

ENSAYO DE BIOMARCADORES  
EN LA CLÍNICA

gama *Speed*<sup>TM</sup>  
Biomarker

# MANUAL TÉCNICO



*Speed Reader*<sup>TM</sup>

*Speed*<sup>TM</sup> Cortisol 

Construyendo el futuro  
de la salud animal

*Virbac*



## **PARTE I**

<b>Hormonas esteroideas</b>	<b>3</b>
Fisiología	3

## **HIPERADRENOCORTICISMO CANINO**



### **SÍNDROME DE CUSHING** **4**

<b>Etiología y epidemiología</b>	<b>5</b>
----------------------------------	----------

<b>Signos clínicos y hallazgos laboratoriales</b>	<b>6</b>
---	----------

<b>Diagnóstico y seguimiento del tratamiento</b>	<b>7</b>
--	----------

A. Evaluación de la función adrenal con la prueba de estimulación con ACTH	7
--	---

B. Pruebas endocrinas para monitorizar el tratamiento	8
---	---

C. Factores que afectan al cortisol y pruebas adrenal-hipófisis	8
---	---

<b>Bibliografía</b>	<b>9</b>
---------------------	----------

## **HIPOADRENOCORTICISMO CANINO**



### **ENFERMEDAD DE ADDISON** **10**

<b>Etiología y epidemiología</b>	<b>11</b>
----------------------------------	-----------

<b>Signos clínicos y hallazgos laboratoriales</b>	<b>12</b>
---	-----------

<b>Diagnóstico</b>	<b>13</b>
--------------------	-----------

Evaluación de la función adrenal e hipofisaria con pruebas endocrinas	13
---	----

<b>Bibliografía</b>	<b>13</b>
---------------------	-----------

## **PARTE II**

### **EVALUACIÓN ADRENAL EN LA CLÍNICA** **14**

<b><i>Speed</i><sup>™</sup> Cortisol</b>	<b>15</b>
--	-----------

Especificaciones del Test	15
---------------------------	----

Especificaciones de uso	17
-------------------------	----

Prueba de estimulación con ACTH - Algoritmo	18
---	----

Validación del método	19
-----------------------	----

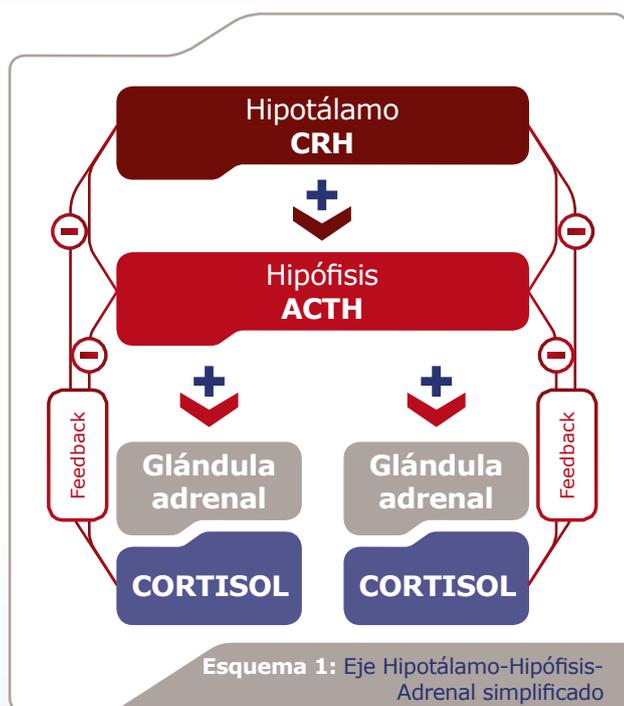
# Hormonas esteroideas

## Fisiología



### » Eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal

Las hormonas esteroideas son segregadas por las glándulas adrenales bajo la monitorización del eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal (Eje HHA). La Hormona Liberadora de Corticotropina (CRH) segregada por el hipotálamo controla la síntesis y secreción de la hormona adrenocorticotropa (ACTH) en la hipófisis. En consecuencia, ACTH coordina la actividad de las glándulas adrenales y, principalmente, la producción de cortisol y corticosterona. Las concentraciones plasmáticas de cortisol generan un efecto de retroalimentación negativa sobre la hipófisis y el hipotálamo, regulando así la producción de CRH y ACTH <sup>4</sup>.



### » Glándulas adrenales

Las glándulas adrenales, localizadas cerca del polo craneal de los riñones, tienen tres unidades funcionales que segregan catecolaminas (médula), aldosterona (zona glomerulosa) y glucocorticoides (zona fasciculada y reticular). **En perros, el cortisol es el principal glucocorticoide producido con diversas acciones sobre todos los tejidos corporales** <sup>6, 8</sup>. El cortisol se transporta en la sangre asociado a varias proteínas, y solo la fracción libre (no unida a proteínas) puede penetrar en las células diana. El cortisol libre representa alrededor del 10% de la concentración de cortisol total <sup>4</sup>.

El tipo de secreción episódica de CRH y ACTH hace que haya concentraciones variables de cortisol a lo largo del día que no siguen ningún ciclo circadiano <sup>1</sup>. En consecuencia, los valores basales aislados de cortisol no son demasiado

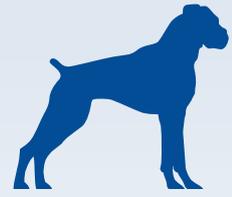
útiles para evaluar el eje HHA. Sin embargo, la medición de los niveles de cortisol en asociación con pruebas de hormonas esteroideas se asocian al diagnóstico y manejo del tratamiento de las enfermedades adrenales e hipofisarias.

### » EN ESENCIA

- **El cortisol es el principal glucocorticoide producido por las glándulas adrenales**
- Los niveles de cortisol son un reflejo de la **función de las glándulas adrenales y la hipófisis (eje HHA)**
- Las concentraciones de cortisol están asociadas con el **diagnóstico y manejo del tratamiento** de las enfermedades de Cushing y Addison

# HIPERADRENOCORTICISMO CANINO

## Síndrome de Cushing



# Etiología y epidemiología



El hiperadrenocorticismismo (HAC) es la asociación de distintos trastornos que se producen debido a unas **concentraciones excesivas crónicas de glucocorticoides**.

## » Etiología

- **HIPERADRENOCORTICISMO DEPENDIENTE DE LA HIPÓFISIS (HDH)** Representa entre el **80% y 85%** de los casos y es consecuencia de una producción excesiva de ACTH causada por<sup>6</sup>:

### 1. Tumores hipofisarios

- a. Microadenomas (<10mm) o Macroadenomas (>10mm)
- b. Adenocarcinoma (incidencia escasa)

### 2. Hiperplasia (idiopática): Escasa incidencia

A pesar de las causas diferentes de HDH, la presentación clínica sigue siendo la misma. La liberación excesiva de ACTH causa una hiperplasia de la corteza adrenal bilateral<sup>2, 7</sup> y una sobreproducción de cortisol y hormonas sexuales.

- **HIPERADRENOCORTICISMO POR TUMOR ADRENAL (TA)** Los tumores adrenales funcionales segregan cortisol de forma independiente al eje HHA. Los niveles plasmáticos excesivos de cortisol causan la supresión de CRH y ACTH mediante el control por retroalimentación negativa. El déficit crónico de ACTH acaba causando una atrofia de la glándula adrenal saludable (corteza adrenal).

### 1. Tumores Adrenales Unilaterales (raramente bilaterales)

- a. Adenomas
- b. Carcinomas

### 2. Hiperplasia Nodular (incidencia escasa)

- **HIPERADRENOCORTICISMO YATROGÉNICO**

## » Epidemiología

**Edad:** Los perros con HAC suelen ser **mayores de 6 años**.

**Razas en riesgo: TODAS** las razas pueden sufrir HAC, pero las más predispuestas son Caniches, Bóxers, Téckels y los Terriers. Las razas grandes presentan tumores adrenales con más frecuencia mientras que las pequeñas tienen más tendencia a HDH<sup>6, 13</sup>.

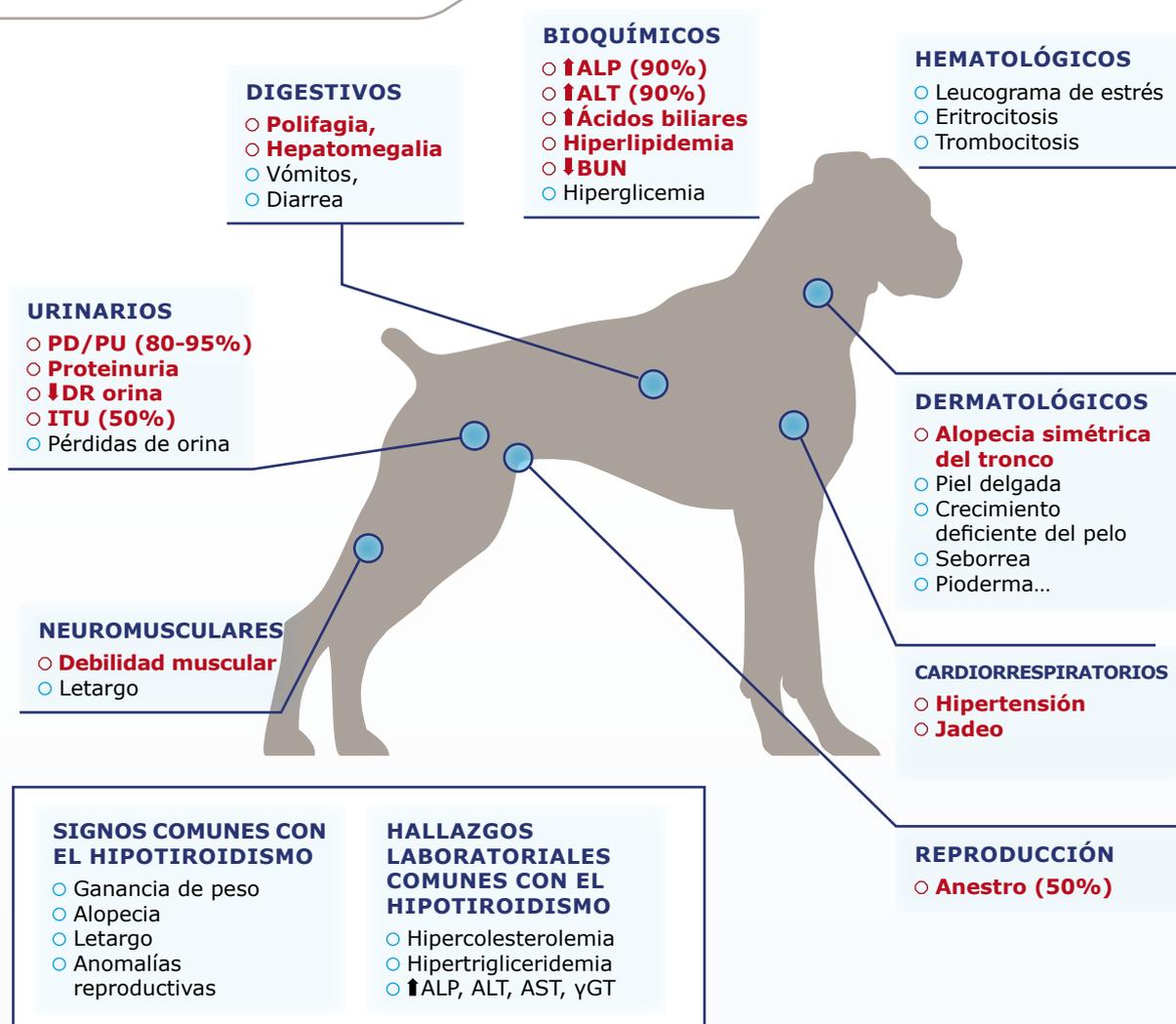
**Sexo:** Se ha descrito una mayor frecuencia de HAC en las **hembras**, sobre todo tumores adrenales.

# Signos clínicos y hallazgos laboratoriales



El hiperadrenocorticismismo tiene muchas consecuencias metabólicas profundas debido a los efectos del exceso de corticosteroides circulantes. Los síntomas clínicos suelen ser vagos y tienen un comienzo sutil.

Poliuria y polidipsia (PU/PD), polifagia, agrandamiento abdominal, debilidad muscular y alopecia (normalmente del tronco y simétrica bilateral) se encuentran entre los hallazgos clínicos más comunes. Otros síntomas dermatológicos incluyen alteraciones en la calidad del pelo, piel delgada, incapacidad de crecimiento de nuevo pelo, comedones y seborrea. En cuanto a los hallazgos hematológicos, es común hallar leucograma de estrés (linfopenia, neutrofilia, eosinopenia) debido a los niveles elevados de cortisol, eritrocitosis y trombocitosis. Las anomalías bioquímicas incluyen el incremento de la fosfatasa alcalina, que aparece en alrededor del 90% de los casos, incremento de la ALP, ácidos biliares e hiperlipidemia (trastorno hepático). Los signos comunes del tracto urinario incluyen proteinuria, baja densidad relativa de la orina e infecciones del tracto urinario (50%).



Esquema 2: Principales signos clínicos y hallazgos laboratoriales del hiperadrenocorticismismo <sup>3,6</sup>

# Diagnóstico y seguimiento del tratamiento



El hiperadrenocorticismismo está incluido en el diagnóstico diferencial cuando hay síntomas compatibles y hallazgos relacionados en la exploración física y hallazgos laboratoriales.

**La medición de una sola concentración basal de cortisol no es fiable para la evaluación de la función de la glándula adrenal**, puesto que los valores de los perros sanos y afectados suelen solaparse debido a la naturaleza pulsátil de la secreción de cortisol durante el día. En consecuencia, se utilizan pruebas endocrinas específicas para la confirmación del diagnóstico<sup>1, 6, 12</sup>. Los resultados de las pruebas endocrinas son muy útiles para el abordaje diagnóstico, pero el diagnóstico definitivo debería tener siempre en cuenta la historia, síntomas y otros hallazgos de la exploración física y laboratoriales.

## » INDICACIONES DE LAS PRUEBAS ENDOCRINAS ESPECÍFICAS:

- **Diagnóstico:** Confirmar o descartar el diagnóstico en presencia de síntomas
- **Cribaje:** Evaluar la función adrenal tras la identificación accidental de una masa adrenal o hipofisaria
- **Discriminación:** Diferenciar entre HDH y Tumores adrenales
- **Monitorización del tratamiento:** Seguimiento tras la administración de fármacos

## A. EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ADRENAL CON LA PRUEBA DE ESTIMULACIÓN CON ACTH

La prueba de estimulación con ACTH evalúa la **respuesta de la corteza adrenal frente la administración exógena de ACTH**.

**Los perros con el síndrome de Cushing segregan cantidades excesivas de cortisol** y presentan una respuesta exagerada en comparación con los perros sanos. **Alrededor del 85% de los perros con HDH y un 60% de los perros con TA tendrán respuestas de cortisol elevadas**<sup>6, 12, 13</sup>.

**LOS VALORES POSITIVOS SON ALTAMENTE SUGESTIVOS DE HAC, SOBRE TODO EN PERROS SIN ENFERMEDADES CONCURRENTES**

Además, **la prueba con ACTH es el patrón de oro para el diagnóstico de HAC yatrogénico**, porque evalúa la capacidad de las glándulas adrenales para producir glucocorticoides.

La prueba de estimulación con ACTH es breve, fácil de realizar en la clínica, y está afectada por menos variables que otras pruebas. Sin embargo, los perros con enfermedad no adrenal (ENA) pueden tener niveles elevados de cortisol que a veces se superponen con los del hiperadrenocorticismismo<sup>6, 12</sup>. Asimismo, progestágenos, glucocorticoides y ketoconazol suprimen las respuestas a la ACTH<sup>1</sup>.

### Protocolo

Se administra ACTH sintética por vía IV o IM y se obtienen muestras de sangre antes y después de la administración de ACTH, normalmente una hora después. **Los niveles elevados de cortisol post ACTH son compatibles con HAC.**

# Diagnóstico y seguimiento del tratamiento



## B. PRUEBAS ENDOCRINAS PARA MONITORIZAR EL TRATAMIENTO

La medición de los niveles de cortisol después del comienzo del tratamiento es muy importante porque permite adaptar las dosis a las necesidades individuales de cada perro. **La prueba de estimulación con ACTH** es la única prueba recomendada para la monitorización del tratamiento, con el mismo protocolo que para el diagnóstico de la enfermedad.

Los tratamientos utilizados habitualmente son el trilostano y el mitotano. Las indicaciones para comenzar y el proceso difieren en función del tratamiento elegido y deberían estar en línea con las recomendaciones del fabricante del fármaco.

## C. FACTORES QUE AFECTAN AL CORTISOL Y A LAS PRUEBAS ADRENAL-HIPÓFISIS

### » Fármacos

El factor más importante que puede afectar a la medición del cortisol es la administración de glucocorticoides. Los glucocorticoides exógenos afectan a los resultados de las pruebas dinámicas por dos vías:

- Interferencia con la medición de cortisol (prednisona, prednisolona, hidrocortisona)
- Supresión del eje hipófisis-adrenal (prednisona, prednisolona, hidrocortisona)<sup>9, 10, 11</sup>

Por lo tanto, debería suspenderse el tratamiento con glucocorticoides al menos entre 24 y 48 horas antes de la medición del cortisol plasmático. En cuanto a la prueba de estimulación con ACTH, la administración de otros glucocorticoides debería cambiarse por la dexametasona ya que ésta no interfiere con la respuesta a la ACTH<sup>9, 10, 11</sup>.

### » Otros factores

Se ha demostrado que varias enfermedades no adrenales (ENA) pueden afectar a la medición del cortisol, causando niveles elevados. Además, las cirugías pueden incrementar la concentración de cortisol durante aproximadamente 24 horas, pero la anestesia no tiene efecto alguno<sup>3</sup>.

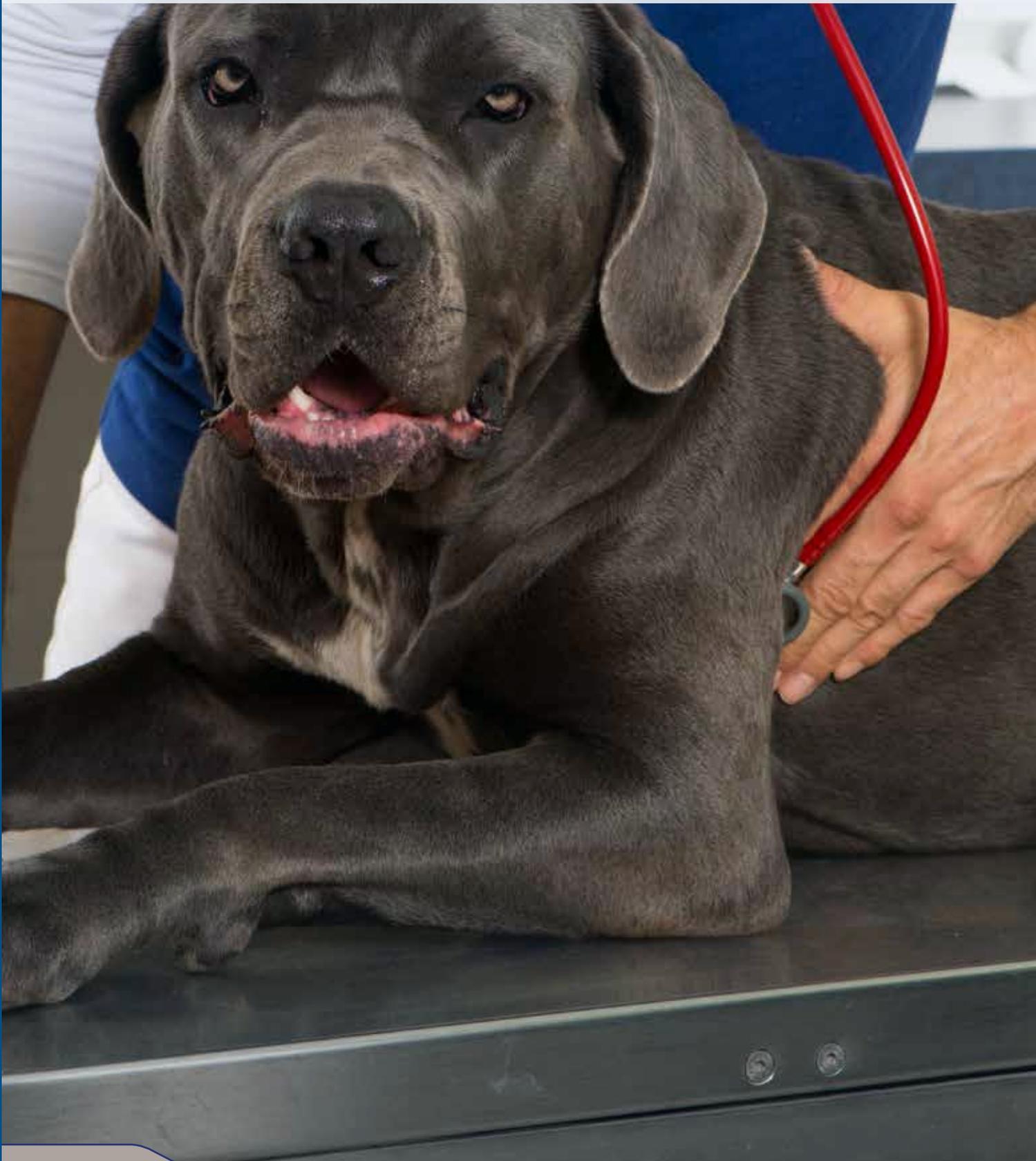
# Bibliografía



1. Behrend EN, Kooistra HS, Nelson R, Reusch CE, Scott-Moncrieff JC. Diagnosis of Spontaneous Canine Hyperadrenocorticism: 2012 ACVIM Consensus Statement (Small Animal). *J Vet Intern Med* 2013; 27:1292–1304.
2. Choi J, Kim H, Yoon J. Ultrasonographic Adrenal Gland Measurements in Clinically Normal Small Breed Dogs and Comparison with Pituitary-Dependent Hyperadrenocorticism. *J Vet Med Sci*. 2011; 73 : 985-9. Epub 2011 Apr.
3. Church DB, Nicholson AI, Ilkiw JE, Emslie DR. Effect of non-adrenal illness, anaesthesia and surgery on plasma cortisol concentrations in dogs. *Res Vet Sci*. 1994; 56:129-31.
4. Cunningham JG. *Textbook of Veterinary Physiology*. 1st Edition, 1992. ISBN : 0-7216-2306-9. WB Saunders Company, Philadelphia, PA 19106.
5. Ettinger SJ, Feldman EC. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 7th Edition, 2010. Saunders Elsevier, St Louis, Missouri. ISBN : 978-9996962837 (v.2)
6. Feldman EC, Nelson RW, Reusch C and Scott-Moncrieff JC. *Canine and Feline Endocrinology*. 4th Edition, 2015. Saunders Elsevier, St Louis, Missouri. ISBN : 978-1-4557-4456-5
7. Grooters AM, Biller DS, Theisen SK, Miyabayashi T. Ultrasonographic Characteristics of the Adrenal Glands in Dogs With Pituitary-Dependent Hyperadrenocorticism: Comparison With Normal Dogs. *J Vet Intern Med*. 1996; 10:110-5.
8. Kemppainen RJ, Behrend EN. Adrenal physiology. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1997; 27:173-86.
9. Kintzer PP, Peterson ME. Primary and secondary canine hypoadrenocorticism. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1997; 27:349-57.
10. Kintzer PP, Peterson ME. Treatment and long-term follow-up of 205 dogs with hypoadrenocorticism. *J Vet Intern Med*. 1997; 11:43-9.
11. Klein SC and Peterson ME. Canine hypoadrenocorticism : Part II. *Can Vet J*. 2010; 51 : 179–184.
12. Peterson ME. Diagnosis of Hyperadrenocorticism in Dogs. *Clin Tech Small Anim Pract*. 2007; 22:2-11.
13. Reusch CE, Feldman EC. Canine Hyperadrenocorticism Due to Adrenocortical Neoplasia: Pretreatment Evaluation of 41 Dogs. *J Vet Intern Med*. 1991; 5:3.

# HIPOADRENOCORTICISMO CANINO

## Enfermedad de Addison



# Etiología y epidemiología



El hipoadrenocorticismismo es el déficit grave de síntesis adrenocortical de hormona y no es una enfermedad común en perros y gatos.

## » ETIOLOGÍA

**HIPOADRENOCORTICISMO PRIMARIO.** Representa más del **95%** de los casos clínicos y es consecuencia de una disfunción glandular adrenal bilateral. Cuando se observan signos clínicos, ya se ha afectado más del 90% de la corteza adrenal<sup>3, 4</sup>:

### 1. Disfunción o atrofia hipofisaria (todas las zonas de las glándulas adrenales)

- a. Idiopática: Inmunomediada
- b. Yatrogénica: Perros tratados para hiperadrenocorticismismo con mitotano, trilostano, ketoconazol (normalmente reversible)

### 2. Linfoma u otros tipos de neoplasia: Escasa incidencia

**Falta** de glucocorticoides y mineralocorticoides (aldosterona), aunque algunos perros solo desarrollan déficit de glucocorticoides

**HIPOADRENOCORTICISMO SECUNDARIO.** Consecuencia de un déficit crónico de ACTH que causa atrofia de las glándulas adrenales, mayoritariamente de la corteza adrenal.

1. Yatrogénico: Interrupción súbita del tratamiento con glucocorticoides
2. Tumores o lesiones hipofisarios o hipotalámicos: Escasa incidencia
3. Congénito: Escasa incidencia

**Mayoritariamente se observa déficit de glucocorticoides** porque la excreción de mineralocorticoides está controlada por las concentraciones de renina y potasio circulantes.

## » Epidemiología

**Edad:** Perros jóvenes y de mediana edad, de **menos de 6 años**.

**Razas en riesgo:** Caniche, Bearded Collie (predilección genética), Retrievers, Gran Danés<sup>3</sup>, etc.

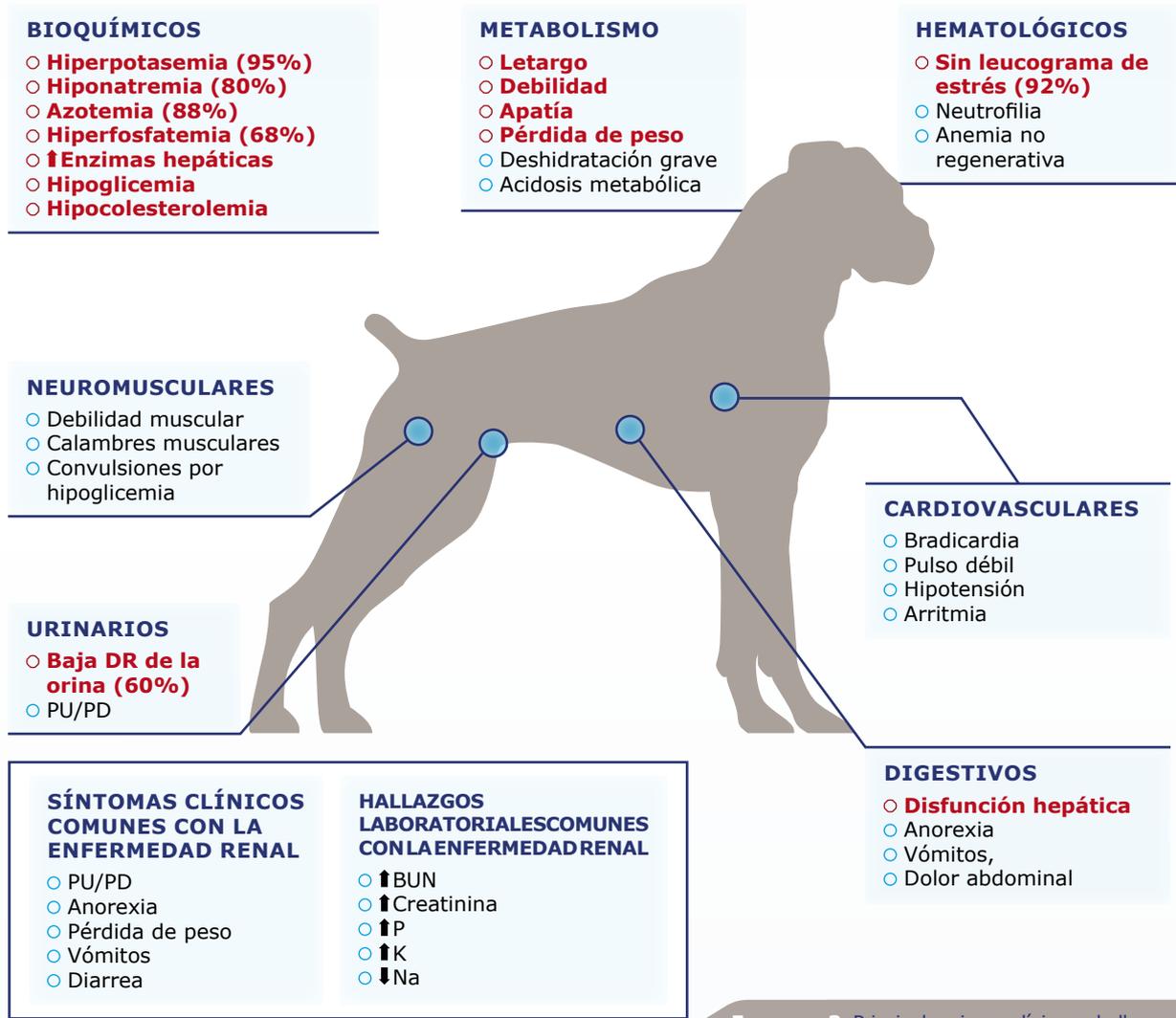
**Sexo:** Se ha descrito una mayor frecuencia de hipoadrenocorticismismo en las **hembras**.



# Signos clínicos y hallazgos laboratoriales



La mayoría de los perros presenta un comienzo crónico de signos inespecíficos que también pueden ser intermitentes y que con frecuencia se vuelven más aparentes tras un incidente estresante. Además, el colapso agudo es bastante frecuente en perros presentados a la clínica con episodios de deshidratación, hipotermia, vómitos y diarrea.



Esquema 3: Principales signos clínicos y hallazgos laboratoriales del hipoadrenocorticismio<sup>2, 3, 4</sup>



## Diagnóstico

### Evaluación de las funciones adrenal e hipofisaria con pruebas endocrinas



El diagnóstico solo puede confirmarse con la evaluación del eje HHA. Los perros con hipoadrenocorticismismo presentan una respuesta adrenal inadecuada cuando se someten a pruebas endocrinas e incluso suelen tener concentraciones basales de cortisol muy bajas<sup>1, 3, 4</sup>.

#### » Prueba de estimulación con ACTH

**Se la considera como el patrón de oro para el diagnóstico de la enfermedad de Addison en perros.** El protocolo realizado habitualmente consiste en la administración IV de ACTH sintética. Existen dos protocolos, con dosis bajas y elevadas de ACTH, con rendimientos equivalentes<sup>5, 6</sup>. Como para el diagnóstico de hiperadrenocorticismismo, se necesitan dos muestra de sangre, antes y una hora después de la administración de ACTH.

#### » Concentraciones basales de cortisol

Unos simples niveles bajos de cortisol no pueden confirmar el diagnóstico debido a las fluctuaciones diurnas de las concentraciones de cortisol en reposo. Sin embargo, los perros con hipoadrenocorticismismo suelen presentar niveles basales muy bajos. Como informan los estudios que evalúan el interés de las concentraciones basales para el diagnóstico de la enfermedad, una línea de corte de la concentración basal de cortisol en 28 nmol/L permitió detectar de forma satisfactoria a la gran mayoría de los perros con hipoadrenocorticismismo (sensibilidad: entre 86 y 100%) con una especificidad muy elevada de entre el 92 y 98%. Una línea de corte en 55 nmol/L tuvo una sensibilidad y especificidad del 100% y entre el 63 y 78% respectivamente<sup>1, 7</sup>.

**En general, unos niveles basales de cortisol normales sirven para descartar la enfermedad porque es muy improbable que los perros con hipoadrenocorticismismo tengan valores normales<sup>7</sup>.**

#### » Cociente cortisol / hormona adrenocorticotropa

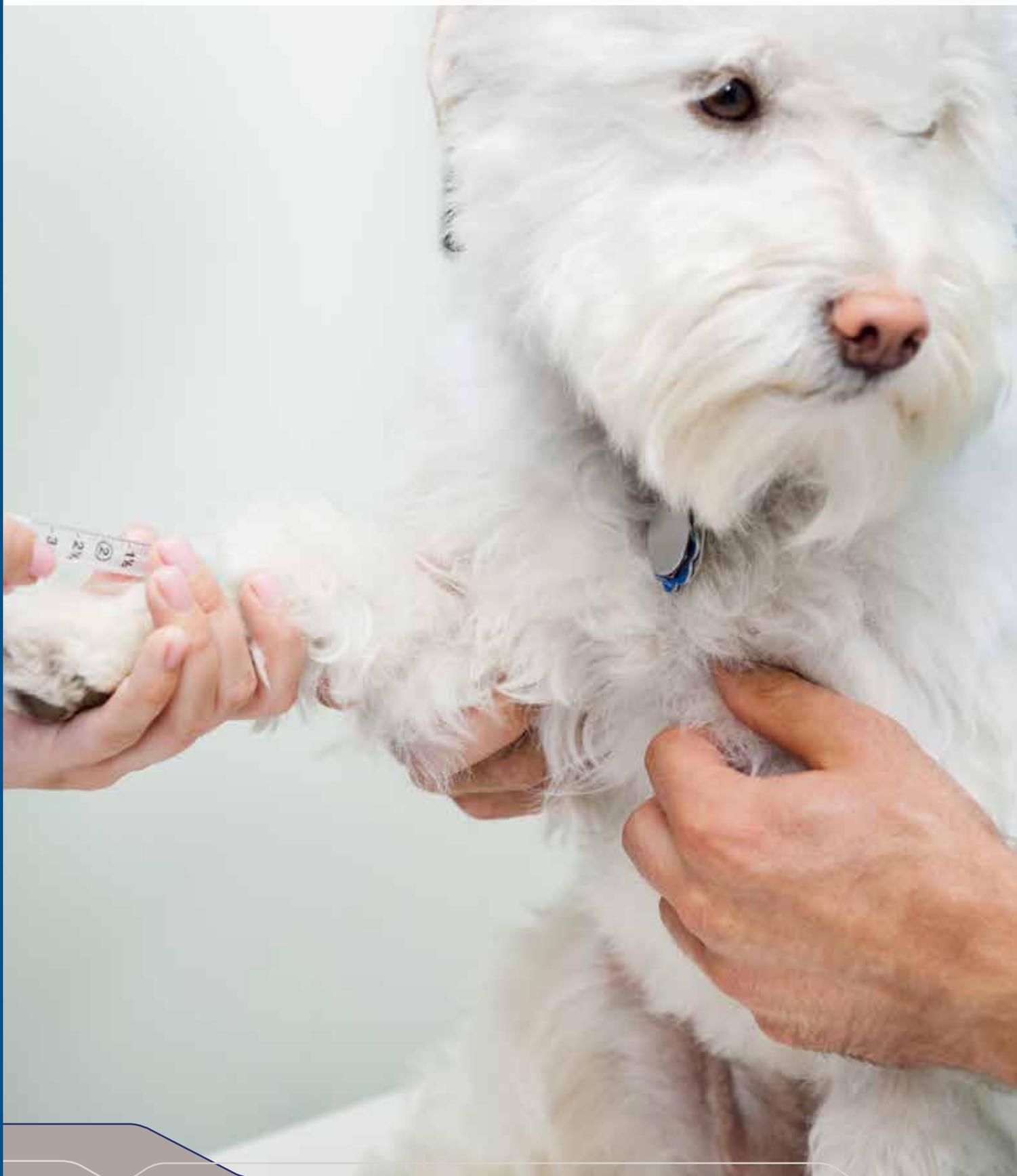
Otra prueba consiste en la medición del cociente entre el cortisol y ACTH, que también se ha demostrado que es útil para la detección de la enfermedad<sup>3, 5, 8</sup>.

## Bibliografía

1. Bovens C, Tennant K, Reeve J, Murphy KF. Basal Serum Cortisol Concentration as a Screening Test for Hypoadrenocorticism in Dogs. *J Vet Intern Med.* 2014; 28:1541-1545
2. Ettinger SJ, Feldman EC. *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* 7th Edition, 2010. Saunders Elsevier, St Louis, Missouri. ISBN : 978-9996962837 (v.2)
3. Feldman EC, Nelson RW, Reusch C and Scott-Moncrieff JC. *Canine and Feline Endocrinology.* 4th Edition, 2015. Saunders Elsevier, St Louis, Missouri. ISBN : 978-1-4557-4456-5
4. Kintzer PP, Peterson ME. Primary and secondary canine hypoadrenocorticism. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1997; 27:349-57.
5. Klein SC and Peterson ME. Canine hypoadrenocorticism : Part II. *Can Vet J.* 2010; 51 : 179-184.
6. Lathan P, Moore GE, Zambon S, Scott-Moncrieff JC. Use of a Low-Dose ACTH Stimulation Test for Diagnosis of Hypoadrenocorticism in Dogs. *J Vet Intern Med.* 2008; 22:1070-1073
7. Lennon EM, Boyle TE, Hutchins RG, Friedenthal A, Correa MT, Bissett SA, Moses LS, Papich MG, Birkenheuer AJ. Use of basal serum or plasma cortisol concentrations to rule out a diagnosis of hypoadrenocorticism in dogs : 123 cases (2000-2005). *J Am Vet Med Assoc.* 2007 ;231:413-6.
8. Van Lanen K, Sande A. Canine Hypoadrenocorticism: Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment. *Top Companion Anim Med.* 2014; 29:88-95.

# *Speed*<sup>™</sup> Cortisol

## EVALUACIÓN ADRENAL EN LA CLÍNICA



# Speed™ Cortisol

## Especificaciones del Test



### » Introducción

#### » Speed Reader™

Speed Reader™ es un instrumento de lectura de fluorescencia semiautomático y portátil para la medición de la concentración de biomarcadores específicos en la sangre de distintas especies. La concentración de cada marcador se mide indirectamente mediante la intensidad de una señal fluorescente producida por la mezcla de la muestra con el reactivo.

**Speed Reader™ convierte la intensidad de la señal fluorescente en un valor cuantitativo y lo muestra como resultado del test.**

Speed Reader™ se ha calibrado para un uso veterinario y solo debe utilizarse junto con tests de inmunoensayo compatibles que se basen en la reacción antígeno-anticuerpo y la tecnología de la fluorescencia.

#### » Speed™ Cortisol

Speed™ Cortisol es un test rápido cuantitativo que permite el análisis del cortisol circulante mediante el análisis de la fluorescencia inducida por láser.

**RANGO DINÁMICO DE  
Speed™ CORTISOL**

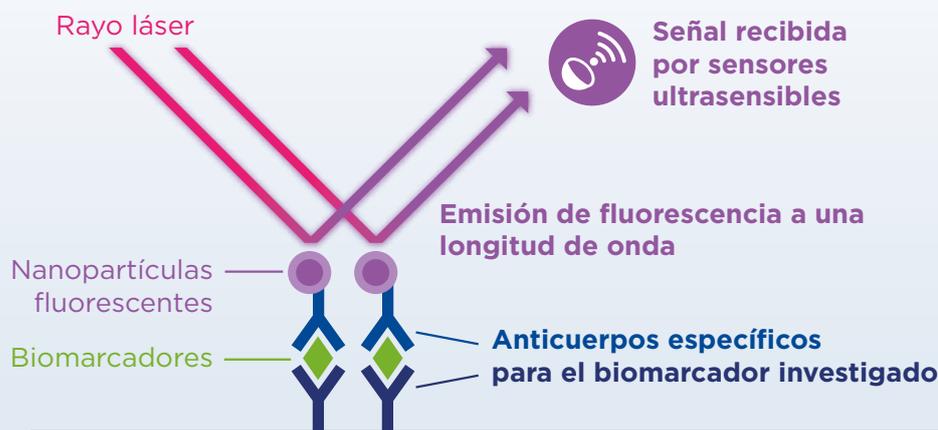
**Entre 30 nmol/l y 800 nmol/l**  
(Entre 1,09 Qg/dl y 28,96 Qg/dl)

### » Principio esencial del inmunoensayo

Los inmunoensayos son métodos bioanalíticos en los que la medición cuantitativa de biomarcador depende de la reacción de un antígeno (el biomarcador que se busca) y un anticuerpo.

**Esencialmente, el método se basa en la reacción de unión de una cantidad específica de un anticuerpo marcado con la cantidad del antígeno de la muestra (biomarcador que se busca).**

El marcador se une a los anticuerpos marcados con un colorante fluorescente, formando un complejo Marcador-Anticuerpo. El complejo se fija sobre la membrana del test en unos puntos de unión específicos. El análisis se completa midiendo la actividad fluorescente inducida por el láser en los puntos de unión.





### »» Requisitos de la muestra

#### »» Muestra

Speed™ Cortisol puede utilizarse con muestras de **suero** (tubo seco).

No se han evidenciado interferencias por hemólisis o hiperlipemia.

#### »» Conservación

Las muestras pueden utilizarse directamente después de su centrifugación o puede transferirse el suero a un nuevo tubo seco, y conservarlo para utilizarlo más tarde.

○ Las muestras de suero pueden conservarse en un frigorífico (entre 2 y 8 °C) hasta 7 días

○ Pasados 7 días, conservadas en congelador (-20 °C)

Las muestras almacenadas deberían dejarse volver a la temperatura ambiente (18-27 °C) y centrifugarse antes del análisis.

### »» Instrucciones para antes del análisis

#### »» Transferencia de la muestra

Las muestras deberían transferirse **únicamente con la micropipeta de 50 µl proporcionada** y siguiendo las instrucciones para un uso apropiado de la pipeta.

#### »» Puntos a comprobar

**PRESENCIA DE BURBUJAS DE AIRE:** Debe presionarse el pistón de la pipeta ANTES de insertar la punta de la pipeta en el tubo de la muestra. En caso contrario, la micropipeta podría aspirar burbujas de aire que afectarían al volumen de muestra aspirada.

**FORMACIÓN DE FIBRINA:** Un tiempo no apropiado para la coagulación o centrifugación de la muestra o unas condiciones de conservación de la muestra (frigorífico o -20 °C) pueden contribuir a la presencia de hebras de fibrina en el suero o plasma. Esto puede generar resultados erróneos del test por el taponamiento de la pipeta y un volumen reducido de la muestra aspirada. En este caso, se recomienda volver a centrifugar las muestras.

# Speed™ Cortisol

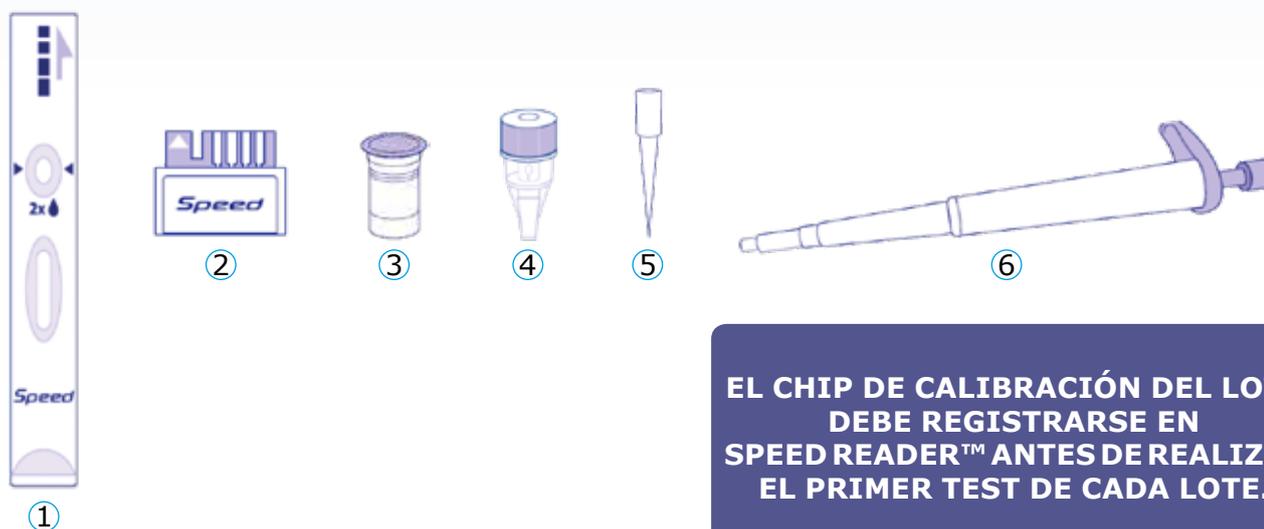
## Especificaciones de uso



Speed™ Cortisol no puede interpretarse visualmente, debiendo ser leído únicamente con el analizador Speed Reader™.

### » Materiales

- 1 placa de test,
- 2 chip de calibración del lote,
- 3 1 tubo de reactivo,
- 4 1 tapón cuentagotas,
- 5 1 punta de pipeta y
- 6 micropipeta de 50.



**EL CHIP DE CALIBRACIÓN DEL LOTE DEBE REGISTRARSE EN SPEED READER™ ANTES DE REALIZAR EL PRIMER TEST DE CADA LOTE.**

### » Aplicación de la muestra

El reactivo y la placa del test deberían alcanzar la temperatura ambiente (entre 18 y 27 °C) **durante un mínimo de 30 minutos antes de utilizarlos.**

Transferir **50 µl de suero** al tubo de reactivo con la ayuda de la micropipeta.

La mezcla debe dejarse reposar durante **5 minutos** (tiempo de incubación). Este paso es extremadamente importante y **debe respetarse el tiempo de incubación exacto.**

**Cualquier alteración del volumen de reactivo o del tiempo de incubación puede causar resultados erróneos de la prueba.**

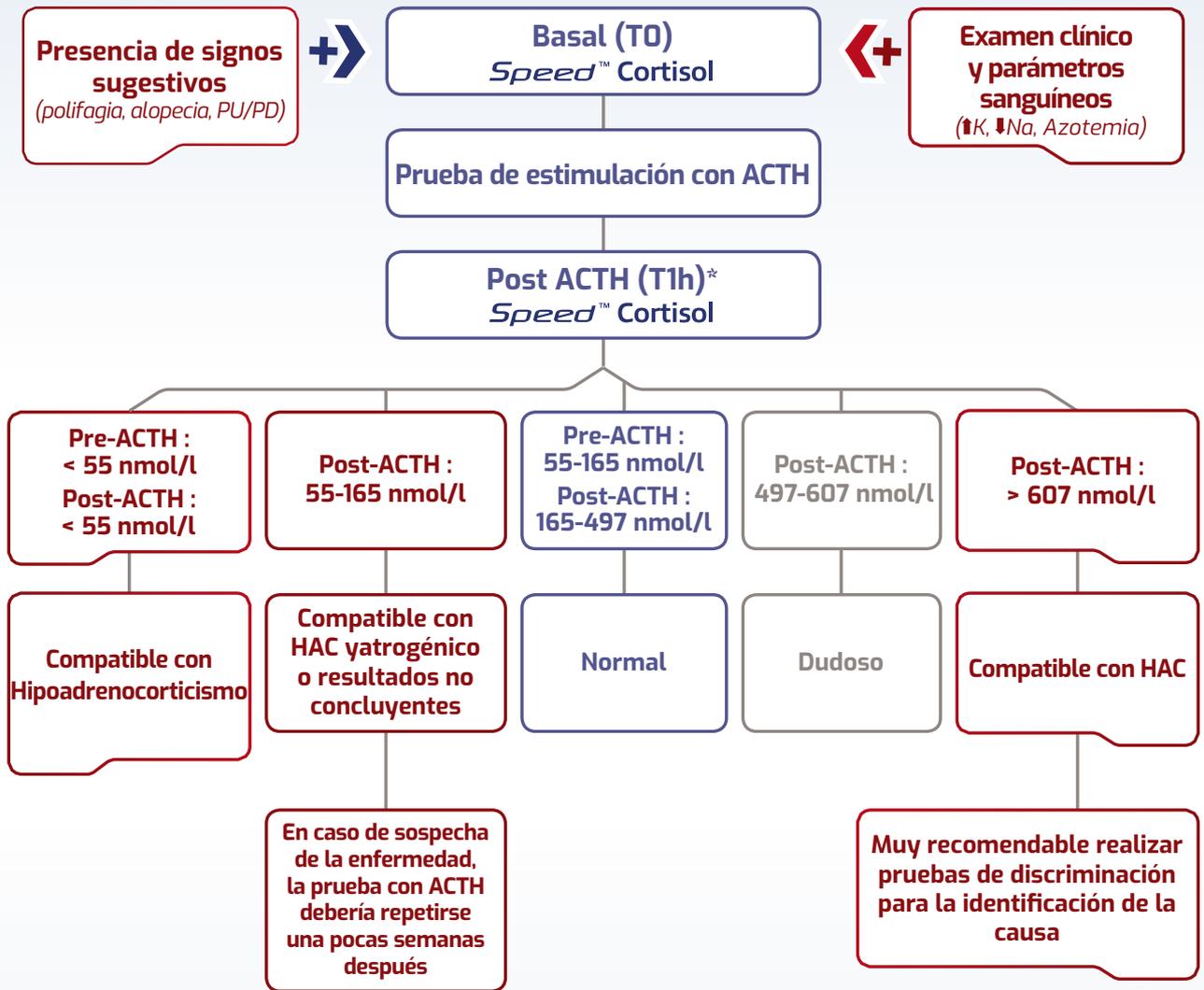
Tras el periodo de incubación, deben desecharse las 2 primeras gotas de la mezcla para limpiar el espacio muerto. Tras retirar completamente la placa de Speed Reader™, añadir las siguientes **2 gotas en el pocillo para muestra**, mientras se sostiene el vial **VERTICALMENTE.**

No debe conservarse el resto de la mezcla para análisis posteriores.



# Speed™ Cortisol

## Prueba de estimulación con ACTH - Algoritmo



### » CAUSAS DE RESULTADOS NO CONCLUYENTES

- o ACTH (conservación, administración, dosis)
- o Toma de muestras

\*HAC: Hiperadrenocorticismo

\*Conversión: 1 µg/dl = 27,59 nmol/l

\*De acuerdo con la preparación médica de ACTH y la ruta de administración, el tiempo de medición después de la ACTH puede variar ligeramente (p. ej. gel ACTH: T1h + T2h)

Estas recomendaciones son solo una guía. La interpretación por parte del veterinario debería tener siempre en cuenta la historia, exploración clínica y cualquier otra prueba de diagnóstico adicional o factores que pudieran afectar los resultados.

# Speed™ Cortisol

## Validación del método



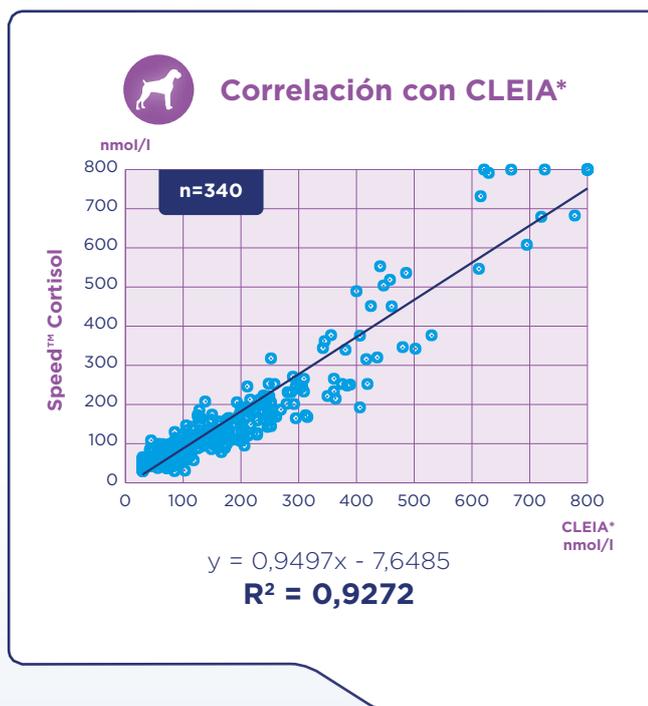
El inmunoensayo Speed™ Cortisol en la clínica fue validado para la medición de cortisol circulante en sangre en perros, en comparación con el método de laboratorio, inmunoensayo con enzimas quimioluminiscentes (CLEIA; IMMULITE® 2000, Siemens).

### » Objetivo

El objetivo de este estudio era comparar los resultados producidos por Speed™ Cortisol con los obtenidos mediante CLEIA, que sirvieron como método de referencia.

### » Materiales y método

Se midió el cortisol en **340 muestras clínicas de sangre de perros** antes y después de una prueba de estimulación con ACTH o Prueba de Supresión con Dexametasona a Dosis Bajas (PSDDDB). Las muestras analizadas con CLEIA, en el laboratorio de patología clínica, VetAgro Sup de Lyon, también fueron analizadas con Speed™ Cortisol.



### » Resultados y conclusión

**La correlación ( $R^2$ ) fue de 0,92, lo que indica una congruencia excelente entre ambos sistemas de análisis.**

El nuevo ensayo inmunocromatográfico para la clínica Speed™ Cortisol tiene una excelente correlación con el inmunoensayo con enzimas quimioluminiscentes y puede considerarse como prueba fiable para la medición de cortisol en la clínica.

Fuente: Loukeri, E. Claret, J. Morlet. BVT, La Seyne sur Mer, Francia. PERFORMANCE EVALUATION OF AN IN-CLINIC IMMUNOASSAY (SPEED CORTISOL™) FOR THE MEASUREMENT OF CIRCULATING CORTISOL IN DOGS. Póster presentado en el 18º congreso anual europeo de ESVCP, Nantes, 19-22 de octubre de 2016.

\*Inmunoensayo con enzimas quimioluminiscentes



Construyendo el futuro  
de la salud animal

