

# Product information

Information about other products is available at: [www.demeditec.com](http://www.demeditec.com)

---



User's Manual

# Cortisol RIA



**DE28100**



**100 tubes**



Demeditec Diagnostics GmbH  
Lise-Meitner-Strasse 2  
24145 Kiel – Germany  
[www.demeditec.com](http://www.demeditec.com)

---

**Table of Content / Inhaltsverzeichnis**

|  |    |
|--|----|
| 1. VERWENDUNGSZWECK.....                     | 3  |
| 2. EINLEITUNG .....                          | 3  |
| 3. TESTPRINZIP .....                         | 3  |
| 4. MITGELIEFERTE REAGENZIEN.....             | 3  |
| 5. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL.....       | 3  |
| 6. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN.....          | 4  |
| 7. PROBENSAMMLUNG UND LAGERUNG .....         | 4  |
| 8. TESTDURCHFÜHRUNG .....                    | 4  |
| 9. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE.....            | 5  |
| 10. ASSAY CHARAKTERISTIKA .....              | 6  |
| 11. ZUSATZINFORMATIONEN .....                | 7  |
| 12. WARN- UND SICHERHEITSHINWEISE .....      | 7  |
| <br>   |    |
| 1. DESCRIPTION .....                         | 8  |
| 2. INTRDODUCTION .....                       | 8  |
| 3. PRINCIPLE OF THE METHOD.....              | 8  |
| 4. CONTENTS OF THE KIT .....                 | 8  |
| 5. MATERIALS AND EQUIPMENT REQUIRED.....     | 8  |
| 6. PREPARATION OF REAGENTS.....              | 9  |
| 7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE .....     | 9  |
| 8. ASSAY PROCEDURE.....                      | 9  |
| 9. CALCULATION OF RESULTS.....               | 9  |
| 10. CHARACTERIZATION OF THE ASSAY.....       | 10 |
| 11. ADDITIONAL INFORMATION.....              | 11 |
| 12. PRECAUTIONS AND WARNINGS .....           | 12 |
| <br>   |    |
| 13. SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS ..... | 12 |

## 1. VERWENDUNGSZWECK

Der <sup>125</sup>I Cortisol Assay dient der quantitativen *in vitro* Bestimmung von Cortisol in humanem Serum. Das Cortisol hat einen Messbereich von 0-1600 nmol/l (0 – 580 ng/ml). Jede Kit-Packung enthält ausreichende Reagenzien für insgesamt 100 Bestimmungen, was die Anfertigung einer Standardkurve sowie die Bestimmung von 42 Unbekannten und einer Kontrolle in Duplikaten erlaubt.

## 2. EINLEITUNG

Cortisol ist das Hauptglukokortikoid welches in der Nebennierenrinde produziert wird. Es reguliert den Kohlenhydrat-, Protein-, Fett und Purin Stoffwechsels sowie das Elektrolyt- und Wassergleichgewicht. Cortisol spielt außerdem bei der Regulation des Blutdrucks und der Auflösung von Entzündungen eine Rolle.

Die Bestimmung des Cortisol Spiegels kann für die Diagnose von funktionalen Störungen der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-(HPA)-Achse herangezogen werden.

In gesunden Individuen folgt die Cortisol Sekretion einem charakteristischen Rhythmus: Morgens ist der Cortisol Spiegel am höchsten während er am Abend ungefähr auf die Hälfte absinkt.

## 3. TESTPRINZIP

Dieser Assay basiert auf der Kompetition von unmarkiertem Cortisol und einer fixierten Menge an <sup>125</sup>I-markiertem Cortisol um eine begrenzte Anzahl an Bindungsstellen eines Cortisol spezifischen Antikörpers. Da eine fixe Anzahl an Tracern und Antibody mit verschiedenen Mengen an unmarkiertem Liganden reagieren können, ist die Anzahl der Tracer die an den Antikörper gebunden haben invers proportional zu der Konzentration von unmarkiertem Liganden.

Die Immunkomplexe werden während einer zwei stündigen Inkubationszeit auf dem Schüttler an die reaktive Oberfläche der beschichteten Teströhrchen gebunden. Das Reaktionsgemisch wird anschließend verworfen und die Radioaktivität in einem Gamma-Counter Messgerät gemessen.

Die Antigenkonzentration ist invers proportional zu der gemessenen Radioaktivität in den Teströhrchen. Anhand der mitgelieferten Kalibratoren und deren definierten Konzentrationen wird eine Eichkurve erstellt und aus dieser die Cortisol Konzentrationen der unbekanntes Patientenproben ermittelt.

## 4. MITGELIEFERTE REAGENZIEN

- |                   |  |
|-------------------|--|
| <b>1 x 55 ml</b>  | <b>Cortisol</b> <b>I-125</b> TRACER<br>Gebrauchsfertig. Enthält < 260 kBq <sup>125</sup> I-Cortisol in Puffer mit 0.1 % NaN <sub>3</sub> |
| <b>6 x 0.5 ml</b> | <b>CAL 1-6</b> KALIBRATOREN<br>Gebrauchsfertig. Enthalten 0, 40, 100, 250, 650, 1600 nmol/l Cortisol in Serum mit 0.1 % NaN <sub>3</sub> |
| <b>1 x 55 ml</b>  | <b>ANTISERUM</b> ,<br>Gebrauchsfertig. Enthält polyklonales anti-Cortisol (rabbit) IgG in Puffer mit 0.1 % NaN <sub>3</sub>              |
| <b>1 Flasche</b>  | <b>CONTROL</b> KONTROLLSERUM<br>Lyophilisiertes human Serum mit 0.1% NaN <sub>3</sub>  |
| <b>2 x 50</b>     | <b>SORB CT</b> BESCHICHTETE TESTRÖHRCHEN<br>12x75 mm verpackt in Plastikboxen.<br>QC-Datenblatt.<br>Packungsbeilage                      |

## 5. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL

- Ständer für Teströhrchen
- Präzisionspipetten mit Einwegpipettenspitzen (10 und 500 µl)
- Vortex Mixer
- Schüttler
- Plastikfolie
- Saugfähiges Papier
- Gamma-Counter

## EMPFOHLENES MATERIAL

- Multipette

## 6. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Fügen Sie 500 µl destilliertes Wasser zu dem lyophilisierten Kontrollserum hinzu. Mischen Sie vorsichtig mit einem Schüttler oder Vortexgerät (Schaumbildung sollte vermieden werden). Versichern Sie sich, dass eine komplette Lösung erhalten wurde und erlauben Sie dieser bei Raumtemperatur mindestens 20 Minuten zu equilibrieren.

## 7. PROBENSAMMLUNG UND LAGERUNG

Die Serumproben können nach den gängigen Verfahren, welche routinemäßig in klinischen Laboren verwendet werden, vorbereitet werden. Die Seren können bei 2-8 °C für zwei Tage nach der Sammlung gelagert werden. Für eine spätere Analyse sollten die Seren tiefgefroren gelagert werden.

## 8. TESTDURCHFÜHRUNG

(Kurzanleitung siehe Tabelle 1.)

1. Bringen Sie alle Reagenzien und Serumproben vor Gebrauch für mindestens 1 Stunde auf Raumtemperatur.
2. Beschriften Sie je zwei beschichtete Teströhrchen für jeden Kalibrator (S1-S6), jede Kontrolle (C) und Probe (Sx). Zur Bestimmung der Totalaktivität (T) beschriften Sie optional 2 normale Röhrchen.
3. Homogenisieren Sie alle Reagenzien und Proben durch behutsames Mischen und vermeiden Sie Schaumbildung.
4. Geben Sie 10 µl Kalibratoren, Kontrollen und Proben in die entsprechend beschrifteten Röhrchen.
5. Geben Sie 500 µl des Tracers in jedes Röhrchen.
6. Geben Sie 500 µl Antiserum in jedes Röhrchen außer in die Totalaktivität.
7. Decken Sie alle Röhrchen mit einer Plastikfolie ab. Fixieren Sie die Halterung mit den Röhrchen sicher auf der Platte des Schüttlers. Wählen Sie eine adäquate Geschwindigkeit um eine gleichmäßige Durchmischung in jedem Röhrchen zu gewährleisten.
8. Inkubieren Sie die Röhrchen für 2 Stunden bei Raumtemperatur.
9. Saugen Sie den Inhalt jedes Röhrchens ab oder dekantieren Sie den Überstand indem Sie den gesamten Ständer umdrehen und für 2 Minuten auf saugfähigem Papier stehen lassen.
10. Messen Sie die Röhrchen in einem Gamma-Counter für mind. 60 Sekunden.
11. Berechnen Sie die Cortisol Konzentrationen der Proben wie unter „Berechnung der Ergebnisse“ beschriebe.

**Tabelle 1: Kurzanleitung, Pipettierschema (alle Volumina in µl)**

| Röhrchen                                    | Total | Kalibrator | Kontrolle | Proben |
|---|-------|------------|-----------|--------|
| Kalibrator                                  |       | 10         |           |        |
| Kontrolle                                   |       |            | 10        |        |
| Probe                                       |       |            |           | 10     |
| Tracer                                      | 500   | 500        | 500       | 500    |
| Antiserum                                   |       | 500        | 500       | 500    |
| 2 Stunde schütteln bei Raumtemperatur       |       |            |           |        |
| Überstand absaugen oder dekantieren         |       |            |           |        |
| Messen der Radioaktivität (60 Sek/Röhrchen) |       |            |           |        |

## 9. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Die Berechnung wird hier unter Verwendung repräsentativer Daten erklärt. Ihre ermittelten Testdaten sollten denen in Tabelle 2 dargestellten ähneln.

Berechnen Sie den Mittelwert aus den „counts per minute“ (CPM) für jeden Doppelansatz. Berechnen Sie den Prozentsatz von Bo/T für den Nullstandard (S1) mit Hilfe folgender Formel:

$$\text{Bo/T \%} = 100 * \text{S1(cpm)}/\text{T(cpm)}$$

Berechnen Sie mit Hilfe der folgenden Formel, den normalisierten Bindungsprozentsatz für jeden Kalibrator beziehungsweise jede Probe und Kontrolle:

$$\text{B/To \%} = 100 * \text{S2-6 ; C; Sx (cpm)}/\text{S1(cpm)}$$

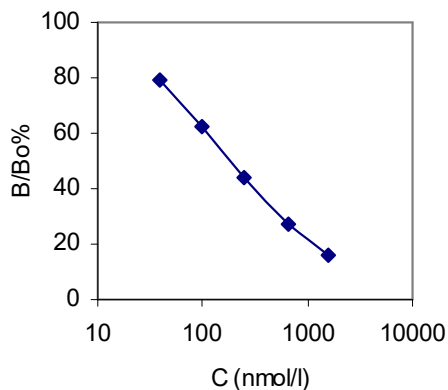
Zur Vereinfachung sind die Werte für die unspezifische Bindung (NSB) nicht korrigiert. Dies wird durch eine geringe NSB von unter 3% der Totalaktivität möglich.

Zeichnen Sie eine Standardkurve, indem Sie den B/Bo (%) für jeden Kalibrator gegen die dazugehörige Cortisol Konzentration auf semi-logarithmischen Millimeterpapier eintragen. Abbildung 1 zeigt eine typische Standardkurve. Berechnen Sie die Cortisol Konzentration für jede unbekannte Probe durch Interpolation aus der Standardkurve. Werte außerhalb des Bereichs der Standardkurve werden nicht extrapoliert. Computergestützte Methoden können ebenfalls zur Erstellung der Kalibrationskurve verwendet werden.

**Tabelle 2: Typische Testwerte**

| Tubes | Counts CPM1 | Counts CPM2 | Counts CPM | B/T % | B/Bo % |
|-------|-------------|-------------|------------|-------|--------|
| T     | 90172       | 89562       | 89867      |       |        |
| S1    | 51816       | 51699       | 51758      | 57.6  | 100    |
| S2    | 41325       | 40790       | 41058      | 45.7  | 79.3   |
| S3    | 32114       | 32332       | 32223      | 35.9  | 62.3   |
| S4    | 23112       | 22076       | 22594      | 25.1  | 43.7   |
| S5    | 14264       | 13917       | 14091      | 15.7  | 27.2   |
| S6    | 8272        | 8347        | 8309,5     | 9.2   | 16.1   |
| C     | 19600       | 18893       | 19247      | 21.4  | 37.2   |

*Abbildung 1. Typische Standardkurve  
((nicht zur Berechnung der Proben verwenden!))*



Die Umrechnung von SI Einheiten kann mit Hilfe folgender Formel erfolgen:

$$1 \text{ nmol/l} = 0.362 \text{ ng/ml}$$

**10. ASSAY CHARAKTERISTIKA****Assay-Parameter**

| Parameter | Wert            |
|-----------|-----------------|
| Bo/T      | 56 ± 10 %       |
| ED-50     | 180 ± 36 nmol/l |

**Spezifität**

Eine Kreuzreaktivität des im Kit verwendeten Cortisol Antiserums mit verschiedenen Substanzen wird im Folgenden gezeigt:

| Added steroid concentration        | 70 nM                              | 700 nM |
|------------------------------------|------------------------------------|--------|
|                                    | Apparent cortisol concentration nM |        |
| Corticosterone                     | 6                                  | 30     |
| 17- $\alpha$ -hydroxy-progesterone | <DL                                | 13     |
| Cortisone                          | <DL                                | 6      |
| 11-deoxycortisol                   | 10                                 | 56     |
| Deoxy-corticosterone               | <DL                                | 12     |
| Prednisolone                       | 64                                 | 428    |
| Dexamethasone                      | <DL                                | 15     |

Die im Folgenden gezeigten Steroide sind in einer Konzentration bis zu 700 nM nicht detektierbar bei der Bestimmung des Cortisol: 17 $\beta$ -estradiol, progesterone, 5- $\alpha$ -dihydrotestosterone, 5- $\beta$ -dihydro-19-nor-testosterone, testosterone, androstenedion, androstenediol, 17- $\alpha$ -methyl-testosterone, androstenediol, aldosterone, pregnenolone, 19-nor-testosterone, dehydroepiandrosterone, estriol, estrone.

**Sensitivität**

Die Sensitivität ist definiert als die niedrigste Konzentration (Nachweisgrenze) ermittelt aus der 2-fachen Standardabweichung vom Null-Standard und beträgt 2.9 nmol/l.

**Präzision und Reproduzierbarkeit**

| Inter-assay<br>(7 assays in 2 rep.) |      | Intra-assay<br>(1 assay in 10 rep.) |      |
|-------------------------------------|------|-------------------------------------|------|
| Mean                                | CV%  | Mean                                | CV%  |
| 45.7                                | 1.65 | 46.5                                | 6.25 |
| 86.0                                | 3.15 | 84.6                                | 3.70 |
| 223.9                               | 3.33 | 237.7                               | 6.81 |
| 339.6                               | 1.77 | 398.3                               | 3.16 |
| 427.1                               | 2.87 | 439.6                               | 2.47 |
| 792.6                               | 4.56 | 766.5                               | 4.51 |
| 1113.9                              | 4.70 | 1142.8                              | 5.62 |

**Wiederfindung**

Als Wiederfindung bezeichnet man die erwartete messbare Konzentrationserhöhung einer Serumprobe nach Zugabe von definierten Cortisol Mengen in Prozent („spiking“).

Die durchschnittliche Wiederfindung aus 16 Serumpoolproben, welche mit verschiedenen Cortisol Konzentrationen gespickt wurden betrug: 92 ± 7 %/

**Erwartete Werte**

Es wird darauf hingewiesen, dass jedes Labor eigene Referenzbereiche für sein eigenes Patientenkollektiv ermitteln sollte. Die hier gezeigten erwarteten Werte basieren auf der Messung von scheinbar gesunden Blutspendern (90 Männer und 90 Frauen). **Die Proben wurden zwischen 8-11 Uhr entnommen.** Nach der statistischen Auswertung wurden folgende Ergebnisse erhalten:

Mittelwert ± SD = 353 ± 139 nmol/l

Absoluter Bereich = 127 – 859 nmol/l

Serum Cortisol Ergebnisse werden normalerweise nach logarithmischer Umwandlung angegeben und der 95% Konfidenzintervall berechnet. **Der Normalbereich für Cortisol basierend auf diesem 95% Intervall beträgt: 147 – 726 nmol/l.**

## 11. ZUSATZINFORMATIONEN

- Die im Kit enthaltenen Reagenzien sind für die Messung der Cortisol Level im Serum und PLamsa optimiert.
- Vermeiden Sie das Einfrieren und Auftauen der Reagenzien und Proben.
- Hämolytische und lipämische Proben können zu falschen Werten führen und sollten nicht verwendet werden.
- Es sollten keine Komponenten verschiedener Lots oder von unterschiedlichen Herstellern gemischt oder vertauscht werden.
- Dieser Kit sollte nur in der *in vitro* Diagnostik Anwendung finden.

### Lagerung

Lagern Sie die Reagenzien bei 2-8°C. Bei dieser Temperatur ist jedes Reagenz bis zum angegebenen Verfallsdatum des Kits stabil.

### Verfügbarkeit:

Lagerbestand

### Haltbarkeit

Das aktuelle Verfallsdatum ist auf der Verpackung und auf dem QC Datenblatt angegeben.

## 12. WARN- UND SICHERHEITSHINWEISE

### Radioaktivität

Dieses Produkt enthält radioaktives Material. Es liegt in der Verantwortung des Nutzers die lokalen Bestimmungen oder gesetzliche Vorschriften die das Umgehen mit radioaktivem Material betreffen einzuhalten.

### Potenziell infektiöses Material

Die in diesem Kit verwendeten humanen Blutprodukte stammen von gesunden Spendern. Sie wurden individuell mit anerkannten Methoden (EIA, Enzym Immunassay) negativ auf das Vorhandensein von Humanem Immunodeficiency Virus Antikörper (Anti-HIV-1) und Hepatitis B Oberflächen Antigen (HBsAg) getestet. Beim Umgang mit humanen Proben die in diagnostischen Kits getestet werden, sollte immer große Sorgfalt walten gelassen werden. Auch wenn eine Person negativ getestet wurde, kann keine Methode komplette Sicherheit gewähren, dass kein Hepatitis B Virus, Human Immunodeficiency Virus (HIV-1), oder andere infektiöse Erreger vorhanden sind. Daher sollten humane Blutproben grundsätzlich wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.

### Chemische Gefährdung

Die Komponenten enthalten Natrium Azid (0.1 % w/v) als antimikrobielles Mittel. Bei der Entsorgung des Abfalls sollte mit ausreichend Wasser nachgespült werden, um die Anhäufung von explosivem metallischem Azid in Kupfer- und Bleirohren zu vermeiden. Die Gesamtmenge von Azid in jedem Paket beträgt 114 mg.

## 1. DESCRIPTION

The Cortisol [<sup>125</sup>I] assay system allows the quantitative in vitro determination of cortisol in human serum. Cortisol can be assayed in the range of 0-1600 nmol/l (0-580 ng/ml). Each kit contains materials sufficient for 100 assay tubes, permitting the construction of one standard curve and assay of 42 unknowns and 1 control in duplicate.

## 2. INTRODUCTION

Cortisol is the main glucocorticoid which is produced by the adrenal cortex. It regulates carbohydrate, protein, fat and purine metabolism, electrolyte and water balance. Cortisol has a role in blood pressure regulation and resolution of inflammation.

The determination of cortisol levels can be used for diagnosing the functional disturbances of the hypothalamus-pituitary-adrenal cortex (HPA) axis.

In normal individuals cortisol secretion has a characteristic rhythm: the cortisol level is the highest in the morning, by the evening it decreases to approximately half that level.

## 3. PRINCIPLE OF THE METHOD

This assay is based on the competition between unlabelled cortisol and fixed quantity of <sup>125</sup>I-labelled cortisol for limited number of binding sites on cortisol specific antibody. Allowing to react a fixed amount of tracer and antibody with different amounts of unlabelled ligand, the amount of tracer bound by the antibody will be inversely proportional to the concentration of unlabelled ligand.

During a 2-hour incubation period with continuous agitation, immuno-complex is immobilized on the reactive surface of test tubes. After incubation the reaction mixture is discarded, and the radioactivity is measured in a gamma counter.

The concentration of antigen is inversely proportional to the radioactivity measured in test tubes. By plotting binding values against a series of calibrators containing known amounts of cortisol, a calibration curve is constructed, from which the unknown concentration of cortisol in patient samples can be determined.

## 4. CONTENTS OF THE KIT

- |                |  |
|----------------|--|
| <b>1 vial</b>  | <b>Cortisol</b> [ <sup>125</sup> I] TRACER<br>Ready to use. 55 ml per vial, containing < 260 kBq <sup>125</sup> I-Cortisol in buffer with 0.1 % NaN <sub>3</sub> |
| <b>6 vials</b> | <b>CAL</b> 1 – 6 STANDARDS,<br>Ready to use. 0.5 ml per vial,<br>containing 0, 40, 100, 250, 650, 1600 nmol/l Cortisol in serum with 0.1 % NaN <sub>3</sub>      |
| <b>1 vial</b>  | <b>ANTISERUM</b> ,<br>Ready to use. 55 ml per vial, containing polyclonal anti-Cortisol (rabbit) IgG in buffer with 0.1 % NaN <sub>3</sub>                       |
| <b>1 vial</b>  | <b>CONTROL</b> CONTROL SERUM<br>Lyophilised human serum with 0.1% NaN <sub>3</sub>   |
| <b>2 boxes</b> | <b>SORB</b> [CT] COATED TUBE<br>2x50 pcs, 12x75 mm packed in plastic boxes.<br>Quality certificate.<br>Pack leaflet.   |

## 5. MATERIALS AND EQUIPMENT REQUIRED

Test tube rack, precision pipettes with disposable tips (10 and 500 µl), vortex mixer, shaker, plastic foil, absorbent tissue Gamma counter

### **Recommended tools and equipment**

Repeating pipettes



## 6. PREPARATION OF REAGENTS

Add 500 µl distilled water to the lyophilised control serum. Mix gently with shaking or vortexing (foaming should be avoided). Ensure that complete dissolution is achieved, and allow the solution to equilibrate at room temperature for at least 20 minutes.

## 7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

Serum samples can be prepared according to common procedures used routinely in clinical laboratory practice. Sera can be stored at 2-8°C for two days after collection. For later analysis they should be stored deep-frozen.

## 8. ASSAY PROCEDURE

(For a quick guide, refer to Table 1.)

1. Equilibrate reagents and samples to room temperature before use (min. for an hour).
2. Label coated tubes in duplicate for each standard (S1-S6), control serum (C) and samples (Sx). Optionally, label two uncoated test tubes for total count (T).
3. Homogenize all reagents and samples by gentle mixing to avoid foaming.
4. Pipette 10 µl each of standards, control and samples into the properly labelled tubes.
5. Pipette 500 µl of tracer into each tube.
6. Pipette 500 µl antiserum into each tube except T.
7. Fix the test tube rack firmly onto the shaker plate. Seal all tubes with a plastic foil. Turn on the shaker and adjust an adequate speed such that liquid is constantly rotating or shaking in each tube
8. Incubate tubes for 2 hours at room temperature.
9. Aspirate or decant the supernatant from all tubes by the inversion of the rack. In the upside down position place the rack on an absorbent paper for 2 minutes.
10. Count each tube for at least 60 seconds in a gamma counter.
11. Calculate the cortisol concentrations of the samples as described in calculation of results.

Table 1. Assay Protocol, Pipetting Guide (all volumes in microliters)

| Tubes                                     | T   | S1-6 | C   | Sx  |
|---|-----|------|-----|-----|
| Standard                                  |     | 10   |     |     |
| Control                                   |     |      | 10  |     |
| Sample                                    |     |      |     | 10  |
| Tracer                                    | 500 | 500  | 500 | 500 |
| Antiserum                                 |     | 500  | 500 | 500 |
| Shake for 2 hours at room temperature     |     |      |     |     |
| Decant the fluid and blot on filter paper |     |      |     |     |
| Count all tubes                           |     |      |     |     |

## 9. CALCULATION OF RESULTS

The assay data should be similar to those shown in Table 2. Calculate the average counts per minute (CPM) for each pair of assay tubes.

Calculate the percent B0/T for zero standard (S1) by using the following equation:

$$B_0/T \% = 100 * S1(cpm) / T (cpm)$$

Calculate the normalized percent binding for each standard, control and sample respectively by using the following equation:

$$B/B_0 \% = 100 * S_{2-6} ; C ; S_x (cpm) / S_1 (cpm)$$

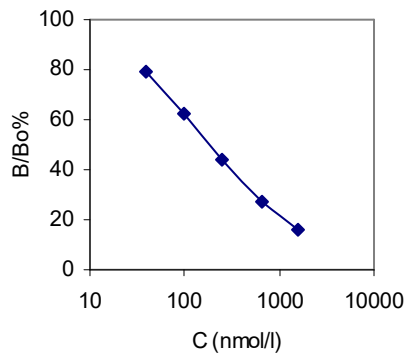
For simplicity, these values are uncorrected for non-specific binding (NSB). This is enabled by low NSB being less than 3% of total count.

Using semi-logarithmic graph paper plot B/B<sub>0</sub>% for each standard versus the corresponding concentration of cortisol. Figure 1 shows a typical standard curve. Determine the cortisol concentration of the unknown samples by interpolation from the standard curve. Do not extrapolate values beyond the standard curve range. Automated data processing systems are also available.

Table 2. Typical Assay Data

| Tubes | Counts CPM1 | Counts CPM2 | Counts CPM | B/T % | B/B0 % |
|-------|-------------|-------------|------------|-------|--------|
| T     | 90172       | 89562       | 89867      |       |        |
| S1    | 51816       | 51699       | 51758      | 57.6  | 100    |
| S2    | 41325       | 40790       | 41058      | 45.7  | 79.3   |
| S3    | 32114       | 32332       | 32223      | 35.9  | 62.3   |
| S4    | 23112       | 22076       | 22594      | 25.1  | 43.7   |
| S5    | 14264       | 13917       | 14091      | 15.7  | 27.2   |
| S6    | 8272        | 8347        | 8309,5     | 9.2   | 16.1   |
| C     | 19600       | 18893       | 19247      | 21.4  | 37.2   |

Figure 1. A typical standard curve  
(Do not use to calculate sample values)



Conversion of SI units can be performed according to the following formula:

$$1 \text{ nmol/l} = 0.362 \text{ ng/ml}$$

## 10. CHARACTERIZATION OF THE ASSAY

### Assay parameters

| parameters | value         |
|------------|---------------|
| B0/T       | 56 ± 10 %     |
| ED-50      | 180±36 nmol/l |

### Specificity

Cross reactivity of the cortisol antiserum used in the kit with various substances is shown below:

| Added steroid concentration        | 70 nM                              | 700 nM |
|------------------------------------|------------------------------------|--------|
|                                    | Apparent cortisol concentration nM |        |
| Corticosterone                     | 6                                  | 30     |
| 17- $\alpha$ -hydroxy-progesterone | <DL                                | 13     |
| Cortisone                          | <DL                                | 6      |
| 11-deoxycortisol                   | 10                                 | 56     |
| Deoxy-corticosterone               | <DL                                | 12     |
| Prednisolone                       | 64                                 | 428    |
| Dexamethasone                      | <DL                                | 15     |

Steroids shown below up to 700 nM are undetectable in the measurement of cortisol: 17 $\beta$ -estradiol, progesterone, 5- $\alpha$  dihydrotestosterone, 5- $\beta$ -dihydro-19-nor-testosterone, testosterone, androstenedion, androstenediol, 17- $\alpha$ -methyl-testosterone, androstanediol, aldosterone, pregnenolone, 19-nor-testosterone, dehydroepiandrosterone, estriol, estrone.

### Sensitivity

2,9 nmol/l, defined as the concentration 2 standard deviations from the zero standard.

**Precision, reproducibility**

| Inter-assay<br>(7 assays in 2 rep.) |      | Intra-assay<br>(1 assay in 10 rep.) |      |
|-------------------------------------|------|-------------------------------------|------|
| Mean                                | CV%  | Mean                                | CV%  |
| 45.7                                | 1.65 | 46.5                                | 6.25 |
| 86.0                                | 3.15 | 84.6                                | 3.70 |
| 223.9                               | 3.33 | 237.7                               | 6.81 |
| 339.6                               | 1.77 | 398.3                               | 3.16 |
| 427.1                               | 2.87 | 439.6                               | 2.47 |
| 792.6                               | 4.56 | 766.5                               | 4.51 |
| 1113.9                              | 4.70 | 1142.8                              | 5.62 |

**Recovery**

Recovery was defined as the measured increase expressed as per cent of expected increase upon spiking serum samples with known amount of Cortisol. Recovery for 16 serum samples spiked with Cortisol were:

92 ± 7 %

**Expected reference values**

It is recommended that each laboratory establish its own reference intervals. The expected values presented here are based on testing of apparently healthy blood donors (90 males and 90 females). Samples were obtained between 8-11 AM. From statistical analysis, the following results were obtained:

mean ± SD=353± 139 nmol/l

absolute range= 127-859 nmol/l

Serum cortisol results were normally distributed after log transformation and the 95 % confidence interval was calculated. **Range of normal cortisol values based on 95 % interval is: 147-726 nmol/l.**

**11. ADDITIONAL INFORMATION****Limitations**

- The reagents supplied in this kit are optimized to measure cortisol levels in serum and plasma.
- Avoid freezing and thawing of reagents and specimens.
- Hemolyzed and lipemic specimens may give false values and should be avoided.
- Components from various lots or from kits of different manufacturers should not be mixed or interchanged.
- This kit should only be used for in vitro diagnostic purposes.

**Storage**

Store the reagents between 2-8°C. At this temperature each reagent is stable until expiry date of the KIT.

**Availability**

From stock.

**Shelf life**

The actual expiry date is given on package label and in the quality certificate.

## 12. PRECAUTIONS AND WARNINGS

### Radioactivity

This kit contains radioactive material. Receipt, acquisition, possession, or use of radioactive materials are subject to regulations, and a licence of (inter)national authorizing bodies. It is the responsibility of the user to ensure that local regulations or codes of practice are satisfied.

### Potentially infectious materials












Human blood products provided as components of this product have been obtained from donors tested individually and found negative for Human Immunodeficiency Virus antibody (HIV-Ab) as well as for Hepatitis B surface Antigen (HBsAg) using approved EIA methods.

Care should always be taken when handling human specimens to be tested with diagnostic kits. Even if the subject has been tested, no method can offer complete assurance that Hepatitis B Virus, Human Immunodeficiency Virus (HIV), or other infectious agents are absent, and all human blood samples should be considered potentially infectious.

### Chemical and other hazard

Some components contain sodium azide (0.1 % w/v) as an Antimicrobial Agent. Dispose the waste by flushing it with copious amounts of water to avoid build up of explosive metallic azides in copper and lead plumbing. The total azide present in each pack is 114 mg.

## 13. SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS

| Symbol  | English                            | Deutsch                                      | Français   | Espanol                                     | Italiano                            |
|---|------------------------------------|--|--|---|-------------------------------------|
|    | European Conformity                | CE-Konformitätskennzeichnung                 | Conforme aux normes européennes                        | Conformidad europea                         | Conformità europea                  |
|   | Consult instructions for use       | Gebrauchsanweisung beachten                  | Consulter les instructions d'utilisation               | Consulte las Instrucciones                  | Consultare le istruzioni per l'uso  |
|  | In vitro diagnostic device         | In-vitro-Diagnostikum                        | Usage Diagnostic in vitro                              | Diagnóstico in vitro                        | Per uso Diagnostica in vitro        |
|  | For research use only              | Nur für Forschungszwecke                     | Seulement dans le cadre de recherches                  | Sólo para uso en investigación              | Solo a scopo di ricerca             |
|  | Catalogue number                   | Katalog-Nr.                                  | Référence  | Número de catálogo                          | No. di Cat.                         |
|  | Lot. No. / Batch code              | Chargen-Nr.                                  | No. de lot   | Número de lote                              | Lotto no                            |
|  | Contains sufficient for <n> tests/ | Ausreichend für "n" Ansätze                  | Contenu suffisant pour "n" tests                       | Contenido suficiente para <n> ensayos       | Contenuto sufficiente per "n" saggi |
|  | Note warnings and precautions      | Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen beachten | Avertissements et mesures de précaution font attention | Tiene en cuenta advertencias y precauciones | Annoti avvisi e le precauzioni      |
|  | Storage Temperature                | Lagerungstemperatur                          | Temperature de conservation                            | Temperatura de conservacion                 | Temperatura di conservazione        |
|  | Expiration Date                    | Mindesthaltbarkeitsdatum                     | Date limite d'utilisation                              | Fecha de caducidad                          | Data di scadenza                    |
|  | Legal Manufacturer                 | Hersteller                                   | Fabricant  | Fabricante                                  | Fabbricante                         |
| <i>Distributed by</i>   | Distributor                        | Vertreiber                                   | Distributeur   | Distribuidor                                | Distributore                        |