



Procalcitonina

Código de producto: 9275-300

INTRODUCCION

Uso previsto: Determinación cuantitativa de la concentración de Procalcitonina (PCT) en suero o plasma humano mediante prueba inmunológica de quimioluminiscencia en microplaca.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA:

La Procalcitonina (PCT) es una proteína pequeña de 116 amino ácidos con un peso molecular aproximado de trece (13) kilo Daltons. La PCT que es sintetizada por la glándula tiroidea es precursora de la hormona Calcitonina (32 amino ácidos) Otras doios moléculas son producto de reacciones: Katakalcina (21 amino ácidos) y N terminal PCT (57 amino ácidos) El PCT fue primero reportado para ser un marcador de un sistema de infección bacteriana en 1993. También se encontró niveles muy bajos en sujetos normales y solo ligeramente aumentada en infecciones virales. Esta clara distinción a permitido su uso como marcador en condiciones que están acompañadas de inflamación sistémica y sepsis. El rol del PCT en la administración de antibióticos en cuadros agudos respiratorio ha sido bien documentada.

PRINCIPIO

Ensayo inmunoenzimométrico competitivo (tipo 10)

Los reactivos esenciales requeridos para un inmunoensayo enzimático incluyen anticuerpos, conjugado enzima-antígeno y antígeno nativo. Mezclando el anticuerpo biotinilado, el conjugado enzima-antígeno y un suero que contiene el antígeno nativo, se produce una reacción de la competencia entre el antígeno nativo y el conjugado → antígeno enzima para un número limitado de sitios de enlace. La interacción es ilustrada por la ecuación seguida:
 k_a
 $EnzAg + Ag + AbBtn$
 $AgAbBtn + EnzAgAbBtn$
 $k-un$
 $AbBtn =$ anticuerpo biotinilado (cantidad constante) $Ag =$ Antígeno Nativo (cantidad variable)
 $EnzAg =$ enzima-antígeno conjugado (cantidad constante)
 $AgAbBtn =$ Complejo Antígeno-Anticuerpo
 $EnzAg AbBtn =$ conjugado enzima-antígeno-anticuerpo

complejo
 $k =$ constante de velocidad de la Asociación
 $ak =$ tasa constante de disociación
 $-Ak = k / k =$ constante de equilibrio
 $a-un$
Una reacción simultánea entre la biotina unida al anticuerpo y la estreptavidina inmovilizada en el pocillo se produce. Esta efectos de la separación de la fracción de anticuerpo unido después de decantación o aspiración.
 $AgAbBtn + + EnzAgAbBtn StreptavidinCW \Rightarrow$
inmovilizados complejos
 $StreptavidinCW =$ estreptavidina inmovilizada en bien

Complejo inmovilizado = Complejo sándwich unido a la superficie sólida La actividad enzimática de la fracción de anticuerpo unido es inversamente proporcional a la concentración de antígeno nativo. Al utilizar varias referencias distintas de suero de concentración conocida → antígeno en contra, una curva dosis-respuesta se pueden generar a partir de la cual la concentración del antígeno de un desconocido puede ser comprobada.

REACTIVOS

Materiales Provistos:

- Calibradores de PCT** 1.0 ml/vial (deshidratado) – Iconos A-F Seis(6) viales de referencia de Estrone en niveles de 0(A), 0.5(B), 1.0(C), 2.5(D), 10.0(E) y 25.0(F) ng/ml. Reconstituir cada vial con 1 ml de agua destilada o desionizada. Los calibradores reconstituidos son estables por dos (2) días de 2 – 8° C Se agregó conservante. Los calibradores en polvo almacenar de 2-8°C Para largos períodos después de reconstituir, alicuotar y congelar (-20°C) en pequeñas porciones hasta por tres (3) meses.
- Control PCT** -1ml/vial (deshidratado) Un vial de control deshidratado de 3-5 ng/ml. Reconstituir el vial con 1 ml de agua destilada o desionizada. Los calibradores reconstituidos son estables por dos (2) días de 2 – 8° C Se agregó conservante. Los calibradores en polvo almacenar de 2-8°C Para largos períodos después de reconstituir, alicuotar y congelar (-20°C) en pequeñas porciones hasta por tres (3) meses.
- Reactivo trazador PCT** - 6 ml/vial Un (1) vial conteniendo anticuerpo IgG anti PCT conjugado con peroxidasa de rábano picante en buffer, colorante y conservante. Almacenar de 2 – 8° C
- Placa de 96 pocillos** de reacción cubiertos con anticuerpos anti x-PCT y empacada en bolsa de aluminio con un agente desecante. Almacenar de 2 – 8° C
- Solución de lavado concentrado – 20 ml** Un (1) vial conteniendo surfactante en buffer salino. Se agregó conservante.

Almacenar de 2 – 8° C (ver sección Preparación de Reactivos)

- Reactivo A – 7.0 ml/vial** Una (1) botella conteniendo luminol en buffer. Almacenar de 2 – 8° C (ver sección Preparación de Reactivos)
- Reactivo B – 7.0 ml/vial** Una (1) botella conteniendo Peróxido de Hidrógeno (H2O2) en buffer. Almacenar de 2 – 8° C (ver sección Preparación de Reactivos)
- Inserto de instrucciones.**

Nota 1: No usar los reactivos después de su fecha de expiración.

Nota 2: Los reactivos abiertos son estables por sesenta (60) días cuando se almacenan de 2 a 8° C La estabilidad del kit y de sus componentes esta identificada en la etiqueta.

Nota 3: Los reactivos anteriores son para microplaca de 96 pocillos.

Materiales requeridos pero no Provistos:

- Pipeta capaz de dispensar 50 ul y 100 ul con precisión de 1.5 %.
- Dispensador de volúmenes repetitivos de 100 y 350 ul con precisión mejor de 1.5 %
- Lavador de microplacas o una pizeta (opcional).
- Luminómetro de microplacas.
- Papel absorbente para secar los pocillos de la microplacas.
- Cubierta plástica para tapar las microplacas durante las incubaciones.
- Aspirador al vacío (opcional) para los procesos de lavado.
- Reloj cronómetro.
- Materiales de control de calidad.

PRECAUCIONES:

Para uso de diagnóstico in vitro. No es para uso interno ni externo en humanos o animales.

Todos los productos que contienen suero humano se han encontrado para ser no reactivos para antígeno de superficie de hepatitis B, VIH 1 y 2 y de HCV requeridas por la FDA. Puesto que ninguna prueba puede ofrecer completa seguridad de que los agentes infecciosos, todos los productos de suero humano deben ser tratados como potencialmente peligrosos y capaces de transmitir la enfermedad. Los buenos procedimientos de laboratorio para la manipulación de productos sanguíneos se pueden encontrar en el Centro de Control de Enfermedades / Instituto Nacional de Salud, "Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos," 2ª Edición, 1988, el HHS Publication No. (CDC) 88-8395.

La disposición segura de los componentes del kit debe ser de acuerdo a las regulaciones locales establecidas.

RECOLECCION Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS:

Las muestras deben ser sangre, suero o plasma y deben ser obtenidas con las precauciones habituales en la recogida de muestras de punción venosa. La sangre debe recogerse en tubos tapa roja (con o sin gel aditivo) tubo de venopunción sin anticoagulante o tubos conteniendo EDTA o heparina. Dejar que la sangre coagule para muestras de suero. Centrifuge la muestra para separar el suero de las células.

Las muestras deben ser procesadas entre 3-6 horas después de obtenidas sino las muestras deben ser almacenadas a -20°C hasta por 30 días. Evitar usar dispositivos contaminados. Evitar descongelar y congelar las muestras. Cuando se haga la prueba por duplicado se requiere 100 ul de muestra.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS:

- Solución de lavado** Diluir el contenido de la solución de lavado concentrada en 1000 ml con agua destilada o desionizada en un recipiente de almacenamiento adecuado. El bufer diluido puede ser almacenado de 2-30°C hasta por 60 días.
- Solución de trabajo reactivo** - Conservar a 2-8°C. Determinar la cantidad de reactivo necesario y preparar mezclando partes iguales de reactivo A y la señal de señal Reactivo B en un recipiente limpio. Por ejemplo, añadir 1 ml de A y 1 ml de B por dos (2) ocho tiras bien (un ligero exceso de solución que se haga). **Deseche la porción no utilizada si no se usa dentro de 36 horas después de la mezcla.** Si la utilización completa de los reactivos se prevé, dentro de las limitaciones de tiempo anterior, verter el contenido de la señal de Reactivo B en señal de Reactivo A y la etiqueta en consecuencia.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO:

Antes de proceder con el ensayo llevar todos los reactivos, sueros de referencia y controles a temperatura ambiente (20 a + 27°C) ****El procedimiento de la prueba debe ser realizado por personal capacitado y entrenado****

- Marcar los micropocillos para cada suero de referencia, control y muestra de paciente a ser ensayada en duplicado.
NOTA: Cubrir los pocillos sin usar con el sellador de placas, sellar en la bolsa de plástico con desecante, y almacenar a 2-8 °C
- Pipetear 0.050 ml (50 ul) del apropiado suero de referencia PCT, control o muestra en los pocillos asignados.
- Agregar 0.050 ml (50 ul) de reactivo PCT Trazador a cada pocillo. Es muy importante dispensar todos los reactivos cerca del fondo del pocillo recubierto.
- Mover suavemente la placa por 20 a 30 segundos para mezclar y cubrir.
- Cubrir e Incubar 30 minutos a temperatura ambiente.
- Descartar el contenido de las microplacas por decantación o aspiración. Si se decanta dar un golpecito y secar con papel absorbente.
- Agregar 350 µl de buffer de lavado (ver preparación de reactivos) decantar (golpear y secar) o aspirar. Repetir 4 veces adicionales para un total de 5

lavados. Se puede usar un lavador manual o automático. Seguir las instrucciones del fabricante para el uso apropiado. Si se emplea una pizeta, llenar cada pocillo por inclinación del depósito (evitando formar burbujas) para dispensar la solución de lavado. Decantar la sol. De lavado y repetir el procedimiento 4 veces adicionales.

8. Agregar 0.100 ml (100 ul) de reactivo de trabajo a todos los pocillos (ver Preparación de reactivos). Siempre agregar los reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias en el tiempo de reacción de cada pocillo.
9. Incubar a temperatura ambiente por 5 minutos en oscuridad.
10. Leer las unidades relativas de luz en cada pocillo, por 0.2 – 1.0 segundos, usando un luminómetro de microplacas. Los resultados deberán ser leídos entre los 30 minutos después e agregar la solución de sustrato.

Nota 1 No usar el reactivo señal si tiene más de 36 horas de preparado.

Nota 2 No usar los reactivos que están contaminados o presentan crecimiento bacteriano.

Nota 3 Ciclo (inicia y detiene) mezclar (4 ciclos) para 5-8 segundos/ciclo es mas eficiente que un solo ciclo de 20-30 segundos para conseguir la homogenización.

Nota 4 Es extremadamente importante dispensar con precisión los distintos volúmenes al momento de pipetear. Así como asegurar de que el dispensado sean en la pared de los pocillos lo más cerca al fondo.

CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe tener controles en los niveles en el rango bajo, normal y alto para el seguimiento de los resultados del ensayo. Estos controles deben ser tratados como desconocidos y valores determinados en cada procedimiento de prueba realizada. listas de control de calidad debe mantenerse para seguir el funcionamiento de los reactivos suministrados. Los métodos estadísticos pertinentes deben ser empleados para determinar las tendencias. El laboratorio individual debe establecer los límites aceptables de rendimiento del ensayo. Además, la absorción máxima debe ser coherente con la experiencia pasada. desviaciones significativas del funcionamiento establecido pueden indicar cambios inadvertidos en condiciones experimentales o la degradación de los reactivos del kit. reactivos frescos deben ser usados para determinar la razón de las variaciones

PARAMETROS DE CONTROL DE CALIDAD

Para que los resultados del análisis sean considerados válidos los siguientes criterios deben cumplirse:

1. La curva de dosis de respuesta debe estar dentro de los parámetros establecidos.
2. Cuatro de cada seis pocillos de control de calidad deben estar dentro de los rangos establecidos.

CALCULO DE RESULTADOS:

Una curva dosis-respuesta se utiliza para determinar la concentración de PCT en muestras desconocidas.

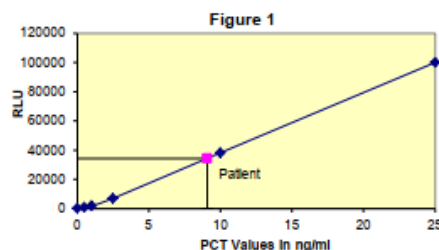
1. Registre los RLU's obtenidos a partir de la impresión del lector de microplacas como se indica en el Ejemplo 1.
2. Trace los RLU's para cada referencia duplicada del suero contra la concentración de progesterona correspondiente en ng / ml en el papel milimetrado.
3. Dibuje la curva de mejor ajuste a través de los puntos trazados.
4. Para determinar la concentración de PCT de una muestra desconocida, localizar el promedio de RLU's para cada desconocido en el eje vertical de la gráfica, encontrar el punto de intersección de la curva, y leer la concentración (en ng/ml) en el eje horizontal del gráfico (los duplicados de lo desconocido puede ser un promedio, como se indica). En el siguiente ejemplo, el promedio de RLU's (34306) del desconocido intercepta la curva de calibración en (9.074 ng/ml) la concentración de PCT (ver figura 1)

Nota Los datos del software de la computadora diseñados para el ensayo de CLIA pueden ser usados para la reducción de datos. Si tal software es utilizado la validación del mismo debe ser hecho acertadamente.

EJEMPLO 1

Muestra ID	Pozo #	ULR (A)	Media URL (B)	Valor (ng/ml)
Cal A	A1	265	246	0
	B1	227		
Cal B	C1	944	944	0.5
	D1	944		
Cal C	E1	1927	1912	1.0
	F1	1898		
Cal D	G1	7236	7000	2.5
	H1	6763		
Cal E	A2	38989	38234	10
	B2	37473		
Cal F	C2	100608	100000	25
	D2	99379		
Paciente	G2	33868	34306	9.074
	H2	34743		

Los datos presentados en el ejemplo 1 y la figura 1 son solo para ilustración y no deben ser usados como definitivos en una curva de respuesta de dosis preparados con cada ensayo. Adicionalmente el RLU de los calibradores debe ser normalizado a 100,000 RLU para el calibrador A. Esta conversión minimiza las diferencias causada por la eficiencia de varios de los instrumentos que pueden ser usados para medir la emisión de luz.



Nota: multiplicar los valores horizontales por 2.5 para convertir a nM/ml

ANALISIS DE RIESGO

El MSDS y el formato de análisis de riesgo para este producto esta disponible a solicitud en [Monobind Inc](mailto:Monobind_Inc)

A. Performance de la prueba

- 1 Es importante que el tiempo de reacción en cada pozo se mantiene constante para obtener resultados reproducibles.
- 2 pipeteo de muestras no debe extenderse más allá de diez (10) minutos para evitar la deriva del análisis.
- 3 altamente lipémicas, hemolizadas o muy contaminación de la muestra (s) no debe utilizarse.
- 4 Si más de un (1) la placa se utiliza, se recomienda repetir la curva dosis-respuesta.
- 5 La adición de reactivos de la señal inicia una reacción cinética, por lo tanto el reactivo de la señal (s) se debe agregar en la misma secuencia para eliminar cualquier desviación de tiempo durante la reacción.
- 6 Si no se retira la solución adecuadamente en la aspiración o la decantación (s) puede dar lugar a la réplica pobre ya resultados falsos.
- 7 Utilice los componentes del mismo lote. No mezcle los reactivos de diferentes lotes.
- 8 pipeteado exacto y preciso, así como después de la hora exacta y los requisitos de temperatura prescrita son esenciales. Cualquier desviación de las instrucciones de uso Monobind los resultados pueden ser inexactos.
- 9 Todas las normas nacionales aplicables, reglamentos y leyes, incluyendo pero no limitado a, los procedimientos de laboratorio, deben ser estrictamente seguidas para asegurar el cumplimiento y el uso adecuado del dispositivo.
- 10 Es importante para calibrar todo el equipo por ejemplo, Pipetas, lectores, lavadoras y / o los instrumentos automatizados utilizados con este dispositivo, y para realizar el mantenimiento preventivo de rutina.
- 11 Análisis de Riesgos, como exige el marcado CE IVD Directiva 98/79/CE para dispositivos de esta y otras hechas por Monobind, se puede solicitar a través de correo electrónico de Monobind@monobind.com.

B. Interpretación

1 La medición e interpretación de resultados deben ser hecha por profesionales capacitados.

2 Los resultados de laboratorio sólo son sólo un aspecto para la determinación de la atención al paciente y no debe ser la única base para la terapia, particularmente si el conflicto resultados con otros determinantes.

3 Los reactivos para el procedimiento han sido formulados para eliminar al máximo la interferencia, sin embargo la interacción potencial entre los sueros y los reactivos pueden causar resultados erróneos. Los anticuerpos heterofílicos a menudo causan están interacciones en los inmunoensayos. Con fines diagnósticos los resultados deben ser usados en combinación con los exámenes clínicos, la historia del paciente y otros datos clínicos

4 Para los resultados de pruebas válidas, los controles adecuados y otros parámetros deben estar dentro de los rangos de la lista y los requisitos de ensayo.

5 Si los estuches de pruebas se alteran, por ejemplo, partes de mezcla de diferentes kits, lo que podría producir resultados falsos de las pruebas, o si los resultados son mal interpretados, Monobind no tendrá ninguna responsabilidad.

6 Si la reducción de datos de la computadora controlada se utiliza para interpretar los resultados de la prueba, es imperativo que los valores previstos para los calibradores comprendidos dentro del 10% de las concentraciones asignadas.

7 Los niveles de PCT se incrementan severamente en ingección. Valores por debajo de 0.5 ng/ml representan un bajo riesgo de sepsis severa o shock séptico y valores superiores a 2.00 ng/ml apuntan a una gran probabilidad de sepsis severa o de shock séptico.

RANGO DE VALORES ESPERADO

El PCT es detectado en 3-6 horas luego de una infección bacteriana. El incremento en la concentración está directamente relacionada a la severidad de la infección. Valores menores de 0.25 ng/ml son normales para la población no afectada. Está bien documentado el uso de esta prueba para monitorear la eficiencia del tratamiento

Es importante tener en cuenta que el establecimiento de una serie de valores que se pueden esperar ser encontrado por un método dado para una población de "normal" de las personas depende de una multiplicidad de factores: la especificidad del método, la población analizada y la precisión del método en las manos del analista. Por estas razones cada laboratorio debe depender de la gama de valores esperados establecidos por el fabricante solamente hasta un rango en casa puede ser determinado por los analistas usando el método con una población indígena a la zona en que esté situado el laboratorio.

CARACTERISTICAS DEL DESEMPEÑO

A. Precisión:

Los ensayos internos y externos de PCT Acculte™ CLIA determinó por análisis en tres diferentes niveles de sueros control. El número, los valores medios, desviación estándar y coeficiente de variación para cada uno de estos sueros de control se presentan en la Tabla 2 y Tabla 3.

TABLA 2
Ensayo de Precisión Interno

Suero	N	X		%CV
1	10	0.16	0.012	7.6
2	10	1.19	0.065	5.5
3	10	11.3	0.700	6.2

TABLA 3
Ensayo de Precisión Interno

Suero	N	X		%CV
1	10	0.17	0.015	8.9
2	10	1.32	0.090	6.8
3	10	12.1	0.653	5.4

Especificidad

La prueba de PCT usa anticuerpos contra el terminal N y la región de calcitonina del PCT.

REFERENCIAS:

1. Meisner, M. "Update on procalcitonin measurements". Ann Lab Med. 2014 Jul;34(4): 263-73.
2. Meisner, M, Tschalkovsky K, Palmaers T, Schmidt J. "Comparisons of procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) plasma concentrations at different SOFA scores during the course of sepsis and MODS." Crit Care. 1999; 3(1): 45-50
3. Kopterides P, Siempos II, Tsangaris I, Tsantes A, Armaganidis A. "Procalcitonin-guided algorithms of antibiotic therapy in the intensive care unit: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials". Crit Care Med. 2010 Nov; 38(11): 2229-41
4. Schuetz P, Albrich W, Christ-Crain M, Chastre J, Mueller B. "Procalcitonin for guidance of antibiotic therapy". Expert Rev Anti Infect Ther. 2010, 8(5): 575-57.
5. Bouadma L, et al. "Use of procalcitonin to reduce patients' exposure to antibiotics in intensive care units". Lancet. 2010, 375(9713): 463-74.
6. Harbarth, S, et al. "Diagnostic Value of Procalcitonin, Interleukin-6, and Interleukin-8 in Critically Ill Patients Admitted

Fecha efectiva: 22 de mayo del 2018 Rev 1 DCO:
1280 MP9275
Código de producto: 9275-300

Size	96(A)	
Reagent (fill)	A)	1ml set
	B)	1 (1ml)
	C)	1 (6ml)
	D)	1 plate
	E)	1 (20ml)
	F)	1 (7ml)
	G)	1 (7ml)

For Orders and Inquires, please contact

 **Monobind Inc.**
100 North Pointe Drive
Lake Forest, CA 92630 USA

Tel: +1 949.951.2665 Mail: info@monobind.com
Fax: +1 949.951.3539 Fax: www.monobind.com



Please visit our website to learn more about our products and services.

Glossary of Symbols

(EN 980/ISO 15223)

