

## Insulin (CLIA)

### Uso previsto

Immunoensayo quimioluminiscente (CLIA) para la determinación cuantitativa de insulina en suero o plasma

### Significación clínica

La insulina es una hormona polipeptídica (PM 6000 Da), compuesta por dos cadenas no idénticas, A y B, que se unen con dos enlaces de disulfuro. La insulina se forma a partir de un precursor, la proinsulina (PM 9000 Da), en las células beta del páncreas. En la proinsulina, las cadenas A y B se unen con un péptido de conexión, designado como el péptido C. La insulina y el péptido C se almacenan en las células de los islotes del páncreas y, a continuación, se segregan. La secuencia de aminoácidos se ha conservado muy bien en la evolución, antes de la síntesis de la insulina humana genéticamente modificada, se usaron con éxito la insulina porcina y bovina para tratar la diabetes.

La principal aplicación clínica de la insulina es el diagnóstico y tratamiento de la diabetes de tipo 2 (hipoglicemia). Debido a la falta absoluta de secreción de insulina, o la falta relativa de utilización de la glucosa de los tejidos, la enfermedad causada por una glicemia alta, la diabetes, puede asociarse a complicaciones graves, como fallo renal, insuficiencia cardíaca, daño nervioso, ceguera y gangrena. Los episodios graves de hiperglicemia pueden causar cetoacidosis y coma.

La diabetes se ha dividido en 2 categorías principales, en función de la insulina segregada. La primera es la diabetes mellitus insulino dependiente (IDDM) o diabetes tipo I. Se ocasiona por la destrucción autoinmunitaria de las células beta del páncreas que segregan insulina. La segregación de insulina va disminuyendo hasta un nivel tan escaso que provoca la destrucción de las células beta. El paciente debe recibir inyecciones de insulina para sobrevivir.

La segunda categoría es la diabetes mellitus no insulino dependiente (NIDDM) o diabetes de tipo II. Esta enfermedad se origina a partir de un mecanismo totalmente diferente. Las células betas pueden seguir segregando insulina, pero el cuerpo ha desarrollado resistencia a la hormona. Cuando la concentración de glucosa en la circulación aumenta, la respuesta de la insulina es lenta e insuficiente. A medida que la enfermedad avanza, se necesitará cada vez más insulina para lograr el mismo nivel de control de la glucosa.

Los pacientes necesitan fármacos que estimulen la secreción de insulina o se complementen con insulina, en función de la capacidad de control de la glucosa. La diabetes tipo II se asocia a los factores genéticos, la obesidad, la vida sedentaria y otros factores desconocidos.

Por lo tanto, la detección de la insulina puede servir para distinguir entre la diabetes de tipo 1 y tipo 2. Para pacientes que usan análogos de la insulina para tratar la diabetes, la insulina se mide para determinar la variedad de formulación, y para evaluar la dosis durante el tratamiento.

Dado que un valor elevado de insulina es un factor de riesgo de ataque cardíaco, medir los niveles de insulina en pacientes con diabetes permite establecer pautas para prevenir complicaciones cardiovasculares.

### Fundamentos del método

**Insulin (CLIA)** es un ensayo sandwich para la determinación cuantitativa de insulina en suero o plasma.

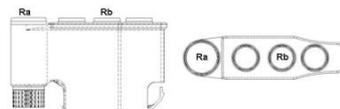
En el primer paso se agregan a una cubeta de reacción: muestra, micropartículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpo anti-insulina y conjugado anti-insulina-fosfatasa alcalina. Luego de la incubación, el complejo sandwich formado ante la presencia de insulina es capturado magnéticamente. Las sustancias no fijadas se eliminan mediante sucesivos lavados.

En el segundo paso, se añade la solución de sustrato (Substrate Solution) a la cubeta de reacción. La reacción quimioluminiscente producida por el conjugado se mide como unidades relativas de luz (RLU). La cantidad de insulina presente en la muestra es directamente proporcional a las RLU generadas durante la reacción. La concentración de insulina se determina mediante una curva de calibración.

### Reactivos provistos

|    |  |
|----|--|
| Ra | Micropartículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpo monoclonal anti-insulina en buffer TRIS. |
| Rb | Anticuerpo monoclonal anti-insulina conjugado a la fosfatasa alcalina en buffer MES.               |

La posición de los componentes del kit se muestra en la siguiente figura:



### Reactivos no provistos

- Insulin Calibrators
- Immunoassay Multi Control (L)
- Immunoassay Multi Control (H)
- Wash Buffer
- Substrate Solution

Estos reactivos son provistos separadamente por Wiener lab.

### Instrucciones para su uso

Los reactivos son listos para usar

### Precauciones

- Para uso diagnóstico "in vitro".
- Mantener el kit de reactivos en posición vertical para asegurar que no se pierdan micropartículas antes del uso.
- No utilizar reactivos de otro origen.

- No utilizar reactivos después de la fecha de vencimiento.
- No intercambiar reactivos de distintos lotes.
- Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.
- Utilizar los reactivos respetando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio bioquímico.
- Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

### Estabilidad e instrucciones de almacenamiento

El kit es estable a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

### Material requerido (no provisto)

Analizador de quimioluminiscencia Wiener lab. CLIA series

### Muestra

Suero o plasma

**a) Recolección:** obtener la muestra de la manera habitual. No utilizar muestras fuertemente hemolizadas ni inactivadas por calor.

**b) Aditivos:** en caso de utilizar plasma, se recomienda el uso de EDTA, heparina sódica o heparina de litio.

**c)** Centrifugar las muestras y separar el suero o plasma antes de las dos horas.

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** las muestras deben ser preferentemente frescas. Si no se procesan dentro de las 8 horas posteriores a la recolección, las muestras deben conservarse a 2-8°C. De esta manera, son estables hasta 5 días refrigeradas a 2-8°C, o hasta 3 meses congeladas a -20°C o menos. Evitar los ciclos de congelado y descongelado.

### Procedimiento

Antes de cargar los reactivos en el analizador se debe invertir suavemente el frasco de reactivos sin abrir por lo menos 30 veces para resuspender las micropartículas sedimentadas durante el almacenamiento. Realizar una inspección visual del frasco para asegurar la resuspensión de las micropartículas. Si las mismas continúan adheridas al frasco, seguir invirtiéndolo hasta su resuspensión completa. Si aún así las micropartículas no se resuspenden, se recomienda desechar el frasco.

El ensayo requiere 10 µL de muestra. En este volumen no se incluye el volumen muerto del contenedor de muestras.

### Calibración

El kit **Insulin (CLIA)** de Wiener lab. ha sido estandarizado contra el standard internacional de la OMS para insulina 66/304.

La información específica de la curva maestra de calibración está contenida en el código bidimensional provisto. Se utiliza junto con los calibradores para la calibración del lote de reactivo específico. Al realizar la calibración, se debe escanear primero la información de la curva maestra de calibración del código

bidimensional en el sistema. A continuación, utilizar los calibradores a tres niveles. Se requiere una curva de calibración válida antes de cualquier prueba de insulina. Se recomienda una recalibración cada 4 semanas, cuando se utilice un nuevo lote de reactivos o los controles de calidad no se encuentren dentro de los intervalos especificados. Para obtener información detallada sobre la calibración, consulte el manual de funcionamiento del analizador.

### Control de calidad

**Immunoassay Multi Control (L)** y **Immunoassay Multi Control (H)** de Wiener lab.

### Cálculo de los resultados

El analizador calcula automáticamente la concentración de analito de cada muestra a partir de la curva maestra de calibración leída del código bidimensional y un ajuste de la curva logística de 4 parámetros (4PLC) con las RLU generadas por los 3 niveles de calibradores. Los resultados se muestran en µUI/mL.

### Valores esperados

Un estudio en una cohorte de 122 individuos aparentemente sanos en ayunas ha determinado el intervalo de referencia del ensayo de insulina.

| Categoría        | Número de muestras | Percentilo 5-95% |
|------------------|--------------------|------------------|
| Individuos sanos | 122                | 2.2~25.0 µUI/mL  |

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia.

### Limitaciones del procedimiento

El límite superior del ensayo es de 1000 µUI/mL. Se puede determinar cuantitativamente una muestra con una concentración de insulina inferior al límite superior, pero una muestra con una concentración mayor que el límite superior se informará como >1000 µUI/mL.

La concentración de insulina en una muestra ensayada con distintos kits comerciales, puede variar debido a diferencias en los métodos de ensayo, calibración y especificidad de los reactivos. Los resultados del ensayo se deben utilizar junto con otros datos, como síntomas, resultados de otras pruebas, historia clínica, etc. Muestras de individuos expuestos a anticuerpos monoclonales de ratón pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). Estas muestras pueden mostrar valores falsamente elevados o bajos con kits que utilicen anticuerpos de ratones monoclonales. Sin embargo, no se observaron interferencias evidentes de HAMA en este ensayo.

### Performance

**a) Sensibilidad analítica:** ≤0,2 µUI/mL.

**b) Rango de medición:** 0.2-1000 µUI/mL.

### c) Especificidad:

- No se observan interferencias por hemoglobina hasta 500 mg/dL, bilirrubina hasta 20 mg/dL, triglicéridos hasta 3000 mg/dL, proteínas totales hasta 10,0 g/dL, factor reumatoide hasta

1500 UI/mL ni anticuerpo antinuclear.

- El Calibrador C0 de **Insulin (CLIA)** de Wiener lab. se enriqueció con sustancias similares a la insulina. No se observó reactividad cruzada obvia. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

| Sustancia                               | Concentración | Reactividad cruzada | Criterios de aceptación |
|---|---------------|---------------------|-------------------------|
| Proinsulina                             | 100 ng/ml     | 0,00%               | ≤ 1%                    |
| Péptido C                               | 10000 ng/ml   | 0,00%               | ≤ 1%                    |
| Glucagón                                | 1 ng/ml       | 0,02%               | ≤ 3%                    |
| Somatostatina                           | 100 pg/ml     | 0,34%               | ≤ 3%                    |
| Factor de crecimiento insulínico tipo I | 6579 pmol/l   | 0,00%               | ≤ 1%                    |

**d) Efecto prozona:** no se observó efecto prozona hasta 20.000 µUI/mL de insulina.

#### e) Exactitud:

Se usaron dos controles con valores trazables y predefinidos para verificar la exactitud de este ensayo. Los resultados demostraron que las desviaciones relativas eran inferiores a ±10%. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

| Muestra | Insulina medida (µUI/mL) | Insulina predefinida (µUI/mL) | Desvío relativo |
|---------|--------------------------|-------------------------------|-----------------|
| Nivel 1 | 16,26                    | 15,63                         | 4,05%           |
| Nivel 2 | 158,11                   | 152,41                        | 3,74%           |

#### f) Precisión:

La precisión se determinó mediante el protocolo EP5-A2 del Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS). Se probaron dos niveles de controles de calidad por duplicado en dos series independientes por día, durante un total de 20 días.

| Muestra | Valor (µUI/mL) | CV intra-ensayo | CV Inter-ensayo | CV total |
|---------|----------------|-----------------|-----------------|----------|
| 1       | 13,94          | 3,05%           | 2,18%           | 3,24%    |
| 2       | 150,03         | 3,04%           | 2,19%           | 3,27%    |

**g) Linealidad:** la reacción es lineal entre 0,2 y 1000 µUI/mL

#### h) Correlación:

El kit **Insulin (CLIA)** de Wiener lab. se comparó con un kit comercial de características similares, utilizando 430 muestras. Los datos estadísticos obtenidos se muestran en la siguiente tabla.

| Intervalo de concentración (µUI/mL) | Pendiente | Intersección | Coefficiente de correlación |
|-------------------------------------|-----------|--------------|-----------------------------|
| 0,2~1000                            | 1,0244    | -7,1269      | 0,9831                      |

#### Presentaciones

- 2 x 50 tests (cód. 1001099)

- 2 x 100 tests (cód. 1001100)

#### Referencias

- Atkinson MA, Maclaren NK. The pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med 1994; 331:1853-1858.
- D Vezzosi, A Bennet, J Fauvel1 and P Caron. Insulin, C-peptide and proinsulin for the biochemical diagnosis of hypoglycaemia related to endogenous hyperinsulinism. European Journal of Endocrinology 2007; 157: 75-83.
- National Diabetes Data Group. Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Other Categories of Glucose Intolerance. DIABETES, 1979; 28, DECEMBER:1039-1057.
- Atkinson MA, Maclaren NK. The pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med 1994; 331:1853-1858.
- K.-F. Eriksson and E Lindgiirde. Prevention of Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus by diet and physical exercise. Diabetologia (1991) 34:891-898.
- Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988, 34:27-33.
- Kricka L. Interferences in immunoassays - still a threat. Clin Chem 2000; 46: 1037-1038.
- Bjerner J, et al. Immunometric assay interference: incidence and prevention. Clin Chem 2002; 48: 613-621.
- CLSI. EP5-A2: Vol. 24, No. 25, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Method; Approved Guideline - Second Edition.

#### SÍMBOLOS

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Elaborado por

 Uso diagnóstico "in vitro"

 Consultar instrucciones de uso

 Este lado arriba

 Límite de temperatura (conservar a)

 Número de lote

 Fecha de caducidad

 Número de catálogo

 Riesgo biológico

 Contenido

 SHENZHEN MINDRAY BIO-MEDICAL ELECTRONICS CO., LTD.  
Mindray building. Keji 12th Road South. Hi-tech Industrial Park.

Fabricado para:  
Wiener Laboratorios S.A.I.C.  
Riobamba 2944  
2000 Rosario - Argentina  
<http://www.wiener-lab.com>  
Producto Autorizado por A.N.M.A.T.  
PM-1102-143.  
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola  
Bioquímica