

REF



SYSTEM

07027559190

07027559500

100

cobas e 402

cobas e 801

Italiano

Informazioni relative al sistema

Nome abbreviato	ACN (<i>application code number</i> – codice di applicazione)
INSULIN	10059

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'ImmunoAssay in ElettroChemiluminescenza "ECLIA" è destinata all'uso sugli immunoanalizzatori **cobas e**.

Sommario

L'insulina, un ormone peptidico di 51 aminoacidi residui con peso molecolare di 5808 Da, è secreta nel pancreas dalle cellule β delle isole di Langerhans e viene immessa in circolo tramite la vena porta ed il fegato. In genere, l'insulina viene rilasciata in seguito a un impulso nervoso.^{1,2}

La molecola di insulina biologicamente attiva è monomericamente ed è costituita da due catene polipeptidiche, la catena α con 21 aminoacidi e la catena β con 30 aminoacidi, collegate mediante ponti disolfuro. L'insulina è il prodotto biosintetico del precursore proinsulina costituita da una catena singola, successivamente scissa in proinsulina.^{2,3,4,5} Per azione di proteasi specifiche, la proinsulina, a sua volta, viene scissa in insulina e peptide di connessione (C-peptide), che vengono rilasciati contemporaneamente nel sangue in concentrazioni equimolari. L'insulina in circolo, con un'emivita di 3-5 minuti, viene trattenuta e degradata preferibilmente nel fegato. Per questo motivo solo il 50 % circa dell'insulina raggiunge la circolazione sistemica. L'inattivazione o l'escrezione della proinsulina e del C-peptide avviene in prevalenza nei reni, e praticamente nulla del C-peptide viene trattenuto nel fegato. Il C-peptide ha quindi una concentrazione plasmatica più alta dell'insulina.⁶

La sequenza aminoacidica dell'insulina è altamente conservata, e ciò ha reso possibile, prima dello sviluppo dell'insulina umana mediante ingegneria genetica, l'impiego efficace di insulina suina o bovina nel trattamento del diabete mellito.⁷

L'azione dell'insulina è mediata da recettori specifici e consiste principalmente nel favorire l'assorbimento di glucosio da parte delle cellule epatiche, del tessuto adiposo e della muscolatura, da cui deriva l'azione ipoglicemizzante.^{2,8}

La determinazione dell'insulina nel siero viene eseguita particolarmente nel caso di pazienti che presentano una sintomatologia ipoglicemica e può essere utile nella classificazione dei diversi tipi di diabete.^{9,10} Viene impiegata per la definizione del rapporto glucosio/insulina nonché per valutazioni riguardanti la secrezione dell'insulina e la funzione delle cellule β , ad es. nell'interpretazione dei test orali di tolleranza al glucosio oppure di stimolo della fame.¹¹

Un disturbo del metabolismo insulinico può influire significativamente su molti processi metabolici. Basse concentrazioni di insulina libera e biologicamente attiva possono provocare lo sviluppo del diabete mellito. Le cause vanno ricercate, tra l'altro, nella distruzione delle cellule β (diabete di tipo I), nella ridotta attività dell'insulina ossia nella riduzione della capacità di sintesi da parte del pancreas (tipo II), nella presenza in circolo di anticorpi anti-insulina, nel rilascio ritardato di insulina oppure nella mancanza (o insufficienza) di recettori dell'insulina.¹²

D'altra parte, 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, però, può anche essere provocata intenzionalmente o non intenzionalmente (ipoglicemia *factitia*).^{10,13}

In certi soggetti con ridotta tolleranza al glucosio, lo stato metabolico tende a degenerare, nel corso del tempo, nel diabete mellito. In caso di gravidanza, le donne con ridotta tolleranza al glucosio devono sempre

essere sottoposte ad una terapia adeguata. Il forte aumento del rischio di mortalità del feto rende necessario un monitoraggio intensivo.¹²

Il test Elecsys Insulin impiega due anticorpi monoclonali, che sono specifici per l'insulina umana.

Principio del test

Principio sandwich. Durata complessiva del test: 18 minuti.

- 1^a incubazione: l'insulina presente in 12 μ L 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.
- 2^a 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 II M. 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 tramite **cobas link**.

a) Complesso di rutenio (II) tris(2,2'-bipiridile) (Ru(bpy)₃²⁺)

Reattivi – soluzioni pronte all'uso

Il **cobas e pack** è contrassegnato con INSULIN.

- M Microparticelle rivestite di streptavidina, 1 flacone, 5,8 mL: microparticelle rivestite di streptavidina 0.72 mg/mL; conservante.
- R1 Anticorpi anti-insulina-biotina, 1 flacone, 10,3 mL: anticorpo (murino) monoclonale biotinilato anti-insulina 1 mg/L; tampone MES^{b)} 50 mmol/L, pH 6.0; conservante.
- R2 Anticorpi anti-insulina-Ru(bpy)₃²⁺, 1 flacone, 9,5 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.

b) MES = acido 2-morfolino-etansolfonico

Precauzioni e avvertenze

Per uso diagnostico *in vitro*.

Osservare le precauzioni normalmente adottate durante la 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.

Questa confezione contiene componenti classificati, secondo il Regolamento (CE) N. 1272/2008, come segue:

2-methyl-2H-isothiazol-3-one hydrochloride

EUH 208 Può provocare una reazione allergica.

L'etichettatura relativa alla sicurezza del prodotto è conforme al regolamento GHS UE.

Evitare la formazione di schiuma in 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 sono disponibili tramite **cobas link**.

Conservazione e stabilità

Conservare a 2-8 °C.

Non congelare.

Conservare il **cobas e** pack 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
sugli analizzatori	16 settimane

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, K₂-EDTA e K₃-EDTA.

Valutazione: slope 0.9-1.1 + intercetta entro $\leq \pm 0.8 \mu\text{U/mL}$ + coefficiente di correlazione ≥ 0.95 .

Stabilità: 4 ore a 20-25 °C, 2 giorni a 2-8 °C, 6 mesi a -20 °C (± 5 °C).
Congelare solo 1 volta.

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 ed i calibratori al momento della misura siano alla temperatura di 20-25 °C.

Per evitare un'eventuale evaporazione, analizzare/misurare i campioni e calibratori che si trovano sugli analizzatori entro 2 ore.

Materiali a disposizione

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

Materiali necessari (ma non forniti)

- REF 12017504122, Insulin CalSet, per 4 x 1.0 mL
- REF 05341787190, PreciControl Multimarker, per 6 x 2.0 mL, oppure REF 11731416190, PreciControl Universal, per 4 x 3.0 mL
- Normale attrezzatura da laboratorio

Analizzatore **cobas e**

Altri materiali per gli analizzatori **cobas e 402** e **cobas e 801**:

- REF 06908799190, ProCell II M, 2 x 2 L di soluzione di sistema
- REF 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L di soluzione di lavaggio per celle di misura
- REF 07485409001, Reservoir Cup, 8 coppette per la fornitura di ProCell II M e CleanCell M
- REF 06908853190, PreClean II M, 2 x 2 L di soluzione di lavaggio
- REF 05694302001, Assay Tip/Assay Cup tray, 6 pile da 6 supporti, ciascuno contenente 105 puntali e 105 cuvette per il test, 3 scatole di cartone per rifiuti
- REF 07485425001, Liquid Flow Cleaning Cup, 2 coppette adapter per fornire ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean alla Liquid Flow Cleaning Detection Unit
- REF 07485433001, PreWash Liquid Flow Cleaning Cup, 1 coppetta adapter per fornire ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean alla Liquid Flow Cleaning PreWash Unit
- REF 11298500316, ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean, 5 x 100 mL di soluzione di lavaggio per il sistema

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.

Collocare il **cobas e** pack refrigerato (conservato a 2-8 °C) sul reagent manager. Evitare la formazione di schiuma. La regolazione della temperatura esatta dei reattivi nonché l'apertura e la chiusura del **cobas e** pack avranno luogo automaticamente nello strumento.

Calibrazione

Tracciabilità: questo metodo è stato standardizzato contro il 1° Standard di Riferimento IRP 66/304 (NIBSC) dell'OMS.

La curva master preimpostata viene adattata all'analizzatore impiegando l'appropriato CalSet.

Frequenza di calibrazione: effettuare una calibrazione per ogni lotto di reattivo con reattivo fresco (al massimo 24 ore dopo l'identificazione del **cobas e** pack sull'analizzatore).

L'intervallo di calibrazione può essere esteso in base a valori accettabili della verifica di calibrazione da parte del laboratorio.

Si consiglia di ripetere la calibrazione come segue:

- dopo 12 settimane se si impiega lo stesso lotto di reagente
- dopo 28 giorni se si impiega lo stesso **cobas e** pack sull'analizzatore
- all'occorrenza: ad es. se un controllo di qualità si trova al di fuori dei limiti definiti

Controllo di qualità

Per il controllo di qualità, impiegare PreciControl Multimarker oppure PreciControl Universal.

In aggiunta, è possibile utilizzare altro materiale di controllo appropriato.

I controlli per le diverse concentrazioni devono essere eseguiti individualmente almeno 1 volta ogni 24 ore quando il test è in uso, al cambio di ogni **cobas e** pack e dopo ogni calibrazione.

Gli intervalli ed i 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 definiti.

Se necessario, va ripetuta la misura dei corrispondenti campioni.

Per il controllo di qualità, attenersi alle normative vigenti e alle linee guida locali.

Nota: 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 $\mu\text{U/mL}$ oppure in pmol/L).

Fattori di conversione: $\mu\text{U/mL} \times 6.945 = \text{pmol/L}$

$\text{pmol/L} \times 0.144 = \mu\text{U/mL}$

Limiti del metodo – interferenze

È stato testato l'effetto delle seguenti sostanze endogene e dei seguenti composti farmaceutici sulla performance del test. Testando le interferenze fino alle concentrazioni elencate, non è stata osservata alcuna influenza sui risultati.

Sostanze endogene

Composto	Concentrazione testata
Bilirubina	$\leq 1539 \mu\text{mol/L}$ oppure $\leq 90 \text{ mg/dL}$
Intralipid	$\leq 1800 \text{ mg/dL}$
Biotina	$\leq 246 \text{ nmol/L}$ oppure $\leq 60 \text{ ng/mL}$
Fattori reumatoidi	$\leq 1200 \text{ IU/mL}$

Valutazione: per le concentrazioni comprese tra 0.4 e 2 $\mu\text{U/mL}$, la deviazione è di $\leq 0.5 \mu\text{U/mL}$. Per le concentrazioni $> 2 \mu\text{U/mL}$, la deviazione è di $\leq 10\%$.

Specificità analitica

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

Reattante che provoca reazioni crociate	Concentrazione testata	Reattività croc. %
Insulina bovina	20000 pmol/L	9.2
Insulina suina	10000 pmol/L	22.2
Proinsulina umana	111083 pmol/L	0.36
C-Peptide	33109 pmol/L	n. r. ^{d)}
Glucagone	288 pmol/L	n. r.
Somatostatina	60 pmol/L	n. r.
Fattore di crescita insulina-simile I	10000 pmol/L	n. r.

d) n. r. = non rilevabile

I risultati ottenuti per la reattività crociata con gli analoghi ricombinanti dell'insulina impiegando vari metodi per l'insulina, sono stati pubblicati, per esempio, da due gruppi in Francia e negli USA.^{16,18,19} I seguenti risultati sono stati pubblicati da Owen et al.¹⁸ per il test Elecsys Insulin:

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. A tutte le concentrazioni testate, i risultati ottenuti si trovavano al di sotto del limite di sensibilità del test Elecsys Insulin (<0.4 µU/mL oppure <2.78 pmol/L).

Inoltre, tali risultati sono anche ben correlati con quelli pubblicati prima da Sapin et al. per l'insulina lispro.¹⁶

Letteratura

- Lang DA, Matthews DR, Peto J, et al. Cyclic oscillations of basal plasma glucose and insulin concentrations in human beings. *N Engl J Med* 1979;301:1023-1027.
- Steiner DF. Adventures with insulin in the islets of Langerhans. *J Biol Chem* 2011;286(20):17399-17421.
- Weiss MA. Diabetes mellitus due to the toxic misfolding of proinsulin variants. *FEBS Lett* 2013;587(13):1942-1950.
- Menting JG, Whittaker J, Margetts MB, et al. How insulin engages its primary binding site on the insulin receptor. *Nature* 2013;493(7431):241-245.
- Yang Y, Hua QX, Liu J, et al. Solution structure of proinsulin connecting domain flexibility and prohormone processing. *J Biol Chem* 2010;285(11):7847-7851.
- Ghorbani A, Shafiee-Nick R. Pathological consequences of C-peptide deficiency in insulin-dependent diabetes mellitus. *World J Diabetes* 2015;6(1):145-150.
- Pickup J. Human insulin. *Br Med J* 1986;292(6514):155-157.
- Sonksen P, Sonksen J. Insulin: understanding its action in health and disease. *Br J Anaesth* 2000;85:69-79.
- Clark PM. Assays for insulin, proinsulin(s) and C-peptide. *Ann Clin Biochem* 1999;36(5):541-564.
- Nalbantoğlu Elmas Ö, Demir K, Soyulu N, et al. Importance of insulin immunoassays in the diagnosis of factitious hypoglycemia. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2014;6(4):258-261.
- Cersosimo E, Solis-Herrera C, Trautmann ME, et al. Assessment of pancreatic -cell function: review of methods and clinical applications. *Curr Diabetes Rev* 2014;10:2-42.
- Kharroubi AT, Darwish HM. Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World J Diabetes*. 2015;6(6):850-867.
- Iglesias P, Díez JJ. Management of endocrine disease: a clinical update on tumor-induced hypoglycaemia. *Eur J Endocrinol* 2014;170(4):R147-157.
- Chevenne D, Letailleur A, Trivin F, et al. Effect of Hemolysis on the Concentration of Insulin in Serum Determined by RIA and IRMA. *Clin Chem* 1998;44(2):354-356.
- Tietz NW. *Clinical Guide To Laboratory Tests*. 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co, 1995:366-367.
- Sapin R, Le Galudec V, Gasser F, et al. Elecsys Insulin Assay: Free Insulin Determination and the Absence of Cross-Reactivity with Insulin Lispro. *Clin Chem* 2001;47:602-605.
- Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988 Nov;26(11):783-790.
- 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.
- 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 (se disponibili nel vostro paese).

In questa metodica, per separare la parte intera da quella frazionaria in un numero decimale si usa sempre il punto. Il separatore delle migliaia non è utilizzato.

Simboli

Oltre a quelli indicati nello standard ISO 15223-1, Roche Diagnostics impiega i seguenti simboli (per gli USA: per la definizione dei simboli impiegati, vedere dialog. Roche.com):

	Contenuto della confezione
	Analizzatori/strumenti su cui i reagenti possono essere usati
	Reattivo
	Calibratore
	Volume dopo ricostituzione o mescolamento
	Global Trade Item Number

Le aggiunte, cancellazioni o modifiche sono indicate mediante una linea verticale posizionata al margine.
© 2020, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www. Roche.com

