

MAGLUMI[®] A II (CLIA)

USO INDICADO

El kit es un inmunoensayo por quimioluminiscencia *in vitro* para la determinación cuantitativa de Angiotensina II (A II) en plasma humano usando el analizador de inmunoensayo por quimioluminiscencia totalmente automático de la serie MAGLUMI (se incluyen 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

El sistema renina–angiotensina (RAS, por sus siglas en inglés) o el sistema renina–angiotensina–aldosterona (RAAS, por sus siglas en inglés) es un sistema hormonal que está involucrado en la regulación de la concentración de sodio en plasma y de la presión arterial¹. La angiotensina I es una hormona peptídica que causa vasoconstricción y un posterior aumento de la presión sanguínea. Es parte del sistema renina–angiotensina, que es un blanco importante para los fármacos que elevan la presión sanguínea. La angiotensina también estimula la liberación de aldosterona, otra hormona, de la corteza suprarrenal. La aldosterona promueve la retención de sodio en la nefrona distal, en el riñón, lo que también aumenta la presión sanguínea. Se deriva de la molécula precursora angiotensinógeno, una globulina sérica producida en el hígado¹⁻².

La angiotensina II (Ang II) es una hormona octopeptídica que juega un importante papel en la homeostasis cardiovascular, que se convierte de la angiotensina I a través de la retirada de dos residuos C-terminal por la enzima convertidora de la angiotensina (ACE, por sus siglas en inglés), principalmente a través de ACE dentro del pulmón (pero también presente en las células endoteliales, las células epiteliales renales y el cerebro)¹. Lo que es típico de muchas proteínas, la Ang II fue nombrada sobre la base de su primera función biológica demostrada: la habilidad de actuar como un agonista vasoactivo e inducir la contracción de los vasos sanguíneos. La angiotensina II es el producto biológicamente activo del sistema renina–angiotensina. La angiotensina II tiene una vida muy breve en el plasma: Una vez generada a partir de la angiotensina I, es degradada aún más en péptidos fisiológicamente inactivos por varias peptidasas en plasma, con una vida media plasmática de menos de un minuto³⁻⁵.

Con los años, la Ang II ha demostrado que desempeña un papel importante en la mediación de la hipertensión, la insuficiencia cardíaca, la remodelación cardíaca, la diabetes y las respuestas inflamatorias y proliferativas a la lesión arterial⁶. Estos hallazgos han generado el desarrollo de varias clases de agentes farmacológicos diseñados para la inhibición de la síntesis de Ang II (por ejemplo, los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina II) o para bloquear su acción (por ej., antagonistas de los receptores de angiotensina II). Estos agentes ahora se utilizan ampliamente en el tratamiento de la hipertensión y de la insuficiencia cardíaca congestiva⁷.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El ensayo de A II es un inmunoensayo competitivo por quimioluminiscencia.

La muestra (o calibrador/control, si procede) y las microperlas magnéticas recubiertas con anticuerpo policlonal anti-A II se mezclan completamente y se incuban para formar complejos antígeno-anticuerpo. Luego se agrega antígeno A II purificado marcado con ABEI y se incuban para formar complejos. Después de la precipitación en un campo magnético, se decanta el sobrenadante y luego se realiza otro ciclo de lavado. Posteriormente, se agrega el Sustrato 1+2 para iniciar una reacción quimioluminiscente rápida. La señal luminosa se mide con un fotomultiplicador como unidades relativas de luz (RLU, por sus siglas en inglés), las cuales son inversamente proporcionales a la concentración de A II presente en la muestra (o calibrador/control, si procede).

COMPONENTES DEL KIT

Material proporcionado

Componentes	Contenido	100 pruebas (REF.: 130206006M)	50 pruebas (REF.: 130606006M)
Microperlas magnéticas	Recubiertas con anticuerpo policlonal anti-A II, con BSA, NaN ₃ (<0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Calibrador bajo	Contiene BSA y antígeno A II, NaN ₃ (<0,1 %).	3,0 ml	2,0 ml
Calibrador alto	Contiene BSA y antígeno A II, NaN ₃ (<0,1 %).	3,0 ml	2,0 ml
Marca de ABEI	Antígeno A II purificado marcado con ABEI, que contiene BSA, NaN ₃ (<0,1 %).	12,5 ml	7,5 ml
Control de calidad interno	Contiene BSA y antígeno A II, NaN ₃ (<0,1 %).	2,0 ml	2,0 ml
Anticoagulante	0,3mol/l de búfer EDTA-2K.	5,5 ml	5,5 ml
Inhibidor enzimático	0,34 mol/l de sal de hemisulfato 8-Quinolol.	5,5 ml	5,5 ml
Dimercaprol	0,32 mol/l.	3,0 ml	3,0 ml

Todos los reactivos se proporcionan listos para usar.

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

Por favor, realice los pedidos de los accesorios a Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd. (SNIBE) o a nuestros representantes autorizados.

CALIBRACIÓN

Trazabilidad: Este método ha sido estandarizado con la ID/MS (espectrometría de masa de dilución isotópica).

El test de prueba de calibradores específicos permite que los valores RLU se ajusten a la curva maestra asignada. Los resultados se determinan mediante una curva de calibración que es específica del instrumento y generada por una calibración de 2 puntos, y se proporciona una curva

maestra (10 calibraciones) mediante el reactivo CHIP de identificación por radiofrecuencia (RFID, por sus siglas en inglés).

Se recomienda la recalibración si se produce cualquiera de las siguientes condiciones:

- Después de cada intercambio de lotes (reactivo o sustrato 1+2).
- Cada semana y/o cada vez que se utiliza un nuevo kit de reactivo (recomendado).
- Después de requerir servicio del instrumento.
- Si los controles se encuentran fuera del rango esperado.

CONTROL DE CALIDAD

Respete la frecuencia de control de calidad que se señale en las regulaciones gubernamentales o en los requisitos de autorización.

El control de calidad interno solo son aplicados con los sistemas MAGLUMI y Biolumi. Para obtener instrucciones de uso y el valor diana, consulte la **Información de control de calidad de A II (CLIA)**. El usuario debe juzgar los resultados según sus propias normas 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 el gráfico de tendencias, son necesarios materiales de control de calidad disponibles comercialmente. Trate todas las muestras de control de calidad con las mismas medidas aplicables a las muestras del paciente. El nivel satisfactorio de rendimiento se obtiene cuando los valores obtenidos del análisis se encuentran dentro del rango de control aceptable para el sistema o dentro de su rango, tal cual queda determinado por un plan adecuado de control de calidad interno del laboratorio. Si los resultados del control de calidad no están dentro de los valores previstos ni dentro de los valores establecidos por el laboratorio, no informe los resultados. Lleve a cabo lo siguiente:

- Verifique que los materiales no hayan caducado.
- Compruebe que se haya llevado a cabo el servicio de mantenimiento requerido.
- Asegúrese de que el ensayo se haya realizado de acuerdo con las instrucciones de uso.
- Repita el ensayo con muestras de control de calidad nuevas.
- Si es necesario, póngase en contacto con sus distribuidores o técnicos locales para recibir asistencia.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Recolección de muestra

Recoja la sangre asépticamente siguiendo las precauciones universales para la venopunción y luego agregue los anticoagulantes e inhibidores de enzimas según los coeficientes siguientes:

5 ml	Sangre entera en un tubo
+50 µl	0,30M EDTA-2K (Si hay alguna precipitación de cristales, utilice el baño de agua para disolverlos de nuevo antes de usar).
+25 µl	0,32 M Dimercaprol
+50 µl	Inhibidores enzimáticos

Aviso:

- Los anticoagulantes y los inhibidores enzimáticos no pueden mezclarse antes de agregarse en la sangre! (El procedimiento correcto es los anticoagulantes en primer lugar y los inhibidores de enzimas en segundo lugar).
- Si utiliza tubos de vacío con aditivos anticoagulantes entonces asegúrese de usar EDTA (EDTA-2K o EDTA-4Na) como anticoagulante. En esta situación, no hay necesidad de agregar anticoagulante, solo añada el inhibidor de enzimas directamente.
- Si el volumen de la muestra es diferente, por favor aumente o disminuya los reactivos en la misma proporción. Por ejemplo, 2 ml de sangre, con 20 µl de anticoagulantes, 10 µl de Dimercaprol y 20 µl de inhibidores enzimáticos.
- Después de sellar el tubo con el tapón, gire el tubo boca abajo varias veces para mezclar la muestra. Colóquelo en un baño de agua helada o en un refrigerador a 4 °C durante 1 o 2 horas de inmediato, luego centrifugue el tubo durante 7 minutos a 4020 r/min, (preferiblemente centrifugado a 4 °C) para separar el plasma. Si el plasma debe almacenarse durante un tiempo largo, por favor, séllelo y guárdelo en el refrigerador (por debajo de -15 °C).
- No usar muestras hemolizadas o groseramente lipémicas ni muestras que contengan partículas o que exhiban evidente contaminación microbiana. Inspeccione todas las muestras en busca de burbujas y elimine las burbujas antes del análisis para obtener resultados óptimos.
- La angiotensina II puede convertirse en angiotensina III por la angiotoninasa A en el plasma, y también convertirse en Ang-(1-7) por la proilendopeptidasa o PRCP. La muestra almacenada a 4 °C o -20 °C puede degradarse. Para garantizar la veracidad de los resultados, se recomienda que la prueba se lleve a cabo dentro de las 4 horas.
- Evite repetir los ciclos de congelamiento y descongelamiento.
- Todas las muestras (muestras de los pacientes y controles) deben ser analizadas dentro de las 3 horas siguientes tras ser instaladas en el sistemas MAGLUMI y Biolumi. Consulte el servicio SNIBE para un análisis más detallado de las limitaciones de almacenamiento de muestras del sistema.
- Las muestras removidas del separador, las células o los coágulos se pueden almacenar hasta por 24 horas a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C.
- Las muestras se pueden almacenar hasta por 30 días congeladas a -20 °C o a temperaturas inferiores.
- Antes del envío de las muestras, se recomienda que estas se retiren del separador de plasma, los glóbulos rojos o coágulos. Cuando se despachan, las muestras deben ser envasadas y etiquetadas de acuerdo con las regulaciones estatales, federales e internacionales aplicables al transporte de muestras clínicas y sustancias infecciosas. Las muestras deben ser enviadas congeladas.
- El volumen de muestra requerido para una única determinación de A II es 100 µl.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES PARA LOS USUARIOS

IVD

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Siga las instrucciones del folleto cuidadosamente. No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados del ensayo si se presenta cualquier desviación de las instrucciones de este prospecto.

Precauciones de seguridad

- **ATENCIÓN:** Este producto requiere la manipulación de muestras de origen humano. Se recomienda que todos los materiales de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos y deben manejarse de acuerdo con la norma 29 CFR 1910.1030 sobre Exposición ocupacional a patógenos de transmisión hemática. Se deben utilizar prácticas de Bioseguridad Nivel 2 u otras prácticas de bioseguridad adecuadas para los materiales que contienen o se sospecha que contienen agentes infecciosos
- Todas las muestras, los reactivos y los materiales biológicos utilizados en el ensayo deben ser considerados como potencialmente capaces de transmitir agentes infecciosos. Por lo tanto, deben ser eliminados de conformidad con las prácticas de su institución. Deseche todos los materiales de manera segura y aceptable y cumpla con los requisitos reglamentarios vigentes.
- Este producto contiene azida sódica. La eliminación del contenido y de los recipientes debe realizarse conforme a todas las normas locales, regionales y nacionales.
- Consulte las hojas de datos de seguridad que están disponibles a petición.

Precauciones de manipulación

- No utilice los kits de reactivos después de la fecha de caducidad.
- No intercambie los componentes de reactivos de diferentes reactivos o lotes.
- Antes de cargar el kit de reactivos en el sistema por primera vez, el kit requiere ser mezclado para volver a dejar en estado de suspensión las microperlas magnéticas que se han asentado durante el envío.

- Para obtener instrucciones sobre la mezcla de las microperlas magnéticas, consulte la sección de Preparación del reactivo de este prospecto.
- Para evitar la contaminación, utilice guantes limpios cuando manipule un kit de reactivos y las muestras.
- Con el tiempo, pueden secarse líquidos residuales en la superficie del diafragma. Estas son generalmente sales secas que no tienen ningún efecto sobre la eficacia del ensayo.
- Para una discusión detallada de las precauciones de manipulación durante el funcionamiento del sistema, consulte la información de servicio de SNIBE.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Sellado: Almacenado a entre 2 °C y 8 °C hasta la fecha de caducidad.
- Abierto a entre 2 °C y 8 °C: La estabilidad mínima es de 4 semanas.
- Dentro: Estable durante 4 semanas.
- Para asegurar el mejor desempeño del kit, se recomienda colocar los kits abiertos en el refrigerador tras finalizar el trabajo de prueba del día.
- Mantenga el kit en posición vertical durante el almacenamiento para facilitar la resuspensión posterior adecuada de las microperlas magnéticas.
- Mantenga el kit lejos de la luz solar.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Preparación del reactivo

- La resuspensión de las microperlas magnéticas se realiza automáticamente cuando el kit se carga correctamente, asegurando que las microperlas magnéticas estén totalmente resuspendidas de manera homogénea antes de su 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 reactivo. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

DILUCIÓN

En este kit de reactivos no está disponible la dilución de las muestras mediante el analizador.

Las muestras con concentraciones superiores al intervalo de medición pueden diluirse manualmente. Después de la dilución manual, multiplique el resultado por el factor de dilución. Por favor, elija diluyentes aplicables o solicite asesoría a SNIBE antes de una dilución manual.

LIMITACIONES

- Dado que los β -bloqueantes, vasodilatadores, diuréticos y esteroides, regaliz y otras sustancias interfieren con la renina, la PRA deberá medirse después de dejar de usarlos por dos semanas. En el caso de la reserpina y otros medicamentos con enlentecimiento del metabolismo, la PRA debe medirse después de tres semanas. Los pacientes que no pueden dejar de usar fármacos pueden cambiar a otros como la guanetidina.
- Los niveles de PRA pueden verse interferidos por la ingesta de sodio, por lo que el paciente debe disminuir la ingesta de sal tres días antes de la determinación de la PRA. Los pacientes deben medir el sodio en orina durante 24 horas antes de la extracción de sangre y los resultados pueden ser utilizados para el análisis de referencia.
- Prueba de provocación: el paciente no se levanta por la mañana o se acuesta durante dos horas. Extraiga sangre entre las 6:00 y las 8:00, y luego inyecte furosemida con 0,7 mg/kg de peso corporal, pero la dosis total debe ser menos de 50 mg. Manténgalo en posición vertical durante dos horas (el paciente puede caminar) y, a continuación, obtenga muestras de sangre en estado excitado.
- Durante las dos horas después de la inyección de furosemida, se pierde una gran cantidad de agua y de electrolitos con la orina. Si los pacientes tienen bajos niveles de potasio en suero, es mejor suministrárselo antes de la extracción de sangre. Los pacientes pueden sentir sed, debilidad, sudoración, etc., durante la prueba, pero generalmente no es nada grave. Si el síntoma es sobrepeso, el ensayo debe finalizarse.

RESULTADOS

Cálculo de los resultados

El analizador calcula automáticamente la concentración de A II en cada muestra por medio de una curva maestra que es generada por un procedimiento de curva maestra de calibración de 2 puntos. Los resultados se expresan en pg/ml. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

Interpretación de los resultados

Valores de referencia:

Dieta	Estado	Valores de referencia (pg/ml)
Normal	Posición reclinada	25 – 60
	Posición de pie	50 – 120

Los resultados pueden diferir entre laboratorios debido a variaciones en el método de prueba y en la población. Si es necesario, cada laboratorio debe establecer su propio intervalo de referencia.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

Precisión

La precisión del ensayo de A II se determinó de conformidad con CLSI EP5-A2. Se analizaron 2 controles y 3 pools de plasma humano con diferente concentración de analito, en duplicado en dos ejecuciones independientes por día, durante 20 días de prueba. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Muestra	Media (pg/ml) (N = 80)	Dentro de la ejecución		Entre ejecuciones		Total	
		DE (pg/ml)	% CV	DE (pg/ml)	% CV	DE (pg/ml)	% CV
Pool 1 con plasma	25,385	1,220	4,81	1,457	5,74	1,900	7,48
Pool 2 con plasma	60,065	3,214	5,35	2,394	3,99	4,008	6,67
Pool 3 con plasma	120,290	3,576	2,97	3,034	2,52	4,690	3,90
Control 1	94,253	3,663	3,89	2,450	2,60	4,407	4,68
Control 2	249,701	7,147	2,86	5,465	2,19	8,997	3,60

Límite de blanco (LoB)

El LoB para el ensayo de A II es 5,0 pg/ml.

Límite de detección (LoD)

El LoD para el ensayo de A II es 7,5 pg/ml.

Rango de medición

5,0 – 1000 pg/ml (definido por el límite de blanco y el máximo de la curva maestra). Los valores por debajo del límite de blanco se informan como <5,0 pg/ml. Los valores por encima del rango de medición se informan como >1000 pg/ml.

Recuperación

Las concentraciones conocidas de A II se agregaron a las muestras normales. La concentración de A II se determinó mediante el ensayo de A II y se calculó el porcentaje de recuperación resultante. La recuperación debe estar en el rango entre el 90 % y el 110 %.

Muestra	Agregada (pg/ml)	Observada (pg/ml)	% de recuperación
	-	34,993	/
S1	11,23	46,571	103,10
	53,29	87,777	99,05
	-	92,333	/
S2	11,23	102,862	93,75
	53,29	148,315	105,05
	-	164,671	/
S3	11,23	175,761	98,75
	53,29	219,080	102,10

Comparación de métodos

Se analizaron un total de 100 muestras clínicas en el rango de 25,88 y 738,03 pg/ml mediante un ensayo de A II (y) y un inmunoensayo disponible comercialmente (x). Los datos de las regresiones lineales resultantes se resumen del siguiente modo: $y = 0,969x + 3,757$, $r^2 = 0,990$.

Especificidad analítica

La especificidad del ensayo se obtuvo agregando A I (10000 pg/ml) a muestras de plasma. No se encontraron interferencias.

Interferencia endógena

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

- Bilirrubina 12,5 mg/dl
- Hemoglobina 16 mg/dl
- Triglicérido 1250 mg/dl

REFERENCIAS

1. Peach, M. J. (1977). Renin-angiotensin system: biochemistry and mechanisms of action. *Physiological reviews*, 57(2), 313-370.
2. Weber, K. T., & Brilla, C. G. (1991). Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. *Circulation*, 83(6), 1849-1865.
3. Oparil, S., & Haber, E. (1974). The renin-angiotensin system. *New England Journal of Medicine*, 291(8), 389-401.
4. Ganong, W. F., & Ganong, W. (1995). *Review of medical physiology* (p. 59). Norwalk, CT: Appleton & Lange.
5. A. Leaf, GW Liddle (1974), in "Textbook of Endocrinology" p.938 ed. RH Williams, WB Saunders Co., Philadelphia.
6. Ruiz-Ortega, M., Lorenzo, O., Ruperez, M., Esteban, V., Suzuki, Y., Mezzano, S., & Egido, J. (2001). Role of the renin-angiotensin system in vascular diseases. *Hypertension*, 38(6), 1382-1387.
7. Taubman, M. B. (2003). Angiotensin II.



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

EXPLICACIONES DE SÍMBOLOS

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