

Diabetes

AFIAS Insulin

USO PRETENDIDO

O **AFIAS Insulin** é um imunoensaio fluorescente (FIA) para determinação quantitativa do nível de Insulina em sangue total/soro/plasma humano. Este teste é útil como auxílio no diagnóstico da diabetes mellitus e hipoglicemia.

Use somente em diagnóstico *in vitro*.

INTRODUÇÃO

A insulina é um hormônio proteico que regula aos níveis de açúcar (glicose) no sangue e é produzida pelas células beta nas ilhotas de Langerhans no pâncreas; a insulina é secretada quando o açúcar no sangue aumenta, como após uma refeição. Quando os níveis de glicose sanguínea caem, a secreção de insulina cessa e a glicose é liberada pelo fígado no sangue.

Inicialmente, a insulina existe como uma molécula grande chamada preproinsulina nas células beta; preproinsulina é um precursor de cadeia única que consiste em 110 aminoácidos. Uma cadeia de 24 aminoácidos da preproinsulina é clivada para formar a pró-insulina, um precursor da insulina e de Peptídeos C. Na pró-insulina, as cadeias A e B estão ligadas a um peptídeo chamado de Peptídeo C. Tanto a insulina quanto os peptídeos C são armazenados e secretados nos grânulos secretores das células das ilhotas pancreáticas no pâncreas.

A diminuição ou ausência da atividade insulínica resulta em diabetes mellitus, uma condição de altos níveis de açúcar no sangue (hiperglicemia). Há dois tipos da doença. Na diabetes mellitus tipo 1, as células beta são destruídas por reações autoimunes, fazendo com que a insulina não possa mais ser sintetizada e secretada no sangue. Na diabetes mellitus tipo 2, a destruição das células beta é menos pronunciada que no tipo 1, e não ocorre devido a um processo autoimune. Ao invés disso, há um acúmulo de amiloide nas ilhotas pancreáticas, o que provavelmente interfere em sua anatomia e fisiologia.

Diabetes Tipo 2 é caracterizada pelo aumento da secreção de glucagon, que não é afetado e não responde à concentração de glicose no sangue. Mas a insulina ainda é secretada no sangue em resposta à glicose no sangue.

A insulina reduz os níveis de glicose ao estimular a glicogenólise, a síntese de triglicerídeos e a síntese de proteínas. A falha em estimular a produção de insulina leva à hiperglicemia sem reduzir os níveis de glicose no sangue. A hiperglicemia de jejum apoia o diagnóstico de diabetes mellitus.

Os níveis de insulina podem ser úteis para avaliar pacientes com hipoglicemia em jejum, para determinar a resistência à insulina na população normal e para avaliar anormalidades na função secretora das células beta.

PRINCÍPIO

O teste utiliza um método de imunodeteção do tipo sanduíche com fluorescência do Európio (Eu).

Os anticorpos detectores presentes no tampão se ligam aos antígenos presentes na amostra, formando complexos antígeno-anticorpo, que migram para a matriz de nitrocelulose para serem capturados pelos outros anticorpos imobilizados na tira de teste.

Quanto mais antígenos estiverem presentes na amostra, mais complexos antígeno-anticorpo serão acumulados na tira teste, levando a uma maior intensidade do sinal da fluorescência dos anticorpos detectores, a qual é processada no instrumento para testes AFIAS mostrando a concentração de insulina na amostra.

COMPONENTES

O kit **AFIAS Insulin** consiste em 'Cartuchos'.

- Cada cartucho embalado em um invólucro de alumínio possui três componentes, incluindo uma parte do cartucho, parte do detector e parte do diluente.
- A parte do cartucho contém uma membrada chamada tira teste, que possui estreptavidina na linha teste e IgY de galinha na linha controle.
- A parte do detector possui 2 grânulos contendo conjugado Anti-Insulina fluorescente, conjugado Anti-Insulina biotina, conjugado Anti-IgY de galinha fluorescente, azida sódica como conservante em tampão MES.
- A parte do diluente contém Tween20 como conservante em tampão Tris-HCl.

ALERTAS E PRECAUÇÕES

- Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
- Siga as instruções e procedimentos descritos nesta 'Instrução de Uso'.
- Use somente amostras frescas e evite exposição direta a luz solar.
- O número de lote de todos os componentes do teste (cartucho e ID chip) devem ser correspondentes.
- Não misture componentes do teste de diferentes lotes ou use os componentes do teste após a data de validade, pois em qualquer um dos casos poderá ocorrer resultados incorretos.
- Não reutilize os cartuchos. Um cartucho deve ser utilizado para o processamento de apenas uma amostra.
- O cartucho deve permanecer selado em seu invólucro original até antes do uso. Não use o cartucho caso o invólucro esteja danificado ou aberto.
- Amostras congeladas devem ser descongeladas apenas uma vez. Para o transporte, as amostras devem ser embaladas de acordo com as normas locais. Amostras com hemólise e/ou hiperlipemia severas não devem ser utilizadas.
- Caso os componentes do teste e/ou a amostra estejam armazenados em refrigeração, permita que o cartucho e amostra permaneçam a temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos antes do uso.
- O instrumento para testes AFIAS podem vibrar levemente durante o uso.
- Os cartuchos, C-tips e ponteiras usados devem ser manuseados cuidadosamente e descartados por um método apropriado conforme as normas locais relevantes.

- O cartucho contém azida sódica (NaN₃), que pode causar sérios problemas de saúde como convulsões, diminuição da pressão sanguínea e frequência cardíaca, perda de consciência, dano pulmonar e insuficiência respiratória. Evite o contato com pele, olhos e roupas. Em caso de contato, lave a área imediatamente com água corrente.
- Não foi observada interferência por biotina com **AFIAS Insulin** quando a concentração de biotina na amostra foi abaixo de 5 pg/mL. Se o paciente estiver tomado biotina em uma dose superior a 0,03 mg/dia, recomenda-se que o teste seja realizado 24 horas após a descontinuação da administração da biotina
- O kit **AFIAS Insulin** irá fornecer resultados precisos e confiáveis se sujeitos às seguintes condições:
 - **AFIAS Insulin** deve ser usado somente em conjunto com o instrumento para testes AFIAS.
 - Deve ser usado somente com os anticoagulantes recomendados.

Anticoagulantes recomendados

K₂ EDTA, K₃ EDTA, Citrato de sódio, Li-Heparina

- **A C-tip deve ser utilizada nas seguintes condições:**

- A C-tip fornecida com o kit é recomendada para obtenção do resultado correto do teste.
- O sangue total deve ser imediatamente testado após a coleta.
- Não realize com teste com C-tip no Modo Geral, pois poderá causar resultados errôneos.
- Excesso de sangue total ao redor da C-tip deve ser removido.
- Para evitar contaminação cruzado, não reutilize a C-tip para múltiplas amostras.
- O cartucho AFIAS deve ser inserido e posicionado no suporte para cartuchos antes da coleta da amostra de sangue.
- Durante a coleta do sangue, cuidado para não criar bolhas de ar na C-tip.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- O teste pode apresentar resultado(s) falso-positivo devido à reação cruzada e/ou adesão não-específica de certos componentes da amostra aos anticorpos detectores/captura.
- O teste pode apresentar resultado(s) falso-negativo. A não responsividade do antígeno aos anticorpos é mais comum onde o epítipo é mascarado por algum componente desconhecido, de modo a não ser detectado ou capturado pelos anticorpos. A instabilidade ou degradação do antígeno com o tempo e/ou temperatura pode levar ao resultado falso-negativo, uma vez que se torna irreconhecível pelos anticorpos.
- Outros fatores podem interferir no teste e levar a resultados errôneos, tais como erros de procedimento/técnico, degradação dos componentes do teste/reagentes ou presença de substâncias interferentes nas amostras-teste.
- Qualquer diagnóstico clínico baseado no resultado do teste deve ser suportado pela avaliação de um médico, incluindo sintomas clínicos e outros resultados relevantes.

ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE

Condições de armazenagem			
Componente	Temperatura	Validade	Observação
Cartucho	2 – 30 °C	20 meses	Fechado
	2 – 30 °C	1 mês	Aberto

- Retorne o cartucho não utilizado para o zipperbag para cartucho sobressalente contendo dessecante. Sele novamente a embalagem através do zíper presente na borda.

MATERIAIS FORNECIDOS

Componentes do kit **AFIAS Insulin**:

- Caixa do cartucho:
 - Cartuchos 24
 - Ponteiras (zipperbag) 24
 - Zipperbag para cartucho sobressalente 1
 - ID chip 1
 - Instrução de uso 1

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os itens seguintes podem ser adquiridos separadamente do kit **AFIAS Insulin**.

- **Instrumento para testes AFIAS**

- **AFIAS-1**
- **AFIAS-3**
- **AFIAS-6**
- **AFIAS-10**
- **C-tip (Zipperbag, 30 µL)**

- **Boditech Insulin Control**

- **Boditech Insulin Calibrator**

Por favor, contate a **BIOSYS LTDA.** para mais informações.

COLETA E PROCESSAMENTO DE AMOSTRA

O tipo de amostra para **AFIAS Insulin** é sangue total/soro/plasma humano.

- É recomendado testar as amostras dentro de 24 horas após a coleta quando forem armazenadas à temperatura ambiente.
- As amostras (soro, plasma) devem ser separadas do coágulo por centrifugação dentro de 3 horas após a coleta do sangue total.
- As amostras (sangue total, soro, plasma) podem ser armazenadas por uma semana a 2-8°C antes da realização do teste. Se um período maior que 1 semana de armazenamento for necessário, as amostras (soro, plasma) devem ser congeladas a -20°C.
- As amostras (soro, plasma) congeladas a -20°C por 3 meses não apresentam diferença de desempenho.
- Entretanto, amostras de sangue total não devem ser congeladas em nenhuma hipótese.
- Uma vez que repetidos ciclos de congelamento e descongelamento podem afetar os resultados do teste, não congele novamente amostras previamente descongeladas.

CONFIGURAÇÃO DO TESTE

- Verifique os componentes do kit **AFIAS Insulin**: Cartucho, ponteira, um ID chip, uma zipperbag para cartucho sobressalente e uma instrução de uso.
 - Assegure que o número de lote do cartucho é correspondente ao número de lote do ID chip.
 - Caso o cartucho selado tenha sido armazenado sob refrigeração, coloque-o em uma superfície limpa e plana em temperatura ambiente por ao menos 30 minutos antes da realização do teste.
 - Ligue o instrumento para testes AFIAS.
 - Esvazie a caixa de ponteiras.
 - Insira o ID chip na porta para ID chip do equipamento.
- ✳ **Favor consultar o Manual de Operações do instrumento para testes AFIAS para obter as informações completas e instruções de operação.**

PROCEDIMENTO DO TESTE**AFIAS-1, AFIAS-3, AFIAS-6****Modo Geral**

- Insira o cartucho no suporte para cartuchos.
- Insira uma ponteira no orifício para ponteiras do cartucho.
- Selecione o 'Modo Geral' no instrumento para testes AFIAS.
- Transfira 150 µL da amostra (sangue total/soro/plasma/controlado) com auxílio de uma pipeta para o poço de amostras do cartucho.
- Selecione o tipo de amostra (sangue total ou soro/plasma) na tela.
- Pressione o botão 'Start' na tela.
- O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

Modo C-tip

- Insira o cartucho no suporte para cartuchos.
- Pegue 30 µL de sangue total usando uma C-tip.
- Insira a C-tip preenchida com sangue total no orifício para ponteiras do cartucho.
- Selecione o 'Modo C-tip' no instrumento para testes AFIAS.
- Pressione o botão 'Start' na tela.
- O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

AFIAS-10**Modo Normal**

- Insira o cartucho no suporte para cartuchos.
- Insira uma ponteira no orifício para ponteiras do cartucho.
- Aperte o botão 'Load' na baía que contém o cartucho com a ponteira para ler o código de barras do cartucho e confirme o nome do item escrito no cartucho.
- Insira o tubo de amostra na estante para tubos.
- Insira a estante para tubos na parte de carregamento da estação de amostragem.
- Selecione o tipo de amostra (sangue total ou soro/plasma) na tela.
- Aperte o botão 'Start' na tela.
- O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

Modo Emergência - Ponteira Geral

- O procedimento do teste é o mesmo que o 'Modo Normal' do item 1) ao item 3).
- Converta para o 'Modo Emergência' no AFIAS-10.
- Selecione o tipo de ponteira (ponteira geral) na tela.
- Selecione o tipo de amostra (sangue total/soro/plasma) na tela.
- Transfira 150 µL da amostra com auxílio de uma pipeta para o poço de amostras do cartucho.
- Aperte o botão 'Start' na tela.
- O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

Modo Emergência - C-tip

- Insira um cartucho no suporte para cartuchos.
- Pegue 30 µL de sangue total usando uma C-tip.
- Insira a C-tip com a amostra no orifício para ponteiras do cartucho.
- Aperte o botão 'Load' na baía que contém o cartucho com a ponteira para ler o código de barras do cartucho e confirme o nome do item escrito no cartucho.
- Converta para 'Modo Emergência' no AFIAS-10.
- Selecione o tipo de ponteira (C-tip) na tela.
- Pressione o botão 'Start' na tela.
- O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

- O instrumento para testes AFIAS calcula o resultado do teste automaticamente e exibe a concentração de Insulina da amostra teste em termos de µU/mL.
- Valor de referência: < 25 µU/mL.
- Faixa de medição: 2 – 300 µU/mL.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Testes de controle de qualidade são parte das boas práticas laboratoriais para confirmar os resultados esperados e a validade do ensaio e devem ser realizados em intervalos regulares.
- O controle de qualidade também deve ser realizado sempre que houver alguma dúvida em relação à validade dos resultados.
- Os materiais controle não são fornecidos com o kit **AFIAS Insulin**. Para mais informações sobre a obtenção dos controles, entre em contato com a [BioSys Ltda.](#) (Favor consultar as instruções de uso do material controle).

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO**Sensibilidade Analítica**

- Limite do Branco (LoB) 1,00 µU/mL
- Limite de Detecção (LoD) 1,23 µU/mL
- Limite de Quantificação (LoQ) 2,00 µU/mL

Especificidade Analítica

- Reatividade cruzada**

Biomoléculas como as listadas na tabela a seguir foram adicionadas às amostras teste em concentrações muito maiores que os níveis fisiológicos normais no sangue. Os resultados obtidos com o **AFIAS Insulin** para reatividade cruzada estão descritos na tabela.

Material de reatividade cruzada	Concentração	Reatividade cruzada
Pró-insulina	4.000 pmol/L	2.9 %
Peptídeo C	20.000 pmol/L	2.9 %
Insulina bovina	350 pmol/L	21.4 %
Insulina suína	350 pmol/L	88 %

Interferência

Os materiais interferentes listados na tabela a seguir foram adicionados às amostras teste nas concentrações descritas abaixo. Os resultados obtidos com o **AFIAS Insulin** não apresentaram interferência significativa com esses materiais.

Interferentes	Concentração
Bilirrubina não conjugada	684 µmol/L
Colesterol	10,3 mmol/L
D-glicose	55,5 mmol/L
Hemoglobina	10 g/L
L-Ácido ascórbico	289 µmol/L
Mistura de triglicerídeos	16,94 mmol/L
EDTA-K2	3,4 µmol/L
EDTA-K3	3,4 µmol/L
Li-Heparina	330 U/dL
Citrato de sódio	85 mg/mL

Precisão**Estudo unicêntrico**

Repetibilidade (precisão na corrida)

Precisão no laboratório (Precisão total)

Precisão lote a lote

3 lotes do **AFIAS Insulin** foram testados por 20 dias. Cada material padrão foi testado 2 vezes por dia. Para cada teste, cada material foi testado em duplicata.

Insulina [µU/mL]	Estudo unicêntrico					
	Repetibilidade		Precisão no laboratório		Precisão lote a lote	
	Média [µU/mL]	CV (%)	Média [µU/mL]	CV (%)	Média [µU/mL]	CV (%)
10	9,75	6,4	9,95	5,8	9,96	6,0
25	24,67	4,8	24,77	5,5	24,85	5,6
100	97,86	5,6	99,50	5,4	99,75	5,4

Estudo multicêntrico

Reprodutibilidade

1 lote do **AFIAS Insulin** foi testado por 5 dias em 3 locais diferentes (1 pessoa por local, 1 instrumento por local). Cada material padrão foi testado 1 vez em 5 replicatas por dia.

Insulina [µU/mL]	Estudo multicêntrico	
	Reprodutibilidade	
	Média [µU/mL]	CV(%)
10	9,97	5,8
25	24,57	6,3
100	100,19	5,8

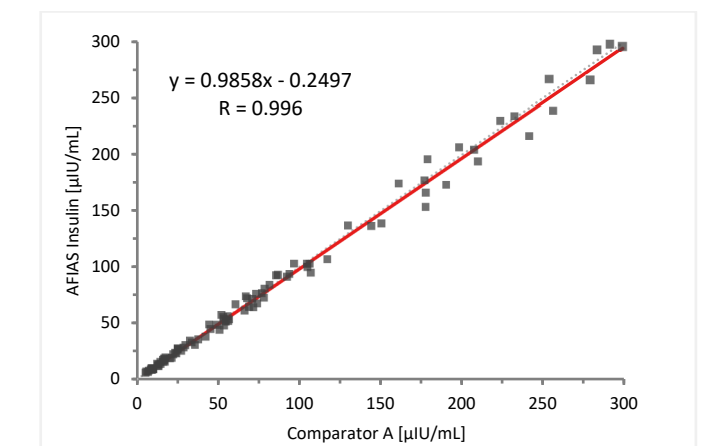
Acurácia

A acurácia foi confirmada testando 3 lotes diferentes do **AFIAS Insulin**. Os testes foram repetidos 10 vezes em cada concentração do controle padrão.

Insulina [µU/mL]	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média [µU/mL]	Recuperação (%)
5	4,74	4,76	4,73	4,74	94,8
74	70,76	70,42	69,84	70,34	95,1
98	95,23	93,46	93,67	94,12	96,0
146	140,19	137,17	139,10	138,82	95,1
194	184,55	186,21	184,83	185,20	95,5
290	274,22	274,59	272,33	273,72	94,4

Comparabilidade

A concentração de Insulina de 100 amostras clínicas foi quantificada independentemente com **AFIAS Insulin (AFIAS-6)** e um **Comparador A**, conforme indicado nos procedimentos de teste. Os resultados dos testes foram comparados e sua comparabilidade investigada por regressão linear e pelo coeficiente de correlação (R). A equação de regressão e coeficiente de correlação estão apresentados a seguir.

**GARANTIA**

Esta instrução de uso deve ser lida atentamente antes da utilização do produto e as instruções nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do teste não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.

DESCARTE

Seguir as disposições da resolução sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes.

REFERÊNCIAS

- Andersen, L., Dinesen, B., Jørgensen, P. N., Poulsen, F., & Røder, M. E. (1993). Enzyme immunoassay for intact human insulin in serum or plasma. *Clinical Chemistry*, 39(4), 578–582.
- Pu, Y., Zhu, Z., Han, D., Liu, H., Liu, J., Liao, J., ... Tan, W. (2011). Insulin-binding aptamer-conjugated graphene oxide for insulin detection. *The Analyst*, 136(20), 4138.
- Oh, J., Kim, J. H., & Park, H.-D. (2018). Clinical Utility and Cross-Reactivity of Insulin and C-Peptide Assays by the

Instruções de Uso

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

Lumipulse G1200 System. Annals of Laboratory Medicine, 38(6), 530.

- Jekarl, D. W., Choi, H., Kim, E. S., Lee, S., Park, H.-I., Kim, M., & Kim, Y. (2019). Analytical evaluation and clinical application of insulin and C-peptide by a whole blood, lateral flow, point of care (POC) assay system. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation, 1–7.
- MacDonald, M. J., & Gapinski, J. P. (1989). A rapid ELISA for measuring insulin in a large number of research samples. Metabolism, 38(5), 450–452. doi:10.1016/0026-0495(89)90197-2

Observação: Favor consultar a tabela abaixo para identificar os diversos símbolos:

	Quantidade suficiente para <n> ensaios
	Consultar as instruções de uso
	Validade
	Código do lote
	Número do catálogo
	Cuidado
	Fabricante
	Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Produto para a saúde para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Limite de temperatura
	Não reutilizar
	Esse produto cumpre com os requerimentos da Diretiva 98/79/EC acerca dos dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i>

 **Boditech Med Inc.**  

43, Geodudanji 1-gil, Dongnae-myeon, Chuncheon-si,
Gang-won-do, 24398, Republic of Korea

Tel: +(82) -33-243-1400

Fax: +(82) -33-243-9373

www.boditech.co.kr

Fabricado por: Boditech Med Incorporated
Importado e Distribuído por: BioSys Ltda
Rua Coronel Gomes Machado, 358, Centro, Niterói, RJ
CEP: 24020-112
CNPJ: 02.220.795/0001-79
MS - n° 10350840457
SAC: +55 21 3907-2534 / 0800 015 1414
sac@biosys.com.br www.biosys.com.br