

CDG PCT ELISA RAPID

Product Code: BM-PCT-96E

Sección 1 – Introducción y uso previsto

El CDG PCT RAPID ELISA es una prueba inmunoenzimática micro pozos para la detección cualitativa y cuantitativa de Procalcitonina en suero o plasma humano. Se utiliza para el diagnóstico y control del tratamiento de infecciones bacterianas y sepsis severas.

Sección 2 – Resumen y explicación del método

La Procalcitonina (PCT) es una pequeña proteína de 116 residuos de aminoácidos con un peso molecular de aproximadamente 13 kDa. La PCT se produce normalmente en las células C de la glándula tiroidea. En 1993, se reportaron niveles elevados de PCT en pacientes con una infección del sistema de origen bacteriano y, ahora la PCT se considera como el principal marcador de trastornos acompañados por inflamación sistémica y sepsis. El valor diagnóstico de la PCT es importante debido a la estrecha correlación entre concentración de PCT y gravedad de la inflamación. En personas sanas la concentración de PCT es menor a 0.1 ng/mL. Los niveles de PCT aumentan rápidamente después de una infección bacteriana con consecuencias sistémicas. También puede elevarse por quemaduras severas, cirugía mayor ó en neonatos. Sin embargo, también regresa a su estado basal rápidamente. Empero, en la mayoría de las infecciones virales, colonización bacteriana, infecciones localizadas, desordenes alérgicos, enfermedades autoinmunes y trasplantes usualmente no se obtienen aumentos significantes de PCT (PCT < 0.5 ng/mL). Por lo tanto, mediante la evaluación de las concentraciones de PCT, los médicos también son capaces de evaluar el riesgo de progresión de sepsis grave y shock séptico.

Sección 3 – Principio del ensayo

El principio de CDG PCT RAPID METHOD ELISA es una prueba inmunoenzimática tipo sándwich o captura de un paso. El ensayo utiliza dos anticuerpos monoclonales específicos (captura y detección) dirigidos hacia el mismo antígeno, pero a diferentes epítopes. El anticuerpo de captura recubre el pozo de reacción; entonces, el antígeno es añadido (muestra) conjuntamente con el anticuerpo de detección (conjugado); durante a incubación se produce un complejo tipo sándwich conformado por el anticuerpo fijado en el pozo, el antígeno (muestra) y el anticuerpo de detección, que a su vez está conjugado a una molécula HRP (peroxidasa de rábano). Luego de 5 lavados, se remueven las partículas no fijadas, y se procede a añadir el sustrato TMB-HRP y posteriormente la solución de parada. El resultado de reacción se mide espectrofotométricamente, en donde la concentración de PCT es proporcional a la intensidad de misma. El kit incluye un cut-off (calibrador) de 0.5 ng/mL el cual se debe correr conjuntamente con la muestra, y que funciona como cut-off y calibrador a la vez. Las absorbancias de las muestras que resulten por debajo de la absorbancia del calibrador cut-off se consideran menores a 0.5 ng/mL (negativas). Para titular muestras positivas, se debe calcular un factor de calibración para calcular las concentraciones entre 0.5 ng/mL y 10 ng/mL.

Sección 4 – Contenido del kit

1. 1 Microplaca de inmunoensayo de 96 pozos rompibles, sensibilizada con Anti-human-PCT antibody.
2. 4 Calibradores/Cut-off liofilizados de 1 mL c/u, concentración de PCT 0.5 ng/mL
3. Conjugado enzimático 8,0 mL, en una matriz proteica estabilizada con preservativos.
4. Sustrato TMB 12,0 mL
5. Solución de parada ácida 8,0 mL
6. Solución de lavado concentrada 20x 50mL (requiere preparación).

Materiales requeridos, pero no suministrados en el kit:

- Pipetas monocanales y multicanales ajustables
- Lavador de placas automáticos
- Lector de microplacas

Sección 5 – Conservación

Conservar componentes del kit entre 2-8 Grados Centígrados.

El calibrador una vez reconstituido debe ser alicuotado y almacenado a -20 Grados centígrados.

Sección 6 – Estabilidad y Manejo de reactivos

Maneje los reactivos en condiciones asepticas para evitar contaminación microbiana. No deje que la placa se seque entre el lavado y la adición de reactivo. El componente de sustrato es sensible a la luz. Evitar la exposición a la luz. La solución de sustrato no debe entrar en contacto con ácidos, materiales combustibles y agentes oxidantes o reductores fuertes. Asegúrese de que ningún componente metálico entre en contacto con el sustrato sin haber probado previamente su compatibilidad.

CDG Biotech Corp. no se hace responsable por el mal manejo de los reactivos incluidos en el kit.

Sección 7 – Precauciones

1. Solo para diagnóstico *in vitro*. Solo para uso profesional.
2. Use solo los componentes del kit. No mezcle componentes de diferentes kits o fabricantes a menos que se especifique.
3. Se deben utilizar puntas de pipeta nuevas y limpias para cada paso del ensayo. Use sólo material limpio, preferiblemente desechable.
4. Use guantes protectores desechables, bata de laboratorio y protección para los ojos al manipular muestras. Lávese bien las manos después de manipular las muestras. Además, siga todos los protocolos de seguridad en uso en su laboratorio.
5. No utilizar en caso de daños al empaque.
6. Nunca pipetear con la boca.
7. Los calibradores, los pocillos de reacción, los conjugados y el calibrador en este kit incluyen sustancias de origen animal. Todos los componentes han sido evaluados y han resultados negativos para, antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), anticuerpos contra la hepatitis C y anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia humana, los sueros de control y las muestras de pacientes deben manipularse como potencialmente infecciosos. Los pozos de reacción están recubiertos con antígeno inactivado. Sin embargo, deben considerarse potencialmente infecciosos y manejarse con cuidado. Ningún método actual puede ofrecer una garantía completa de que los agentes infecciosos están ausentes.
8. La solución de sustrato puede ser irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel. En caso de contacto con esta solución, enjuague bien con agua y busque atención médica. Para obtener más información, se encuentra disponible a solicitud la Hoja de datos de seguridad del material.
9. No use este producto en procesadores automatizados a menos que hayan sido previamente validados para ese propósito.
10. Todo el material debe manipularse y eliminarse como potencialmente infeccioso. Observe las regulaciones locales para la eliminación de residuos clínicos.
11. CDG Biotech Corp. no se hace responsable por el mal manejo de los reactivos incluidos en el kit.

Sección 8-Recolección y preparación de muestras

Todas las muestras de venopunción ya sean sangre, plasma o suero deben tomarse con las precauciones habituales. Para una comparación precisa con los valores normales establecidos, se debe obtener una muestra de suero en ayunos por la mañana. La muestra debe ser recolectada en un tubo tapa roja simple o (para plasma) en un tubo vacío que contenga heparina. Permita que la sangre se coagule para obtener muestras de suero. Centrifugue la muestra para separar el suero o el plasma de las células. Asegúrese de procesar las muestras dentro de las 3-6 horas después de la recolección, o guárdelas de acuerdo con lo especificado en la Tabla 1 (evite congelar y descongelar repetidamente). Cuando se analicen por duplicado, se requieren 0.100 mL (100uL) de muestra más el volumen muerto del tubo.

Tabla 1. Recomendaciones para la conservación de la muestra antes de la realización del análisis:

2-8°C	24 horas
Temperatura ambiente (20-25°C)	9 horas
Congelada a -20°C	2 meses

Sección 9 – Control de Calidad

Se debe correr un blanco (control negativo de corrida) de reacción utilizando buffer de lavado en vez de muestra.

Para que la prueba sea válida, la absorbancia del blanco (control negativo) debe ser menor a la del calibrador/cut-off incluido.

Además, CDG Biotech Corp. ofrece controles de calidad con valores previamente determinados (vendidos por separado) para análisis de precisión intra e inter-ensayo. Cada laboratorio está a cargo de probar sus propios controles como desconocidos en rangos bajo, normal y alto. Todos los rangos utilizados deben tener límites. Con el fin de seguir el desempeño en cada procedimiento realizado, se deben usar gráficos de CC y los métodos estadísticos pertinentes para determinar la tendencia. La luminiscencia máxima debe ser consistente con experiencias pasadas. Si se observa cualquier desviación de los estándares de rendimiento establecidos, puede indicar algún cambio o degradación en los reactivos del kit. En este caso se deben utilizar reactivos frescos para determinar la razón de la variación.

Sección 10 – Preparación de los reactivos

Todos los reactivos suministrados están listos para usar, a menos que se especifique lo contrario:

1. Buffer de Lavado: Disuelva el contenido (50mL) de – CDG © Solución de Lavado (20x) hasta 1 litro con agua destilada. Si se forman cristales de sales en la solución concentrada durante el almacenamiento, caliente la solución a 37 ° C antes de diluir. Una vez diluido, almacene a 2-8.
2. Reconstituir los calibradores liofilizados con 1 mL de agua destilada o desionizada. Los calibradores reconstituidos son estables por 2días a 2-8 °C. (Para periodos mas largos es recomendable alicuotar y congelar después de reconstituido).

Sección 11 – Procedimiento

Nota: La prueba debe ser realizada por un individuo calificado o profesional capacitado.

1. Añadir 50 µL Muestra, calibrador y control de corrida al pozo respectivo (para el control de corrida colocar 50 µL de buffer de lavado preparado)
2. Añadir Conjugado 50 µL, y mezclar levemente por 30 segundos
3. Incubar a temperatura ambiente por 20 minutos
4. Lavar cada pozo 4-5 veces con 350 µL de solución de lavado, secar bien volteando la placa en papel absorbente
5. Añadir 100 µL de sustrato TMB a cada pozo
6. Incubar a temperatura ambiente por 10 minutos
7. Añadir 50 µL de solución Stop y mezclar levemente por 10 segundos
8. Leer absorbancias a 450nm (filtro de referencia 620-630nm)

Sección 12 -Cálculo de los resultados

Los resultados del CDG PCT ELISA RAPID se reportan en ng/mL

Reporte cualitativo:

Negativo: Si la absorbancia de la muestra es menor que la absorbancia del calibrador cut-off incluido en el kit, el resultado de la muestra se considera negativo, menor a 0,5 ng/mL

Positivo: Si la absorbancia de la muestra es mayor que la absorbancia del calibrador cut-off incluido en el kit, el resultado de la muestra se considera positivo, mayor a 0,5 ng/mL

Reporte cuantitativo:

Titulación de muestras positivas:

Calcular calibrador:

Factor de calibración: 0.5 (ng/ml) / Absorbancia calibrador/cut-off

Cálculo de resultados:

Absorbancia de la muestra x Factor = resultado de la muestra ng/mL

Nota: Para resultados calculados que superen 10 ng/mL, se debe reportar > 10 ng/mL, o diluir la muestra con un diluyente apropiado para su reprocesamiento (un diluyente apropiado puede ser un suero o plasma que se conozca negativo para PCT)

Sección 13 – Análisis de riesgo

Análisis de riesgo y SDS, según lo exige la Directiva CE Mark IVD 98/79/EC para este y otros dispositivos fabricados por CDG Biotech Corp, se pueden solicitar por correo electrónico a info@cdgbiotech.com

Sección 14 – Interpretación de resultados

1. Las mediciones y la interpretación de los resultados deben ser realizadas por personal capacitado.
2. Los resultados de laboratorio por sí solos son solo un aspecto para determinar la atención del paciente y no deben ser la única base para la terapia, especialmente si los resultados entran en conflicto con otros factores determinantes.
3. Los reactivos para el sistema de ensayos se han formulado para eliminar la mayoría de las interferencias; sin embargo, la interacción potencial entre muestras de suero raras y los reactivos del ensayo pueden causar resultados erróneos. Los anticuerpos halterófilos a menudo causan estas interacciones y se sabe que ocasionan problemas para todo tipo de inmunoanálisis. Para fines de diagnóstico, los resultados de este ensayo deben ser usados en combinación con el examen clínico, el historial del paciente y todos los demás hallazgos clínicos.
4. Para obtener resultados de ensayos válidos, los controles adecuados y otros parámetros deben estar dentro de los rangos y los requisitos de ensayo enumerados.
5. CDG Biotech Corp no tendrá ninguna responsabilidad si se realizan modificaciones a los kits de ensayo, (como mezclar partes de diferentes kits) que pudiesen producir resultados falsos del ensayo, o si los resultados son interpretados incorrectamente.

Sección 15 – Rendimiento

Variable, depende del número de muestras procesadas por corrida.

Sensibilidad

La sensibilidad analítica se calculó a partir de la media menos dos desviaciones estándar de veinte (20) análisis repetidos del Calibrador 0 y se encontró que era de 0.4 ng/ml

Máximo Límite de detección

10 ng/mL

Rango dinámico

0.5 ng/mL – 10 ng/mL

Precisión, intra e inter-ensayo CV%

La precisión intra e inter-ensayo del CDG PCT ELISA RAPID fue determinado mediante análisis de dos diferentes niveles de grupos de suero control, determinándose entre 5 a 15%.

Sección 16– Rango de valores esperados

Rango Normal: 0 - 0,5 ng/mL

PCT se detecta dentro de 3-6 horas de infección bacteriana. El aumento de la concentración está directamente relacionado con la gravedad de la infección. Se aconseja a cada laboratorio que establezca sus propios rangos para poblaciones normales y anormales. Estos rangos siempre dependen del lugar, la población, el laboratorio, la técnica y la especificidad del método. Estos rangos solo deben usarse como guía.

Sección 17 – Referencias

1. Mary A. Williamson, MT (ASCP), PhD. *Wallach's Interpretation of Diagnostic Tests Pathways to Arriving at a Clinical Diagnosis*. TENTH EDITION. Massachusetts: Wolters Kluwer, 2015. 978-1-4511-9176-9.
2. *Experience with a clinical guideline for the treatment of ventilator-associated pneumonia*. Ibrahim EH, Ward S, Sherman G, et al. *Jun 29, 2001, Crit Care Med., Vols. 1109-15. 11395584.*
3. *Inadequate antimicrobial treatment of infections: a risk factor for hospital mortality among critically ill patients*. Kollef MH, Sherman G, Ward S, et al. *462-74, Feb 1999, Chest, Vol. 115(2). 10027448.*
4. Nilam J. Soni, M.D., et al. *Comparative Effectiveness Review Procalcitonin-Guided Antibiotic Therapy Number 78. Procalcitonin-Guided Antibiotic Therapy*. Agency for Healthcare Research and Quality, U.S. Department of Health and Human Services. Rockville: U.S. Department of Health and Human Services, 2012. EHC124-.
5. Cox KL, Devanarayan V, Kriacunas A, et al. *Immunoassay Methods*. Sittampalam GS, Grossman A, Brimacombe K, et al., editors. *Assay Guidance Manual [Internet]*. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center. Sittampalam GS: Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences, 2012.
6. Wild, David. *The Immunoassay Handbook 4th Edition Theory and Applications of Ligand Binding, ELISA and Related Techniques*. s.l. : Elsevier Science, 2013. 9780080970387

SYMBOLS USED IN LABELS:

	In vitro diagnostic medical device
	Use by (expiration date)
	Store at \pm °C
	Contains sufficient for \geq test
	Batch code
	Catalogue number
	Consult instructions for use
	Wells



CDG Biotech Corporation
31332 Via Colinas, unit 106
Westlake Village, CA. 91362.USA
www.cdgbiotech.com



EU representative:

Emergo Europe
Prinsessegracht 20, 2614 AP The Hague
The Netherlands
Tel: (+31) (0) 70 545-8670 / Fax: (+31) (0) 70 548-7299
Email: EmergoVigilance@ul.com

Version A
Effective Date: 01/10/2021
Approved by: Noel Silva