

Instrucciones para uso de suPARnostic® Quick Triage

soluble urokinase Plasminogen Activator Receptor
Dispositivo de prueba

REF A003



suPARnostic y el logo de ViroGates son marcas registradas por ViroGates A/S, Dinamarca.
©2008 ViroGates.
Todos los derechos reservados.

ViroGates A/S
Banevænget 13
Birkerød 3460, Denmark
Tel: +45 2113 1336
Skype: virogates
www.virogates.com



Este producto está protegido por una o más patentes estadounidenses, europeas y/o extranjeras.

Consulte a www.virogates.com para obtener más instrucciones e instrucciones en tu idioma.
Alternativamente contacta con tu distribuidor local para instrucciones en tu idioma.

DESTINO DE US PARA USO PROFESIONAL

El suPARnostic® Quick Triage es usado para determinar el receptor soluble del activador del plasminógeno tipo urokinasa (suPAR) en EDTA plasma humano en ng/ml.
La interpretación de los resultados debe de hacerse considerando la historia clínica del paciente y los resultados de otras pruebas diagnósticas si se disponen.

RESUMEN DE suPAR COMO UN MARCADOR PRONOSTICO DE ENFERMEDAD

suPAR es la forma soluble del receptor del activador de plaminógeno uroquinasa (uPAR). La cantidad de suPAR es una medida de activación inmune e inflamación. suPAR es un biomarcador no-específico que aumenta por la presencia de enfermedad. A más alto nivel de suPAR, más alto riesgo de progresión de enfermedad y peor pronóstico para el paciente.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

El suPARnostic® Quick Triage es un inmunoensayo de flujo lateral (LFIA). El dispositivo utiliza anticuerpos

monoclonales de rata oro-conjugados y de ratones contra suPAR humano para dar una medición cuantitativa del nivel de suPAR en plasma. El EDTA- o heparina-plasma es mezclado con el tampón de migración (running buffer) y es aplicado al dispositivo del suPARnostic® Quick Triage. Durante los 20 minutos de incubación la muestra de plasma reacciona con anticuerpos oro-conjugados anti-suPAR y migra a través de la membrana de nitrocelulosa.

La muestra que contiene oro-conjugado suPAR está ligada a captar anticuerpos suPAR en la línea de prueba, mientras que anticuerpos no suPAR son captados en la línea de control (anticuerpos anti-ratón).

El suPARnostic® Quick Triage está calibrado frente a un control interno, ya que no ha sido establecido un control estándar internacional.

REACTIVOS Y MATERIALES

Reactivos proporcionados

Este kit contiene suficientes reactivos para realizar 25 muestras.

1. Dispositivos de Flujo Lateral, cada uno en una bolsa de aluminio con una bolsita desecante.
Cantidad: 25 dispositivos. Preparación: Listo para usar.
2. Assay Running Buffer (tampón de migración), PBS buffer (solución tampón fosfato), pH 7,2, con aditivos patentados y 0.05% de Bronidox® como conservante. Cantidad: 3.5 mL.
Preparación: Listo para usar.
3. Instrucciones de uso.
4. Instrucciones de uso de lector suPARnostic® Quick Test sin PC

Material necesario no incluido

- Pipeta ajustable con puntas, 10uL-100uL
- Reloj con temporizador o cronómetro
- Guantes desechables
- Lector suPARnostic® Quick Test (lector flujo lateral) REF-A004
- Tubo Eppendorf u otro tubo mezclador

ENTRENAMIENTO REQUERIDO

Para usar suPARnostic® Quick Triage se necesita que el usuario esté entrenado en cómo manejar el lector de Quick Test con y sin PC.

PRECAUCIONES Y RECOMENDACIONES DE LOS REACTIVOS

- Para uso profesional.
- No usar los componentes del kit después de la fecha de caducidad indicada.
- No mezclar reactivos de diferentes lotes de kits.
- No congelar ningún componente del kit.

- No pipetear con la boca ni ingerir ningún reactivo.
- No fumar, comer o beber cuando se realice el ensayo o en áreas donde las muestras o reactivos son manipulados.
- No mezclar muestras de plasma de diferentes pacientes o de diferentes muestras de sangre del mismo paciente.
- Las muestras humanas pueden estar contaminadas con agentes infecciosos. No ingiera, no exponga a heridas abiertas o respire en aerosol. Lleve guantes protectores y deseche las muestras biológicas adecuadamente.
- No usar un dispositivo si la bolsa está dañada o abierta de alguna forma.

Tenga en cuenta la posible dilución de suPAR en caso de transfusión infusión o similar.

ALMACENAMIENTO Y MANIPULACION

Los dispositivos deben de ser almacenados en bolsas selladas.

Los componentes del kit deben de almacenarse a 18-24 °C. Los dispositivos pueden ser usados hasta la fecha impresa en la bolsa. No usar dispositivos después de la fecha de caducidad. El tampón de migración puede ser usado hasta la fecha impresa en el bote. Cierre bien el tapón después de cada uso.
IMPORTANTE: Los dispositivos deben de ser usados en el momento que se abre la bolsa. No pueden guardarse y usar después.

RECOLECCION Y MANIPULACION DE MUESTRAS

Tipo de Muestra	Muestra Requerida
Muestra de Plasma	10 uL de Plasma

RECOGIDA DE MUESTRA Y ALMACENAMIENTO

Preparación de muestras de plasma:

1. La sangre completa se coge dentro de un tubo centrífugo que contiene EDTA o heparina anticoagulante.
2. Centrifugar la sangre a 3000 x g durante 1-10 minutos.
3. Trasferir y almacenar muestras de plasma en tubos marcados y separados.
4. Fechar e identificar cada muestra.
Para almacenamiento a largo plazo mantener a -20° C. Evitar ciclos de congelación/descongelación.

Muestras muy hemolizadas, lipémicas o contaminadas microbiológicamente no deberán de ser usadas. Muestras con niveles anormales elevados de hemoglobina o bilirrubina pueden interferir con el resultado y la sensibilidad de la prueba.

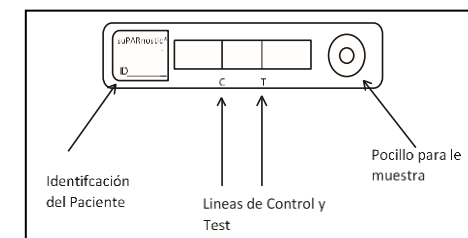
PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

suPARnostic® Quick Triage (Código Nº A003)

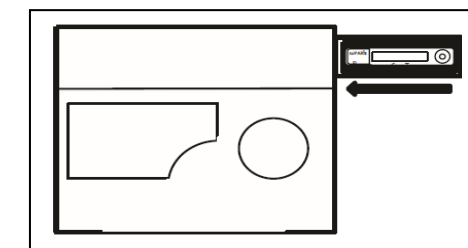
Procedimiento

1. Transferir 100 uL de Assay Running Buffer (tampón de migración) a un tubo vacío.
2. Transferir 10 uL de muestra de plasma al tubo que contiene 100 uL de Assay Running Buffer (tampón de migración).
3. Ajuste la pipeta a 60 uL y mezcle pipeteando el contenido del tubo cuatro veces hacia arriba y hacia abajo en la punta de la pipeta. Preferiblemente vortex la muestra.
4. Transferir 60 uL de la muestra diluida al hueco o pocillo del dispositivo del suPARnostic® Quick Triage.
5. Incubar durante 20 minutos e insertar el dispositivo dentro del lector antes de la medición. Presionar "Iniciar" para leer el dispositivo.

DESCRIPCION DEL DISPOSITIVO



INFORMACION DEL LECTOR DE suPARnostic® QUICK TEST



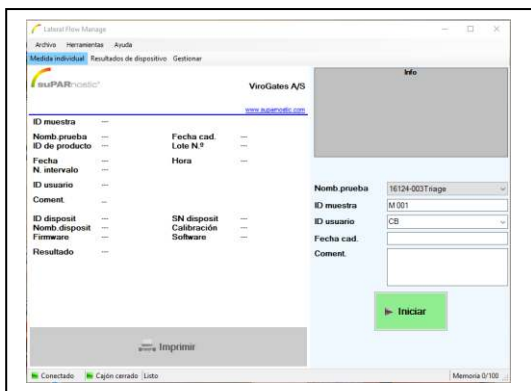
Abra la bandeja en el lado derecho del lector. Inserte el dispositivo con la identificación del paciente a la izquierda más cercana al lector y la parte del pocillo a la derecha. Es importante posicionar el dispositivo correctamente en la bandeja del lector.

EJECUCION DE UN TEST

El Software LF permite al usuario medir un dispositivo y obtener suPAR como una medida cuantitativa basada en una curva de calibración. Adicionalmente, el usuario puede seleccionar de introducir la

identificación de la muestra, la identificación del usuario, información de fecha de caducidad y algún comentario.

- Haga Click en la pestaña "Medida individual". El Software aparece como se muestra a continuación:



- Asegúrese que el lector está conectado al PC y el Software está ejecutándose.
- Retire el dispositivo de su bolsa.
- Añada la muestra al dispositivo como se describe en el procedimiento de ensayo.
- Espere 20 minutos para que la incubación termine.
- Inserte el dispositivo con la identificación del paciente a la izquierda más cercana al lector y la parte del pocillo a la derecha, cuando la incubación este hecha. Presione "Iniciar" para empezar la medición del dispositivo.
- El resultado de suPAR será mostrado en ng/ml.
- El valor de suPAR debe de estar dentro del rango 2-15 ng/mL. Si el resultado está fuera de este rango, si aparece como <2,0 ng/ml o >15 ng/ml, el valor no puede considerarse exacto ni preciso. Si la pantalla muestra "INVALID", un error ha ocurrido durante la medición. Repetir la muestra y si el resultado es "INVALID" de nuevo, mirar las instrucciones ampliadas en internet o contactar con ViroGates para soporte en el número de teléfono +45 2113 1336 o por email a info@virogates.com.

CONTROL DE CALIDAD

EL suPARnostic® Quick Triage usa la Línea-C como control de calidad interna.

El resultado es defectuoso si la Línea-C no aparece sobre el dispositivo después de haber usado el test correctamente.

Cuando el dispositivo de suPARnostic® Quick Triage está usado con el lector suPARnostic® Quick test, el

lector muestra automáticamente si ha ocurrido algún error. El lector también tiene un control interno de calidad que se ejecuta cada vez que el lector es encendido.

CALCULO DE RESULTADOS

El lector de suPARnostic® Quick Test realiza automáticamente el cálculo de niveles de suPAR. El dispositivo suPARnostic® Quick Triage tiene que ser usado con el lector para dar valores correctos. El usuario no puede evaluar los resultados solo inspeccionando visualmente el dispositivo Quick Triage.

El lector escanea la línea de test de control y determina la intensidad de las líneas. El cálculo estimado del valor de suPAR está basado en la línea de test. El lector suPARnostic® Quick Test usa un método específico de lote para cada lote de dispositivos de Quick Triage para el cálculo. El método específico de lote se carga en el lector cuando un nuevo lote se empieza a usar. El método contiene una curva de calibración que el lector usa para convertir la intensidad de la línea T en ng/ml de suPAR. El cálculo matemático está hecho con una línea recta basada en 6 Muestras de Referencia con concentraciones conocidas y en una muestra con tampón (buffer) solo.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

El diagnóstico clínico no debe estar basado sólo en resultados de suPARnostic® Quick Triage test. La interpretación de los resultados debe considerarse con la historia clínica del paciente y el resultado de otras pruebas diagnósticas si están disponibles. Las sustancias enumeradas a continuación fueron analizadas para detectar interferencias con el suPARnostic® Quick Triage. Ninguna de las sustancias analizadas interfirió con la realización de la prueba.

Sustancia	Concentración mmol/L
Bilirrubina	0,10-0,50
Hemoglobina	0,00-0,94
Triglicéridos	0 – 23

Factor reumatoide: Muestras de 16 pacientes con elevación de factor reumatoide en la concentración (0-1600 KIU/L) fueron analizados. Nosotros observamos una correlación no significativa al factor reumatoide (R2=0.33).

VALORES ESPERADOS

Todos los individuos tienen un nivel medible de suPAR, y en donantes de sangre sanos (N=9305) el nivel de la mediana de suPAR para hombres entre 18-65 años es 2.22 ng/mL (25-75% intervalo de 1.76-2.90 ng/ml), y para mujeres entre 18-65 años 2,56 ng/mL

(25-75% intervalo de 2.05-3.23 ng/mL)¹. En pacientes atendidos en servicios de urgencias el nivel de suPAR es alrededor 3-6 ng/mL^{2,3,6} y en pacientes con enfermedades graves y fallo orgánico, suPAR con frecuencia tiene valores con dos dígitos^{4,5}. Cuanto mayor sea el nivel de suPAR mayor será el riesgo de progresión de enfermedad y peor pronóstico.

CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO

Límite de Blanco - (Limit of Blank – LOB)
Límite de blanco muestra la variación de una muestra en blanco (solo con tampón (buffer)). El valor más alto de validaciones de 3 lotes.

Límite de Detección - (Limit of Detection - LOD)
Límite de detección es la más baja detección posible de suPAR, que no es una muestra en blanco. El valor más alto de validaciones de 3 lotes.

Límite de Cuantificación - (Limit of Quantification - LOQ)

Límite de Cuantificación se establece como la muestra con la concentración más baja en el intervalo 0-2 ng/ml para tener un % de CV que no exceda de 25%. El valor más alto de validaciones de 3 lotes.

	LOB	LOD	LOQ
X (NG/ML) =	0.4	1.0	2.0

Imprecisión y Repetibilidad

Resultados intra-serie se estiman en cinco mediciones al mismo día y proporcionan una media, desviación estándar y % de coeficiente de variación (CV%).

La variación inter-series está basado en medidas cada día sobre 5 días. El % de CV más alto de 3 lotes se muestran abajo.

	SAMPLE 1	SAMPLE 2	SAMPLE 3	SAMPLE 4
X (NG/ML)=	2.0	4.0	7.4	14.0
WITHIN RUN CV (%)	22%	23%	12%	10%
BETWEEN RUN CV (%)	29%	20%	18%	18%

EXACTITUD (COMPARACION DE METODOS)

La correlación con el Passin-Bablok hacia el suPARnostic® ELISA se ha realizado para estimar la capacidad de Quick Triage de cuantificar suPAR en muestras de pacientes.

Resultados

Tipo de Muestra	Cantidad de Muestras	Pendiente	Y-interceptado	Passing-Bablok correlación	Valor Intervalo
Plasma	60	1.13	-0.39	0.893	1.3-18.7

X = suPARnostic ELISA Y = suPARnostic Quick Triage

MANEJO DE RESIDUOS

Desear los reactivos no utilizados y desearlo de acuerdo con la regulación local, estatal, federal o del país.

Para uso profesional

REF	LOT	i	Temperature Limits
Catalog no.	LOT No. (Batch No.)	Consult instructions for use	Temperature Limits
Do not re-use	Do not use if package is damaged or open	Contains sufficient for <n> tests	Use by

REFERENCIAS

- Haastrop E, Grau K, Eugen-Olsen J, Thorball C, Kessing LV, Ullum H: Soluble urokinase plasminogen activator re-ceptor as a marker for use of antidepressants. PLoS One 2014, e110555.
- Raggam RB, Wagner J, Pruller F, Grisold A, Leitner E, Zollner-Schwetz I, et al: Soluble urokinase plasminogen activator receptor predicts mortality in patients with sys-temic inflammatory response syndrome. J Intern Med 2014, 12238.:10.
- Haupt TH, Petersen J, Ellekilde G, Klausen HH, Thorball CW, Eugen-Olsen J, et al: Plasma suPAR levels are associat-ed with mortality, admission time, and Charlson Comorbid-ity Index in the acutely admitted medical patient: a pro-spective observational study. Crit Care 2012, 16:R130.
- Koch A, Zimmermann HW, Gassler N, Jochum C, Weiskir-chen R, Bruensing J, et al.: Clinical relevance and cellular source of elevated soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) in acute liver failure. Liver Int 2014, 10
- Donadello K, Scolletta S, Taccone FS, Covajes C, Santono-cito C, Cortes DO, et al: Soluble urokinase-type plasmino-gen activator receptor as a prognostic biomarker in critical-ly ill patients. J Crit Care 2014, 29:144-149.
- Rasmussen LJH, Ladelund S, Haupt TH, Ellekilde GE, Eugen-Olsen J, Andersen O. Combining National Early Warning Score With Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor (suPAR) Improves Risk Prediction in Acute Medical Patients: A Registry-Based Cohort Study. Crit Care Med. 2018 Dec;46(12):1961-1968.