Insulin

Insulin

cobas®

12017547 122 **100 tests**

• Indicates analyzers on which the kit can be used

Elecsys 1010	Elecsys 2010	MODULAR ANALYTICS E170	**cobas e** 411	**cobas e** 601
•	•	•	•	•

English

Intended use

Immunoassay for the in vitro quantitative determination of human insulin in human serum and plasma. The determination of insulin is utilized in the diagnosis and therapy of various disorders of carbohydrate metabolism, including diabetes mellitus and hypoglycemia.
The **e**lectro**c**hemi**l**uminescence **i**mmuno**a**ssay "ECLIA" is intended for use on Elecsys and **cobas e** immunoassay analyzers.

Summary[1,2,3,4,5]

Insulin is a peptide hormone with a molecular weight of approximately 6000 daltons. It is secreted by the B-cells of the pancreas and passes into circulation via the portal vein and the liver. Insulin is generally released in pulses, with the parallel glucose cycle normally about 2 minutes ahead of the insulin cycle.[1]
The insulin molecule consists of two polypeptide chains, the α-chain with 21 and the β-chain with 30 amino acids. Biosynthesis of the hormone takes place in the β-cells of the islets of Langerhans in the form of single-chain preproinsulin, which is immediately cleaved to give proinsulin. Specific proteases cleave proinsulin to insulin and C-peptide which pass into the bloodstream simultaneously. About half of the insulin, but virtually none of the C-peptide, is retained in the liver. Circulating insulin has a half-life of 3-5 minutes and is preferentially degraded in the liver, whereas inactivation or excretion of proinsulin and C-peptide mainly takes place in the kidneys.
The amino acid sequence of insulin has remained surprisingly constant during evolution, with the result that prior to the development of genetically engineered human insulin it was possible to successfully use porcine or bovine insulin in the therapy of diabetes mellitus.[2]
The action of insulin is mediated by specific receptors and primarily consists of facilitation of the uptake of sugar by the cells of the liver, fatty tissue and musculature; this is the basis of its hypoglycemic action.
Serum insulin determinations are mainly performed on patients with symptoms of hypoglycemia. They are used to ascertain the glucose/insulin quotients and for clarification of questions concerning insulin secretion, e.g. in the tolbutamide test and glucagon test or in the evaluation of oral glucose tolerance tests or hunger provocation tests.
Although the adequacy of pancreatic insulin synthesis is frequently assessed via the determination of C-peptide, it is still generally necessary to determine insulin. For example, therapeutic administration of insulins of non-human origin can lead to the formation of anti-insulin antibodies. In this case, measurement of the concentration of serum insulin shows the quantity of free - and hence biologically active - hormone, whereas the determination of C-peptide provides a measure of the patient's total endogenous insulin secretion.[3,4]
A disorder in insulin metabolism leads to massive influencing of a number of metabolic processes. A too low concentration of free, biologically active insulin can lead to the development of diabetes mellitus. Possible causes of this include destruction of the β-cells (type I diabetes), reduced activity of the insulin or reduced pancreatic synthesis (type II), circulating antibodies to insulin, delayed release of insulin or the absence (or inadequacy) of insulin receptors. On the other hand, autonomous, non-regulated insulin secretion is generally the cause of hypoglycemia. This condition is brought about by inhibition of gluconeogenesis, e.g. as a result of severe hepatic or renal failure, islet cell adenoma, or carcinoma. Hypoglycemia can, however, also be facilitated intentionally or unintentionally (factitious hypoglycemia).
In 3 % of persons with reduced glucose tolerance, the metabolic state deteriorates towards diabetes mellitus over a period of time. Reduced glucose tolerance during pregnancy always requires treatment. The clearly elevated risk of mortality for the fetus necessitates intensive monitoring.
The Elecsys Insulin assay employs two monoclonal antibodies which together are specific for human insulin.

Test principle

Sandwich principle. Total duration of assay: 18 minutes.

- 1st incubation: Insulin from 20 µL sample, a biotinylated monoclonal insulin-specific antibody, and a monoclonal insulin-specific antibody labeled with a ruthenium complex[a] form a sandwich complex.
- 2nd incubation: After addition of streptavidin-coated microparticles, the complex becomes bound to the solid phase via interaction of biotin and streptavidin.
- The reaction mixture is aspirated into the measuring cell where the microparticles are magnetically captured onto the surface of the electrode. Unbound substances are then removed with ProCell. Application of a voltage to the electrode then induces chemiluminescent emission which is measured by a photomultiplier.
- Results are determined via a calibration curve which is instrument-specifically generated by 2-point calibration and a master curve provided via the reagent barcode.

a) Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II)-complex ($Ru(bpy)_3^{2+}$)

Reagents - working solutions

M Streptavidin-coated microparticles (transparent cap), 1 bottle, 6.5 mL: Streptavidin-coated microparticles 0.72 mg/mL; preservative.

R1 Anti-insulin-Ab~biotin (gray cap), 1 bottle, 10 mL: Biotinylated monoclonal anti-insulin antibody (mouse) 1 mg/L; MES buffer 50 mmol/L, pH 6.0; preservative.

R2 Anti-insulin-Ab~$Ru(bpy)_3^{2+}$ (black cap), 1 bottle, 10 mL: Monoclonal anti-insulin antibody (mouse) labeled with ruthenium complex 1.75 mg/L; MES buffer 50 mmol/L, pH 6.0; preservative.

Precautions and warnings

For in vitro diagnostic use.
Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.
Disposal of all waste material should be in accordance with local guidelines.
Safety data sheet available for professional user on request.
Avoid the formation of foam with all reagents and sample types (specimens, calibrators, and controls).

Reagent handling

The reagents in the kit have been assembled into a ready-for-use unit that cannot be separated.
All information required for correct operation is read in via the respective reagent barcodes.

Storage and stability

Store at 2-8 °C.
Store the Elecsys Insulin reagent kit **upright** in order to ensure complete availability of the microparticles during automatic mixing prior to use.
Stability:

unopened at 2-8 °C	up to the stated expiration date
after opening at 2-8 °C	12 weeks
on MODULAR ANALYTICS E170 and **cobas e** 601	4 weeks
on Elecsys 2010 and **cobas e** 411	4 weeks
on Elecsys 1010	4 weeks (stored alternately in the refrigerator and on the analyzer - ambient temperature 20-25 °C; up to 20 hours opened in total)

Specimen collection and preparation

Only the specimens listed below were tested and found acceptable.
Serum collected using standard sampling tubes or tubes containing separating gel.
Li-heparin, K_3-EDTA, and sodium citrate plasma.
Hemolysis interferes, as insulin-degrading peptidases are released from erythrocytes.[6]
Criterion: Recovery within 90-110 % of serum value or slope 0.9-1.1 + intercept within < ± 2 x analytical sensitivity (LDL) + coefficient of correlation > 0.95.
Stable for 24 hours at 2-8 °C, 6 months at -20 °C. Freeze only once.[7]
The sample types listed were tested with a selection of sample collection tubes that were commercially available at the time of testing, i.e. not all available

tubes of all manufacturers were tested. Sample collection systems from various manufacturers may contain differing materials which could affect the test results in some cases. When processing samples in primary tubes (sample collection systems), follow the instructions of the tube manufacturer. Centrifuge samples containing precipitates before performing the assay. Do not use heat-inactivated samples. Do not use samples and controls stabilized with azide.
Ensure the patients' samples, calibrators, and controls are at ambient temperature (20-25 °C) before measurement.
Because of possible evaporation effects, samples, calibrators, and controls on the analyzers should be measured within 2 hours.

Materials provided
See "Reagents - working solutions" section for reagents.

Materials required (but not provided)
- Cat. No. 12017504122, Insulin CalSet, for 4 x 1 mL
- Cat. No. 03609979190, PreciControl MultiAnalyte, for 2 x 2 mL each of PreciControl MultiAnalyte 1 and 2 or
  Cat. No. 11731416122, PreciControl Universal, for 2 x 3 mL each of PreciControl Universal 1 and 2 or
  Cat. No. 11731416190, PreciControl Universal, for 2 x 3 mL each of PreciControl Universal 1 and 2
- Cat. No. 11731416160, PreciControl Universal, for 2 x 3 mL each of PreciControl Universal 1 and 2 (for USA)
- General laboratory equipment
- Elecsys 1010/2010, MODULAR ANALYTICS E170 or **cobas e** analyzer

Accessories for Elecsys 1010/2010 and **cobas e** 411 analyzers:
- Cat. No. 11662988122, ProCell, 6 x 380 mL system buffer
- Cat. No. 11662970122, CleanCell, 6 x 380 mL measuring cell cleaning solution
- Cat. No. 11930346122, Elecsys SysWash, 1 x 500 mL washwater additive
- Cat. No. 11933159001, Adapter for SysClean
- Cat. No. 11706829001, Elecsys 1010 AssayCup, 12 x 32 reaction vessels or
  Cat. No. 11706802001, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 reaction vessels
- Cat. No. 11706799001, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 pipette tips

Accessories for MODULAR ANALYTICS E170 and **cobas e** 601 analyzers:
- Cat. No. 04880340190, ProCell M, 2 x 2 L system buffer
- Cat. No. 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L measuring cell cleaning solution
- Cat. No. 12135027190, CleanCell M, 1 x 2 L measuring cell cleaning solution (for USA)
- Cat. No. 03023141001, PC/CC-Cups, 12 cups to prewarm ProCell M and CleanCell M before use
- Cat. No. 03005712190, ProbeWash M, 12 x 70 mL cleaning solution for run finalization and rinsing during reagent change
- Cat. No. 12102137001, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 magazines x 84 reaction vessels or pipette tips, waste bags
- Cat. No. 03023150001, WasteLiner, waste bags
- Cat. No. 03027651001, SysClean Adapter M

Accessories for all analyzers:
- Cat. No. 11298500316, Elecsys SysClean, 5 x 100 mL system cleaning solution

Only available in the USA:
- Cat. No. 12144085122, Elecsys Insulin CalCheck, for 3 concentration ranges

Assay
For optimum performance of the assay follow the directions given in this document for the analyzer concerned. Refer to the appropriate operator's manual for analyzer-specific assay instructions.
Resuspension of the microparticles takes place automatically before use. Read in the test-specific parameters via the reagent barcode. If in exceptional cases the barcode cannot be read, enter the 15-digit sequence of numbers.

MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 and **cobas e** analyzers: Bring the cooled reagents to approx. 20 °C and place on the reagent disk (20 °C) of the analyzer. Avoid the formation of foam. The system **automatically** regulates the temperature of the reagents and the opening/closing of the bottles.

Elecsys 1010 analyzer: Bring the cooled reagents to approx. 20-25 °C and place on the sample/reagent disk of the analyzer (ambient temperature 20-25 °C). Avoid the formation of foam. **Open** bottle caps **manually** before use and **close manually** after use. Store at 2-8 °C after use.

Calibration
Traceability: This method has been standardized using the 1st IRP WHO Reference Standard 66/304 (NIBSC).
Every Elecsys Insulin reagent set has a barcoded label containing the specific information for calibration of the particular reagent lot. The predefined master curve is adapted to the analyzer by the use of Elecsys Insulin CalSet.

Calibration frequency: Calibration must be performed once per reagent lot using fresh reagent (i.e. not more than 24 hours since the reagent kit was registered on the analyzer). Renewed calibration is recommended as follows:

MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 and **cobas e** analyzers:
- after 1 month (28 days) when using the same reagent lot
- after 7 days (when using the same reagent kit on the analyzer)

Elecsys 1010 analyzer:
- with every reagent kit
- after 7 days (ambient temperature 20-25 °C)
- after 3 days (ambient temperature 25-32 °C)

For all analyzers:
- as required: e.g. quality control findings outside the specified limits

Quality control
For quality control, use Elecsys PreciControl MultiAnalyte 1 and 2 or Elecsys PreciControl Universal 1 and 2.
Other suitable control material can be used in addition.
Controls for the various concentration ranges should be run as single determinations at least once every 24 hours when the test is in use, once per reagent kit, and after every calibration. The control intervals and limits should be adapted to each laboratory's individual requirements.
Values obtained should fall within the defined limits.
Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.
Follow the applicable government regulations and local guidelines for quality control.
Please note: Commercial controls may contain insulin of animal origin. When assessing results, the corresponding cross-reactivity of this test must be taken into account; see under "Analytical specificity".

Calculation
The analyzer automatically calculates the analyte concentration of each sample (either in µU/mL or pmol/L).

Conversion factors: µU/mL x 6.945 = pmol/L
pmol/L x 0.144 = µU/mL

Limitations - interference
The assay is unaffected by icterus (bilirubin < 1539 µmol/L or < 90 mg/dL), lipemia (Intralipid < 1800 mg/dL), and biotin < 246 nmol/L or < 60 ng/mL. Criterion: Recovery within ± 10 % of initial value. Hemolysis interferes.
In patients receiving therapy with high biotin doses (i.e. > 5 mg/day), no sample should be taken until at least 8 hours after the last biotin administration.
No interference was observed from rheumatoid factors up to a concentration of 18900 IU/mL.
There is no high-dose hook effect at insulin concentrations up to 20000 µU/mL or 138900 pmol/L.
In vitro tests were performed on 20 commonly used pharmaceuticals. No interference with the assay was found.
Samples from patients treated with bovine, porcine or human insulin sometimes contain anti-insulin antibodies which can affect the test results.[2,8,9]
In rare cases, interference due to extremely high titers of antibodies to analyte-specific antibodies (such as HAMA), streptavidin or ruthenium can occur. These effects are minimized by suitable test design.
For diagnostic purposes, the results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examination and other findings.

Insulin

Insulin

cobas®

Measuring range
0.200-1000 µU/mL or 1.39-6945 pmol/L (defined by the lower detection limit and the maximum of the master curve). Values below the detection limit are reported as < 0.200 µU/mL (< 1.39 pmol/L). Values above the measuring range are reported as > 1000 µU/mL (> 6945 pmol/L).

Dilution
Not necessary due to the broad measuring range.

Expected values
Studies with the Elecsys Insulin assay conducted in a clinical center in Germany with samples from 57 healthy, fasting individuals gave the following results (5th-95th percentile range):
2.6-24.9 µU/mL (17.8-173 pmol/L)

Status: Elecsys Insulin MCE on Elecsys 1010/2010 analyzers, study No.: B99P027 of 29 March 2001.

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference ranges.

Specific performance data
Representative performance data on the analyzers are given below. Results obtained in individual laboratories may differ.

Precision
Reproducibility was determined using Elecsys reagents, pooled human sera, and controls in a modified protocol (EP5-A) of the NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards): 6 times daily for 10 days (n = 60); within-run precision on MODULAR ANALYTICS E170 analyzer, n = 21. The following results were obtained:

Elecsys 1010/2010 and **cobas e** 411 analyzers								
			Within-run precision			**Total precision**		
Sample	Mean		SD		CV	SD		CV
	µU/mL	pmol/L	µU/mL	pmol/L	%	µU/mL	pmol/L	%
HS[b] 1	6.36	44.2	0.12	0.83	1.9	0.16	1.11	2.6
HS 2	20.9	145	0.39	2.71	1.9	0.59	4.10	2.8
HS 3	747	5188	15.1	105	2.0	18.6	129	2.5
PC U[c]1	25.2	175	0.38	2.64	1.5	0.62	4.31	2.5
PC U2	88.3	613	1.53	10.6	1.7	1.87	13.0	2.1

b) HS = human serum
c) PC U = PreciControl Universal

MODULAR ANALYTICS E170 and **cobas e** 601 analyzers										
	Within-run precision					**Total precision**				
Sample	Mean		SD		CV	Mean		SD		CV
	µU/mL	pmol/L	µU/mL	pmol/L	%	µU/mL	pmol/L	µU/mL	pmol/L	%
HS 1	5.93	41.2	0.09	0.62	1.5	6.85	47.6	0.34	2.33	4.9
HS 2	14.5	101	0.13	0.92	0.9	16.7	116	0.62	4.28	3.7
HS 3	49.9	346	0.58	4.05	1.2	55.1	383	1.86	12.9	3.4
HS 4	399	2768	3.32	23.1	0.8	425	2949	10.0	69.6	2.4
PC U1	26.9	187	0.19	1.34	0.7	22.5	156	1.03	7.17	4.6
PC U2	78.3	544	0.68	4.75	0.9	76.9	534	2.02	14.0	2.6

Analytical sensitivity (lower detection limit)
0.20 µU/mL (1.39 pmol/L)
The detection limit represents the lowest measurable analyte level that can be distinguished from zero. It is calculated as the value lying two standard deviations above that of the lowest standard (master calibrator, standard 1 + 2 SD, within-run precision, n = 21).

Method comparison
a) A comparison of the Elecsys Insulin assay (y) with the Enzymun-Test Insulin method (x) using clinical samples gave the following correlations (µU/mL):
Number of samples measured: 99

Passing/Bablok[10]	Linear regression
y = 1.00x - 1.16	y = 0.92x + 0.59
τ = 0.844	r = 0.958

The sample concentrations were between approx. 3.9 and 80 µU/mL (approx. 27 and 550 pmol/L).

b) A comparison of the Elecsys Insulin assay (y) with a commercially available Insulin test (x) using clinical samples gave the following correlations (µU/mL):
Number of samples measured: 99

Passing/Bablok[10]	Linear regression
y = 0.89x - 0.62	y = 0.93x - 1.02
τ = 0.935	r = 0.981

The sample concentrations were between approx. 1 and 118 µU/mL (approx. 7 and 820 pmol/L).

Analytical specificity
For the monoclonal antibodies used, the following cross-reactivities were found:

	Substance tested	% cross reactivity
Bovine insulin	17360 pmol/L	25.0
Porcine insulin	8334 pmol/L	19.2
Human proinsulin	1000 ng/mL	0.05
C-peptide	100 ng/mL	n.d.[d]
Glucagon	1000 pg/mL	n.d.
Somatostatin	100 pg/mL	n.d.
Insulin-like growth factor I	6579 pmol/L	0.04

d) n.d. = not detectable

Results for cross-reactivity with recombinant insulin analogs in a number of insulin methods have been published for example by two groups in France and the USA.[9,11,12] The following results were published by Owen et al.[11] for the Elecsys Insulin assay:
Insulin lispro, insulin aspart, and insulin glargine were each tested in concentrations of 30, 100, 300, and 1000 mIU/L in the absence of insulin. The results obtained were below the detection limit of the Elecsys Insulin assay (< 0.2 µU/mL or < 1.39 pmol/L) at all the concentrations tested. Moreover, these results also correlate with those published earlier by Sapin et al. for insulin lispro.[9]

References

1. Lang DA, Matthews DR, Peto J, Turner RC. Cyclic oscillations of basal plasma glucose and insulin concentrations in human beings. N Engl J Med 1979;301:1023-1027.
2. Fiedler H. Basiswissen Labordiagnostik: Diabetes mellitus und metabolisches Syndrom. Broschüre Roche Diagnostics 1999;14,67 Best.-Nr. 1951769.
3. Arnqvist H, Olsson PO, von Schenck H. Free and Total Insulin as Determined after Precipitation with Polyethylene Glycol: Analytical Characteristics and Effects of Sample Handling and Storage. Clin Chem 1987;33(1):93-96.
4. Gerbitz KD. Pankreatische B-Zellen Peptide: Kinetik und Konzentration von Proinsulin, Insulin und C-Peptid in Plasma und Urin, Probleme der Meßmethoden, klinische Aussage und Literaturübersicht. J Clin Chem Clin Biochem 1980;18(6):313-326.
5. Clark PM. Assays for insulin, proinsulin(s) and C-peptide. Ann Clin Biochem 1999;36(5):541-564.
6. Chevenne D, Letailleur A, Trivin F, Porquet D. Effect of Hemolysis on the Concentration of Insulin in Serum Determined by RIA and IRMA. Clin Chem 1998;44(2):354-356.
7. DG Klinische Chemie Mitteilungen 1995;26(5):207-224.
8. Tietz NW. Clinical Guide To Laboratory Tests. 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co, 1995:366-367.
9. Sapin R, Le Galudec V, Gasser F, Pinget M, Grucker D. Elecsys Insulin Assay: Free Insulin Determination and the Absence of Cross-Reactivity with Insulin Lispro. Clin Chem 2001;47:602-605.
10. Passing H, Bablok W, et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.
11. Owen WE, Roberts WL. Letter to the Editor: Cross-Reactivity of Three Recombinant Insulin Analogs with Five Commercial Insulin Immunoassays. Clin Chem 2004;50(1):257-259.
12. Sapin R. Review: Insulin Assays: Previously Known and New Analytical Features. Clin Lab 2003;49(3-4):113-121.

For further information, please refer to the appropriate operator's manual for the analyzer concerned, the respective application sheets, the product information, and the package inserts of all necessary components.

FOR US CUSTOMERS ONLY: LIMITED WARRANTY
Roche Diagnostics warrants that this product will meet the specifications stated in the labeling when used in accordance with such labeling and will be free from defects in material and workmanship until the expiration date printed on the label. THIS LIMITED WARRANTY IS IN LIEU OF ANY OTHER WARRANTY, EXPRESS OR IMPLIED, INCLUDING ANY IMPLIED WARRANTY OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR PARTICULAR PURPOSE. IN NO EVENT SHALL ROCHE DIAGNOSTICS BE LIABLE FOR INCIDENTAL, INDIRECT, SPECIAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES.

COBAS, COBAS E, ELECSYS, ENZYMUN-TEST and MODULAR are trademarks of Roche. Other brand or product names are trademarks of their respective holders. INTRALIPID is a trademark of Fresenius Kabi AB.

Significant additions or changes are indicated by a change bar in the margin. Changes to reagent barcode test parameters which have already been read in should be edited manually.

© 2009, Roche Diagnostics

Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim
Distribution in USA by:
Roche Diagnostics, Indianapolis, IN
US Customer Technical Support 1-800-428-2336

Insulin

Insulin

cobas®

12017547 122 **100 Tests**

• Verfügbare Packungen

Elecsys 1010	Elecsys 2010	MODULAR ANALYTICS E170	**cobas e** 411	**cobas e** 601
•	•	•	•	•

Deutsch

Anwendungszweck

Immunologischer in vitro Test zur quantitativen Bestimmung von Humaninsulin in Humanserum und -plasma. Die Bestimmung von Insulin wird zur Diagnose und Behandlung verschiedener Störungen des Kohlenhydratmetabolismus inklusive Diabetes mellitus und Hypoglykämie eingesetzt.
Der **E**lektro**C**hemi**L**umineszenz **I**mmuno**A**ssay "ECLIA" ist zur Durchführung an Elecsys sowie **cobas e** Immunoassay-Systemen vorgesehen.

Zusammenfassung[1,2,3,4,5]

Insulin ist ein Peptidhormon mit einem Molekulargewicht von ca. 6000 Dalton. Es wird von den B-Zellen des Pankreas sezerniert und gelangt über die Pfortader und die Leber in das Kreislaufsystem. Die Freisetzung des Insulins erfolgt in der Regel pulsatil, der gleichzeitige Glukosezyklus ist dem Insulinzyklus normalerweise ca. 2 Minuten voraus.[1]
Das Molekül besteht aus zwei Polypeptidketten, die α-Kette mit 21 und die β-Kette mit 30 Aminosäuren. Die Biosynthese des Hormons erfolgt in den β-Zellen der Langerhans'schen Inseln als einkettiges Prä-Proinsulin, das sofort zu Proinsulin gespalten wird. Durch spezifische Proteasen wird Proinsulin zu Insulin und C-Peptid gespalten und zeitgleich ins Blut abgegeben. Hierbei wird ca. die Hälfte des Insulins, aber kaum C-Peptid in der Leber zurückgehalten. Zirkulierendes Insulin wird mit einer Halbwertszeit von 3–5 Minuten bevorzugt in der Leber abgebaut, während die Inaktivierung bzw. Ausscheidung von Proinsulin und C-Peptid bevorzugt in der Niere erfolgt.
Die Aminosäuresequenz des Insulins ist in der Evolution erstaunlich konstant geblieben, so dass vor der gentechnischen Entwicklung von Humaninsulin mit gutem Erfolg Schweine- und Rinderinsulin zur Behandlung des Diabetes mellitus eingesetzt werden konnten.[2]
Die Wirkung des Insulins wird durch spezifische Rezeptoren vermittelt und besteht in erster Linie in einer Erleichterung der Zuckeraufnahme durch die Zellen der Leber, des Fettgewebes und der Muskulatur, worauf seine blutzuckersenkende Wirkung basiert.
Die Insulin-Bestimmung im Serum wird im wesentlichen bei Patienten mit Hypoglykämie-Symptomatik durchgeführt. Sie dient zur Ermittlung eines Glukose/Insulin-Quotienten sowie zur Abklärung von Fragestellungen bzgl. der Insulinsekretion, z.B. beim Tolbutamidtest, beim Glukagontest oder zur Auswertung oraler Glukosetoleranz- bzw. Hungerprovokationstests.
Obwohl die Suffizienz des Pankreas zur Insulinsynthese häufig über die Bestimmung des C-Peptids bewertet wird, kann auch hier auf eine Bestimmung des Insulins in der Regel nicht verzichtet werden. So können z.B. durch die therapeutische Verabreichung von Insulinen nicht humanen Ursprungs Insulin-Antikörper gebildet werden. In diesem Falle gibt die Konzentration von Insulin im Serum die freie und damit biologisch wirksame Menge des Hormons wieder, während die Bestimmung des C-Peptids die gesamte endogene Insulinsekretion des Patienten darstellt.[3,4]
Eine Störung im Insulinstoffwechsel führt zu einer massiven Beeinflussung vieler metabolischer Vorgänge. Eine zu geringe Konzentration an freiem, biologisch wirksamen Insulin kann zur Ausbildung eines Diabetes mellitus führen. Ursachen hierfür können u. a. eine Zerstörung der β-Zellen sein (Typ I Diabetes), eine herabgesetzte Wirksamkeit des Insulins bzw. eine abnehmende pankreatische Synthesefähigkeit (Typ II Diabetes), zirkulierende Insulin-Antikörper, verzögerte Insulinfreisetzung bzw. fehlende oder insuffiziente Insulin-Rezeptoren.
Auf der anderen Seite ist eine autonome, nicht geregelte Insulinsekretion in der Regel die Ursache für eine Hypoglykämie. Der Zustand wird durch Hemmung der Glukoneogenese ausgelöst, z.B. infolge schwerer Leber- oder Niereninsuffizienz, Inselzelladenom oder Karzinom.
Eine Hypoglykämie kann aber auch bewusst oder unbewusst herbeigeführt werden (Hypoglycaemia factitia).
Bei 3 % der Personen mit verminderter Glukosetoleranz verschlechtert die Stoffwechsellage in Richtung Diabetes mellitus im Laufe der Zeit.
Bei einer Schwangerschaft ist eine verminderte Glukosetoleranz immer behandlungsbedürftig. Das in solchen Fällen deutlich erhöhte Mortalitätsrisiko für den Fötus macht eine intensive Überwachung erforderlich.
Der Elecsys Insulin Test verwendet zwei monoklonale Antikörper, die in ihrem Zusammenwirken spezifisch für Humaninsulin sind.

Testprinzip

Sandwichprinzip. Gesamtdauer des Tests: 18 Minuten

- 1. Inkubation: Insulin aus 20 µL Probe, ein biotinylierter monoklonaler Insulin-spezifischer Antikörper und ein mit Ruthenium-Komplex[a] markierter monoklonaler Insulin-spezifischer Antikörper bilden einen Sandwich-Komplex.
- 2. Inkubation: Nach Zugabe von Streptavidin-beschichteten Mikropartikeln wird der Komplex über Biotin-Streptavidin Wechselwirkung an die Festphase gebunden.
- Das Reaktionsgemisch wird in die Messzelle überführt, wo die Mikropartikel durch magnetische Wirkung auf die Oberfläche der Elektrode fixiert werden. Danach werden mit ProCell die ungebundenen Substanzen entfernt. Durch Anlegen einer Spannung wird die Chemilumineszenzemission induziert und mit dem Photomultiplier gemessen.
- Die Ergebnisse werden anhand einer Kalibrationskurve ermittelt. Diese wird durch eine 2-Punkt-Kalibration und eine über den Reagenzbarcode mitgelieferte Masterkurve gerätespezifisch generiert.

a) Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II)-Komplex ($Ru(bpy)_3^{2+}$)

Reagenzien - gebrauchsfertige Lösungen

M Streptavidin-beschichtete Mikropartikel (Deckel transparent), 1 Flasche, 6,5 mL:
Streptavidin beschichtete Mikropartikel, 0,72 mg/mL; Konservierungsmittel.

R1 Anti-Insulin-Ak~Biotin (Deckel grau), 1 Flasche, 10 mL:
Biotinylierter monoklonaler anti-Insulin Antikörper (Maus) 1 mg/L; MES-Puffer 50 mmol/l, pH 6,0; Konservierungsmittel.

R2 Anti-Insulin-Ak~$Ru(bpy)_3^{2+}$ (Deckel schwarz), 1 Flasche, 10 mL:
Monoklonaler anti-Insulin Antikörper (Maus) markiert mit Ruthenium-Komplex 1,75 mg/L; MES-Puffer 50 mmol/L, pH 6,0; Konservierungsmittel.

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

In-vitro Diagnostikum.
Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.
Die Entsorgung aller Abfälle ist gemäß den lokalen Richtlinien durchzuführen.
Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage für berufsmäßige Benutzer erhältlich.
Schaumbildung bei allen Reagenzien und Probenarten (Proben, Kalibratoren und Kontrollen) vermeiden.

Reagenz-Handhabung

Die in der Packung befindlichen Reagenzien sind gebrauchsfertig zu einer untrennbaren Einheit zusammengefügt.
Alle für die korrekte Anwendung benötigten Informationen werden über die jeweiligen Barcodes eingelesen.

Lagerung und Haltbarkeit

Aufbewahrung bei 2-8 °C.
Die Elecsys Insulin Reagenzpackung **aufrecht stehend** aufbewahren, um eine komplette Verfügbarkeit der Mikropartikel während des automatischen Mischens vor Gebrauch zu gewährleisten.

Haltbarkeit:

Ungeöffnet bei 2-8 °C	bis zum angegebenen Verfalldatum
Nach dem Öffnen bei 2-8 °C	12 Wochen
Auf MODULAR ANALYTICS E170 und **cobas e** 601	4 Wochen
Auf Elecsys 2010 und **cobas e** 411	4 Wochen
Auf Elecsys 1010	4 Wochen (Wechsellagerung im Kühlschrank und auf dem Gerät - 20-25 °C Umgebungstemperatur - insgesamt max. 20 Stunden geöffnet)

Probenentnahme und Vorbereitung
Nur die unten aufgeführten Proben wurden getestet und können verwendet werden.
Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen oder Röhrchen, die Trenngel enthalten.
Li-Heparin, K_3-EDTA und Na-Citrat-Plasma.
Hämolyse stört, da aus den Erythrozyten Insulin-abbauende Peptidasen freigesetzt werden.[6]
Bewertung: Wiederfindung 90-110 % des Serumwertes oder Steigung 0,9-1,1 + Achsenabschnitt < ± 2 x analytische Nachweisgrenze (LDL) + Korrelationskoeffizient > 0,95.
Haltbarkeit: 2-8 °C 24 Stunden, -20 °C 6 Monate. Nur 1 x einfrieren.[7]
Die genannten Probenarten wurden mit einer Auswahl der zum Zeitpunkt der Überprüfung im Markt vorhandenen Blutentnahmeröhrchen getestet. Der Test wurde daher nicht mit allen vorkommenden Blutentnahmeröhrchen aller Hersteller überprüft. Probenentnahmesysteme verschiedener Hersteller können unterschiedliche Materialien enthalten, welche im Einzelfall die Testergebnisse beeinflussen können. Bei Verwendung von Primärröhrchen (Probenentnahmesysteme) sind die Anweisungen des Herstellers zu beachten. Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor Durchführung des Tests zentrifugiert werden. Keine hitzeinaktivierten Proben verwenden. Keine mit Azid stabilisierten Proben und Kontrollen verwenden.
Es muss sichergestellt werden, dass die Temperatur der Patientenproben, Kalibratoren und Kontrollen zur Messung 20-25 °C beträgt.
Auf den Geräten befindliche Proben, Kontrollen und Kalibratoren sollten wegen möglicher Verdunstungseffekte innerhalb von 2 Stunden vermessen werden.

Gelieferte Materialien
Siehe “Reagenzien - gebrauchsfertige Lösungen”

Zusätzlich benötigte Materialien
- Best.-Nr. 12017504122, Insulin CalSet, für 4 x 1 mL
- Best.-Nr. 03609979190, PreciControl MultiAnalyte, für je 2 x 2 mL PreciControl MultiAnalyte 1 und 2 oder
  Best.-Nr. 11731416122, PreciControl Universal, für je 2 x 3 mL PreciControl Universal 1 und 2 oder
  Best.-Nr. 11731416190, PreciControl Universal, für je 2 x 3 mL PreciControl Universal 1 und 2
- Best.-Nr. 11731416160, PreciControl Universal, für je 2 x 3 mL PreciControl Universal 1 und 2 (für USA)
- Allgemein übliche Laborausrüstung
- Elecsys 1010/2010, MODULAR ANALYTICS E170 oder **cobas e** Gerät

Zubehör für Elecsys 1010/2010 und **cobas e** 411 Geräte:
- Best.-Nr. 11662988122, ProCell, 6 x 380 mL Systempuffer
- Best.-Nr. 11662970122, CleanCell, 6 x 380 mL Messzellen-Reinigungslösung
- Best.-Nr. 11930346122, Elecsys SysWash, 1 x 500 mL Zusatz zum Waschwasser
- Best.-Nr. 11933159001, Adapter für SysClean
- Best.-Nr. 11706829001, Elecsys 1010 AssayCup, 12 x 32 Reaktionsgefäße oder
  Best.-Nr. 11706802001, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 Reaktionsgefäße
- Best.-Nr. 11706799001, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 Pipettenspitzen

Zubehör für MODULAR ANALYTICS E170 und **cobas e** 601 Geräte:
- Best.-Nr. 04880340190, ProCell M, 2 x 2 L Systempuffer
- Best.-Nr. 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L Messzellen-Reinigungslösung
- Best.-Nr. 12135027190, CleanCell M, 1 x 2 L Messzellen-Reinigungslösung (für USA)
- Best.-Nr. 03023141001, PC/CC-Cups, 12 Gefäße zum Vortemperieren von ProCell M und CleanCell M
- Best.-Nr. 03005712190, ProbeWash M, 12 x 70 mL Reinigungslösung für den Runabschluss und zum Spülen bei Reagenzwechsel
- Best.-Nr. 12102137001, AssayTip/AssayCup Combimagazin M, 48 Magazine je 84 Reaktionsgefäße bzw. Pipettenspitzen, Abfallbeutel
- Best.-Nr. 03023150001, WasteLiner, Abfallbeutel
- Best.-Nr. 03027651001, SysClean Adapter M

Zubehör für alle Geräte:
- Best.-Nr. 11298500316, Elecsys SysClean, 5 x 100 mL System-Reinigungslösung

Nur in USA erhältlich:
- Best.-Nr. 12144085122, Elecsys Insulin CalCheck, für 3 Konzentrationsbereiche

Durchführung
Um eine einwandfreie Funktion des Tests sicherzustellen, sind die gerätespezifischen Anweisungen zu befolgen. Gerätespezifische Testanweisungen sind im entsprechenden Bedienungshandbuch zu finden. Das Aufmischen der Mikropartikel vor Gebrauch erfolgt automatisch. Testparameter über die auf den Reagenzien befindlichen Barcodes einlesen. Sollte in seltenen Ausnahmefällen der Barcode nicht gelesen werden können, ist die 15-stellige Zahlenfolge einzugeben.

MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 und **cobas e** Geräte: Gekühlt gelagerte Reagenzien vor Beladung auf ca. 20 °C temperieren und in den Reagenzrotor (20 °C) des Gerätes plazieren. Schaumbildung vermeiden! Temperieren, Öffnen und Schließen der Flaschen erfolgt **selbsttätig** im Gerät.

Elecsys 1010 Geräte: Gekühlt gelagerte Reagenzien auf ca. 20-25 °C temperieren und in den Proben-/Reagenzrotor (Umgebungstemperatur 20-25 °C) des Gerätes plazieren. Schaumbildung vermeiden! Flaschendeckel zum Gebrauch **manuell öffnen** und anschließend **manuell schließen**. Nach Gebrauch wieder bei 2-8 °C lagern.

Kalibration
Rückführbarkeit: Diese Methode wurde am 1. IRP WHO Referenzstandard 66/304 (NIBSC) standardisiert.
Jedes Elecsys Insulin Reagenz enthält einen Barcode mit der spezifischen Information zur Kalibration der Reagenzcharge. Die vorgegebene Masterkurve wird durch den Einsatz von Elecsys Insulin CalSet an das Gerät angepasst.

Kalibrationsfrequenz: Eine Kalibration muss einmal pro Charge mit frischem Reagenz erfolgen (maximal 24 Stunden nachdem die Reagenzpackung auf dem Gerät registriert wurde). Erneute Kalibration wird empfohlen:

MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 und **cobas e** Geräte:
- nach 1 Monat (28 Tagen) bei Einsatz der gleichen Reagenzcharge
- nach 7 Tagen (bei Einsatz der gleichen Reagenzpackung auf dem Gerät)

Elecsys 1010 Geräte:
- mit jeder Reagenzpackung
- nach 7 Tagen (Umgebungstemperatur 20-25 °C)
- nach 3 Tagen (Umgebungstemperatur 25-32 °C)

Für alle Geräte:
- bei Bedarf: z. B.: Qualitätskontrolle außerhalb der angegebenen Grenzen

Qualitätskontrolle
Zur Qualitätskontrolle sind Elecsys PreciControl MultiAnalyte 1 und 2 oder Elecsys PreciControl Universal 1 und 2 zu verwenden.
Andere geeignete Kontrollmaterialien können zusätzlich verwendet werden.
Die Kontrollen der verschiedenen Konzentrationsbereiche sind in Einfachbestimmung bei Gebrauch des Tests mindestens 1 x pro 24 Stunden, 1 x pro Reagenzpackung und anläßlich einer Kalibration mitzuführen. Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors anzupassen. Alle Ergebnisse müssen innerhalb der definierten Grenzen liegen.
Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen treffen für den Fall, dass Werte außerhalb der Grenzen liegen.
Bei der Qualitätskontrolle die entsprechenden Gesetzesvorgaben und Richtlinien beachten.

Insulin

Insulin

cobas®

Hinweis: Handelsübliche Kontrollen können Insulin tierischen Ursprungs enthalten. Bei der Beurteilung der Ergebnisse ist die entsprechende Kreuzreaktivität des vorliegenden Tests zu beachten; siehe “Spezifität (analytisch)”.

Berechnung
Das Gerät berechnet automatisch die Analytkonzentration jeder Probe wahlweise in µU/mL oder pmol/L

Umrechnungsfaktoren: µU/mL x 6,945 = pmol/L
pmol/L x 0,144 = µU/mL

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen
Der Test wird nicht beeinflusst durch Ikterus (Bilirubin < 1539 µmol/L bzw. < 90 mg/dL), Lipämie (Intralipid < 1800 mg/dL), Biotin < 246 nmol/L oder < 60 ng/mL.
Bewertung: Wiederfindung ± 10 % vom Ausgangswert. Hämolyse stört.
Bei Patienten unter Therapie mit hohen Biotin-Dosen (> 5 mg/Tag) sollte die Probenentnahme mindestens 8 Stunden nach der letzten Applikation erfolgen.
Es wurden keine Einflüsse durch Rheumafaktoren bis zu einer Konzentration von 18900 IU/mL beobachtet.
Kein High-dose Hook-Effekt bei Insulin-Konzentrationen bis 20000 µU/mL bzw. 138900 pmol/L.
20 häufig verwendete Pharmaka wurden in vitro getestet. Es konnten keine Störungen festgestellt werden.
Proben von Patienten, die mit Rinder-, Schweine- oder Humaninsulin behandelt wurden, enthalten ggf. anti-Insulin-Antikörper. Diese können die Testergebnisse beeinflussen.[2,8,9]
In seltenen Einzelfällen können Störungen durch extrem hohe Titer von Antikörpern gegen analyt-spezifische Antikörper (wie z.B. HAMA), Streptavidin sowie Ruthenium auftreten. Diese Einflüsse werden durch eine entsprechende Testanordnung minimiert.
Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Patientenvorgeschichte, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Messbereich
0,200-1000 µU/mL bzw. 1,39-6945 pmol/L (definiert durch die untere Nachweisgrenze und das Maximum der Masterkurve).
Werte unterhalb der Nachweisgrenze werden als < 0,200 µU/mL (< 1,39 pmol/L) angegeben. Werte oberhalb des Messbereichs werden als > 1000 µU/mL bzw. > 6945 pmol/L angegeben.

Verdünnung
Aufgrund des hohen Messbereichs nicht erforderlich.

Referenzbereich
Untersuchungen mit dem Elecsys Insulin Test in einem klinischen Zentrum in Deutschland aus Proben von 57 gesunden, nüchternen Personen ergaben für den 5.-95. Perzentilbereich:
2,6-24,9 µU/mL (17,8-173 pmol/L)

Status: Elecsys Insulin MCE an Elecsys 1010/2010 Geräten, Studie Nr.: B99P027 vom 29. März 2001.

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzwerte für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls selbst ermitteln.

Spezifische Leistungsdaten
Nachstehend werden repräsentative Leistungsdaten der Geräte aufgezeigt. Die Ergebnisse der einzelnen Labors können davon abweichen.

Präzision
Die Reproduzierbarkeit wurde mit Elecsys Reagenzien, gepoolten Humanseren und Kontrollen gemäß einem modifizierten Protokoll (EP5-A) des NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) bestimmt: 6-fach pro Tag über 10 Tage (n = 60); Präzision in der Serie auf dem MODULAR ANALYTICS E170, n = 21. Es wurden folgende Ergebnisse erzielt:

Elecsys 1010/2010 und **cobas e** 411 Geräte								
			Präzision in der Serie			**Gesamt-Präzision**		
Probe	MW		SD		VK	SD		VK
	µU/mL	pmol/L	µU/mL	pmol/L	%	µU/mL	pmol/L	%
HS[b] 1	6,36	44,2	0,12	0,83	1,9	0,16	1,11	2,6
HS 2	20,9	145	0,39	2,71	1,9	0,59	4,10	2,8
HS 3	747	5188	15,1	105	2,0	18,6	129	2,5
PC U[c]1	25,2	175	0,38	2,64	1,5	0,62	4,31	2,5
PC U2	88,3	613	1,53	10,6	1,7	1,87	13,0	2,1

b) HS = Humanserum
c) PC U = PreciControl Universal

MODULAR ANALYTICS E170 und **cobas e** 601 Geräte										
	Präzision in der Serie					**Gesamt-Präzision**				
Probe	MW		SD		VK	MW		SD		VK
	µU/mL	pmol/L	µU/mL	pmol/L	%	µU/mL	pmol/L	µU/mL	pmol/L	%
HS 1	5,93	41,2	0,09	0,62	1,5	6,85	47,6	0,34	2,33	4,9
HS 2	14,5	101	0,13	0,92	0,9	16,7	116	0,62	4,28	3,7
HS 3	49,9	346	0,58	4,05	1,2	55,1	383	1,86	12,9	3,4
HS 4	399	2768	3,32	23,1	0,8	425	2949	10,0	69,6	2,4
PC U1	26,9	187	0,19	1,34	0,7	22,5	156	1,03	7,17	4,6
PC U2	78,3	544	0,68	4,75	0,9	76,9	534	2,02	14,0	2,6

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze)
0,20 µU/mL (1,39 pmol/L)
Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren Analytkonzentration, die von Null unterschieden werden kann. Sie ist berechnet als die Konzentration, die zwei Standardabweichungen oberhalb des niedrigsten Standards liegt (Masterkalibrator, Standard 1 + 2 SD, Präzision in der Serie, n = 21).

Methodenvergleich
a) Ein Vergleich des Elecsys Insulin Tests (y) mit der Enzymun-Test Insulin Methode (x) in einem klinischen Patientenkollektiv ergab folgende Korrelationen (µU/mL):
Anzahl gemessener Proben: 99

Passing/Bablok[10]	Lineare Regression
y = 1,00x - 1,16	y = 0,92x + 0,59
τ = 0,844	r = 0,958

Die Probenkonzentrationen lagen zwischen ca. 3,9 und 80 µU/mL bzw. ca. 27 und 550 pmol/L.

b) Ein Vergleich des Elecsys Insulin Tests (y) mit einem handelsüblichen Insulin Test (x) in einem klinischen Patientenkollektiv ergab folgende Korrelationen (µU/mL):
Anzahl gemessener Proben: 99

Passing/Bablok[10]	Lineare Regression
y = 0,89x - 0,62	y = 0,93x - 1,02
τ = 0,935	r = 0,981

Die Probenkonzentrationen lagen zwischen ca. 1 und 118 µU/mL bzw. ca. 7 und 820 pmol/L.

Spezifität (analytisch)

Mit den verwendeten monoklonalen Antikörpern wurden im Test folgende Kreuzreaktionen ermittelt:

	eingesetzte Substanz	% Kreuzreaktivität
Rinderinsulin	17360 pmol/L	25,0
Schweineinsulin	8334 pmol/L	19,2
Humanes Proinsulin	1000 ng/mL	0,05
C-Peptid	100 ng/mL	n.n.[d]
Glucagon	1000 pg/mL	n.n.
Somatostatin	100 pg/mL	n.n.
Insulin-like growth factor I	6579 pmol/L	0,04

d) n.n. = nicht nachweisbar

Die Ergebnisse für die Kreuzreaktivität mit rekombinanten Insulinanalogen in mehreren Insulinmethoden wurden z.B. von zwei Gruppen in Frankreich und den USA veröffentlicht.[9,11,12] Die folgenden Ergebnisse wurden von Owen et al.[11] für den Elecsys Insulin Test veröffentlicht:
Insulin lispro, Insulin aspart und Insulin glargine wurden jeweils bei Konzentrationen von 30, 100, 300 und 1000 mIU/L bei Fehlen von Insulin getestet. Die Ergebnisse lagen bei allen getesteten Konzentrationen unter der Nachweisgrenze des Elecsys Insulin Tests (< 0,2 µU/mL bzw. < 1,39 pmol/L). Darüber hinaus korrelieren die Ergebnisse auch mit denen von Sapin et al. bereits veröffentlichen Ergebnissen für Insulin lispro.[9]

Literatur

1. Lang DA, Matthews DR, Peto J, Turner RC. Cyclic oscillations of basal plasma glucose and insulin concentrations in human beings. N Engl J Med 1979;301:1023-1027.
2. Fiedler H. Basiswissen Labordiagnostik: Diabetes mellitus und metabolisches Syndrom. Broschüre Roche Diagnostics 1999;14,67 Best.-Nr. 1951769.
3. Arnqvist H, Olsson PO, von Schenck H. Free and Total Insulin as Determined after Precipitation with Polyethylene Glycol: Analytical Characteristics and Effects of Sample Handling and Storage. Clin Chem 1987;33(1):93-96.
4. Gerbitz KD. Pankreatische B-Zellen Peptide: Kinetik und Konzentration von Proinsulin, Insulin und C-Peptid in Plasma und Urin, Probleme der Meßmethoden, klinische Aussage und Literaturübersicht. J Clin Chem Clin Biochem 1980;18(6):313-326.
5. Clark PM. Assays for insulin, proinsulin(s) and C-peptide. Ann Clin Biochem 1999;36(5):541-564.
6. Chevenne D, Letailleur A, Trivin F, Porquet D. Effect of Hemolysis on the Concentration of Insulin in Serum Determined by RIA and IRMA. Clin Chem 1998;44(2):354-356.
7. DG Klinische Chemie Mitteilungen 1995;26(5):207-224.
8. Tietz NW. Clinical Guide To Laboratory Tests. 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co, 1995:366-367.
9. Sapin R, Le Galudec V, Gasser F, Pinget M, Grucker D. Elecsys Insulin Assay: Free Insulin Determination and the Absence of Cross-Reactivity with Insulin Lispro. Clin Chem 2001;47:602-605.
10. Passing H, Bablok W, et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.
11. Owen WE, Roberts WL. Letter to the Editor: Cross-Reactivity of Three Recombinant Insulin Analogs with Five Commercial Insulin Immunoassays. Clin Chem 2004;50(1):257-259.
12. Sapin R. Review: Insulin Assays: Previously Known and New Analytical Features. Clin Lab 2003;49(3-4):113-121.

Weitergehende Informationen siehe Bedienungshandbuch des jeweiligen Gerätes, gerätespezifische Applikationsblätter, Produktinformationen und Packungsbeilagen aller erforderlichen Komponenten.

Signifikante Änderungen oder Ergänzungen sind durch eine Markierung am Rand gekennzeichnet. Änderungen, die bereits eingelesene Testparameter des Reagenzbarcodes betreffen, sind manuell einzugeben.

© 2009, Roche Diagnostics

CE

Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

Roche

Insulin

Insuline

cobas®

12017547 122 **100 tests**

• Réactifs utilisables sur les analyseurs suivants :

Elecsys 1010	Elecsys 2010	MODULAR ANALYTICS E170	**cobas e** 411	**cobas e** 601
•	•	•	•	•

Français

Domaine d'utilisation

Test immunologique pour la détermination quantitative *in vitro* de l'insuline humaine dans le sérum et le plasma humains. La détermination de l'insuline est utilisée pour le diagnostic et le traitement de différents troubles du métabolisme des hydrates de carbone, tels que le diabète sucré et l'hypoglycémie.
Ce test par électrochimiluminescence « ECLIA » s'utilise sur les analyseurs Elecsys et **cobas e**.

Caractéristiques[1,2,3,4,5]

L'insuline est une hormone peptidique d'un poids moléculaire d'env. 6000 Da. Elle est sécrétée dans les cellules B du pancréas, passe dans le sang de la veine porte et est dégradée dans le foie. L'insuline est libérée par pulses en un cycle qui est normalement précédé de celui du glucose d'env. 2 minutes.[1]
L'insuline est une molécule composée de deux chaînes polypeptides, α et β, comprenant respectivement 21 et 30 acides aminés. L'hormone est synthétisée dans les cellules β des îlots de Langerhans sous la forme d'un peptide monocaténaire, la préproinsuline, aussitôt scindée en proinsuline. Celle-ci est scindée à son tour par des protéases spécifiques en deux parties, l'insuline et le peptide C qui passent simultanément dans le sang. Environ la moitié de l'insuline est retenue dans le foie ; le peptide C, en revanche, n'y est retenu qu'en quantité infime. L'insuline circulante est éliminée dans le foie avec une demi-vie de 3 à 5 minutes, tandis que l'inactivation et l'élimination de la proinsuline et du peptide C se font au niveau des reins.
La séquence d'acides aminés de l'insuline est restée singulièrement constante au cours de l'évolution, ce qui a permis, avant le développement de l'insuline par génie génétique, d'utiliser avec succès les insulines de bœuf et de porc dans le traitement du diabète sucré.[2]
L'effet de l'insuline est favorisé par des récepteurs cellulaires spécifiques et consiste en premier lieu à faciliter l'assimilation des sucres par les cellules hépatiques, lipidiques et musculaires en diminuant le taux de glucose dans le sang.
Le dosage de l'insuline dans le sérum est essentiellement effectué chez des patients présentant des symptômes d'hypoglycémie. Les résultats servent à calculer le rapport glucose/insuline et à élucider les questions concernant la sécrétion insulinique lors, par exemple, de tests au tolbutamide et au glucagon ou pour l'évaluation de la tolérance orale au glucose ou lors de test de provocation de la faim.
Bien que la capacité fonctionnelle de synthèse de l'insuline du pancréas soit fréquemment évaluée en dosant le peptide C, on ne peut généralement renoncer au dosage de l'insuline. L'administration d'insulines non d'origine humaine, par exemple, peut favoriser la formation d'anticorps anti-insuline. Dans ce cas, la concentration en insuline dans le sérum reflète la quantité d'insuline libre et donc biologiquement active de l'hormone, alors que la détermination du peptide C représente la sécrétion totale d'insuline endogène du patient.[3,4]
Toute perturbation de la fonction insulinique a une influence massive sur de nombreux processus métaboliques. Une diminution de la concentration de l'insuline libre, biologiquement active, peut conduire à l'installation d'une forme de diabète sucré. Celle-ci peut résulter d'une destruction des cellules β des îlots de Langerhans (diabète insulino-dépendant, type I), d'une altération de l'efficacité de l'insuline ou d'une diminution de la capacité de sécrétion du pancréas (diabète non insulino-dépendant, type II), de la présence d'anticorps anti-insuline dans le sang, du tarissement de la sécrétion d'insuline ou de l'absence ou l'insuffisance de récepteurs à l'insuline.
Par ailleurs, tout dérèglement de la sécrétion autonome d'insuline est généralement responsable d'hypoglycémie. Celle-ci résulte d'une inhibition de la glyconéogénèse qui peut être due à une insuffisance rénale ou hépatique graves, une tumeur insulaire (insulinome) ou un carcinome. Une hypoglycémie peut également être provoquée ou réactionnelle (hypoglycémie factice).
Chez 3 % des sujets présentant une tolérance au glucose réduite, l'état métabolique évolue à long terme vers une forme de diabète sucré. Lors de la grossesse, toute réduction de la tolérance au glucose nécessite un traitement. En raison du risque accru de mortalité du fœtus, la surveillance des femmes concernées est de rigueur.
Le test Elecsys Insulin utilise deux anticorps monoclonaux dont l'interaction est spécifique de l'insuline humaine.

Principe

Méthode « sandwich ». Durée totale du cycle analytique : 18 minutes

- 1ère incubation : dans une prise d'essai de 20 µL, l'échantillon est mis en présence d'un anticorps monoclonal anti-insuline spécifique biotinylé et d'un anticorps monoclonal anti-insuline spécifique marqué au ruthénium.[a] Il se forme un « sandwich ».
- 2e incubation : les microparticules tapissées de streptavidine sont ajoutées dans la cuvette réactionnelle. Le complexe immunologique est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine-biotine.
- Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de ProCell. Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.
- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. Celle-ci est générée, pour l'analyseur utilisé, par une calibration en 2 points et une courbe de référence mémorisée dans le code-barres du réactif.

a) $Ru(bpy)_3^{2+}$: Tris(2,2'-bipyridyl)ruthénium(II)

Réactifs - composition et concentrations

M Microparticules tapissées de streptavidine, 1 flacon contenant 6,5 mL (bouchon transparent) :
microparticules tapissées de streptavidine 0,72 mg/mL, conservateur

R1 Ac anti-insuline~biotine (bouchon gris), 1 flacon contenant 10 mL :
anticorps monoclonaux (de souris) anti-insuline biotinylés 1 mg/L ;
tampon MES 50 mmol/L, pH 6,0 ; conservateur

R2 Ac anti-insuline~$Ru(bpy)_3^{2+}$ (bouchon noir), 1 flacon contenant 10 mL :
anticorps monoclonaux (de souris) anti-insuline marqués au ruthénium 1,75 mg/L ; tampon MES 50 mmol/L, pH 6,0 ; conservateur

Précautions d'emploi et mises en garde

Pour diagnostic *in vitro*
Observer les précautions habituelles de manipulation en laboratoire.
L'élimination de tous les déchets doit être effectuée conformément aux dispositions légales.
Fiche de sécurité disponible sur demande pour les professionnels.
Éviter la formation de mousse dans les réactifs et les échantillons de tous types (échantillons de patients, calibrateurs et contrôles).

Préparation des réactifs

Les réactifs contenus dans le coffret sont prêts à l'emploi et ne peuvent être utilisés séparément.
Toutes les informations nécessaires au déroulement du test sont mémorisées sur le code-barres des flacons de réactifs et doivent être saisies.

Conservation et stabilité

Conservation entre 2 et 8 °C.
Ranger le coffret Elecsys Insulin **en position verticale**, de manière à ce que toutes les microparticules soient rassemblées lors de l'homogénéisation qui précède l'analyse.
Stabilité :

Avant ouverture, entre 2 et 8 °C	jusqu'à la date de péremption indiquée
Après ouverture, entre 2 et 8 °C	12 semaines
Sur MODULAR ANALYTICS E170 et **cobas e** 601	4 semaines
Sur Elecsys 2010 et **cobas e** 411	4 semaines
Sur Elecsys 1010	4 semaines (conservation alternée au réfrigérateur et dans l'appareil entre 20 et 25 °C, flacons ouverts au maximum 20 heures).

cobas®

Prélèvement et préparation des échantillons
Seuls les types d'échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés :
Sérum recueilli sur tubes de prélèvement standard ou contenant un gel séparateur.
Plasma recueilli sur héparinate de lithium, EDTA tripotassique et citrate de sodium.
L'hémolyse est gênante du fait de la catalyse de l'insuline par des peptidases libérées des érythrocytes.[6]
Critère d'acceptabilité : recouvrement entre 90 et 110 % de la valeur du sérum ou pente entre 0,9 et 1,1 + ordonnée à l'origine < ± 2 x limite de détection + coefficient de corrélation > 0,95.
Stabilité : 24 heures entre 2 et 8 °C, 6 mois à -20 °C. Ne congeler qu'une fois.[7]
Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test : les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.
Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse. Ne pas utiliser d'échantillons inactivés par la chaleur. Les échantillons ou contrôles stabilisés par de l'azide ne doivent pas être utilisés.
S'assurer avant l'analyse que la température des échantillons, des calibrateurs et des contrôles se situe entre 20 et 25 °C.
En raison des risques d'évaporation, il est recommandé de doser les échantillons, les contrôles et les calibrateurs dans les 2 heures qui suivent leur mise en place sur les analyseurs.

Matériel fourni
Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Matériel auxiliaire nécessaire
- Réf. 12017504122, Insulin CalSet, pour 4 x 1 mL
- Réf. 03609979190, PreciControl MultiAnalyte : PreciControl MultiAnalyte 1 pour 2 x 2 mL et PreciControl MultiAnalyte 2 pour 2 x 2 mL ou
  Réf. 11731416122, PreciControl Universal : PreciControl Universal 1 pour 2 x 3 mL et PreciControl Universal 2 pour 2 x 3 mL ou
  Réf. 11731416190, PreciControl Universal : PreciControl Universal 1 pour 2 x 3 mL et PreciControl Universal 2 pour 2 x 3 mL
- Réf. 11731416160, PreciControl Universal : PreciControl Universal 1 pour 2 x 3 mL et PreciControl Universal 2 pour 2 x 3 mL (pour les USA)
- Equipement habituel de laboratoire
- Analyseur Elecsys 1010/2010, MODULAR ANALYTICS E170 ou **cobas e**

Matériel auxiliaire pour les analyseurs Elecsys 1010/2010 et **cobas e** 411 :
- Réf. 11662988122, ProCell, 6 x 380 mL, tampon système
- Réf. 11662970122, CleanCell, 6 x 380 mL, solution de lavage pour la cellule de mesure
- Réf. 11930346122, Elecsys SysWash, 1 x 500 mL, additif à la solution de lavage
- Réf. 11933159001, Adaptateur pour SysClean
- Réf. 11706829001, Elecsys 1010 AssayCup, 12 x 32 cuvettes réactionnelles ou
  Réf. 11706802001, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 cuvettes réactionnelles
- Réf. 11706799001, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 embouts de pipette

Matériel auxiliaire pour les analyseurs MODULAR ANALYTICS E170 et **cobas e** 601 :
- Réf. 04880340190, ProCell M, 2 x 2 L, solution tampon du système
- Réf. 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L, solution de lavage pour la cellule de mesure
- Réf. 12135027190, CleanCell M, 1 x 2 L, solution de lavage pour la cellule de mesure (pour les USA)
- Réf. 03023141001, PC/CC-Cups, 12 godets pour la thermorégulation de ProCell M et CleanCell M avant emploi
- Réf. 03005712190, ProbeWash M, 12 x 70 mL, solution de lavage de l'aiguille en fin de série et entre les changements de réactifs
- Réf. 12102137001, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 blocs de 84 tubes à essai/embouts de pipettes, sacs pour déchets
- Réf. 03023150001, WasteLiner (sacs pour déchets)
- Réf. 03027651001, SysClean Adapter M, adaptateur pour SysClean

Pour tous les analyseurs :
- Réf. 11298500316, Elecsys SysClean, 5 x 100 mL, solution de lavage du système

Disponible uniquement aux Etats-Unis :
- Réf. 12144085122, Elecsys Insulin CalCheck à trois niveaux de concentration

Réalisation du test
Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans la présente notice. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.
L'analyseur effectue automatiquement l'homogénéisation des microparticules. Les informations spécifiques du test mémorisées dans le code-barres doivent être saisies. Si, exceptionnellement, le code-barres ne peut être lu par l'appareil, saisir manuellement la série des 15 chiffres inscrits sur l'étiquette.

Analyseurs MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 et **cobas e** : amener les réactifs réfrigérés à env. 20 °C avant le chargement et les placer dans le plateau réactifs de l'appareil thermostaté à 20 °C. Eviter la formation de mousse. L'analyseur **gère** le contrôle de la température, l'ouverture et la fermeture des flacons.

Analyseur Elecsys 1010 : amener les réactifs réfrigérés à env. 20-25 °C et les placer dans le plateau réactifs/échantillons de l'analyseur (thermostaté entre 20 et 25 °C). Eviter la formation de mousse. **Ouvrir** les flacons avant la mise en route de l'analyseur, puis les **refermer**. Les replacer au réfrigérateur entre 2 et 8 °C après usage.

Calibration
Traçabilité : la méthode a été standardisée par rapport à la première préparation internationale : 1st IRP WHO Reference Standard 66/304 (NIBSC).
Le code-barres des réactifs Elecsys Insulin contient toutes les informations nécessaires à la calibration du lot. La courbe de référence est adaptée à l'analyseur à l'aide des calibrateurs Elecsys Insulin CalSet.

Fréquence des calibrations : effectuer une calibration par lot en utilisant du réactif frais (ayant été enregistré depuis au maximum 24 heures sur l'analyseur). Une nouvelle calibration est recommandée :

Analyseurs MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 et **cobas e** :
- après 1 mois (28 jours) pour un même lot de réactif
- après 7 jours pour un même flacon de réactif resté sur l'analyseur

Analyseur Elecsys 1010 :
- à chaque nouveau coffret
- après 7 jours (température ambiante entre 20 et 25 °C)
- après 3 jours (température ambiante entre 25 et 32 °C)

Pour tous les analyseurs :
- quand elle s'avère nécessaire : par ex. si les résultats du contrôle de qualité se situent en dehors des limites de confiance.

Contrôle de qualité
Utiliser Elecsys PreciControl MultiAnalyte 1 et 2 ou
Elecsys PreciControl Universal 1 et 2.
D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés.
Il est recommandé de doser les sérums de contrôle en simple au moins une fois toutes les 24 heures pendant une routine, pour chaque nouveau coffret et lors d'une calibration. La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies.
Chaque laboratoire devra établir les mesures correctives à suivre si les résultats se situent en dehors de ces limites.
Se conformer à la réglementation gouvernementale et aux directives locales en vigueur relatives au contrôle de qualité.
Remarque : certains matériaux de contrôle du commerce peuvent contenir de l'insuline d'origine animale. Pour l'interprétation des résultats, tenir compte des réactions croisées observées (voir« Spécificité analytique »).

Calcul des résultats
L'analyseur calcule automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon. Les résultats sont exprimés au choix en µU/mL ou en pmol/L.

Insulin

Insuline

cobas®

Facteurs de conversion : µU/mL x 6,945 = pmol/L
pmol/L x 0,144 = µU/mL

Limites d'utilisation - interférences

Le test n'est pas influencé par l'ictère (bilirubine < 1539 µmol/L ou < 90 mg/dL), la lipémie (Intralipid < 1800 mg/dL) et la biotine (< 246 nmol/L ou < 60 ng/mL). Critère d'acceptabilité : recouvrement ± 10 % par rapport à la valeur initiale L'hémolyse est gênante.
Chez les patients traités par de fortes doses de biotine (> 5 mg/jour), il est recommandé d'effectuer le prélèvement de l'échantillon au moins 8 heures après la dernière administration.
Le résultat n'est pas influencé par le facteur rhumatoïde jusqu'à 18900 UI/mL. On n'a pas observé d'effet crochet jusqu'à 20000 µU d'insuline/mL (138900 pmol/L).
L'influence de 20 médicaments fréquemment administrés a été recherchée *in vitro* : aucune interférence n'a été observée.
Les échantillons de patients traités avec de l'insuline bovine, porcine ou humaine peuvent contenir des anticorps anti-insuline susceptibles d'influencer les résultats du test.[2,8,9]
Dans de très rares cas, des titres très élevés d'anticorps dirigés contre des anticorps spécifiques de l'analyte (HAMA par ex.), des anticorps anti-streptavidine ou anti-ruthénium peuvent conduire à des interférences. Ces effets sont minimisés dans le test par un procédé approprié.
Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

Domaine de mesure

0,200-1000 µU/mL ou 1,39-6945 pmol/L (défini par la limite de détection et le maximum de la courbe de référence). Les taux situés au-dessous de la limite de détection sont exprimés de la manière suivante : < 0,200 µU/mL (< 1,39 pmol/L), les taux situés au-dessus de la limite de détection de la manière suivante : > 1000 µU/mL (> 6945 pmol/L).

Dilution des échantillons

Etant donné l'étendue du domaine de mesure, une dilution des échantillons n'est pas nécessaire.

Valeurs de référence

Des études réalisées avec le test Elecsys Insulin dans un centre hospitalier d'Allemagne à partir des échantillons de 57 sujets sains à jeun (5e-95e percentile) a conduit à l'obtention des résultats suivants :
2,6-24,9 µU/mL (17,8-173 pmol/L)

Source : Elecsys Insulin MCE sur les analyseurs Elecsys 1010/2010, étude B99P027, 29 mars 2001.

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir au besoin ses propres domaines de référence selon la population examinée.

Performances analytiques

Les performances analytiques indiquées ci-dessous sont représentatives. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision

La reproductibilité a été déterminée à l'aide de réactifs Elecsys, de pools de sérum humain et de contrôles, selon un protocole modifié (EP5-A) du NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Chaque échantillon a été analysé 6 fois par jour pendant 10 jours (n = 60) ; précision intra-série sur l'analyseur MODULAR ANALYTICS E170, n = 21. Les résultats suivants ont été obtenus :

Analyseurs Elecsys 1010/2010 et **cobas e** 411								
			Précision intra-série			**Précision totale**		
Echant.	Moyenne		SD		CV	SD		CV
	µU/mL	pmol/L	µU/mL	pmol/L	%	µU/mL	pmol/L	%
SH[b] 1	6,36	44,2	0,12	0,83	1,9	0,16	1,11	2,6
SH 2	20,9	145	0,39	2,71	1,9	0,59	4,10	2,8
SH 3	747	5188	15,1	105	2,0	18,6	129	2,5
PC U[c]1	25,2	175	0,38	2,64	1,5	0,62	4,31	2,5
PC U2	88,3	613	1,53	10,6	1,7	1,87	13,0	2,1

b) SH = Sérum humain
c) PC U = PreciControl Universal

Analyseurs MODULAR ANALYTICS E170 et **cobas e** 601										
	Précision intra-série					**Précision totale**				
Echant.	Moyenne		SD		CV	Moyenne		SD		CV
	µU/mL	pmol/L	µU/mL	pmol/L	%	µU/mL	pmol/L	µU/mL	pmol/L	%
SH 1	5,93	41,2	0,09	0,62	1,5	6,85	47,6	0,34	2,33	4,9
SH 2	14,5	101	0,13	0,92	0,9	16,7	116	0,62	4,28	3,7
SH 3	49,9	346	0,58	4,05	1,2	55,1	383	1,86	12,9	3,4
SH 4	399	2768	3,32	23,1	0,8	425	2949	10,0	69,6	2,4
PC U1	26,9	187	0,19	1,34	0,7	22,5	156	1,03	7,17	4,6
PC U2	78,3	544	0,68	4,75	0,9	76,9	534	2,02	14,0	2,6

Sensibilité analytique (limite inférieure de détection)

0,20 µU/mL (1,39 pmol/L)
La limite de détection correspond au plus faible taux d'analyte mesurable pouvant être distingué de zéro. Elle est obtenue par le calcul et représente la concentration du standard le plus faible de la courbe de référence + 2 écarts-type (calibrateur de référence, standard 1 + 2SD, précision intra-série, n = 21).

Comparaison de méthodes

a) Une comparaison entre les tests Elecsys Insulin (y) et Enzymun-Test Insulin (x), effectuée sur des échantillons cliniques, a permis d'établir les corrélations suivantes (en µU/mL) :
Nombre d'échantillons analysés : 99

Passing/Bablok[10]	Régression linéaire
y = 1,00x - 1,16	y = 0,92x + 0,59
τ = 0,844	r = 0,958

Les concentrations des échantillons étaient situées entre env. 3,9 et 80 µU/mL (env. 27 et 550 pmol/L).

b) Une comparaison du test Elecsys Insulin (y) avec un test de détermination de l'insuline du commerce (x), effectuée sur des échantillons cliniques, a permis d'établir les corrélations suivantes (en µU/mL) :
Nombre d'échantillons analysés : 99

Passing/Bablok[10]	Régression linéaire
y = 0,89x - 0,62	y = 0,93x - 1,02
τ = 0,935	r = 0,981

Les concentrations des échantillons étaient situées entre env. 1 et 118 µU/mL (env. 7 et 820 pmol/L).

Spécificité analytique

Les anticorps monoclonaux utilisés présentent les réactions croisées suivantes :

	Substances testées	Réactions croisées (%)
Insuline bovine	17360 pmol/L	25,0
Insuline porcine	8334 pmol/L	19,2
Proinsuline humaine	1000 ng/mL	0,05
Peptide C	100 ng/mL	ND[d]
Glucagon	1000 pg/mL	ND
Somatostatine	100 pg/mL	ND
Insulin-like growth factor I	6579 pmol/L	0,04

d) ND = non détectable

Les résultats de la réactivité croisée avec des analogues de l'insuline d'origine recombinante dans un certain nombre de méthodes de mesure de l'insuline ont été publiés, par exemple par deux groupes en France et aux Etats-Unis.[9,11,12] Les résultats suivants ont été publiés par Owen et coll.[11] pour le test Elecsys Insulin :
L'insuline lispro, l'insuline aspart et l'insuline glargine ont été testées à des concentrations de 30, 100, 300 et 1000 mUI/L chacune, en l'absence d'insuline. Les résultats obtenus étaient inférieurs à la limite de détection du test Elecsys Insulin (< 0,2 µU/mL ou < 1,39 pmol/L) à toutes les concentrations testées.
Ces résultats sont en corrélation avec ceux précédemment publiés par Sapin et coll. pour l'insuline lispro.[9]

cobas®

Références

1. Lang DA, Matthews DR, Peto J, Turner RC. Cyclic oscillations of basal plasma glucose and insulin concentrations in human beings. N Engl J Med 1979;301:1023-1027.
2. Fiedler H. Basiswissen Labordiagnostik: Diabetes mellitus und metabolisches Syndrom. Brochure Roche Diagnostics 1999;14,67, Réf. 1951769.
3. Arnqvist H, Olsson PO, von Schenck H. Free and Total Insulin as Determined after Precipitation with Polyethylene Glycol: Analytical Characteristics and Effects of Sample Handling and Storage. Clin Chem 1987;33(1):93-96.
4. Gerbitz KD. Pankreatische B-Zellen Peptide: Kinetik und Konzentration von Proinsulin, Insulin und C-Peptid in Plasma und Urin, Probleme der Meßmethoden, klinische Aussage und Literaturübersicht. J Clin Chem Clin Biochem 1980;18(6):313-326.
5. Clark PM. Assays for insulin, proinsulin(s) and C-peptide. Ann Clin Biochem 1999;36(5):541-564.
6. Chevenne D, Letailleur A, Trivin F, Porquet D. Effect of Hemolysis on the Concentration of Insulin in Serum Determined by RIA and IRMA. Clin Chem 1998;44(2):354-356.
7. DG Klinische Chemie Mitteilungen 1995;26(5):207-224.
8. Tietz NW. Clinical Guide To Laboratory Tests. 3e édition. Philadelphie, Pa: WB Saunders Co, 1995:366-367.
9. Sapin R, Le Galudec V, Gasser F, Pinget M, Grucker D. Elecsys Insulin Assay: Free Insulin Determination and the Absence of Cross-Reactivity with Insulin Lispro. Clin Chem 2001;47:602-605.
10. Passing H, Bablok W, et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.
11. Owen WE, Roberts WL. Lettre à l'éditeur: Cross-Reactivity of Three Recombinant Insulin Analogs with Five Commercial Insulin Immunoassays. Clin Chem 2004;50(1):257-259.
12. Sapin R. Review: Insulin Assays: Previously Known and New Analytical Features. Clin Lab 2003;49(3-4):113-121.

Pour de plus amples informations, se référer au manuel de l'opérateur de l'analyseur utilisé, aux fiches techniques respectives, au dossier « Product Information » et aux notices d'utilisation de tous les réactifs nécessaires.

Les modifications importantes par rapport à la version précédente sont signalées par une barre verticale dans la marge. Les modifications concernant les données contenues dans le code-barres doivent être saisies manuellement.

© 2009, Roche Diagnostics

CE

Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

Roche

Insulin

Insulina

cobas®

12017547 122 **100 tests**

• Indica los analizadores en los cuales puede utilizarse el estuche

Elecsys 1010	Elecsys 2010	MODULAR ANALYTICS E170	**cobas e** 411	**cobas e** 601
•	•	•	•	•

Español

Uso previsto

Test inmunológico in vitro para la determinación cuantitativa de la insulina humana en suero y plasma humanos. La determinación de la insulina se emplea en el diagnóstico y tratamiento de diversas disfunciones del metabolismo de carbohidratos incluyendo la diabetes melitus y la hipoglucemina.
Este inmunoensayo "ECLIA" (**e**le**c**trochemi**l**uminescence **i**mmuno**a**ssay) de electroquimioluminiscencia está concebido para ser utilizado en los inmunoanalizadores Elecsys y **cobas e**.

Características[1,2,3,4,5]

La insulina es una hormona peptídica con un peso molecular de aprox. 6000 daltons secretada por las células beta del páncreas. Se incorpora a la circulación sanguínea pasando por el sistema portahipofisario y el hígado. La liberación de insulina tiene lugar regularmente de forma pulsátil y está precedida en aprox. 2 minutos por el ciclo correlativo de la glucosa.[1]
La molécula de insulina está compuesta por dos cadenas polipeptídicas: la cadena α de 21 aminoácidos y la cadena β de 30. La biosíntesis de la hormona tiene lugar en las células beta de los islotes de Langerhans en forma de pre-proinsulina monocatenaria que se desdobla inmediatamente a proinsulina. La proinsulina se desdobla por acción de proteinasas específicas a insulina y un péptido C, que se incorporan simultáneamente al caudal sanguíneo. Al hacerlo, aprox. la mitad de la insulina sintetizada y una cantidad ínfima de péptido C son retenidas en el hígado. La insulina circulante se degrada mástermente en el hígado con una vida media biológica de 3-5 minutos, mientras que la inactivación o eliminación de proinsulina y péptido C tienen lugar preferentemente en los riñones.
La secuencia de aminoácidos de la insulina ha permanecido sorprendentemente constante en la evolución permitiendo, antes del desarrollo de insulina humana por ingeniería genética, la aplicación exitosa de insulina bovina y porcina en el tratamiento de la diabetes mellitus.[2]
La acción de la insulina se transmite por receptores específicos y consiste en primer lugar en facilitar la absorción de azúcar por las células hepáticas, las del tejido adiposo y las de la musculatura, lo cual constituye la base de su efecto reductor de la glucemia.
La determinación de insulina en suero se aplica mástermente en pacientes que presentan una sintomatología de hipoglucemia con el objeto de averiguar el cociente glucosa/insulina, así como para aclarar cuestiones concernientes a la secreción de insulina, como p. ej. en el test de tolbutamida o la prueba de glucagón, o bien para evaluar pruebas orales de tolerancia de glucosa o de provocación de hambre.
Aunque la aptitud del páncreas para sintetizar insulina se evalua frecuentemente mediante la determinación del péptido C, tampoco entonces puede prescindirse de la determinación de insulina. Así, por ejemplo, la administración terapéutica de insulinas de origen no humano puede ocasionar la formación de anticuerpos antiinsulina. En ese caso, la concentración de insulina en suero indica la cantidad de hormona libre y biológicamente eficaz, mientras que la determinación de péptido C representa la secreción total de insulina endógena del paciente.[3,4]
Un trastorno en el metabolismo de la insulina influye masivamente en numerosos procesos metabólicos. Cuando la concentración de insulina libre biológicamente activa es demasiado pequeña, puede generarse una diabetes mellitus. Sus causas pueden ser por ejemplo, la destrucción de las células β (diabetes de tipo I), una disminución en la efectividad de la insulina o en la capacidad de síntesis del páncreas (diabetes de tipo II), la existencia de anticuerpos antiinsulina circulantes, la liberación retardada de la insulina o bien la carencia o insuficiencia de receptores de insulina.
Por otra parte, la hipoglucemia se debe frecuentemente a una secreción de insulina autónoma e irregular. Este estado se produce por la inhibición de la gluconeogénesis, por ejemplo como consecuencia de una insuficiencia hepática o renal grave, de un adenoma insular o de un carcinoma. La hipoglucemia también puede provocarse consciente o inconscientemente (hypoglycaemia factitia).
El metabolismo del 3 % de las personas con una tolerancia reducida a la glucosa empeora con el paso del tiempo en sentido de una diabetes mellitus. Una reducción en la tolerancia a la glucosa durante el embarazo siempre requiere tratamiento. En esos casos, el riesgo de mortandad fetal claramente elevado hace necesaria una monitorización intensiva.
El test Elecsys Insulin emplea dos anticuerpos monoclonales de interacción específica para la insulina humana.

Principio del test

Técnica sándwich con una duración total de 18 minutos.

- 1ª incubación: La insulina de 20 µL de muestra, un anticuerpo monoclonal biotinilado específico anti-insulina y un anticuerpo monoclonal específico anti-insulina marcado con quelato de rutenio[a] forman un complejo sándwich.
- 2ª incubación: Después de incorporar las micropartículas recubiertas de estreptavidina, el complejo formado se fija a la fase sólida por interacción entre la biotina y la estreptavidina.
- La mezcla de reacción es trasladada a la célula de lectura donde, por magnetismo, las micropartículas se fijan temporalmente a la superficie del electrodo. Los elementos no fijados se eliminan posteriormente con el reactivo ProCell. Al aplicar una corriente eléctrica definida se produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide directamente con un fotomultiplicador.
- Los resultados se obtienen mediante una curva de calibración generada por el sistema a partir de una calibración a 2 puntos y una curva máster incluida en el código de barras del reactivo.

a) [Quelato Tris (2-2'-bipiridina) rutenio (II)] $(Rubpy)_3^{2+}$

Reactivos - Soluciones de trabajo

M Micropartículas recubiertas de estreptavidina (tapa transparente), 1 frasco, 6,5 mL:
Micropartículas recubiertas de estreptavidina: 0,72 mg/mL; conservante.

R1 Anticuerpo anti-insulina~biotina (tapa gris), 1 frasco, 10 mL:
Anticuerpo monoclonal biotinilado anti-insulina (ratón) 1 mg/L, tampón MES 50 mmol/L, pH 6,0; conservante.

R2 Anticuerpo anti-insulina~$Ru(bpy)_3^{2+}$ (tapa negra), 1 frasco, 10 mL:
Anticuerpo monoclonal anti-insulina (ratón) marcado con quelato de rutenio 1,75 mg/L; tampón MES 50 mmol/L, pH 6,0; conservante.

Medidas de precaución y advertencias

Sólo para el uso diagnóstico in vitro.
Observe las medidas de precaución usuales para la manipulación de reactivos.
Eliminar los residuos según las normas locales vigentes.
Ficha de datos de seguridad a la disposición del usuario profesional que la solicite.
Evite la formación de espuma en reactivos y muestras de todo tipo (especímenes, calibradores y controles).

Preparación de los reactivos

Los reactivos incluidos en el estuche están listos para el uso y forman una unidad inseparable.
La información necesaria para el correcto funcionamiento se introduce en el analizador a través de los códigos de barras de los reactivos.

Conservación y estabilidad

Conservar a 2-8 °C.
Conservar el estuche de reactivos Elecsys Insulin **en posición vertical** para garantizar la disponibilidad total de las micropartículas durante la mezcla automática antes del uso.

Estabilidad:

en frasco cerrado, a 2-8 °C	hasta la fecha de caducidad indicada
una vez abierto, a 2-8 °C	12 semanas
en los analizadores MODULAR ANALYTICS E170 y **cobas e** 601	4 semanas
en los analizadores Elecsys 2010 y **cobas e** 411	4 semanas
en el analizador Elecsys 1010	4 semanas (conservación alternada en nevera y en el analizador, temperatura ambiente de 20-25 °C, abierto: como máx. 20 horas en total)

Obtención y preparación de las muestras
Sólo se ha analizado y considerado apto el tipo de muestras aquí indicado. Suero recogido en tubos estándar de muestra o tubos conteniendo gel de separación.
Plasma con heparina de litio, EDTA tripotásico y citrato sódico.
La hemólisis interfiere en el test, ya que los eritrocitos liberan entonces las peptidasas que degradan la insulina.[6]
Criterio: Recuperación dentro de 90-110 % del valor sérico o bien, la pendiente de 0,9-1,1 + intersección dentro de < ± 2 veces la sensibilidad analítica (LID) + coeficiente de correlación > 0,95.
Estabilidad: 24 horas a 2-8 °C, 6 meses a -20 °C. Congelar sólo una vez.[7]
El tipo de muestras al que se hace referencia fue analizado con tubos de recogida de muestras seleccionados, comercializados en el momento de efectuar el análisis, sin haber empleado la totalidad de los tubos existentes de todos los fabricantes. Los sistemas de recogida de muestras de diversos fabricantes pueden contener materiales diferentes que, en ciertos casos, llegan a afectar los resultados analíticos. Si las muestras se procesan en tubos primarios (en sistemas de recogida de muestras), aténgase a las instrucciones del fabricante de los tubos.
Centrifugue las muestras que contengan precipitado antes de efectuar la prueba. No emplee muestras inactivadas por calor. No utilice muestras ni controles estabilizados con azida.
Se debe garantizar una temperatura de 20-25 °C para la medición de muestras de pacientes, calibradores y controles.
Debido a posibles efectos de evaporación, determinar las muestras, controles y calibradores dentro de un lapso de 2 horas.

Material suministrado
Consultar la sección "Reactivos – Soluciones de trabajo" en cuanto a los reactivos suministrados.

Material requerido adicionalmente (no suministrado)
- Ref. 12017504122, Insulin CalSet, para 4 x 1 mL
- Ref. 03609979190, PreciControl MultiAnalyte, para 2 x 2 mL de PreciControl MultiAnalyte 1 e 2 c/u o
  Ref. 11731416122, PreciControl Universal, para 2 x 3 mL de PreciControl Universal 1 e 2 c/u o
  Ref. 11731416190, PreciControl Universal, para 2 x 3 mL de PreciControl Universal 1 e 2 c/u
- Ref. 11731416160, PreciControl Universal, para 2 x 3 mL de PreciControl Universal 1 y 2 c/u (para los EE.UU.)
- Equipo de laboratorio usual
- Analizadores Elecsys 1010/2010, MODULAR ANALYTICS E170 y **cobas e**

Material adicional para los analizadores Elecsys 1010/2010 y **cobas e** 411:
- Ref. 11662988122, ProCell, 6 x 380 mL de tampón del sistema
- Ref. 11662970122, CleanCell, 6 x 380 mL de solución detergente para la célula de lectura
- Ref. 11930346122, Elecsys SysWash, 1 x 500 mL de aditivo para el agua de lavado
- Ref. 11933159001, Adaptador para SysClean
- Ref. 11706829001, Elecsys 1010 AssayCup, 12 x 32 tubos de ensayo, o bien
  Ref. 11706802001, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 tubos de ensayo
- Ref. 11706799001, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 puntas de pipeta

Material adicional para los analizadores MODULAR ANALYTICS E170 y **cobas e** 601:
- Ref. 04880340190, ProCell M, 2 x 2 L de tampón del sistema
- Ref. 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L de solución detergente para la célula de lectura
- Ref. 12135027190, CleanCell M, 1 x 2 L de solución detergente para la célula de lectura (para los EE.UU.)
- Ref. 03023141001, PC/CC-Cups, 12 recipientes para atemperar las soluciones ProCell M y CleanCell M
- Ref. 03005712190, ProbeWash M, 12 x 70 mL de solución detergente para finalizar el procesamiento y enjuagar tras cambiar de reactivos.
- Ref. 12102137001, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 cargadores x 84 tubos de ensayo o puntas de pipeta, bolsas de residuos
- Ref. 03023150001, WasteLiner, bolsas de residuos
- Ref. 03027651001, Adaptador M para SysClean

Material adicional para todos los analizadores:
- Ref. 11298500316, Elecsys SysClean, 5 x 100 mL de solución detergente del sistema

Sólo para los EE.UU.:
- Ref. 12144085122, Elecsys Insulin CalCheck, para 3 intervalos de concentración

Ejecución del test
Para garantizar el funcionamiento óptimo del test, observe las instrucciones de uso del analizador utilizado. Consultar el manual del operador apropiado para obtener las instrucciones de ensayo específicas del analizador.
Las micropartículas se mezclan automáticamente antes del uso. Los parámetros de test se introducen a través de los códigos de barras impresos en el reactivo. Pero si, excepcionalmente, el analizador no pudiera leer el código de barras, el código numérico de 15 cifras deberá introducirse manualmente.

Analizadores MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 ó **cobas e**:
Antes del uso, atemperar los reactivos refrigerados a aprox. 20 °C y colocarlos en el rotor de reactivos (20 °C) del analizador. Evitar la formación de espuma. El analizador realiza **automáticamente** los procesos de atemperar, abrir y tapar los frascos.

Analizadores Elecsys 1010: Antes del uso, atemperar los reactivos refrigerados a aprox. 20-25 °C y colocarlos en el rotor de muestras/reactivos del analizador (temperatura ambiente de 20-25 °C). Evitar la formación de espuma. Abrir y cerrar la tapa **manualmente** antes y después de usar. Guardar en el refrigerador a 2-8 °C después del uso.

Calibración
Trazabilidad: El presente método ha sido estandarizado frente al primer estándar de referencia IRP 66/304 de la OMS (NIBSC).
Cada reactivo del test Elecsys Insulin contiene un código de barras que incluye toda la información específica necesaria para la calibración del lote de reactivos. La curva máster preestablecida es adaptada al analizador a través del dispositivo Elecsys Insulin CalSet.

Intervalo de calibraciones: Efectuar una calibración una vez por lote con reactivos frescos (registrados como máximo 24 horas antes en el analizador). Se recomienda repetir la calibración:

Analizadores MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 ó **cobas e**:
- tras 1 mes (28 días) si se trata del mismo lote de reactivos
- tras 7 días (al emplear el mismo estuche de reactivos en el analizador)

Analizadores Elecsys 1010:
- con cada estuche de reactivos
- tras 7 días (temperatura ambiental 20-25 °C)
- tras 3 días (temperatura ambiental 25-32 °C)

Para todos los analizadores:
- en caso necesario, p.ej.: si el control de calidad se encuentra fuera del intervalo indicado

Insulin

Insulina

cobas®

Control de calidad

Para el control de calidad, sírvase emplear Elecsys PreciControl MultiAnalyte 1 y 2 o bien Elecsys PreciControl Universal 1 y 2.
Pueden emplearse otros materiales de control apropiados.
Los controles con diferentes intervalos de concentración deberían efectuarse junto con el test en determinaciones simples por lo menos 1 vez cada 24 horas, con cada estuche de reactivos y siempre que se realice una calibración. Los intervalos y límites de control tienen que adaptarse a las necesidades individuales de cada laboratorio. Los resultados deben hallarse dentro de los límites definidos.
Cada laboratorio debería establecer medidas correctivas en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido.
Sírvase cumplir con las regulaciones gubernamentales y las normas locales de control de calidad pertinentes.
Advertencia: Los controles comerciales pueden contener insulina de origen animal. Al evaluar los resultados se recomienda tomar en cuenta la reactividad cruzada del presente test; consúltese la "Especificidad analítica".

Cálculo

El analizador calcula automáticamente la concentración de analito de cada muestra (en µU/mL o pmol/L).

Factores de conversión: µU/mL x 6,945 = pmol/L
pmol/L x 0,144 = µU/mL

Limitaciones - Interferencias

El test no se ve afectado por ictericia (bilirrubina < 1539 µmol/L ó < 90 mg/dL), lipemia (Intralipid < 1800 mg/dL) ni biotina < 246 nmol/L ó < 60 ng/mL). Criterio: Recuperación dentro de ± 10 % del valor inicial. La hemólisis interfiere con el test.
En pacientes en tratamiento con altas dosis de biotina (> 5 mg/día), la extracción de la muestra no debería efectuarse antes de 8 horas tras la última administración.
No se han observado interferencias por factores reumatoides hasta una concentración de 18900 UI/mL.
No se ha registrado el efecto prozona (high dose hook) con concentraciones de insulina de hasta 20000 µU/mL (138900 pmol/L).
Se analizaron in vitro 20 fármacos de uso extendido sin encontrar interferencias.
Las muestras de pacientes tratados con insulina de origen vacuno, bovino o humano pueden contener anticuerpos anti-insulina. Éstos pueden influir en los resultados del ensayo.[2,8,9]
En casos aislados pueden presentarse interferencias por títulos extremadamente altos de anticuerpos específicos contra el analito (como p.ej. HAMA), la estreptavidina y el rutenio. Estos efectos se han minimizado gracias a una concepción analítica adecuada.
Para el diagnóstico, los resultados del ensayo siempre deben interpretarse conjuntamente con el historial médico del paciente, el análisis clínico así como los resultados de otros exámenes.

Intervalo de medición

0,200-1000 µU/mL ó 1,39-6945 pmol/L (definido por el límite de detección y el máximo de la curva máster). Los valores inferiores al límite de detección se indican como < 0,200 µU/mL (< 1,39 pmol/L). Los valores superiores al límite de detección se indican como > 1000 µU/mL ó > 6945 pmol/L.

Dilución

No es necesaria debido al amplio intervalo de medición.

Valores teóricos

En los exámenes realizados con el test Elecsys Insulin en un centro clínico en Alemania se han obtenido los siguientes valores para el intervalo de percentiles 5°-95° a partir de las muestras de 57 personas sanas en ayunas: 2,6-24,9 µU/mL (17,8-173 pmol/L)

Datos provenientes de: Elecsys Insulin MCE en los analizadores Elecsys 1010/2010, estudio N°: B99P027 del 29 de marzo del 2001.

Cada laboratorio debería comprobar si los intervalos de referencia pueden aplicarse a su grupo de pacientes y en caso necesario establecer sus propios valores.

Datos específicos de funcionamiento del test

A continuación, se indican los datos representativos de funcionamiento de las pruebas en los analizadores. Los resultados de cada laboratorio en particular pueden diferir de estos valores.

Precisión

La reproducibilidad ha sido determinada mediante reactivos Elecsys, una mezcla de sueros humanos y controles según un protocolo modificado (EP5-A) del Comité Nacional de Estándares de Laboratorios Clínicos de los EE.UU. (NCCLS): en 6 determinaciones diarias durante 10 días (n = 60); precisión intraserie en el módulo MODULAR ANALYTICS E170, n = 21, habiéndose obtenido los siguientes resultados:

Analizadores Elecsys 1010/2010 y **cobas e** 411								
			Precisión intraserie			**Precisión total**		
Muestra	VM		DE		CV	DE		CV
	µU/mL	pmol/L	µU/mL	pmol/L	%	µU/mL	pmol/L	%
SH[b] 1	6,36	44,2	0,12	0,83	1,9	0,16	1,11	2,6
SH 2	20,9	145	0,39	2,71	1,9	0,59	4,10	2,8
SH 3	747	5188	15,1	105	2,0	18,6	129	2,5
PC U[c]1	25,2	175	0,38	2,64	1,5	0,62	4,31	2,5
PC U2	88,3	613	1,53	10,6	1,7	1,87	13,0	2,1

b) SH = Suero humano
c) PC U = PreciControl Universal

Analizadores MODULAR ANALYTICS E170 y **cobas e** 601										
	Precisión intraserie					**Precisión total**				
Muestra	VM		DE		CV	VM		DE		CV
	µU/mL	pmol/L	µU/mL	pmol/L	%	µU/mL	pmol/L	µU/mL	pmol/L	%
SH 1	5,93	41,2	0,09	0,62	1,5	6,85	47,6	0,34	2,33	4,9
SH 2	14,5	101	0,13	0,92	0,9	16,7	116	0,62	4,28	3,7
SH 3	49,9	346	0,58	4,05	1,2	55,1	383	1,86	12,9	3,4
SH 4	399	2768	3,32	23,1	0,8	425	2949	10,0	69,6	2,4
PC U1	26,9	187	0,19	1,34	0,7	22,5	156	1,03	7,17	4,6
PC U2	78,3	544	0,68	4,75	0,9	76,9	534	2,02	14,0	2,6

Sensibilidad analítica (límite inferior de detección)

0,20 µU/mL (1,39 pmol/L)
El límite de detección equivale a la menor concentración medible de analito que puede distinguirse de cero. Se calcula como la concentración situada a 2 desviaciones estándar por encima del estándar más bajo (calibrador máster, estándar 1 + 2 DE, precisión intraserie, n = 21).

Comparación de métodos

a) Una comparación del test Elecsys Insulin (y) con el método Enzymun-Test Insulin (x) basada en muestras clínicas ha dado las siguientes correlaciones (µU/mL):
Cantidad de muestras medidas: 99

Passing/Bablok[10]	Regresión lineal
y = 1,00x - 1,16	y = 0,92x + 0,59
τ = 0,844	r = 0,958

La concentración de las muestras se situó entre aprox. 3,9-80 µU/mL o bien entre aprox. 27-550 pmol/L.

a) Una comparación del test Elecsys Insulin (y) con un ensayo comercial de insulina (x) basada en muestras clínicas ha dado las siguientes correlaciones (µU/mL):
Cantidad de muestras medidas: 99

Passing/Bablok[10]	Regresión lineal
y = 0,89x - 0,62	y = 0,93x - 1,02
τ = 0,935	r = 0,981

La concentración de las muestras se situó entre aprox. 1-118 µU/mL o bien entre aprox. 7-820 pmol/L.

Especificidad analítica
Para los anticuerpos monoclonales empleados se han obtenido las siguientes reacciones cruzadas:

	Sustancia empleada	Reactividad cruzada %
Insulina bovina	17360 pmol/L	25,0
Insulina porcina	8334 pmol/L	19,2
Proinsulina humana	1000 ng/mL	0,05
Péptido C	100 ng/mL	n.d.[d]
Glucagón	1000 pg/mL	n.d.
Somatostatina	100 pg/mL	n.d.
Factor de crecimiento I similar a la insulina	6579 pmol/L	0,04

d) n.d. = no detectable

Dos grupos de investigación de los EE.UU. y Francia dedicados a estudiar los efectos de la reactividad cruzada de los análogos de la insulina recombinada en varios métodos de determinación de la insulina publicaron sus resultados.[9,11,12] A continuación, los resultados obtenidos por Owen y sus colaboradores[12] para el test Elecsys Insulin:
Las insulinas lispro, aspart y glargine fueron analizadas por separado y en total ausencia de insulina en concentraciones de 30, 100, 300 y 1000 mUI/L. Los resultados obtenidos se situaron por debajo del límite de detección del test Elecsys Insulin (< 0,2 µU/mL ó < 1,39 pmol/L) en todas las concentraciones analizadas.
Además, los resultados se correlacionaron con los publicados para la insulina lispro por Sapin y sus colaboradores.[9]

Referencias bibliográficas

1. Lang DA, Matthews DR, Peto J, Turner RC. Cyclic oscillations of basal plasma glucose and insulin concentrations in human beings. N Engl J Med 1979;301:1023-1027.
2. Fiedler H. Basiswissen Labordiagnostik: Diabetes mellitus und metabolisches Syndrom. Folleto de Roche Diagnostics 1999;14,67 Ref. 1951769.
3. Arnqvist H, Olsson PO, von Schenck H. Free and Total Insulin as Determined after Precipitation with Polyethylene Glycol: Analytical Characteristics and Effects of Sample Handling and Storage. Clin Chem 1987;33(1):93-96.
4. Gerbitz KD. Pankreatische B-Zellen Peptide: Kinetik und Konzentration von Proinsulin, Insulin und C-Peptid in Plasma und Urin, Probleme der Meßmethoden, klinische Aussage und Literaturübersicht. J Clin Chem Clin Biochem 1980;18(6):313-326.
5. Clark PM. Assays for insulin, proinsulin(s) and C-peptide. Ann Clin Biochem 1999;36(5):541-564.
6. Chevenne D, Letailleur A, Trivin F, Porquet D. Effect of Hemolysis on the Concentration of Insulin in Serum Determined by RIA and IRMA. Clin Chem 1998;44(2):354-356.
7. DG Klinische Chemie Mitteilungen 1995;26(5):207-224.
8. Tietz NW. Clinical Guide To Laboratory Tests. 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co, 1995:366-367.
9. Sapin R, Le Galudec V, Gasser F, Pinget M, Grucker D. Elecsys Insulin Assay: Free Insulin Determination and the Absence of Cross-Reactivity with Insulin Lispro. Clin Chem 2001;47:602-605.
10. Passing H, Bablok W, et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.
11. Owen WE, Roberts WL. Letter to the Editor: Cross-Reactivity of Three Recombinant Insulin Analogs with Five Commercial Insulin Immunoassays. Clin Chem 2004;50(1):257-259.
12. Sapin R. Review: Insulin Assays: Previously Known and New Analytical Features. Clin Lab 2003;49(3-4):113-121.

Para más información acerca de los componentes, consultar el manual del operador del analizador, las hojas de aplicación, la información de producto y las metódicas correspondientes.

La barra del margen indica cambios o suplementos significativos. Introducir manualmente los cambios que afecten parámetros del código de barras ya leido.
© 2009, Roche Diagnostics.

CE

Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

Roche

Insulin

Insulina

cobas®

12017547 122 **100 test**

• Indica gli analizzatori su cui la confezione può essere usata

Elecsys 1010	Elecsys 2010	MODULAR ANALYTICS E170	**cobas e** 411	**cobas e** 601
•	•	•	•	•

Italiano

Finalità d'uso

Test immunologico per la determinazione quantitativa *in vitro* dell'insulina umana nel siero e nel plasma umani. La determinazione dell'insulina viene impiegata nella diagnosi e nel trattamento di vari disturbi del metabolismo dei carboidrati, inclusi diabete mellito ed ipoglicemia.
L'esecuzione dell'**I**mmuno**A**ssay in **E**lettro**C**hemi**L**uminescenza "ECLIA" è destinata all'uso sugli immunoanalizzatori Elecsys e **cobas e**.

Sommario[1,2,3,4,5]

L'insulina, ormone peptidico dal peso molecolare di ca. 6000 Da secreto nel pancreas dalle cellule B, viene immessa in circolo tramite la vena porta ed il fegato. In genere, il rilascio dell'insulina avviene in modo pulsatile, con il parallelo ciclo del glucosio che normalmente precede il ciclo dell'insulina di ca. 2 minuti.[1]
La molecola insulina è costituita da due catene polipeptidiche, la catena α con 21 aminoacidi e la catena β con 30 aminoacidi. La biosintesi di tale ormone avviene nelle cellule β delle isole di Langerhans sotto forma di preproinsulina costituita da una catena singola, immediatamente scissa in proinsulina. Per azione di proteasi specifiche, la proinsulina, a sua volta, viene scissa in insulina e C-peptide e contemporaneamente rilasciata nel sangue, trattenendo nel fegato circa la metà dell'insulina, ma virtualmente nulla del C-peptide. L'insulina in circolo, con un'emivita di 3–5 minuti, viene degradata preferibilmente nel fegato, mentre l'inattivazione o, rispettivamente, l'escrezione della proinsulina e del C-peptide avviene in prevalenza nei reni.
La sequenza degli aminoacidi costitutivi dell'insulina è rimasta sorprendentemente costante nel corso dell'evoluzione, di modo che, prima dello sviluppo dell'insulina umana mediante ingegneria genetica, è stato possibile impiegare efficacemente insulina porcina o bovina nel trattamento del diabete mellito.[2]
L'azione dell'insulina è mediata da recettori specifici e consiste principalmente nella facilitazione dell'assorbimento di glucosio da parte delle cellule epatiche, del tessuto adiposo e della muscolatura, da cui deriva l'effetto riducente dei livelli di glucosio nel sangue.
La determinazione dell'insulina nel siero viene eseguita, particolarmente nel caso di pazienti che presentano una sintomatologia ipoglicemica, per la definizione del quoziente glucosio/insulina nonché per valutazioni riguardanti la secrezione dell'insulina, ad es. nel test per la tolbutamide e per il glucagone, o per l'interpretazione dei test orali di tolleranza al glucosio oppure di stimolo della fame.
Sebbene l'adeguatezza dei meccanismi del pancreas per la sintesi dell'insulina venga spesso definita tramite la determinazione del C-peptide, di norma è necessario determinare l'insulina. La somministrazione terapeutica di insulina di origine non umana può infatti provocare la formazione di anticorpi anti-insulina. In tale caso, la concentrazione di insulina misurata nel siero indica la quantità di ormone libero e quindi biologicamente attivo, mentre la determinazione del C-peptide fornisce una misura della totale secrezione endogena di insulina del paziente.[3,4]
Un disturbo del metabolismo insulinico si ripercuote in modo massiccio su molti processi metabolici. Una concentrazione troppo bassa di insulina libera e biologicamente attiva può provocare lo sviluppo del diabete mellito. Le cause vanno ricercate, tra l'altro, in una distruzione delle cellule β (diabete di tipo I), in una ridotta attività dell'insulina ossia in una riduzione della capacità di sintesi da parte del pancreas (tipo II), in una presenza in circolo di anticorpi anti-insulina, in un rilascio ritardato di insulina oppure in una mancanza (o insufficienza) di recettori dell'insulina.
D'altro canto, la secrezione autonoma e non regolata di insulina costituisce in genere la causa dell'ipoglicemia, la quale insorge in seguito all'inibizione della gluconeogenesi, ad es. in caso di insufficienza epatica o renale acuta, di adenoma insulare o di carcinoma. L'ipoglicemia può, però, anche essere, intenzionalmente o non intenzionalmente, provocata (ipoglicemia factitia).
Nel 3 % delle persone con ridotta tolleranza al glucosio, lo stato metabolico tende a degenerare, nel corso del tempo, in diabete mellito. In caso di gravidanza, le donne con tolleranza al glucosio ridotta devono sempre essere sottoposte ad una terapia adeguata. Il forte aumento del rischio di mortalità del feto rende necessario un monitoraggio intensivo.
Il test Insulin Elecsys impiega due anticorpi monoclonali, che insieme sono specifici per l'insulina umana.

Principio del test

Principio sandwich. Durata complessiva del test: 18 minuti.

- 1ª incubazione: l'insulina presente in 20 µL di campione, un anticorpo monoclonale biotinilato specifico anti-insulina e un anticorpo monoclonale specifico anti-insulina marcato con un complesso di rutenio[a] formano un complesso sandwich.
- 2ª incubazione: dopo l'aggiunta di microparticelle rivestite di streptavidina, il complesso si lega alla fase solida mediante l'interazione biotina-streptavidina.
- La miscela di reazione viene aspirata nella cella di misura dove le microparticelle vengono attratte magneticamente alla superficie dell'elettrodo. Successivamente si eliminano le sostanze non legate impiegando ProCell. Applicando una tensione all'elettrodo, si induce l'emissione chemiluminescente che viene misurata mediante il fotomoltiplicatore.
- I risultati vengono calcolati in base ad una curva di calibrazione, che viene generata in modo specifico per lo strumento con una calibrazione a 2 punti e con una curva master fornita insieme al codice a barre del reattivo.

a) Complesso di rutenio (II) tris(2,2'-bipiridile) ($Ru(bpy)_3^{2+}$)

Reattivi – soluzioni pronte all'uso

M Microparticelle rivestite di streptavidina (tappo trasparente), 1 flacone, 6,5 mL:
microparticelle rivestite di streptavidina 0,72 mg/mL; conservante.

R1 Anticorpi anti-insulina~biotina (tappo grigio), 1 flacone, 10 mL:
anticorpo (murino) monoclonale biotinilato anti-insulina 1 mg/L; tampone MES 50 mmol/L, pH 6,0; conservante.

R2 Anticorpi anti-insulina~$Ru(bpy)_3^{2+}$ (tappo nero), 1 flacone, 10 mL:
anticorpo (murino) monoclonale anti-insulina marcato con un complesso di rutenio 1,75 mg/L; tampone MES 50 mmol/L, pH 6,0; conservante.

Precauzioni e avvertenze

Per uso diagnostico *in vitro*.
Osservare le precauzioni normalmente adottate nella manipolazione dei reagenti di laboratorio.
Lo smaltimento di tutti i rifiuti deve avvenire secondo le direttive locali.
Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.
Evitare la formazione di schiuma con tutti i reattivi e tipi di campione (campioni, calibratori e controlli).

Utilizzo dei reattivi

I reattivi contenuti nella confezione formano un'unità inseparabile e sono pronti all'uso.
Tutte le informazioni necessarie per l'utilizzo corretto vengono lette nello strumento con i codici a barre dei rispettivi reattivi.

Conservazione e stabilità
Conservare a 2–8 °C.
Conservare la confezione di reattivi Insulin Elecsys **in posizione verticale** in modo da garantire la completa disponibilità delle microparticelle durante il mescolamento automatico prima dell'uso.
Stabilità:

prima dell'apertura a 2–8 °C	fino alla data di scadenza indicata
dopo l'apertura a 2–8 °C	12 settimane
su MODULAR ANALYTICS E170 e **cobas e** 601	4 settimane
su Elecsys 2010 e **cobas e** 411	4 settimane
su Elecsys 1010	4 settimane (se conservati alternativamente in frigorifero e sullo strumento – a temperatura ambiente (20–25 °C), aperti per non più di 20 ore complessivamente)

Prelievo e preparazione dei campioni
Solo i tipi di campione elencati di seguito sono stati testati e risultano accettabili.
Siero, prelevato con provette standard per prelievi di campioni o con provette contenenti gel di separazione.
Plasma con litio eparina, K_3-EDTA e citrato di sodio.
L'emolisi interferisce poiché gli eritrociti rilasciano peptidasi degradanti l'insulina.[6]
Valutazione: recupero 90–110 % del valore nel siero o slope 0,9–1,1 + intercetta < ±2 x limite di sensibilità analitica + coefficiente di correlazione > 0,95.
Stabilità: 24 ore a 2–8 °C, 6 mesi a –20 °C. Congelare solo 1 volta.[7]
I tipi di campione elencati sono stati testati impiegando una selezione di provette per il prelievo di campioni disponibili in commercio al momento dell'analisi; non sono, quindi, state testate tutte le provette disponibili di tutte le case produttrici. Alcuni sistemi per il prelievo di campioni di vari produttori possono contenere diversi materiali e in alcuni casi possono interferire sui risultati del test. Quando si trattano i campioni in provette primarie (sistemi per il prelievo di campioni), seguire le istruzioni del produttore delle provette.
I campioni contenenti precipitati devono essere centrifugati prima dell'esecuzione del test. Non impiegare campioni inattivati a caldo. Non impiegare campioni e controlli stabilizzati con azide.
Assicurarsi che i campioni prelevati dai pazienti, i calibratori ed i controlli al momento della misura siano a temperatura ambiente (20–25 °C).
Per evitare un'eventuale evaporazione, misurare i campioni, calibratori e controlli che si trovano sugli strumenti entro 2 ore.

Materiali a disposizione
Per i reattivi, vedere la sezione "Reattivi – soluzioni pronte all'uso".

Materiali necessari (ma non forniti)
- Art. n. 12017504122, Insulin CalSet, per 4 x 1 mL
- Art. n. 03609979190, PreciControl MultiAnalyte, per 2 x 2 mL ciascuno di PreciControl MultiAnalyte 1 e 2, oppure
  Art. n. 11731416122, PreciControl Universal, per 2 x 3 mL ciascuno di PreciControl Universal 1 e 2, oppure
  Art. n. 11731416190, PreciControl Universal, per 2 x 3 mL ciascuno di PreciControl Universal 1 e 2
- Art. n. 11731416160, PreciControl Universal, per 2 x 3 mL ciascuno di PreciControl Universal 1 e 2 (per gli USA)
- Normale attrezzatura da laboratorio
- Analizzatore Elecsys 1010/2010, MODULAR ANALYTICS E170 o **cobas e**

Accessori per gli analizzatori Elecsys 1010/2010 e **cobas e** 411:
- Art. n. 11662988122, ProCell, 6 x 380 mL di tampone del sistema
- Art. n. 11662970122, CleanCell, 6 x 380 mL di soluzione di lavaggio per celle di misura
- Art. n. 11930346122, SysWash Elecsys, 1 x 500 mL di additivo per l'acqua di lavaggio
- Art. n. 11933159001, adapter per SysClean
- Art. n. 11706829001, AssayCup Elecsys 1010, 12 x 32 coppette di reazione, oppure
  Art. n. 11706802001, AssayCup Elecsys 2010, 60 x 60 coppette di reazione
- Art. n. 11706799001, AssayTip Elecsys 2010, 30 x 120 puntali di pipettaggio

Accessori per gli analizzatori MODULAR ANALYTICS E170 e **cobas e** 601:
- Art. n. 04880340190, ProCell M, 2 x 2 L di tampone del sistema
- Art. n. 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L di soluzione di lavaggio per celle di misura
- Art. n. 12135027190, CleanCell M, 1 x 2 L di soluzione di lavaggio per celle di misura (per gli USA)
- Art. n. 03023141001, PC/CC-Cups, 12 coppette per il preriscaldamento di ProCell M e di CleanCell M prima dell'uso
- Art. n. 03005712190, ProbeWash M, 12 x 70 mL di soluzione di lavaggio per la conclusione del run ed il lavaggio al cambio di reattivi
- Art. n. 12102137001, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 supporti da 84 coppette di reazione e 84 puntali di pipettaggio, sacchetti per rifiuti
- Art. n. 03023150001, WasteLiner, sacchetti per rifiuti
- Art. n. 03027651001, SysClean Adapter M

Accessori per tutti gli analizzatori:
- Art. n. 11298500316, SysClean Elecsys, 5 x 100 mL di soluzione di lavaggio per il sistema

Disponibile solo negli USA:
- Art. n. 12144085122, Insulin CalCheck Elecsys, per 3 concentrazioni

Esecuzione
Per una performance ottimale del test, attenersi alle indicazioni riportate nel presente documento per l'analizzatore in questione. Per le istruzioni specifiche dell'analizzatore relative all'esecuzione del test, consultare il manuale d'uso dello strumento.
La risospensione delle microparticelle prima dell'uso avrà luogo automaticamente. Leggere i parametri test-specifici nello strumento dal codice a barre del reattivo. Nel caso eccezionale che non sia possibile leggere il codice a barre, digitare la sequenza di 15 cifre.

Analizzatori MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 e **cobas e**: portare i reattivi conservati al fresco alla temperatura di ca. 20 °C e collocarli nel rotore portareattivi (20 °C) dell'analizzatore. Evitare la formazione di schiuma. La regolazione della temperatura esatta, l'apertura e la chiusura dei flaconi avranno luogo **automaticamente** nello strumento.

Analizzatore Elecsys 1010: portare i reattivi conservati al fresco alla temperatura di ca. 20–25 °C e collocarli nel rotore portacampioni/portareattivi dello strumento (temperatura ambiente: 20–25 °C). Evitare la formazione di schiuma. **Aprire a mano** i tappi dei flaconi al momento dell'uso e **chiuderli** poi **manualmente**. Dopo l'uso conservare a 2–8 °C.

Calibrazione
Tracciabilità: questo metodo è stato standardizzato contro il 1º Standard di Riferimento IRP 66/304 (NIBSC) dell'OMS.
Ogni set di reattivi Insulin Elecsys possiede un'etichetta con codice a barre contenente le informazioni specifiche per la calibrazione del rispettivo lotto di reattivo. La curva master preimpostata viene adattata all'analizzatore impiegando Insulin CalSet Elecsys.

Frequenza di calibrazione: effettuare una calibrazione per ogni lotto con reattivo fresco (al massimo 24 ore dopo l'identificazione della confezione di reattivo sullo strumento). Si consiglia di ripetere la calibrazione come segue:

Analizzatori MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 e **cobas e**:
- dopo 1 mese (28 giorni) se si impiega lo stesso lotto di reattivo
- dopo 7 giorni (se si impiega la stessa confezione di reattivo sullo strumento)

Analizzatore Elecsys 1010:
- con ogni nuova confezione di reattivo
- dopo 7 giorni (temperatura ambiente: 20–25 °C)
- dopo 3 giorni (temperatura ambiente: 25–32 °C)

Per tutti gli analizzatori:
- all'occorrenza: ad es. se un controllo di qualità si trova al di fuori dei limiti indicati

Controllo di qualità
Per il controllo di qualità, impiegare PreciControl MultiAnalyte 1 e 2 Elecsys oppure PreciControl Universal 1 e 2 Elecsys.
In aggiunta, è possibile utilizzare altro materiale di controllo appropriato.
I controlli per le diverse concentrazioni devono essere eseguiti con determinazione in singolo almeno 1 volta ogni 24 ore quando il test è in uso,

al cambio di ogni confezione di reattivi e dopo ogni calibrazione. Gli intervalli e limiti del controllo dovranno essere conformi alle esigenze individuali di ogni laboratorio. I valori ottenuti devono rientrare nei limiti definiti.
Ogni laboratorio deve definire delle misure correttive da attuare nel caso che alcuni valori siano al di fuori dei limiti.
Per il controllo di qualità, attenersi alle normative vigenti e alle linee guida locali.
Pregasi notare: i controlli disponibili in commercio possono contenere insulina di origine animale. La valutazione dei risultati deve quindi tener conto della corrispondente reattività crociata del presente test; vedere la sezione "Specificità analitica".

Calcolo
L'analizzatore effettua il calcolo automatico della concentrazione dell'analita di ogni campione (in µU/mL oppure in pmol/L).

Fattori di conversione: µU/mL x 6,945 = pmol/L
pmol/L x 0,144 = µU/mL

Limiti del metodo – interferenze
L'ittero (bilirubina < 1539 µmol/L oppure < 90 mg/dL), la lipemia (Intralipid < 1800 mg/dL) e la biotina < 246 nmol/L oppure < 60 ng/mL non interferiscono sul test.
Valutazione: recupero entro ±10 % del valore iniziale. L'emolisi interferisce.
Ai pazienti sottoposti a terapia con alti dosaggi di biotina (>5 mg/die), il campione dovrà essere prelevato almeno 8 ore dopo l'ultima somministrazione di biotina.
Non sono state osservate interferenze da fattori reumatoidi fino ad una concentrazione di 18900 IU/mL.
Nessun effetto hook in caso di concentrazioni di insulina fino a 20000 µU/mL oppure 138900 pmol/L.
Tra 20 farmaci di frequente impiego, testati *in vitro*, non si è osservata alcuna interferenza nel test.
I campioni prelevati da pazienti trattati con insulina bovina, porcina o umana contengono eventualmente anticorpi anti-insulina, che possono influire sui risultati del test.[2,8,9]
In casi rari possono riscontrarsi interferenze causate da titoli estremamente alti di anticorpi diretti contro anticorpi specifici anti-analita (quali anticorpi umani anti-topo (HAMA)), di anticorpi anti-streptavidina o di anticorpi anti-rutenio. Tali effetti sono ridotti al minimo attraverso un procedimento appropriato del test.
Ai fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati congiuntamente con la storia clinica del paziente, con gli esami clinici e con altre evidenze cliniche.

Intervallo di misura
0,200–1000 µU/mL oppure 1,39–6945 pmol/L (definito dal limite di sensibilità inferiore e dal massimo valore della curva master). I valori al di sotto del limite di sensibilità vengono indicati come <0,200 µU/mL (<1,39 pmol/L). I valori al di sopra dell'intervallo di misura vengono indicati come >1000 µU/mL (>6945 pmol/L).

Diluizione
Non necessaria a causa dell'ampio intervallo di misura.

Valori di riferimento
Dagli studi con il test Insulin Elecsys, condotti in un centro clinico in Germania con campioni prelevati da 57 soggetti sani e a digiuno, sono risultati i seguenti valori (intervallo: 5º–95º percentile):
2,6–24,9 µU/mL (17,8–173 pmol/L)

Stato: MCE del test Insulin Elecsys sugli analizzatori Elecsys 1010/2010, n. di studio: B99P027 del 29 marzo 2001.

Ogni laboratorio deve controllare l'applicabilità dei valori di riferimento alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare intervalli di riferimento propri.

Dati specifici sulla performance del test
Qui di seguito sono riportati i dati rappresentativi delle prestazioni sugli analizzatori. I risultati dei singoli laboratori possono differire da questi.

Precisione
La riproducibilità è stata determinata impiegando reattivi Elecsys, pool di sieri umani e controlli, eseguiti in base ad un protocollo modificato (EP5-A) dell'NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards): 6 volte al giorno per 10 giorni (n = 60); precisione nella serie sull'analizzatore MODULAR ANALYTICS E170, n = 21. Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Analizzatori Elecsys 1010/2010 e **cobas e** 411

			Prec. nella serie			**Precisione totale**		
Camp.	Media		DS		CV	DS		CV
	µU/mL	pmol/L	µU/mL	pmol/L	%	µU/mL	pmol/L	%
SU[b] 1	6,36	44,2	0,12	0,83	1,9	0,16	1,11	2,6
SU 2	20,9	145	0,39	2,71	1,9	0,59	4,10	2,8
SU 3	747	5188	15,1	105	2,0	18,6	129	2,5
PC U[c]1	25,2	175	0,38	2,64	1,5	0,62	4,31	2,5
PC U2	88,3	613	1,53	10,6	1,7	1,87	13,0	2,1

b) SU = siero umano
c) PC U = PreciControl Universal

Analizzatori MODULAR ANALYTICS E170 e **cobas e** 601

	Precisione nella serie					**Precisione totale**				
Camp.	Media		DS		CV	Media		DS		CV
	µU/mL	pmol/L	µU/mL	pmol/L	%	µU/mL	pmol/L	µU/mL	pmol/L	%
SU 1	5,93	41,2	0,09	0,62	1,5	6,85	47,6	0,34	2,33	4,9
SU 2	14,5	101	0,13	0,92	0,9	16,7	116	0,62	4,28	3,7
SU 3	49,9	346	0,58	4,05	1,2	55,1	383	1,86	12,9	3,4
SU 4	399	2768	3,32	23,1	0,8	425	2949	10,0	69,6	2,4
PC U1	26,9	187	0,19	1,34	0,7	22,5	156	1,03	7,17	4,6
PC U2	78,3	544	0,68	4,75	0,9	76,9	534	2,02	14,0	2,6

Sensibilità analitica (limite di sensibilità inferiore)
0,20 µU/mL (1,39 pmol/L)
Il limite di sensibilità rappresenta la minima concentrazione misurabile dell'analita che può essere distinta dallo zero. Viene calcolato come il valore che si trova 2 deviazioni standard al di sopra dello standard più basso (calibratore master, standard 1 + 2 DS, precisione nella serie, n = 21).

Confronto tra metodi
a) Il confronto del test Insulin Elecsys (y) con il metodo Enzymun-Test Insulin (x), impiegando campioni prelevati da pazienti ospedalizzati, ha prodotto le seguenti correlazioni (µU/mL):
Numero dei campioni misurati: 99

Passing/Bablok[10]	Regressione lineare
y = 1,00x – 1,16	y = 0,92x + 0,59
τ = 0,844	r = 0,958

Le concentrazioni dei campioni erano comprese tra ca. 3,9 e 80 µU/mL (tra ca. 27 e 550 pmol/L).

b) Il confronto del test Insulin Elecsys (y) con un test per l'insulina disponibile in commercio (x), impiegando campioni prelevati da pazienti ospedalizzati, ha prodotto le seguenti correlazioni (µU/mL):
Numero dei campioni misurati: 99

Passing/Bablok[10]	Regressione lineare
y = 0,89x – 0,62	y = 0,93x – 1,02
τ = 0,935	r = 0,981

Le concentrazioni dei campioni erano comprese tra ca. 1 e 118 µU/mL (tra ca. 7 e 820 pmol/L).

cobas®

Specificità analitica
Per gli anticorpi monoclonali impiegati nel test sono state determinate le seguenti reazioni crociate:

	Sostanza testata	Reattività croc. (%)
Insulina bovina	17360 pmol/L	25,0
Insulina porcina	8334 pmol/L	19,2
Proinsulina umana	1000 ng/mL	0,05
C-peptide	100 ng/mL	n.r.[d]
Glucagone	1000 pg/mL	n.r.
Somatostatina	100 pg/mL	n.r.
Fattore di crescita insulina-simile I	6579 pmol/L	0,04

d) n.r. = non rilevabile

I risultati per la reattività crociata con gli analoghi ricombinanti dell'insulina, ottenuti impiegando vari metodi per l'insulina, sono stati pubblicati, per esempio, da due gruppi in Francia e negli USA.[9,11,12] I seguenti risultati sono stati pubblicati da Owen et al.[11] per il test Insulin Elecsys:
L'insulina lispro, l'insulina aspart e l'insulina glargine sono tutte state testate a concentrazioni di 30, 100, 300 e 1000 mIU/L in assenza di insulina. I risultati ottenuti si trovavano al di sotto del limite di sensibilità del test Insulin Elecsys (<0,2 µU/mL oppure <1,39 pmol/L) a tutte le concentrazioni testate.
Inoltre, tali risultati sono anche in buona correlazione con quelli pubblicati prima da Sapin et al. per l'insulina lispro.[9]

Letteratura
1. Lang DA, Matthews DR, Peto J, Turner RC. Cyclic oscillations of basal plasma glucose and insulin concentrations in human beings. N Engl J Med 1979;301:1023–1027.
2. Fiedler H. Basiswissen Labordiagnostik: Diabetes mellitus und metabolisches Syndrom. Fascicolo Roche Diagnostics 1999;14,67, Art. n. 1951769.
3. Arnqvist H, Olsson PO, von Schenck H. Free and Total Insulin as Determined after Precipitation with Polyethylene Glycol: Analytical Characteristics and Effects of Sample Handling and Storage. Clin Chem 1987;33 (1):93–96.
4. Gerbitz KD. Pankreatische B-Zellen Peptide: Kinetik und Konzentration von Proinsulin, Insulin und C-Peptid in Plasma und Urin, Probleme der Meßmethoden, klinische Aussage und Literaturübersicht. J Clin Chem Clin Biochem 1980;18(6):313–326.
5. Clark PM. Assays for insulin, proinsulin(s) and C-peptide. Ann Clin Biochem 1999;36(5):541–564.
6. Chevenne D, Letailleur A, Trivin F, Porquet D. Effect of Hemolysis on the Concentration of Insulin in Serum Determined by RIA and IRMA. Clin Chem 1998;44 (2):354–356.
7. DG Klinische Chemie Mitteilungen 1995;26(5):207–224.
8. Tietz NW. Clinical Guide To Laboratory Tests. 3ª ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co, 1995:366–367.
9. Sapin R, Le Galudec V, Gasser F, Pinget M, Grucker D. Elecsys Insulin Assay: Free Insulin Determination and the Absence of Cross-Reactivity with Insulin Lispro. Clin Chem 2001;47:602–605.
10. Passing H, Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783–790.
11. Owen WE, Roberts WL. Letter to the Editor: Cross-Reactivity of Three Recombinant Insulin Analogs with Five Commercial Insulin Immunoassays. Clin Chem 2004;50 (1):257–259.
12. Sapin R. Review: Insulin Assays: Previously Known and New Analytical Features. Clin Lab 2003;49(3-4):113–121.

Per ulteriori informazioni, consultare il manuale d'uso appropriato per il relativo analizzatore, i rispettivi fogli di applicazione, la Product Information e le metodiche di tutti i componenti necessari.

Le aggiunte o modifiche significative sono indicate mediante una linea verticale posizionata al margine.
Le modifiche riguardanti i parametri test-specifici del codice a barre del reattivo già letti nello strumento vanno introdotte manualmente.
© 2009, Roche Diagnostics

CE

Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

Roche

Insulin

Insulin

cobas®

12017547 122 **100 testes**

• Indica os analisadores onde o dispositivo pode ser utilizado

Elecsys 1010	Elecsys 2010	MODULAR ANALYTICS E170	**cobas e** 411	**cobas e** 601
•	•	•	•	•

Português

Utilização prevista

Imunoensaio para determinação quantitativa in vitro da insulina humana em soro e plasma humanos. A determinação da insulina é utilizada no diagnóstico e na terapêutica de várias doenças do metabolismo dos hidratos de carbono, incluindo diabetes mellitus e hipoglicemia.
O ensaio de electroquimioluminescência (**e**lectro**c**hemi**l**uminescence **i**mmuno**a**ssay ou "ECLIA") foi concebido para ser utilizado nos analisadores de imunoensaios Elecsys e **cobas e**.

Sumário[1,2,3,4,5]

A insulina é uma hormona peptídica com um peso molecular de aproximadamente 6000 daltons. É segregada pelas células B do pâncreas e passa para a circulação via veia portal e fígado. A insulina é geralmente libertada por impulsos, ocorrendo o ciclo da glucose paralela normalmente cerca de 2 minutos antes do ciclo de insulina.[1]
A molécula de insulina é constituída por duas cadeias polipeptídicas, a cadeia α com 21 e a cadeia β com 30 aminoácidos. A biossíntese da hormona tem lugar nas células β dos ilhéus de Langerhans, na forma de pré-proinsulina de cadeia simples, que é imediatamente clivada para produzir pró-insulina. As proteases específicas clivam a pró-insulina em insulina e peptídeo C, que passam para a corrente sanguínea simultaneamente. Cerca de metade da insulina, mas praticamente nenhuma quantidade de peptídeo C, fica retida no fígado. A insulina circulante tem uma semivida de 3-5 minutos e degrada-se preferencialmente no fígado, ao passo que a inactivação da excreção de pró-insulina e de peptídeo C tem lugar principalmente nos rins.
A sequência de aminoácidos da insulina permaneceu supreendentemente constante durante a evolução, o que permitiu que, antes do desenvolvimento de insulina humana geneticamente modificada, fosse possível utilizar com êxito insulina suína ou bovina na terapêutica da diabetes mellitus.[2]
A acção da insulina é mediada por receptores específicos e consiste principalmente na facilitação da captação de açúcar pelas células do fígado, tecidos gordos e musculatura; é esta a base da sua acção hipoglicémica.
As determinações de insulina no soro são realizadas principalmente em doentes com sintomas de hipoglicemia. São utilizadas para determinar os quocientes de glucose/insulina e para clarificar questões relacionadas com a secreção de insulina, por exemplo, no teste de tolbutamida e no teste de glucagon, ou na avaliação dos testes de tolerância à glucose oral ou de provocação de fome.
Apesar de a adequação da síntese pancreática da insulina ser frequentemente avaliada através da determinação de peptídeo C, geralmente é necessário determinar a insulina. Por exemplo, a administração terapêutica de insulinas de origem não humana pode dar origem à formação de anticorpos anti-insulina. Neste caso, a determinação da concentração de insulina do soro revela a quantidade de hormona livre (e, por conseguinte, biologicamente activa), ao passo que a determinação do peptídeo C é uma determinação da secreção de insulina endógena total do doente.[3,4]
Uma perturbação do metabolismo da insulina influencia de forma significativa vários processos metabólicos. Uma concentração demasiado baixa de insulina livre, biologicamente activa pode dar origem ao desenvolvimento de diabetes mellitus. As possíveis causas deste fenómeno podem ser a destruição das células β (diabetes tipo I), uma redução da actividade da insulina ou uma redução da síntese pancreática (diabetes tipo II), anticorpos circulantes contra a insulina, libertação retardada da insulina ou ausência (ou inadequação) dos receptores de insulina.
Por outro lado, geralmente a causa da hipoglicemia é a secreção autónoma e não regulada de insulina. Este problema de saúde é provocado pela inibição da gluconeogénese, por exemplo, em resultado de insuficiência hepática ou renal grave, de adenoma das células do ilhéu ou de carcinoma.
A hipoglicemia pode, no entanto, ser também provocada intencionalmente ou não intencionalmente (hipoglicemia fictícia).
Em 3 % das pessoas com redução da tolerância à glucose, o estado metabólico deteriora-se dando origem à diabetes mellitus ao fim de algum tempo. A redução da tolerância à glucose durante a gravidez requer sempre tratamento. O risco claramente elevado de mortalidade do feto requer uma monitorização intensiva.
O ensaio Elecsys Insulin utiliza dois anticorpos monoclonais que, em conjunto, são específicos da insulina humana.

Princípio do teste

Técnica de sandwich. Duração total do ensaio: 18 minutos.

- 1ª incubação: Insulina de uma amostra de 20 µL, um anticorpo monoclonal biotinilado específico anti-insulina e um anticorpo monoclonal específico anti-insulina marcado com complexo de ruténio[a] reagem entre si e formam um complexo sandwich.
- 2.ª incubação: Após a incorporação das micropartículas revestidas de estreptavidina, o complexo formado liga-se à fase sólida pela interacção da biotina e da estreptavidina.
- A mistura de reacção é aspirada para a célula de leitura, onde as micropartículas são fixadas magneticamente à superfície do eléctrodo. Os elementos não ligados são então removidos com ProCell. A aplicação de uma corrente eléctrica ao eléctrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador.
- Os resultados são determinados com base numa curva de calibração gerada especificamente pelo analisador, através de uma calibração de 2 pontos, e numa curva principal incluída no código de barras do reagente.

a) Complexo Tris(2,2'-bipiridil)ruténio(II) ($Ru(bpy)_3^{2+}$)

Reagentes - soluções de trabalho

M	Micropartículas revestidas de estreptavidina (tampa transparente), 1 frasco, 6,5 mL: Micropartículas revestidas de estreptavidina, 0,72 mg/mL; conservante.
R1	Anticorpo anti-insulina~biotina (tampa cinzenta), 1 frasco, 10 mL: Anticorpo monoclonal biotinilado anti-insulina (ratinho) 1 mg/L; tampão MES 50 mmol/L, pH 6,0; conservante.
R2	Anticorpo anti-insulina~$Ru(bpy)_3^{2+}$ (tampa preta), 1 frasco, 10 mL: Anticorpo monoclonal anti-insulina (ratinho) marcado com complexo de ruténio 1,75 mg/L; tampão MES 50 mmol/L, pH 6,0; conservante.

Avisos e precauções

Para utilização em diagnóstico in vitro.
Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais.
Elimine todos os resíduos de acordo com os regulamentos locais.
Ficha de segurança fornecida a pedido, para uso profissional.
Evite a formação de espuma com todos os reagentes e com todo o tipo de amostras (amostras de pacientes, calibradores e controlos).

Preparação dos reagentes

Os reagentes do dispositivo foram incluídos numa unidade pronta a ser utilizada que não pode ser separada.
Toda a informação necessária ao correcto funcionamento é introduzida no analisador através dos respectivos códigos de barras do reagente.

Armazenamento e estabilidade

Armazenar a 2-8 °C.
Coloque o dispositivo de reagentes Elecsys Insulin **na vertical** para assegurar a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática, antes da utilização.
Estabilidade:

fechado a 2-8 °C	até ao fim do prazo de validade indicado
após abertura a 2-8 °C	12 semanas
nos analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e **cobas e** 601	4 semanas
nos analisadores Elecsys 2010 e **cobas e** 411	4 semanas
nos analisadores Elecsys 1010	4 semanas (guardado alternadamente no frigorífico e no analisador - temperatura ambiente 20-25 °C; até 20 horas no total quando aberto)

Colheita e preparação das amostras
Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas e consideradas aceitáveis.
O soro é colhido em tubos de amostra padrão ou com gel separador.
Plasma tratado com heparina-Li, EDTA-K_3 e citrato de sódio.
A hemólise interfere, uma vez que as peptidases que degradam a insulina são libertadas pelos eritrócitos.[6]
Critério: Recuperação dentro de 90-110 % do valor sérico ou declive 0,9-1,1 + intercepção dentro de < ± 2 x sensibilidade analítica (LDL) + coeficiente de correlação > 0,95.
Estável durante 24 horas a 2-8 °C, 6 meses a -20 °C. Congelar apenas uma vez.[7]
Os tipos de amostras indicados foram testados usando tubos de colheita de amostras seleccionados e comercialmente disponíveis à data do teste, i.e. nem todos os tubos dos diferentes fabricantes disponíveis no mercado foram testados. Os sistemas de colheita de amostras de diferentes fabricantes podem, por sua vez, conter materiais diferentes que, em alguns casos, podem afectar os resultados dos testes. Se processar amostras em tubos primários (sistemas de colheita de amostras) consulte as instruções do fabricante dos tubos.
As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio. Não utilize amostras inactivadas por calor. Não utilize amostras e controlos estabilizados com azida.
Antes da determinação, certifique-se de que as amostras dos pacientes, os calibradores e os controlos estão à temperatura ambiente (20-25 °C).
Devido a possíveis efeitos de evaporação, as amostras, os calibradores e os controlos colocados no analisador deverão ser analisados no prazo de 2 horas.

Materiais fornecidos
Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".

Materiais necessários (mas não fornecidos)
- Ref. 12017504122, Insulin CalSet, para 4 x 1 mL
- Ref. 03609979190, PreciControl MultiAnalyte, para 2 x 2 mL cada de PreciControl MultiAnalyte 1 e 2 ou
  Ref. 11731416122, PreciControl Universal, para 2 x 3 mL cada de PreciControl Universal 1 e 2 ou
  Ref. 11731416190, PreciControl Universal, para 2 x 3 mL cada de PreciControl Universal 1 e 2
- Ref. 11731416160, PreciControl Universal, para 2 x 3 mL cada de PreciControl Universal 1 e 2 (para os EUA)
- Equipamento normal de laboratório
- Analisadores Elecsys 1010/2010, MODULAR ANALYTICS E170 ou **cobas e**

Acessórios para os analisadores Elecsys 1010/2010 e **cobas e** 411:
- Ref. 11662988122, ProCell, 6 x 380 mL de tampão de sistema
- Ref. 11662970122, CleanCell, 6 x 380 mL de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 11930346122, Elecsys SysWash, 1 x 500 mL de aditivo para água de lavagem
- Ref. 11933159001, Adaptador para SysClean
- Ref. 11706829001, Elecsys 1010 AssayCup, 12 x 32 cuvetes de reacção ou Ref. 11706802001, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 cuvetes de reacção
- Ref. 11706799001, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 pontas de pipeta

Acessórios para analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e **cobas e** 601:
- Ref. 04880340190, ProCell M, 2 x 2 L de tampão do sistema
- Ref. 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 12135027190, CleanCell M, 1 x 2 L de solução de limpeza para a célula de leitura (para os EUA)
- Ref. 03023141001, PC/CC-Cups, 12 cuvetes para ProCell M e CleanCell M pré-aquecidos antes de usar
- Ref. 03005712190, ProbeWash M, 12 x 70 mL de solução de limpeza para finalização da análise e lavagem durante mudança de reagentes
- Ref. 12102137001, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 tabuleiros x 84 cuvetes de reacção ou pontas de pipeta, sacos de lixo
- Ref. 03023150001, WasteLiner, sacos de lixo
- Ref. 03027651001, SysClean Adapter M

Acessórios para todos os analisadores:
- Ref. 11298500316, Elecsys SysClean, 5 x 100 mL de solução de limpeza do sistema

Apenas disponível nos EUA:
- Ref. 12144085122, Elecsys Insulin CalCheck, para 3 intervalos de concentração

Ensaio
Para assegurar a correcta execução do ensaio é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador apropriado para obter informações mais específicas sobre o ensaio feito no analisador.
A ressuspensão das micropartículas é efectuada automaticamente antes de usar. Introduza os parâmetros específicos do teste através dos códigos de barras dos reagentes. Se, em algum caso excepcional, não for possível ler o código de barras, o código numérico de 15 dígitos deverá ser introduzido manualmente.

Analisadores MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 e **cobas e**:
Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20 °C e coloque-os no disco dos reagentes (20 °C) do analisador. Evite a formação de espuma. O sistema regula **automaticamente** a temperatura dos reagentes e a abertura/fecho dos frascos.

Analisadores Elecsys 1010: Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20-25 °C e coloque-os no disco dos reagentes/amostras do analisador (temperatura ambiente a 20-25 °C). Evite a formação de espuma. **Abra** as tampas dos frascos **manualmente** antes de usar e **feche manualmente** depois de usar. Armazene a 2-8 °C depois de usar.

Calibração
Rastreabilidade: Este método foi padronizado utilizando o "1st IRP WHO Reference Standard 66/304 (NIBSC)".
Cada dispositivo de reagentes Elecsys Insulin contém um código de barras com informações específicas para a calibração do lote de reagentes em questão. A curva principal previamente definida é adaptada ao analisador através do dispositivo Elecsys Insulin CalSet.

Frequência das calibrações: Uma calibração por lote de reagentes utilizando reagente recém-colocado (i.e., dentro de um máximo de 24 horas após ter sido registado no analisador). Devem ser feitas as seguintes recalibrações:

Analisadores MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 e **cobas e**:
- após 1 mês (28 dias) quando se utiliza o mesmo lote de reagentes
- após 7 dias (quando se utiliza o mesmo dispositivo de reagentes no analisador)

Analisadores Elecsys 1010:
- com cada dispositivo de reagentes
- após 7 dias (temperatura ambiente de 20-25 °C)
- após 3 dias (temperatura ambiente de 25-32 °C)

Para todos os analisadores:
- conforme necessário: p. ex., em resultados de ensaios de controlo da qualidade fora dos limites especificados.

Controlo da qualidade
Para o controlo de qualidade, utilize Elecsys PreciControl MultiAnalyte 1 e 2 ou Elecsys PreciControl Universal 1 e 2.
Adicionalmente, pode ser utilizado outro material de controlo adequado.

Insulin

Insulin

cobas®

Efectue os controlos dos diversos intervalos de concentração como determinações simples, pelo menos uma vez em cada 24 horas, quando o teste estiver a ser utilizado, uma vez por dispositivo de reagentes e após cada calibração. Os intervalos e limites de controlo devem ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos.
Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites.
Cumpra os regulamentos governamentais aplicáveis e as directrizes locais de controlo da qualidade.
Nota: Os controlos comerciais podem conter insulina de origem animal. Ao avaliar os resultados, tem de ser tida em consideração a reactividade cruzada correspondente deste teste; consulte "Especificidade analítica".

Cálculo dos resultados
O analisador calcula automaticamente a concentração de analito de cada amostra (em µU/mL ou pmol/L).

Factores de conversão: µU/mL x 6,945 = pmol/L
pmol/L x 0,144 = µU/mL

Limitações – interferências
O ensaio não é afectado pela icterícia (bilirrubina < 1539 µmol/L ou < 90 mg/dL), lipemia (Intralipid < 1800 mg/dL) e biotina < 246 nmol/L ou < 60 ng/mL. Critério: Recuperação dentro de ± 10 % do valor inicial. A hemólise interfere.
Nos doentes em tratamento com doses elevadas de biotina (i.e. > 5 mg/dia), as amostras só deverão ser colhidas no mínimo 8 horas após a última administração de biotina.
Não foi observada interferência dos factores reumatóides até a uma concentração de 18900 UI/mL.
Não foi observado qualquer efeito "high-dose hook" em concentrações de insulina até 20000 µU/mL ou 138900 pmol/L.
Foram efectuados testes in vitro com 20 fármacos frequentemente utilizados. Não se encontrou qualquer interferência com o ensaio.
As amostras de doentes tratados com insulina bovina, suína ou humana por vezes contêm anticorpos anti-insulina que podem afectar os resultados do teste.[2,8,9]
Em casos isolados podem ocorrer interferências devido a títulos extremamente elevados de anticorpos contra anticorpos específicos do analito (como o HAMA), contra a estreptavidina e contra o ruténio. Estes efeitos são minimizados por um desenho de teste adequado.
Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a história clínica do paciente, o exame clínico e outros resultados.

Intervalo de medição
0,200-1000 µU/mL ou 1,39-6945 pmol/L (definido pelo limite de detecção inferior e pelo máximo da curva principal). Os valores inferiores ao limite de detecção são indicados como < 0,200 µU/mL (< 1,39 pmol/L) e os valores acima do intervalo de medição como > 1000 µU/mL (> 6945 pmol/L).

Diluição
Não necessária devido à grande amplitude do intervalo de medição.

Valores de referência
Os estudos feitos com o ensaio Elecsys Insulin, num centro clínico alemão, com amostras de 57 indivíduos saudáveis, em jejum, produziram os seguintes resultados (intervalo do percentil 5-95):
2,6-24,9 µU/mL (17,8-173 pmol/L)

Status: Elecsys Insulin MCE nos analisadores Elecsys 1010/2010, Estudo Nº.: B99P027 de 29 Março de 2001.
Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores teóricos para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

Dados específicos sobre o desempenho
São apresentados a seguir dados representativos do desempenho nos analisadores. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

Precisão
A reprodutibilidade foi determinada com reagentes Elecsys, uma pool de soros humanos e controlos de acordo com um protocolo modificado (EP5-A) do NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards): 6 vezes por dia durante 10 dias (n = 60), precisão intra-ensaio no analisador MODULAR ANALYTICS E170, n = 21. Obtiveram-se os seguintes resultados:

Analisadores Elecsys 1010/2010 e **cobas e** 411								
			Precisão intra-ensaio			**Precisão total**		
Amostra	Média		DP		CV	DP		CV
	µU/mL	pmol/L	µU/mL	pmol/L	%	µU/mL	pmol/L	%
SH[b] 1	6,36	44,2	0,12	0,83	1,9	0,16	1,11	2,6
SH 2	20,9	145	0,39	2,71	1,9	0,59	4,10	2,8
SH 3	747	5188	15,1	105	2,0	18,6	129	2,5
PC U[c]1	25,2	175	0,38	2,64	1,5	0,62	4,31	2,5
PC U2	88,3	613	1,53	10,6	1,7	1,87	13,0	2,1

b) SH = Soro humano
c) PC U = PreciControl Universal

Analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e **cobas e** 601										
	Precisão intra-ensaio					**Precisão total**				
Amostra	Média		DP		CV	Média		DP		CV
	µU/mL	pmol/L	µU/mL	pmol/L	%	µU/mL	pmol/L	µU/mL	pmol/L	%
SH 1	5,93	41,2	0,09	0,62	1,5	6,85	47,6	0,34	2,33	4,9
SH 2	14,5	101	0,13	0,92	0,9	16,7	116	0,62	4,28	3,7
SH 3	49,9	346	0,58	4,05	1,2	55,1	383	1,86	12,9	3,4
SH 4	399	2768	3,32	23,1	0,8	425	2949	10,0	69,6	2,4
PC U1	26,9	187	0,19	1,34	0,7	22,5	156	1,03	7,17	4,6
PC U2	78,3	544	0,68	4,75	0,9	76,9	534	2,02	14,0	2,6

Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)
0,20 µU/mL (1,39 pmol/L)
O limite de detecção representa o nível de analito mais baixo mensurável passível de ser distinguido de zero. É calculado como o valor situado dois desvios padrão (DP) acima do padrão mais baixo (calibrador principal, padrão 1 + 2 DP, precisão intra-ensaio, n = 21).

Comparação dos métodos
a) Uma comparação do teste Elecsys Insulin (y) com o método Enzymun-Test Insulin (x), utilizando amostras clínicas, teve como resultado as seguintes correlações (em µU/mL):
Número de amostras medidas: 99

Passing/Bablok[10]	Regressão linear
y = 1,00x - 1,16	y = 0,92x + 0,59
τ = 0,844	r = 0,958

As concentrações das amostras variaram entre aprox. 3,9-80 µU/mL (aprox. 27-550 pmol/L).

b) Uma comparação do teste Elecsys Insulin (y) com um teste de insulina à venda no mercado (x), utilizando amostras clínicas, teve como resultado as seguintes correlações (em µU/mL):
Número de amostras medidas: 99

Passing/Bablok[10]	Regressão linear
y = 0,89x - 0,62	y = 0,93x - 1,02
τ = 0,935	r = 0,981

As concentrações das amostras variaram entre aprox. 1-118 µU/mL (aprox. 7-820 pmol/L).

Especificidade analítica
No caso dos anticorpos monoclonais utilizados, observaram-se as seguintes reacções cruzadas:

	Substância testada	% de reactividade cruzada
Insulina bovina	17360 pmol/L	25,0
Insulina suína	8334 pmol/L	19,2
Pró-insulina humana	1000 ng/mL	0,05
Peptídeo C	100 ng/mL	n.d.[d]
Glucagon	1000 pg/mL	n.d.
Somatostatin	100 pg/mL	n.d.
Factor de crescimento I tipo insulina	6579 pmol/L	0,04

d) n.d. = não detectável

Os resultados obtidos para a reactividade cruzada com análogos recombinantes da insulina em vários métodos para determinação da insulina foram publicados, por exemplo, por duas equipas em França e nos EUA.[9,11,12] Owen et al.[11] obtiveram os seguintes resultados para o teste Elecsys Insulin: A insulina lispro, a insulina aspart, e a insulina glargine foram testadas cada uma em concentrações de 30, 100, 300, e 1000 mUI/L na ausência total de insulina. Os resultados obtidos foram inferiores ao limite de detecção do teste Elecsys Insulin (< 0,2 µU/mL ou < 1,39 pmol/L) para todas as concentrações testadas.
Além disso, os resultados estão correlacionados com os publicados previamente por Sapin et al. para insulina lispro.[9]

Bibliografia

1. Lang DA, Matthews DR, Peto J, Turner RC. Cyclic oscillations of basal plasma glucose and insulin concentrations in human beings. N Engl J Med 1979;301:1023-1027.
2. Fiedler H. Basiswissen Labordiagnostik: Diabetes mellitus und metabolisches Syndrom. Broschüre Roche Diagnostics 1999;14,67 Best.-Nr. 1951769.
3. Arnqvist H, Olsson PO, von Schenck H. Free and Total Insulin as Determined after Precipitation with Polyethylene Glycol: Analytical Characteristics and Effects of Sample Handling and Storage. Clin Chem 1987;33(1):93-96.
4. Gerbitz KD. Pankreatische B-Zellen Peptide: Kinetik und Konzentration von Proinsulin, Insulin und C-Peptid in Plasma und Urin, Probleme der Meßmethoden, klinische Aussage und Literaturübersicht. J Clin Chem Clin Biochem 1980;18(6):313-326.
5. Clark PM. Assays for insulin, proinsulin(s) and C-peptide. Ann Clin Biochem 1999;36(5):541-564.
6. Chevenne D, Letailleur A, Trivin F, Porquet D. Effect of Hemolysis on the Concentration of Insulin in Serum Determined by RIA and IRMA. Clin Chem 1998;44(2):354-356.
7. DG Klinische Chemie Mitteilungen 1995;26(5):207-224.
8. Tietz NW. Clinical Guide To Laboratory Tests. 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co, 1995:366-367.
9. Sapin R, Le Galudec V, Gasser F, Pinget M, Grucker D. Elecsys Insulin Assay: Free Insulin Determination and the Absence of Cross-Reactivity with Insulin Lispro. Clin Chem 2001;47:602-605.
10. Passing H, Bablok W, et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.
11. Owen WE, Roberts WL. Letter to the Editor: Cross-Reactivity of Three Recombinant Insulin Analogs with Five Commercial Insulin Immunoassays. Clin Chem 2004;50(1):257-259.
12. Sapin R. Review: Insulin Assays: Previously Known and New Analytical Features. Clin Lab 2003;49(3-4):113-121.

Para mais informações, consulte o manual do operador adequado ao analisador, as folhas de aplicação respectivas, a informação do produto e os folhetos informativos de todos os componentes necessários.

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem. As alterações dos parâmetros de teste do código de barras do reagente que já foram introduzidas devem ser editadas manualmente.
© 2009, Roche Diagnostics

Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim