

Insulina

Para la determinación cuantitativa de la insulina humana en suero y plasma

Cat. N.º KAI-040 y KAI-071

USO PREVISTO

Para la determinación cuantitativa de la insulina humana en suero y plasma por análisis inmunoturbidimétrico. PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

RESUMEN

La insulina es una hormona peptídica cuyo peso molecular es de aproximadamente 5.800 daltons. Segregada por las células b de los islotes de Langerhans en el páncreas, la insulina actúa reduciendo los niveles de glucosa en sangre. Puesto que los niveles de glucosa en sangre reflejan el funcionamiento de las células b, la insulina se ha usado ampliamente como una importante herramienta diagnóstica para la diabetes mellitus. La prueba de insulina **K-ASSAY®** es un análisis altamente específico de la insulina en suero o plasma.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Las partículas de látex recubiertas con anticuerpo específico para la insulina humana forman complejos inmunitarios en presencia de la insulina de la muestra. Los complejos inmunitarios producen un aumento de la dispersión de la luz que es proporcional a la concentración de insulina en la muestra de suero o plasma. La dispersión de la luz se mide leyendo la turbidez a 600 nm primaria, 800 nm secundaria. La concentración de insulina en la muestra se determina frente a calibradores de insulina de concentraciones conocidas.

COMPOSICIÓN DEL EQUIPO

Reactivos (estables en líquido)

R1: Reactivo amortiguador
Tris(hidroximetil)aminometano, 100 mM, pH 8,2

R2: Suspensión de látex
Anticuerpo monoclonal de ratón anti-insulina humana, ~1 mg/ml

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*. Sólo Rx.

No se usará internamente en el hombre ni en animales. Se adoptarán las precauciones habituales en el manejo de reactivos de laboratorio.

No se deben mezclar ni utilizar reactivos de un equipo de análisis con los de un número de lote distinto. No se utilizarán los reactivos tras la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de cada recipiente de reactivo.

No debe pipetarse con la boca. Se evitará la ingesta y el contacto con la piel.

Los reactivos de este equipo contienen acida sódica (<0,1(p/v)%) como conservante. La acida sódica puede formar compuestos explosivos en tuberías de drenaje metálicas. Al desechar los controles por las cañerías, se debe dejar correr agua abundante. Para mayor información consulte "Descontaminación de desagües de laboratorio para eliminar las sales de acida," en el Manual Guía-Manejo de seguridad n.º CDC-22 publicado por el Centro de Control de Enfermedades, Atlanta, Georgia.

Se invierten los frascos R1 y R2 varias veces suavemente antes de su uso. Quitar la espuma antes de la determinación, si es necesario.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Los reactivos están listos para usar y no es necesaria su reconstitución.

CONSERVACIÓN Y MANEJO

Todos los reactivos deben guardarse refrigerados (2-8 °C). Nada más usarse los reactivos deben volver a 2-8 °C. Los reactivos pueden usarse hasta la fecha de caducidad. La validez de este producto es de un año desde la fecha de fabricación, como indica la fecha de caducidad de las etiquetas del envase y de los frascos.

ESTABILIDAD DEL REACTIVO

Se desecharán los reactivos si se contaminasen. Deseche los reactivos en caso de contaminación. En caso de observarse clara precipitación en el reactivo 2 (R-2), éste debe ser desechado. Los reactivos abiertos pueden usarse durante un mes si se guardan a 2-8 °C.

INSTRUMENTO

Adecuado para analizadores automáticos de dos reactivos que pueden medir una reacción de velocidad a una absorbancia de 600 nm (principal) y 800 nm (sub). Consulte el manual del instrumento del fabricante para lo siguiente:

- Uso o función
- Procedimientos y requisitos de instalación
- Principios de funcionamiento
- Características e instrucciones de funcionamiento
- Procedimientos de calibración, como materiales o equipo que se usarán
- Precauciones de funcionamiento, limitaciones y riesgos
- Información sobre servicios y mantenimiento

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Suero

Se extraerá sangre de un paciente y se separará el suero lo antes posible. Poco después de la extracción de sangre, se dejará coagular, se centrifugará y se separará el suero del coágulo en un tubo de plástico (no de vidrio) antes de 2 horas. Se recomienda realizar la recogida de muestras conforme al documento M29-A2 de NCCLS.

Evitar ciclos de congelación/descongelación repetidos.

Plasma

La sangre total se recoge en citrato sódico, EDTA sódico y anticoagulante fluoruro sódico. Tras la recogida, centrifugar inmediatamente. En los EE.UU., seguir la guía H3-A2 de NCCLS. Evitar ciclos de congelación/descongelación repetidos.

El suero o el plasma podrán guardarse refrigerados (2-8 °C) durante un máximo de una semana¹. Para su conservación a largo plazo, conservar a -20 °C o menos.

APLICACIÓN DEL ANALIZADOR AUTOMÁTICO

Adecuado para analizadores automáticos de dos reactivos que utilizan un método de calibración de múltiples puntos.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

Insulina KAI-040

Reactivo 1 (R-1) Reactivo amortiguador 1 x 13,5 ml

Reactivo 2 (R-2) Suspensión de látex 1 x 5 ml

Insulina KAI-071 (L)

Reactivo 1 (R-1) Reactivo amortiguador 2 x 13,5 ml

Reactivo 2 (R-2) Suspensión de látex 2 x 5 ml

Materiales necesarios pero no suministrados

Calibradores: Calibrador de insulina **K-ASSAY®**, Cat. N.º KAI-072C.

Agua purificada

Analizador de química clínica capaz de leer con exactitud a 600 nm (principal) y 800 nm (sub), obteniendo exactamente los volúmenes necesarios, y manteniéndose a 37 °C.

Procedimiento analítico

Un ejemplo de aplicación automatizada:

| | |
|--|--------|
| Muestra | 12 µl |
| ↓ | |
| • ← R1 (reactivo amortiguador) | 135 µl |
| ↓ 37 °C, 5 min. | |
| • ← R2 (Reactivo de látex) | 50 µl |
| ↓ 37 °C, 5 min. | |
| Velocidad, 600 nm (principal) / 800 nm (sub) | |

Nota: Dejar que los reactivos y las muestras alcancen la temperatura ambiente. Mezclar todos los reactivos con suavidad antes de usarlo.

Método automatizado (Ejemplo)

Parámetros químicos para el analizador automático

| | |
|-------------------------|-------------------------|
| INSTRUMENTO | Hitachi 717 |
| TEMPERATURA | 37 °C |
| PRUEBA | (INS) |
| CÓDIGO DE ANÁLISIS | (2 PUNTOS): (28) - (50) |
| VOLUMEN DE MUESTRA | (17) () |
| VOLUMEN DE R1 | (190) () (NO) |
| VOLUMEN DE R2 | (70) () (NO) |
| LONGITUD DE ONDA | () (600) |
| MÉTODO DE CALIBRACIÓN | (NO LINEAL) (4) (6) |
| EST.(1) Conc.-POS. | (*1) - (1) |
| EST.(2) Conc.-POS. | (*2) - (2) |
| EST.(3) Conc.-POS. | (*3) - (3) |
| EST.(4) Conc.-POS. | (*4) - (4) |
| EST.(5) Conc.-POS. | (*5) - (5) |
| EST.(6) Conc.-POS. | (*6) - (6) |
| LÍMITE DE | (999) |
| LÍMITE DUPLICADO | (10000) |
| LÍMITE DE SENSIBILIDAD | (0) |
| LÍMITE ABS. (PENDIENTE) | (32000) (AUMENTO) |
| LÍMITE DE PROZONA | (-32000) (INFERIOR) |
| VALOR ESPERADO | (-99999) (99999) |
| VALOR CRÍTICO | (-99999) (99999) |
| FACTOR DE INSTRUMENTO | (1.00) |

* 1-6 Concentración de entrada de los calibradores

Se dispone de los parámetros para otros analizadores automatizados.

CALIBRACIÓN

Se recomienda realizar una curva de calibración de múltiples puntos usando el calibrador de insulina **K-ASSAY®** (KAI-072C). Se recomienda que el usuario determine la frecuencia de la curva de calibración, ya que ésta depende del instrumento y del tipo/número de otros ensayos que se estén realizando. Inicialmente, la calibración debe realizarse todos los días.

CONTROL DE CALIDAD

En cada ensayo realizado deben incluirse controles normales y anómalos de concentración conocida. El valor determinado para los controles debe estar dentro de los límites indicados de los valores asignados a los controles. La validez del ensayo se cuestiona si los valores de los controles generados por la curva de calibración del ensayo no están dentro del intervalo indicado. Recalibrar si los valores determinados para los controles están fuera del intervalo indicado.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El intervalo de insulina cuantificable es de 1,0 a 100 µU/ml. Si el valor de la insulina de una muestra es mayor que el valor máximo del calibrador, se diluye una parte de muestra con tres partes de suero salino isotónico y se vuelve a analizar. Multiplicar los resultados por 4 para la compensación de la dilución.

RENDIMIENTO

Sensibilidad

Cuando se utiliza un blanco de suero salino como muestra, el cambio de absorbancia es de ≤ 0,0023/min. Cuando se analiza un calibrador, con una concentración de insulina de alrededor de 20 µU/ml, la absorbancia (tras sustraer el blanco de suero salino) está dentro del intervalo de 0,003 a 0,038/min.

Especificidad

Cuando se analiza una muestra con un valor conocido, el resultado está dentro del $\pm 15\%$ del valor asignado.

Precisión

Cuando se analiza una muestra 5 veces (dentro del período de análisis), el C.V. de la absorbancia es del $\leq 10\%$.

(Dentro del período de análisis)

Los resultados siguientes se obtuvieron en un analizador Hitachi 917 con suero humano:

| | Muestra I | Muestra II | Muestra III |
|-----------------------------|-----------|------------|-------------|
| N | 10 | 10 | 10 |
| Media ($\mu\text{UI/ml}$) | 18,81 | 27,82 | 73,17 |
| Desv. típ. | 0,224 | 0,192 | 0,760 |
| CV | 1,19 % | 0,69 % | 1,04 % |

(Entre períodos de análisis)

Los resultados siguientes se obtuvieron en un analizador Hitachi 917 con suero humano:

| | Muestra IV | Muestra V | Muestra VI |
|-----------------------------|------------|-----------|------------|
| N | 10 | 10 | 10 |
| Media ($\mu\text{UI/ml}$) | 12,21 | 25,9 | 68,74 |
| Desv. típ. | 0,530 | 0,777 | 1,693 |
| CV | 4,34 % | 3,00 % | 2,46 % |

Exactitud / Correlación

Se realizó una comparación de la insulina de **K-ASSAY**® y otro EIA de insulina de la compañía, obteniendo los siguientes resultados:

Muestra de suero

$$y = 0,8061x + 2,8674$$

$$r = 0,997$$

$$n = 32$$

x = otro análisis de insulina de la compañía

y = Análisis de insulina **K-ASSAY**®

Muestra de plasma

$$y = 0,8161x + 4,5552$$

$$r = 0,986$$

$$n = 47$$

x = otro análisis de insulina de la compañía

y = Análisis de insulina **K-ASSAY**®

Intervalo de ensayo

1,0 a 100 $\mu\text{UI/ml}$ (o valor del punto máximo de calibración)

Límite inferior de detección

La sensibilidad analítica es de 1 $\mu\text{UI/ml}$. Esto significa que cuando el suero salino y el suero que contiene 1 $\mu\text{UI/ml}$ de insulina se analizan 10 veces, + 2,6 DE de los resultados respectivos no se superponen entre sí.

INTERFERENCIA

No se observó ninguna reactividad cruzada con la pro-insulina. La hemoglobina, bilis o factor reumatoide no interfirieron en el análisis.

Bilirrubina F: No hay interferencia hasta 19,3 mg/dl

Bilirrubina C: No hay interferencia hasta 19,9 mg/dl

Hemoglobina: No hay interferencia hasta 450 mg/dl

Lipemia: No hay interferencia hasta una turbidez de formazina de 1.550

FR: No hay interferencia hasta 450 UI/ml

PROZONA

No se observa efecto anzuelo hasta al menos 1.000 $\mu\text{UI/ml}$.











VALORES ESPERADOS

Se ha comunicado que el intervalo esperado para la concentración de insulina en ayunas es de hasta 20 a 35 $\mu\text{UI/ml}$ (RIA)¹.

BIBLIOGRAFÍA

1. Jacobs DS, *et al.* Ed., Laboratory Test Handbook, 4th Edition. Lexicomp. p. 149 (1996).

SÍMBOLOS DE LAS ETIQUETAS

| | |
|---|--|
|  | Número de lote |
|  | Reactivo |
|  | Fecha de caducidad o "usar antes de" |
|  | Número de catálogo |
|  | Para uso diagnóstico <i>in vitro</i> . |
|  | Limitación de temperatura Conservar entre 2 y 8 grados C |
|  | Posible riesgo biológico para el ser humano |
|  | Fabricante |
|  | Consulte en el prospecto las instrucciones de uso. |
|  | Representante autorizado en la Comunidad Europea |

REPRESENTANTE AUTORIZADO DE LA UE





Advena Ltd.

Tower Business Centre, 2nd Flr.,
Tower Street, Swatar, BKR 4013 Malta

DATOS PATRA PEDIDOS / PRECIOS / INFORMACIÓN TÉCNICA



KAMIYA BIOMEDICAL COMPANY

12779 Gateway Drive
Seattle, WA 98168 USA
TEL: (206) 575-8068 / (800) 526-4925
FAX: (206) 575-8094