

# Inmunoensayo










**REF** CMG0102



100 pruebas

## Micropartículas Insulina CLIA

Este ensayo se basa en un inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (Micropartículas CLIA) para la determinación cuantitativa de la concentración de Insulina en suero humano.

Todas las marcas registradas son propiedad de sus respectivos dueños.

Clave para los símbolos gráficos utilizados			
	Código de lote		uso para
	fabricante		Contenido suficiente para <n> pruebas
	Dispositivo medico de diagnóstico <i>in vitro</i>		Limitación de temperatura
	Número de catálogo		Consulte instrucciones para uso
	Representante autorizado en la Comunidad Europea.		

	OBELIS S.A Bd. Général Wahis, 53 1030 Brussels Belgium
	AUTOBIO DIAGNOSTICS CO., LTD No.87 Jingbei Yi Road National Eco & Tech Development Area Zhengzhou China 450016



Para asistencia técnica por favor contáctese con nosotros en  
Ingles a:Email: [customerservice@autobio.com.cn](mailto:customerservice@autobio.com.cn)

Contáctese con los distribuidores locales para todas las preguntas relacionadas a los productos en su lenguaje local

## Introducción

El páncreas se encuentra detrás de la parte inferior del estómago. Produce insulina y enzimas que ayudan al cuerpo a digerir y usar los alimentos. A lo largo del páncreas hay grupos de células llamadas islotes de Langerhans. Los islotes están formados por varios tipos de células, incluidas las células beta que producen insulina. La insulina es una hormona que ayuda al cuerpo a usar la glucosa para obtener energía.

La insulina humana es una hormona peptídica compuesta por 51 aminoácidos y tiene un peso molecular de 5808 daltons.<sup>1</sup>

Los niveles de insulina se ordenan con mayor frecuencia después de un nivel bajo de glucosa y/o cuando alguien tiene síntomas agudos o crónicos de bajo nivel de azúcar en la sangre (hipoglucemia), el cuerpo produce insulina y péptido C a la misma velocidad que parte de la conversión de proinsulina a la insulina en el páncreas. Ambos pueden ordenarse para evaluar cuánta insulina en la sangre es producida por el cuerpo (endógena) y cuánta es de fuentes exógenas. La prueba de insulina mide la insulina de ambas fuentes, mientras que la prueba del péptido C refleja la insulina producida por el páncreas (insulina endógena).

Las concentraciones de insulina tienden a ser más altas en individuos obesos, particularmente en aquellos con una mayor proporción de grasa visceral (abdominal).<sup>2,3</sup> La medición de las concentraciones de insulina circulante puede ser útil en la evaluación diagnóstica de varias afecciones.<sup>4</sup> Pueden estar involucradas altas concentraciones de insulina circulante en la patogenia de la hipertensión y la enfermedad cardiovascular. A la inversa, las bajas concentraciones de insulina en presencia de hiperglucemia sugieren deficiencia de insulina, p. La diabetes mellitus tipo 1 o dependiente de la insulina. La medición de la secreción inmediata o de la primera fase de insulina después de una carga de glucosa aguda puede ser predictiva de la diabetes mellitus tipo 1.<sup>5</sup>

## Principio de medición

Este ensayo se basa en el método de sándwich de un solo paso. Se combinan la muestra, las micropartículas recubiertas con anticuerpos de insulina y los anticuerpos de insulina marcados con enzimas. Durante la incubación, la insulina presente en la muestra se deja reaccionar simultáneamente con los dos anticuerpos, lo que hace que la insulina se sitúe entre las micropartículas recubiertas y los anticuerpos ligados a enzimas. Después del lavado, se genera un complejo entre las micropartículas-anticuerpos recubiertos, la insulina dentro de la muestra y los anticuerpos ligados a enzimas por reacciones inmunológicas. Luego se agrega el sustrato quimioluminiscente y se cataliza por este complejo, lo que resulta en una reacción quimioluminiscente. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como RLU. La RLU es proporcional a la concentración de insulina en la muestra del paciente.

## Materiales Provistos

### 1. Calibradores

En la siguiente tabla se muestran 6 viales de calibrador liofilizado A a F con las correspondientes concentraciones aproximadas de insulina. La matriz es el tampón Tris-HCl que contiene BSA (albúmina de suero bovino). Contiene 0.2% de conservante ProClin 300®. Reconstituya cada calibrador liofilizado con 1,0 ml de agua destilada.

Deje reposar el material reconstituido durante al menos 5 minutos. Luego invierte el calibrador para mezclarlo completamente.

Calibrador	Concentración Insulina (µIU/ml)
A	0
B	5
C	20
D	50
E	100
F	300

### 2. Paquete de Reactivos

El paquete de reactivos provistos está listo para su uso.

#### ● Conjugado de enzimas

1 vial que contiene 5,5 ml de anticuerpos monoclonales anti-IgG de ratón de ratón marcados con peroxidasa de rábano picante en un tampón Tris-HCl que contiene 50% de suero bovino. Contiene conservante ProClin 300®.

#### ● Solución de micropartículas

1 vial que contiene 2,3 ml de micropartículas recubiertas con anticuerpo recombinante de insulina en PBS (solución salina tamponada con fosfato) que contiene 1% de BSA. Contiene ProClin 300® y conservantes de azida de sodio.

## Analizadores de ensayo en los que se puede utilizar el kit

- AutoLumo A2000
- AutoLumo A2000 Plus

El inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (Micropartículas CLIA) está diseñado para su uso en Analizador de Ensayos, que es AutoLumo A2000 o AutoLumo A2000 Plus.

## Materiales Requeridos pero no Provistos

1. Analizador de ensayo
2. Recipiente(s) de reacción para muestra reactivo de reacción
3. Copa(s) de muestra o tubo(s) para contener muestra
4. Diluyente Universal
5. Sustrato Quimioluminiscente
6. Sistema de lavado para el lavado de la aguja de pipeteo.
7. Tampón de lavado utilizado en el procedimiento de lavado
8. Agua destilada o desionizada.

## Trazabilidad Metrológica De Calibradores

Los calibradores de productos se fabrican con Insulin en polvo liofilizado y la señal se ajusta a nuestros calibradores de trabajo, que también se ajustan a un calibrador de orden superior comprado en NICPBP (Instituto Nacional para el Control de Productos Farmacéuticos y Biológicos), China, a cada nivel de concentración.

## Advertencias y Precauciones

### Información de salud y seguridad

Para los calibradores y el conjugado enzimático, que contienen 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-uno y 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, se aplican las siguientes declaraciones



- H315 Causa irritación de la piel.
- H319 Provoca irritación ocular grave.
- H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
- H412 Nocivo para la vida acuática con efectos de larga duración.
- P261 Evitar respirar polvo/humo/gas/niebla/vapores/spray.

### GHS 07 Advertencia

- P280 Usar guantes protectores/indumentaria de protección/protección ocular/protección facial.
- P273 Evitar su liberación al medio ambiente.
- P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS Enjuague cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quítese las lentes de contacto, si están presentes y son fáciles de hacer. Continuar enjuagando.
- P321 Tratamiento específico (ver en esta etiqueta).
- P501 Eliminar el contenido / el recipiente de acuerdo con las regulaciones locales / regionales / nacionales / internacionales.

1. Para uso profesional solamente
2. Siga las instrucciones de uso con cuidado. La confiabilidad de los resultados del ensayo no se puede garantizar si hay alguna desviación de las instrucciones en este manual de uso.
3. Consulte la hoja de datos de seguridad del material y la etiqueta del

producto para conocer los peligros químicos que pueden estar presentes en este ensayo.

- Maneje los materiales y desechos potencialmente contaminados de manera segura de acuerdo con los requisitos locales.
- PRECAUCIÓN:** los calibradores contienen material de origen humano, que ha sido probado y no es reactivo para HBsAg, HIV-1 and HIV-2, HCV y sífilis. Se recomienda que todos los materiales de origen humano se consideren potencialmente infecciosos. Este ensayo contiene materiales de origen animal. Los componentes bovinos se originan en países donde no se ha notificado encefalopatía espongiforme (EEB).
- Algunos reactivos que contienen ProClin 300® pueden causar sensibilización por contacto con la piel. Debe evitarse el contacto con la piel. Este material y su recipiente deben desecharse de forma segura. En caso de ingestión, consulte a un médico inmediatamente y muestre este envase o etiqueta.
- No fume, beba, coma o use cosméticos en el área de trabajo.
- Use ropa protectora y guantes desechables cuando trate con muestras y reactivos. Lavarse las manos luego de las operaciones.
- Tenga cuidado al manipular muestras de pacientes para evitar contaminación cruzada. Se recomienda el uso de pipetas desechables o puntas de pipeta.
- Conduzca el ensayo lejos de malas condiciones ambientales por ejemplo aire ambiente que contiene alta concentración de gas corrosivo, como ácido clorhídrico sódico, alcalino, acetaldehído, etc., o que contiene polvo.
- No utilice reactivos más allá de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- No mezcle ni use componentes de kits con diferentes códigos de lote.
- Asegúrese de que las micropartículas estén resuspendidas antes de cargarse en el analizador.
- Evite formación de espuma en todos los reactivos y tipos de muestras (muestras, calibradores y controles).
- No sustituya ningún reactivo en este kit de otros fabricantes u otros lotes.
- Cuando se observe cualquier daño al empaque protector o cualquier cambio en el rendimiento analítico no use el kit.

## Almacenamiento

- Almacenar el kit a 2-8°C. No congelar. Evite la luz fuerte. Cuando se almacena según las indicaciones, todos los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad.
- Refrigere el paquete de reactivos a 2-10°C durante un mínimo de 2 horas antes de su uso.
- Almacene el paquete de reactivos en posición vertical a 2-10°C en el analizador. Pueden almacenarse en el analizador por un máximo de 28 días. Después de 28 días, el paquete de reactivos debe desecharse. Una vez que se retiran del analizador, guárdelos a 2-8°C en posición vertical. Para los reactivos almacenados fuera del analizador, se recomienda que se almacenen en sus bandejas y cajas originales para garantizar que permanezcan en posición vertical. Una vez que el paquete de reactivos está abierto, se puede almacenar a 2-8°C durante 1 mes.
- Selle y devuelva los calibradores reconstituidos en alícuotas y congele a -20 inmediatamente después del experimento. Evitar múltiples ciclos de congelación y descongelación.
- Al guardar los calibradores, asegúrese de que los viales estén bien sellados.

## Muestra

- Recolectar muestras de suero de acuerdo con las prácticas médicas correctas.

- No utilice muestras inactivadas por calor. No use conservante de azida de sodio en las muestras.
- Los sedimentos y los sólidos suspendidos en las muestras pueden interferir con el resultado de la prueba, que debe eliminarse mediante centrifugación. Asegúrese de que haya tenido lugar la formación completa de coágulos en las muestras de suero antes de la centrifugación. Algunas muestras, especialmente las de pacientes que reciben terapia anticoagulante o trombolítica, pueden mostrar un aumento del tiempo de coagulación. Si la muestra se centrifuga antes de que se forme un coágulo completo, la presencia de fibrina puede causar resultados erróneos. Asegúrese de que las muestras no estén descompuestas antes de usarlas.
- Antes del envío, se recomienda retirar las muestras del coágulo, del separador de suero o de los glóbulos rojos.
- El procesamiento insuficiente de la muestra o la interrupción de la muestra durante el transporte puede causar resultados deprimidos.
- Evite muestras extremadamente hemolíticas, lipémicas o turbias.
- Tape y almacene las muestras a 18-25 °C durante no más de 8 horas, para un uso más prolongado, las muestras se deben tapar y almacenar de 2 a 8 °C hasta 48 horas. O bien, congele las muestras que deben almacenarse o transportarse durante más de 48 horas a -20°C. Evitar múltiples ciclos de congelación y descongelación. Mezcle bien las muestras descongeladas mediante vórtice de baja velocidad o invirtiendo 10 veces. Inspeccione visualmente las muestras, si observa capas o estratificación, continúe mezclando hasta que las muestras sean visiblemente homogéneas. Después de descongelar, llevar a temperatura ambiente y mezclar bien agitando suavemente.
- Centrifugar las muestras descongeladas que contengan glóbulos rojos o material particulado, o que tengan una apariencia brumosa o turbia, etc. antes de su uso para garantizar la consistencia en los resultados.
- Tenga en cuenta que los niveles de interferencia de fibrina pueden estar presentes en muestras que no tienen partículas visibles o evidentes.
- Si no se puede verificar la recolección y preparación adecuadas de la muestra, o si las muestras se han alterado debido al transporte o manejo de la muestra, se recomienda un paso de centrifugación adicional. Las condiciones de centrifugación deben ser suficientes para eliminar las partículas.
- Para obtener resultados óptimos, inspeccione todas las muestras para detectar burbujas. Eliminar las burbujas con una punta antes de su análisis. Use una nueva punta para cada muestra para evitar la contaminación cruzada.

## Procedimiento de medición

- Comprobar los materiales consumibles.
  - Verifique que haya un volumen adecuado de materiales consumibles antes de realizar la prueba.
  - Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
- Cargar el kit
  - Mezcle el contenido de los paquetes de reactivos nuevos (sin perforar) invirtiendo suavemente el paquete varias veces antes de cargarlo en el analizador. Evitar la formación de espuma en todos los reactivos. No invierta los paquetes abiertos (perforados). Si es necesario, agite suavemente para mezclar horizontalmente después de la primera carga.
  - Lea el código de barras en el paquete de reactivos automáticamente para obtener los parámetros requeridos para la prueba.
  - Si el código de barras no se puede leer en casos excepcionales, se pueden reconocer manualmente.
  - Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
- Orden de pruebas
  - Coloque los vasos o tubos de muestra en el porta muestras, 50 µl

de muestras y calibradores para cada prueba. Pero teniendo en cuenta el contenedor de muestra y 150 µl de volúmenes muertos del sistema, que pueden consultarse en los manuales apropiados del analizador de ensayos para obtener el volumen mínimo de muestra requerido.

- Cargue el soporte de muestra e ingrese la información de muestra en la interfaz del software del sistema.
  - Seleccione "ejecutar" para iniciar la prueba, el analizador automáticamente ejecuta las pruebas. Realiza las siguientes funciones:
    - Mueve la muestra al punto de ajuste.
    - Carga un recipiente de reacción en la ruta del proceso.
    - Aspira y transfiere la muestra al recipiente de reacción.
    - Agrega Sustrato Quimioluminiscente
    - Mide la emisión de quimioluminiscencia para determinar la cantidad de insulina en la muestra
    - Descarta el recipiente de reacción usado.
    - Calcula el resultado.
- Consulte el manual de operación del analizador de ensayos.
4. Calibrar la curva
- El analizador puede leer el código de barras en el paquete de reactivos automáticamente para obtener los parámetros necesarios para la prueba.
  - Si el código de barras no se puede leer en casos excepcionales, se pueden reconocer manualmente.
  - Transfiera los calibradores a los vasos o tubos de muestra y colóquelos en el soporte de muestra. Realizar la detección de duplicados en el sistema.
  - Cargue el soporte de muestra y la información de los calibradores de entrada en la interfaz del software del sistema.
  - Seleccione "ejecutar" para iniciar la prueba y generar la curva de calibración; se requiere una calibración cada 28 días.
  - Una vez que se acepta y almacena una curva de calibración, todas las muestras posteriores pueden analizarse sin más calibración a menos que:
    - Los controles están fuera de rango después de mediciones repetidas
    - Se utiliza un kit de reactivos y un sustrato quimioluminiscente con un nuevo código de lote.
    - Más allá de la fecha de vencimiento de una curva de calibración
    - Partes importantes del analizador son reemplazadas o reparadas.
  - Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
5. Diluir la muestra

Las muestras con un valor de insulina superior a 300 µIU/ml se pueden diluir con el método de dilución automatizado. El calibrador A se utiliza para diluir las muestras. Después de la dilución del analizador, el software automáticamente toma en cuenta la dilución al calcular la concentración de la muestra.

- La concentración de la muestra después de la dilución no debe ser inferior a 5 µIU/ml.

## Resultados de medición

El software del sistema determina automáticamente los resultados de las pruebas de muestra utilizando un método de reducción de datos de ajuste de curva logística de 4 parámetros. La cantidad de insulina en las muestras se determina a partir de la producción de luz medida por medio de los datos de calibración almacenados. Los resultados de las pruebas de muestra se pueden revisar utilizando la pantalla apropiada. Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos para revisar los resultados de las muestras.

Fórmula de conversión:  $1\mu\text{IU} / \text{ml} \times 7.175 = 1 \text{ pmol/l}$

## Intervalo de referencia biológica

Se obtuvo un rango normal de 1,5 a 25 µIU/ml (intervalo de confianza del 95%) al analizar muestras de suero de 182 individuos definidos por un médico como normales. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal, que puede ser exclusivo de la población a la que sirve, según los factores geográficos, del paciente, de la dieta o ambientales.

## Procedimiento de control

El requisito de control recomendado para este ensayo es comprar los materiales de control por separado y probarlos junto con las muestras dentro de la misma ejecución. El resultado es válido si los valores de control se encuentran dentro de los rangos de concentración impresos en las etiquetas. Cuando un valor de control está fuera del rango especificado, puede indicar un deterioro de los reactivos o errores en la técnica. Los resultados de las pruebas asociadas pueden ser inválidos y pueden requerir una nueva prueba. La recalibración del ensayo puede ser necesaria. Se recomienda que cada laboratorio establezca su rango aceptado para garantizar el rendimiento adecuado de la prueba.

## Limitaciones de procedimiento

1. Este ensayo pretende ser una ayuda para el diagnóstico clínico. Lleve a cabo este análisis junto con el examen clínico, el historial médico del paciente y los resultados de otras pruebas.
2. Los resultados negativos no pueden descartarse por completo la posibilidad de infarto de miocardio. Si los resultados son inconsistentes con la evidencia clínica, se sugieren pruebas adicionales para confirmar el resultado.
3. Los anticuerpos heterofílicos en suero humano pueden reaccionar con inmunoglobulinas reactivas, lo que interfiere con los inmunoensayos in vitro. Los pacientes expuestos rutinariamente a animales o productos de suero animal pueden ser propensos a esta interferencia y se pueden observar valores anómalos. Se puede requerir información adicional para el diagnóstico. Este tipo de muestras no es adecuado para ser analizado por este ensayo.
4. Los pacientes que han recibido anticuerpos monoclonales de ratón para el diagnóstico o la terapia pueden desarrollar HAMA (anticuerpos humanos anti-ratón). HAMA puede producir valores falsamente altos o falsamente bajos en inmunoensayos que utilizan anticuerpos monoclonales de ratón. Se puede requerir información adicional para el diagnóstico.
5. Esta prueba mide concentraciones dentro del rango de 1.0 - 300 µIU/ml. Si se esperan concentraciones de insulina por encima del rango de medición, se recomienda diluir las muestras con el Calibrador A, la dilución máxima es 1: 5 de esta prueba, lo que permite que las muestras se cuantifiquen hasta aproximadamente 1500 µIU/ml.

## Características de rendimiento

### 1. Precisión de medida

Este ensayo está diseñado para tener una precisión dentro de la ejecución de <10%. Se analizaron 2 miembros de panel basados en suero humano agrupados (1 y 2), utilizando 1 lote de reactivos, en réplicas de 10. Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla.

Miembros del Panel	Lote	n	Media	Precisión dentro de corrida	
				SD	%CV
1	1	10	13.11	0.27	2.04
2	1	10	65.38	1.15	1.77

Este ensayo está diseñado para tener una precisión entre ejecuciones de <10%. Se ensayaron 2 miembros de panel basados en suero humano agrupados (1 y 2), utilizando 1 lote de reactivos, en réplicas de 10 para tres series. Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla.

Miembros del Panel	Lote	n	Media	Precisión entre corridas	
				SD	%CV
1	1	30	13.45	0.45	3.35
2	1	30	67.76	2.96	3.09

Approved by



Mr. Gongcheng Liu

Manager of R&D center, Autobio

## 2. Sensibilidad Analítica

La sensibilidad analítica, definida como la concentración correspondiente a las RLU medias de 10 repeticiones del calibrador A (calibrador cero) más 2 desviaciones estándar, los resultados de tres lotes son todos  $\leq 0.03 \mu\text{IU/ml}$ .

## 3. Especificidad Analítica

Este ensayo está diseñado para tener una prueba de reactividad cruzada con las sustancias enumeradas a continuación, en los niveles de concentración listados, en el tampón Tris-HCl que contiene BSA.

Sustancias	Concentración probada	Reacción cruzada %
Péptido C	10 $\mu\text{g/ml}$	n.d.*
Glucagon	10 $\mu\text{g/ml}$	n.d.
Somatomedina (Factor de crecimiento similar 1 - IGF-1)	50 ng/ml	0.035
Insulina Porcina	0.5ng/ml	95.9
Proinsulina	1 $\mu\text{g/ml}$	1.06

\* n.d. = no detectable

Las concentraciones de proinsulina y productos divididos de sujetos sanos en ayunas son 100 veces más bajas que las concentraciones de insulina y, por lo tanto, la reactividad cruzada no tiene importancia clínica.

## 4. Interferencia

Las siguientes sustancias y concentraciones fueron analizadas y se encontró que no interfieren con la prueba.

Interferente	Concentración
Bilirrubina	60 mg/dl
Hemoglobina	250 mg/dl
Triglicéridos	3000 mg/dl

## 5. Precisión de la Medición por Correlación

Se realizó un estudio en el que se analizaron muestras utilizando este ensayo y la prueba de insulina que ya estaba disponible en el mercado. Los datos fueron analizados y se resumen en la siguiente tabla.

Método de correlación	Número de muestras	Intercepto	Inclinación	Coefficiente de Correlación
Regresión Lineal	158	-16.681	10.454	0.9942

## Literatura de Referencia

- Chopra IJ, Ho RS, Lam R. An improved radioimmunoassay of triiodothyronine in serum: its application to clinical and physiological studies. J. Lab. Clin. Med. 1972;80(5):729-739.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. Ann. Clin. Biochem. 1997;34(Pt 6):579-581.
- Santini F, Pinchera A, Ceccarini G, et al. Evidence for a role of the type III-iodothyronine deiodinase in the regulation of 3,5,3'-triiodothyronine content in the human central nervous system. Eur. J. Endocrinol. 2001;144(6):577-583.
- Nikkilä EA, Kekki M. Plasma triglyceride metabolism in thyroid disease. J. Clin. Invest. 1972;51(8):2103-2114.