

Gemelli

Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli IRCCS
Università Cattolica del Sacro Cuore



ASPETTI ANALITICI DELLA MISURA DI INSULINA E C- PEPTIDE

Dr. Giulia Canu

Area Diagnostica di Laboratorio

**Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli, IRCCS
Università Cattolica del Sacro Cuore Roma**

Diapositiva preparata da GIULIA CANU e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

Il Dr. Giulia Canu dichiara di non aver ricevuto negli ultimi due anni compensi o finanziamenti da parte di Aziende Farmaceutiche e/o Diagnostiche.

Dichiara altresì il proprio impegno ad astenersi, nell'ambito dell'evento, dal nominare, in qualsivoglia modo o forma, aziende farmaceutiche e/o denominazione commerciale e di non fare pubblicità di qualsiasi tipo relativamente a specifici prodotti di interesse sanitario (farmaci, strumenti, dispositivi medico-chirurgici, ecc.).

Storia dell'insulina

La storia dell'insulina è alquanto curiosa e aneddotica.

Nel **1869**, uno studente tedesco di medicina, **Paul Langerhans**, noto' che il pancreas conteneva due tipi ben distinti di cellule: uno costituito da cellule acinarie e l'altro fatto di cellule raggruppate in "isole" e penso' che ognuna avesse una funzione. L'evidenza diretta del coinvolgimento dell'insulina nel controllo del metabolismo dei glucidi venne nel **1889** quando **Oskar Minkowski** e **Joseph von Mering** mostrarono che cani pancreatectomizzati esibivano una sindrome simile al diabete mellito dell'uomo.

Nel **1921 Nicolae Constantin Paulescu**, uno scienziato rumeno, si disse in grado di curare il diabete. Paulescu aveva isolato infatti un ormone antidiabetico (un estratto pancreatico) che aveva denominato **pancreina**.

Qualche mese più tardi, **Frederick Grant Banting** ed il biochimico **John James Richard Macleod**, coadiuvati da **Charles H. Best**, pubblicarono una ricerca sul Journal of Laboratory and Clinical Medicine nella quale descrivono i risultati ottenuti nel trattamento di un cane diabetico. Nella loro ricerca, gli scienziati menzionano il lavoro di Paulescu, affermando addirittura di confermare i risultati che lo scienziato rumeno aveva ottenuto.

L'anno dopo (siamo nel **1923**), Banting e Macleod, furono insigniti del premio Nobel per la Fisiologia e la Medicina dando ai due scienziati tutto il merito della scoperta dell'ormone ignorando totalmente il lavoro svolto da Paulescu.

L'insulina fu purificata e cristallizzata da **Abel** dopo pochi anni dalla sua scoperta e **Sanger** nel **1960** ne determino' la sequenza aminoacidica.

L'**INSULINA** è un ormone proteico di 51 aa, pm 58 Kda

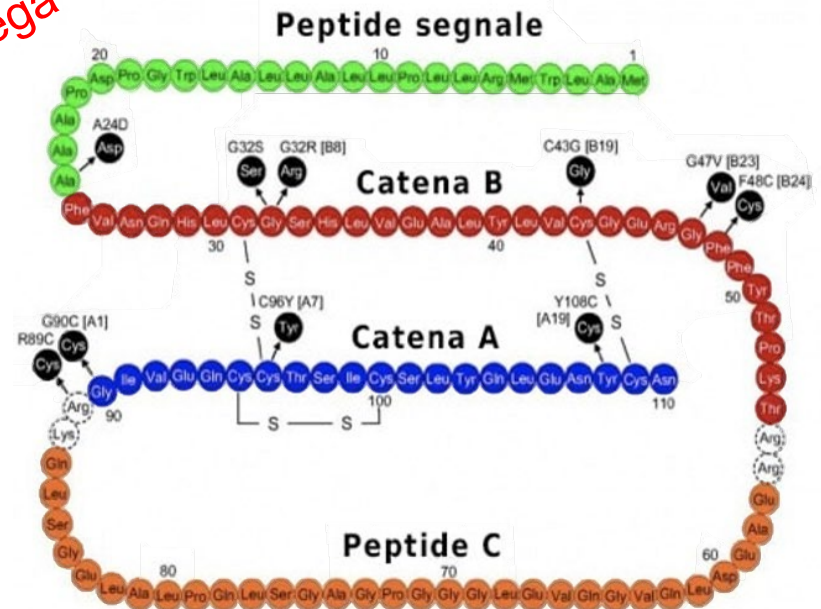
PRE-PRO-INSULINA 110 aa

proteolisi del peptide di segnale aminoterminale di 24 aa

PRO-INSULINA 86 aa

clivaggio del frammento interno di 35 aa e perdita di 2 aa basici ai siti di clivaggio

INSULINA + C-PEPTIDE 31 aa

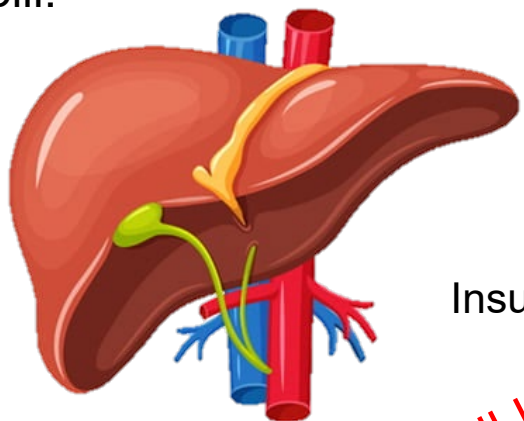


Diapositiva preparata da GIULIA CANU e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

Formazione del C peptide

- ❖ È una molecola di 31 aa rilasciata durante la maturazione della pro-insulina in insulina. La pre-insulina viene sintetizzata nel reticolo endoplasmatico rugoso delle cellule beta pancreatiche e subisce alcune reazioni enzimatiche che la trasformano in proinsulina.
- ❖ Sempre per intervento di alcuni enzimi, all'interno dei granuli secretori, la proinsulina si trasforma in insulina definitiva tramite allontanamento di un peptide, il cosiddetto **C peptide**.
- ❖ Dopo il taglio proteolitico le due subunità residue (A e B) rimangono unite per interazione chimica di alcuni amminoacidi; origina così l'**insulina**.
- ❖ Il **C peptide** non è qualcosa di completamente superfluo, ma espleta alcune importanti funzioni biologiche
 - Aumenta il rilascio di ossido nitrico
 - Interviene nella riparazione della tonaca muscolare delle arterie
 - Protegge l'organismo contro alcune malattie tipicamente associate al diabete

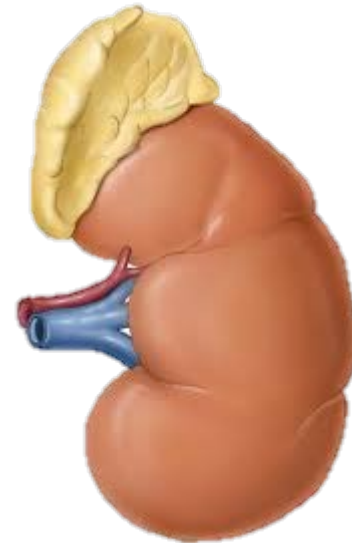
Il **C-peptide** è secreto in quantità equimolari rispetto all'insulina ma ha una concentrazione sierica 5-10 volte maggiore perché ha un'emivita più lunga e non viene estratto dal fegato e ciò consente di ottenere valori più stabili.



Emivita : C-peptide 10-20 min
Insulina 3-5 min

Insulina rimossa per il 50% dal fegato

Il C-peptide viene catabolizzato per via renale e la sua velocità di clearance è costante.



Diapositiva preparata da GIULIA CANU e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

Standard italiani per la cura del diabete mellito 2018



Diapositiva preparata da GIULIA CANU e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it



La determinazione sierica e urinaria del **C-peptide** è utile per stimare la produzione endogena di insulina da parte delle cellule β -pancreatiche, nel definire:

- ✓ Caratteristiche del diabete di nuova diagnosi e differenziale tra DT1 e DT2
- ✓ Verificare la capacità residua di produzione di insulina nel diabete di lunga durata

La misura della concentrazione dell'**insulina** è utile:

- ✓ Valutazione clinica dell'ipoglicemia a digiuno
- ✓ Studio dell'insulino-resistenza mediante test dinamici da carico di glucosio

I fattori di rischio per l'insulino-resistenza includono:

- *Obesità, in particolare obesità addominale*
- *Familiarità di diabete*
- *Diabete gestazionale*
- *Sindrome dell'ovaio policistico*



QUESTION SLIDE (1)

Perché si preferisce la misura della concentrazione del C peptide e non dell'insulina per valutare la funzione delle beta cellule pancreatiche?

A. Perché il C peptide è più economico e di più rapida esecuzione

B. Per la sua emivita più lunga, il rilascio equimolare con l'insulina e per la sua clearance renale

C. Perché le beta cellule pancreatiche producono più C peptide

D. Perché il C peptide circolante ha una concentrazione maggiore rispetto all'insulina

All'inizio degli anni 60 è stato messo a punto il 1° metodo immunometrico a tracciante isotopico per la determinazione dell'insulina, che ha consentito alla Yelow di ricevere nel 1977 il premio Nobel per la medicina.



Diapositiva preparata da GIULIA CANU e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

IMMUNOASSAY OF ENDOGENOUS PLASMA INSULIN IN MAN

By ROSALYN S. YALOW AND SOLOMON A. BERSON

(From the Radioisotope Service, Veterans Administration Hospital, New York, N. Y.)

(Submitted for publication March 7, 1960; accepted March 22, 1960)

J Clin Invest. 1960 Jul; 39(7): 1157-1175.
doi: [10.1172/JCI104130](https://doi.org/10.1172/JCI104130)

PMCID: PMC441866
PMID: [13846364](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13846364/)

IMMUNOASSAY OF ENDOGENOUS PLASMA INSULIN IN MAN

[Rosalyn S. Yalow](#) and [Solomon A. Berson](#)

[Author information](#) ▶ [Copyright and License information](#) ▶ [Disclaimer](#)

This article has been [cited by](#) other articles in PMC.

Citation Network

In Web of Science Core Collection

2,794

Times Cited

 [Create Citation Alert](#)

Metrics 

[View all metrics >](#)

1596 

Citations in Scopus

99th Percentile

0 

Field-Weighted Citation Impact

IMMUNOASSAY OF ENDOGENOUS PLASMA INSULIN IN MAN

BY ROSALYN S. YALOW AND SOLOMON A. BERSON

(From the Radioisotope Service, Veterans Administration Hospital, New York, N. Y.)

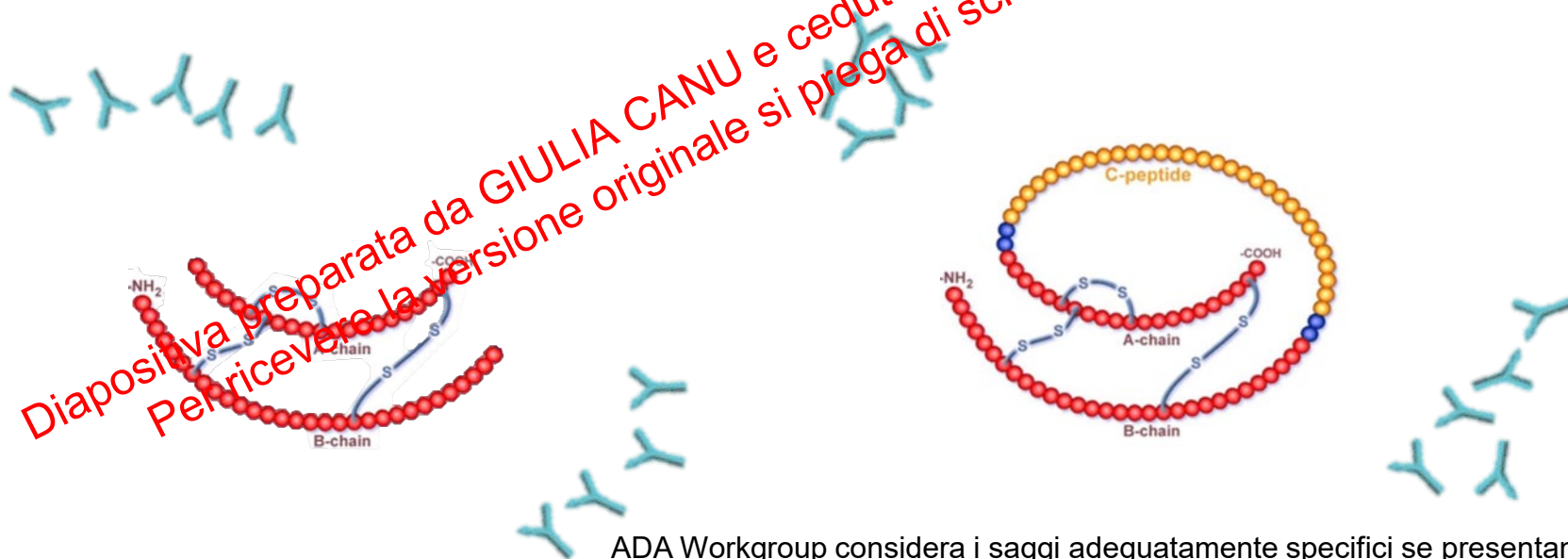
(Submitted for publication March 7, 1960; accepted March 22, 1960)

For years investigators have sought an assay for insulin which would combine virtually absolute
pig antibeef insulin antibodies is sufficiently marked to permit measurement of plasma insulin

Diapositiva preparata da GIULIA CANU e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

La **specificità** è stata raggiunta
mediante l'uso di **anticorpi**
monoclonali diretti contro l'epitopo
della regione N-terminale della
catena A (A1, A4, A8-10) o l'epitopo
della regione C-terminale della
catena B (27-30)

Tali epitopi, nella proinsulina, sono infatti oscurati dal C-peptide.



ADA Workgroup considera i saggi adeguatamente specifici se presentano:

una **cross-reattività inferiore al 3%**

una performance accettabile alle basse concentrazioni (<12 pmol/L)

PRINCIPALI CRITICITA' NELLA MISURA DELL'INSULINA

- ❖ Emolisi
- ❖ Autoanticorpi
- ❖ Mancanza di standardizzazione tra i metodi di dosaggio
- ❖ Diversa cross-reattività con analoghi farmacologici dell'insulina

Diapositiva preparata da GIULIA CANU e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

EMOLISI



Un'emolisi anche leggera può influenzare negativamente la determinazione dell'**insulina** per il rilascio da parte dei globuli rossi di un enzima degradante l'insulina.

Diapositiva preparata da GIULIA CANU e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

L'emolisi non interferisce nelle determinazioni dei livelli di **C-Peptide**

EMOLISI

Alcuni autori hanno individuato un'equazione di correzione individualizzata che, tenendo conto del grado di emolisi e del tempo di esposizione all'emolisi, permette di ottenere valori di insulina sui campioni intenzionalmente *emolizzati*, corrispondenti a quelli ottenuti sui campioni *non emolizzati*.

Immunol Res. 2017 Jun;65(3):605-608. doi: 10.1007/s12026-016-8878-7.

Individualized correction of insulin measurement in hemolyzed serum samples.

Wu ZQ¹, Lu J¹, Chen H¹, Chen W², Xu H³

✉ Author info

$$INS_{corr} = INS_{meas} / (0.705 \lg Hb_{plasma} / Hb_{serum} - 0.001 \text{Time} - 0.612).$$

res. ... insulin-degrading ... effects of hemolysis on insulin measur ... lysed self-RBCs to serum. A correction equation was derived, accounting for both percentage and exposure time of hemolysis. The performance of this individualized correction was evaluated in intentionally hemolyzed samples. Insulin concentration decreased with increasing percentage and exposure time of hemolysis. Based on the effects of hemolysis on insulin measurement of 17 donors (baseline insulin concentrations ranged from 156 to 2119 pmol/L), the individualized hemolysis correction equation was derived: $INS_{corr} = INS_{meas} / (0.705 \lg Hb_{plasma} / Hb_{serum} - 0.001 \text{Time} - 0.612)$. This equation can revert insulin concentrations of the intentionally hemolyzed samples to values that were statistically not different from the corresponding insulin baseline concentrations ($p = 0.1564$). Hemolysis could lead to a negative interference on insulin measurement; by individualized hemolysis correction equation for insulin measurement, we can correct and report reliable serum insulin results for a wide range of degrees of sample hemolysis. This correction would increase diagnostic accuracy, reduce inappropriate therapeutic decisions, and improve patient satisfaction with care.

INTERFERENZA DELL'EMOLISI SUI RISULTATI

Analisi (M)	Analisi (S)	Risultato	Ris. Macc.	Unità di Mi
INS-GLUC	INS-GLUC 0'	15.6	15.62	μUI/mL
INS-GLUC	INS-GLUC 30'	1.1	1.12	μUI/mL
INS-GLUC	INS-GLUC 60'	1.5	1.53	μUI/mL
INS-GLUC	INS-GLUC 120'	88.4	88.36	μUI/mL
INS-GLUC	INS-GLUC 180'	85.4	85.43	μUI/mL
T0	EMOLISI T0	9	9	
T30	EMOLISI T30	553	553	
T60	EMOLISI T60	1518	1518	
T120	EMOLISI T120	59	59	
T180	EMOLISI T180	86	86	

Indice HOMA

QUICKI (Quantitative insulin-sensitivity Check index)

/SI/ Matsuda

Indice di insulino resistenza

QUESTION SLIDE (2)

Perché la misura del C peptide non risente della presenza di emolisi?

A. Perché il C peptide può essere dosato solo nelle urine	B. Perché esiste un'equazione per calcolare la concentrazione di C peptide in presenza di emolisi
C. Perché l'enzima insulinasasi che viene rilasciato in seguito ad emolisi degrada solo l'insulina	D. Perché non ci sono studi che indicano che il C peptide venga degradato in presenza di emolisi

ANTICORPI ANTINSULINA

Gli **autoanticorpi anti-insulina** possono essere presenti nella fase preclinica, all'esordio della malattia e nel siero del 50-70% dei bambini con DT1. Essi devono essere distinti dagli anticorpi anti-insulina che compaiono al seguito della terapia insulinica.

Interferiscono con gli immunodosaggi portando ad una sovrastima dei valori misurati di insulina.

Eur J Clin Chem Clin Biochem. 1997 May;35(5):366-7.

Anti-insulin antibodies in insulin immunometric assays: a still possible pitfall.

Sapin R.

Laboratoire Universitaire de Biophysique, CNRS URA 1173, Faculté de Médecine, Strasbourg, France

Abstract

Insulin was assayed directly using radioimmunoassay and immunometric assay in 31 sera containing anti-insulin antibodies. Anti-insulin antibodies were determined by radio-binding-assay. Insulin measurements were compared with those of free (unbound to antibodies, polyethylene glycol precipitated) insulin measurements. Compared with free insulin concentrations, radioimmunoassay and immunometric assay yielded falsely increased insulin results. The degree of overestimation by radioimmunoassay and by immunometric assay correlated with the anti-insulin antibody value. Anti-insulin antibodies still remain a possible pitfall in the insulin-specific immunometric assays which are now being widely used.

ANTICORPI ANTINSULINA

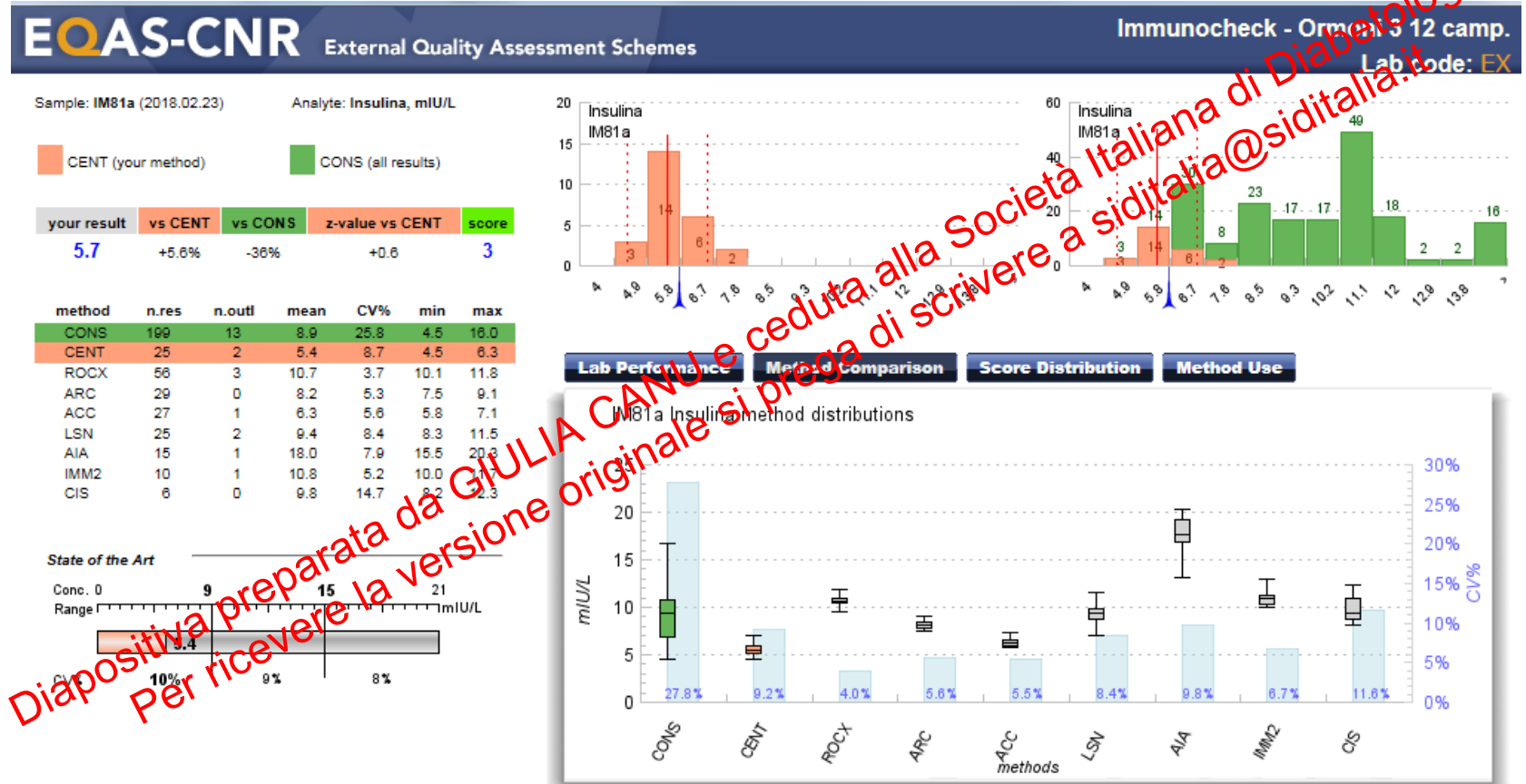
Gli epitopi riconosciuti dagli anticorpi antinsulina sono localizzati nelle regioni aminoacidiche B1-B3 e A8-A10 e differiscono dagli epitopi verso cui sono diretti gli anticorpi monoclonali del kit.

La misura dell'insulina libera richiede che gli anticorpi antinsulina siano rimossi, cosa che può essere ottenuta mediante precipitazione con PEG.



VERSO LA STANDARDIZZAZIONE

Valutazione delle precisione/performance dei metodi



VERSO LA STANDARDIZZAZIONE

Valutazione delle precisione/performance dei metodi



STANDARDIZZAZIONE INSULINA

Valutazione dell'accuratezza del metodo

- ✓ Tutti i dosaggi sono calibrati contro il materiale di riferimento **WHO-IRR 66/304** (definito in UI), una preparazione impura liofilizzata di insulina pancreatica umana.
- ✓ Diversi **fattori di conversione** saggio-specifici per esprimere le concentrazioni da UI/ml in pmol/L con conseguente aumento del bias tra i differenti metodi.
- ✓ In alcuni metodi è stato osservato uno scarso recupero (64%-79%) del materiale di riferimento aggiunto ad un pool di sieri, suggerendo che alcuni dosaggi non sono proprio calibrati per la scarsa purezza del materiale di riferimento.

Standardization of insulin immunoassay: Report of the American Diabetes association workgroup

Marcovina et al Clin Chem 2007 53:4; 711-716

STANDARDIZZAZIONE C-PEPTIDE

Valutazione dell'accuratezza del metodo

- ✓ Anche gli immunodosaggi per la determinazione del C-peptide, presentano ancora una certa variabilità tra metodi e necessitano di una ristandardizzazione.
- ✓ Essi sono calibrati contro il materiale di riferimento **WHO-IRR 84/510**, disponibile da oltre trent'anni.
- ✓ Il WHO nel novembre 2015, per imminente esaurimento delle scorte, ha riconosciuto la necessità di una sostituzione del materiale di riferimento e ha formalmente adottato la preparazione **13/146**, costituito da C-peptide umano sintetico, come **International Standard**.
- ✓ Elevata stabilità e commutabilità (caratteristiche chimico-fisiche simili ai campioni dei pazienti)

Questo materiale è ora disponibile su richieste al **NIBSC**.

Quando tutte le ditte adotteranno questo nuovo standard come calibratore, si migliorerà la standardizzazione e l'armonizzazione, riducendo la variabilità tra metodi.

ANALOGHI DELL'INSULINA

- ✓ L'introduzione sul mercato, a scopo terapeutico, di nuovi analoghi dell'insulina, ha reso necessario definire il diverso grado di cross-reattività con i metodi immunometrici attualmente presenti in commercio.
- ✓ Diversi lavori hanno indagato su questo, permettendo ai clinici di conoscere le diverse caratteristiche dei kit disponibili e dell'ampia variabilità di cross-reattività con analoghi dell'insulina e con i loro metaboliti.

DE GRUYTER

DOI 10.1515/cclm-2013-0427 — Clin Chem Lab Med 2014; 52(3): 355–362

Béatrice Heurtault, Nathalie Reix, Nicolas Meyer, Françoise Gasser, Marie-Josée Wendling, Carline Raton-ponirina, Nathalie Jeandidier, Rémy Sapin and Arnaud Agin*

Extensive study of human insulin immunoassays: promises and pitfalls for insulin analogue detection and quantification

Abstract

Background: Over the last few decades, new synthetic insulin analogues have been developed. Their measurement is of prime importance in the investigation of hypoglycaemia, but their quantification is hampered by variable cross-reactivity with many insulin assays. For clinical analysis, it has now become essential to know the potential cross-reactivity of analogues of interest.

Methods: In this work, we performed an extensive study

Béatrice Heurtault: Laboratoire d'Hormonologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France; and Equipe de Biovectorologie, Laboratoire de Conception et Application de Molécules Bioactives, UMR 7199 CNRS/Université de Strasbourg, Faculté de Pharmacie, Illkirch Graffenstaden, France

Nathalie Reix: Laboratoire d'Hormonologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France; and ICube UMR7357 Université de Strasbourg/CNRS, Fédération de Médecine Translationnelle de Strasbourg (FMTS), Strasbourg, France

Nicolas Meyer: Service de Santé Publique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Françoise Gasser and Rémy Sapin: Laboratoire d'Hormonologie,

Diapositiva preparata da GIULIA CANDIA ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it.

% CROSS-REATTIVITA' ANALOGHI DELL'INSULINA

Table 1 Cross-reactivities (%) of insulin analogues and two metabolites of glargine.

Concentration, mU/L	Analogues					Glargine metabolites		
	Short action			Long action		Concentration, pmol/L	M1	M2
	Lispro	Aspart	Glulisine	Glargine	Detemir			
Access (Beckman)								
10	87	92	0.3	110	9	60	130	130
30	89	91	0.9	106	12	180	120	120
100	91	93	4.9	100	21	600	109	109
200	93	93	10.7	95	26	1200	104	104
Advia Centaur IRI (Siemens)								
10	99	143	8	137	32	60	120	139
30	97	138	3	135	28	180	117	141
100	101	148	2	154	27	600	129	138
200	115	>150	2	>144	27	1200	128	143
Architect (Abbott Laboratories)								
10	85	61	<10	110	52	60	123	118
30	83	62	4.9	108	60	180	116	113
100	87	67	7	108	87	600	114	109
200	86	71	8.9	106	98	1200	109	104
Wallac AutoDELFIA Insulin (PerkinElmer)								
10	<5	<7.3	<5	<5	<5	60	<5	<5
30	<1.7	<1.7	<1.7	5	<1.7	180	4	<1.7
100	<0.5	<0.5	<0.5	12	<0.5	600	10	<0.5
200	<0.25	<0.25	<0.25	18	<0.25	1200	16	<0.25
Bi-insulin IRMA (CIS Bio)								
10	97	95	<2	115	230	60	116	114
30	107	104	<1	126	239	180	110	126
100	103	101	2	117	221	600	119	116
200	98	101	3	115	212	1200	113	113
Cobas/Elecsys (Roche Diagnostics)								
10	<2	<2	<2	<2	<2	60	<2	<2
30	<0.7	<0.7	<0.7	<0.7	<0.7	180	22	<0.7
100	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	600	21	<0.25
200	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	1200	21	0.1
Coat-A-Count (Siemens)								
10	<50	<50	<50	<50	<50	60	<50	<50
30	48	42	<17	<17	<17	180	<17	<17
100	54	50	8	8	8	600	6	7
200	48	45	7	7	7	1200	6	6
Human insulin Specific RIA (Millipore)								
10	114	85	64	155	44	60	104	111
30	96	68	164	37	180	100	94	94
100	55	48	159	33	600	101	82	82
200	73	47	>94	30	1200	>77	72	72
Ins-EASIA (Eitest)								
10	74	80	86	67	60	123	92	92
30	27	33	32	17	180	38	25	25
100	8	7	20	7	600	16	10	10
200	6	4	19	5	1200	13	6	6
Ins-IRMA (Immunotech Beckman)								
10	<5	<5	<5	<5	<5.6	60	<5	<5
30	<1.7	<1.7	<1.7	3	<1.9	180	<2.6	<2.30
100	<0.5	<0.5	<0.5	7	<0.5	600	4	<0.7
200	<0.25	<0.28	<0.25	13	<0.26	1200	8	0
INSI-CTK IRMA (DiaSorin)								
10	97	109	<4	22	105	60	<35	<17
30	92	105	<1	12	115	180	23	24

(Table 1 Continued)

Concentration, mU/L	Analogues					Glargine metabolites		
	Short action			Long action		Concentration, pmol/L	M1	M2
	Lispro	Aspart	Glulisine	Glargine	Detemir			
100	99	106	<0.9	16	125	600	36	29
200	>93	>100	<0.15	16	>100	1200	39	42
INSIK-5 (DiaSorin)								
10	49	64	42	<55	71	60	46	44
30	62	65	37	44	52	180	57	49
100	57	63	22	28	28	600	49	40
200	49	55	15	15	15	1200	38	34
Insulin-CT (Cis Bio)								
10	89	80	80	80	80	60	105	78
30	95	104	90	90	90	180	99	101
100	103	104	85	85	85	600	95	103
200	111	118	83	83	>155	1200	90	94
INS-IRMA (Diasource)								
10	66	64	65	79	62	60	70	65
30	22	22	23	47	22	180	35	23
100	7	7	7	48	6	600	30	9
200	3	3	3	51	3	1200	32	7
Insulin (DiaSorin)								
10	<2	<2	<2	<6	<2	60	<2	<2
30	<0.7	<0.7	<0.7	6	<0.7	180	7	<0.7
100	<0.2	<0.2	<0.2	18	<0.2	600	17	<1
200	<0.1	<0.1	<0.1	29	<0.1	1200	27	<0.8
STALIA-PACK IRI (Tosoh)								
10	106	122	63	16	58	60	43	63
30	109	124	67	20	60	180	50	70
100	113	126	78	36	72	600	74	84
200	112	121	79	50	76	1200	84	98

Absence of statistical analysis owing to values under the detection threshold of the method: italic font type.

In questo studio è stato dimostrato che quattro dosaggi erano specifici per l'insulina umana presentando una trascurabile cross-reattività con gli analoghi considerati.

Gli anticorpi di questi 4 metodi riconoscono parti dell'insulina che sono alterate negli analoghi studiati!

La cross-reattività è in funzione del legame degli anticorpi impiegati nel dosaggio.

CROSS-REATTIVITA' ANALOGHI DELL'INSULINA

Come conseguenza, quando si sospetta la somministrazione nascosta di insulina, dovrebbero essere usati contemporaneamente uno dei quattro dosaggi insulino-specifici insieme ad un secondo kit di insulina che presenta una significativa cross-reattività con analoghi dell'insulina. L'uso complementare di due diversi saggi, permette di evidenziare casi di ipoglicemia factitia mediante i risultati discordanti dei due test.

✓ **Iperglicemia factitia**

✓ **Doping**

Extensive study of human insulin immunoassays: promises and pitfalls for insulin analogue detection and quantification. B. Heurtault, N. Reix, N. Meyer, F. Gasser, M. Wendling, C. Ratomponirina, N. Jeandidier, R. Sapin, A. Agin. Clin Chem Lab Med. 2014.

Take a message...

- ❖ La determinazione dell'insulina e del C peptide può essere diversa a seconda del metodo utilizzato
- ❖ I vari metodi differiscono nella loro capacità di riconoscere i diversi tipi di insulina
- ❖ Determinazioni periodiche dei livelli di insulina e C peptide dovrebbero essere eseguite sempre nello stesso laboratorio per garantire la coerenza del metodo
- ❖ Conoscere il metodo usato per determinare insulina e C-peptide permette una corretta interpretazione del risultato

Nel caso siano presenti anticorpi anti-insulina, questi possono interferire con il test e si rende necessaria la loro rimozione per assicurare una corretta determinazione della concentrazione di insulina

Take a message...



- ❖ Interfacciamento tra clinici e laboratorio
- ❖ Supporto da parte del laboratorio per la conoscenza delle caratteristiche analitiche dei diversi kit e del risultato analitico per soddisfare le richieste dei clinici
- ❖ Sensibilizzare i clinici e renderli consapevoli che un grado medio di emolisi ha un effetto significativo sulla determinazione dell'insulina e può condurre ad un'errata interpretazione dei risultati.

QUESTION SLIDE (3)

Perché è importante conoscere il metodo per la determinazione dell'insulina?

A. Perché lo raccomanda l'American Diabetes Association

B. Perché i test per l'insulina sono importanti per la diagnosi di diabete

C. Perché l'enzima insulina che viene rilasciato in seguito ad emolisi degrada solo l'insulina

D. Perché la standardizzazione dei metodi è incompleta e perché si possono ottenere risultati discordanti a causa di alcune criticità sul test dell'insulina

Diapositiva preparata da GIULIA CANU e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it

CONCLUSIONI

- ✓ Sono passati 60 anni dalla prima determinazione dell'insulina. A dispetto di ciò **la standardizzazione e l'armonizzazione dei metodi tra i vari laboratori e degli intervalli di riferimento** non è stata ancora raggiunta.
- ✓ Per il C peptide siamo più avanti nella standardizzazione e nell'armonizzazione degli immunoassaggi grazie all'introduzione del 1° IS 13/146
- ✓ È importante quindi conoscere il test di laboratorio che stiamo utilizzando per una valutazione più completa del dato correlato alla clinica del paziente

Gemelli



Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli IRCCS
Università Cattolica del Sacro Cuore



GRAZIE PER L'ATTENZIONE

Diapositiva preparata da GIULIA CANU e ceduta alla Società Italiana di Diabetologia.
Per ricevere la versione originale si prega di scrivere a siditalia@siditalia.it