

Enzimoimmunoanálisis [ELISA] de calcitonina

REF 7024

Análisis cuantitativo específico
para la determinación de calcitonina en suero

julio 2018



I. USO PREVISTO

El enzimoimmunoanálisis de calcitonina de Biomerica se utiliza para la determinación cuantitativa de calcitonina en el suero humano. Este análisis se destina a uso diagnóstico in vitro.

II. RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La calcitonina, un polipéptido de 32 amino ácidos, es secretada principalmente por las células C parafoliculares tiroideas. Su principal efecto biológico es inhibir la reabsorción de hueso osteoclástico. Esta propiedad ha hecho que se utilice la calcitonina en caso de trastornos caracterizados por una reabsorción aumentada, tales como la enfermedad de Paget, para algunos pacientes con osteoporosis.

III. TRASCENDENCIA CLÍNICA

El síndrome clínico más prominente asociado con un trastorno de hipersecreción de la calcitonina es el carcinoma medular de tiroides (MTC). El MTC es un tumor de las células C (productoras de calcitonina) de la glándula tiroidea. Aunque el MTC es poco común (comprende entre el 5 y el 10% de todos los cánceres de tiroides), con frecuencia es fatal. Puede ocurrir esporádicamente o en una forma familiar que se transmite como un rasgo autosómico dominante. El MTC reviste una gran importancia clínica debido a su distribución familiar. Más aún, se presta a un diagnóstico temprano mediante la calcitonina en suero. Es posible curarlo totalmente cuando aún es una enfermedad subclínica temprana¹. Frecuentemente se lo asocia con otras características clínicas y tiene un buen potencial de cura con la cirugía. A pesar de ser un tumor poco común, pueda darse en un patrón familiar^{1,3,4} como una neoplasia endocrina múltiple tipo II. Estos tumores generalmente producen concentraciones elevadas de calcitonina en suero que sirven para su diagnóstico. Por lo tanto, el inmunoanálisis de calcitonina en suero puede utilizarse para diagnosticar la presencia de MTC con un grado excepcional de exactitud y especificidad. No obstante, en el pequeño porcentaje de pacientes (si bien en aumento), los niveles de la hormona basal no difieren de los niveles normales¹. Algunos de estas personas presentan las primeras etapas de neoplasia o hiperplasia de las células C durante las cuales la cura quirúrgica es muy factible. Para detectar tempranamente la enfermedad en estos pacientes es necesario realizar pruebas de provocación de secreción de calcitonina, para descartar la posibilidad de falsos resultados negativos si se realiza solamente la determinación de la calcitonina basal. La mayoría de los tumores responden con un nivel aumentado de calcitonina a la administración de calcio⁵ o pentagastrina⁶ o su combinación⁷, pero cualquiera de esos agentes puede, con todo, brindar resultados engañosos. Por lo tanto, en casos con manifestaciones clínicas, deben considerarse ambos agentes para pruebas de diagnóstico. Más aún, las mediciones de calcitonina también pueden ser utilizadas para supervisar la eficacia de la terapia en pacientes con tumores productores de calcitonina.

Se ha informado el hallazgo de varias formas de calcitonina inmunoreactiva en personas normales o pacientes con MTC. Estas diversas formas de calcitonina tienen pesos moleculares que van desde 3.400 (monomérico) hasta 70.000 Dalton (polimérico).

Los trastornos neoplásicos de otras células neuroendocrinas también pueden elevar la calcitonina. El mejor ejemplo es el cáncer de pulmón de células pequeñas. Otros tumores tales como los carcinoides y los tumores de células del islote del páncreas pueden también dar como resultado una calcitonina en suero elevada.

Los aumentos de calcitonina en suero también han sido observados tanto en falla renal crónica como aguda, hipercalcemia e hipercalcemia.

IV. PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El inmunoanálisis para la detección de calcitonina de Biomerica es un enzimoimmunoanálisis [ELISA] para la medición de la cadena de calcitonina biológicamente intacta de 32 aminoácidos. Utiliza dos anticuerpos monoclonales de ratón diferentes a la calcitonina humana, específicos para regiones bien definidas en

la molécula de calcitonina. Un anticuerpo se enlaza sólo con la calcitonina 11-23 y este anticuerpo es biotinilado. El otro anticuerpo está preparado para enlazar sólo la calcitonina 21-32, estando marcado con peroxidasa de rábano [HRP] para detección.

Pocillo de estreptavidina--Anticalcitonina biotinilada (11-23)--Calcitonina intacta--Anticalcitonina conjugada con HRP (21-32)

En este análisis, los calibradores, los controles o las muestras de los pacientes se incuban simultáneamente con el anticuerpo marcado con enzimas y un anticuerpo acoplado con biotina en un pocillo de microplaca recubierto con estreptavidina. De este modo, la calcitonina en la muestra queda entre estos dos anticuerpos (en "sándwich"). Al final de la incubación del análisis, el micropocillo se lava para eliminar componentes sueltos y la enzima enlazada a la fase sólida se incubaba con el sustrato, tetrametilbencidina (TMB). Se agrega luego una solución de parada ácida para interrumpir la reacción, cambiándose el color a amarillo. La intensidad del color amarillo es directamente proporcional a la concentración de calcitonina en la muestra. Se genera una curva dosis-respuesta de la unidad de absorbancia frente a la concentración mediante la utilización de los resultados obtenidos de los calibradores. Las concentraciones de calcitonina presentes en los controles y las muestras de pacientes se determinan directamente a partir de esta curva.

V. COMPONENTES DEL KIT

Componentes del kit	Descripción	Cantidad
RGT 1 = Reactivo 1	Anticuerpo de calcitonina biotinilado	1 x 7,0 mL
RGT 2 = Reactivo 2	Anticuerpo de calcitonina marcado con peroxidasa (Enzima)	1 x 7,0 mL
RGT 3 = Reactivo 3	Solución de reconstitución con EDTA	1 x 10 mL
RGT A = Reactivo A	Concentrado de lavado para ELISA [Salino con agente tensioactivo]	1 x 30 mL
RGT B = Reactivo B	Sustrato TMB [tetrametilbencidina]	1 x 20 mL
SOLN = Solución de parada	Solución de parada para ELISA [ácido sulfúrico 1 N]	1 x 20 mL
PLA = Microplaca	Un soporte con tiras recubiertas de estreptavidina.	12 tiras de 8 pocillos
CAL = Calibradores A: 0 pg/mL B: Consulte las etiquetas del vial para obtener las concentraciones exactas C: D: E: F:	Calcitonina sintética liofilizada. Calibrador cero liofilizado [solución BSA]. Todos los demás calibradores constan de calcitonina (1-32) en solución BSA, calibrada según 2ª IS 89/620 de la OMS	1 x 2 mL para el calibrador cero 1 x 1 mL para todos los demás calibradores
CTRL = Controles 1 y 2	Liofilizados. 2 niveles. Calcitonina sintética (1-32) en solución BSA.	1 x 1 mL por nivel

MATERIAL Y EQUIPO REQUERIDO PERO NO SUMINISTRADO

- Lector de microplacas capaz de medir la absorbancia en longitudes de onda de 450 nm y 405 nm.
- Lavadora de microplacas [si no se puede disponer de una lavadora, se podría aceptar el lavado manual].
- Pipetas de precisión para dosificar 50, 100 y 150 µL.
- (Opcional): Un dosificador de canales múltiples o un dosificador de repetición para 50, 100 y 150 µL.
- Agitadores de microplaca: Biomerica ha descubierto que para los diámetros de agitador indicados a continuación, los kits de estreptavidina mantendrán una respuesta de rendimiento óptima en las siguientes configuraciones de velocidad:

Agitadores de microplaca	Diámetro de agitador	Configuración de velocidad:
Orbitario	3 mm (0.118 in)	600 ± 10 rpm
	19 mm (0.75 in)	170 ± 10 rpm
Lineal	25 mm (0.98 in)	170 ± 10 rpm

VI. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES PARA LOS USUARIOS

Si bien el diseño específico de los reactivos suministrados en este kit garantiza la ausencia de componentes de la sangre humana, las muestras de pacientes, que pueden presentar anticuerpos de HBsAg, HBcAg o VIH, deben considerarse un riesgo biológico potencial. Deben tomarse las precauciones habituales en la manipulación de dichas muestras, como se hace con las muestras de pacientes no analizadas.

La solución de parada consiste en ácido sulfúrico 1 N. Se trata de un ácido potente. Si bien el mismo se encuentra diluido, debe manipularse con cuidado. Puede producir quemaduras y debe manipularse con guantes, gafas y ropa protectora adecuada. Cualquier derrame debe enjuagarse inmediatamente con abundante cantidad de agua. No respire cuando advierta el vapor del mismo y evite su inhalación.

Si se observa turbidez en algún reactivo, no realice el ensayo y póngase en contacto con su distribuidor.

Se encuentran a la venta diversos tipos de agitador con diferentes especificaciones. En caso de que el agitador de microplaca no se encuentre dentro del intervalo especificado anteriormente, se anima a cada laboratorio a establecer su propio intervalo óptimo.

VII. RECOPIACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

La determinación de calcitonina debe realizarse con suero. Para realizar un análisis de la muestra por duplicado, se requiere 200 µL de suero. Recolecte sangre completa sin anticoagulante. Luego de permitir que la sangre se coagule, debe separarse inmediatamente el suero, preferentemente en una centrífuga refrigerada y almacenarse a -20°C como mínimo. Evite las muestras marcadamente lipémicas o hemolizadas.

VIII. PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE REACTIVOS

Almacene todos los componentes del kit a 2 - 8 °C.

1. Todos los reactivos, excepto los calibradores, los controles de kit y el concentrado de lavado, están listos para usar. Almacene todos los reactivos a 2-8°C.
2. Reconstituya el calibrador A (estándar cero) con 2.0 mL de agua destilada o desionizada y mezcle. En cada uno de los calibradores que no sean cero (del Calibrador B al F) y en los controles 1 y 2 del kit, reconstituya cada vial con 1,0 mL de Reactivo 3 (Solución de reconstitución) y mezcle. Permita que los viales reposen 10 minutos y luego mezcle por completo, invirtiendo el envase con cuidado para obtener la reconstitución completa. **Utilice los calibradores y los controles lo antes posible luego de la reconstitución. Congele (a -20°C) los calibradores y los controles restantes lo antes posible luego de utilizarlos en un congelador que no sea autodescongelante.** Las normas y los controles permanecen estables a -20°C durante 6 semanas luego de la reconstitución, con un máximo de 3 ciclos de congelamiento/descongelamiento al manipularse según lo recomendado en la sección "Notas de procedimiento".
3. **ELISA Reactivo A:** Concentrado de lavado: Mezcle el contenido del concentrado de lavado por completo. Si el concentrado de lavado presenta signos de precipitación debido al almacenamiento a una temperatura menor, como podría ser 4°C, disuélvalo colocando el vial a baño María o en el horno a 37°C y revuélvalo. Agregue el concentrado de lavado (30 mL) a 570 mL de agua destilada o desionizada y mezcle. La solución de lavado diluida permanece estable por 90 días cuando la misma se almacena a temperatura ambiente.

IX. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

1. Coloque una cantidad suficiente de Tiras recubiertas de estreptavidina en un soporte para ejecutar la totalidad de los seis (6) calibradores de calcitonina, del Calibrador A al F de los CALIBRADORES DE CALCITONINA [la concentración exacta se indica en la etiqueta del vial], los controles y las muestras de pacientes. Como mínimo designe dos pocillos para que sirvan como "pocillos de blanco". Referirse al paso 9 para la lectura final de placa.
2. Coloque **100 µL** de los calibradores, los controles y las muestras en una pipeta y viértala en el pocillo designado o asignado. **Congele (a -20°C) los calibradores y los controles restantes lo antes posible luego de utilizarlos.**
3. Agregue o vierta **50 µL** del Reactivo 1 (Anticuerpo biotinilado) en cada uno de los pocillos que ya contengan los calibradores, los controles y las muestras.
4. Agregue o vierta **50 µL** del Reactivo 2 (Anticuerpo marcado con enzimas) en los mismos pocillos. Cubra la o las microplacas con una bandeja o una película de aluminio para evitar la exposición a la luz y colóquelas en un **agitador** preparado a la configuración recomendada (consulte la sección **V**) durante **4 horas ± 30 minutos** a temperatura ambiente (22-28°C).
5. Primero, aspire el fluido completamente y luego lave/aspire cada pocillo cinco (5) veces con la solución de lavado activa (preparada a partir del Reactivo A), utilizando una lavadora de microplacas automática. El volumen de solución de lavado debe prepararse para verter 0,35 mL en cada pocillo.
6. Agregue o vierta **150 µL** de reactivo B (sustrato de TMB) en cada uno de los pocillos, excepto en los pocillos de blanco.
7. Con una cubierta adecuada para evitar la exposición a la luz, coloque la o las microplacas en un **agitador** preparado a la configuración recomendada (consulte la sección **V**) durante **30 ± 5 minutos** a temperatura ambiente (22°-28°C).
8. Agregue o vierta **100 µL** de solución de parada en cada uno de los pocillos, excepto en los pocillos de blanco. Mezcle suavemente.
9. Antes de la lectura, asegúrese de que los dos pocillos de blanco mencionados en el paso 1 se hayan llenado con 250 µL de agua destilada o desionizada. Utilice los pocillos de blanco para hacer el blanco del lector de placas, de conformidad con las instrucciones del fabricante.*Determine la absorbancia de la solución en los pocillos en los 10 minutos siguientes; para ello, use un lector de microplacas a **450 nm**. **Lea la placa otra vez** con el lector a **405 nm**, también con agua destilada o desionizada.

*Si, por motivos técnicos, no es posible ajustar el lector de placas ELISA a cero usando el blanco, sustraiga el valor de absorbancia del blanco a todos los demás valores de absorbancia para obtener resultados.

Nota: La segunda lectura está destinada a extender la validez analítica de la curva de calibración hasta el valor representado por el calibrador más alto, que es aproximadamente 1.000 pg/mL. Por lo tanto, las muestras de pacientes con calcitonina > 300 pg/mL pueden cuantificarse contra una curva de calibración que consista en las lecturas ascendentes hasta la concentración equivalente al calibrador más alto, utilizando la lectura de 405 nm, lejos de la longitud de onda de absorbancia máxima. En general, las muestras de pacientes y controles deben leerse utilizando los 450 nm para concentraciones de calcitonina de hasta 300 pg/mL. Las concentraciones de calcitonina superiores a 300 pg/mL deben interpolarse mediante la lectura de 405 nm.

10. Con los valores de absorbancia finales obtenidos en el paso anterior, trace una curva de calibración mediante una interpolación punto a punto o una interpolación logística de 4 parámetros o de regla flexible cúbica para cuantificar la concentración de la calcitonina.

NOTAS DE PROCEDIMIENTO

- La calcitonina 1-32 es una molécula muy lábil. Prepare el análisis inmediatamente al realizarse la reconstitución o el descongelamiento de todos los calibradores, los controles y las muestras de pacientes.
- Se recomienda realizar los análisis de todos los calibradores, los controles y las muestras de pacientes por duplicado. Las unidades de absorbancia promedio de grupos duplicados deben utilizarse entonces para reducir datos y calcular resultados.
- Las muestras deben colocarse en pipetas y verterse en el pocillo con una mínima cantidad de burbujas de aire. Para lograrlo, se recomienda utilizar la técnica de "pipeta inversa" descrita en el folleto de los fabricantes de pipetas incluido en el paquete.
- Las muestras de pacientes con valores superiores al calibrador más alto (Calibrador F), aproximadamente 1.000 pg/mL (vea la concentración exacta en la etiqueta del vial), pueden diluirse con el Calibrador A (Calibrador cero) y volver a analizarse. Multiplique el resultado por el factor de dilución.
- Los reactivos de números de lote diferentes no deben intercambiarse.
- Si lo prefiere, mezcle el Reactivo 1 (Anticuerpo biotinilado) y el Reactivo 2 (Anticuerpo marcado con enzimas) en una botella ámbar limpia empleando a tal fin volúmenes iguales y cantidades suficientes para el análisis. El reactivo combinado se mantiene estable por siete (7) días si se almacena a 4°C. Luego, vierta 100 µL del anticuerpo mezclado en cada pocillo. Este método alternativo debe reemplazar al Paso (3) y (4), seguido por la incubación con agitador orbitario.
- Al mezclar, evite salpicar los reactivos fuera de los pocillos. Esto afectará la precisión y la exactitud del análisis.

X. CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Método manual

1. Para las lecturas de 450 nm, construya un curva dosis-respuesta (curva de calibración) utilizando los primeros cinco calibradores suministrados, es decir, los Calibradores A, B, C, D y E. Para las lecturas de 405 nm, trace una segunda curva dosis-respuesta utilizando los tres calibradores con las concentraciones más altas, es decir, los Calibradores D, E y F.
2. Asigne la concentración para cada calibrador indicada en el vial en pg/mL. Trace los datos de la curva de calibración en papel milimetrado para gráficos con la concentración en el eje X y la unidad de absorbancia en el eje Y.
3. Dibuje una línea recta entre 2 puntos adyacentes. Este algoritmo matemático se conoce comúnmente como el cálculo "punto a punto". Obtenga la concentración de la muestra ubicando la unidad de absorbancia en el eje Y y buscando el valor de concentración correspondiente en el eje X. Las muestras de pacientes y controles deben leerse utilizando los 450 nm para concentraciones de calcitonina hasta los 300 pg/mL. Las concentraciones de calcitonina superiores a 300 pg/mL deben interpolarse mediante la lectura de 405 nm.

Método automático:

Los programas informáticos que utilizan la regla flexible cúbica o 4 PL [Logística de 4 parámetros] o punto a punto pueden resultar adecuados.

Datos de muestra a 450 nm [lectura de unidad de absorbancia bruta contra agua destilada o desionizada]

Pocillo de microplaca	Unidad de absorbancia de 1ª lectura	Unidad de absorbancia de 2ª lectura	Unidad de absorbancia promedio	Calcitonina en pg/mL	Calcitonina en pg/mL - Resultado a informar
Calibrador A	0,008	0,009	0,0085		0
Calibrador B	0,059	0,064	0,0615		10
Calibrador C	0,186	0,194	0,190		30
Calibrador D	0,578	0,602	0,590		100
Calibrador E	1,900	1,882	1,891		300
Control 1	0,127	0,122	0,125	20,6	20,6
Control 2	2,554	2,565	2,560	> 300	*

Muestra de paciente 1	0,034	0,040	0,037	4,7	4,7
Muestra de paciente 2	0,104	0,098	0,101	16,3	16,3
Muestra de paciente 3	0,397	0,411	0,404	68,7	68,7
Muestra de paciente 4	2,195	2,173	2,184	> 300	*

* Debido a que la lectura de la concentración es > 300 pg/mL, se recomienda utilizar los datos obtenidos en 405 nm, como se muestra en los **Datos de muestra a 405 nm** en la tabla incluida a continuación.

Datos de muestra a 405 nm [lectura de unidad de absorbancia bruta contra agua destilada o desionizada]

Pocillo de microplaca	Unidad de absorbancia de 1ª lectura	Unidad de absorbancia de 2ª lectura	Unidad de absorbancia promedio	Calcitonina en pg/mL	Calcitonina en pg/mL – Resultado a informar
Calibrador A	0,005	0,005	0,005		0
Calibrador D	0,187	0,198	0,193		100
Calibrador E	0,602	0,597	0,599		300
Calibrador F	1,898	1,910	1,904		1000
Control 1	0,045	0,044	0,045	< 300	¶
Control 2	0,814	0,816	,815	403	403
Muestra de paciente 1	0,016	0,020	0,018	< 300	¶
Muestra de paciente 2	0,039	0,035	0,037	< 300	¶
Muestra de paciente 3	0,128	0,134	0,131	< 300	¶
Muestra de paciente 4	0,697	0,689	0,693	345	345

¶ Para las muestras con una lectura < 300 pg/mL, se recomienda utilizar los datos obtenidos en 450 nm, como se muestra en los **Datos de muestra a 450 nm** en la tabla incluida arriba. Esta práctica debe producir los resultados con óptima sensibilidad del análisis.

NOTA: Los datos presentados sólo tienen fines de ilustración y no deben utilizarse en lugar de los datos generados durante el análisis.

XI. CONTROL DE CALIDAD

El suero de control o los grupos de sueros deben analizarse con cada ejecución de los calibradores y las muestras de pacientes. Los resultados generados a partir del análisis de las muestras de control deben evaluarse para su aceptación utilizando los métodos estadísticos adecuados. Es posible que, en análisis con uno o más valores de muestra de control de calidad que se encuentren fuera de los límites aceptables, los resultados de la muestra del paciente no sean válidos.

XII. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El kit ELISA para calcitonina de Biomerica no ha exhibido ningún “efecto gancho de alta dosis” en muestras que contenían 1.000.000 pg/mL de calcitonina (1-32) intacta pura. La muestra dio un resultado superior al estándar más elevado, es decir, 1.000 pg/mL. Sin embargo, las muestras con niveles de calcitonina mayores que el calibrador más alto deben diluirse y volver a analizarse para obtener los valores correctos.

A semejanza de lo que sucede con cualquier analito utilizado como adjunto de diagnóstico, los resultados de la calcitonina deben interpretarse cuidadosamente con las presentaciones clínicas generales y otras pruebas de diagnóstico complementarias.

Los suplementos que contienen niveles altos de biotina, como los que se comercializan para el cuidado del pelo, la piel y las uñas, pueden contener cantidades interferentes de biotina. Unos niveles más altos de biotina que la dosis diaria recomendada pueden causar interferencias con el ensayo. Por lo tanto, es importante comunicarse con los profesionales sanitarios y con los pacientes sobre la dosis de biotina al recoger las muestras para evitar resultados de pruebas incorrectos. Los resultados muestran que 2 ng/mL de D-Biotina es la máxima concentración en la que no se ha observado ninguna interferencia significativa.

Las muestras de pacientes habitualmente expuestos a animales o a productos de suero animal pueden contener anticuerpos heterófilos que produzcan resultados atípicos. Este ensayo se ha formulado para mitigar el riesgo de este tipo de interferencia. Sin embargo, pueden producirse posibles interacciones entre sueros poco comunes y los componentes de la prueba.

XIII. VALORES PREVISTOS

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia. Los datos suministrados deben utilizarse sólo como guía. Los niveles de calcitonina se midieron en cincuenta y nueve (59) personas de sexo femenino aparentemente normales y en cincuenta y dos (52) personas de sexo masculino aparentemente

normales con el enzimoimmunoanálisis (ELISA) de calcitonina de Biomerica. Los valores obtenidos en las mujeres normales oscilaban entre 0,1 y 10,9 pg/mL y los valores obtenidos en los varones normales oscilaban entre 0,2 y 27,7 pg/mL. Según las pruebas estadísticas sobre asimetría y curtosis, la población sigue la distribución gaussiana o normal. Las desviaciones estándar de la media geométrica de + 2 para las mujeres normales se calcularon entre 0,07 y 12,97 pg/mL, y entre 0,68 y 30,26 pg/mL para los varones normales. De manera consistente con las publicaciones^{2,9}, los niveles de calcitonina generalmente fueron inferiores en las mujeres normales que en los varones normales. Por lo tanto, el rango de referencia debe ser inferior a 13 y 30 pg/mL para mujeres y hombres, respectivamente.

XIV. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Precisión

Setenta y siete muestras de pacientes, con valores de calcitonina de entre 0,8 y 3,113 pg/mL fueron analizadas por el procedimiento de enzimoimmunoanálisis (ELISA) de Biomerica y un análisis inmunoradiométrico de calcitonina (Kit IRMA). El análisis de regresión lineal brinda las siguientes estadísticas:

$$\text{Prueba ELISA de Biomerica} = \text{Kit IRMA de } 0,940 + 6,55 \text{ pg/mL} \\ r = 0,993 \quad N = 123$$

Más aún, setenta y una muestras de pacientes, con valores de calcitonina que oscilaban entre 0,7 y 2,240 pg/mL fueron analizadas por el procedimiento de enzimoimmunoanálisis (ELISA) de Biomerica y un kit de inmunoanálisis quimioluminiscente para calcitonina (ICMA). El análisis de regresión lineal brinda las siguientes estadísticas:

$$\text{Prueba ELISA de Biomerica} = \text{Kit ICMA de } 1,094 - 6,13 \text{ pg/mL} \\ r = 0,995 \quad N = 123$$

Sensibilidad

La sensibilidad o el límite de detección mínimo de este análisis se define como el valor individual menor, que puede distinguirse de cero en el límite de confianza de 95%. El enzimoimmunoanálisis (ELISA) de calcitonina de Biomerica tiene una sensibilidad calculada de 1,0 pg/mL.

Precisión y reproducibilidad

La precisión (variación intraanálisis) de la prueba ELISA para calcitonina de Biomerica se calculó a partir de 20 determinaciones repetidas en cada una de las tres muestras.

Variación intraanálisis

Muestra	Valor Medio (pg/mL)	N	Coefficiente de variación %
A	24,3	20	5,7
B	94,9	20	4,3
C	403	20	2,8

La precisión total (variación interanálisis) de la Prueba ELISA para calcitonina de Biomerica se calculó a partir de los datos de tres muestras obtenidas por tres técnicos en 15 análisis diferentes en dos lotes de reactivos diferentes, durante un período de tres semanas.

Variación interanálisis

Muestra	Valor Medio (pg/mL)	N	Coefficiente de variación %
A	16,5	15	7,4
B	64,5	15	7,4
C	340	15	6,1

Recuperación

Se agregaron diversas cantidades de calcitonina a cuatro sueros de pacientes diferentes para determinar la recuperación. Los resultados se describen en la siguiente tabla:

Muestra de suero	Calcitonina endógena (pg/ml)	Calcitonina añadida (pg/ml)	Valor previsto (pg/ml)	Valor medido (pg/ml)	Recuperación (%)
A	0	--	--	--	--
	0	100	100	110	110 %
	0	200	200	217	109 %
B	9,7	--	--	--	--
	8,7	100	109	106	97 %
	7,8	200	208	207	100 %
C	0	--	--	--	--
	0	100	100	104	104 %
	0	200	200	205	103 %
D	5,7	--	--	--	--
	5,1	126	131	119	91 %
	4,6	220	225	203	90 %

Especificidad y reactividad cruzada

Reactante cruzado	Concentración de reactante cruzado	Calcitonina sin reactante cruzado [pg/mL]	Calcitonina con reactante cruzado [pg/mL]	Cambio en calcitonina [pg/mL]	% de reactividad cruzada
PTH(1-84)	100,000 pg/mL	186	194	8	0,00800%
	30,000 pg/mL	186	200	14	0,04667%
	10,000 pg/mL	186	194	8	0,08000%
Péptido relacionado con gen de calcitonina	1,000,000 pg/mL	200	202	2	0,00020%
	100,000 pg/mL	200	204	4	0,00400%
Calcitonina de salmón	1,000,000 pg/mL	191	194	3	0,00030%
	100,000 pg/mL	191	199	8	0,00800%
TSH (tirotrópica)	5000 uIU/ml	198	203	5	0,00061%
	500 uIU/ml	198	193	0	0,00000%
	50 uIU/ml	198	199	1	0,01220%

Cada reactante cruzado se coloca en una muestra que contiene calcitonina. El nivel de calcitonina se mide antes y después del añadido del reactante cruzado. Ninguno de los reactantes cruzados interfiere con esta prueba ELISA de calcitonina. Los pequeños cambios medidos en la calcitonina se encuentran completamente dentro de las estadísticas de precisión del intraanálisis.

Efecto cinético del análisis

Para determinar si existe algún efecto cinético sistemático entre el comienzo de la ejecución y su finalización, se colocaron en secuencia tres grupos de sueros de pacientes, seleccionados para brindar una muestra representativa adecuada, a lo largo de toda la ejecución de una microplaca o 96 pocillos [con doce tiras de 8 pocillos]. Los resultados no muestran una variación significativa del análisis.

Linealidad de diluciones en muestras de pacientes: Paralelismo









Se diluyeron seis muestras de suero de pacientes con Calibrador A (Calibrador cero). A continuación, se muestran los resultados en pg/mL:

Muestra	Dilución	Valor previsto	Valor observado	% Observado \pm previsto
A	Sin diluir	-	343	-
	1:2	172	168	98 %
	1:4	85,8	81,3	95 %
	1:8	42,9	40,3	94 %
B	Sin diluir	-	271	-
	1:2	136	131	97 %
	1:4	67,8	70	103 %
	1:8	33,9	34,3	101 %
C	Sin diluir	-	265	-
	1:2	133	134	101 %
	1:4	66	70,4	106 %
	1:8	33,1	32,5	98 %
D	Sin diluir	-	>1000	-
	1:2	-	1060	-
	1:4	530	504	95%
	1:8	265	271	102%
E	Sin diluir	-	231	-
	1:2	116	116	100%
	1:4	57,8	58,8	102%
	1:8	28,9	27,1	94%
F	Sin diluir	-	>1000	-
	1:2	-	997	-
	1:4	499	429	86 %
	1:8	249	223	89 %
	1:16	125	119	95 %

XV. BIBLIOGRAFÍA:

- Deftos, L.J., **Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism**, (edited by Favus, N.J.), 1st Edition, American Society for Bone and Mineral Research, pp 53 – 55, 1990.
- Deftos, L.J., Weisman M.H., Williams G.H., Karpf, D.B., Frumar, A.M., Davidson, B.H., Parthemore, J.G., Judd, H.L., Influence of age and sex on plasma calcitonin in human beings. **N. Engl. J. Med.** 302:1351-1353, 1980.
- Travis, J.C., (ed) **Clinical Radioimmunoassay . . . State-of-the-Art, Scientific News Letters, Inc.** Radioassay - Legend Assay Publishers, Anaheim, CA 92803, 1980, 1st Edition.
- Austin, L.A., and Heath, H., III, Medical Progress, Calcitonin Physiology and Pathophysiology, **N. Engl. J. Med.** 304:269,1981.
- Pathmore, J.G., Bronzert, G.R., and Deftos, L.J., A short calcium infusion in the diagnosis of medullary thyroid carcinoma, **J. Clin. Endocrinol. Metab.** 39:108,1974.
- Hennedssy, J.F., Wells, S.A., Ontjes, D.A., and Cooper, C.W., A comparison of pentagastrin injection and calcium infusion as provocative agents for the detection of medullary carcinoma of the thyroid, **J. Clin. Endocrinol. Metab.** 39:487, 1974.
- Wells, S.A., Baylin, S.B., Linehan, W.M. et al, Provocative agents and the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland. **Ann. Surg.** 188:139, 1978.
- Body J.J. and Heath III, H. Estimates of circulating monomeric calcitonin: physiological studies in normal and thyroidectomized man. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** 57:897, 1983
- Tiegs R.D., Body J.J., Barta J.M., and Heath III, H. Secretion and metabolism of monomeric human calcitonin: effects of age, sex and thyroid damage. **J. Bone Min. Res.** 1:339,1986.

XVI. SÍMBOLOS

	Temperatura del almacenamiento
	Código de la serie
	Vencimiento
	Fabricante
	Representante autorizado
	Cuidado, vea las instrucciones
	Para uso diagnóstico <i>in vitro</i>
	N. catalogo

XVII. INFORMACIÓN PARA PEDIDOS

PEDIDOS:

Envíe su pedido de compra a:



BIOMERICA, INC.
17571 Von Karman Avenue
Irvine, CA 92614
U.S.A.

2°C  8°C



Teléfono:

(949) 645-2111

FAX:

(949) 553-1231

Sitio web:

www.biomerica.com

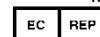
Correo electrónico:

bmra@biomerica.com



67024-09_spa.doc

julio 2018



de acuerdo con IVDD 98/79/ EC
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
D-30175 Hannover
Alemania