

MAGLUMI[®] Proinsulina (CLIA)

USO PREVISTO

El kit es un inmunoensayo de quimioluminiscencia *in vitro* para la determinación cuantitativa de proinsulina en suero humano mediante el uso del analizador para inmunoensayo de quimioluminiscencia completamente automático serie MAGLUMI (entre los que se encuentran Maglumi 600, Maglumi 800, Maglumi 1000, Maglumi 1000 Plus, Maglumi 2000, Maglumi 2000 Plus, Maglumi 4000, Maglumi 4000 Plus, MAGLUMI X8, MAGLUMI X3 y MAGLUMI X6) y el sistema integrado de la serie Biolumi (se incluyen Biolumi CX8).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

La proinsulina es la prohormona precursora de la insulina fabricada en las células beta de los islotes de Langerhans, regiones especializadas del páncreas. La proinsulina se compone de 81 residuos y está formada por tres cadenas distintas. La cadena A, la cadena B y el área que conecta ambas, llamada péptido C¹⁻². La proinsulina se sintetiza en ribosomas asociados a la membrana, que se encuentran en el retículo endoplásmico rugoso, donde se pliega y los enlaces de disulfuro se oxidan. Luego, se transporta al aparato de Golgi donde se deposita en las vesículas secretoras. Allí se procesa a través de una serie de proteasas para formar insulina madura. La insulina madura tiene 35 aminoácidos menos; 4 se eliminan por completo, y los 31 restantes forman el péptido C. El péptido C se extrae desde el centro de la secuencia de proinsulina; los otros dos extremos (las cadenas A y B) permanecen conectados mediante enlaces de disulfuro³.

En la evaluación e investigación de la patología de la diabetes mellitus, se están acumulando datos que confirman que las elevaciones de proinsulinas intactas y parcialmente procesadas son marcadores de disfunción de las células β y, en algunas poblaciones, podrían predecir la progresión a diabetes mellitus tipo 2⁴⁻⁷. Los defectos en el procesamiento de la proinsulina también podrían estar asociados con la hiperproinsulinemia familiar de la diabetes mellitus, aunque no en todos los casos⁸⁻⁹. Por lo tanto, las consideraciones de especificidad podrían determinar que se necesitan ensayos de insulina, proinsulina intacta y parcialmente procesada para determinar si existe evidencia de resistencia a la insulina o deficiencia de insulina en la diabetes tipo 2¹⁰. El aumento en los niveles de proinsulina en el aparato circulatorio en relación con las concentraciones de insulina madura puede indicar una inminente resistencia a la insulina y la aparición de diabetes tipo 2¹¹. La proinsulina posnatal es fundamental para la regulación metabólica. Además, la proinsulina en neonatos es importante para el desarrollo normal de los nervios del ojo, del corazón y la supervivencia general de las células embrionarias. La regulación de la concentración de proinsulina durante el desarrollo embrionario es esencial, ya que una cantidad excesiva o muy baja del péptido puede causar defectos y muerte fetal¹².

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El ensayo de proinsulina es un inmunoensayo de quimioluminiscencia sándwich.

La muestra (o calibrador/control, si corresponde), microperlas magnéticas recubiertas con anticuerpo monoclonal antipéptido C y ABEI marcado con anticuerpo monoclonal antinsulina se mezclan completamente y se incuban, para formar inmunocomplejos tipo sándwich. Después de la precipitación en un campo magnético, el sobrenadante se decanta y, luego, se realiza un ciclo de lavado. Posteriormente, se agregan los iniciadores 1 + 2 para iniciar una reacción quimioluminiscente. La señal luminosa se mide con un fotomultiplicador como unidades relativas de luz (RLU, del inglés relative light units), que es proporcional a la concentración de proinsulina presente en la muestra (o calibrador o control, si corresponde).

COMPONENTES DEL KIT

Material proporcionado

Componentes	Contenido	100 pruebas (REF: 130205004M)	50 pruebas (REF: 130605004M)
Microperlas magnéticas	Recubiertas con anticuerpo monoclonal antipéptido C, con contenido de albúmina sérica bovina (BSA, del inglés bovine serum albumin), NaN ₃ (< 0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Calibrador bajo	Antígeno proinsulina, con contenido de suero bovino, NaN ₃ (< 0,1 %).	3,0 ml	2,0 ml
Calibrador alto	Antígeno proinsulina, con contenido de suero bovino, NaN ₃ (< 0,1 %).	3,0 ml	2,0 ml
Marca de ABEI	Anticuerpo monoclonal antinsulina marcado con aminobutiletileiloluminol (ABEI), con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	7,5 ml	5,0 ml
Control de calidad interno	Con contenido de suero bovino y antígeno proinsulina, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,0 ml	2,0 ml

Todos los reactivos se entregan listos para usarse.

Accesorios necesarios, pero no suministrados

Serie MAGLUMI y Biolumi:

Módulo de reacción	REF.: 630003
Iniciador 1 + 2	REF.: 130299004M, 130299027M
Concentrado para lavado	REF.:130299005M
Comprobación de luz	REF.:130299006M
Vaso de reacción	REF: 130105000101

Pida accesorios a Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd. (SNIBE) o a nuestros representantes autorizados.

CALIBRACIÓN

Trazabilidad: Este método ha sido trazable para el primer reactivo de referencia internacional de la OMS 84/611.

La prueba de calibradores específicos de ensayo permite que los valores de RLU ajusten la curva principal asignada. Los resultados se determinan mediante una curva de calibración generada específicamente para el instrumento por calibración de dos puntos y una curva principal (10 calibraciones) proporcionada a través de un CHIP de identificación por radiofrecuencia (RFID, del inglés radio frequency identification) del

reactivo.

Se recomienda recalibrar en las siguientes situaciones:

- Después de cada cambio de lotes (reactivo o iniciador 1 + 2).
- Cada semana o cada vez que se utiliza un nuevo kit de reactivos (recomendado).
- Después de que se requiere mantenimiento de los instrumentos.
- Si los controles están fuera del rango esperado.

CONTROL DE CALIDAD

Siga los reglamentos gubernamentales o los requisitos de acreditación concernientes a la frecuencia de control de calidad.

El control de calidad interno solo es aplicable con el sistema MAGLUMI y Biolumi. Para obtener instrucciones de uso y el valor objetivo, consulte **Información de control de calidad de proinsulina (CLIA)**. El usuario debe evaluar los resultados con sus propios estándares y conocimientos. Para información detallada sobre cómo ingresar los valores del control de calidad, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

Para supervisar el rendimiento del sistema y las tendencias del cuadro, se necesitan materiales de control de calidad disponibles comercialmente. Trate todas las muestras de control de calidad del mismo modo que las muestras del paciente. Se logra un nivel satisfactorio de rendimiento cuando los valores de analito obtenidos se encuentran dentro del rango de control aceptable para el sistema o dentro de su rango, según lo determinado por un esquema de control de calidad interna del laboratorio adecuado. Si los resultados del control de calidad no entran dentro de los valores esperados o dentro de los valores establecidos del laboratorio, no informe los resultados. Realice las siguientes acciones:

- Verifique que los materiales no hayan caducado.
- Verifique que se haya realizado el mantenimiento necesario.
- Verifique que el ensayo se haya realizado de acuerdo con las instrucciones de uso.
- Vuelva a ejecutar el ensayo con nuevas muestras de control de calidad.
- Si es necesario, comuníquese con sus distribuidores o los ejecutivos de soporte técnico locales para obtener asistencia.

PREPARACIÓN Y OBTENCIÓN DE MUESTRAS

- Utilice tubos de muestreo estándar o tubos que contengan gel de separación. Extraiga la sangre asépticamente luego de seguir las precauciones universales para la venopunción.
- Asegúrese de que la formación completa de coágulos en las muestras haya tenido lugar antes de la centrifugación. Algunas muestras, en particular las de los pacientes que reciben tratamiento anticoagulante o trombolítico, podrían tener un tiempo de coagulación mayor.
- Si la muestra se centrifuga antes de que se complete la coagulación, la presencia de fibrina puede producir resultados erróneos. Las muestras deben estar libres de fibrina y otras partículas.
- No use muestras hemolizadas o con marcada lipemia, ni tampoco muestras que contengan partículas o exhiban contaminación microbiana evidente. Inspeccione todas las muestras en busca de burbujas y elimínelas antes del análisis para obtener resultados óptimos.
- Evite congelar y descongelar las muestras reiteradamente. La muestra de suero puede congelarse y descongelarse solo dos veces. Las muestras almacenadas deben mezclarse bien antes del uso (mezclador Vortex). Las muestras congeladas deben mezclarse **COMPLETAMENTE** después de la descongelación por agitación a **BAJA** velocidad. Pida más información a su representante local de SNIBE si tiene alguna duda.
- Las muestras centrifugadas con una capa lipídica en la parte superior deben trasladarse a un vaso de muestra o un tubo secundario. Se debe tener cuidado para transferir solo la muestra clarificada sin el material lipémico.
- Todas las muestras (muestras de pacientes y controles) deben analizarse en un plazo de tres horas después de colocarlas en el sistema MAGLUMI y Biolumi. Consulte el servicio de SNIBE para obtener más detalles sobre las restricciones de almacenamiento de muestras.
- Las muestras extraídas del separador, los glóbulos rojos o el coágulo pueden almacenarse hasta 6 horas a una temperatura de entre 2 y 8 °C, y almacenarse hasta 30 días congeladas a -20 °C o menos.
- Antes del envío de las muestras, se recomienda retirarlas del separador de suero, los glóbulos rojos o el coágulo. Al enviarse, las muestras deben embalarse y etiquetarse de conformidad con regulaciones estatales, federales e internacionales que abarquen el transporte de sustancias infecciosas y muestras clínicas. Las muestras deben enviarse congeladas.
- El volumen de muestra necesario para una sola determinación de proinsulina es de 100 µl.

ADVERTENCIA Y PRECAUCIONES PARA LOS USUARIOS

IVD

- Para usarse en diagnóstico *in vitro*.
- Siga el prospecto cuidadosamente. La confiabilidad de los resultados del ensayo no se puede garantizar si existe alguna desviación respecto de las instrucciones de este prospecto.

Precauciones de seguridad

- **PRECAUCIÓN:** Este producto requiere la manipulación de muestras humanas. Se recomienda que todos los materiales de origen humano se consideren potencialmente infecciosos y que se manipulen de conformidad con lo dispuesto en 29 CFR 1910.1030 Exposición ocupacional a patógenos transmitidos por la sangre. Se debe usar el nivel de bioseguridad 2 u otras prácticas de bioseguridad adecuadas para materiales que contienen agentes infecciosos o que se sospecha que los contienen.
- Todas las muestras, los reactivos biológicos y los materiales utilizados en el ensayo deben considerarse potencialmente capaces de transmitir agentes infecciosos. Por lo tanto, deben eliminarse de acuerdo con las prácticas de su institución. Deseche todos los materiales de manera segura y aceptable y en cumplimiento de los requisitos regulatorios imperantes.
- Este producto contiene azida de sodio. Los contenidos y recipientes deben desecharse en conformidad con todas las regulaciones locales, regionales y nacionales.
- Consulte las hojas de datos de seguridad que están disponibles a pedido.

Precauciones de manipulación

- No use kits de reactivos con la fecha de caducidad vencida.
- No intercambie los componentes de diferentes reactivos o lotes.
- Antes de cargar el kit de reactivos en el sistema por primera vez, el kit de reactivos se debe mezclar para volver a suspender las microperlas magnéticas que se asentaron durante el envío.
- Para obtener instrucciones sobre cómo mezclar microperlas magnéticas, consulte la sección Preparación del reactivo de este prospecto.
- Para evitar la contaminación, use guantes limpios cuando trabaje con un kit de reactivos y muestras.
- En el transcurso del tiempo, los líquidos residuales pueden secarse en la superficie septal. Estos son, generalmente, sales secas que no tienen ningún efecto sobre la eficacia del ensayo.
- Para obtener un análisis detallado de las precauciones de manipulación durante el funcionamiento del sistema, consulte la información de servicio de SNIBE.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Sellado: Almacenamiento a una temperatura de entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad.
- Apertura a entre 2 y 8 °C: La estabilidad mínima es de cuatro semanas.
- En el sistema: La estabilidad mínima es de cuatro semanas.

- Para asegurar el mejor rendimiento del kit, se recomienda colocar los kits abiertos en el refrigerador después de la finalización de los trabajos de prueba intradía.
- Se debe mantener en posición vertical para el almacenamiento y para facilitar la posterior resuspensión adecuada de las microperlas magnéticas.
- Se debe mantener alejado de la luz solar.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Preparación del reactivo

- La resuspensión de las microperlas magnéticas se realiza de forma automática cuando el kit se carga correctamente, de modo que las microperlas magnéticas se vuelvan a suspender totalmente de forma homogénea antes del uso.
- Para asegurar el desempeño adecuado del test, siga estrictamente las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente. Cada parámetro del test está identificado mediante un CHIP RFID en el kit del reactivo. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

DILUCIÓN

La dilución de la muestra mediante el analizador no está disponible en este kit de reactivos.

Las muestras con concentraciones que estén por encima del rango de medición se pueden diluir manualmente. Después de la dilución manual, multiplique el resultado por el factor de dilución. Elija diluyentes aplicables o pida asesoramiento a SNIBE antes de la dilución manual.

Efecto prozona de dosis alta

No se observó un efecto prozona de dosis alta para concentraciones de proinsulina de hasta 100 000 pg/ml.

LIMITACIONES

- Se requiere una manipulación hábil y el cumplimiento estricto de las instrucciones para obtener resultados confiables. Las instrucciones del procedimiento deben seguirse exactamente y con sumo cuidado para obtener resultados válidos. Cualquier modificación del procedimiento podría alterar los resultados.
- Para ensayos que emplean anticuerpos, existe la posibilidad de interferencia de anticuerpos heterófilos en la muestra del paciente. Los pacientes que han estado expuestos regularmente a animales o han recibido inmunoterapia pueden contener anticuerpos humanos antirratón (HAMA, del inglés human anti-mouse antibodies), lo cual puede ocasionar un falso aumento o una falsa disminución de los valores. Además, otros anticuerpos heterófilos, como anticuerpos humanos anticabra, también podrían estar presentes en las muestras de los pacientes. Puede ser necesaria información clínica o de diagnóstico adicional para determinar el estado del paciente.
- Para fines de diagnóstico, los resultados siempre deben evaluarse y verificarse junto con los antecedentes médicos del paciente, la exploración física y otros hallazgos.

RESULTADOS

Cálculo de los resultados

El analizador calcula automáticamente la concentración de proinsulina en cada muestra mediante una curva de calibración que se genera con un procedimiento de curva principal de calibración de dos puntos. Los resultados se expresan en pg/ml. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

Interpretación de los resultados

El rango esperado para el ensayo de proinsulina se obtuvo mediante la realización de pruebas con 60 personas aparentemente sanas en China, y dio el siguiente valor esperado:

30-180 pg/ml (percentiles 2,5-97,5, en ayuno).

Los resultados pueden diferir entre laboratorios debido a variaciones en la población y el método de prueba. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos esperados.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Precisión

La precisión del ensayo de proinsulina se determinó como se describe en el documento EP5-A2 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, del inglés Clinical & Laboratory Standards Institute). Se probaron tres grupos de suero humano y un control con diferentes concentraciones de analito en duplicado en dos ejecuciones independientes por día durante 20 días de pruebas. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Muestra	Media (pg/ml) (N = 80)	Dentro de la ejecución		Entre ejecuciones		Total	
		SD (pg/ml)	% de CV	SD (pg/ml)	% de CV	SD (pg/ml)	% de CV
Grupos de suero 1	31,309	1,755	5,61	2,401	7,67	2,974	9,50
Grupos de suero 2	205,676	10,916	5,31	7,015	3,41	12,975	6,31
Grupos de suero 3	2077,591	56,465	2,72	113,781	5,48	127,021	6,11
Control	330,359	13,751	4,16	12,057	3,65	18,289	5,54

Límite de blanco (LoB)

El LoB del ensayo de proinsulina es de 2,0 pg/ml.

Límite de detección (LoD)

El LoD del ensayo de proinsulina es de 4,0 pg/ml.

Rango de medición

2,0-5000 pg/ml (se define por el límite de blanco y el límite superior de la curva principal). Los valores que están por debajo del límite de blanco se observan como < 2,0 pg/ml. Los valores que están por encima del rango de medición se observan como > 5000 pg/ml.

Linealidad

El ensayo es lineal entre 4,0 pg/ml y 5000 pg/ml, sobre la base de un estudio realizado con la orientación del documento EP6-A del CLSI. Se prepararon nueve niveles de muestras distribuidos uniformemente por adición de una muestra de suero libre de proinsulina (0,0 pg/ml) a una muestra de suero que contenía 5500 pg/ml de proinsulina. La media de recuperación de la muestra osciló entre el 90 % y el 110 %.

Comparación de métodos

Se realizaron pruebas a un total de 100 muestras en el rango de 20,30 a 4972,89 pg/ml mediante el ensayo de proinsulina (y) y un inmunoensayo disponible comercialmente (x). Los datos de las regresiones lineales resultantes se resumen como: $y = 1,015x - 0,694$, $r^2 = 0,991$.

Especificidad analítica

La especificidad del ensayo se obtuvo a través de la adición del péptido C (20 ng/ml) e insulina (200 pg/ml) a muestras de suero con las concentraciones indicadas. No se encontraron interferencias.

Interferencia endógena

Las sustancias hasta las siguientes concentraciones no interfirieron con el ensayo:

- Bilirrubina 6 mg/dl
- Hemoglobina 16 mg/dl
- Triglicérido 1250 mg/dl

REFERENCIAS

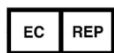
1. Bell GI, Pictet RL, Rutter WJ, Cordell B, Tischer E, Goodman HM (March 1980). "Sequence of the human insulin gene". *Nature*. 284 (5751): 26–32.
2. Nolan, Chris; Margoliash, E.; Peterson, James D.; Steiner, Donald F. (1971-05-10). "The Structure of Bovine Proinsulin". *Journal of Biological Chemistry*. 246 (9): 2780–2795.
3. Groskreutz, Debyra (1993). "Genetically Engineered Proinsulin Constitutively Processed and Secreted as Mature, Active Insulin" (PDF). *The Journal of Biological Chemistry*. 8: 6241–6245 – via JBC.
4. Ward, W. K., LaCava, E. C., Paquette, T. L., Beard, J. C., Wallum, B. J., & Porte, D. (1987). Disproportionate elevation of immunoreactive proinsulin in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and in experimental insulin resistance. *Diabetologia*, 30(9), 698-702.
5. Yoshioka, N., Kuzuya, T., Matsuda, A., Taniguchi, M., & Iwamoto, Y. (1988). Serum proinsulin levels at fasting and after oral glucose load in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*, 31(6), 355-360.
6. Williams, D. R., Byrne, C., Clark, P. M., Cox, L., Day, N. E., Rayman, G., ... & Hales, C. N. (1991). Raised proinsulin concentration as early indicator of beta cell dysfunction. *BMJ: British Medical Journal*, 303(6794), 95.
7. Kahn, S. E., Leonetti, D. L., Prigeon, R. L., Boyko, E. J., Bergstrom, R. W., & Fujimoto, W. Y. (1995). Proinsulin as a marker for the development of NIDDM in Japanese-American men. *Diabetes*, 44(2), 173-179.
8. Cohen, R. M., Given, B. D., Licinio-Paixao, J., Provow, S. A., Rue, P. A., Frank, B. H., ... & Rubenstein, A. H. (1986). Proinsulin radioimmunoassay in the evaluation of insulinomas and familial hyperproinsulinemia. *Metabolism*, 35(12), 1137-1146.
9. Yamamoto, R., Iwamoto, Y., Sakura, H., Yoshioka, N., Hsieh, S. D., Matsuda, A., & Kuzuya, T. (1987). Reduced urinary insulin clearance in patient with abnormal insulinemia. *Diabetes*, 36(5), 602-606.
10. Clark, P. M. (1999). Assays for insulin, proinsulin (s) and C-peptide. *Annals of clinical biochemistry*, 36(5), 541-564.
11. Mykkänen, Leena; Haffner, Steven M.; Hales, C. Nick; Rönnemaa, Tapani; Laakso, Markku (1997-12-01). "The Relation of Proinsulin, Insulin, and Proinsulin-to-Insulin Ratio to Insulin Sensitivity and Acute Insulin Response in Normoglycemic Subjects". *Diabetes*. 46 (12): 1990–1995.
12. Hernández-Sánchez, C.; Mansilla, A.; de la Rosa, E. J.; de Pablo, F. (2006-06-01). "Proinsulin in development: New roles for an ancient prohormone". *Diabetologia*. 49 (6): 1142–1150.



Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd.

No.23, Jinxiu East Road, Pingshan District, 518122 Shenzhen, P.R. China

Tel.: +86-755-21536601 Fax: +86-755-28292740



Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)

Eiffestrasse 80, 20537 Hamburg, Germany

Tel.: +49-40-2513175 Fax: +49-40-255726

EXPLICACIÓN DE SÍMBOLOS

	Consulte las instrucciones de uso		Fabricante
	Límite de temperatura (Almacenar a una temperatura de entre 2 y 8 °C)		Fecha de caducidad
	Contiene suficiente para		Mantener alejado de la luz solar
	Este lado hacia arriba		Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>		Componentes del kit
	Número de catálogo		Código de lote