

IMMULITE®

Insulin

For use on the IMMULITE®
and IMMULITE® 1000 systems

DPC®

IMMULITE®/IMMULITE 1000 Insulin

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE and IMMULITE 1000 Analyzers — for the quantitative measurement of insulin in, serum or heparinized plasma, for the management of diabetes.

Catalog Number: **LKIN1** (100 tests), **LKIN5** (500 tests)

Test Code: **INS** Color: **Orange**

Summary and Explanation

Human insulin is a polypeptide hormone originating in the beta cells of the pancreas and serving as a principal regulator for the storage and production of carbohydrates. Its secretion is normally stimulated by increases in the amount of glucose in circulation. This leads to higher insulin levels and more rapid tissue-assimilation of glucose — followed by a decline in the insulin level as the glucose level subsides.

In a number of conditions, notably insulinoma and diabetes, this relationship is impaired. Insulin tends to circulate at inappropriately high levels in patients with insulin-secreting pancreatic tumors; such tumors can thus be a cause of hypoglycemia. Accordingly, insulin immunoassays — used sometimes in connection with provocative doses of tolbutamide or calcium — play an essential role in the identification (and localization) of insulinomas. The finding of fasting hypoglycemia in association with an *inappropriately high* serum insulin concentration is considered diagnostic.

Insulin levels do not figure in the subclassification of diabetes worked out by the National Diabetes Data Group. Nevertheless, when obtained in the course of a glucose tolerance test, they appear to be of some prognostic value in predicting the benefits of insulin therapy and the likelihood of progression to insulin-dependence and the complications (such as retinopathy) characteristic of diabetes.

The application of insulin immunoassay to patients already undergoing insulin therapy is complicated by the fact that such therapy typically leads to the formation of anti-insulin antibodies capable of interfering with the assay. Some investigators have sought therefore to measure insulin in urine, or in serum samples subjected to column chromatography or PEG precipitation. But the measurement of "free" insulin remains of limited interest as a technique for monitoring insulin therapy in the absence of statistics establishing therapeutic or toxic ranges. So far, it appears that glucose control in diabetics cannot in general be achieved by normalizing the insulin profile. Nor is it known at what point abnormally high insulin levels become dangerous.

Principle of the Procedure

IMMULITE/IMMULITE 1000 Insulin is a solid-phase, two-site chemiluminescent immunometric assay.

Incubation Cycles: 1 × 60 minutes.

Specimen Collection

EDTA tubes should *not* be used in the IMMULITE/IMMULITE 1000 Insulin procedure.

In collecting samples for insulin determinations, it is important to avoid hemolysis, which can lead to spuriously low values.^{22,23}

Icteric, lipemic, or grossly contaminated samples may give erroneous results.

Centrifuging serum samples before a complete clot forms may result in the presence of fibrin. To prevent erroneous results due to the presence of fibrin, ensure that complete clot formation has taken place prior to centrifugation of samples. Some samples, particularly those from patients receiving anticoagulant therapy, may require increased clotting time.

Blood collection tubes from different manufacturers may yield differing values, depending on materials and additives, including gel or physical barriers, clot activators and/or anticoagulants.

IMMULITE/IMMULITE 1000 Insulin has not been tested with all possible variations of tube types. Consult the section on Alternate Sample Types for details on tubes that have been tested.

Volume Required: 100 μ L serum or heparinized plasma. (Sample cup must contain at least 250 μ L more than the total volume required.)

Storage: 7 days at 2–8°C, or 3 months at –20°C.²¹

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.

Reagents: Store at 2–8°C. Dispose of in accordance with applicable laws.

Follow universal precautions, and handle all components as if capable of transmitting infectious agents. Source materials derived from human blood were tested and found nonreactive for syphilis; for antibodies to HIV 1 and 2; for hepatitis B surface antigen; and for antibodies to hepatitis C.

Sodium azide, at concentrations less than 0.1 g/dL, has been added as a preservative. On disposal, flush with large volumes of water to prevent the buildup of potentially explosive metal azides in lead and copper plumbing.

Chemiluminescent Substrate: Avoid contamination and exposure to direct sunlight. (See insert.)

Water: Use distilled or deionized water.

Materials Supplied

Components are a matched set. The barcode labels are needed for the assay.

Insulin Test Units (LIN1)

Each barcode-labeled unit contains one bead coated with monoclonal murine anti-insulin. Stable at 2–8°C until expiration date.

LKIN1: 100 units. **LKIN5:** 500 units.

Allow the Test Unit bags to come to room temperature before opening. Open by cutting along the top edge, leaving the ziplock ridge intact. Reseal the bags to protect from moisture.

Insulin Reagent Wedge (LIN2)

With barcode. 7.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal sheep anti-insulin antibody and alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to monoclonal murine anti-insulin antibody in buffer, with preservative. Store capped and refrigerated: stable at 2–8°C until expiration date. Recommended usage is within 30 days after opening when stored as indicated.

LKIN1: 2 wedges. **LKIN5:** 10 wedges.

Insulin Adjustors (LINL, LINH)

Two vials (Low and High) of lyophilized insulin in a nonhuman serum matrix, with preservative. At least 30 minutes before use, reconstitute each vial by adding **4.0 mL** distilled or deionized water. Mix by *gentle* swirling or inversion. Aliquot and freeze: stable at –20°C for 60 days after reconstitution.

LKIN1: 1 set. **LKIN5:** 2 sets.

Insulin Controls (LINC1, LINC2)

Two vials of lyophilized insulin in a nonhuman serum matrix, with preservative. Reconstitute each vial by adding **4.0 mL** distilled or deionized water. Mix by *gentle* swirling or inversion. Aliquot and freeze: stable at –20°C for 60 days after reconstitution. Refer to Insulin Control insert for the respective concentrations in μ IU/mL.

LKIN1: 1 set. **LKIN5:** 2 sets.

Kit Components Supplied Separately

Insulin Sample Diluent (LINZ)

For the manual dilution of samples. One vial with 25 mL of ready-to-use, insulin-free nonhuman serum matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

LSUBX: Chemiluminescent Substrate

LPWS2: Probe Wash Module

LKPM : Probe Cleaning Kit

LCHx-y: Sample Cup Holders (barcoded)

LSCP: Sample Cups (disposable)

LSCC: Sample Cup Caps (optional)

Also Required

Sample transfer pipets, distilled or deionized water.

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual.

See the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual for: preparation, setup, adjustment, assay and quality control procedures.

Visually inspect each Test Unit for the presence of a bead before loading it onto the system.

Sample cup must contain at least 250 μL more than the total volume required. Each Sample cup holder can be followed by up to four test units.

Recommended Adjustment Interval:
4 weeks.

Quality Control Samples: Use Insulin Controls supplied with the kit.

Expected Values

A study performed on 83 fasting, apparently healthy laboratory volunteers yielded a median of 8.9 $\mu\text{IU/mL}$ and a lower 95% range of up to 28.4 $\mu\text{IU/mL}$.

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

Circulating anti-insulin antibodies are often found in patients who have been treated with nonhuman forms of insulin. If present, these antibodies may interfere with the assay.

For individuals who are significantly overweight, fasting insulin levels are typically somewhat higher than for adults of normal weight.

EDTA plasma has an effect on the measurement of insulin in the IMMULITE/IMMULITE 1000 Insulin procedure.

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Samples from patients routinely exposed to animals or animal serum

products can demonstrate this type of interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in $\mu\text{IU/mL}$. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Calibration Range: Up to 300 $\mu\text{IU/mL}$ (WHO NIBSC 1st IRP 66/304).

Analytical Sensitivity: 2 $\mu\text{IU/mL}$.

High-dose Hook Effect:
None up to 70,000 $\mu\text{IU/mL}$.

Precision: Samples were assayed in duplicate over the course of 20 days, two runs per day, for a total of 40 runs and 80 replicates. (See "Precision" table.)

Linearity: Samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with three insulin solutions (280, 960 and 2,000 $\mu\text{IU/mL}$) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is specific for insulin. (See "Specificity" table.)

Bilirubin: Severe icterus (bilirubin up to 100 or 200 mg/L) may cause a depression of values. (See "Bilirubin" table.)

Hemolysis: May cause a depression of values. (See "Hemolysis" table.)

Lipemia: Presence of triglycerides may cause a depression of values. (See "Lipemia" table.)

Alternate Sample Type: To assess the effect of alternate sample types, blood was collected from 18 volunteers into plain glass and plastic serum tubes, plastic heparinized and EDTA tubes, sodium fluoride and plastic gel barrier tubes (SST[®]). All tubes were from Becton

Dickinson. Eight samples were spiked with insulin to provide values throughout the calibration range of the assay. All samples were assayed by the IMMULITE Insulin procedure, with the following results. By linear regression:

(Serum Glass) = 1.06 (Serum Plastic) – 0.6 µIU/mL
r = 0.997

(Na Heparin Plastic) = 1.06 (Serum Plastic) + 0.98 µIU/mL
r = 0.995

(SST Plastic) = 0.996 (Serum Plastic) + 1.2 µIU/mL
r = 0.996

(NaFI Plastic) = 0.892 (Serum Plastic) – 8.0 µIU/mL
r = 0.994

(EDTA Plastic) = 0.31 (Serum Plastic) – 1.4 µIU/mL
r = 0.997

Means:

87.5 µIU/mL (Serum Plastic)
92.4 µIU/mL (Serum Glass)
93.5 µIU/mL (Na Heparin Plastic)
88.3 µIU/mL (SST Plastic)
70.0 µIU/mL (NaFI Plastic)
25.7 µIU/mL (EDTA Plastic)

EDTA plasma is not suitable for use.
Sodium fluoride causes a depression in values.

Method Comparison: The assay was compared to DPC's IMMULITE 2000 Insulin on 270 samples. (Concentration range: approximately 2 to 291 µIU/mL. See graph.) By linear regression:

(IML) = 1.04 (IML 2000) + 0.2 µIU/mL
r = 0.989

Means:

23.6 µIU/mL (IMMULITE)
22.5 µIU/mL (IMMULITE 2000)

References

1) Bates HM. Insulinoma and pheochromocytoma. *Lab Management* 1983 (May);21:11–12, 15. 2) Bennett PH. The diagnosis of diabetes; new international classification and diagnostic criteria. *Ann Rev Med* 1983;34:295–309. 3) Berntorp K et al. Relation between plasma insulin and blood glucose in a cross-sectional population study of the oral glucose tolerance test. *Acta Endocrinol* 1983;102:549–56. 4) Boehm TM, Lebovitz HE. Statistical analysis of glucose and insulin responses to intravenous tolbutamide: evaluation of hypoglycemic and hyperinsulinemic states. *Diabetes Care* 1979;2:479–90. 5) Fajans SS, Floyd JC. Diagnosis and medical management of insulinomas. *Ann Rev Med* 1979;30:313–29. 6) Hirata Y et al. Autoimmunity in diabetes mellitus. *Gunma Symposia Endocrinol* 1980;17:81–91. 7) Kahn CR, Rosenthal AS. Immunologic reactions

to insulin: insulin allergy, insulin resistance and the autoimmune insulin syndrome. *Diabetes Care* 1979;2:283–95. 8) Kaplan EL, Rubinstein AH et al. Calcium infusion: a new provocative test for insulinomas. *Annals Surgery* 1979;190:501–7. 9) Malone JI, Root AW. Plasma free insulin concentrations: keystone to effective management of diabetes mellitus in children. *J Pediatr* 1981;99:862–7. See also *ibid* 1983;102:800–2. 10) Marschner I et al. Group experiments on the radioimmunological insulin determination. *Horm Metabol Res* 1974;6:293–6. 11) National Diabetes Data Group. Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes* 1979;28:1039–57. 12) Pfeifer MA et al. Insulin secretion in diabetes mellitus. *Am J Med* 1981;70:579–88. 13) Reeves WG. Insulin antibody determination: theoretical and practical considerations. *Diabetologia* 1983;24:399–403. 14) Sachse G, Willms B. Klinische Bedeutung der Seruminsulinbestimmung: Diagnose und Prognose bei drohendem Sekundärversagen der Sulfonylharnstofftherapie. *Medizin Klinik* 1979;74:1635–40. 15) Schade DS, Eaton RP, Spencer W. Normalization of plasma insulin profiles in diabetic subjects with programmed insulin delivery. *Diabetes Care* 1980;3:9–14. 16) Service FJ et al. Insulinoma: clinical and diagnostic features of 60 consecutive cases. *Mayo Clinic Proceed* 1976;51:417–29. 17) Turkington RW, Estkowski A, Link M. Secretion of insulin or connecting peptide; a predictor of insulin dependence of obese diabetics. *Arch Intern Med* 1982;142:1102–5. 18) Turkington RW, Weindling HK. Insulin secretion in the diagnosis of adult-onset diabetes mellitus. *JAMA* 1978;240:833–36. See also *ibid* 1979;241:1462–3. 19) Yalow R, Bauman WA. Plasma insulin in health and disease. In: Ellenberg M, Rifkin H, editors. *Diabetes mellitus; theory and practice*. New York: Excerpta Medica, 1983: 119–50. 20) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard. 4th ed. NCCLS Document H3-A4, Wayne, PA: NCCLS, 1998. 21) Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz textbook of clinical chemistry*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1994:943–4. 22) Sapin R, Ongagna JC, Gasser F, Grucker D. Insulin measurements in haemolysed serum; influence of insulinase inhibitors. *Clin Chim Acta* 1998;274:111–7. 23) 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;44:354–6.

Technical Assistance

In the United States, contact DPC's Technical Services department.
Tel: 800.372.1782 or 973.927.2828
Fax: 973.927.4101. Outside the United States, contact your National Distributor.

Tables and Graphs

Precision (µIU/mL)

	Mean ³	Within-Run ¹		Total ²	
		SD ⁴	CV ⁵	SD	CV
1	7.39	0.47	6.4%	0.59	8.0%
2	12.3	0.65	5.3%	0.74	6.0%
3	17.8	1.08	6.1%	1.26	7.1%
4	25.5	1.46	5.7%	1.50	5.9%
5	102	5.26	5.2%	6.20	6.1%
6	300	15.8	5.3%	21.0	7.0%

Linearity (µIU/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	8 in 8	118	—	—
	4 in 8	51.7	59.0	88%
	2 in 8	27.8	29.5	94%
	1 in 8	14.8	14.8	100%
2	8 in 8	119	—	—
	4 in 8	61.5	59.5	103%
	2 in 8	34.7	29.8	116%
	1 in 8	17.6	14.9	118%
3	8 in 8	120	—	—
	4 in 8	63.8	60.0	106%
	2 in 8	33.5	30.0	112%
	1 in 8	17.3	15.0	115%
4	8 in 8	125	—	—
	4 in 8	57.0	62.5	91%
	2 in 8	30.8	31.3	98%
	1 in 8	15.6	15.6	100%
5	8 in 8	128	—	—
	4 in 8	54.2	64.0	85%
	2 in 8	28.7	32.0	90%
	1 in 8	14.7	16.0	92%

Recovery (µIU/mL)

	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	13.2	—	—
	A	28.5	26.5	108%
	B	59.7	60.5	99%
	C	96.0	113	85%
2	—	16.9	—	—
	A	29.5	30.1	98%
	B	58.6	64.1	91%
	C	98.0	116	84%
3	—	20.0	—	—
	A	33.1	33.0	100%
	B	63.7	67.0	95%
	C	108	119	91%
4	—	26.2	—	—
	A	38.0	38.9	98%
	B	66.6	72.9	91%
	C	108	125	86%
5	—	32.1	—	—
	A	43.6	44.5	98%
	B	79.4	78.5	101%
	C	121	130	93%
6	—	43.6	—	—
	A	51.7	55.4	93%
	B	84.8	89.4	95%
	C	125	141	89%

Specificity

Compound ¹	ng/mL Added ²	%Cross-reactivity ³
C-Peptide	1,000	ND
Glucagon	1,000	ND
Proinsulin	10	8.5%

ND: not detectable.⁴

Bilirubin

	Unspiked ¹	Conjugated ²		Unconjugated ³	
		100 mg/L	200 mg/L	100 mg/L	200 mg/L
1	6.90	5.25	5.30	5.35	4.55
2	15.5	12.2	12.7	11.5	11.0
3	20.6	16.1	15.3	15.1	14.4
4	70.8	58.6	57.4	54.0	50.7
5	285	189	208	202	193

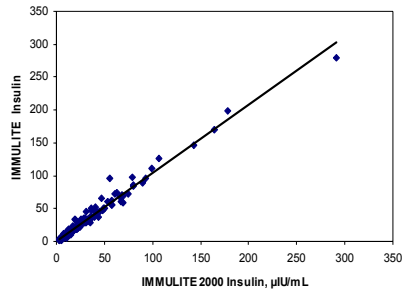
Hemolysis

	Unspiked	Hemoglobin			
		157 mg/dL	314 mg/dL	550 mg/dL	550 mg/dL
1	7.15	6.30	6.25	5.50	
2	15.1	14.9	14.2	12.7	
3	20.4	19.0	17.7	14.4	
4	71.1	66.0	61.3	52.9	
5	279	264	240	201	

Lipemia

	Triglycerides Added mg/dL	Observed	Expected	%O/E
1	1,000	5.0	5.7	88%
	2,000	4.4	5.4	81%
	3,000	4.0	5.1	78%
2	—	17.0	—	—
	1,000	15.1	16.2	93%
	2,000	12.8	15.3	84%
3	—	24.2	—	—
	1,000	22.8	23.0	99%
	2,000	21.6	21.8	99%
4	—	96.0	—	—
	1,000	92.7	91.2	102%
	2,000	89.6	86.4	104%
5	—	287	—	—
	1,000	256	273	94%
	2,000	259	258	100%
6	—	287	—	—
	1,000	256	273	94%
	2,000	259	258	100%
7	—	287	—	—
	1,000	256	273	94%
	2,000	259	258	100%

Method Comparison



$$(IML) = 1.04 (IML 2000) + 0.2 \mu IU/mL$$

$$r = 0.989$$

Deutsch. Precision: ¹Intra-Assay, ²Gesamt, ³Mittelwert, ⁴S (Standardabweichung), ⁵CV (Variationskoeffizient). **Linearity:** ¹Verdünnung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E, ⁵8 in 8. **Recovery:** ¹Probe, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E. **Specificity:** ¹Verbindung, ²zugesetzte Menge, ³% Kreuzreaktivität, ⁴NN:

Nicht nachweisbar. **Bilirubin:** ¹Ohne Zugabe von. **Method Comparison:** Insulin: Insülin.

Español. Precision: ¹Intraensayo, ²Total, ³Media, ⁴DS, ⁵CV. **Linearity:** ¹Dilución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 en 8. **Recovery:** ¹Solución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. **Specificity:** ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³% Reacción cruzada, ⁴ND: no detectable. **Bilirubin:** ¹Sin añadir. **Method Comparison:** Insulin: Insulina.

Français. Precision: ¹Intraessai, ²Total, ³Moyenne, ⁴SD, ⁵CV. **Linearity:** ¹Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A, ⁵8 dans 8. **Recovery:** ¹Solution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A. **Specificity:** ¹Composé, ²ajouté, ³Réaction croisée %. ⁴ND: non détectable. **Bilirubin:** ¹Non chargés. **Method Comparison:** Insulin: Insuline.

Italiano. Precision: ¹Intra-serie, ²Totale, ³Media, ⁴SD (Deviazione Standard), ⁵CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity:** ¹Diluizione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A, ⁵8 in 8. **Recovery:** ¹Soluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A. **Specificity:** ¹Composto, ²quantità aggiunta, ³Percentuale di Crossreattività, ⁴ND: non determinabile. **Bilirubin:** ¹Semplice, senza. **Method Comparison:** Insulin: Insulina.

Português. Precision: ¹Entre-ensaios, ²Total, ³Média, ⁴Desvio padrão, ⁵Coeficiente de variação. **Linearity:** ¹Diluição, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 em 8. **Recovery:** ¹Solução, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. **Specificity:** ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³Percentagem de reação cruzada, ⁴ND: não detectável. **Bilirubin:** ¹Não adicionada. **Method Comparison:** Insulin: Insulina.

Deutsch

Insulin

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE und IMMULITE 1000 Systeme – zur quantitativen Messung von Insulin im Serum und Heparin-Plasma, für das Disease-Management von Diabetes.

Artikelnummern:

LKIN1 (100 Tests)

LKIN5 (500 Tests)

Testcode: **INS** Farbe: **orange**

Klinische Relevanz

Humanes Insulin ist ein Polypeptidhormon, das in den Beta-Zellen des Pankreas gebildet wird und als Regulator für die Speicherung und Produktion von Kohlehydraten

verantwortlich ist. Seine Sekretion wird normalerweise durch einen Anstieg der Menge in Zirkulation befindlicher Glukose stimuliert. Dies führt zu höheren Insulinspiegeln und zu schnellerer Gewebsaufnahme von Glukose, gefolgt von einem Absinken des Insulinlevels wenn der Glukosespiegel wieder abnimmt.

Bei einer Reihe von Erkrankungen, insbesondere bei Insulinom und Diabetes ist diese Wechselbeziehung gestört. Bei Patienten mit Insulin-sezierenden pankreatischen Tumoren zirkuliert Insulin in unangemessen hohen Werten und können somit Ursache von Hypoglykämien sein. Demzufolge spielen Insulin Immunoassays — in Verbindung mit der Verwendung von Provokationsdosen von Tolbutamid oder Kalzium — eine wichtige Rolle bei der Identifizierung (und Lokalisierung) von Insulinomen. Das Vorliegen einer durch Fasten bedingten Hypoglykämie in Verbindung mit einem unangemessen hohen Serum-Insulin-Spiegel hat diagnostische Bedeutung.

Insulin-Werte fallen nicht unter die Subklassifizierung für Diabetes, wie sie von der „National Diabetes Data Group“ ausgearbeitet wurden. Dennoch sind Insulin-Werte, nach Durchführung eines Glukose-Toleranztests, von gewissem prognostischem Wert, um den Wert einer Insulintherapie oder der Wahrscheinlichkeit eines Progresses zur Insulinabhängigkeit und den für Diabetes charakteristischen Komplikationen (wie z.B. einer Retinopathie) vorherzusagen.

Die Verwendung von Insulin-Immunoassays bei Patienten unter Insulintherapie ist problematisch durch die Tatsache, dass eine derartige Therapie zur Bildung von anti-Insulin-Antikörpern führt und diese möglicherweise solche Assays beeinträchtigen können. Aus diesem Grund haben einige Wissenschaftler nach Möglichkeiten gesucht Insulin in Urin oder in Serumproben nach Aufbereitung mittels Säulenchromatographie oder PEG-Präzipitation zu bestimmen. Die Bestimmung von „freiem“ Insulin als Methode zum Monitoring einer Insulintherapie ist aber nur von begrenztem Interesse aufgrund des Fehlens von statistischen Angaben zu therapeutischen bzw. toxischen

Bereichen. Eine Glukosekontrolle bei Diabetikern durch Normalisierung des Insulinprofils kann somit nicht generell bewerkstelligt werden. Darüberhinaus ist nicht bekannt, ab welchem Punkt abnormal hohe Insulinspiegel für den Patienten gefährlich werden können.

Methodik

Der IMMULITE/IMMULITE 1000 Insulin ist ein Festphasen-, Zweischnitt-, Chemilumineszenz-, Immunometrischer Assay.

Inkubationszyklen: 1 × 60 min.

Probengewinnung

EDTA-Röhrchen sollten nicht verwendet werden.

Bei der Abnahme von Proben für die Insulin-Bestimmung ist Hämolyse unbedingt zu vermeiden, da diese zu verfälscht niedrigen Ergebnissen führen kann.^{22,23}

Ikerische, lipämische, oder grob kontaminierte Proben können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analyseergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantien-therapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Blutentnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von den verwendeten Materialien und Additiven (Gel oder physische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und /oder Antikoagulantien) ab. IMMULITE/IMMULITE 1000 Insulin ist nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 100 µl Serum oder Heparin-Plasma. (Inhalt der Probenschale muss mindestens 250 µl über der erforderlichen Gesamtmenge liegen.)

Lagerung: 7 Tage bei 2–8°C oder 3 Monate bei –20°C.²¹

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.

Reagenzien: Bei 2–8 C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (<0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu vermeiden, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chemilumineszenz-Substrat:

Kontamination und direkte Sonneneinstrahlung vermeiden. Siehe Packungsbeilage.

Wasser: Destilliertes oder deionisiertes Wasser verwenden.

Im Lieferumfang enthalten

Die Komponenten sind aufeinander abgestimmt. Die Barcode-Etiketten werden für den Assay benötigt.

Insulin-Testeinheiten (LIN1)

Jede mit Barcode-Etikette versehene Einheit enthält eine mit einem monoklonalem Anti-Insulin-Mausantikörper beschichtete Kugel. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

LKIN1: 100 Testeinheiten.

LKIN5: 500 Testeinheiten.

Verpackte Testeinheiten vor dem Öffnen stehen lassen, bis sie Zimmertemperatur erreicht haben. Oben entlang der Kante aufschneiden, ohne den Plastikverschluss zu beschädigen. Verpackungen wieder dicht verschließen, damit der Inhalt trocken bleibt.

Insulin- Reagenzbehälter (LIN2)

Mit Barcode. 7,5 ml mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugiertes polyklonales Anti-Insulin- (Schaf) und alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugiertes monoklonales Anti-Insulin (Maus) in Pufferlösung, mit Konservierungsmittel. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar. Bei entsprechender Lagerung beträgt die empfohlene Aufbewahrungsfrist nach dem Öffnen 30 Tage.

LKIN1: 2 Behälter.

LKIN5: 10 Behälter.

Insulin- Kalibratoren (LINL, LINH)

Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit lyophilisiertem Insulin in einer nichthumanen Serummatrix (mit Konservierungsmittel). Mindestens 30 Minuten vor dem Gebrauch die Fläschchen mit je **4,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Zum Mischen leicht schwenken oder umdrehen. Aliquotieren und einfrieren. Nach Rekonstituierung 60 Tage bei –20°C haltbar.

LKIN1: 1 Set.

LKIN5: 2 Sets.

Insulin-Kontrollen (LINC1, LINC2)

Zwei Fläschchen mit lyophilisiertem Insulin in einer nichthumanen Serummatrix (mit Konservierungsmittel). Fläschchen mit je **4,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Zum Mischen *leicht* schwenken oder umdrehen. Aliquotieren und einfrieren: Nach Rekonstituierung 60 Tage bei –20°C haltbar. Die Konzentrationen entnehmen Sie bitte der Beilage zu den Insulin Kontrollen.

LKIN1: 1 Set.

LKIN5: 2 Sets.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten**Insulin-Verdünnungspuffer (LINZ)**

Zum manuellen Verdünnen der Patientenproben. Ein Fläschchen (25 ml) mit Insulin-freier nichthumaner Serummatrix (mit Konservierungsmittel). 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).

LSUBX: Chemilumineszenz-Substrat

LPWS2: Pipettenwaschlösung

LKPM: Pipettenreinigungsset

LCHx-y: Halterungen für die

Probenschalen (mit Barcodierung)

LSCP: Probenschalen (Einwegartikel)

LSCC: Verschlüsse für die Probenschalen (optional)

Ebenfalls benötigt

Transferpipetten für die Proben; destilliertes bzw. deionisiertes Wasser.

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im IMMULITE oder IMMULITE 1000-Handbuch beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Das Handbuch für das IMMULITE oder IMMULITE 1000 enthält die Anweisungen für: Vorbereitung, Geräteeinstellungen, Kalibrierung, Testdurchführung und Qualitätskontrollen.

Überprüfen Sie jedes Testeinheit auf das Vorhandensein der Polystyrol-Kugel vor dem Einsetzen in das Gerät.

Inhalt der Probenschale muss mindestens 250 µl über der erforderlichen Gesamtmenge liegen. Hinter jedem Probenaufnahmegefäß können bis zu 4 Testeinheiten nachfolgen.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:

4 Wochen.

Proben zur Qualitätskontrolle: Die im Lieferumfang enthaltenen Kontrolle(n) verwenden.

Referenzwerte

Im Rahmen einer Studie anhand von 83 nüchternen gesunden Probanden wurde ein Median von 8,9 µIU/ml, bei einem unteren 95% Vertrauensbereich bis zu 28,4 µIU/ml ermittelt.

Diese Grenzwerte sind lediglich als *Richtlinien* aufzufassen. Jedes Labor sollte seine eigenen Referenzbereiche etablieren.

Grenzen der Methode

Patienten, die mit nicht-humanen-Insulin Präparationen therapiert wurden, zeigen häufig zirkulierende Anti-Insulin-Antikörper. Diese Insulin-Antikörper

können mit dem Immunoassay interferieren und die Messung stören. Für stark übergewichtige Personen werden im Allgemeinen höhere "Nüchternwerte" gefunden als für normalgewichtige Erwachsene.

Bei stark übergewichtigen Personen werden im Allgemeinen etwas höhere Nüchtern-Insulinspiegel gefunden als bei normalgewichtigen Erwachsenen.

Die Verwendung von EDTA Plasma verfälscht die Insulin-Bestimmung mit dem IMMULITE/IMMULITE 1000 Insulin Test.

Heterophile Antikörper in Humansenen können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen innerhalb des *in vitro* Immunoassays verursachen. (Clin. Chem. 1988;34:27-33) Proben von Patienten, die häufig mit Tier- bzw. Tierserumprodukten zu tun haben, können die erwähnten Interferenzen verursachen und zu anomalen Resultaten führen. Die verwendeten Reagenzien sind so konzipiert, dass das Risiko einer Interferenz mit den zu messenden Proben minimiert ist. Dennoch können potentiell Interaktionen zwischen seltenen Seren und den Testkomponenten auftreten. Zu diagnostischen Zwecken sollten die mit dem Assay erhaltenen Ergebnisse immer in Kombination mit der klinischen Untersuchung, der Patientenanamnese und anderen Befunden gesehen werden.

Leistungsdaten

Siehe Tabellen und Grafiken mit *repräsentativen* Daten für den Assay. Die Ergebnisse sind als $\mu\text{U/ml}$ ausgedrückt. (Alle Daten wurden – sofern nicht anders angegeben – aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Messbereich: Bis 300 $\mu\text{U/ml}$ (WHO NIBSC 1st IRP 66/304).

Analytische Sensitivität: 2 $\mu\text{U/ml}$.

High-Dose-Hook-Effect: Bis 70 000 $\mu\text{U/ml}$ keiner.

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen; siehe Tabelle „Precision“).

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Linearity“.)

Wiederfindung: Die getesteten Proben waren mit drei Insulin-Lösungen 1:19 versetzt (280, 960 und 2 000 $\mu\text{U/ml}$). (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

Spezifität: Der verwendete Antikörper ist hochspezifisch für Insulin (siehe Tabelle „Specificity“).

Bilirubin: Stark ikterische Proben (Bilirubin bis zu 100 oder 200 mg/l) können zu einer Erniedrigung der Werte führen (siehe Tabelle „Bilirubin“).

Hämolyse: kann eine Erniedrigung der Werte verursachen. (siehe Tabelle „Hemolysis“).

Lipämie: Das Vorliegen von Triglyceriden kann eine Erniedrigung der Werte verursachen. (siehe Tabelle „Lipemia“).

Alternative Probenarten: Um den Effekt verschiedener Probenarten abzuschätzen wurde Blut von 18 freiwilligen Spendern in Glas- und Plastik-Serumröhrchen gesammelt. Zusätzlich wurden Plastik-, -Heparin-, -EDTA, Natriumfluorid und -Geltrennröhrchen (SST) verwendet. Alle Röhrchen wurden von Becton Dickinson bezogen. Acht Proben wurden mit Insulin versetzt, um Konzentrationen über den gesamten Kalibrationsbereich des Assays zu erhalten. Alle Proben wurden mit dem IMMULTE Insulin Assay mit den nachfolgend aufgeführten Ergebnissen bestimmt. Durch lineare Regression:

(Serum Glas) = 1,06 (Serum Plastik) – 0,6 $\mu\text{U/ml}$
 $r = 0,997$

(Na Heparin Plastik) = 1,06 (Serum Plastik) + 0,98 $\mu\text{U/ml}$
 $r = 0,995$

(SST Plastik) = 0,996 (Serum Plastik) + 1,2 $\mu\text{U/ml}$
 $r = 0,996$

(NaFl Plastik) = 0,892 (Serum Plastik) – 8,0 $\mu\text{U/ml}$
 $r = 0,994$

(EDTA Plastik) = 0,31 (Serum Plastik) – 1,4 $\mu\text{U/ml}$
 $r = 0,997$

Mittelwerte:

87,5 $\mu\text{U/ml}$ (Serum Plastik)
92,4 $\mu\text{U/ml}$ (Serum Glas)
93,5 $\mu\text{U/ml}$ (Na Heparin Plastik)
88,3 $\mu\text{U/ml}$ (SST Plastik)
70,0 $\mu\text{U/ml}$ (NaFl Plastik)
25,7 $\mu\text{U/ml}$ (EDTA Plastik)

EDTA-Plasma ist nicht zum Einsatz in diesem Assay geeignet. Natriumfluorid drückt die Werte.

Methodenvergleich: Der Assay wurde unter Verwendung von 270 Proben mit dem IMMULITE 2000 Insulin von DPC verglichen. (Konzentrationsbereich ca. 2–291 µIU/ml. Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

$$(IML) = 1,04 (IML 2000) + 0,2 \mu IU/ml$$
$$r = 0,989$$

Mittelwerte:
23,6 µIU/ml (IMMULITE)
22,5 µIU/ml (IMMULITE 2000)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

Hergestellt von Euro/DPC Ltd. unter dem Qualitätssystem ISO 13485:2003.

Español

Insulina

Utilidad del análisis: Para su uso en el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE e IMMULITE 1000 — para la medición cuantitativa de insulina en suero o en plasma heparinizado, para el seguimiento de la diabetes.

Números de Catálogo: **LKIN1** (100 tests), **LKIN5** (500 tests)

Código del Test: **INS** Color: **Naranja**

Resumen y Explicación del Test

La insulina humana es una hormona polipeptídica producida por las células beta del páncreas y cuya función es ser el principal regulador del almacenamiento y la producción de hidratos de carbono. Su secreción se estimula por un aumento de la cantidad de glucosa en sangre, produciendo niveles más altos de insulina y más asimilación de la glucosa por parte de los tejidos, seguido de un descenso del nivel de insulina al mismo tiempo que disminuye el nivel de glucosa.

En muchas situaciones, especialmente en casos de insulinoma y diabetes, esta relación se deteriora. La insulina tiende a

circular a niveles inadecuadamente elevados en pacientes con tumores pancreáticos que segregan insulina, por lo que dichos tumores pueden provocar hipoglucemia; por consiguiente, los inmunoensayos de insulina — a veces empleados junto con dosis provocadoras de tolbutamida o calcio — desempeñan un papel fundamental en la identificación (y localización) de insulinomas. El hallazgo de hipoglucemia en estado de ayunas asociado con una concentración de insulina en suero *inadecuadamente elevada* se considera diagnóstico.

Los niveles de insulina no figuran en la subclasificación de diabetes elaborada por el National Diabetes Data Group (Grupo Nacional de Datos sobre la Diabetes). Sin embargo, cuando se obtienen en el transcurso de un análisis de tolerancia a la glucosa, parecen tener algún valor pronóstico para predecir los beneficios de la terapia de insulina y la probabilidad de progresión para la dependencia de insulina y complicaciones (tales como la retinopatía) características de la diabetes.

La aplicación de inmunoensayos de insulina a pacientes que ya estén siguiendo una terapia con insulina se complica, porque esta terapia provoca la formación de anticuerpos anti-insulina que pueden interferir con el ensayo. Algunos investigadores han conseguido medir muestras de insulina en la orina o en suero sometidas a cromatografía en columna o a una precipitación PEG. Pero la medición de la insulina "libre" tiene un interés limitado como técnica para controlar la terapia de insulina ante la ausencia de datos estadísticos que establezcan intervalos terapéuticos o tóxicos. Por lo general, parece que el control de la glucosa en los diabéticos no puede lograrse normalizando el perfil de insulina. Tampoco se sabe a partir de qué punto los niveles elevados de insulina se vuelven peligrosos.

Principio del análisis

IMMULITE/IMMULITE 1000 Insulina es un ensayo inmunométrico con dos sitios de unión, quimioluminiscente en fase sólida.

Ciclos de incubación: 1 × 60 minutos.

Recogida de la muestra

Los tubos con EDTA no deben utilizarse en el ensayo de insulina de IMMULITE/IMMULITE 1000.

En la toma de muestras para la determinación de insulina, es muy importante evitar la hemólisis, que puede conllevar resultados extremadamente bajos.^{22,23}

Las muestras ictericas, lipémicas, o ampliamente contaminadas pueden dar resultados erróneos.

La centrifugación de las muestras de suero antes de que se forme el coágulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erróneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coágulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulación.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El kit de Insulina IMMULITE/IMMULITE 1000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos. Para obtener detalles sobre los tipos de tubos que se han analizado, consulte la sección de Tipos de Muestras Alternativos.

Volumen requerido: 100 µl de suero o plasma heparinizado. (El recipiente de la muestra debe contener, como mínimo, 250 µl más que el volumen total requerido.)

Conservación: 7 días a 2–8°C, o 3 meses a –20°C.²¹

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo con las normas aplicables.

Siga las precauciones universales y manipule todos los componentes como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Los materiales derivados de sangre humana han sido analizados y son negativos para sífilis; para anticuerpos

frente al HIV 1 y 2; para el antígeno de superficie de hepatitis B y para los anticuerpos de hepatitis C.

Se ha usado Azida sodica, en concentraciones menores de 0,1 g/dl, como conservante. Para su eliminación, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitución de residuos de azidas metálicas, potencialmente explosivas, en las canerías de cobre y plomo.

Sustrato quimioluminiscente: evite la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Use agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Unidades de análisis de Insulina (LIN1)

Cada unidad etiquetada con un código de barras contiene una bola recubierta de anticuerpos monoclonales murinos anti-insulina. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

LKIN1: 100 unidades.

LKIN5: 500 unidades.

Espere a que las bolsas de las unidades de análisis alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlas. Ábralas cortando por el extremo superior, dejando el borde del cierre de cremallera intacto. Vuelva a cerrar las bolsas herméticamente para protegerlas de la humedad.

Vial de reactivo de Insulina (LIN2)

Con códigos de barras. 7,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anticuerpos policlonales de oveja anti-insulina y fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anticuerpos monoclonal de ratón anti-insulina en solución tampón, con conservante. Guardar tapado y refrigerado: estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad. Se recomienda utilizarlo antes de que pasen 30 días después de abrirlo cuando se guarda según lo indicado.

LKIN1: 2 viales. **LKIN5:** 10 viales.

Ajustadores de Insulina (LINL, LINH)

Dos viales (bajo y alto) de insulina liofilizada en una matriz sérica no humana, con conservante. 30 minutos antes de su uso, como mínimo, reconstituya cada vial añadiendo **4,0 ml** de agua destilada o desionizada. Mezcle por agitación o inversión *suave*. Alicuotar y congelar: estable a -20°C durante 60 días tras su reconstitución.

LKIN1: 1 juego. **LKIN5:** 2 juegos.

Controles de Insulina (LINC1–2)

Dos viales de insulina liofilizada en una matriz sérica no humana, con conservante. Reconstituya cada vial añadiendo **4,0 ml** de agua destilada o desionizada. Mezcle por agitación o inversión *suave*. Alicuotar y congelar: estable a -20°C durante 60 días tras su reconstitución. Para las concentraciones respectivas en $\mu\text{U/ml}$, consulte el prospecto Control de la insulina.

LKIN1: 1 juego. **LKIN5:** 2 juegos.

Componentes del kit que se suministran por separado**Diluyente de Insulina (LINZ)**

Para la dilución manual de las muestras de los pacientes. Un vial que contiene 25 ml de una matriz de suero no humano (con conservante), libre de insulina, con conservante. Estable a $2-8^{\circ}\text{C}$ durante 30 días después de abrirse, o hasta 6 meses (aliquotados) a -20°C .

LSUBX: Substrato quimioluminiscente

LPWS2: Lavado de sonda

LKPM: Kit de limpieza de sonda

LCHx-y: Soportes de recipientes de muestras (con códigos de barras)

LSCP: Recipientes de muestras (desechables)

LSCC: Tapas para los recipientes de muestras (opcionales)

También necesario

Pipetas de transferencia de muestras; agua destilada o desionizada.

Ensayo

Aviso: para obtener el funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el manual del operador de IMMULITE o IMMULITE 1000.

Ver el Manual del Operador del IMMULITE o IMMULITE 1000 para: preparación, procesamiento, ajuste, procedimientos de ensayo y control de calidad.

Inspeccionar visulamente cada unidad de reacción para asegurarse de que hay una bola antes de introducirla en el Sistema.

El recipiente de la muestra debe contener, como mínimo, 250 μl más que el volumen total requerido. Cada soporte de recipientes de muestras puede acompañarse de cuatro unidades de reacción como máximo.

Intervalo de ajuste recomendado:

4 semanas.

Muestras para Control de calidad: Use los controles de insulina incluidos en el kit.

Valores Esperados

Un estudio llevado a cabo con 83 voluntarios aparentemente sanos y en ayunas, dió una media de 8,9 $\mu\text{U/ml}$ y un intervalo de referencia inferior al 95% de los sujetos, hasta 28,4 $\mu\text{U/ml}$.

Estos límites han de considerarse sólo como una guía. Cada Laboratorio deberá establecer sus propios rangos de referencia.

Limitaciones

A menudo, se encuentran anticuerpos anti-insulina circulantes en los pacientes tratados con formas de insulina no humanae, interfiriendo en el análisis.

En los individuos con un exceso de peso significativo, los niveles de insulina en ayunas suelen ser algo más altos que en los adultos de peso normal.

El plasma EDTA tiene un efecto en la medición de la insulina en el ensayo de insulina de IMMULITE/IMMULITE 1000.

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente

ocasiona un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en $\mu\text{IU/ml}$. (A no ser que se indique lo contrario, todos los resultados fueron generados en muestras de suero recogidas en tubos sin geles o activadores de la coagulación).

Rango de Calibración: Hasta 300 $\mu\text{IU/ml}$ (WHO NIBSC 1st IRP 66/304).

Sensibilidad: 2 $\mu\text{IU/ml}$

Efecto de gancho a altas dosis: Ninguno hasta 70 000 $\mu\text{IU/ml}$.

Precisión: Las muestras fueron analizadas por duplicado durante 20 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 40 tandas y 80 replicados. (Ver la tabla de "Precision".)

Linealidad: Las muestras fueron analizadas en varias diluciones. (Ver la tabla de "Linearity" para resultados representativos.)

Recuperación: Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con tres soluciones de insulina (280, 960 y 2 000 $\mu\text{IU/ml}$). (Ver la tabla de "Recovery" para resultados representativos.)

Especificidad: El ensayo es específico para insulina (Ver la tabla de "Specificity").

Bilirrubina: Una ictericia grave (hasta 100 o 200 mg/l de bilirrubina) puede provocar un descenso en los valores. (Ver la tabla de "Bilirubin").

Hemólisis: Puede causar una bajada de los valores. (Ver la tabla de "Hemolysis").

Lipemia: La presencia de triglicéridos puede causar una bajada de los valores. (Ver la tabla de "Lipemia").

Tipo de Muestra Alternativa: Para ver el efecto de muestras alternativas, se

recogieron muestras sanguíneas de 18 voluntarios en tubos de vidrio, de plástico, de plástico heparinizados, tubos con EDTA, fluoruro sódico y tubos con geles de barrera (SST[®]). Todos los tubos eran de la casa Becton Dickinson. Ocho muestras fueron sobrecargadas con Insulina para obtener valores a lo largo de todo el rango de calibración del ensayo. Todas las muestras fueron analizadas con el procedimiento Insulina IMMULITE, con los siguientes resultados. Por regresión lineal:

(Suero Cristal) = 1,06 (Suero Plástico) – 0,6 $\mu\text{IU/ml}$
 $r = 0,997$

(Na Heparina Plástico) = 1,06 (Suero Plástico) + 0,98 $\mu\text{IU/ml}$
 $r = 0,995$

(SST Plástico) = 0,996 (Suero Plástico) + 1,2 $\mu\text{IU/ml}$
 $r = 0,996$

(NaFI Plástico) = 0,892 (Suero Plástico) – 8,0 $\mu\text{IU/ml}$
 $r = 0,994$

(EDTA Plástico) = 0,31 (Suero Plástico) – 1,4 $\mu\text{IU/ml}$
 $r = 0,997$

Medias:

87,5 $\mu\text{IU/ml}$ (Suero Plástico)

92,4 $\mu\text{IU/ml}$ (Suero Cristal)

93,5 $\mu\text{IU/ml}$ (Na Heparina Plástico)

88,3 $\mu\text{IU/ml}$ (SST Plástico)

70,0 $\mu\text{IU/ml}$ (NaFI Plástico)

25,7 $\mu\text{IU/ml}$ (EDTA Plástico)

El plasma EDTA no es apropiado para su uso. Fluoruro sódico causa una bajada de los valores.

Comparación del Método: El ensayo se comparó con el ensayo de insulina de IMMULTE 2000 de DPC en 270 muestras. (Rango de Concentración: aproximadamente 2 a 291 $\mu\text{IU/ml}$. Ver el gráfico.) Por regresión lineal:

(IML) = 1,04 (IML 2000) + 0,2 $\mu\text{IU/ml}$
 $r = 0,989$

Medias:

23,6 $\mu\text{IU/ml}$ (IMMULITE)

22,5 $\mu\text{IU/ml}$ (IMMULITE 2000)

Asistencia técnica

Contáctese con su Distribuidor Nacional.

Fabricado por EURO/DPC Ltd. bajo un Sistema de Calidad acorde con la ISO 13485:2003.

Français

Insuline

Domaine d'utilisation : dosage quantitatif de l'insuline dans le sérum ou le plasma hépariné. Ce test est réservé à un usage *in vitro* avec l'Analyseur IMMULITE et de IMMULITE 1000 et constitue une aide au suivi des diabètes.

Référence catalogue : **LKIN1** (100 tests), **LKIN5** (500 tests)

Code produit : **INS** Color: **Orange**

Introduction

L'insuline humaine est une hormone polypeptidique produite dans les cellules β du pancréas. Elle est la principale hormone de régulation du stockage et de la production des carbohydrates. Sa sécrétion est normalement stimulée par l'augmentation de la concentration de glucose dans le sang. Cette dernière conduit à une concentration plus élevée d'insuline et à une assimilation plus rapide du glucose par les tissus – suivie par un déclin de la concentration d'insuline pendant que la glycémie diminue.

Dans certaines conditions, notamment l'insulinome et les diabètes, cet équilibre est rompu. L'insuline a tendance à circuler à des concentrations trop élevées chez les patients atteints de tumeurs pancréatiques insulino-sécrétantes ; de telles tumeurs peuvent être ainsi la cause d'hypoglycémie. Aussi, les immunodosages de l'insuline — utilisés quelques fois avec des doses stimulantes de tolbutamide ou de calcium — jouent-ils un rôle essentiel dans l'identification (et la localisation) des insulinomes. Une hypoglycémie à jeun associée à une concentration en insuline sérique anormalement élevée établit le diagnostic.

Les concentrations en insuline ne figurent pas dans la sous-classification des diabètes établie par le National Diabetes Data Group. Néanmoins, les résultats obtenus lors d'un test de tolérance au glucose paraissent avoir une valeur pronostique pour présager des bienfaits d'une insulino-thérapie, de la possibilité d'évolution vers une insulino-dépendance et du risque de complications

caractéristiques des diabètes (telles que la rétinopathie).

L'utilisation d'immunodosages pour l'insuline chez des patients déjà soumis à une insulino-thérapie est compliquée par le fait qu'une telle thérapie conduit typiquement à la formation d'anticorps anti-insuline pouvant interférer avec le dosage. Certains chercheurs ont alors tenté de doser l'insuline dans l'urine ou dans des échantillons sériques soumis à une chromatographie sur colonne ou à une précipitation PEG. Mais le dosage de l'insuline libre reste d'un intérêt limité comme technique de suivi de l'insulino-thérapie en l'absence de statistiques sur les domaines thérapeutique ou toxique. Actuellement, il apparaît que le glucose chez les diabétiques ne peut pas être contrôlé en normalisant le profil de l'insuline. A ce jour, on ne sait pas non plus à quel niveau des concentrations anormalement élevées d'insuline peuvent être dangereuses.

Principe du test

IMMULITE/IMMULITE 1000 Insuline est un dosage chimiluminescent immunométrique, en deux étapes, en phase solide.

Cycles d'incubation : 1 × 60 minutes.

Recueil des échantillons

Les tubes EDTA ne doivent pas être utilisés avec la méthode IMMULITE/IMMULITE 1000 Insuline.

Lors du prélèvement d'échantillons pour des dosages d'insuline, il est important d'éviter l'hémolyse qui peut donner des résultats faussement abaissés.^{22,23}

Des échantillons ictériques, lipémiques, ou fortement contaminés peuvent donner des résultats erronés.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dus à la présence de fibrine, s'assurer de la formation complète du caillot avant de centrifuger les échantillons. Certains échantillons, en particulier ceux provenant de patients sous anti-coagulants, peuvent nécessiter un temps plus long pour la formation du caillot.

Des tubes pour prélèvements sanguins provenant de fabricants différents peuvent donner des résultats différents, selon les matériaux et additifs utilisés, y compris gels ou barrières physiques, activateurs de la coagulation et/ou anticoagulants. Le coffret Insuline IMMULITE/IMMULITE 1000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles. Veuillez consulter le chapitre intitulé Autres Types d'Échantillons pour plus de renseignements sur les tubes qui ont été évalués.

Volume nécessaire : 100 µl de sérum ou de plasma hépariné. (Le godet échantillon doit contenir au moins 250 µl de plus que le volume total nécessaire.)

Conservation : 7 jours à +2°C/+8°C ou 3 mois à -20°C.²¹

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

Réactifs : conserver les réactifs à +2°/ +8 °C. Éliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-VHC et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

Substrat chimiluminescent : éviter les contaminations et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser uniquement de l'eau distillée ou désionisée.

Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à code-barre sont nécessaires au dosage.

Tests unitaires Insuline (LIN1)

Chaque unité à code-barre contient une bille revêtue d'une anticorps murin anti-insuline. Stable à +2°/ +8 °C jusqu'à la date de péremption.

LKIN1: 100 unités. **LKIN5**: 500 unités.

Porter les sachets à température ambiante avant d'ouvrir. Ouvrir le sachet avec des ciseaux en préservant le dispositif de fermeture. Refermer les sachets pour les protéger de l'humidité.

Cartouche à réactif Insuline (LIN2)

Avec code-barre. 7,5 ml de phosphatase alcaline (intestins de veau) conjuguée à un anticorps polyclonal de moutons anti-insuline et phosphatase alcaline (intestins de veau) conjugué à un anticorps monoclonal murin anti-insuline dans un tampon, avec conservateur. Conserver bouché et réfrigéré : stable à +2°/ +8 °C jusqu'à la date de péremption. A utiliser de préférence dans les 30 jours qui suivent l'ouverture, si les recommandations de stockage sont respectées.

LKIN1: 2 cartouches.

LKIN5: 10 cartouches.

Ajusteurs Insuline (LINL, LINH)

2 flacons d'ajusteurs (« bas » et « haut ») contenant de l'insuline lyophilisée dans une matrice de sérum non humain, avec conservateur. 30 minutes au minimum avant l'emploi : reconstituer chaque flacon avec **4,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger en imprimant un léger mouvement circulaire ou en retournant délicatement. Aliquoter et congeler. Stable à -20 °C pendant 60 jours après reconstitution.

LKIN1: 1 jeu. **LKIN5**: 2 jeux.

Contrôle Insuline (LINC1, LINC2)

Deux flacons d'insuline lyophilisée dans une matrice de sérum non-humain, avec conservateur. Reconstituer chaque flacon avec **4,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger en imprimant un léger mouvement circulaire ou en retournant délicatement. Aliquoter et congeler : stable à -20 °C pendant 60 jours après reconstitution. Se reporter à la fiche technique du contrôle Insuline pour les concentrations en µUI/ml.

LKIN2: 1 jeu. **LKIN5**: 2 jeux.

Composants du coffret fournis séparément

Diluant échantillon Insuline (LINZ)

Pour la dilution manuelle des échantillons cliniques. Un flacon contenant 25 ml de matrice de sérum non humain, avec conservateur sans insuline, prêt à l'emploi. Stable à +2°C/+8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à -20°C.

LSUBX : Substrat chimiluminescent

LPWS2 : Solution de lavage

LKPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

LCHx-y : Supports pour unités échantillons (avec code-barre)

LSCP : unités échantillons (à usage unique)

LSCC : Bouchons pour unités échantillons (optionnel)

Egalement requis

Pipettes plastiques pour le transfert du sérum dans les godets échantillons ; Eau distillée ou désionisée.

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel d'Utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000.

Voir le manuel d'utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000 pour la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Vérifier visuellement que chaque Unité-Test contient bien une bille avant de la charger dans l'automate.

Le godet échantillon doit contenir au moins 250 µl de plus que le volume total nécessaire. Chaque unité-échantillon peut être suivie par jusqu'à quatre unités-tests.

Intervalle d'ajustement recommandé : 4 semaines.

Echantillons pour le contrôle de qualité : utiliser les contrôles insuline fournis avec le coffret.

Valeurs de référence

Une étude réalisée sur 83 volontaires à jeun, apparemment en bonne santé, a donné une médiane de 8,9 µUI/ml et un

domaine de référence bas à 95% jusqu'à 28,4 µUI/ml.

Utiliser ces valeurs à *titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devra établir ses propres valeurs de référence.

Limites

Des anticorps anti-insuline circulants sont souvent trouvés chez des patients ayant été traités par des formes non-humaines d'insuline. Dans un tel cas, ces anticorps peuvent interférer avec le dosage.

Pour les individus ayant un surpoids significatif, les concentrations d'insuline à jeun sont typiquement légèrement plus élevées que pour des adultes de poids normal.

Le plasma EDTA a un effet sur le dosage de l'insuline avec la méthode IMMULITE/IMMULITE 1000 Insuline.

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages in vitro. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des rares sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances de ce test. Les résultats sont donnés en µUI/ml. (En l'absence d'indication contraire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques recueillis en tubes, sans gel ni activateur de la coagulation).

Intervalle de linéarité : jusqu'à 300 µUI/ml (WHO NIBSC 1st IRP 66/304).

Sensibilité analytique : 2 µUI/ml

Accoutumance aux doses élevées : aucune jusqu'à 70 000 µUI/ml.

Précision : les échantillons sont dosés en duplicata sur une période qui s'étend sur 20 jours, avec deux séries par jours, soit 40 séries et 80 replicata au total. (Voir le tableau « Precision ».)

Test de dilution : des échantillons ont été dosés à différentes concentrations. (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

Test de récupération : des échantillons dosés ont été chargés dans une proportion de 1 à 19 avec trois solutions d'insuline (280, 960 et 2 000 µUI/ml). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : l'anticorps utilisé est hautement spécifique de l'insuline. (Voir le tableau « Specificity ».)

Bilirubine : Un ictère sévère (bilirubine jusqu'à 100 ou 200 mg/l) peut causer une diminution des valeurs. (Voir le tableau « Bilirubin ».)

Hémolyse : Peut entraîner une baisse des valeurs. (Voir le tableau « Hemolysis ».)

Lipémie : La présence de triglycérides peut entraîner une baisse des valeurs. (Voir le tableau « Lipemia ».)

Autres types d'échantillons: Afin de déterminer l'effet que peuvent avoir d'autres types d'échantillons, du sang de 18 volontaires a été prélevé sur tubes secs en verre et en plastique, sur tubes en plastique héparinés et EDTA, fluorure de sodium et sur tubes en plastique avec gel séparateur (SST®). Tous ces tubes proviennent de chez Becton Dickinson. Huit échantillons ont été surchargés en Insuline afin d'obtenir des valeurs dans le domaine de mesure du dosage. Tous les échantillons ont été dosés avec le protocole IMMULITE Insuline et ont donné les résultats suivants. Par régression linéaire :

(Sérum, verre) = 1,06 (Sérum, plastique) – 0,6 µUI/ml
r = 0,997

(Na Héparine, plastique) = 1,06 (Sérum, plastique) + 0,98 µUI/ml
r = 0,995

(SST, plastique) = 0,996 (Sérum, plastique) + 1,2 µUI/ml
r = 0,996

(NaFI plastique) = 0,892 (Sérum, plastique) – 8,0 µUI/ml
r = 0,994

(EDTA, plastique) = 0,31 (Sérum, plastique) – 1,4 µUI/ml
r = 0,997

Moyennes:

87,5 µUI/ml (Sérum, plastique)
92,4 µUI/ml (Sérum, verre)
93,5 µUI/ml (Na Héparine, plastique)
88,3 µUI/ml (SST, plastique)
70,0 µUI/ml (NaFI plastique)
25,7 µUI/ml (EDTA, plastique)

Le plasma EDTA ne convient pas à l'emploi. Fluorure de sodium occasionnent une diminution des valeurs mesurées.

Comparaison de méthodes : Le dosage a été comparé au test IMMULTE 2000 Insuline de DPC sur 270 échantillons, (dont les concentrations allaient de entre 2 à 291 µUI/ml. Voir graphique). Par régression linéaire :

(IML) = 1,04 (IML 2000) + 0,2 µUI/ml
r = 0,989

Moyennes :

23,6 µUI/ml (IMMULITE)
22,5 µUI/ml (IMMULITE 2000)

Assistance technique

En France distribué par DPC France 90 bd National 92257 La Garenne-Colombes.

Fabriqué par EURO/DPC Ltd. dans le cadre d'un Système Qualité enregistré sous ISO 13485:2003.

Italiano

Insulina

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con gli Analizzatori IMMULITE ed IMMULITE 1000 — per la misurazione quantitativa dell'insulina nel siero e nel plasma erparinizzato, per la gestione dei pazienti affetti da diabete.

Codice: **LKIN1** (100 test), **LKIN5** (500 test)

Codice del Test: **INS** Colore: **Arancione**

Riassunto e Spiegazione del Test

L'insulina umana è un ormone polipeptidico originato nelle cellule beta del pancreas che regola la conservazione

e la produzione dei carboidrati. La sua secrezione è normalmente stimolata da aumenti nella quantità di glucosio in circolo, il che porta a livelli d'insulina più elevati e ad un'assimilazione più rapida del glucosio da parte dei tessuti – cui fa seguito una diminuzione del livello d'insulina conseguente alla diminuzione del livello di glucosio.

In alcune condizioni, principalmente l'insulinoma ed il diabete, questo rapporto risulta alterato. L'insulina tende a circolare a livelli impropriamente elevati in pazienti con tumori pancreatici che secernono insulina; per questo motivo questi tumori possono essere causa di ipoglicemia. Pertanto, i dosaggi di insulina – utilizzati a volte in associazione a dosi stimolanti di tolbutamide o calcio — esercitano un ruolo essenziale nell'identificazione (e nella localizzazione) degli insulinomi. La scoperta di ipoglicemia da digiuno in associazione ad una concentrazione di insulina nel siero *impropriamente alta* è considerata diagnostica.

I livelli di insulina non rientrano nella sottoclassificazione del diabete preparata dal National Diabetes Data Group. Nonostante ciò, quando queste informazioni vengono ottenute durante un test di tolleranza del glucosio, sembrano avere un valore prognostico nel precorrere i vantaggi della terapia con insulina e nelle probabilità di progressione verso la dipendenza da insulina e verso le complicazioni (come la retinopatia) che sono caratteristiche del diabete.

L'utilizzo del dosaggio dell'insulina in pazienti già trattati con terapia insulinica è complicata dal fatto che tipicamente questa terapia porta alla formazione di anticorpi anti-insulina capaci di interferire con il dosaggio. Per questo motivo alcuni ricercatori hanno tentato di misurare l'insulina nell'urina, o in campioni di siero sottoposti a cromatografia o precipitazione PEG. Ma la misurazione dell'insulina "libera" rimane di interesse limitato quale tecnica utilizzata per monitorare la terapia insulinica in assenza di statistiche che stabiliscano range terapeutici o di tossicità. Sino ad oggi sembra che il controllo del glucosio nel diabete non possa essere raggiunto normalizzando il profilo dell'insulina. Inoltre non si sa a quale punto i livelli d'insulina anormalmente alti diventino pericolosi.

Principio del procedimento

IMMULITE/IMMULITE 1000 Insulina è un dosaggio immunometrico in chemiluminescenza in fase solida a doppio sito.

Cicli d'incubazione: 1 × 60 minuti.

Raccolta del Campione

Le provette EDTA non dovrebbero essere utilizzate nella procedura Insulina IMMULITE/IMMULITE 1000.

Nel prelievo dei campioni per le determinazioni di insulina, è importante evitare l'emolisi che può provocare risultati erroneamente bassi.^{22,23}

I campioni itterici, lipemici, o grossolamente contaminati possono produrre risultati errati.

La centrifugazione dei campioni del siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina, assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. L'IMMULITE/IMMULITE 1000 Insulina non è stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume Richiesto: 100 µL di siero o di plasma eparinizzato. (Il Porta Campione deve contenere almeno 250 µL in più del volume totale richiesto.)

Conservazione: 7 giorni a 2–8°C o 3 mesi a –20°C.²¹

Avvertenze e Precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

Reagenti: Conservare i reagenti a 2–8°C. Eliminare in conformità alle leggi pertinenti.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se

fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati da sangue umano sono stati testati con esito negativo per la sifilide, gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'antigene di superficie dell'Epatite B e gli anticorpi Anti-Epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

Substrato Chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce solare diretta. (Vedi metodica.)

Acqua: Utilizzare solo acqua distillata o deionizzata.

Materiali Forniti

I componenti sono un gruppo accoppiato. Le etichette del codice a barra sono necessarie per la prova.

Test Unit Insulina (LIN1)

Ogni test unit con codice a barra contiene una biglie rivestita di murina monoclonale anti-insulina. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

LKIN1: 100 unit. **LKIN5:** 500 unit.

Le buste delle test unit devono essere a temperatura ambientale prima di aprire. Aprire tagliando lungo il bordo superiore, lasciando intatto la chiusura ermetica. Risigillare le buste per proteggere contro umidità.

Porta reagente Insulina (LIN2)

Con codice a barre. 7,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con anticorpo policlonale di pecora anti-insulina ed fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con una anticorpo monoclonale murino anti-insulina in un tampone, con conservanti. Conservare nel frigorifero sigillata: stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza. Si consiglia di utilizzare il prodotto entro 30 giorni dall'apertura se conservato nella maniera indicata.

LKIN1: 2 porta reagenti

LKIN5: 10 porta reagenti

Calibratori Insulina (LINL, LINH)

Due flaconi (Basso ed Alto) di insulina liofila in una matrice di siero non umano,

con conservanti. Almeno 30 minuti prima dell'uso, ricostituire ogni flacone aggiungendo **4,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Mescolare agitando o invertendo *delicatamente*. Aliquotare e congelare: stabile a –20°C per 60 giorni dopo la ricostituzione.

LKIN1: 1 set. **LKIN5:** 2 set.

Controlle Insulina (LINC1–2)

Due flaconi di insulina liofila in una matrice di siero non umano, con conservanti.

Ricostituire ogni flacone aggiungendo **4,0 mL** di acqua distillata o deionizzata.

Mescolare agitando o invertendo *delicatamente*. Aliquotare e congelare: stabile a –20°C per 60 giorni dopo la ricostituzione. Fare riferimento alla metodica del controllo dell'insulina per le concentrazioni rispettive in $\mu\text{U/mL}$.

LKIN1: 1 set. **LKIN5:** 2 set.

I componenti dei kit sono forniti separatamente

Diluyente Insulina (LINZ)

Per la diluzione manuale dei campioni dei pazienti. Un flacone contenente 25 mL di una matrice di siero non-umano, con conservanti priva di insulina e pronta all'uso. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotata) a –20°C.

LSUBX: Substrato Chemiluminescente

LPWS2: Tampone di lavaggio dell'Ago

LKPM: Kit di Pulizia dell'Ago

LCHx-y: Tubi porta campioni (con codice a barre)

LSCP: Porta Campioni (monouso)

LSCC: Coperchi per Porta Campioni (opzionali)

Materiali richiesti

Pipette per la dispensazione dei campioni; acqua distillata o deionizzata.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per avere prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di manutenzione di routine cosiccome definito nel Manuale dell'Operatore dell'IMMULITE o IMMULITE 1000.

Vedi il Manuale dell'Operatore IMMULITE o IMMULITE 1000 per: preparazione, setup, calibrazione, dosaggio e controllo di qualità.

Controllate ogni test unit verificando la presenza della sferetta prima di caricarla sullo strumento.

Il Porta Campione deve contenere almeno 250 µL in più del volume totale richiesto. Ogni tubo porta campioni può essere seguito da quattro test unit.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 4 settimane.

Campioni per il controllo di qualità: Utilizzare i controlli di insulina forniti con il kit.

Valori Attesi

Uno studio effettuato su 83 volontari a digiuno in apparente buono stato di salute ha prodotto una mediana di 8,9 µIU/mL ed un range di riferimento più bassa del 95%, fino a 28,4 µIU/mL.

Detti valori dovrebbero essere considerati solo come *suggerimento*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limitazioni

Anticorpi anti-insulina circolanti sono spesso riscontrati in pazienti trattati con forme non umane di insulina. Se sono presenti, questi anticorpi possono interferire con il dosaggio.

Per pazienti particolarmente sovrappeso, i livelli di insulina durante il digiuno sono tipicamente superiori ai livelli di pazienti di peso normale.

Il plasma EDTA ha un effetto sulla misurazione dell'insulina nella procedura Insulina IMMULITE/IMMULITE 1000.

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi in vitro. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del

test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedere le tabelle e le grafiche per i dati *rappresentativi* delle prestazioni della prova. I risultati sono espressi in µIU/mL. (Se non è notato altrimenti, tutti i risultati sono stati generati nei campioni di siero raccolti in tubi senza barriere di gelatina o additivi che promuovono la coagulazione.)

Range di calibrazione: Fino a 300 µIU/mL (WHO NIBSC 1st IRP 66/304).

Sensibilità analitica: 2 µIU/mL.

Effetto Gancio per Dosi Elevate: Nessuno fino a 70 000 µIU/mL.

Precisione: Sono stati dosati campioni in doppio in 20 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedi la Tabella "Precision".)

Linearità: Sono stati dosati campioni in varie forme diluite. (Vedi la Tabella "Linearity" per dati rappresentativi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni 1:19 ai quali sono state aggiunte tre soluzioni di insulina (280, 960 e 2 000 µIU/mL. (Vedi la Tabella "Recovery" per dati rappresentativi.)

Specificità: L'anticorpo è specifico per l'insulina (Vedere la tabella "Specificity").

Bilirubina: L'ittero grave (bilirubina fino a 100 o 200 mg/L) può causare un decremento dei valori. (Vedere la tabella "Bilirubin").

Emolisi: Può causare un decremento dei valori. (Vedere la tabella "Hemolysis").

Lipemia: La presenza di trigliceridi può causare un decremento dei valori. (Vedere la tabella "Lipemia".)

Tipo di Campione Alternativo: Per valutare l'effetto di campioni alternativi, è stato raccolto del sangue proveniente da 18 volontari in provette per siero di vetro semplice, di plastica, di plastica eparinizzata, EDTA, fluoruro di sodio e di plastica a barriera di gel (SST®). Tutte le provette erano di Becton Dickinson. Otto campioni è stato aggiunto del Insulina per ottenere valori lungo tutto il range di

calibrazione del dosaggio. Tutti i campioni sono stati dosati con il test IMMULITE Insulina Totale ottenendo i seguenti risultati. Mediante regressione lineare:

(Vetro per Siero) = 1,06 (Plastica per Siero) –
0,6 µIU/mL
r = 0,997

(Plastica Na Eparina) = 1,06 (Plastica per Siero) +
0,98 µIU/mL
r = 0,995

(Plastica SST) = 0,996 (Plastica per Siero) +
1,2 µIU/mL
r = 0,996

(NaFI Plastica) = 0,892 (Plastica per Siero) –
8,0 µIU/mL
r = 0,994

(Plastica EDTA) = 0,31 (Plastica per Siero) –
1,4 µIU/mL
r = 0,997

Means:

87,5 µIU/mL (Plastica per Siero)

92,4 µIU/mL (Vetro per Siero)

93,5 µIU/mL (Plastica Na Eparina)

88,3 µIU/mL (Plastica SST)

70,0 µIU/mL (NaFI Plastica)

25,7 µIU/mL (Plastica EDTA)

Il plasma EDTA non è idoneo per l'uso. Fluoruro di sodio causa una depressione dei valori.

Comparazione di Metodi: Il dosaggio è stata paragonata al IMMULTE 2000 Insulina della DPC in 270 campioni. (Range di concentrazione: da circa 2 fino a 291 µIU/mL. Vedi grafico.) Mediante regressione lineare:

(IML) = 1,04 (IML 2000) + 0,2 µIU/mL
r = 0,989

Valore medio:

23,6 µIU/mL (IMMULITE)

22,5 µIU/mL (IMMULITE 2000)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore DPC Nazionale.

Prodotto dalla EURO/DPC Ltd. nell'ambito di un Sistema di Qualità Certificato ISO 13485:2003.

Português

Insulina

Utilização: Para uso em diagnóstico *in vitro* no diagnóstico de insulina em soro ou plasma heparinizado, em conjunto com o Analisador IMMULITE e IMMULITE 1000, para o controle de diabetes.

Números de catálogo: **LKIN1** (100 testes), **LKIN5** (500 testes)

Código do teste: **INS**

Cor: **Laranja**

Sumário e explicação do teste

A Insulina humana é uma hormona polipeptídica originária das células beta do pâncreas e actua como regulador principal do armazenamento e produção de hidratos de carbono. A sua secreção é normalmente estimulada pelo aumento da quantidade de glicose em circulação. Isto conduz a maiores níveis de insulina e assimilação de glicose mais rápida seguida por um declínio no nível de insulina conforme o nível de glicose decresce.

Em diversas condições, especialmente insulinoma e diabetes, esta relação é comprometida. A insulina tende a circular a níveis inadequadamente altos em doentes com tumores pancreáticos com secreção de insulina; tais tumores podem portanto ser a causa de hipoglicemia. Desta forma, imunoenaios de insulina utilizados por vezes em conjunto com doses estimulantes de tolbutamida ou cálcio — possuem uma função essencial na identificação (e localização) de insulinomas. A descoberta de hipoglicemia em jejum em associação com uma concentração de insulina em soro *inadequadamente alta* é considerada diagnóstico.

Os níveis de insulina não aparecem na sub-classificação de diabetes estabelecida pelo National Diabetes Data Group (Grupo de Dados Nacional de Diabetes). Contudo, quando obtidos no decorrer de um teste de tolerância de glicose, estes parecem possuir algum valor prognóstico para prever os benefícios da terapia de insulina e na probabilidade da progressão para dependência de insulina e das complicações características (tais como retinopatia) de diabetes.

A aplicação do imunoenasão de insulina, a doentes já em tratamento por terapia de insulina, complica-se pelo facto de que tal terapia causa tipicamente a formação de anticorpos anti-insulina capazes de interferir com o doseamento. Por esse motivo, alguns pesquisadores procuraram dosear a insulina na urina, ou em

amostras de soro submetidas a cromatografia de coluna ou precipitação PEG. Mas o doseamento de insulina "livre" ainda é de interesse limitado como técnica de monitorização de terapia de insulina na ausência de estatísticas para o estabelecimento de valores terapêuticos ou tóxicos. Até agora, é possível que o controlo da glicose em diabetes, em geral, não possa ser realizado pela normalização do perfil de insulina. Também não se tem conhecimento do ponto em que níveis, anormalmente altos, de insulina se tornam perigosos.

Princípio do procedimento

A Insulina IMMULITE/IMMULITE 1000 é um ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente de duas voltas.

Ciclos de incubação: 1 × 60 minutos.

Colheita

Tubos de EDTA não devem ser usados no procedimento de Insulina IMMULITE/IMMULITE 1000.

Na colheita de amostras para determinações de insulina, é importante evitar hemólise, a qual pode conduzir a resultados demasiadamente baixos.^{22,23}

Amostras ictericas, lipémicas, ou totalmente contaminadas podem causar resultados errados.

A centrifugação de amostras de soro antes da formação completa do coágulo pode resultar na presença de fibrina. Para prevenir resultados errados devido à presença de fibrina, certifique-se que a formação do coágulo foi completa antes da centrifugação das amostras. Algumas amostras, em especial as de doentes que recebem terapia anticoagulante podem requerer um maior tempo de formação do coágulo.

Os tubos para colheita sanguínea de diferentes fabricantes, podem originar diferentes valores, dependendo dos materiais e aditivos, incluindo gel ou barreiras físicas, activadores do coágulo e/ou anti-coagulantes. O IMMULITE/IMMULITE 1000 Insulina não foi ainda testado com todas as possíveis variações originadas pelos tipos de tubos. Consultar a secção Tipos de Amostras Alternativas para obter detalhes sobre os tubos que foram testados.

Volume de amostra: 100 µL de soro ou plasma heparinizada. (Cuvete de amostra deve conter um mínimo de 250 µL a mais que o volume total exigido.)

Estabilidade: 7 dias a 2–8°C, ou 3 meses a –20°C.²¹

Precauções

Para uso de diagnóstico in vitro.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as normas aplicadas.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas obtidas de soro humano foram testadas, dando resultados negativos para a sífilis, para os anticorpos do vírus da imunodeficiência humana (HIV) 1 e 2; para o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e para os anticorpos do vírus da hepatite C.

Azida de sódio foi adicionada como conservante; para evitar acumulações de azidas metálicas explosivas em canalizações de cobre e alumínio, os reagentes devem ser rejeitados no esgoto apenas se estiverem diluídos e forem lavados com grandes volumes de água.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula).

Água: Utilize água destilada ou desionizada.

Materiais fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. Os códigos de barras no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Unidades de Teste de Insulina (LIN1)

Cada unidade rotulada com código de barras contém uma pérola revestida com anti-insulina monoclonal de rato. Estável até a data de validade a 2–8°C.

LKIN1: 100 unidades.

LKIN5: 500 unidades.

Deixe que as saquetas de Unidade de Teste fiquem à temperatura ambiente antes de as abrir. Abra cortando pela ranhura superior, mantendo o fecho intacto. Sele novamente as saquetas para proteger contra a humidade.

Embalagem de reagentes de Insulina (LIN2)

Com código de barras. 7,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugado com anticorpo policlonal de carneiro anti-insulina e fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugado com anti-insulina monoclonal de rato tamponizada, com conservante: Estável até à data de validade a 2–8°C.

Recomenda-se a utilização até 30 dias após aberto quando armazenado de acordo com as indicações.

LKIN1: 2 embalagens.

LKIN5: 10 embalagens.

Ajustes de Insulina (LINL, LINH)

Dois frascos (nível alto e baixo) de insulina liofilizada em matriz de soro não humano, com conservante. Pelo menos 30 minutos antes do uso, reconstitua cada frasco com **4,0 mL** de água destilada ou desionizada. Misture por inversão ou movimentos *lentos*. Divida em alíquotas e congele: Estável por 60 dias a –20°C após reconstituição.

LKIN1: 1 conjunto. **LKIN5:** 2 conjuntos.

Controlo de Insulina (LINC1, LINC2)

Dois frascos de insulina liofilizada em matriz de soro não humano, com conservante. Reconstitua cada frasco com **4,0 mL** de água destilada ou desionizada. Misture por inversão ou movimentos lentos até o material liofilizado dissolver completamente. Divida em alíquotas e congele: Estável por 60 dias a –20°C após reconstituição. Consulte a bula de Controlo de Insulina para as respectivas concentrações em $\mu\text{IU/mL}$.

LKIN1: 1 conjunto. **LKIN5:** 2 conjuntos.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Diluyente de amostra para Insulina (LINZ)

Para a diluição manual de amostras de doentes. Um frasco com 25 mL de matriz de soro, com conservante de origem não humana, sem insulina e com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (alíquotado) a –20°C.

LSUBX: Substrato quimioluminescente

LPWS2: Solução de lavagem

LKPM: Kit de limpeza do pipetador

LCHx-y: Suportes de cuvetes de amostra (com código de barras)

LSCP: Cuvetes de amostra (descartáveis)

LSCC: Tampa de cuvetes de amostra (opcional)

Também necessário

Pipetas de transferência de amostra; água destilada ou desionizada.

Procedimento de doseamento

Têr em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador do IMMULITE ou IMMULITE 1000.

Ver o Manual do Operador do IMMULITE ou IMMULITE 1000 para: preparação, setup, ajustes, procedimento do ensaio e controlo de qualidade.

Confirme a presença da esfera em cada Unidade de Teste antes de a colocar no sistema.

Cuvete de amostra deve conter um mínimo de 250 μL a mais que o volume total exigido. Cada suporte de cuvette de amostra pode ser seguido por quatro unidades de teste.

Intervalo entre ajustes: 4 semanas.

Amostras de Controlo de Qualidade:

Utilize os Controlos de Insulina fornecidos com o kit.

Valores de Referência

Um estudo realizado com 83 voluntários aparentemente saudáveis e que não estavam em jejum, forneceu os seguintes resultados: Mediana 8,9 $\mu\text{IU/mL}$ e uma faixa de referência de 95% mais baixa até 28,4 $\mu\text{IU/mL}$.

Estes valores devem ser considerados apenas como directrizes. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

Limitações

Anticorpos anti-insulina circulante são frequentemente encontrados em doentes que foram tratados com formas não humanas de insulina. Caso presentes, estes anticorpos podem interferir com o doseamento.

Para indivíduos que são significativamente obesos, os níveis de insulina em jejum são ligeiramente superiores aos de adultos com peso normal.

O plasma EDTA possui um efeito no doseamento de Insulina IMMULITE/IMMULITE 1000.

Os anticorpos heterófilos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoenaios in vitro. [Ver Boscatto LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de resultados anómalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interações entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros achados que possam correlacionar.

Características do ensaio

Ver tabelas e gráficos para dados representativos da performance do doseamento. Os resultados são apresentados em $\mu\text{IU/mL}$. (Salvo referência em contrário, todos os dados provêm de amostras de soro colhidas em tubos sem anticoagulantes, barreiras de gel ou aditivos promotores da coagulação.)

Calibração: Até 300 $\mu\text{IU/mL}$ (WHO NIBSC 1st IRP 66/304).

Sensibilidade Analítica: 2 $\mu\text{IU/mL}$

Efeito Hook de Alta Dose:

Nenhum até 70 000 $\mu\text{IU/mL}$.

Precisão: As amostras foram doseadas em duplicado durante 20 dias, 2 ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Ver a tabela de "Precision".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearity" para dados representativos.)

Recuperação: Às amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções insulina (280, 960 e 2 000 $\mu\text{IU/mL}$) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Especificidade: O anticorpo é específico para insulina. (Ver a tabela de "Specificity".)

Bilirrubina: Icterícia severa (bilirrubina até 100 ou 200 mg/L) pode causar uma diminuição dos valores. (Ver a tabela de "Bilirubin".)

Hemólise: Pode possuir um efeito, causando uma depressão dos valores. (Ver a tabela de "Hemolysis".)

Lipemia: A presença de triglicerídeos pode causar uma depressão dos valores. (Ver a tabela de "Lipemia".)

Tipo de amostras alternativas: Para avaliar o efeito de tipos de amostras alternativas, foi colhido sangue de 18 voluntários em tubos secos de vidro e plástico, tubos heparinizados, com EDTA, fluoreto de sódio e tubos plásticos com barreiras de gel (SST®). Todos os tubos são da marca Becton Dickinson. A oito amostras foi adicionado Insulina de modo a obter valores ao longo da calibração do ensaio. Todas as amostras foram ensaiadas pelo método IMMULITE Insulina, com os seguintes resultados. Regressão linear:

(Soro em Vidro) = 1,06 (Soro em Plástico) – 0,6 $\mu\text{IU/mL}$
 $r = 0,997$

(Na Heparina em Plástico) = 1,06 (Soro em Plástico) + 0,98 $\mu\text{IU/mL}$
 $r = 0,995$

(SST em Plástico) = 0,996 (Soro em Plástico) + 1,2 $\mu\text{IU/mL}$
 $r = 0,996$

(NaFI em Plástico) = 0,892 (Soro em Plástico) – 8,0 $\mu\text{IU/mL}$
 $r = 0,994$

(EDTA em Plástico) = 0,31 (Soro em Plástico) – 1,4 $\mu\text{IU/mL}$
 $r = 0,997$

Means:

87,5 $\mu\text{IU/mL}$ (Soro em Plástico)

92,4 $\mu\text{IU/mL}$ (Soro em Vidro)

93,5 $\mu\text{IU/mL}$ (Na Heparina em Plástico)

88,3 $\mu\text{IU/mL}$ (SST em Plástico)

70,0 $\mu\text{IU/mL}$ (NaFI em Plástico)

25,7 $\mu\text{IU/mL}$ (EDTA em Plástico)

O plasma EDTA não deve ser usado. Fluoreto de sódio cause uma depressão dos valores.

Comparação de métodos: O doseamento foi comparado com o Kit DPC's IMMULITE 2000 Insulina em 270 amostras. (Zona de trabalho: aproximadamente 2 a 291 µIU/mL. Ver gráfico.) Regressão linear:

$(IML) = 1,04 (IML\ 2000) + 0,2\ \mu IU/mL$
 $r = 0,989$

Médias:
23,6 µIU/mL (IMMULITE)
22,5 µIU/mL (IMMULITE 2000)

Assistência Técnica:

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

Fabricado pela EURO/DPC Ltd. de acordo com o Sistema de Qualidade registado segundo a norma ISO 13485:2003.

EURO/DPC LTD

Glyn Rhonwy
Llanberis, Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

DPC®

Diagnostic Products Corporation
Corporate Offices
5210 Pacific Concourse Drive
Los Angeles, CA 90045-6900
USA

2006-02-13

PILKIN – 13



EC REP DPC Biermann GmbH
61231 Bad Nauheim
Germany
+49 -6032-994-00