percibidos en niveles más altos de la secreción modulada del cerebro de la hormona neurosecretora hipotalámica, la hormona liberadora de corticotropina (CRH), un péptido de 41 aminoácidos. La CRH estimula la secreción de corticotropina en la hipófisis. El segundo péptido que modula la secreción de corticotropina es la vasopresina (AVP). La secreción de AVP también es estimulada por el estrés y actúa con la CRH de manera sinérgica para aumentar la secreción de corticotropina en la circulación portal de la hipófisis. La corticotropina aumenta la síntesis y la liberación de todos los esteroides adrenales, aldosterona, cortisol y andrógenos adrenales. Es el modulador principal de cortisol, el glucocorticoide más importante en el hombre. A medida que aumenta el nivel de cortisol en sangre, la liberación de corticotropina se inhibe directamente a nivel de la hipófisis. Mediante este mismo mecanismo, la reducción de los niveles de cortisol da como resultado niveles elevados de corticotropina.^{2,3,4,5}

La corticotropina biológicamente activa es el resultado de la segmentación enzimática de una gran molécula precursora, la proopiomelanocortina (POMC). Esta molécula contiene dentro de su estructura las secuencias de aminoácidos de la ACTH, la Pro-ACTH, la hormona estimuladora del melanocito β , la lipotropina, así como de la endorfina y las encefalinas. Debido a que la reacción en los inmunoanálisis es determinada por la estructura antigénica y no por la función biológica, el RIA habitual de ACTH reacciona con la POMC, la Pro-ACTH, la ACTH y con algunos fragmentos de la ACTH.⁵

Al igual que otras hormonas hipofisarias, la corticotropina es secretada de manera pulsátil. Estos pequeños pulsos se superponen en una fluctuación diurna característica de mayor amplitud. En personas sanas, la ACTH alcanza un pico a la mañana temprano (6:00 - 8:00 horas) y los niveles alcanzan los valores más bajos ya avanzado el día y al acercarse el período de sueño. Debido a este ritmo diurno, se acostumbra tomar muestras de corticotropina en plasma entre las 8:00 y las 10:00 de la mañana. Sin embargo, puede establecerse mejor la diferencia entre los pacientes que sufren la enfermedad de Cushing y las personas que no trabajando con muestras obtenidas durante la tarde (16:00 - 18:00 horas). En la enfermedad de Cushing y en síndromes de ACTH ectópicos, el patrón diurno de la secreción de corticotropina generalmente se encuentra ausente. El estrés también puede anular la variación diurna.

III. TRASCENDENCIA CLÍNICA

Los análisis de corticotropina en plasma son útiles en el diagnóstico diferencial de la enfermedad de Addison, la enfermedad de Cushing de la hipófisis, los tumores hipofisarios que producen ACTH autónoma (por ejemplo, el síndrome de Nelson), la insuficiencia adenohipofisaria con deficiencia de corticotropina y el síndrome de ACTH ectópico.^{5,6,7,8,9,10}

El síndrome de Cushing es causado por los efectos de las acciones de un exceso de glucocorticoides. Todas las causas del síndrome de Cushing, a excepción de la medicación a base de glucocorticoides, están asociadas con un aumento de cortisol en orina de 24 horas. La causa más común del síndrome de Cushing es la hiperplasia adrenal bilateral, debido a la hipersecreción hipofisaria de corticotropina

(enfermedad de Cushing) proveniente un adenoma hipofisario o hiperplasia corticotropa.^{5,6,7,8,9,10} El diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Cushing es sustentado por: (1) supresión de concentraciones de cortisol y ACTH en plasma, por administración de alta dosis de dexametasona (2,0 mg cada 6h durante 8 días), (2) ausencia de ACTH y supresión de cortisol con baja dosis de dexametasona (0,5 mg cada 6h durante 8 días o 1 mg a las 23:30 horas), (3) una respuesta que supere los valores normales ante la estimulación con metirapona (metopirona) y niveles de ACTH normales o elevados en plasma.⁴

Cuando el síndrome de Cushing es ocasionado por una anomalía suprarrenal primaria (adenoma o carcinoma), la glándula suprarrenal actúa independientemente de la corticotropina y se suprime la secreción de corticotropina hipofisaria.^{5,6,7,8,9,10} Por lo tanto, no hay respuesta ante la supresión de la dexametasona o la estimulación con metirapona. Este tipo de síndrome de Cushing se caracteriza por niveles de ACTH muy bajos o imposibles de detectar.

En consecuencia, la medición de corticotropina en plasma es útil en el diagnóstico diferencial del síndrome de Cushing hipofisario. En pacientes con tumores suprarrenales, los niveles de ACTH son bajos. En pacientes con síndrome de ACTH ectópico se observan altos niveles de corticotropina. Los pacientes con hiperplasia suprarrenal bilateral tendrán niveles de ACTH demasiado elevados para su grado de hipersecretorismo; se debería suprimir la ACTH. No obstante, en la mayoría de los casos la concentración de ACTH estará dentro del intervalo normal.

La insuficiencia cortical suprarrenal o la producción de cortisol inadecuada puede deberse a la destrucción de la corteza suprarrenal o a anomalías de la hipófisis o el hipotálamo, lo cual puede generar una producción de liberación de ACTH inadecuada.^{5,6,7,8,9,10} La insuficiencia cortical suprarrenal primaria, la enfermedad de Addison, se caracteriza por niveles de ACTH en plasma notablemente elevados y una falta de respuesta suprarrenal a la estimulación con ACTH exógena. La insuficiencia adenohipofisaria con deficiencia de corticotropina, la cual es una insuficiencia cortical suprarrenal secundaria, se caracteriza por bajas concentraciones de ACTH y cortisol en plasma y una respuesta suprarrenal subnormal pero, por lo general, distintiva a la estimulación con ACTH sintética (Cortrosyn®). Si se requiere estrés hipoglucémico o estimulación con metirapona para el diagnóstico, las respuestas de cortisol y corticotropina no alcanzarán los valores normales.

Los tumores de la hipófisis que producen ACTH agresivos e invasivos, que aparecen antes o después de una adrenalectomía bilateral para la enfermedad de Cushing (el síndrome de Nelson), se caracterizan por el desarrollo de pigmentación "adisoniana", a menudo en un paciente adrenalectomizado que está sometido a una terapia adecuada de reemplazo de glucocorticoides. En estos pacientes, los niveles de corticotropina en plasma están elevados notablemente y no responden bien a la supresión de la dexametasona.

IV. PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El inmunoanálisis para la detección de corticotropina (ACTH) de Biomerica es un enzoinmunoanálisis [ELISA] para la medición de la cadena biológicamente activa de 39 aminoácidos de ACTH. Un anticuerpo policlonal de cabra a la corticotropina humana, purificado por cromatografía por afinidad, y un anticuerpo monoclonal de ratón a la corticotropina humana son específicos para regiones bien definidas de la molécula de ACTH. Un anticuerpo está preparado para enlazar sólo ACTH 34-39 C-terminal y este anticuerpo es biotinilado. El otro anticuerpo está preparado para enlazar sólo ACTH 1-24 N-terminal y región media, estando el mismo etiquetado con peroxidasa de rábano [HRP] para detección.

Pocillo de estreptavidina - AntiACTH biotinilada (34-39) --
ACTH intacta -- AntiACTH conjugada con HRP (1-24)

En este análisis, los calibradores, los controles o las muestras de los pacientes se incuban simultáneamente con el anticuerpo marcado con enzimas y un anticuerpo acoplado con biotina en un pocillo de microplaca recubierto con estreptavidina. Al final de la incubación del análisis, el micropocillo se lava para eliminar componentes sueltos y la enzima enlazada a la fase sólida se incuba con el sustrato, tetrametilbencidina (TMB). Se agrega luego una solución de parada ácida para interrumpir la reacción, cambiándose el color a amarillo. La intensidad del color amarillo es directamente proporcional a la concentración de ACTH en la muestra. Se genera una curva dosis-respuesta de la unidad de absorbancia frente a la concentración mediante la utilización de los resultados obtenidos de los calibradores. Las concentraciones de corticotropina presentes en los controles y las muestras de pacientes se determinan directamente a partir de esta curva.

V. COMPONENTES DEL KIT

Componentes del kit	Descripción	Cantidad
RGT 1 = Reactivo 1	Anticuerpo de ACTH biotinilado [ACTH antihumana de cabra purificada por afinidad]	1 x 2,7 mL
RGT 2 = Reactivo 2	Anticuerpo de ACTH etiquetado con peroxidasa (enzima) [ACTH antihumana monoclonal de ratón]	1 x 2,7 mL
RGT A = Reactivo A	Concentrado de lavado para ELISA [Salino con agente tensioactivo]	1 x 30 mL
RGT B = Reactivo B	Sustrato TMB [tetrametilbencidina]	1 x 15,5 mL
SOLN = Solución de parada	Solución de parada para ELISA [ácido sulfúrico 1 N]	1 x 20 mL
PLA = Microplaca	Un soporte con tiras recubiertas de estreptavidina.	12 tiras de 8 pocillos
CAL = Calibradores A: 0 pg/mL B: C: Consulte las etiquetas del vial para obtener las concentración D: E: F:	ACTH sintética liofilizada [excepto calibrador cero] Calibrador cero [solución serosa BSA/equina] en forma líquida, listo para usar. Todos los demás calibradores constan de ACTH (1-39) sintética en solución serosa BSA/equina	1 x 4 mL para el calibrador cero 1 x 2 mL para todos los demás calibradores
CRTL = Controles 1 y 2 Consulte las etiquetas del vial para obtener los intervalos exactos	Liofilizados. 2 niveles. ACTH (1-39) sintética en solución serosa BSA/equina.	1 x 2 mL por nivel

MATERIAL Y EQUIPO REQUERIDO PERO NO SUMINISTRADO

- Lector de microplacas.
- Lavadora de microplacas [si no se puede disponer de una lavadora, se podría aceptar el lavado manual].
- Pipetas de precisión para dosificar 25, 200, 100 y 150 µL.
- (Opcional): Un dosificador de canales múltiples o un dosificador de repetición para 25, 100 y 150 µL.
- Agitadores de microplaca: Biomerica ha descubierto que para los diámetros de agitador indicados a continuación, los kits de estreptavidina mantendrán una respuesta de rendimiento óptima en las siguientes configuraciones de velocidad:

Agitadores de microplaca	Diámetro de agitador	Configuración de
Orbitario	3 mm (0.1118 in)	600 ± 10 rpm
	19 mm (0.75 in)	170 ± 10 rpm
Lineal	25 mm (0.98 in)	170 ± 10 rpm

VI. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES PARA LOS USUARIOS

Si bien el diseño específico de los reactivos suministrados en este kit garantiza la ausencia de componentes de la sangre humana, las muestras de pacientes, que pueden presentar anticuerpos de HBsAg, HBcAg o VIH, deben considerarse un riesgo biológico potencial. Deben tomarse las precauciones habituales en la manipulación de dichas muestras, como se hace con las muestras de pacientes no analizadas.

La solución de parada consiste en ácido sulfúrico 1 N. Se trata de un ácido potente. Si bien el mismo se encuentra diluido, debe manipularse con cuidado. Puede producir quemaduras y debe manipularse con guantes, gafas y ropa protectora adecuada. Cualquier derrame debe enjuagarse inmediatamente con abundante cantidad de agua. No respire cuando advierta el vapor del mismo y evite su inhalación.

Se encuentran a la venta diversos tipos de agitador con diferentes especificaciones. En caso de que el agitador de microplaca no se encuentre dentro del intervalo especificado anteriormente, se anima a cada laboratorio a establecer su propio intervalo óptimo.

VII. RECOPIACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

La determinación de corticotropina debe realizarse en plasma (EDTA). Para realizar un análisis de la muestra por duplicado, se requiere 400 µL de plasma (EDTA). Recolecte sangre completa en un tubo azul [EDTA]. El plasma debe separarse inmediatamente, preferentemente en una centrifuga refrigerada y almacenarse a -20°C o menos. Las muestras de plasma (EDTA) pueden almacenarse hasta 8 horas a 2-8°C. Las muestras de plasma (EDTA) congeladas a -20°C permanecen estables por un máximo de 4 meses.

VIII. PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE REACTIVOS

Almacene todos los componentes del kit a 2-8°C.

1. Todos los reactivos, excepto los calibradores que no sean cero, los controles del kit y el concentrado de lavado, están listos para usar. Almacene todos los

reactivos a 2-8°C.

2. En cada uno de los calibradores que no sean cero (del Calibrador B al F) y en los controles 1 y 2 del kit, reconstituya cada vial con 2 mL de agua destilada o desionizada y mezcle. Permita que el vial repose 10 minutos y luego mezcle por completo, invirtiendo con cuidado el envase para obtener la reconstitución total. **Utilice los calibradores y los controles lo antes posible luego de la reconstitución. Congele (a -20°C) los calibradores y los controles restantes lo antes posible luego de utilizarlos.** Los estándares y los controles permanecen estables a -20°C durante 6 semanas luego de la reconstitución, con un máximo de 3 ciclos de congelamiento/descongelamiento al manipularse según lo recomendado en la sección "Notas de procedimiento".
3. **ELISA Reactivo A:** Concentrado de lavado: Mezcle el contenido del concentrado de lavado por completo. Si el concentrado de lavado presenta signos de precipitación debido al almacenamiento a una temperatura menor, como podría ser 4°C, disuélvalo colocando el vial a baño María o en el horno a 37°C y revuélvalo. Agregue el concentrado de lavado (30 mL) a 570 mL de agua destilada o desionizada y mezcle. La solución de lavado diluida permanece estable por 90 días cuando la misma se almacena a temperatura ambiente.

IX. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

1. Coloque una cantidad suficiente de Tiras recubiertas de estreptavidina en un soporte para ejecutar la totalidad de los seis (6) calibradores de ACTH, del Calibrador A al F de los CALIBRADORES DE ACTH [la concentración exacta se indica en la etiqueta del vial], los controles y las muestras de pacientes. Como mínimo designe dos pocillos para que sirvan como "pocillos de blanco". Referirse al paso 9 para la lectura final de placa.
2. Coloque **200 µL** de los calibradores, los controles y las muestras en una pipeta y viértala en el pocillo designado o asignado. **Congele (a -20°C) los calibradores y los controles restantes lo antes posible luego de utilizarlos.**
3. Agregue o vierta **25 µL** del Reactivo 1 (Anticuerpo biotinilado) en cada uno de los pocillos que ya contengan los calibradores, los controles y las muestras.
4. Agregue o vierta **25 µL** del Reactivo 2 (Anticuerpo marcado con enzimas) en los mismos pocillos. Cubra la o las microplacas con una bandeja o una película de aluminio para evitar la exposición a la luz y colóquelas en un **agitador** preparado a la configuración recomendada (consulte la sección V) durante **4 horas ± 30 minutos** a temperatura ambiente (22-28°C).
5. Primero, aspire el fluido completamente y luego lave/aspire cada pocillo cinco (5) veces con la solución de lavado activa (preparada a partir del Reactivo A), utilizando una lavadora de microplacas automática. El volumen de solución de lavado debe prepararse para verter 0,35 mL en cada pocillo.
6. Agregue o vierta **150 µL** de la prueba **ELISA Reactivo B** (sustrato TMB) en cada uno de los pocillos.
7. Con una cubierta adecuada para evitar la exposición a la luz, coloque la o las microplacas en un **agitador** preparado a la configuración recomendada (consulte la sección V) durante **30 ± 5 minutos** a temperatura ambiente (22-28°C).
8. Agregue o vierta **100 µL** de la solución de parada en cada uno de los pocillos. Mezcle suavemente.
9. Lea la absorbancia de la solución en los pocillos dentro de los 10 minutos, utilizando un lector de micropocillos establecido en 450 nm. Antes de la lectura, asegúrese de que ambos "pocillos de blanco" mencionados en el punto 1, estén llenos con 250 µL de agua destilada o desionizada. Lea la placa nuevamente con el lector establecido en 405 nm contra agua destilada o desionizada. *Nota: La segunda lectura está destinada a extender la validez analítica de la curva de calibración hasta el valor representado por el calibrador más alto, que es aproximadamente de 500 – 500 pg/mL. Por lo tanto, las muestras de pacientes con ACTH > 150 pg/mL pueden cuantificarse contra una curva de calibración que consista en las lecturas ascendentes hasta alcanzar la concentración equivalente al calibrador más alto, utilizando la lectura de 405 nm, lejos de la longitud de onda de absorbancia máxima. En general, las muestras de pacientes y controles deben leerse utilizando los 450 nm para concentraciones de ACTH hasta 150 pg/mL. Las concentraciones de ACTH superiores a 150 pg/mL deben interpolarse mediante la lectura de 405 nm.*
10. Con los valores de absorbancia finales obtenidos en el paso anterior, trace una curva de calibración mediante una interpolación punto a punto o una interpolación logística de 4 parámetros o de regla flexible cúbica para cuantificar la concentración de la ACTH.

NOTAS DE PROCEDIMIENTO

- La ACTH 1-39 es una molécula muy lábil. Prepare el análisis inmediatamente después de realizada la reconstitución o el descongelamiento de todos los calibradores, los controles y las muestras de pacientes.
- Se recomienda realizar los análisis de todos los calibradores, los controles y las muestras de pacientes por duplicado. Las unidades de absorbancia promedio de grupos duplicados deben utilizarse entonces para reducir datos y calcular resultados.
- Las muestras deben colocarse en pipetas y verterse en el pocillo con una mínima cantidad de burbujas de aire. Para lograrlo, se recomienda utilizar la

técnica de “pipeta inversa” descrita en el folleto de los fabricantes de pipetas incluido en el paquete.

- Las muestras de pacientes con valores superiores al calibrador más alto (Calibrador F), que oscila entre 500 pg/mL (vea la concentración exacta en la etiqueta del vial), pueden diluirse con el Calibrador A (Calibrador cero) y volver a analizarse. Multiplique el resultado por el factor de dilución.
- Los reactivos de lotes diferentes no deben intercambiarse.
- Si lo prefiere, mezcle el Reactivo 1 (Anticuerpo biotinilado) y el Reactivo 2 (Anticuerpo marcado con enzimas) en una botella ámbar limpia, empleando a tal fin volúmenes iguales y cantidades suficientes para el análisis. Luego utilice 50 µL del anticuerpo mezclado en cada pocillo. Este método alternativo debe reemplazar al Paso (3) y (4), seguido por la incubación con agitador orbitario.
- Al mezclar, evite salpicar los reactivos fuera de los pocillos. Esto afectará la precisión y la exactitud del análisis.

X. CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Método manual

- Para las lecturas de 450 nm, construya un curva dosis-respuesta (curva de calibración) utilizando los primeros cinco calibradores suministrados, es decir, los Calibradores A, B, C, D y E. Para las lecturas de 405 nm, trace una segunda curva dosis-respuesta utilizando los tres calibradores con las concentraciones más altas, es decir, los Calibradores D, E y F.
- Asigne la concentración para cada calibrador indicada en el vial en pg/mL. Trace los datos de la curva de calibración en papel milimetrado para gráficos con la concentración en el eje X y la unidad de absorbancia en el eje Y.
- Dibuje una línea recta entre 2 puntos adyacentes. Este algoritmo matemático se conoce comúnmente como el cálculo “punto a punto”. Obtenga la concentración de la muestra ubicando la unidad de absorbancia en el eje Y y buscando el valor de concentración correspondiente en el eje X. Las muestras de pacientes y controles deben leerse utilizando los 450 nm para concentraciones de ACTH hasta los 150 pg/mL. Las concentraciones de ACTH superiores a 150 pg/mL deben interpolarse mediante la lectura de 405 nm.

Método automático:

Los programas informáticos que utilizan la regla flexible cúbica o 4 PL [Logística de 4 parámetros] o punto a punto pueden resultar adecuados.

Datos de muestra a 450 nm [lectura de unidad de absorbancia bruta contra agua destilada o desionizada]

Pocillo de microplaca	Unidad de absorbancia de 1ª lectura	Unidad de absorbancia de 2ª lectura	Unidad de absorbancia promedio	ACTH en pg/mL	ACTH en pg/mL – Resultado a informar
Calibrador A	0,020	0,018	0,019		0
Calibrador B	0,077	0,074	0,076		5
Calibrador C	0,221	0,229	0,225		18
Calibrador D	0,624	0,692	0,685		55
Calibrador E	1,802	1,934	1,868		165
Control 1	0,417	0,398	0,408	33,5	33,5
Control 2	2,868	2,774	2,821	> 150	*
Muestra de paciente 1	0,072	0,078	0,075	4,9	4,9
Muestra de paciente 2	0,185	0,177	0,181	14,0	14,0
Muestra de paciente 3	0,495	0,491	0,493	40,8	40,8
Muestra de paciente 4	2,090	2,122	2,106	> 150	*

* Debido a que la lectura de la concentración es > 150 pg/mL, se recomienda utilizar los datos obtenidos en 405 nm, como se muestra en los **Datos de muestra a 405 nm** en la tabla incluida a continuación.

Datos de muestra a 405 nm [lectura de unidad de absorbancia bruta contra agua destilada o desionizada]

Pocillo de microplaca	Unidad de absorbancia de 1ª lectura	Unidad de absorbancia de 2ª lectura	Unidad de absorbancia promedio	ACTH en pg/mL	ACTH en pg/mL – Resultado a informar
Calibrador A	0,011	0,008	0,0095		0
Calibrador D	0,032	0,032	0,032		55
Calibrador E	0,074	0,081	0,078		165
Calibrador F	1,838	1,817	1,828		500
Control 1	0,138	0,132	0,135	< 150	¶
Control 2	0,921	0,894	0,908	256	256
Muestra de paciente 1	0,030	0,032	0,031	< 150	¶
Muestra de paciente 2	0,068	0,062	0,065	< 150	¶
Muestra de paciente 3	0,165	0,159	0,162	< 150	¶
Muestra de paciente 4	0,663	0,677	0,670	188	188

¶ Para las muestras con una lectura < 150 pg/mL, se recomienda utilizar los datos obtenidos en 450 nm, como se muestra en los **Datos de muestra a 450 nm** en la tabla

incluida a continuación. Esta práctica debe producir los resultados con óptima sensibilidad del análisis.

NOTA: Los datos presentados sólo tienen fines de ilustración y no deben utilizarse en lugar de los datos generados durante el análisis.

XI. CONTROL DE CALIDAD

El plasma de control o los grupos de plasma deben analizarse con cada ejecución de los calibradores y las muestras de paciente. Los resultados generados a partir del análisis de las muestras de control deben evaluarse para su aceptación utilizando los métodos estadísticos adecuados. Es posible que, en análisis con uno o más valores de muestra de control de calidad que se encuentren fuera de los límites aceptables, los resultados de la muestra del paciente no sean válidos.

XII. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El kit ELISA para ACTH de Biomerica no ha exhibido ningún “efecto gancho de alta dosis” con muestras que contenían 20.000 pg/mL de ACTH. Sin embargo, las muestras con niveles de ACTH mayores que el calibrador más alto deben diluirse y volver a analizarse para obtener los valores correctos.

A semejanza de lo que sucede con cualquier analito utilizado como adjunto diagnóstico, los resultados de ACTH deben interpretarse cuidadosamente con las presentaciones clínicas generales y otras pruebas de diagnóstico complementarias.

Las muestras de pacientes habitualmente expuestas a animales o a productos de suero animal pueden contener anticuerpos heterófilos que produzcan resultados atípicos. Este ensayo se ha formulado para mitigar el riesgo de este tipo de interferencia. Sin embargo, pueden producirse posibles interacciones entre sueros poco comunes y los componentes de la prueba.

XIII. VALORES PREVISTOS

Los niveles de ACTH se midieron en ciento treinta y cuatro (134) personas aparentemente normales en EE.UU. con la Prueba ELISA para ACTH. Los valores obtenidos oscilaron entre 7,0 y 63 pg/mL. Según las pruebas estadísticas sobre asimetría y curtosis, la población sigue la distribución normal o gaussiana. Las desviaciones estándar de la media geométrica de ± 2 se calcularon entre 6,17 y 58,2 pg/mL.

XIV. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Precisión

Se analizaron trescientos (300) muestras de pacientes, con valores de ACTH que oscilaban entre 1,0 y 640 pg/mL, mediante la prueba anterior de Biomerica ACTH y el kit actualizado de Biomerica ACTH ELISA. El análisis de regresión lineal brinda las siguientes estadísticas:

Prueba ELISA de Biomerica = 1,02 ELISA Kit – 1,58 pg/mL
r = 0,995 N = 300

Sensibilidad

La sensibilidad o el límite de detección mínimo de este análisis se define como el valor individual menor, que puede distinguirse de cero en el límite de confianza de 95%. La prueba ELISA para ACTH de Biomerica tiene una sensibilidad calculada de 0,22 pg/mL.

Precisión y reproducibilidad

La precisión (variación intraanálisis) de la prueba ELISA para ACTH de Biomerica se calculó a partir de 25 determinaciones repetidas en cada una de las dos muestras.

Variación intraanálisis			
Muestra	Valor medio (pg/mL)	N	Coefficiente de variación %
A	42,2	25	6,71
B	269,9	25	2,27

La precisión total (variación interanálisis) de la prueba ELISA para ACTH de Biomerica se calculó a partir de los datos de dos muestras obtenidas por tres técnicos en 21 análisis diferentes en dos lotes de reactivos diferentes, durante un período de tres semanas

Variación interanálisis			
Muestra	Valor medio (pg/mL)	N	Coefficiente de variación %
A	42,3	21	7,1
B	287,8	21	6,9

Especificidad y reactividad cruzada

La reactividad cruzada en la ACTH se estudió mediante el agregado de diversos materiales a un estándar de ACTH. Los resultados son los siguientes:

Reactante cruzado	Concentración de Reactante cruzado	ACTH Sin Reactante cruzado [pg/ml]	ACTH Con reactante cruzado [pg/ml]	Cambio en ACTH [pg/ml]	% Reactividad cruzado
ACTH (1-24)	100 000 pg/ml	62,9	0,8	-62,1	-0,06 %
	10 000 pg/ml	62,9	5,05	-57,85	-0,58 %
	1000 pg/ml	62,9	28,6	-34,3	-3,43 %
	200 pg/ml	62,9	43,4	-19,5	-9,75 %
ACTH (18-39)	5000 pg/ml	61,2	2	-59,2	-1,2 %
	2000 pg/ml	61,2	13,6	-47,6	-2,4 %
	500 pg/ml	61,2	24,3	-36,9	-7,4 %
a-MSH	100 000 pg/ml	88,1	65,7	-22,4	-0,02 %
	10 000 pg/ml	88,1	69,1	-19	-0,19 %
	1000 pg/ml	88,1	70,7	-17,4	-1,7 %
	200 pg/ml	88,1	74,8	-13,3	-6,7 %
ENDORFINA b	100 000 pg/ml	73,8	60,5	-13,3	-0,01 %
	50 000 pg/ml	73,8	56,9	-16,9	-0,03 %

Recuperación

Se agregaron diversas cantidades de ACTH a plasma de cuatro pacientes diferentes para determinar la recuperación. Los resultados se describen en la siguiente tabla:

Muestra de plasma	ACTH endógena (pg/ml)	ACTH añadida (pg/ml)	Valor previsto (pg/ml)	Valor medido (pg/ml)	Recuperación (%)
A	13,3	50,0	63,3	62,4	99 %
			100,0	113,5	116
B	17,7	50,0	67,7	62,1	92 %
			100,0	117,7	121,7
C	14,8	50,0	64,8	64,2	99 %
			100,0	114,8	114,2
D	27,1	50,0	77,1	67,4	87 %
			100,0	127,1	119

Efecto cinético del análisis

Para determinar si existe algún efecto cinético sistemático entre el comienzo de la ejecución y su finalización, se colocaron en secuencia tres grupos de pacientes, seleccionados para brindar una muestra representativa adecuada de la concentración de ACTH, a lo largo de toda la ejecución de una microplaca o 96 pocillos [con doce tiras de 8 pocillos]. Los resultados, mostrados en los siguientes gráficos, no presentan ninguna desviación significativa del análisis.

Linealidad de diluciones en muestras de pacientes: Paralelismo

Se diluyeron muestras de plasma de cinco pacientes con Calibrador A (Calibrador cero). A continuación, se muestran los resultados en pg/mL:

Muestra	Dilución	Valor previsto en pg/mL	Valor observado en pg/mL	% del valor observado \pm previsto
A	Sin diluir	-	288	-
	1:2	144	150	104%
	1:4	72	70,9	98%
	1:8	36	35,7	99%
	B	Sin diluir	-	468
1:2	234	278	119%	
1:4	117	135	115%	
1:8	58,5	65,5	112%	
C	Sin diluir	-	270	-
	1:2	135	146	108%
	1:4	67,5	68	101%
	1:8	33,75	33,5	99%
	D	Sin diluir	-	336
1:2		168	149	89%
1:4		84	83	99%
1:8		42	47	112%
E	Sin diluir	-	452	-
	1:2	226	268	119%
	1:4	113	126	112%
	1:8	56,5	68,9	122%

XV. BIBLIOGRAFÍA:

- Ryan, WG: Endocrine Disorders – A Pathophysiologic Approach, 2nd Edition Year Book Medical Publishers, Inc. 1980.
- Watts, N.B., J.H. Keffer: Practical Endocrine Diagnosis, Third Edition, Lea and Febioer, 1982.
- Ganong, WF. L.D. Alber, TC Lee: ACTH and the Regulation of Adrenocortical Secretion, N. Engl. J. Med. 290 : 1006, 1974.
- Tepperman, J: Metabolic and Endocrine Physiology, 4th Edition, Year Book Medical Publishers, Inc., 1981.
- Odell, W.D., R. Horton, M.R. Pandian, J. Wong: The Use of ACTH and Cortisol Assays in the Diagnosis of Endocrine Disorders. Nichols Institute Publication, 1989.
- Radioimmunoassay Manual, Edited by A.L. Nichols and J.C. Nelson, 4th Edition Nichols Institute, 1977.
- Gold, E.M.: The Cushing's Syndromes: Changing Views of Diagnosis and Treatment. Ann Intern. Med. 90:829, 1979.
- Plasma Cortisol, RIA for Physicians, Edited by J.C. Travis, 1:8, Scientific Newsletter, Inc. 1976.
- Krieger, D.T.: Physiopathology of Cushing's Disease, Endocrine Review 4:22-43, 1983.
- Krieger, D.T., A.S. Liotta, T. Suda, A Goodgold, and E. Condon: Human Plasma Immunoreactive Lipotropin and Adrenocorticotropin in Normal Subjects and in Patients with Pituitary-Adrenal Disease, J. Clin. Endocrinol Metab. 48:566-571, 1979.

XVI. SÍMBOLOS

	Temperatura del almacenamiento
	Código de la serie
	Vencimiento
	Fabricante
	Representante autorizado
	Cuidado, vea las instrucciones
	Para uso diagnóstico <i>in vitro</i>
	N. catalogo

XVII. INFORMACIÓN PARA PEDIDOS

PEDIDOS: Envíe su pedido de compra a:

BIOMERICA, INC.
17571 Von Karman Avenue
Irvine, California 92614
U.S.A.

2°C / 8°C

Teléfono: (949) 645-2111
FAX: (949) 553-1231
Sitio web: www.biomerica.com
Correo electrónico: bmra@biomerica.com

de acuerdo con IVDD 98/79/ EC
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
D-30175 Hannover
Alemania

67023-11_spa.doc

enero 2018