



USO PRETENDIDO

O **ichroma™ 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.

Uso 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 de teste, levando a uma maior intensidade do sinal da fluorescência dos anticorpos detectores, a qual é processada no instrumento para testes ichroma™ mostrando a concentração de insulina na amostra.

COMPONENTES

O kit **ichroma™ Insulin** consiste em 'cassetes', 'tubos detectores' e 'diluyente do detector'.

- O cassete possui uma membrana chamada tira teste, que contém estreptavidina na linha teste e IgY de galinha na linha controle. Todos os cassetes são individualmente selados em um invólucro de folha de papel alumínio contendo dessecante, e eles estão embalados em uma caixa.
- O tubo detector possui 2 grânulos contendo conjugado Anti-Insulina fluorescente, conjugado Anti-IgY de galinha fluorescente, conjugado Anti-Insulina biotina e azida sódica como conservante em tampão MES. Todos os tubos detectores estão embalados em um invólucro.
- O diluyente do detector contém tampão Tris-HCl e Tween 20, e é pré-dispensado em um frasco. O diluyente do detector é embalado em uma caixa.

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 (cassete, tubo detector, diluyente do detector 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 cassetes ou tubos detectores. Um cassete deve ser utilizado para o processamento de apenas uma amostra. Um tubo detector deve ser utilizado para o processamento de apenas uma amostra.
- O cassete deve permanecer selado em seu invólucro original até antes do uso. Não use o cassete 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 cassete, tubo detector, diluente do detector e a amostra permaneçam a temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos antes do uso.**

- O instrumento para testes **ichroma™** pode vibrar levemente durante o uso.
- Cassetes, tubos detectores, diluente do detector e ponteiros usados devem ser manuseados cuidadosamente e descartados por um método apropriado conforme as normas locais relevantes.
- O tubo detector e diluente do detector 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 **ichroma™ Insulin** quando a concentração de biotina na amostra foi abaixo de 10 ng/mL. Se o paciente estiver tomando 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 **ichroma™ Insulin** irá fornecer resultados precisos e confiáveis se sujeitos às seguintes condições:
 - **ichroma™ Insulin** deve ser usado somente em conjunto com o instrumento para testes **ichroma™**.
 - Deve ser usado somente com os anticoagulantes recomendados.

Anticoagulantes recomendados

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

- **A tubo capilar deve ser utilizado nas seguintes condições:**
 - O tubo capilar fornecido pela Boditech é recomendado para obtenção do resultado correto do teste.
 - O sangue total deve ser imediatamente testado após a coleta.
 - Excesso de sangue total ao redor do tubo capilar deve ser removido.
 - Para evitar contaminação cruzada, não reutilize o tubo capilar para múltiplas amostras.

ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE

Condições de armazenagem			
Componente	Temperatura	Validade	Observação
Cassete	2 - 30 °C	20 meses	Uso único
Tubo detector	2 - 30 °C	20 meses	Uso único
Diluente do detector	2 - 30 °C	20 meses	Fechado
		20 meses	Aberto

- Após a abertura do invólucro do cassete, o teste deve ser realizado imediatamente.

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.

MATERIAIS FORNECIDOS

Componentes do kit **ichroma™ Insulin**:

- Caixa do cassete:
 - Cassetes 25
 - Tubos detectores 25
 - Diluente do detector 1
 - ID chip 1
 - Instrução de uso 1

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

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

- **Instrumento para testes ichroma™**
 - **ichroma™ II**
 - **ichroma™ III**
 - **ichroma™-50 Plus**
 - **ichroma™ M2**
 - **i-Chamber**
 - **Boditech Insulin Control**
 - **Tubo capilar de 35 µL**

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

COLETA E PROCESSAMENTO DE AMOSTRA

O tipo de amostra para **ichroma™ 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 (sangue total, 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 uma 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.

- A amostra de sangue total pode ser coletada usando um tubo capilar conforme indicado abaixo:

- ① Use luvas descartáveis e equipamento de proteção para sua segurança.
- ② Abra a zipperbag contendo os tubos capilares.
- ③ Pegue o tubo capilar e cheque se há dano ou contaminação.
- ④ Segure a alça do tubo capilar e toque a superfície do sangue com o tubo capilar.
- ⑤ Preencha-o completamente com sangue.

(Certifique-se de que não há bolhas de ar no tubo capilar. Não deixe cair sangue na superfície do tubo capilar. Se o sangue atingir a superfície do tubo capilar, remova-o gentilmente com gaze.)

CONFIGURAÇÃO DO TESTE

- Verifique os componentes do kit **ichroma™ Insulin**: Cassetes selados, tubos detectores, diluente do detector, um ID chip e uma instrução de uso.
- Assegure que o número de lote do cassete é correspondente ao número de lote do tubo detector, diluente do detector, bem como do ID chip.
- Caso o cassete selado, tubo detector e diluente do detector tenham sido armazenados sob refrigeração, coloque-os em uma superfície limpa e plana em temperatura ambiente por ao menos 30 minutos antes da realização do teste.
- Ligue o i-Chamber e ajuste a temperatura a 25 °C.
- Ligue o instrumento para testes ichroma™.
- Insira o ID chip na porta para ID chip do equipamento.
- ※ **Favor consultar o Manual de Operações do instrumento para testes ichroma™ para obter as informações completas e instruções de operação.**

CUIDADO

- Para minimizar resultados incorretos, sugere-se que a temperatura ambiente do cassete de teste seja de 25°C durante o tempo de reação após o carregamento da mistura da amostra no cassete de teste.
- Para manter a temperatura ambiente a 25°C, pode-se utilizar vários dispositivos como o i-Chamber ou uma incubadora, por exemplo.

PROCEDIMENTO DO TESTE

▶ ichroma™ II, ichroma™ M2

- 1) Selecione o tipo de amostra (sangue total ou soro/plasma) na tela.
- 2) Transfira 150 µL do diluente do detector com auxílio de uma pipeta para o tubo detector contendo grânulos. Quando o grânulo estiver completamente dissolvido no tubo, o tampão de detecção foi formado.
(O tampão de detecção deve ser utilizado imediatamente. Não exceda o tempo de 30 segundos.)
- 3) Transfira 35 µL da amostra (sangue

total/soro/plasma/controle) com auxílio de uma pipeta para o tubo detector.

- ※ Caso seja utilizado um tubo capilar (35 µL), coloque-o no tubo detector após coletar a amostra.
- 4) Feche a tampa do tubo detector e misture a amostra completamente, agitando cerca de 20 vezes.
(A mistura da amostra deve ser utilizada imediatamente. Não exceda o tempo de 30 segundos.)
- 5) Transfira 75 µL da mistura de amostra para o poço de amostras do cassete.
- 6) Insira o cassete carregado com a amostra na abertura do i-Chamber ou incubadora (25°C).
- 7) Deixe o cassete carregado com a amostra no i-Chamber ou incubadora por 12 minutos.
- ⚠ **Escaneie o cassete carregado com a amostra imediatamente após o fim do tempo de incubação. Se não, causará resultados imprecisos.**
- 8) Para escanear o cassete carregado com a amostra, insira-o no suporte para cassetes do instrumento para testes ichroma™. Assegure a orientação apropriada do cassete antes de inseri-lo completamente no suporte. Uma seta está marcada no cassete especialmente para este propósito.
- 9) Pressione o botão 'Start' do instrumento para testes ichroma™ para iniciar o processo de escâner.
(Ichroma™ M2 iniciará o teste automaticamente após inserção.)
- 10) O instrumento para testes ichroma™ iniciará o processo de escâner do cassete carregado com a amostra imediatamente.
- 11) Leia o resultado do teste exibido na tela do instrumento para testes ichroma™.

▶ ichroma™ III

- 1) O procedimento de teste é o mesmo que ichroma™ II do item 1) ao item 5)
- 2) Insira o cassete carregado com a amostra no suporte do ichroma™ III. Assegure a orientação apropriada do cassete antes de inseri-lo completamente no suporte. Uma seta está marcada no cassete especialmente para este propósito.
- 3) Pressione o botão 'Start' do ichroma™ III para iniciar o processo de escâner.
- 4) O cassete será carregado para dentro do ichroma™ III, que iniciará automaticamente o processo de escâner do cassete carregado com a amostra após 12 minutos.
- 5) Leia o resultado do teste exibido na tela ichroma™ III.

▶ ichroma™ -50 plus

- 1) Insira a ponteira na estação para ponteiras.
- 2) Insira o tubo detector na estação para reagentes e cubra-a para segurar os tubos detectores no lugar.
- 3) Abra a tampa do diluente do detector e insira-o na estação do diluente.
- 4) Insira os cassetes na estante para cassetes e feche a tampa da estante.
- 5) Insira o tubo com a amostra no rack para tubos de

coleta e coloque-o na estação de amostragem (parte de carregamento).

- 6) Aperto o botão localizado na parte superior da região do número de teste do cassete e selecione o ID chip que deseja usar.
 - 7) Quando o cassete selecionado estiver ativo, configure o número do tubo detector.
 - 8) Defina o número de ponteiras.
 - 9) Aperte o botão 'Start' na parte superior esquerda da tela principal para iniciar o teste.
- Favor consultar o Manual de Operações do instrumento **ichroma™ -50 plus** para informações e instruções de operação completas.

INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

- O instrumento para testes **ichroma™** calcula o resultado do teste automaticamente e exibe a concentração de Insulina da amostra teste em termos de $\mu\text{IU/mL}$.
- Valor de referência: $< 25 \mu\text{IU/mL}$.
- Faixa de medição: $2 - 300 \mu\text{IU/mL}$.

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 de controle não são fornecidos com o kit **ichroma™ 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) $1,00 \mu\text{IU/mL}$
- Limite de Detecção (LoD) $1,25 \mu\text{IU/mL}$
- Limite de Quantificação (LoQ) $2,00 \mu\text{IU/mL}$

■ 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 **ichroma™ 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	-2,73 %
Insulina bovina	350 pmol/L	23,1 %
Insulina suína	350 pmol/L	94 %

- Interferência

Os materiais interferentes listados na tabela a seguir foram

adicionados às amostras teste nas concentrações descritas abaixo. Os resultados obtidos com o **ichroma™ Insulin** não apresentaram interferência significativa com esses materiais.

Interferentes	Concentração
Bilirrubina não conjugada	684 $\mu\text{mol/L}$
Colesterol	10,3 mmol/L
D-glicose	55,5 mmol/L
Hemoglobina	10 g/L
L-Ácido ascórbico	298 $\mu\text{mol/L}$
Mistura de triglicerídeos	16,94 mmol/L
EDTA-K2	3,4 $\mu\text{mol/L}$
EDTA-K3	3,4 $\mu\text{mol/L}$
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 **ichroma™ 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 [$\mu\text{IU/mL}$]	Estudo unicêntrico					
	Repetibilidade		Precisão no laboratório		Precisão lote a lote	
	Média [$\mu\text{IU/mL}$]	CV (%)	Média [$\mu\text{IU/mL}$]	CV (%)	Média [$\mu\text{IU/mL}$]	CV (%)
10	9,87	5,7	9,98	5,8	10,02	5,8
25	24,63	5,8	25,03	5,8	24,90	5,8
100	101,11	5,8	100,14	5,8	100,17	6,0

- Estudo multicêntrico

Reprodutibilidade

1 lote do **ichroma™ 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 [$\mu\text{IU/mL}$]	Estudo multicêntrico	
	Média [$\mu\text{IU/mL}$]	CV(%)
10	9,96	5,6
25	25,09	5,9
100	99,49	5,7

■ Acurácia

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

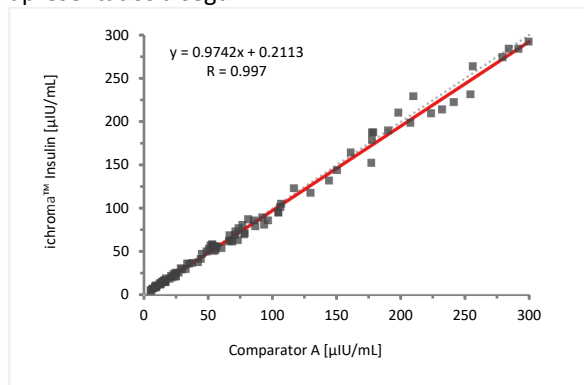
Insulina [$\mu\text{IU/mL}$]	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média [$\mu\text{IU/mL}$]	recuperação (%)
5	4,73	4,78	4,70	4,74	94,7
74	70,91	70,34	71,30	70,85	95,7
98	92,44	91,95	93,81	92,73	94,6
146	139,93	138,86	140,77	139,85	95,8
194	185,56	185,33	187,79	186,22	96,0
290	278,26	273,94	275,27	275,82	95,1

Instruções de Uso

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

■ Comparabilidade

A concentração de Insulina de 100 amostras clínicas foi quantificada independentemente com **ichroma™ Insulin (ichroma™ II)** 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

1. 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.
2. 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.
3. Oh, J., Kim, J. H., & Park, H.-D. (2018). Clinical Utility and Cross-Reactivity of Insulin and C-Peptide Assays by the Lumipulse G1200 System. *Annals of Laboratory Medicine*, 38(6), 530.
4. 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.
5. 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 - nº 10350840455

SAC: +55 21 3907-2534 / 0800 015 1414

sac@biosys.com.br www.biosys.com.br