



# **C-PEP II-RIA-CT**

***KIP0409 - KIP0408***

---

**LOT** : 100719/1

Read entire protocol before use.

## C-PEP II-RIA-CT

### *I. INTENDED USE*

Radioimmunoassay for the in vitro quantitative measurement of human C-Peptide in serum.

### *II. GENERAL INFORMATION*

- A. Proprietary name :** DIAsource C-PEP II-RIA-CT Kit
- B. Catalog number :** KIP0409 : 96 tests  
KIP0408: 4 x 96 tests
- C. Manufactured by :** DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

For technical assistance or ordering information contact :  
Tel : +32 (0)67 88.99.99 Fax : +32 (0)67 88.99.96

### *III. CLINICAL BACKGROUND*

#### **A. Biological Activity**

Insulin is synthesized in the beta-cells of the islets of Langerhans as a precursor molecule, proinsulin. In the secretory granules of the beta-cells, proinsulin is cleaved into insulin and into a 31-amino-acid peptide, called the Connecting Peptide or C-Peptide. Insulin and C-Peptide are secreted in equimolar amounts. However, because of its longer half-life, the plasma concentration of C-peptide is higher than that of insulin.

The determination of plasma C-Peptide allows an assessment of the endogenous insulin production, even in the presence of exogenous insulin administration or in the presence of circulating anti-insulin antibodies.

Moreover, the determination of C-Peptide in urine provides a reliable index of the insulin production when blood sampling is difficult or when an integrated estimation of C-Peptide secretion over a period of several hours is requested.


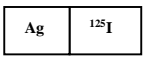
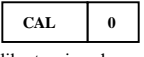
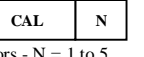
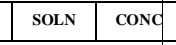
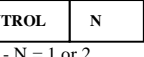
#### **B. Clinical applications**

- . Assessment of residual beta-cell function in diabetics under insulin therapy
- . Detection and monitoring of the remission phase of type I diabetes
- . Adjunct in the differential diagnosis between type I (insulin-dependent) and type II (non-insulin-dependent) diabetes
- . Diagnosis of insulin-induced factitious hypoglycaemia
- . Contribution to the diagnosis of insulinoma (insulin suppression test)
- . Prognostic index of foetal outcome in pregnant diabetic women
- . Evaluation of insulin secretion in liver disease
- . Monitoring of pancreatectomy

#### IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

A fixed amount of  $^{125}\text{I}$  labelled Tyr-C-Peptide competes with the C-Peptide to be measured present in the sample or in the calibrator for a fixed amount of antibody sites being immobilized to the wall of a polystyrene tube. Neither extraction nor chromatography is required. After 3 hours incubation at room temperature, an aspiration step terminates the competition reaction. The tubes are then washed with 3 ml of wash solution and aspirated again. A calibration curve is plotted and the C-Peptide concentrations of the samples are determined by dose interpolation from the calibration curve.

#### V. REAGENTS PROVIDED

Reagents	96 Test Kit	4 x 96 tests Kit	Colour Code	Reconstitution
 Tubes coated with anti C-Peptide	2 x 48	8 x 48	orange	Ready for use
 TRACER: $^{125}\text{I}$ Iodine labelled Tyr-C-Peptide (HPLC grade) in phosphate buffer with bovine gelatin and azide (<0.1%)	1 vial Lyophil. 175 kBq	4 vials Lyophil. 4x175 kBq	red	Add 6 ml distilled water
 Zero Calibrator in human serum and thymol	1 vial Lyophil.	2 vials Lyophil.	yellow	Add 3 ml distilled water
 Calibrators - N = 1 to 5 (see exact values on vial labels) in human serum and thymol	5 vials Lyophil.	10 vials Lyophil.	yellow	Add 1 ml distilled water
 Wash solution (TRIS-HCl)	1 vial 10 ml	4 vials 10 ml	brown	Dilute 70 x with distilled water (use a magnetic stirrer).
 Controls - N = 1 or 2 in human serum with thymol	2 vials Lyophil.	4 vials Lyophil.	silver	Add 1 ml distilled water

- Note :**
- Use the zero calibrator for sera dilutions.
  - 1 ng of the calibrator preparation is equivalent to 1 ng NIBSC IRR 84/510

#### VI. SUPPLIES NOT PROVIDED

The following material is required but not provided in the kit:

- Distilled water
- Pipettes for delivery of: 50  $\mu\text{l}$ , 100  $\mu\text{l}$  and 1 ml (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended)
- Disposable polystyrene tubes (12 x 75 mm)
- Vortex mixer
- Magnetic stirrer
- 5 ml automatic syringe (Cornwall type) for washing
- Aspiration system (optional)
- Any gamma counter capable of measuring  $^{125}\text{I}$  may be used (minimal yield 70%).

#### VII. REAGENT PREPARATION

- Calibrators:** Reconstitute the zero calibrator with 3.0 ml distilled water and the other calibrators with 1.0 ml distilled water.
- Controls:** Reconstitute the controls with 1.0 ml distilled water.
- Tracer:** Reconstitute the tracer with 6.0 ml distilled water.
- Working Wash solution:** Prepare an adequate volume of Working Wash solution by adding 69 volumes of distilled water to 1 volume of Wash Solution (70x). Use a magnetic stirrer to homogenize. Discard unused Working Wash solution at the end of the day

#### VIII. STORAGE AND EXPIRATION DATING OF REAGENTS

- Before opening or reconstitution, all kits components are stable until the expiry date, indicated on the label, if kept at 2 to 8°C.
- After reconstitution, tracer must be used immediately or stored at -20°C, until the expiration date.
- After reconstitution, calibrators and controls are very unstable, use them immediately after reconstitution. For longer storage periods, aliquots should be made and kept at -20°C for maximally 3 months. Avoid subsequent freeze-thaw cycles.
- Freshly prepared Working Wash solution should be used on the same day.
- Alterations in physical appearance of kit reagents may indicate instability or deterioration.

#### IX. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- Serum samples must be kept at 2-8°C.
- If the test is not run within 8 hrs, storage in aliquots at -20°C is recommended.
- Avoid subsequent freeze-thaw cycles.

#### X. PROCEDURE

##### A. Handling notes

- Do not use the kit or components beyond expiry date.
- Do not mix materials from different kit lots.
- Bring all the reagents to room temperature prior to use.
- Thoroughly mix all reagents and samples by gentle agitation or swirling.
- Use a clean disposable pipette tip for addition of each different reagent and sample in order to avoid cross-contamination. High precision pipettes or automated pipetting equipment will improve the precision.
- Respect the incubation times.
- Prepare a calibration curve for each run, do not use data from previous runs.

##### B. Procedure

- Label coated tubes in duplicate for each calibrator, control and sample. For the determination of total counts, label 2 normal tubes
- Briefly vortex calibrators, controls and samples and dispense 100  $\mu\text{l}$  of each into the respective tubes.  
**This operation must be achieved within 15 minutes.**
- Dispense 50  $\mu\text{l}$  of  $^{125}\text{I}$  Iodine labelled Tyr-C-Peptide into each tube, including the uncoated tubes for total counts.
- Shake the tube rack gently by hand to liberate any trapped air bubbles.
- Incubate for 3 hours at room temperature.
- Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts). Be sure that the plastic tip of the aspirator reaches the bottom of the coated tube in order to remove all the liquid.
- Wash tubes with 3 ml Working Wash solution (except total counts) and aspirate (or decant). Avoid foaming during the addition of the Working Wash solution.
- Let the tubes stand upright for two minutes and aspirate the remaining drop of liquid.
- Count tubes in a gamma counter for 60 seconds.

#### XI. CALCULATION OF RESULTS

- Calculate the mean of duplicate determinations.
- Calculate the bound radioactivity as a percentage of the binding determined at the zero calibrator point (0) according to the following formula :

$$B/B_0(\%) = \frac{\text{Counts (Calibrator or sample)}}{\text{Counts (Zero Calibrator)}} \times 100$$

- Using a 3 cycle semi-logarithmic or logit-log graph paper, plot the (B/B<sub>0</sub>(%)) values for each calibrator point as a function of the C-Peptide concentration of each calibrator point. Reject obvious outliers.
- Computer assisted methods can also be used to construct the calibration curve. If automatic result processing is used, a 4-parameter logistic function curve fitting is recommended.
- By interpolation of the sample (B/B<sub>0</sub>(%)) values, determine the C-Peptide concentrations of the samples from the calibration curve.
- For each assay, the percentage of total tracer bound in the absence of unlabelled C-Peptide (B<sub>0</sub>/T) must be checked.

## XII. TYPICAL DATA

The following data are for illustration only and should never be used instead of the real time calibration curve.

C-Peptide	cpm	B/Bo (%)
Total count	75295	
Calibrator		
0.0 pmol/ml	17690	100.0
0.09 pmol/ml	14319	80.9
0.29 pmol/ml	11618	65.7
0.95 pmol/ml	6534	36.9
2.98 pmol/ml	3361	19.0
9.94 pmol/ml	1379	7.8

## XIII. PERFORMANCE AND LIMITATIONS

### A. Detection limit

Twenty zero calibrators were assayed along with a set of other calibrators. The detection limit, defined as the apparent concentration two standard deviations below the average counts at zero binding, was 0.04 pmol/ml.

### B. Specificity

The percentage of cross-reaction estimated by comparison of the concentration yielding a 50% inhibition are respectively:

Compound	Cross-Reactivity (%)
Biosynthetic human Proinsulin	5.6%
Human Glucagon	-
Human Insulin	-

### C. Precision

#### INTRA-ASSAY PRECISION

#### INTER-ASSAY PRECISION

Serum	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)
A	24	0.28 ± 0.03	10.7	A	21	0.28 ± 0.03	10.7
B	26	1.21 ± 0.04	3.3	B	21	1.12 ± 0.11	9.8
C	24	0.18 ± 0.01	5.6	C	22	0.17 ± 0.02	11.8
D	24	0.68 ± 0.04	5.9	D	22	0.65 ± 0.05	7.7
E	24	1.60 ± 0.11	6.9	E	22	1.68 ± 0.12	7.1

SD: Standard Deviation; CV: Coefficient of variation

### D. Accuracy

#### DILUTION TEST

Sample	Dilution	Theoretical Concent. (pmol/ml)	Measured Concent. (pmol/ml)
Serum	1/1	-	6.99
	1/2	3.50	3.04
	1/4	1.75	1.56
	1/8	0.87	0.80
	1/16	0.44	0.46
	1/32	0.22	0.28
	1/64	0.11	0.07

Samples were diluted with zero calibrator.

#### RECOVERY TEST

Sample	added C-Peptide (pmol/ml)	Recovered C-Peptide (pmol/ml)	Recovered (%)
Serum	0.14	0.14	100
	0.17	0.19	112
	0.22	0.22	100
	0.39	0.44	113
	1.14	1.12	98
	3.14	3.02	96

Conversion factor:

From ng/ml to pmol/ml : : 3

### E. Time delay between last calibrator and sample dispensing

As shown hereafter, the dispensing of samples must be done within a maximum delay of 15 minutes after the calibrator dispensing.

#### TIME DELAY

Serum pmol/ml	0'	5'	10'	15'	20'	30'
C1	0.66	0.53	0.55	0.61	0.52	0.41
C2	2.27	2.14	2.58	1.90	1.79	2.07

## XIV. INTERNAL QUALITY CONTROL

- If the results obtained for Control 1 and/or Control 2 are not within the range specified on the vial label, the results cannot be used unless a satisfactory explanation for the discrepancy has been given.
- If desirable, each laboratory can make its own pools of control samples, which should be kept frozen in aliquots.
- Acceptance criteria for the difference between the duplicate results of the samples should rely on Good Laboratory Practises.

## XV. REFERENCE INTERVALS

These values are given only for guidance; each laboratory should establish its own normal range of values.

In a group of 79 normal subjects, the mean human C-Peptide concentration found was 1.02 pmol/ml (range, based on 2.5% to 97.5% percentiles: 0.59 - 1.56 pmol/ml).

## XVI. PRECAUTIONS AND WARNINGS

### Safety

For *in vitro* diagnostic use only.

This kit contains <sup>125</sup>I (half-life: 60 days), emitting ionizing X (28 keV) and γ (35.5 keV) radiations.

This radioactive product can be transferred to and used only by authorized persons; purchase, storage, use and exchange of radioactive products are subject to the legislation of the end user's country. In no case the product must be administered to humans or animals.

All radioactive handling should be executed in a designated area, away from regular passage. A logbook for receipt and storage of radioactive materials must be kept in the lab. Laboratory equipment and glassware, which could be contaminated with radioactive substances, should be segregated to prevent cross contamination of different radioisotopes.

Any radioactive spills must be cleaned immediately in accordance with the radiation safety procedures. The radioactive waste must be disposed of following the local regulations and guidelines of the authorities holding jurisdiction over the laboratory. Adherence to the basic rules of radiation safety provides adequate protection.

The human blood components included in this kit have been tested by European approved and/or FDA approved methods and found negative for HbsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 and 2. No known method can offer complete assurance that human blood derivatives will not transmit hepatitis, AIDS or other infections. Therefore, handling of reagents, serum or plasma specimens should be in accordance with local safety procedures.

All animal products and derivatives have been collected from healthy animals. Bovine components originate from countries where BSE has not been reported. Nevertheless, components containing animal substances should be treated as potentially infectious.

Avoid any skin contact with reagents (sodium azide as preservative). Azide in this kit may react with lead and copper in the plumbing and in this way form highly explosive metal azides. During the washing step, flush the drain with a large amount of water to prevent azide build-up.

Do not smoke, drink, eat or apply cosmetics in the working area. Do not pipette by mouth. Use protective clothing and disposable gloves.

## XVII. BIBLIOGRAPHY

1. BEISCHER, W. et al. (1976). **Human C-Peptide. Part I Radioimmunoassay.** Klin. Wschr. 54, 709.
2. BEISCHER, W. et al. (1976). **Human C-Peptide. Part II: Clinical studies.** Klin. Wschr. 54, 717.

3. BLIX, P.M. et al. (1982).  
**Urinary C-Peptide: an indicator of  $\beta$ -cell secretion under different metabolic conditions.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 54/3, 574.

4. BONSER, A et al. (1984).  
**C-Peptide measurement: method and clinical utility.**  
CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 19 297.

5. HORWITZ, D.L. et al. (1975).  
**Proinsulin, insulin and C-Peptide concentrations in human portal and peripheral blood.**  
J. Clin. Invest., 55, 1278.

6. RENDELL, M. (1983).  
**C-Peptide levels as a criterion in treatment of maturity onset diabetes.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 57/6, 1198.

7. RUBENSTEIN, A.H. et al. (1977).  
**Clinical significance of circulating proinsulin and C-Peptide.**  
Rec. Prog. Horm. Res., 33, 435.

8. TROPEANO, G. et al. (1994).  
**Insulin, C-Peptide, androgens, and beta endorphin response to oral glucose in patients with polycystic ovary syndrome.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 78/2, 305-9.

9. CONGEL, I. et al. (1993).  
**Effect of hyperlipocidemia on plasma C-Peptide concentration during euglycemic hyperinsulinemic clamp.**  
Diabetes Res., 22/1, 41-8.

10. KREW, M.A. et al. (1994).  
**Relation of amniotic fluid C-Peptide levels to neonatal body composition.**  
Obstet. Gynecol., 84/1, 96-100.

**XVIII. SUMMARY OF THE PROTOCOL**

	TOTAL COUNTS $\mu$ l	CALIBRATORS $\mu$ l	SAMPLE (S) CONTROLS $\mu$ l
Calibrators (0 to 5)	-	100	-
Samples, Controls	-	-	100
Tracer	50	50	50
Incubation	3 hours at room temperature		
Separation	-	Aspirate (or decant) 3.0 ml	
Working Wash solution		Aspirate (or decant)	
Separation			
Counting	Count tubes for 60 seconds		

DIASource Catalogue Nr : KIP0409 – KIP0408	P.I. Number : 1700444/en	Revision nr : 100719/1
---	-----------------------------	---------------------------

Revision date : 2010-07-19

Lire entièrement le protocole avant utilisation.

## C-PEP II-RIA-CT

### I. BUT DU DOSAGE

Trousse de dosage radio-immunologique pour la mesure quantitative *in vitro* du C Peptide dans le sérum humain.

### II. INFORMATIONS GENERALES

- A. **Nom du produit :** DIAsource C-PEP II-RIA-CT kit
- B. **Numéro de catalogue:** KIP0409 : 96 tests  
KIP0408 : 4 x 96 tests
- C. **Fabriqué par :** DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgique.

**Pour une assistance technique ou une information sur une commande :**

**Tel : +32 (0)67 88.99.99**

**Fax : +32 (0)67 88.99.96**

### III. CONTEXTE CLINIQUE

#### A. Activités biologiques

L'insuline est synthétisée dans les cellules bêta des îlots de Langerhans comme une molécule de précurseur, la proinsuline. Dans les granules sécrétoires des cellules bêta, la proinsuline est scindée en insuline et en un peptide de 31 acides aminés, le Peptide de Connexion ou le C Peptide. L'insuline et le C Peptide sont sécrétés en quantités équimolaires. Pourtant, la concentration en plasma du C Peptide est plus élevée que celle de l'insuline à cause de sa demi-vie plus longue.

La détermination du C Peptide en plasma permet une évaluation de la production d'insuline endogène, même en cas d'administration d'insuline exogène ou en cas d'anticorps anti-insuline circulants.

En plus, la détermination du C Peptide dans l'urine offre un index fiable de la production d'insuline si des échantillons de sang sont difficiles à obtenir ou si une évaluation intégrée de la sécrétion de C Peptide pour une période de plusieurs heures est nécessaire.


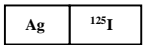
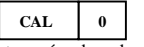
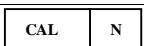

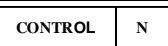
#### B. Applications cliniques

- . Evaluation de la fonction résiduelle des cellules bêta chez des diabétiques traités à l'insuline
- . Détection et suivi de la phase de rémission des diabètes de type I
- . Complément dans le diagnostic différentiel entre diabètes de type I (insulino-dépendant) et de type II (non-insulino-dépendant)
- . Diagnostic de l'hypoglycémie induite par l'insuline
- . Contribution au diagnostic de l'insulinome (test de suppression de l'insuline)
- . Index pronostique de l'issue foetale chez la femme diabétique enceinte
- . Evaluation de la sécrétion de l'insuline en cas de maladie du foie
- . Suivi de la pancréatectomie

#### IV. PRINCIPE DU DOSAGE

Une quantité fixe de C peptide marquée à l'<sup>125</sup>I est en compétition avec le C peptide à mesurer et présent dans l'échantillon ou dans le calibrateur pour une quantité fixe d'anticorps immobilisés sur les parois du tube en polystyrène. Ni extraction, ni phase de pré-traitement ne sont exigés pour la mesure de C peptide dans les échantillons. Après 3 heures d'incubation à température ambiante, le liquide est aspiré pour terminer la réaction de compétition. Les tubes sont lavés avec 3 ml de Solution de Lavage et aspirés à nouveau. Une courbe de calibration est réalisée et la concentration en C peptide des échantillons est déterminée par interpolation de la dose sur la courbe de calibration.

#### V. REACTIFS FOURNIS

Réactifs	96 Tests	4 x 96 Tests	Code couleur	Reconstitution
 Tubes recouverts avec l'anti C peptide	2 x 48	8 x 48	Orange	Prêt à l'emploi
 TRACEUR: C peptide marquée à l' <sup>125</sup> Iodine (grade HPLC) dans un tampon phosphate avec de la gelatine bovine et de l'azide de sodium (<0,1%)	1 flacon Lyophilisé 175 kBq	2 flacons Lyophilisés 4 x 175 kBq	Rouge	Ajouter 6 ml d'eau distillée
 Calibrateur zéro dans du sérum humain et du thymol	1 flacon lyophilisé	2 flacons lyophilisés	Jaune	Ajouter 3 ml d'eau distillée
 Calibrateurs C peptide - N = 1 à 5 (cfr. valeurs exactes sur chaque flacon) dans du sérum humain et du thymol	5 flacons lyophilisés	10 flacons lyophilisés	Jaune	Ajouter 1 ml d'eau distillée
 Solution de lavage (TRIS-HCl)	1 flacon 10 ml	4 flacons 10 ml	Brun	Diluer 70x avec de l'eau distillée (utiliser un agitateur magnétique).
 Contrôles - N = 1 ou 2 dans du sérum humain et du thymol	2 flacons lyophilisés	4 flacons lyophilisés	Gris	Ajouter 1 ml d'eau distillée

Note: 1. Utiliser le calibrateur zéro pour la dilution des échantillons.  
2. 1 ng de la préparation du calibrateur est équivalent à 1 ng de NIBSC IRR 84/510.

#### VI. MATERIEL NON FOURNI

Le matériel mentionné ci-dessous est requis mais non fourni avec la trousse:

- Eau distillée
- Pipettes pour distribuer: 50 µl, 100 µl et 1 ml (l'utilisation de pipettes précises et de points jetables en plastique est recommandée)
- Tubes en polystyrène jetables (12 x 75 mm)
- Agitateur vortex
- Agitateur magnétique
- Seringue automatique de 5 ml (type Cornwall) pour les lavages
- Système d'aspiration
- Tout compteur gamma capable de mesurer l'<sup>125</sup>I peut être utilisé (rendement minimum 70%).

#### VII. PREPARATION DES REACTIFS

- Calibrateurs:** Reconstituer le calibrateur zéro avec 3 ml d'eau distillée et les autres calibrateurs avec 1 ml d'eau distillée.
- Contrôles :** Reconstituer les contrôles avec 1 ml d'eau distillée.
- Traceur :** Reconstituer le traceur avec 6 ml d'eau distillée.
- Solution de Lavage :** Préparer un volume adéquat de Solution de Lavage en ajoutant 69 volumes d'eau distillée à 1 volume de Solution de Lavage (70x). Utiliser un agitateur magnétique pour homogénéiser. Eliminer la Solution de Lavage non utilisée à la fin de la journée.

#### VIII. STOCKAGE ET DATE D'EXPIRATION DES REACTIFS

- Avant l'ouverture ou la reconstitution, tous les composants de la trousse sont stables jusqu'à la date d'expiration, indiquée sur l'étiquette, si la trousse est conservée entre 2 et 8°C.
- Après reconstitution, le traceur doit être utilisé immédiatement ou être conservé à -20°C jusqu'à la date de validité.
- Après reconstitution, les calibrateurs et les contrôles sont très instables, les utiliser immédiatement après la reconstitution. Congelez-les immédiatement dans des aliquots et garder-les à -20°C pendant 3 mois. Eviter des cycles de congélation et décongélation successifs.
- La Solution de Lavage préparée doit être utilisée le jour même.
- Des altérations dans l'apparence physique des réactifs de la trousse peuvent indiquer une instabilité ou une détérioration.

#### IX. PREPARATION ET STABILITE DE L'ECHANTILLON

- Les échantillons de sérum doivent être gardés entre 2 et 8°C.
- Si le test n'est pas réalisé dans les 8 heures, un stockage à -20°C est recommandé.
- Eviter des cycles de congélation et décongélation successifs.

#### X. MODE OPERATOIRE

##### A. Notes de manipulation

Ne pas utiliser la trousse ou ses composants après avoir dépassé la date d'expiration. Ne pas mélanger du matériel provenant de trousses de lots différents. Mettre tous les réactifs à température ambiante avant utilisation. Mélanger à fond tous les réactifs et les échantillons sous agitation douce. Pour éviter toute contamination croisée, utiliser une nouvelle pointe de pipette pour l'addition de chaque réactif et échantillon. Des pipettes de haute précision ou un équipement de pipetage automatique permettent d'augmenter la précision. Respecter les temps d'incubation. Préparer une courbe de calibration pour chaque nouvelle série d'expériences, ne pas utiliser les données d'expériences précédentes.

##### B. Mode opératoire

- Identifier les tubes recouverts fournis dans la trousse en double pour chaque calibrateur, échantillon, contrôle. Pour la détermination de l'activité totale, identifier 2 tubes non recouverts.
- Agiter au vortex brièvement les calibrateurs, les échantillons et les contrôles. Puis distribuer 100 µl de chacun d'eux dans leurs tubes respectifs.  
**Cette opération doit être terminée dans 15 minutes.**
- Distribuer 50 µl de C peptide marquée à l'<sup>125</sup>Iodine dans chaque tube, y compris les tubes sans anticorps pour la détermination de l'activité totale.
- Agiter gentiment le portoir de tube pour libérer toute bulle d'air emprisonnée.
- Incuber pendant 3 heures à température ambiante.
- Aspirer le contenu de chaque tube (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale). Assurez-vous que la pointe utilisée pour aspirer le liquide des tubes atteint le fond de chacun d'eux pour éliminer toute trace de liquide.
- Laver les tubes avec 3 ml de Solution de Lavage (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale) et aspirer. Eviter la formation de mousse pendant l'addition de la Solution de Lavage.
- Laisser les tubes droits pendant 2 minutes et aspirer le reste de liquide.
- Placer les tubes dans un compteur gamma pendant 60 secondes pour quantifier la radioactivité.

#### XI. CALCUL DES RESULTATS

- Calculer la moyenne de chaque détermination réalisée en double.
- Calculer la capacité de liaison de l'essai comme un pourcentage de liaison déterminé au point de calibration (0) en suivant la formule ci-dessous :

$$B/B_0(\%) = \frac{\text{moyenne des cpm (CAL ou échantillon)}}{\text{moyenne des cpm (CAL 0)}} \times 100$$

- Utiliser un "3 cycle semi-logarithmic" ou un papier graphique "logit-log", porter en ordonnée les valeurs exprimées en pourcentage de liaison (B/B<sub>0</sub>(%)) de chaque point de calibration et en abscisse leur concentration respective en C peptide, écarter les valeurs aberrantes.
- Des méthodes informatiques peuvent aussi être utilisées pour construire la courbe de calibration. Si un système d'analyse de traitement informatique des données est utilisé, il est recommandé d'utiliser la fonction « 4 paramètres » du lissage de courbes.
- L'interpolation des valeurs de chaque échantillon (B/B<sub>0</sub>(%)) détermine les concentrations en C peptide à partir de la courbe de calibration.
- Pour chaque essai, le pourcentage total de traceur lié en absence de C peptide non marquée (B<sub>0</sub>/T) doit être vérifié.



### XII. DONNEES TYPES

Les données représentées ci-dessous sont données pour information et ne peuvent jamais être utilisées à la place d'une courbe de calibration.

C-Peptide		cpm	B/Bo (%)
Activité totale		75295	
Calibrateur	0,0 pmol/ml	17690	100,0
	0,09 pmol/ml	14319	80,9
	0,29 pmol/ml	11618	65,7
	0,95 pmol/ml	6534	36,9
	2,98 pmol/ml	3361	19,0
	9,94 pmol/ml	1379	7,8

### XIII. PERFORMANCE ET LIMITES DU DOSAGE

#### A. Limite de détection

Vingt calibrateurs zéro ont été testés en parallèle avec un assortiment d'autres calibrateurs.

La limite de détection, définie comme la concentration apparente située 2 déviations standards en-dessous de la moyenne déterminée à la fixation zéro, était de 0,04 pmol/ml.

#### B. Spécificité

Le pourcentage de réaction croisée estimé par la comparaison de la concentration (indiquant une inhibition de 50 %) est respectivement :

Composé	Réactivité Croisée (%)
Proinsuline biosynthétique humaine	5,6
Glucagon humain	-
Insuline humaine	-

#### C. Précision

##### INTRA-ESSAI

##### INTER-ESSAI

Sérum	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)	Sérum	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)
A	24	0.28 ± 0.03	10.7	A	21	0.28 ± 0.03	10.7
B	26	1.21 ± 0.04	3.3	B	21	1.12 ± 0.11	9.8
C	24	0.18 ± 0.01	5.6	C	22	0.17 ± 0.02	11.8
D	24	0.68 ± 0.04	5.9	D	22	0.65 ± 0.05	7.7
E	24	1.60 ± 0.11	6.9	E	22	1.68 ± 0.12	7.1

SD : Déviation Standard; CV: Coefficient de variation

#### D. Exactitude

##### TEST DE DILUTION

Echantillon	Dilution	Concent. Théorique (pmol/ml)	Concent. Mesurée (pmol/ml)
sérum	1/1	-	6,99
	1/2	3,50	3,04
	1/4	1,75	1,56
	1/8	0,87	0,80
	1/16	0,44	0,46
	1/32	0,22	0,28
	1/64	0,11	0,07

L'échantillon a été dilué avec le calibrateur zéro.

### TEST DE RECUPERATION

Echantillon	C peptide ajouté (pmol/ml)	C peptide récupéré (pmol/ml)	Recupération (%)
sérum	0.14	0.14	100
	0.17	0.19	112
	0.22	0.22	100
	0.39	0.44	113
	1.14	1.12	98
	3.14	3.02	96

Facteur de conversion:

De ng/ml à pmol/ml : : 3

#### E. Délai entre la distribution du dernier calibrateur et celle de l'échantillon

Comme mentionné ci-après, la distribution des échantillons doit être effectuée dans un délai maximum de 15 minutes après la distribution du calibrateur.

##### DELAI

Sérum pmol/ml	0'	5'	10'	15'	20'	30'
C1	0,66	0,53	0,55	0,61	0,52	0,41
C2	2,27	2,14	2,58	1,90	1,79	2,07

### XIV. CÔNTROLE QUALITE INTERNE

- Si les résultats obtenus pour le(s) contrôle(s) 1 et/ou 2 ne sont pas dans l'intervalle spécifié sur l'étiquette du flacon, les résultats ne peuvent pas être utilisés à moins que l'on ait donné une explication satisfaisante de la non-conformité.
- Chaque laboratoire est libre de faire ses propres stocks d'échantillons contrôles, lesquels doivent être congelés aliquotés.
- Les critères d'acceptation pour les écarts des valeurs en duplicat des échantillons doivent être basés sur les pratiques de laboratoire courantes.

### XV. VALEURS ATTENDUES

Les valeurs sont données à titre d'information; chaque laboratoire doit établir ses propres écarts de valeurs.

Dans un groupe de 79 sujets normaux, la moyenne de concentration en C Peptide est de 1,02 pmol/ml (portée, basé sur les percentiles de 2,5% à 97,5% : 0,59 - 1,56 pmol/ml).

### XVI. PRECAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

#### Sécurité

Pour utilisation en diagnostic *in vitro* uniquement.

Cette trousse contient de I<sup>125</sup>I (demi-vie: 60 jours), une matière radioactive émettant des rayonnements ionisants X (28 keV) et γ (35.5 keV).

Ce produit radioactif peut uniquement être reçu, acheté, possédé ou utilisé par des personnes autorisées; l'achat, le stockage, l'utilisation et l'échange de produits radioactifs sont soumis à la législation du pays de l'utilisateur final. Ce produit ne peut en aucun cas être administré à l'homme ou aux animaux.

Toutes les manipulations radioactives doivent être exécutées dans un secteur désigné, éloigné de tout passage. Un journal de réception et de stockage des matières radioactives doit être tenu à jour dans le laboratoire. L'équipement de laboratoire et la verrerie, qui pourrait être contaminée avec des substances radioactives, doivent être isolés afin d'éviter la contamination croisée de plusieurs isotopes.

Toute contamination ou perte de substance radioactive doit être réglée conformément aux procédures de radio sécurité. Les déchets radioactifs doivent être placés de manière à respecter les réglementations en vigueur. L'adhésion aux règles de base de sécurité concernant les radiations procure une protection adéquate

Les composants de sang humain inclus dans ce kit ont été évalués par des méthodes approuvées par l'Europe et/ou la FDA et trouvés négatifs pour HBsAg, l'anti-HCV, l'anti-HIV-1 et 2. Aucune méthode connue ne peut offrir l'assurance complète que des dérivés de sang humain ne transmettront pas d'hépatite, le sida ou toute autre infection. Donc, le traitement des réactifs, du sérum ou des échantillons de plasma devront être conformes aux procédures locales de sécurité. Tous les produits animaux et leurs dérivés ont été collectés d'animaux sains. Les composants bovins proviennent de pays où l'ESB n'a pas été détectée. Néanmoins, les composants contenant des substances animales devront être traités comme potentiellement infectieux.

L'azide de sodium est nocif s'il est inhalé, avalé ou en contact avec la peau (l'azide de sodium est utilisé comme agent conservateur). L'azide dans cette trousse pouvant réagir avec le plomb et le cuivre dans les canalisations et donner des composés explosifs, il est nécessaire de nettoyer abondamment à l'eau le matériel utilisé.

Ne pas fumer, ni boire, ni manger ni appliquer de produits cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des vêtements protecteurs et des gants à usage unique.

#### XVII. BIBLIOGRAPHIE

1. BEISCHER, W. et al. (1976).  
**Human C-Peptide. Part I Radioimmunoassay.**  
Klin. Wschr. 54, 709.
2. BEISCHER, W. et al. (1976).  
**Human C-Peptide. Part II: Clinical studies.**  
Klin. Wschr. 54, 717.
3. BLIX, P.M. et al. (1982).  
**Urinary C-Peptide: an indicator of  $\beta$ -cell secretion under different metabolic conditions.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 54/3, 574.
4. BONSER, A et al. (1984).  
**C-Peptide measurement: method and clinical utility.**  
CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 19 297.
5. HORWITZ, D.L. et al. (1975).  
**Proinsulin, insulin and C-Peptide concentrations in human portal and peripheral blood.**  
J. Clin. Invest., 55, 1278.
6. RENDELL, M. (1983).  
**C-Peptide levels as a criterion in treatment of maturity onset diabetes.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 57/6, 1198.

7. RUBENSTEIN, A.H. et al. (1977).  
**Clinical significance of circulating proinsulin and C-Peptide.**  
Rec. Prog. Horm. Res., 33, 435.
8. TROPEANO, G. et al. (1994).  
**Insulin, C-Peptide, androgens, and beta endorphin response to oral glucose in patients with polycystic ovary syndrome.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 78/2, 305-9.
9. CONGEL, I. et al. (1993).  
**Effect of hyperlipocidemia on plasma C-Peptide concentration during euglycemic hyperinsulinemic clamp.**  
Diabetes Res., 22/1, 41-8.
10. KREW, M.A. et al. (1994).  
**Relation of amniotic fluid C-Peptide levels to neonatal body composition.**  
Obstet. Gynecol., 84/1, 96-100.

#### XVIII. RESUME DU PROTOCOLE

	ACTIVITE TOTALE ( $\mu$ l)	CALIBRATEURS ( $\mu$ l)	ECHANTILLON(S) CONTROLES ( $\mu$ l)
Calibrateurs (0 à 5)	-	100	-
Echantillons, contrôles	-	-	100
Traceur	50	50	50
Incubation	3 heures à température ambiante		
Séparation Solution de Lavage Séparation	-	aspiration 3,0 ml aspiration	
Comptage (radioactivité)	Temps de comptage des tubes : 60 secondes		

Numéro de catalogue DIASource : KIP0409 – KIP0408	Numéro de P.I.: 1700444/fr	Numéro de révision : 100719/1
--	-------------------------------	----------------------------------

Date de révision: 2010-07-19

Lees het hele protocol vóór gebruik.

# C-PEP II-RIA-CT

## I. BEOOGD GEBRUIK

Radioimmunoassay voor de kwantitatieve bepaling *in vitro* van menselijk C-Peptide in serum.

## II. ALGEMENE INFORMATIE

- A. **Gedeponeerd handelsmerk:** DIAsource C-PEP II-RIA-CT kit
- B. **Catalogusnummer:** KIP0409 : 96 testen  
KIP0408: 4 x 96 testen
- C. **Geproduceerd door:** DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, België.

Voor technische assistentie of voor bestelinformatie

kunt u contact opnemen met :

Tel : +32 (0)67 88.99.99

Fax: +32 (0)67 88.99.96

## III. KLINISCHE ACHTERGROND

### A. Biologische activiteiten

Insuline wordt gesynthetiseerd in de beta-cellen van de eilandjes van Langerhans als een precursor molecule, proinsuline. In de afscheidingsgranules van de beta-cellen, wordt proinsuline gesplitst in insuline en in een peptide met 31 aminozuren, Connecting Peptide genoemd of C-Peptide. Insuline en C-Peptide worden afgescheiden in equimolaire hoeveelheden. Nochtans is de plasmaconcentratie van C-peptide hoger dan die van insuline door zijn langere halfleven.

De bepaling van plasma C-peptide laat een schatting toe van de endogene insulineproductie, zelfs bij exogene insulinetoediening of bij circulerende anti-insuline antilichamen.

Meer nog, de bepaling van C-Peptide in urine voorziet een betrouwbare index van de insulineproductie als bloedstalen moeilijk te nemen zijn of als een geïntegreerde schatting van de afscheiding van C-peptide over een periode van verschillende uren nodig is.


### B. Klinische toepassingen

- . Schatting van de overgebleven beta-cel functie bij diabetici onder insulinetherapie
- . Opsporing en opvolging van de remissiefase van type I diabetes
- . Hulp bij de differentiële diagnose tussen type I (insuline-afhankelijk) en type II (niet-insuline-afhankelijk) diabetes
- . Diagnose van insuline-geïnduceerde kunstmatige hypoglycemie
- . Bijdrage tot de diagnose van insulinoom (insuline onderdrukkingstest)
- . Prognose index van het foetale resultaat bij zwangere vrouwen die aan diabetes lijden
- . Evaluatie van de insuline secretie bij leverziekten
- . Opvolgen van pancreatetectomie

#### IV. BESCHRIJVING VAN DE METHODE

Een vaste hoeveelheid <sup>125</sup>I gelabeld C-Peptide concurreert met C-Peptide dat bepaald moet worden en aanwezig is in het monster of in de kalibrator voor een vast aantal plaatsen met antilichamen die geïmmobiliseerd zijn aan de wand van een buisje van polystyreen. Er is geen extractie of chromatografie vereist. Na een incubatie van 3 uur bij kamertemperatuur, wordt de concurrentiereactie beëindigd door een aspiratiefase. Daarna worden de buisjes gewassen met 3 ml werk-wasoplossing en opnieuw afgezogen. Een kalibratiecurve wordt uitgezet en de concentraties van C-Peptide van de monsters worden bepaald door dosisinterpolatie van de kalibratiecurve.

#### V. GELEVERDE REAGENTIA

Reagens	Kit voor 96 testen	Kit voor 4 x 96 testen	Kleur-code	Reconstitutie			
 Buisjes gecoat met anti C peptide	2 x 48	8 x 48	Oranje	Klaar voor gebruik			
<table border="1" data-bbox="103 638 239 683"> <tr> <td>Ag</td> <td><sup>125</sup>I</td> </tr> </table> Tracer : C peptide gelabeld met <sup>125</sup> Jood (HPLC-kwaliteit) in fosfaat buffer met bovendien gelatine en azide (< 0,1%)	Ag	<sup>125</sup> I	1 flacon gevries-droogd 175 kBq	4 flacons gevries-droogd 4 x 175 kBq	Rood	6 ml gedestilleerd water <b>toevoegen</b>	
Ag	<sup>125</sup> I						
<table border="1" data-bbox="119 806 255 851"> <tr> <td>CAL</td> <td>0</td> </tr> </table> NulKalibrator in humaan serum en thymol	CAL	0	1 flacon, gevries-droogd	2 flacons, gevries-droogd	Geel	3 ml gedestilleerd water <b>toevoegen</b>	
CAL	0						
<table border="1" data-bbox="119 907 255 952"> <tr> <td>CAL</td> <td>N</td> </tr> </table> Kalibrators C peptide : N = 1 tot 5 (zie de exacte waarden op de flaconetiketten) in humaan serum en thymol	CAL	N	5 flacons, gevries-droogd	10 flacons, gevries-droogd	Geel	1 ml gedestilleerd water <b>toevoegen</b>	
CAL	N						
<table border="1" data-bbox="55 1086 295 1131"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Wasoplossing 70x : TRIS-HCl	WASH	SOLN	CONC	1 flacon 10 ml	4 flacons 10 ml	Bruin	70x met gedistilleerd water <b>verdunnen</b> (gebruik een magnetische roerder)
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1" data-bbox="71 1232 279 1276"> <tr> <td>CONTROL</td> <td>N</td> </tr> </table> Controles : N = 1 of 2 in humaan serum met thymol	CONTROL	N	2 flacons, gevries-droogd	4 flacons, gevries-droogd	zilver	1 ml gedestilleerd water <b>toevoegen</b>	
CONTROL	N						

- Opmerking: 1.** Gebruik de nulkalibrator voor monsterverdunningen.  
**2.** 1 ng van de kalibratorbereiding is gelijk aan 1 ng NIBSC IRR 84/510

#### VI. NIET MEEGELEVERDE MATERIALEN

De volgende materialen zijn noodzakelijk maar worden niet meegeleverd met de kit:

- Gedestilleerd water.
- Pipetten voor een volume van 50 µl, 100 µl en 1 ml (het gebruik van nauwkeurige pipetten met plastic wegwerptips wordt aanbevolen).
- Wegwerpbuisjes van polystyreen (12 x 75 mm)
- Vortexmenger.
- Magnetische roerder.
- Automatische spuit van 5 ml (type Cornwall) voor de wasfase.
- Afzuigstelsysteem (facultatief).
- Een gammateller die geschikt is voor de bepaling van <sup>125</sup>I. Een maximale telefficiëntie moet worden gegarandeerd.

#### VII. BEREIDING VAN HET REAGENS

- Kalibrators:** Reconstitueer de nulkalibrator met 3 ml gedestilleerd water en de andere kalibrators met 1 ml gedestilleerd water.
- Controles:** Reconstitueer de controles met 1 ml gedestilleerd water.
- Tracer:** Reconstitueer de tracer met 6 ml gedestilleerd water.
- Werk-wasoplossing:** Bereid een voldoende hoeveelheid werk-wasoplossing door 69 eenheden gedestilleerd water toe te voegen aan 1 eenheid wasoplossing. Gebruik een magnetische roerder voor de homogenisering. Op het eind van de dag moet de ongebruikte werk-wasoplossing afgevoerd worden.

#### VIII. OPSLAG EN VERVALDATUM VAN REAGENTIA

- Vóór opening of reconstitutie zijn alle kitcomponenten houdbaar tot de vervaldatum, zoals vermeld op het etiket, indien zij bewaard werden bij 2 tot 8°C.
- Na reconstitutie moet de tracer onmiddellijk gebruikt worden of kan hij bewaard worden bij -20°C tot de vervaldatum.
- Na reconstitutie zijn de kalibratoren en controles erg onstabiel, gebruik hen onmiddellijk na reconstitutie. Bevries onmiddellijk in aliquots en bewaar hen bij -20°C gedurende 3 maanden.
- Vermijd herhaalde invriezing en ontdooiing.
- Een vers bereide werk-wasoplossing moet op dezelfde dag nog gebruikt worden.
- Wijzigingen in het fysieke aspect van kitreagentia kunnen wijzen op instabiliteit of op een kwaliteitsvermindering.

#### IX. MONSTERAFNAME EN MONSTERBEREIDING

- Serummonsters moeten bij 2-8°C bewaard worden.
- Indien de test niet binnen 8 uur uitgevoerd wordt, dan wordt aanbevolen om ze bij -20°C te bewaren.
- Vermijd herhaalde invriezing en ontdooiing.

#### X. PROCEDURE

##### A. Opmerkingen bij de procedure

Gebruik de kit of de componenten niet langer dan de aangegeven vervaldatum. Materialen van kits van verschillende loten mogen niet gemengd worden. Laat alle reagentia op kamertemperatuur komen vóór gebruik.

Meng alle reagentia en monsters goed door ze voorzichtig te bewegen of door er voorzichtig mee te draaien. Om kruisbesmetting te vermijden, moet een propeere wegwerpbare pipettip gebruikt worden voor toevoeging van elk reagens en monster.

Pipetten met een grote precisie of geautomatiseerde pipetteerapparatuur zullen de precisie verhogen. Respecteer de incubatietijden.

Bereid een kalibratiecurve voor elke run; men mag geen gegevens gebruiken van voorafgaande runs.

##### B. Procedure

- Etiket de gecoate buisjes in duplo voor elke kalibrator, voor elk monster, voor elke controle. Etiket 2 normale buisjes voor de bepaling van de totaal tellingen.
- Vortex de kalibrators, monsters en controles gedurende korte tijd en pipetteer 100 µl van elk in het desbetreffende buisje.  
**Deze handeling moet binnen 15 minuten uitgevoerd zijn.**
- Pipetteer 50 µl C peptide dat met <sup>125</sup>I gelabeld werd in elk buisje, inclusief de niet gecoate buisjes voor de totaal tellingen.
- Schud het rek met de buisjes voorzichtig zodat eventuele ingesloten luchtballen vrijkomen.
- Incubeer gedurende 3 uur bij kamertemperatuur.
- Zuig de inhoud van elk buisje (met uitzondering van de totaal tellingen) op. Zorg ervoor dat de plastic tip van de aspirator tot aan de bodem van het gecoate buisje komt zodat alle vloeistof verwijderd wordt.
- Was de buisjes met 3 ml werk-wasvloeistof (met uitzondering van de totaal tellingen) en zuig op. Vermijd schuimvorming tijdens toevoeging van de werk-wasvloeistof.
- Na de wasfase moeten de buisjes gedurende twee minuten rechtop blijven staan en zuig daarna de overblijvende vloeistof op.
- Tel de buisjes in een gammateller gedurende 60 seconden.

#### XI. BEREKENING VAN DE RESULTATEN

- Bereken het gemiddelde voor de bepalingen in duplo.
- Bereken het percentage binding van de gebonden radioactiviteit, bepaald op het punt van de nulkalibrator (0), aan de hand van de volgende formule:

$$B/B_0 (\%) = \frac{\text{cpm (Kalibrator of monster)}}{\text{cpm (Nulkalibrator)}} \times 100$$

- Zet de (B/B<sub>0</sub>(%)) waarden uit voor elk kalibratorpunt, als een functie van de C peptide concentratie van elk kalibratorpunt, op 3-cyclisch semi-logaritmisch of dubbellogaritmisch papier, verwerp hierbij de duidelijke uitschieters.
- Ook computergestuurde methoden kunnen worden gebruikt om de kalibratiecurve te vormen. Indien de resultaten automatisch verwerkt worden, wordt de 4 parameter logistische functie aanbevolen voor de gepaste curve.
- Bepaal de C peptide concentraties van de monsters uit de referentiecurve door de monsterwaarden (B/B<sub>0</sub>(%)) te interpoleren.
- Voor elke bepaling moet het totaalpercentage van de tracer, gebonden in afwezigheid van ongelabeld C peptide (B<sub>0</sub>/T), gecontroleerd worden.

## XII. KENMERKENDE GEGEVENS

De volgende gegevens dienen enkel ter illustratie en mogen in geen geval gebruikt worden ter vervanging van de real time kalibratiecurve.

C-Peptide		cpm	B/Bo (%)
Totaaltelling		75295	
Kalibrator	0,0 pmol/ml	17690	100,0
	0,09 pmol/ml	14319	80,9
	0,29 pmol/ml	11618	65,7
	0,95 pmol/ml	6534	36,9
	2,98 pmol/ml	3361	19,0
	9,94 pmol/ml	1379	7,8

## XIII. EIGENSCHAPPEN EN GRENZEN

### A. Detectielimiet

Twintig nulkalibrators werden bepaald, samen met de serie andere kalibrators. De detectielimiet, omschreven als de schijnbare concentratie van twee standaarddeviaties onder de gemiddelde tellingen bij nulbinding, bedroeg 0,04 pmol/ml.

### B. Specificiteit

De percentages van kruisreactiviteit geschat naar de vergelijking van de concentraties (een remming van 50% toegevend) zijn respectievelijk:

Bestanddeel	Kruisreactiviteit (%)
Biosynthetisch humaan Proinsuline	5,6
Humaan Glucagon	-
Humaan Insuline	-

### C. Precisie

#### PRECISIE BINNEN EEN TEST

#### PRECISIE TUSSEN TESTEN

Serum	N	<X> ± SD (pmol/ml)	VC (%)	Serum	N	<X> ± SD (pmol/ml)	VC (%)
A	24	0.28 ± 0.03	10.7	A	21	0.28 ± 0.03	10.7
B	26	1.21 ± 0.04	3.3	B	21	1.12 ± 0.11	9.8
C	24	0.18 ± 0.01	5.6	C	22	0.17 ± 0.02	11.8
D	24	0.68 ± 0.04	5.9	D	22	0.65 ± 0.05	7.7
E	24	1.60 ± 0.11	6.9	E	22	1.68 ± 0.12	7.1

SD: standaarddeviatie; VC: variatiecoëfficiënt

### D. Nauwkeurigheid

#### VERDUNNINGSTEST

Monster	Verdunning	Theoretische concentratie (pmol/ml)	Concentratie die bepaald werd (pmol/ml)
Serum	1/1	-	6,99
	1/2	3,50	3,04
	1/4	1,75	1,56
	1/8	0,87	0,80
	1/16	0,44	0,46
	1/32	0,22	0,28
	1/64	0,11	0,07

Monsters werden verdund met de nulkalibrator.

## RECOVERY-TEST

Monster	C PEPTIDE toegevoegd (pmol/ml)	Recovery van C PEPTIDE (pmol/ml)	Recovery (%)
Serum	0,14	0,14	100
	0,17	0,19	112
	0,22	0,22	100
	0,39	0,44	113
	1,14	1,12	98
	3,14	3,02	96

### Conversiefactor :

Van ng/ml tot pmol/ml : : 3

### E. Tijdsperiode tussen de laatste kalibrator en distributie van het monster

Zoals hierna aangetoond moet het verdelen van de monsters gebeurd zijn binnen maximum 15 minuten na het verdelen van de kalibrator.

#### TIJDSPERIODE

Serum pmol/ml	0'	5'	10'	15'	20'	30'
C1	0,66	0,53	0,55	0,61	0,52	0,41
C2	2,27	2,14	2,58	1,90	1,79	2,07

## XIV. INTERNE KWALITEITSCONTROLE

- Indien de resultaten, die verkregen werden voor controle 1 en/of controle 2, niet binnen het bereik vallen zoals vermeld op het flaconetiket, dan mogen de resultaten niet gebruikt worden tenzij een bevredigende uitleg gegeven wordt voor de discrepantie.
- Indien gewenst, kan elk laboratorium zijn eigen pools voor controlemonsters maken, die dan in aliquots bewaard moeten worden in de diepvriezer.
- Aanvaardingscriteria voor het verschil tussen de resultaten in duplo van monsters moeten steunen op gangbare laboratoriumpraktijken.

## XV. REFERENTIE-INTERVALS

Deze waarden worden slechts als leidraad gegeven; elk laboratorium moet zijn eigen normaal bereik van waarden uitmaken.

In een groep van 79 normale individuen werd een gemiddelde C-peptide concentratie gemeten van 1,02 pmol/ml (de range, gebaseerd op 2.5% tot 97.5% percentielen, bedroeg : 0,59 – 1,56 pmol/ml).

## XVI. VOORZORGSMAATREGELEN EN WAARSCHUWINGEN

### Veiligheid

Uitsluitend voor in vitro diagnostisch gebruik.

Deze kit bevat <sup>125</sup>I (halfwaardetijd: 60 dagen), dat ioniserende X- (28 keV) en  $\gamma$ -stralen (35.5 keV) uitzendt.

Dit radioactieve product mag enkel overhandigd worden aan en gebruikt worden door bevoegd personeel; ontvangst, opslag, gebruik en overdracht van radioactieve producten zijn onderworpen aan de wetgeving van het land van de eindgebruiker. In geen geval mag het product toegediend worden aan mensen of dieren.

Alle handelingen met radioactief materiaal moeten plaatsvinden in een daartoe bestemde ruimte, waar uitsluitend bevoegd personeel toegelaten wordt. Een logboek met ontvangst en opslag van radioactieve materialen moet worden bijgehouden in het laboratorium. Laboratoriumapparatuur en glaswerk, dat eventueel gecontamineerd werd met radioactieve bestanddelen, moeten worden gesegregeerd om kruisbesmetting van verschillende radioisotopen te vermijden.

Als radioactief materiaal gemorst werd, dan moet dat onmiddellijk gereinigd worden in overeenstemming met de procedure voor stralingsveiligheid. Het radioactieve afval moet worden weggegooid in overeenstemming met de plaatselijke voorschriften en richtlijnen van de autoriteiten waaronder het laboratorium valt. Naleving van de basisregels van stralingsveiligheid zorgt voor een juiste bescherming.

De componenten, afkomstig van menselijk bloed, in deze kit werden getest door in Europa goedgekeurde en/of door de Amerikaanse FDA goedgekeurde methoden op aanwezigheid van HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 en 2 en gaven een negatief resultaat. Geen enkele bekende methode kan echter volledige garantie bieden dat derivaten van menselijk bloed geen hepatitis, aids of andere infecties overdragen. Daarom moet men reagentia, serum- of plasmamonsters behandelen in overeenstemming met de plaatselijke veiligheidsprocedures.

Alle producten en derivaten van dierlijke oorsprong zijn afkomstig van gezonde dieren. Boviene componenten komen uit landen waar BSE niet gerapporteerd werd. Toch moeten componenten die bestanddelen van dierlijke oorsprong bevatten, behandeld worden als potentieel besmettelijk.

Vermijd dat de reagentia (natriumazide als conserveermiddel) in contact komen met de huid. Azide in deze kit kan reageren met lood en koper in de afvoerleidingen en op die manier zeer explosieve metaalaziden vormen. Tijdens de wasfase moeten de afvoerleidingen ruimschoots met water nagespoeld worden om ophoping van azide te vermijden.

Niet roken, drinken, eten of cosmetica aanbrengen in de werkruimte. Niet met de mond pipetteren. Draag beschermende kleding en gebruik wegwerphandschoenen.

## XVII. BIBLIOGRAFIE

1. BEISCHER, W. et al. (1976).  
**Human C-Peptide. Part I Radioimmunoassay.**  
Klin. Wschr. 54, 709.
2. BEISCHER, W. et al. (1976).  
**Human C-Peptide. Part II: Clinical studies.**  
Klin. Wschr. 54, 717.
3. BLIX, P.M. et al. (1982).  
**Urinary C-Peptide: an indicator of  $\beta$ -cell secretion under different metabolic conditions.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 54/3, 574.
4. BONSER, A et al. (1984).  
**C-Peptide measurement: method and clinical utility.**  
CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 19 297.
5. HORWITZ, D.L. et al. (1975).  
**Proinsulin, insulin and C-Peptide concentrations in human portal and peripheral blood.**  
J. Clin. Invest., 55, 1278.
6. RENDELL, M. (1983).  
**C-Peptide levels as a criterion in treatment of maturity onset diabetes.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 57/6, 1198.

7. RUBENSTEIN, A.H. et al. (1977).  
**Clinical significance of circulating proinsulin and C-Peptide.**  
Rec. Prog. Horm. Res., 33, 435.
8. TROPEANO, G. et al. (1994).  
**Insulin, C-Peptide, androgens, and beta endorphin response to oral glucose in patients with polycystic ovary syndrome.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 78/2, 305-9.
9. CONGEL, I. et al. (1993).  
**Effect of hyperlipocidemia on plasma C-Peptide concentration during euglycemic hyperinsulinemic clamp.**  
Diabetes Res., 22/1, 41-8.
10. KREW, M.A. et al. (1994).  
**Relation of amniotic fluid C-Peptide levels to neonatal body composition.**  
Obstet. Gynecol., 84/1, 96-100.

## XVIII. SAMENVATTING VAN HET PROTOCOL

	TOTAAL- TELLINGEN ( $\mu$ l)	KALBRATORS ( $\mu$ l)	MONSTER(S) CONTROLES ( $\mu$ l)
Kalibrators (0 tot 5) Monsters, controles Tracer	- - 50	100 - 50	- 100 50
Incubatie	3 uur bij kamertemperatuur		
Scheiding Werk-wasoplossing Scheiding	-	opzuigen 3,0 ml opzuigen	
Telling	Tel buisjes gedurende 60 seconden		

DIAsource catalogusnummer: KIP0409 – KIP0408	Bijsluiternummer : 1700444/nl	Revisienummer : 100719/1
---	----------------------------------	-----------------------------

Revisiedatum: 2010-07-19



de

Vor Gebrauch des Kits lesen Sie bitte diese Packungsbeilage.

## C-PEP II-RIA-CT

### I. VERWENDUNGSZWECK

Ein Radio-Immunoassay für die quantitative *in vitro* Bestimmung von humanem C-Peptid in Serum.

### II. ALLGEMEINE INFORMATION

- A. **Handelsbezeichnung :** DIAsource C-PEP II-RIA-CT Kit
- B. **Katalognummer :** KIP0409 : 96 Tests  
KIP0408: 4 X 96 Tests
- C. **Hergestellt von:** DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgien.

**Für technische Unterstützung oder Bestellungen wenden Sie sich bitte an:**

**Tel : +32 (0)67 88.99.99 Fax : +32 (0)67 88.99.96**

**Für Deutschland : Kostenfreie Rufnummer : 0800 1 00 85 74 - Kostenfreie Faxnummer : 0800 1 00 85 75**

**E-mail Ordering : [ordering@diasource.be](mailto:ordering@diasource.be)**

### III. KLINISCHER HINTERGRUND

#### A. Biologische Aktivität

Insulin wird in den Beta-Zellen der Langerhans-Inseln als ein Vorläufermolekül, Proinsulin, synthetisiert. In den Sekretgranula der Beta-Zellen wird Proinsulin in Insulin und in ein Peptid mit 31 Aminosäuren, das so genannte C-Peptid („Connecting Peptide“) gespalten. Insulin und C-Peptid werden in äquimolaren Mengen sezerniert. Wegen seiner längeren Halbwertszeit ist die Plasmakonzentration von C-Peptid jedoch höher als jene von Insulin.

Die Bestimmung von C-Peptid im Plasma ermöglicht eine Beurteilung der endogenen Insulinproduktion, auch bei Vorliegen exogener Insulinverabreichung oder in Anwesenheit zirkulierender Anti-Insulin-Antikörper.

Darüber hinaus bietet die Bestimmung von C-Peptid im Harn einen zuverlässigen Index der Insulinproduktion, wenn die Abnahme von Blutproben schwierig ist oder wenn eine integrierte Schätzung der Sekretion von C-Peptid über einen Zeitraum von mehreren Stunden erforderlich ist.

#### B. Klinische Anwendungen

- . Beurteilung der Restfunktion der Beta-Zellen bei Diabetes unter Insulintherapie.
- . Erkennung und Kontrolle der Remissionsphase von Typ-1-Diabetes.
- . Zusatz in der Differenzialdiagnose zwischen Typ-1- (insulinabhängig) und Typ-2- (nicht insulinabhängig) Diabetes.
- . Diagnose insulininduzierter artifizieller Hypoglykämie.
- . Beitrag zur Diagnose von Insulinom (Insulin-Suppressionstest).
- . Prognostischer Index der Wirkung auf den Fötus bei schwangeren Diabetikerinnen.
- . Bewertung der Insulinsekretion bei Lebererkrankung.
- . Kontrolle von Pankreatektomie.

#### IV. GRUNDSÄTZLICHES ZUR DURCHFÜHRUNG

Eine festgesetzte Menge an <sup>125</sup>I-markiertem C-Peptid konkurriert mit dem zu messenden, in der Probe oder in dem Kalibrator vorhandenen C-Peptid um eine Menge an Antikörperbindungsstellen, die an der Wand des Polystyren Röhrchens fixiert sind. Weder Extraktions-, noch Vorbehandlungsschritt sind erforderlich, um C-Peptid in den Proben zu bestimmen. Nach einer dreistündigen Inkubation bei Raumtemperatur, beendet das Absaugen die Verdrängungsreaktion. Die Röhrchen werden anschliessend mit Waschlösung gewaschen, danach wird nochmals abgesaugt. Eine Kalibrationskurve wird gedruckt und die C-Peptid-Konzentrationen der Proben werden über Dosis Interpolation der Kalibrationskurve bestimmt.

#### V. MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenz	96 Test Kit	4 x 96 Test Kit	Farbcode	Rekonstitution			
Mit anti C peptide beschichtete Röhrchen	2 x 48	8 x 48	Orange	gebrauchsfertig			
<table border="1"> <tr> <td>Ag</td> <td><sup>125</sup>I</td> </tr> </table> Tracer : <sup>125</sup> Iod-markiertes C-Peptid (HPLC grade) in Phosphatpuffer mit Rinderserumgelatin und Azid (<0,1%)	Ag	<sup>125</sup> I	1 Gefäß lyophilisiert 175 kBq	4 Gefäße lyophilisiert 4 x 175 kBq	Rot	6 ml dest. Wasser zugeben	
Ag	<sup>125</sup> I						
<table border="1"> <tr> <td>CAL</td> <td>0</td> </tr> </table> Null-Kalibrator in Humanserum und Thymol	CAL	0	1 Gefäß lyophilisiert	2 Gefäß lyophilisiert	Gelb	3 ml dest. Wasser zugeben	
CAL	0						
<table border="1"> <tr> <td>CAL</td> <td>N</td> </tr> </table> Kalibratoren C-Peptid: N = 1 bis 5 (genaue Werte auf Gefäß-Etiketten) in Humanserum und Thymol	CAL	N	5 Gefäße lyophilisiert	10 Gefäße lyophilisiert	Gelb	1 ml dest. Wasser zugeben	
CAL	N						
<table border="1"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Waschlösung (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 Gefäß 10 ml	4 Gefäße 10 ml	Braun	70x mit dest. Wasser (Magnetrührer verwenden) verdünnen.
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1"> <tr> <td>CONTROL</td> <td>N</td> </tr> </table> Kontrollen : N = 1 oder 2 in Humanserum und Thymol	CONTROL	N	2 Gefäße lyophilisiert	4 Gefäße lyophilisiert	Silber	1 ml dest. Wasser zugeben	
CONTROL	N						

**Bemerkung:** 1. Benutzen Sie den Null-Kalibrator zur Probenverdünnung.  
2. 1 ng der Standardzubereitung ist äquivalent zu 1 ng NIBSC IRR 84/510.

#### VI. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL

Folgendes Material wird benötigt, aber nicht mit dem Kit mitgeliefert:

1. Dest. Wasser
2. Pipetten: 50 µl, 100 µl und 1 ml (Verwendung von Präzisionspipetten wird empfohlen)
3. Einwegpolystyrenröhrchen (12 x 75 mm)
4. Vortexmixer
5. Magnetrührer
6. 5 ml automatische Spritze (Cornwall-Typ) zum Waschen
7. Absaugsystem (optional)
8. Jeder Gamma-Counter, der <sup>125</sup>I messen kann, kann verwendet werden. Maximale Messeffizienz sollte gewährleistet sein.

#### VII. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- Kalibratoren:** Rekonstituieren Sie den Nullstandard mit 3 ml dest. Wasser, die anderen Standards mit 1 ml dest. Wasser.
- Kontrollen:** Rekonstituieren Sie die Kontrollen mit 1 ml dest. Wasser.
- Tracer:** Rekonstituieren Sie den Tracer mit 6 ml dest. Wasser.
- Waschlösung:** Zur Vorbereitung eines angemessenen Volumens nutzbarer Waschlösung, mischen Sie zu einem Volumen Waschlösung (70x) 69 Volumen destilliertes Wasser. Benutzen Sie einen Magnetrührer. Entsorgen Sie nach jedem Arbeitstag die überflüssige Waschlösung.

#### VIII. AUFBEWAHRUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Vor dem Öffnen und Rekonstituieren sind alle Kitkomponenten bei 2 bis 8°C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar.
- Nach der Rekonstituierung muss der Tracer sofort benutzt, oder bis zum Verfallsdatum bei -20°C aufbewahrt werden.
- Nach der Rekonstituierung sind die Kalibratoren und Kontrollen sehr instabil, benutzen Sie sie deshalb sofort nach der Rekonstituierung. Werden sie aliquotiert und eingefroren, sind sie bei -20°C 3 Monate haltbar. Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.
- Die Waschlösung sollte frisch hergestellt und am selben Tag aufgebraucht werden.
- Veränderungen im Aussehen der Kitkomponenten können auf Instabilität bzw. Zerfall hindeuten.

#### IX. PROBENSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG

- Serumproben müssen bei 2-8 °C aufbewahrt werden.
- Falls der Test nicht innerhalb von 8 Std. durchgeführt wird, müssen die Proben bei -20°C aufgehoben werden.
- Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.

#### X. DURCHFÜHRUNG

##### A. Bemerkungen zur Durchführung

Verwenden Sie den Kit oder dessen Komponenten nicht nach dem Ablaufdatum. Vermischen Sie nie Materialien von unterschiedlichen Kit-Chargen. Bringen Sie alle Reagenzien vor der Verwendung auf Raumtemperatur. Mischen Sie alle Reagenzien und Proben gründlich durch sanftes Schütteln oder Rühren. Verwenden Sie saubere Einwegpipettenspitzen, um Kreuzkontamination zu vermeiden. Präzisionspipetten oder ein automatisches Pipettiersystem erhöhen die Präzision. Achten Sie auf die Einhaltung der Inkubationszeiten. Erstellen Sie für jeden Durchlauf eine Kalibrationskurve, verwenden Sie nicht die Daten von früheren Durchläufen.

##### B. Durchführung

1. Beschriften Sie je 2 beschichtete Röhrchen für jeden Kalibrator, jede Probe und jede Kontrolle. Zur Bestimmung der Gesamtaktivität, beschriften Sie 2 normale Röhrchen.
2. Vortexen Sie Kalibratoren, Proben und Kontrollen kurz und geben Sie 100 µl von jedem in ihre Röhrchen.
- Dieser Schritt muss innerhalb von 15 Minuten abgeschlossen sein.**
3. Geben Sie 50 µl des <sup>125</sup>Iod-markierten C-Peptid in jedes Röhrchen, einschließlich der unbeschichteten Röhrchen für die Gesamtaktivität.
4. Schütteln Sie vorsichtig die Halterung mit den Röhrchen um Blasen zu entfernen.
5. Inkubieren Sie 3 Stunden bei Raumtemperatur.
6. Saugen Sie den Inhalt jedes Röhrchens ab (außer Gesamtaktivität). Vergewissern Sie sich, dass die Plastikspitze des Absaugers den Boden des beschichteten Röhrchens erreicht, um die gesamte Flüssigkeit zu entfernen.
7. Waschen Sie die Röhrchen mit 3 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab. Vermeiden Sie Schaumbildung bei Zugabe der Waschlösung.
8. Lassen Sie die Röhrchen 2 Minuten aufrecht stehen, und saugen Sie den verbleibenden Flüssigkeitstropfen ab.
9. Werten Sie die Röhrchen in einem Gamma-Counter über 60 Sekunden aus.

#### XI. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

1. Berechnen Sie den Durchschnitt aus den Doppelbestimmungen.
2. Berechnen Sie die gebundene Radioaktivität als Prozentsatz des am Null-Kalibratorpunkt (0) bestimmten Wertes nach folgender Formel:
3. Verwenden Sie semi-logarithmisches oder doppelt-logarithmisches Millimeterpapier (über 3 Größenordnungen), tragen Sie die (B/B0(%))-Werte

$$B/B0 (\%) = \frac{\text{Aktivität (Kalibrator oder Probe)}}{\text{Aktivität (Null-Kalibrator)}} \times 100$$

für jeden Kalibratorpunkt ein als Funktion der C-Peptid-Konzentration für jeden Kalibratorpunkt, schließen Sie offensichtliche „Ausreißer“ aus.

4. Computergestützte Methoden können ebenfalls zur Erstellung der Kalibrationskurve verwendet werden. Falls die Ergebnisberechnung mit dem Computer durchgeführt wird, empfehlen wir die Berechnung mit einer „4 Parameter“-Kurvenfunktion.



5. Bestimmen Sie die C-Peptid-Konzentrationen der Proben durch Interpolation der Probenwerte B/B0(%) aus der Referenzkurve.
6. Bei jedem Assay muss der Prozentsatz des gesamten gebundenen Tracers ohne unmarkiertes C-Peptid (B0/T) geprüft werden.

## XII. TYPISCHE WERTE

Die folgenden Daten dienen nur zu Demonstrationszwecken und können nicht als Ersatz für die Echtzeitkalibrationskurve verwendet werden.

C-Peptid	Cpm	B/B0 (%)
Gesamtaktivität	75295	
Kalibrator		
0,0 pmol/ml	17690	100,0
0,09 pmol/ml	14319	80,9
0,29 pmol/ml	11618	65,7
0,95 pmol/ml	6534	36,9
2,98 pmol/ml	3361	19,0
9,94 pmol/ml	1379	7,8

## XIII. LEISTUNGSMERKMALE UND GRENZEN DER METHODIK

### A. Nachweisgrenze

Zwanzig Null-Kalibratoren wurden zusammen mit einem Satz anderer Kalibratoren gemessen.

Die Nachweisgrenze, definiert als die scheinbare Konzentration bei zwei Standardabweichungen unterhalb des gemessenen Durchschnittswerts bei Nullbindung, entsprach 0,04 pmol/ml.

### B. Spezifität

Der Prozentsatz der Kreuzreaktion, der im Vergleich der Konzentration geschätzt wurde, welche eine 50%ige Inhibition ergibt, beträgt respektive:

Substanz	Kreuzreaktivität (%)
Biosynthetisches humanes Proinsulin	5,6
Humanes Glukagon	-
Humaninsulin	-

### C. Präzision

#### INTRA-ASSAY PRÄZISION

#### INTER-ASSAY PRÄZISION

Serum	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)
A	24	0.28 ± 0.03	10.7	A	21	0.28 ± 0.03	10.7
B	26	1.21 ± 0.04	3.3	B	21	1.12 ± 0.11	9.8
C	24	0.18 ± 0.01	5.6	C	22	0.17 ± 0.02	11.8
D	24	0.68 ± 0.04	5.9	D	22	0.65 ± 0.05	7.7
E	24	1.60 ± 0.11	6.9	E	22	1.68 ± 0.12	7.1

SD : Standardabweichung; CV: Variationskoeffizient

### D. Genauigkeit

#### VERDÜNNUNGSTEST

Probe	Verdünnung	Theoretische Konzent. (pmol/ml)	Gemessene Konzent. (pmol/ml)
Serum	1/1	-	6,99
	1/2	3,50	3,04
	1/4	1,75	1,56
	1/8	0,87	0,80
	1/16	0,44	0,46
	1/32	0,22	0,28
	1/64	0,11	0,07

Die Proben wurden mit den Null-Kalibrator verdünnt.

## WIEDERFINDUNGSTEST

Probe	Zugeg. C-Peptid (pmol/ml)	Wiedergef. C-Peptid (pmol/ml)	Wiedergefunden (%)
Serum	0.14	0.14	100
	0.17	0.19	112
	0.22	0.22	100
	0.39	0.44	113
	1.14	1.12	98
	3.14	3.02	96

### Umrechnungsfaktor:

Von ng/ml in pmol/ml: : 3

### E. Zeitverzögerung zwischen letzter Kalibrator- und Probenzugabe

Wie im Folgenden gezeigt, muss die Probenzugabe innerhalb von höchstens 15 Minuten nach der Kalibratorzugabe erfolgen.

#### ZEITABSTAND

Serum pmol/ml	0'	5'	10'	15'	20'	30'
C1	0,66	0,53	0,55	0,61	0,52	0,41
C2	2,27	2,14	2,58	1,90	1,79	2,07

## XIV. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

- Entsprechen die Ist-Werte nicht den auf den Fläschchen angegebenen Soll-Werten, können diese Werte, ohne treffende Erklärung für die Abweichungen, nicht weiterverarbeitet werden.
- Falls zusätzliche Kontrollen erwünscht sind, kann jedes Labor seinen eigenen Pool herstellen, der in Aliquots eingefroren werden sollte.
- Akzeptanzkriterien für die Differenz zwischen den Resultaten der Wiederholungstests anhand der Proben müssen auf Guter Laborpraxis beruhen.

## XV. ZU ERWARTENDER BEREICH

Diese Werte sind nur Richtwerte; jedes Labor muss seinen eigenen Normalwertbereich ermitteln.

In einer Gruppe von 79 gesunden Personen wurde eine mittlere Konzentration von humanem C-Peptid von 1,02 pmol/ml festgestellt (Bereich basiert auf 2,5% bis 97,5% Perzentilen: 0,59 - 1,56 pmol/ml).

## XV. VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNUNGEN

### Sicherheit

Nur für diagnostische Zwecke.

Dieser Kit enthält <sup>125</sup>I (Halbwertszeit: 60 Tagen), das ionisierende X (28 keV) und γ (35,5 keV) Strahlungen emittiert.

Dieses radioaktive Produkt kann nur an autorisierte Personen abgegeben und darf nur von diesen angewendet werden; Erwerb, Lagerung, Verwendung und Austausch radioaktiver Produkte sind Gegenstand der Gesetzgebung des Landes des jeweiligen Endverbrauchers. In keinem Fall darf das Produkt an Menschen oder Tieren angewendet werden.

Der Umgang mit radioaktiven Substanzen sollte fern von Durchgangsverkehr in einem speziell ausgewiesenen Bereich stattfinden. Ein Logbuch für Protokolle und Aufbewahrung muss im Labor sein. Die Laborausstattung und die Glasbehälter, die mit radioaktiven Substanzen kontaminiert werden können, müssen ausgesondert werden, um Kreuzkontaminationen mit unterschiedlichen Radioisotopen zu verhindern.

Verschüttete radioaktive Substanzen müssen sofort den Sicherheitsbestimmungen entsprechend entfernt werden. Radioaktive Abfälle müssen entsprechend den lokalen Bestimmungen und Richtlinien der für das Labor zuständigen Behörden gelagert werden. Das Einhalten der Sicherheitsbestimmungen für den Umgang mit radioaktiven Substanzen gewährleistet ausreichenden Schutz.

Die menschlichen Blutkomponenten in diesem Kit wurden mit europäischen und in den USA erprobten FDA-Methoden getestet, sie waren negativ für HBsAg, anti-HCV und anti-HIV 1 und 2. Keine bekannte Methode kann jedoch vollkommene Sicherheit darüber liefern, dass menschliche Blutbestandteile nicht Hepatitis, AIDS oder andere Infektionen übertragen. Deshalb sollte der Umgang mit Reagenzien,

Serum oder Plasmaproben in Übereinstimmung mit den Sicherheitsbestimmungen erfolgen.

Alle tierischen Produkte und deren Derivate wurden von gesunden Tieren gesammelt. Komponenten von Rindern stammen aus Ländern in denen BSE nicht nachgewiesen wurde. Trotzdem sollten Komponenten, die tierische Substanzen enthalten, als potentiell ansteckend behandelt werden.

Vermeiden Sie Hautkontakt mit den Reagenzien (Natriumazid als Konservierungsmittel). Das Azid in diesem Kit kann mit Blei oder Kupfer in den Abflußrohren reagieren und so hochexplosive Metallazide bilden. Spülen Sie während der Waschschrte den Abfluß gründlich mit viel Wasser, um die Metallazidbildung zu verhindern.

Bitte rauchen, trinken, essen Sie nicht in Ihrem Arbeitsbereich, und verwenden Sie keine Kosmetika. Pipettieren Sie nicht mit dem Mund. Tragen Sie Schutzkleidung und Wegwerfhandschuhe.

#### XVII. LITERATUR

1. BEISCHER, W. et al. (1976).  
**Human C-Peptide. Part I Radioimmunoassay.**  
Klin. Wschr. 54, 709.
2. BEISCHER, W. et al. (1976).  
**Human C-Peptide. Part II: Clinical studies.**  
Klin. Wschr. 54, 717.
3. BLIX, P.M. et al. (1982).  
**Urinary C-Peptide: an indicator of  $\beta$ -cell secretion under different metabolic conditions.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 54/3, 574.
4. BONSER, A et al. (1984).  
**C-Peptide measurement: method and clinical utility.**  
CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 19 297.
5. HORWITZ, D.L. et al. (1975).  
**Proinsulin, insulin and C-Peptide concentrations in human portal and peripheral blood.**  
J. Clin. Invest., 55, 1278.
6. RENDELL, M. (1983).  
**C-Peptide levels as a criterion in treatment of maturity onset diabetes.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 57/6, 1198.
7. RUBENSTEIN, A.H. et al. (1977).  
**Clinical significance of circulating proinsulin and C-Peptide.**  
Rec. Prog. Horm. Res., 33, 435.

8. TROPEANO, G. et al. (1994).  
**Insulin, C-Peptide, androgens, and beta endorphin response to oral glucose in patients with polycystic ovary syndrome.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 78/2, 305-9.
9. CONGEL, I. et al. (1993).  
**Effect of hyperlipocidemia on plasma C-Ptpdie concentration during euglycemic hyperinsulinemic clamp.**  
Diabetes Res., 22/1, 41-8.
10. KREW, M.A. et al. (1994).  
**Relation of amniotic fluid C-Peptide levels to neonatal body composition.**  
Obstet. Gynecol., 84/1, 96-100.

#### XVIII. ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS

	GESAMT- AKTIVITÄT ( $\mu$ l)	KALIBRATOREN ( $\mu$ l)	PROBE(N)- KONTROLLE N ( $\mu$ l)
Kalibratoren (0 to 5)	-	100	-
Proben, Kontrollen	-	-	100
Tracer	50	50	50
Inkubation	3 Std. bei Raumtemperatur		
Separation	-		absaugen
Waschlösung	-		3,0 ml
Separation	-		absaugen
Auswertung	Messen der Röhrchen 60 Sekunden		

DIASource Katalognummer : KIP0409 – KIP0408	Beipackzettel- nummer : 1700444/de	Nummer der Originalausgabe : 100719/1
--	---------------------------------------	---

Revisionsdatum: 2010-07-19



Prima di utilizzare il kit leggere attentamente le istruzioni per l'uso

## C-PEP II -RIA-CT

### *I. USO DEL KIT*

Kit radioimmunologico per la determinazione quantitativa in vitro del Peptide-C umano nel siero.

### *II. INFORMAZIONI DI CARATTERE GENERALE*

- A. Nome commerciale:** DIAsource C-PEP II-RIA-CT Kit
- B. Numero di catalogo:** KIP0409: 96 test  
KIP0408: 4 x 96 test
- C. Prodotto da:** **DIAsource ImmunoAssays S.A.**  
**Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgio.**

**Per informazioni tecniche o su come ordinare il prodotto contattare:**  
**Tel: +32 (0) 67 88.99.99 Fax: +32 (0) 67 88.99.96**

### *III. INFORMAZIONI CLINICHE*

#### **A. Attività biologiche**

L'insulina viene sintetizzata nelle cellule beta delle isole di Langerhans come una molecola precursore, la proinsulina. Nei granuli secretori delle cellule beta, la proinsulina viene scissa in insulina e in un peptide di 31 aminoacidi, denominato Peptide di Collegamento o Peptide C. L'insulina e il Peptide C vengono secreti in quantità equimolari. Tuttavia, per la sua emivita lunga, la concentrazione plasmatica di Peptide C è maggiore rispetto a quella dell'insulina.

La determinazione del Peptide C nel plasma consente una valutazione della produzione di insulina endogena, anche in presenza di somministrazione di insulina esogena o di anticorpi anti-insulina circolanti.

Inoltre, la determinazione del Peptide C nelle urine fornisce un indice affidabile della produzione di insulina quando il prelievo del sangue è difficile o quando viene richiesta una stima integrata della secrezione di Peptide C in un periodo di alcune ore.


#### **B. Applicazioni cliniche**

- . Valutazione della funzione residua delle cellule beta nei pazienti diabetici in terapia insulinica
- . Rilevamento e monitoraggio della fase di remissione del diabete tipo I
- . Aggiunta nella diagnosi differenziale tra diabete tipo I (insulino-dipendente) e tipo II (non insulino-dipendente)
- . Diagnosi di ipoglicemia fittizia insulino-indotta
- . Contributo alla diagnosi di insulinoma (test di soppressione dell'insulina)
- . Indice prognostico dello stato del feto nelle donne diabetiche gravide
- . Valutazione della secrezione di insulina nelle epatopatie
- . Monitoraggio della pancreatectomia

#### IV. PRINCIPIO DEL METODO

Una quantità definita di C-Peptide marcata con  $^{125}\text{I}$  compete con il C-Peptide presente in calibratore e campioni per un numero definito di siti di un anticorpo adsorbito sulla superficie interna di provette di polistirene. Non è richiesta estrazione né cromatografia. Dopo 3 ore di incubazione a temperatura ambiente, la reazione di competizione viene interrotta per aspirazione della miscela di reazione. Le provette vengono quindi lavate con tampone di lavaggio diluito e aspirate. La concentrazione di C-Peptide nei campioni viene calcolata per interpolazione sulla curva calibratore.

#### V. REATTIVI FORNITI

Reattivi	Kit da 96 test	Kit da 4 x 96 test	Codice colore	Volume di ricostituzione			
 Provette sensibilizzate con anticorpo anti C-Peptide	2 x 48	8 x 48	arancione	Pronte per l'uso			
<table border="1" data-bbox="119 616 255 672"> <tr><td>Ag</td><td><math>^{125}\text{I}</math></td></tr> </table> Marcato: C-PEPTIDE marcato con $^{125}\text{I}$ (grado HPLC), in tampone fosfato con gelatina bovina e sodio azide (<0,1%)	Ag	$^{125}\text{I}$	1 flacone liofilizzati 175 kBq	4 flaconi liofilizzati 4 x 175 kBq	rosso	Aggiungere 6 ml di acqua distillata	
Ag	$^{125}\text{I}$						
<table border="1" data-bbox="111 806 263 862"> <tr><td>CAL</td><td>0</td></tr> </table> Calibratore zero in siero umano e timolo	CAL	0	1 flacone liofilizzati	2 flaconi liofilizzati	giallo	Aggiungere 3 ml di acqua distillata	
CAL	0						
<table border="1" data-bbox="119 918 255 974"> <tr><td>CAL</td><td>N</td></tr> </table> Calibratore 1-5 di C-PEPTIDE, (le concentrazioni esatte degli calibratore sono riportate sulle etichette dei flaconi), in siero umano e timolo	CAL	N	5 flaconi liofilizzati	10 flaconi liofilizzati	giallo	Aggiungere 1 ml di acqua distillata	
CAL	N						
<table border="1" data-bbox="55 1120 271 1176"> <tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr> </table> Tampone di lavaggio (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 flacone 10 ml	4 flaconi 10 ml	bruno	Diluire 70 x con acqua distillata usando un agitatore magnetico
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1" data-bbox="71 1254 255 1310"> <tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr> </table> Controlli: N = 1 o 2, in siero umano e timolo	CONTROL	N	2 flaconi liofilizzati	4 flaconi liofilizzati	argento	Aggiungere 1 ml di acqua distillata	
CONTROL	N						

**Note :** Usare lo calibratore zero per diluire i campioni  
1 ng della preparazione standard è equivalente a 1 ng di NIBSC IRR 84/510.

#### VI. REATTIVI NON FORNITI

Il seguente materiale è richiesto per il dosaggio ma non è fornito nel kit.

1. Acqua distillata.
2. Pipette per dispensare 50  $\mu\text{l}$ , 100  $\mu\text{l}$  e 1 ml (Si raccomanda di utilizzare pipette accurate con puntale in plastica monouso).
3. Provette monouso in polistirene (12 x 75 mm)
4. Agitatore tipo vortex.
5. Agitatore magnetico.
6. Pipetta a ripetizione automatica 5 ml per i lavaggi.
7. Sistema di aspirazione dei campioni (facoltativo).
8. Contatore gamma con finestra per  $^{125}\text{I}$  (efficienza minima 70%)

#### VII. PREPARAZIONE DEI REATTIVI

- Calibratore:** Ricostituire lo calibratore zero con 3,0 mL di acqua distillata e gli altri calibratore con 1,0 mL di acqua distillata.
- Controlli:** Ricostituire i controlli con 1,0 ml di acqua distillata.
- Marcato:** Ricostituire il marcato con 6,0 ml di acqua distillata.
- Soluzione di lavoro del tampone di lavaggio:** Preparare la quantità necessaria di soluzione di lavoro del tampone di lavaggio aggiungendo 69 parti di acqua distillata ad una parte di tampone di lavaggio concentrato (70x). Usare un agitatore magnetico per rendere la soluzione omogenea. La soluzione di lavoro va scartata al termine della giornata.

#### VIII. CONSERVAZIONE E SCADENZA DEI REATTIVI

- I reattivi non utilizzati sono stabili a 2-8°C fino alla data riportata su ciascuna etichetta.
- Dopo ricostituzione, il tracciante deve essere usato immediatamente o conservato a -20 °C fino alla data di scadenza.
- Dopo ricostituzione, i calibratori e i controlli sono molto instabili, utilizzarli immediatamente dopo la ricostituzione. Congelarli subito in aliquote e conservarli a -20°C per 3 mesi.  
Evitare ripetuti cicli di congelamento-scongelo dei campioni.
- La soluzione di lavoro del tampone di lavaggio deve essere preparata fresca ogni volta e usata nello stesso giorno della preparazione.
- Alterazioni dell'aspetto fisico dei reattivi possono indicare una loro instabilità o deterioramento.

#### IX. RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

- Conservare i campioni di siero a 2-8°C.
- Se non si desidera eseguire il dosaggio entro 8 ore dal prelievo, si raccomanda di conservare i campioni a -20°C.
- Evitare ripetuti cicli di congelamento-scongelo dei campioni.

#### X. METODO DEL DOSAGGIO

##### A. Avvertenze generali

Non usare il kit o suoi componenti oltre la data di scadenza. Non mescolare reattivi di lotti diversi. Prima dell'uso portare tutti i reattivi a temperatura ambiente.

Mescolare delicatamente i campioni per inversione o rotazione. Per evitare cross-contaminazioni, cambiare il puntale della pipetta ogni volta che si usi un nuovo reattivo o campione.

L'uso di pipette ben tarate e ripetibili o di sistemi di pipettamento automatici migliora la precisione del dosaggio. Rispettare i tempi di incubazione.

Allestire una curva di taratura per ogni seduta analitica, in quanto non è possibile utilizzare per un dosaggio curve di taratura di sedute analitiche precedenti.

##### B. Metodo del dosaggio

1. Numerare le provette sensibilizzate necessarie per dosare in duplicato ogni calibratore, campione o controllo. Numerare 2 provette non sensibilizzate per la determinazione dell'attività totale.
2. Agitare brevemente su vortex calibratore, campioni e controlli. Dispensare 100  $\mu\text{l}$  di calibratore, campioni e controlli nelle rispettive provette.  
**Effettuare questa operazione entro 15 minuti.**
3. Dispensare 50  $\mu\text{l}$  di C-PEPTIDE marcato con  $^{125}\text{I}$  in tutte le provette, comprese quelle per l'attività totale.
4. Scuotere gentilmente il portaprovette per liberare eventuali bolle d'aria intrappolate nel liquido contenuto nelle provette.
5. Incubare 3 ore a temperatura ambiente.
6. Aspirare il liquido contenuto in tutte le provette, tranne in quelle per l'attività totale, facendo attenzione che il puntale dell'aspiratore raggiunga il fondo delle provette e che aspiri tutto il liquido.
7. Lavare tutte le provette, tranne quelle per l'attività totale, con 3 ml di soluzione di lavoro di tampone di lavaggio, evitando di provocare la formazione di schiuma.
8. Lasciare decantare le provette in posizione verticale per due minuti circa e aspirare eventuali gocce di liquido residue.
9. Contare tutte le provette per 1 minuto con il contatore gamma.

#### XI. CALCOLO DEI RISULTATI

1. Calcolare la media delle determinazioni in duplicato.
2. Calcolare il rapporto (rapporto di competizione) tra radioattività legata alle provette di calibratore 1-5, campioni e controlli (B) e la radioattività legata alle provette dello calibratore zero (B0).

$$B/B0 (\%) = \frac{\text{cpm (Calibratore, campioni o controlli)}}{\text{cpm (Zero Calibratore)}} \times 100$$

3. Usando carta semilogaritmica a 3 cicli o logit-log e ponendo in ordinata i rapporti di competizione. B/B0 (%) per ogni calibratore e in ascissa le rispettive concentrazioni di C-PEPTIDE, tracciare la curva di taratura, scartare i valori palesemente discordanti.

- È possibile utilizzare un sistema di interpolazione dati automatizzato. Con un sistema automatico di interpolazione dati, utilizzare la curva a 4 parametri.
- Per interpolazione sulla curva di taratura dei rapporti di competizione di campioni e controlli, determinare le rispettive concentrazioni di C-PEPTIDE.
- Per ogni dosaggio determinare la capacità legante B0/T.

## XII. CARATTERISTICHE TIPICHE

I sotto riportati sono forniti a titolo di esempio e non devono essere utilizzati per calcolare le concentrazioni di C-PEPTIDE in campioni e controlli al posto della curva calibratore eseguita contemporaneamente.

C-PEPTIDE		cpm	B/Bo (%)
Attività totale		75295	
Calibratore	0,0 pmol/ml	17690	100,0
	0,09 pmol/ml	14319	80,9
	0,29 pmol/ml	11618	65,7
	0,95 pmol/ml	6534	36,9
	2,98 pmol/ml	3361	19,0
	9,94 pmol/ml	1379	7,8

## XIII. CARATTERISTICHE E LIMITI DEL METODO

### A. Sensibilità

La sensibilità, calcolata come concentrazione apparente di un campione con cpm pari alla media meno 2 deviazioni calibratore di 20 replicati dello calibratore zero, è risultata essere 0,04 pmol/ml.

### B. Specificità

Le percentuali di cross-reattività stimata rispetto alla concentrazione in grado di produrre un'inibizione al 50% sono rispettivamente:

Composto	Cross-Reattività (%)
Proinsulina umana di biosintesi	5,6%
Glucagone umano	-
Insulina umana	-

### C. Precisione

#### INTRA SAGGIO

#### INTER SAGGIO

Siero	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)	Siero	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)
A	24	0,28 ± 0,03	10,7	A	21	0,28 ± 0,03	10,7
B	26	1,21 ± 0,04	3,3	B	21	1,12 ± 0,11	9,8
C	24	0,18 ± 0,01	5,6	C	22	0,17 ± 0,02	11,8
D	24	0,68 ± 0,04	5,9	D	22	0,65 ± 0,05	7,7
E	24	1,60 ± 0,11	6,9	E	22	1,68 ± 0,12	7,1

SD : Deviazione Standard; CV: Coefficiente di Variazione

### D. Accuratezza

#### TEST DI DILUIZIONE

Campione	Diluizione	Concentrazione teorica (pmol/ml)	Concentrazione misurata (pmol/ml)
Siero	1/1	-	6,99
	1/2	3,50	3,04
	1/4	1,75	1,56
	1/8	0,87	0,80
	1/16	0,44	0,46
	1/32	0,22	0,28
	1/64	0,11	0,07

I campioni sono stati diluiti con calibratore zero.

## TEST DI RECUPERO

Campione	C-PEPTIDE aggiunto (pmol/ml)	C-PEPTIDE recuperato (pmol/ml)	Recupero (%)
Siero	0,14	0,14	100
	0,17	0,19	112
	0,22	0,22	100
	0,39	0,44	113
	1,14	1,12	98
	3,14	3,02	96

### Fattore di conversione:

da ng/ml a pmol/ml: : 3

### E. Tempo trascorso tra l'aggiunta dell'ultimo calibratore e il campione

Come mostrato nella seguente tabella, il dosaggio si mantiene accurato anche quando un campione viene aggiunto nelle provette sensibilizzate 15 minuti dopo l'aggiunta del calibratore.

#### TEMPO TRASCORSO

Siero pmol/ml	0'	5'	10'	15'	20'	30'
C1	0,66	0,53	0,55	0,61	0,52	0,41
C2	2,27	2,14	2,58	1,90	1,79	2,07

## XIV. CONTROLLO DI QUALITÀ INTERNO

- Se i risultati ottenuti dosando il Controllo 1 e il Controllo 2 non sono all'interno dei limiti riportati sull'etichetta dei flaconi, non è opportuno utilizzare i risultati ottenuti per i campioni, a meno che non si trovi una giustificazione soddisfacente.
- Ogni laboratorio può preparare un proprio pool di sieri da utilizzare come controllo, da conservare congelato in aliquote.
- I criteri di accettazione delle differenze tra i risultati in duplicato dei campioni devono basarsi sulla buona prassi di laboratorio.

## XV. INTERVALLI DI RIFERIMENTO

Questi valori sono puramente indicativi, ciascun laboratorio potrà stabilire i propri intervalli normali.

In un gruppo di 79 soggetti normali, la concentrazione media di Peptide-C umano riscontrata è stata di 1,02 pmol/ml (range, basato su percentili da 2,5% a 97,5%: 0,59 - 1,56 pmol/ml).

## XVI. PRECAUZIONI PER L'USO

### Sicurezza

Il kit è solo per uso diagnostico in vitro.

Il kit contiene <sup>125</sup>I (emivita: 60 giorni) emettente raggi X (28 keV) e γ (35.5 keV) ionizzanti.

L'acquisto, la detenzione, l'utilizzo e il trasporto di materiale radioattivo sono soggetti a regolamentazione locale. In nessun caso il prodotto può essere somministrato ad esseri umani o animali.

Usare sempre guanti e camici da laboratorio quando si manipola materiale radioattivo. Le sostanze radioattive devono essere conservate in propri contenitori in appositi locali che devono essere interdetti alle persone non autorizzate. Deve essere tenuto un registro di carico e scarico del materiale radioattivo. Il materiale di laboratorio e la vetreria deve essere dedicato all'uso di isotopi specifici per evitare cross-contaminazioni.

In caso di contaminazione o dispersione di materiale radioattivo, fare riferimento alle norme locali di radioprotezione. I rifiuti radioattivi devono essere smaltiti secondo le norme locali di radioprotezione. Lo scrupoloso rispetto delle norme per l'uso di sostanze radioattive fornisce una protezione adeguata agli utilizzatori. I reattivi di origine umana presenti nel kit sono stati dosati con metodi approvati da organismi di controllo europei o da FDA e si sono rivelati negativi per HBs Ag, anti HCV, anti HIV1 e anti HIV2. Non sono disponibili metodi in grado di offrire la certezza assoluta che derivati da sangue umano non possano provocare epatiti, AIDS o trasmettere altre infezioni. Manipolare questi reattivi o i campioni di siero o plasma secondo le procedure di sicurezza vigenti.

Tutti i prodotti di origine animale o loro derivati provengono da animali sani. I componenti di origine bovina provengono da paesi dove non sono stati segnalati casi di BSE. E' comunque necessario considerare i prodotti di origine animale come potenziali fonti di infezioni.

Evitare ogni contatto dell'epidermide con i reattivi contenenti sodio azide come conservante. La sodio azide può reagire con piombo rame o ottone presenti nelle tubature di scarico per formare metallo-azidi esplosive. Smaltire questi reattivi facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi.

Nei luoghi dove si usano sostanze radioattive non è consentito consumare cibi o bevande, fumare o usare cosmetici. Non pipettare i reattivi con pipette a bocca.

#### XVII. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. BEISCHER, W. et al. (1976).  
**Human C-Peptide. Part I Radioimmunoassay.**  
Klin. Wschr. 54, 709.
2. BEISCHER, W. et al. (1976).  
**Human C-Peptide. Part II: Clinical studies.**  
Klin. Wschr. 54, 717.
3. BLIX, P.M. et al. (1982).  
**Urinary C-Peptide: an indicator of  $\beta$ -cell secretion under different metabolic conditions.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 54/3, 574.
4. BONSER, A et al. (1984).  
**C-Peptide measurement: method and clinical utility.**  
CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 19 297.
5. HORWITZ, D.L. et al. (1975).  
**Proinsulin, insulin and C-Peptide concentrations in human portal and peripheral blood.**  
J. Clin. Invest., 55, 1278.
6. RENDELL, M. (1983).  
**C-Peptide levels as a criterion in treatment of maturity onset diabetes.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 57/6, 1198.
7. RUBENSTEIN, A.H. et al. (1977).  
**Clinical significance of circulating proinsulin and C-Peptide.**  
Rec. Prog. Horm. Res., 33, 435.
8. TROPEANO, G. et al. (1994).  
**Insulin, C-Peptide, androgens, and beta endorphin response to oral glucose in patients with polycystic ovary syndrome.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 78/2, 305-9.

9. CONGEL, I. et al. (1993).  
**Effect of hyperlipocidemia on plasma C-Ptpdie concentration during euglycemic hyperinsulinemic clamp.**  
Diabetes Res., 22/1, 41-8.
10. KREW, M.A. et al. (1994).  
**Relation of amniotic fluid C-Peptide levels to neonatal body composition.**  
Obstet. Gynecol., 84/1, 96-100.

#### XVIII. SCHEMA DEL DOSAGGIO

	Attività totale ml	Calibratore ml	Campioni Controlli $\mu$ l
Calibratore (0 - 5)	-	100	-
Campioni, controlli	-	-	100
Marcato	50	50	50
Incubazione	3 ore a temperatura ambiente		
Separazione Soluzione di lavoro del tampono di lavaggio Separazione		Aspirare 3 ml  Aspirare	
Conteggio	Contare le provette per 1 minuto		

Numero di catalogo di DIAsource : KIP0409 - KIP0408	P.I. numero : 1700444/it	Revisione numero : 100719/1
--	-----------------------------	--------------------------------

Data di revisione: 2010-07-19

Leer el protocolo completo antes de usar.

## C-PEP II-RIA-CT

### I. INSTRUCCIONES DE USO

Radioinmunoensayo para la determinación cuantitativa in vitro del Péptido-C humano en suero.

### II. INFORMACIÓN GENERAL

- A. Nombre:** DIAsource C-PEP II-RIA-CT Kit
- B. Número de Catálogo:** KIP0409 : 96 tests  
KIP0408: 4 x 96 tests
- C. Fabricado por:** DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

Para cuestiones técnicas y información sobre pedidos contactar :

Tel : +32 (0)67 88.99.99

Fax : +32 (0)67 88.99.96

### III. INFORMACIÓN CLÍNICA

#### A. Actividades biológicas

La insulina es sintetizada en las células beta de las islas de Langerhans como una molécula precursora, la proinsulina. En los gránulos secretorios de las células beta la proinsulina es escindida en insulina y en un péptido con 31 aminoácidos, el Péptido de Conexión o el Péptido-C. La insulina y el Péptido-C son segregados en cantidades equimolares. Sin embargo, la concentración en plasma del Péptido-C es más elevada que la concentración de la insulina por su media-vida más larga.

La determinación del Péptido-C en plasma permite una evaluación de la producción de insulina endógena, incluso en caso de administración de insulina exógena o en caso de presencia de anticuerpos anti-insulina circulantes.

Además, la determinación del Péptido-C en orina presenta un índice seguro para la producción de insulina si muestras sanguíneas se obtienen difícilmente o si una evaluación integrada de la secreción del Péptido-C durante un período de unas horas es necesaria.


#### B. Aplicaciones clínicas

- . Evaluación de la función de las células beta residual en diabéticos bajo tratamiento con insulina
- . Detección y observación de la fase de remisión de las diabetes tipo I
- . Medio auxiliar para el diagnóstico diferencial entre las diabetes tipo I (dependiente de la insulina) y tipo II (no dependiente de la insulina)
- . Diagnóstico de la hipoglicemia facticia inducida por la insulina
- . Contribución al diagnóstico de la insulinoma (test de supresión de la insulina)
- . Índice de pronóstico para el resultado fetal en mujeres diabéticas embarazadas
- . Evaluación de la secreción de insulina en caso de enfermedad del hígado
- . Observación de la pancreatocoma

#### IV. PRINCIPIOS DEL MÉTODO

Una cantidad fija de C peptide marcada con  $I^{125}$  compete con el C peptide a medir, presente en la muestra ó en el calibrador, por los puntos de unión del anticuerpo inmovilizado en las paredes de un tubo de poliestireno. No se requiere ni extracción ni cromatografía. Después de 3 horas de incubación a T.A., una aspiración termina con la reacción de competición. Los tubos se lavan con 3 ml de Solución de lavado y se aspiran otra vez. Se dibuja la curva de calibración y las concentraciones de C peptide de las muestras se determinan por interpolación de la dosis en la curva de calibración.

#### V. REACTIVOS SUMINISTRADOS

Reactivos	Kit 96 test	Kit 4 x 96 test	Código de Color	Reconstitución			
 Tubos recubiertos con anti C peptide	2 x 48	8 x 48	anaranjado	Listo para uso			
<table border="1" data-bbox="119 593 255 638"><tr><td>Ag</td><td><math>I^{125}</math></td></tr></table> TRAZADOR: C peptide marcado con $I^{125}$ (grado HPLC) en tampón fosfático con gelatina bovina y azida (<0,1%)	Ag	$I^{125}$	1 vial liofilizado 175 kBq	4 viales liofilizados 4 x 175 kBq	rojo	Añadir 6 ml de agua destilada	
Ag	$I^{125}$						
<table border="1" data-bbox="71 772 207 817"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Calibrador cero en suero humano y thymol	CAL	0	1 vial liofilizado	2 viales liofilizados	amarillo	Añadir 3 ml de agua destilada	
CAL	0						
<table border="1" data-bbox="71 896 215 940"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibradores C peptide - N = 1 al 5 (mirar los valores exactos en las etiquetas) en suero humano y thymol	CAL	N	5 viales liofilizados	10 viales liofilizados	amarillo	Añadir 1 ml de agua destilada	
CAL	N						
<table border="1" data-bbox="55 1086 295 1131"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Solución de lavado ( TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 vial 10 ml	4 viales 10 ml	marrón	Diluir 70 x con agua destilada (utilizar agitador magnético)
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1" data-bbox="55 1243 263 1288"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controles - N = 1 o 2 en suero humano y thymol	CONTROL	N	2 viales liofilizados	4 viales liofilizados	plateado	Añadir 1 ml de agua destilada	
CONTROL	N						

- Nota:** 1. Para diluciones de muestras utilizar estandar cero.  
2. 1 ng de la preparación del calibrador es equivalente a 1 ng NIBSC IRR 84/510.

#### VI. MATERIAL NO SUMINISTRADO

- El material mencionado a continuación es necesario y no esta incluido en el kit
1. Agua destilada
  2. Pipetas de 50µl, 100µl y 1 ml (Se recomienda el uso de pipetas precisas con puntas desechables de plástico)
  3. Tubos de poliestireno desechables (12 x 75 mm)
  4. Vortex
  5. Agitador magnético
  6. Jeringa automática 5 ml (tipo Cornwall) para el lavado
  7. Sistema de aspiración (opcional)
  8. Contador de radiaciones gamma para medir  $I^{125}$  ( mínima eficiencia 70%)

#### VII. PREPARACIÓN REACTIVOS

- Calibradores:** Reconstituir el calibrador cero con 3 ml de agua destilada y otros calibradores con 1 ml de agua destilada.
- Controles:** Reconstituir los controles con 1 ml de agua destilada.
- Trazador:** Reconstituir el trazador con 6 ml de agua destilada.
- Solución de lavado de trabajo:** Preparar el volumen necesario de Solución de lavado de trabajo mezclando 69 partes de agua destilada por 1 parte de Solución de lavado (70x). Utilizar un agitador magnético para homogeneizar. Desechar la solución de lavado de trabajo no utilizada al final del día.

#### VIII. ALMACENAJE Y CADUCIDADES DE LOS REACTIVOS

- Antes de abrir ó reconstituir todos los componentes de los kits son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, si se guardan a 2-8°C.
- Dopo ricostituzione, il tracciante deve essere usato immediatamente o conservato a -20 °C fino alla data di scadenza.
- Dopo ricostituzione, i calibratori e i controlli sono molto instabili, utilizzarli immediatamente dopo la ricostituzione. Congelar immediatamente en alícuotas y guardar a -20°C durante 3 meses. Evitar congelar y descongelar sucesivamente.
- La solución de lavado de trabajo recién preparada solo debe utilizarse en el mismo día.
- Las alteraciones de los reactivos en el aspecto físico pueden indicar inestabilidad ó deterioro.

#### IX. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

- Las muestras de suero deben ser guardadas a 2-8°C.
- Si el ensayo no se realiza en 8 hrs., almacenar las muestras a -20°.
- Evitar congelar y descongelar sucesivamente.

#### X. PROTOCOLO

##### A. Notas de manejo

No utilizar el kit ó componentes después de la fecha de caducidad. No mezclar reactivos de diferente numero de lote. Llevar todos los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso. Agitar minuciosamente todos los reactivos y muestras, agitándolos o girándolos suavemente. Con el fin de evitar ninguna contaminación utilizar puntas de pipetas desechables y limpias para la adición de cada reactivo y muestra. El uso de pipetas de precisión ó equipamiento de dispensación automática mejorara la precisión. Respetar los tiempos de incubación. Preparar la curva de calibración en cada ensayo, no utilizar los datos de un ensayo previo.

##### B. Protocolo

1. Marcar los tubos recubiertos por duplicado para cada uno de los estándares, muestras y controles. Para la determinación de las Cuentas Totales, marcar 2 tubos normales.
2. Agitar brevemente los calibradores, muestras y controles y dispensar 100 µl de cada uno en sus respectivos tubos.  
**Esta operación debe ser terminada en menos de 15 minutos.**
3. Dispensar 50 µl de C peptideE marcado con  $I^{125}$  en cada tubo, incluyendo los tubos descubiertos a las Cuentas Totales.
4. Agitar suavemente la gradilla de tubos para soltar cualquier burbuja cautiva de las paredes de los tubos.
5. Incubar durante 3 horas a T.A.
6. Aspirar el contenido de cada tubo (excepto los de Cuentas Totales). Asegurarse que la punta de la pipeta de aspiración toca el fondo del tubo con el fin de aspirar todo el líquido.
7. Lavar los tubos con 3 ml de Solución de lavado de trabajo (excepto los de Cuentas Totales) y aspirar. Evitar la formación de espuma durante la adición de la Solución de lavado
8. Dejar los tubos en posición inversa durante 2 minutos y aspirar el liquido restante.
9. Medir la actividad de cada tubo durante 60 segundos en un Contador Gamma.

#### XI. CALCULO DE RESULTADOS

1. Calcular la media de los duplicados.
2. Calcular la radiactividad enlazada como un porcentaje de la unión con respecto al calibrador cero (0) de acuerdo con la siguiente formula:

$$B/B0(\%) = \frac{\text{Cuentas (Calibrador ó muestra)}}{\text{Cuentas ( Calibrador Cero )}} \times 100$$

3. Utilizando papel 3 ciclo semilogarítmico ó logit-log, representar los valores de (B/B0%) de cada calibrador frente a las contracciones del C peptide de cada calibrador, rechazando los extremos claros. Métodos computarizados de computación de resultados pueden ser utilizados para la construcción de la curva de calibración. Si se utiliza un sistema automático de calculo de resultados, se recomienda usar la representación gráfica " 4 parámetros".
4. Por interpolación de los valores (B/B%) de las muestras, se determinan los valores de las concentraciones de las mismas desde la curva de calibración.
5. El porcentaje total de enlace del trazador en ausencia de C peptide no marcado (B0/T) debe ser calculado en cada ensayo.



## XII. EJEMPLO DE RESULTADOS

Los datos mostrados a continuación sirven como ejemplo y nunca deberán ser usados como una calibración real.

C-Peptide	cpm	B/Bo (%)
Cuentas Totales	75295	
Calibrador		
0,0 pmol/ml	17690	100,0
0,09 pmol/ml	14319	80,9
0,29 pmol/ml	11618	65,7
0,95 pmol/ml	6534	36,9
2,98 pmol/ml	3361	19,0
9,94 pmol/ml	1379	7,8

## XIII. REALIZACIÓN Y LIMITACIONES

### A. Limite de detección

Veinte calibradores cero fueron medidos en una curva con otros calibradores.

El limite de detección, definido como la concentración aparente resultante de dos desviaciones estándares debajo de la media de enlace del calibrador cero, fue de 0,04 pmol/ml.

### B. Especificidad

El porcentaje de reacción cruzada estimada por la comparación de la concentración (indicando una inhibición de 50 %) es respectivamente :

Componente	Reacción-cruzada (%)
Proinsulina Biosintética humana	5,6
Glucagón humano	-
Insulina humana	-

### C. Precisión

#### PRECISION INTRA-ENSAYO

#### PRECISION INTER-ENSAYO

Suero	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)	Suero	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)
A	24	0.28 ± 0.03	10.7	A	21	0.28 ± 0.03	10.7
B	26	1.21 ± 0.04	3.3	B	21	1.12 ± 0.11	9.8
C	24	0.18 ± 0.01	5.6	C	22	0.17 ± 0.02	11.8
D	24	0.68 ± 0.04	5.9	D	22	0.65 ± 0.05	7.7
E	24	1.60 ± 0.11	6.9	E	22	1.68 ± 0.12	7.1

SD : Desviación Estándar; CV: Coeficiente de Variación

### D. Exactitud

#### TEST DILUCIÓN

Muestra	Dilución	Concent. Teórica (pmol/ml)	Concent. Medida (pmol/ml)
suero	1/1	-	6,99
	1/2	3,50	3,04
	1/4	1,75	1,56
	1/8	0,87	0,80
	1/16	0,44	0,46
	1/32	0,22	0,28
	1/64	0,11	0,07

Las muestras fueron diluidas con el calibrador cero.

## TEST DE RECUPERACIÓN

Muestra	C peptide añadido (pmol/ml)	C peptide Recuperado (pmol/ml)	Recuperado (%)
suero	0.14	0.14	100
	0.17	0.19	112
	0.22	0.22	100
	0.39	0.44	113
	1.14	1.12	98
	3.14	3.02	96

### Factor de conversión :

De ng/ml a pmol/ml : : 3

### E. Tiempo de espera entre la dispensación del último calibrador y la de la muestra

Como indicado más abajo, la dispensación de las muestras debe ser terminada en menos de 15 minutos después de la dispensación del calibrador.

#### TIEMPO DE ESPERA

Suero pmol/ml	0'	5'	10'	15'	20'	30'
C1	0,66	0,53	0,55	0,61	0,52	0,41
C2	2,27	2,14	2,58	1,90	1,79	2,07

## XIV. CONTROL DE CALIDAD INTERNO

- Si los resultados obtenidos para el Control 1 y/o Control 2 no están dentro del rango especificado en la etiqueta del vial, los resultados obtenidos no podrán ser utilizados a no ser que se pueda dar una explicación convincente de dicha discrepancia
- Si es conveniente, - cada laboratorio puede utilizar sus propios pools de controles, lo cuales se guardan en alícuotas congeladas.
- Los criterios de aceptación de la diferencia entre los resultados in duplo de las muestras se apoyan en las prácticas de laboratorio corrientes.

## XV. INTERVALOS DE REFERENCIA

Estos valores solamente sirven de pauta; cada laboratorio tiene que establecer sus propios valores normales.

En un grupo de 79 individuos normales, la concentración mediana del péptido C humano fue 1,02 pmol/ml (alcance basado en percentiles de 2,5% a 97,5%:0,59 - 1,56 pmol/ml).

## XVI. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

### Seguridad

Para uso solo en diagnóstico in vitro.

Este kit contiene I<sup>125</sup> (vida media : 60 días) emisor de rayos X (28 keV) y de rayos γ (35.5 keV) ionizantes.

Este producto radiactivo solo puede ser manejado y utilizado por personas autorizadas; la compra, almacenaje, uso y cambio de productos radiactivos están sujetos a la legislación del país del usuario. En ningún caso el producto deberá ser suministrado a humanos y animales.

Todo el manejo de producto radiactivo se hará en una área señalizada, diferente de la de paso regular. Deberá de utilizarse un libro de registros de productos radiactivos utilizados. El material de laboratorio, vidrio que podría estar contaminado radiactivamente deberá de descontaminarse para evitar la contaminación con otros isótopos.

Cualquier derramamiento radiactivo deberá ser limpiado de inmediato de acuerdo con los procedimientos de seguridad. Los desperdicios radiactivos deberán ser almacenados de acuerdo con las regulaciones y normativas vigentes de la legislación a la cual pertenezca el laboratorio. El ajustarse a las normas básicas de seguridad radiológica facilita una protección adecuada.

Los componentes de sangre humana utilizados en este kit han sido testados por métodos aprobados por la CEE y/ó la FDA dando negativo a HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 y 2. No se conoce ningún método que asegure que los derivados de la sangre humana no transmitan hepatitis, SIDA ó otras infecciones. Por lo tanto el manejo de los reactivos y muestras se hará de acuerdo con los procedimientos de seguridad locales.

Todos los productos animales y derivados han sido obtenidos a partir de animales sanos. Componentes bovinos originales de países donde BSE no ha sido informado. Sin embargo, los componentes conteniendo substancias animales deberán ser consideradas como potencialmente infecciosas.

Evitar cualquier contacto de los reactivos con la piel (azida sódica como conservante). La azida en este kit puede reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías y producir azidas metálicas altamente explosivas. Durante el proceso de lavado, hacer circular mucha cantidad de agua por el sumidero para evitar el almacenamiento de la azida.

No fumar, beber, comer ó utilizar cosméticos en el área de trabajo. No pipetear con la boca. Utilizar ropa de protección y guantes.

**XVII. BIBLIOGRAFIA**

1. BEISCHER, W. et al. (1976).  
**Human C-Peptide. Part I Radioimmunoassay.**  
Klin. Wschr. 54, 709.
2. BEISCHER, W. et al. (1976).  
**Human C-Peptide. Part II: Clinical studies.**  
Klin. Wschr. 54, 717.
3. BLIX, P.M. et al. (1982).  
**Urinary C-Peptide: an indicator of  $\beta$ -cell secretion under different metabolic conditions.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 54/3, 574.
4. BONSER, A et al. (1984).  
**C-Peptide measurement: method and clinical utility.**  
CRC Critical Reviewvs in Clinial Laboratory Sciences, 19 297.
5. HORWITZ, D.L. et al. (1975).  
**Proinsulin, insulin and C-Peptide concentrations in human portal and peripheral blood.**  
J. Clin. Invest., 55, 1278.
6. RENDELL, M. (1983).  
**C-Peptide levels as a criterion in treatment of maturity onset diabetes.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 57/6, 1198.

7. RUBENSTEIN, A.H. et al. (1977).  
**Clinical significance of circulating proinsulin and C-Peptide.**  
Rec. Prog. Horm. Res., 33, 435.
8. TROPEANO, G. et al. (1994).  
**Insulin, C-Peptide, androgens, and beta endorphin response to oral glucose in patients with polycystic ovary syndrome.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 78/2, 305-9.
9. CONGEL, I. et al. (1993).  
**Effect of hyperlipocidemia on plasma C-Ptpdie concentration during euglycemic hyperinsulinemic clamp.**  
Diabetes Res., 22/1, 41-8.
10. KREW, M.A. et al. (1994).  
**Relation of amniotic fluid C-Peptide levels to neonatal body composition.**  
Obstet. Gynecol., 84/1, 96-100.

**XVIII. RESUMEN DEL PROTOCOLO**

	CUENTAS TOTALES ( $\mu$ l)	CALIBRADO RES ( $\mu$ l)	MUESTRA(S) CONTROL(S) ( $\mu$ l)
Calibradores (0 al 5)	-	100	-
Muestras, controles	-	-	100
Trazador	50	50	50
Incubación	3 horas a T.A.		
Separación	-	aspirar	
Solución de lavado de trabajo	-	3,0 ml	
Separación	-	aspirar	
Contaje	Contar los tubos durante 60 segundos		

DIAsource Catalogo Nr : KIP0409 – KIP0408	P.I. Numero : 1700444/es	Revisión nr : 100719/1
--	-----------------------------	---------------------------

Leia todo o protocolo antes de utilizar.

## C-PEP II-RIA-CT

### I. UTILIZAÇÃO PREVISTA

Radioimunoensaio para a determinação quantitativa *in vitro* da proteína C no soro humano.

### II. INFORMAÇÕES GERAIS

- A. **Nome do proprietário:** DIAsource C-PEP II-RIA-CT Kit
- B. **Número do catálogo:** KIP0409 : 96 testes  
KIP0408: 4 x 96 testes
- C. **Produzido por:** DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Bélgica.

**Para obter informações sobre aquisição ou assistência técnica, contacte:**

**Tel : +32 (0)67 88.99.99**

**Fax : +32 (0)67 88.99.96**

### III. SIGNIFICADO CLÍNICO

#### A. Actividade Biológica

A insulina é sintetizada nas células beta das ilhotas de Langerhans como uma molécula precursora, a proinsulina. Nos grânulos secretórios das células beta, a proinsulina é clivada em insulina e no peptídeo aminoácido 31, também designado como Proteína Conectora ou Proteína C. A Insulina e a Proteína C são segregadas em quantidades equimolares. Contudo, devido a sua maior semi-vida, a concentração plasmática de proteína C é superior à da insulina.

A determinação da Proteína C plasmática permite uma avaliação da produção de insulina endógena, mesmo na presença de administração de insulina exógena ou na presença de anticorpos circulantes.

Além disso, a determinação da Proteína C na urina fornece um índice fiável de produção de insulina sempre que a análise sanguínea seja dificultada ou quando é solicitada uma estimativa integrada da secreção de Proteína C durante um período de várias horas.


#### B. Aplicações clínicas

- . Avaliação da função residual das células beta em diabéticos sujeitos a insulino terapia
- . Detecção e monitorização da fase de remissão da diabetes de tipo I
- . Adjuvante no diagnóstico diferencial entre diabetes do tipo I (insulinodependente) e do tipo II (não insulinodependente)
- . Diagnóstico de hipoglicémia factícia induzida por insulina.
- . Contribuição para o diagnóstico do insulinoma (teste de supressão de insulina)
- . Prognóstico do índice de outcome fetal em mulheres diabéticas grávidas
- . Avaliação da secreção de insulina na doença hepática
- . Monitorização da pancreatectomia

#### IV. PRINCÍPIO DO MÉTODO

Uma quantidade fixa de peptídeo C marcado com  $^{125}\text{I}$  compete com o peptídeo C a ser medido, presente na amostra ou no calibrador, para uma quantidade fixa de locais de anticorpo, que é imobilizado nas paredes dos tubos de poliestireno. Nem a extração nem a cromatografia são necessárias. Após uma incubação de 3 horas à temperatura ambiente, a reação de competição termina com a operação de aspiração. A seguir os tubos são lavados com 3ml de solução de lavagem de trabalho e novamente aspirados. Traça-se uma curva de calibração e as concentrações de peptídeo C nas amostras são determinadas por interpolação da dose a partir da curva de calibração.

#### V. REAGENTES FORNECIDOS

Reagentes	96 Testes Kit	4 x 96 Testes Kit	Código de cor	Reconstituição			
 Tubos revestidos com anti C peptide	2 x 48	8 x 48	cor-de-laranja	<b>Pronto para utilizar</b>			
<table border="1" data-bbox="111 638 247 683"><tr><td>Ag</td><td><math>^{125}\text{I}</math></td></tr></table> Marcador: Peptídeo C marcado com $^{125}\text{I}$ (grau HPLC) em tampão fosfato com gelatina bovina e azida (<0,1%)	Ag	$^{125}\text{I}$	1 recipiente liofilizado 175 kBq	4 recipientes liofilizados 4 x 175 kBq	vermelho	<b>Adicione 6 ml de água destilada</b>	
Ag	$^{125}\text{I}$						
<table border="1" data-bbox="111 817 247 862"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Calibrador Zero em soro humano e timol	CAL	0	1 recipiente liofilizado	2 recipientes liofilizados	amarelo	<b>Adicione 3 ml de água destilada</b>	
CAL	0						
<table border="1" data-bbox="111 918 247 963"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibradores 1-5 em soro humano e timol (ver valores exactos nos rótulos dos recipiente)	CAL	N	5 recipientes liofilizados	10 recipientes liofilizados	amarelo	<b>Adicione 1 ml de água destilada</b>	
CAL	N						
<table border="1" data-bbox="111 1086 247 1131"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Solução de lavagem	WASH	SOLN	CONC	1 recipiente 10 ml	4 recipientes 10 ml	castanho	<b>Dilua 70 x com água destilada (use um agitador magnético).</b>
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1" data-bbox="111 1198 247 1243"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controlos 1 e 2 em soro humano com timol	CONTROL	N	2 recipientes liofilizados	4 recipientes liofilizados	prateado	<b>Adicione 1 ml de água destilada</b>	
CONTROL	N						

**Nota:** 1. Utilize o Calibrador zero para diluições de amostras  
2. 1 ng da preparação do calibrador equivale a 1 ng NIBSC IRR 84/510

#### VI. MATERIAL NÃO FORNECIDO

O seguinte material é necessário, mas não é fornecido com o kit:

- Água destilada
- Pipetas automáticas: 50 µl, 100 µl e 1 ml (recomenda-se a utilização de pipetas precisas, com pontas descartáveis)
- Misturador vortex
- Agitador magnético
- Tubos de poliestireno de utilização única (12 x 75 mm)
- Seringa automática de 5 ml (tipo Cornwall) para lavagem
- Dispositivo de aspiração e lavagem.
- Qualquer contador gama com capacidade para medir  $^{125}\text{I}$  pode ser utilizado (alcance mínimo 70%)

#### VII. PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

- Calibradores:** Reconstitua o calibrador zero com 3 ml de água destilada e os outros calibradores com 1 ml de água destilada.
- Controlos:** Reconstitua os controlos com 1 ml de água destilada.
- Marcador:** Reconstitua com 6 ml de água destilada.
- Solução de Lavagem de Trabalho:** Prepare um volume adequado de Solução de Lavagem de Trabalho, adicionando 69 volumes de água destilada para 1 volume de solução de lavagem (70x). Use um agitador magnético para homogeneizar. Elimine a solução de lavagem não utilizada no final do dia.

#### VIII. ARMAZENAMENTO E PRAZO DE VALIDADE DOS REAGENTES

- Antes de serem abertos ou reconstituídos, todos os componentes dos kits são estáveis até ao final do prazo de validade, indicado no rótulo, desde que mantidos entre 2 a 8°C.
- Após a reconstituição, o marcador deve ser usado imediatamente ou armazenado a -20 °C, até a data de validade.
- Após a reconstituição, os calibradores e controlos são muito instáveis, usá-los imediatamente após a reconstituição. Para períodos de armazenamento mais prolongados, as alíquotas deverão ser preparadas e mantidas a temperaturas de -20°C por um período de tempo máximo de 3 meses. Evite ciclos de congelamento e descongelamento sucessivos
- A solução de lavagem de trabalho deve ser feita e utilizada no mesmo dia.
- As alterações na aparência física dos reagentes do kit podem indicar instabilidade ou degradação.

#### IX. RECOLHA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

- Amostras de soro devem ser mantidas entre 2-8°C.
- Se a análise não for realizada em 8 h, é recomendado o seu armazenamento em alíquotas a uma temperatura de -20°C.
- Evite ciclos de congelamento e descongelamento sucessivos

#### X. PROCEDIMENTO

##### A. Notas de manipulação

Não utilize o kit ou qualquer componente depois da expiração do prazo de validade. Não misture componentes de diferentes lotes. Antes de utilizar todos os componentes devem estar à temperatura ambiente (TA). Misture bem os reagentes e as amostras, por agitação ou rotação suaves. Para evitar contaminações cruzadas, utilize uma ponta de pipeta limpa e descartável, para adição de cada componente. Pipetas de alta precisão ou equipamento automático de pipetagem melhoram a precisão. Respeite os períodos de incubação. Prepare uma curva de calibração para cada análise, não utilize dados de análises prévias.

##### B. Procedimento

- Rotule os tubos revestidos em duplicado, para cada calibrador, amostra, controlo. Para a determinação das contagens totais, rotule 2 tubos normais.
- Agite ligeiramente no vortex calibradores, amostras e controlos e dispense 100 µl de cada, para os tubos respectivos.
- Esta operação deverá ser concluída num prazo de 15 minutos.** Dispense 50 µl de peptídeo C marcado com  $^{125}\text{I}$  para cada tubo, incluindo os tubos normais para as contagens totais.
- Agite suavemente o suporte dos tubos, para libertar possíveis bolhas de ar.
- Incube durante 3 horas à temperatura ambiente.
- Aspire o conteúdo de cada tubo (excepto os das contagens totais). Assegure-se que a ponta plástica do aspirador atinge o fundo do tubo revestido, para remover todo o líquido.
- Lave os tubos com 3 ml de solução de lavagem de trabalho (excepto os das contagens totais) e aspire. Evite a formação de espuma quando adiciona a solução de lavagem.
- Depois da lavagem, deixe os tubos direitos durante 2 minutos e seguidamente aspire a última porção de líquido.
- Conte os tubos num contador gamma durante 60 segundos.

#### XI. CÁLCULO DOS RESULTADOS

- Calcule a média das determinações em duplicado.
- Calcule a radioactividade de ligação como uma percentagem da ligação determinada no ponto do calibrador zero (0), de acordo com a fórmula seguinte:

$$B/B_0(\%) = \frac{\text{Contagens (Calibrador ou amostra)}}{\text{Contagens (calibrador Zero)}} \times 100$$

- Utilizando um papel de gráfico semi-logarítmico de 3 ciclos ou logit-log, trace os valores (B/B<sub>0</sub>(%)) para cada ponto de calibragem como uma função da concentração peptídeo C em cada ponto, rejeitando os resultados aberrantes óbvios.
- Os métodos informáticos também podem ser utilizados para construir a curva de calibragem. Se o processamento dos resultados for automático, é recomendável um ajustamento de curvas de função logística de 4 parâmetros.
- Por interpolação dos valores das amostras (B/B<sub>0</sub>(%)), determine as concentrações de peptídeo C das amostras da curva de referência.
- Para cada análise, a percentagem de marcador total ligado na ausência de Peptídeo C(B<sub>0</sub>/T) sem rótulo deve ser verificada.

## XII. DADOS TÍPICOS

Os dados seguintes servem apenas de exemplo e nunca devem ser utilizados em detrimento dos dados reais da curva de calibragem.

Peptídeo C	Cpm	B/Bo (%)
Contagem Total	75295	
Calibrador		
0,0 pmol/ml	17690	100,0
0,09 pmol/ml	14319	80,9
0,29 pmol/ml	11618	65,7
0,95 pmol/ml	6534	36,9
2,98 pmol/ml	3361	19,0
9,94 pmol/ml	1379	7,8

## XIII. DESEMPENHO E LIMITES

### A. Limite de detecção

Foram analisados 20 calibradores zero, juntamente com um conjunto de outros calibradores.

O limite de detecção, definido como a concentração aparente, 2 DP abaixo das contagens médias com zero ligações, foi de 0,04 pmol/ml.

### B. Especificidade

A percentagem de reacções cruzadas estimada por comparação com o rendimento da concentração com inibição de 50 % é, respectivamente, de:

Composto	Reacção cruzada (%)
Proinsulina humana biossintética	5,6
Glucagon Humano	-
Insulina Humana	-

### C. Precisão

INTRA-ENSAIO				INTER-ENSAIO			
Soro	N	<X> ± DP (pmol/ml)	C.V. (%)	Soro	N	<X> ± DP (pmol/ml)	C.V. (%)
A	24	0,28 ± 0,03	10,7	A	21	0,28 ± 0,03	10,7
B	26	1,21 ± 0,04	3,3	B	21	1,12 ± 0,11	9,8
C	24	0,18 ± 0,01	5,6	C	22	0,17 ± 0,02	11,8
D	24	0,68 ± 0,04	5,9	D	22	0,65 ± 0,05	7,7
E	24	1,60 ± 0,11	6,9	E	22	1,68 ± 0,12	7,1

DP: Desvio Padrão; CV: Coeficiente de variação

### D. Sensibilidade

TESTE DE DILUIÇÃO			
Amostra	Diluição	Concent. Teórica (pmol/ml)	Concent. Medida (pmol/ml)
soro	1/1	-	6,99
	1/2	3,50	3,04
	1/4	1,75	1,56
	1/8	0,87	0,80
	1/16	0,44	0,46
	1/32	0,22	0,28
	1/64	0,11	0,07

As amostras foram diluídas com calibrador zero.

TESTE DE RECUPERAÇÃO			
Amostra	C peptide adicionada (pmol/ml)	C peptide medida (pmol/ml)	Recuperação (%)
soro	0,14	0,14	100
	0,17	0,19	112
	0,22	0,22	100
	0,39	0,44	113
	1,14	1,12	98
	3,14	3,02	96

Fator de conversão : de ng/ml em pmol/ml : : 3

## E. Atraso de tempo entre o último calibrador e a dispensa da amostra

Tal como será demonstrado daqui em diante, o dispensar das amostras tem de ser feito dentro de um intervalo de tempo máximo de 15 minutos após o dispensamento do calibrador.

ATRASSO DE TEMPO						
Soro pmol/ml	0'	5'	10'	15'	20'	30'
C1	0,66	0,53	0,55	0,61	0,52	0,41
C2	2,27	2,14	2,58	1,90	1,79	2,07

## XIV. CONTROLO INTERNO DE QUALIDADE

- Se os resultados obtidos para o controlo 1 e/ou controlo 2 não estão dentro do intervalo especificado no rótulo do recipiente, os resultados não podem ser utilizados, a menos que seja dada uma explicação satisfatória para a discrepância encontrada.
- Se for desejável, cada laboratório pode fazer os seus próprios conjuntos de amostras de controlo, que podem ser mantidas congeladas em alíquotas.
- Os critérios de aceitação para a diferença entre os resultados duplos das amostras devem basear-se nas Boas Práticas de Laboratório.

## XV. INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Os valores normais indicados a seguir não deverão ser considerados como absolutos.

Num grupo de 79 sujeitos normais, a concentração média de C-Peptídeos humanos encontrada foi de 1,02 pmol/ml (intervalo baseado em percentagens de 2,5% a 97,5%: 0,59 - 1,56 pmol/ml).

## XVI. AVISOS E PRECAUÇÕES

### Segurança

Apenas para uso em diagnóstico *in vitro*.

Este kit contém <sup>125</sup>I (meia-vida: 60 dias), emitindo radiações X (28 keV) e γ (35,5 keV) ionizantes.

Este produto radioactivo pode apenas ser transportado e utilizado por pessoal autorizado: a compra, armazenamento, utilização e troca de produtos radioactivos estão sujeitas à legislação nacional vigente. Em nenhum caso, este produto pode ser administrado a seres humanos ou a animais.

Toda a manipulação radioactiva deve ser efectuada em local próprio e exclusivo para tal. Deve ser mantido no laboratório, um livro de registo para a recepção e armazenamento de material radioactivo. O equipamento do laboratório e equipamento de vidro que possa ser contaminado com radioactividade, deve ser segregado para evitar contaminação cruzada com diferentes isótopos. Qualquer derrame de material radioactivo deve ser imediatamente limpo, de acordo com os procedimentos de radioprotecção. O lixo radioactivo deve ser rejeitado de acordo com a legislação vigente e as regras do laboratório. A adesão às regras básicas da radio-segurança, fornece a protecção adequada.

Os componentes de sangue humano incluídos neste kit foram testados por métodos aprovados pela legislação europeia e/ou FDA e dados como negativos para o HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 e 2. Não existe nenhum método, até agora conhecido, que ofereça total segurança quanto à impossibilidade de transmissão de hepatite, HIV ou outras infecções, por via do sangue humano. Por isso, deve manipular os reagentes, o soro ou o plasma de acordo com as regras locais de segurança, quanto a materiais potencialmente infecciosos.

Todos os produtos de origem animal e seus derivados foram recolhidos de animais saudáveis. Os componentes bovinos, vieram de países sem casos notificados de BSE. No entanto, todos estes componentes devem ser manipulados como potencialmente infecciosos.

Evite o contacto da pele e mucosas com os reagentes (azida sódica como conservante). A azida pode reagir com o chumbo e o cobre das canalizações e formar compostos explosivos. Rejeitar com abundante quantidade de água corrente para evitar acumulações destes compostos.

Não fume, coma, beba ou aplique cosméticos na área de trabalho. Não pipete com o auxílio da boca. Use vestuário adequado de protecção e luvas.

## XVII. BIBLIOGRAFIA

1. BEISCHER, W. et al. (1976). **Human C-Peptide. Part I Radioimmunoassay.** Klin. Wschr. 54, 709.

2. BEISCHER, W. et al. (1976).  
**Human C-Peptide. Part II: Clinical studies.**  
Klin. Wschr. 54, 717.
3. BLIX, P.M. et al. (1982).  
**Urinary C-Peptide: an indicator of  $\beta$ -cell secretion under different metabolic conditions.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 54/3, 574.
4. BONSER, A et al. (1984).  
**C-Peptide measurement: method and clinical utility.**  
CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 19 297.
5. HORWITZ, D.L. et al. (1975).  
**Proinsulin, insulin and C-Peptide concentrations in human portal and peripheral blood.**  
J. Clin. Invest., 55, 1278.
6. RENDELL, M. (1983).  
**C-Peptide levels as a criterion in treatment of maturity onset diabetes.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 57/6, 1198.
7. RUBENSTEIN, A.H. et al. (1977).  
**Clinical significance of circulating proinsulin and C-Peptide.**  
Rec. Prog. Horm. Res., 33, 435.
8. TROPEANO, G. et al. (1994).  
**Insulin, C-Peptide, androgens, and beta endorphin response to oral glucose in patients with polycystic ovary syndrome.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 78/2, 305-9.
9. CONGEL, I. et al. (1993).  
**Effect of hyperlipocidemia on plasma C-Peptide concentration during euglycemic hyperinsulinemic clamp.**  
Diabetes Res., 22/1, 41-8.
10. KREW, M.A. et al. (1994).  
**Relation of amniotic fluid C-Peptide levels to neonatal body composition.**  
Obstet. Gynecol., 84/1, 96-100.

**XVIII. RESUMO DO PROTOCOLO**

	<b>CONTAGENS TOTAIS</b> ( $\mu$ l)	<b>CALIBRA- DORES</b> ( $\mu$ l)	<b>CONTROLO SDAS AMOSTRAS</b> ( $\mu$ l)
Calibradores (0 to 5)	-	100	-
Amostras, controlos	-	-	100
Marcadores	50	50	50
Incubação	3 horas a temperatura ambiente		
Separação	-	aspirar	
Solução de lavagem de trabalho		3,0 ml	
Separação		aspirar	
Contagem	Contar os tubos durante 60 segundos		

Nº do catálogo DIASource: KIP0409 – KIP0408	Nº de P.I: 1700444/pt	Nº de revisão: 100719/1
--	--------------------------	----------------------------

Data da revisão: 2010-07-19

Διαβάστε ολόκληρο το πρωτόκολλο πριν από τη χρήση.

## C-PEP II-RIA-CT

### I. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Ραδιοανοσοπροσδιορισμός για την in vitro ποσοτική μέτρηση του ανθρώπινου C-πεπτιδίου σε ορό.

### II. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

A. **Εμπορική ονομασία:** Kit C PEP II-RIA-CT της DIASource

B. **Αριθμός καταλόγου:** KIP0409: 96 προσδιορισμοί  
KIP0408: 4 x 96 προσδιορισμοί

Γ. **Κατασκευάζεται από την:** DIASource ImmunoAssays S.A.  
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

Για τεχνική βοήθεια ή πληροφορίες σχετικά με παραγγελίες επικοινωνήστε στα:  
Τηλ.: +32 (0)67 88.99.99 Φαξ: +32 (0)67 88.99.96

### III. ΚΛΙΝΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

#### A. Βιολογική δράση

Η σύνθεση της ινσουλίνης λαμβάνει χώρα στα β-κύτταρα των νησίδων του Langerhans ως πρόδρομο μόριο, την προΐνσουλίνη. Στα εκκριτικά κοκκία των β-κυττάρων, η προΐνσουλίνη διασπάται σε ινσουλίνη και σε ένα πεπτιδίο 31 αμινοξέων, το οποίο ονομάζεται συνδετικό πεπτιδίο ή C-πεπτιδίο. Η ινσουλίνη και το C-πεπτιδίο εκκρίνονται σε ισομοριακές ποσότητες. Ωστόσο, λόγω της μεγαλύτερης ημιζωής του, η συγκέντρωση του C-πεπτιδίου στο πλάσμα είναι υψηλότερη από εκείνη της ινσουλίνης. Ο προσδιορισμός του C-πεπτιδίου στο πλάσμα επιτρέπει έναν υπολογισμό της παραγωγής ενδογενούς ινσουλίνης, ακόμη και εν τη παρουσία εξωγενούς χορήγησης ινσουλίνης ή εν τη παρουσία κυκλοφορούντων αντισωμάτων αντι-ινσουλίνης.

Επιπλέον, ο προσδιορισμός του C-πεπτιδίου στα ούρα παρέχει έναν αξιόπιστο δείκτη της παραγωγής ινσουλίνης, όταν είναι δύσκολη η λήψη δείγματος αίματος ή όταν ο απαιτείται ολοκληρωμένος υπολογισμός της έκκρισης του C-πεπτιδίου για μια περίοδο αρκετών ωρών.

#### B. Κλινικές εφαρμογές

- Αξιολόγηση της λειτουργίας των υπολειμματικών β-κυττάρων σε διαβητικούς που λαμβάνουν θεραπεία με ινσουλίνη
- Ανίχνευση και παρακολούθηση της φάσης ύφεσης διαβήτη τύπου I
- Βοήθημα στη διαφορική διάγνωση μεταξύ διαβήτη τύπου I (ινσουλινοεξαρτώμενου) και διαβήτη τύπου II (μη ινσουλινοεξαρτώμενου)
- Διάγνωση τεχνητής υπογλυκαιμίας επαγόμενης από ινσουλίνη
- Συμβολή στη διάγνωση ινσουλινώματος (εξέταση καταστολής ινσουλίνης)
- Δείκτης πρόγνωσης της πορείας του εμβρύου σε διαβητικές έγκυες γυναίκες
- Αξιολόγηση της έκκρισης ινσουλίνης σε περίπτωση ηπατικής νόσου
- Παρακολούθηση παγκρεατεκτομής

#### IV. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Μια σταθερή ποσότητα Tyr-C-πεπτιδίου σημασμένου με <sup>25</sup>I ανταγωνίζεται με το C-πεπτίδιο που θα μετρηθεί, το οποίο υπάρχει στο δείγμα ή στο βαθμονομητή, για σταθερή ποσότητα θέσεων αντισωμάτων που είναι ακινητοποιημένα στο τοίχωμα ενός σωληναρίου πολυστυρενίου. Δεν απαιτείται ούτε εκχύλιση ούτε χρωματογραφία. Μετά από επώαση 3 ωρών σε θερμοκρασία δωματίου, η αντίδραση ανταγωνισμού τερματίζεται με ένα βήμα αναρρόφησης. Τα σωληνάρια κατόπιν πλένονται με 3 ml διαλύματος πλύσης και αναρροφούνται. Παριστάνεται γραφικά μια καμπύλη βαθμονόμησης και προσδιορίζονται οι συγκεντρώσεις του C-πεπτιδίου των δειγμάτων με αναγωγή συγκεντρώσεων από την καμπύλη βαθμονόμησης.

#### V. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Αντιδραστήρια	Κιτ 96 εξετάσεων	Κιτ 4 x 96 εξετάσεων	Χρωματικός κωδικός	Ανασύσταση			
Σωληνάρια επιστρωμένα με αντι-C πεπτίδιο	2 x 48	8 x 48	πορτοκαλί	Έτοιμο για χρήση			
<table border="1"> <tr> <td>Ag</td> <td><sup>125</sup>I</td> </tr> </table> <p>ΙΧΝΗΘΕΤΗΣ: Tyr-C-πεπτίδιο σημασμένο με <sup>125</sup>I (κατηγορίας HPLC) σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με βόεια ζελατίνη και αζίδιο (&lt;0,1%)</p>	Ag	<sup>125</sup> I	1 φιαλίδιο λυοφιλοποιημένο 175 kBq	4 φιαλίδια λυοφιλοποιημένα 4 x 175 kBq	κόκκινο	Προσθέστε 6 ml απεσταγμένου νερού	
Ag	<sup>125</sup> I						
<table border="1"> <tr> <td>CAL</td> <td>0</td> </tr> </table> <p>Μηδενικός βαθμονομητής σε ανθρώπινο ορό με θυμόλη</p>	CAL	0	1 φιαλίδιο λυοφιλοποιημένο	2 φιαλίδια λυοφιλοποιημένα	κίτρινο	Προσθέστε 3 ml απεσταγμένου νερού	
CAL	0						
<table border="1"> <tr> <td>CAL</td> <td>N</td> </tr> </table> <p>Βαθμονομητές - N = 1 έως 5 (δείτε τις ακριβείς τιμές στις ετικέτες των φιαλιδίων σε ανθρώπινο ορό με θυμόλη)</p>	CAL	N	5 φιαλίδια λυοφιλοποιημένα	10 φιαλίδια λυοφιλοποιημένα	κίτρινο	Προσθέστε 1 ml απεσταγμένου νερού	
CAL	N						
<table border="1"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> <p>Διάλυμα πλύσης (TRIS-HCl)</p>	WASH	SOLN	CONC	1 φιαλίδιο 10 ml	4 φιαλίδια 10 ml	καφέ	Αραιώστε 70 x με απεσταγμένο νερό (χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1"> <tr> <td>CONTROL</td> <td>N</td> </tr> </table> <p>Οροί ελέγχου - N = 1 ή 2 σε ανθρώπινο ορό με θυμόλη</p>	CONTROL	N	2 φιαλίδια λυοφιλοποιημένα	4 φιαλίδια λυοφιλοποιημένα	ασημί	Προσθέστε 1 ml απεσταγμένου νερού	
CONTROL	N						

**Σημείωση:** 1. Χρησιμοποιείτε το μηδενικό βαθμονομητή για αραιώσεις ορών.  
2. 1 ng του παρασκευάσματος βαθμονομητή είναι ισοδύναμο με 1 ng του NIBSC IRR 84/510.

#### VI. ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Τα ακόλουθα υλικά απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται στο κιτ:

1. Απεσταγμένο νερό
2. Πιπέτες για διανομή: 50 µl, 100 µl και 1 ml (συνιστάται η χρήση πιπετών ακριβείας με αναλώσιμα πλαστικά ρύγχη)
3. Αναλώσιμα σωληνάρια από πολυστυρένιο (12 x 75 mm)
4. Αναμεικτής στροβιλισμού (τύπου vortex)
5. Μαγνητικός αναδευτήρας
6. Αυτόματη σύριγγα των 5 ml (τύπου Cornwall) για πλύση
7. Σύστημα αναρρόφησης (προαιρετικό)
8. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοσδήποτε μετρητής γ ακτινοβολίας με δυνατότητα μέτρησης του <sup>125</sup>I (ελάχιστη απόδοση 70%).

#### VII. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

**A. Βαθμονομητές:** Ανασυστήστε το μηδενικό βαθμονομητή με 3,0 ml απεσταγμένου νερού και τους άλλους βαθμονομητές με 1,0 ml απεσταγμένου νερού.

**B. Οροί ελέγχου:** Ανασυστήστε τους ορούς ελέγχου με 1 ml απεσταγμένου νερού.

**Γ. Ιχνηθέτης:** Ανασυστήστε τον ιχνηθέτη με 6 ml απεσταγμένου νερού.

**Δ. Διάλυμα πλύσης εργασίας:** Προετοιμάστε επαρκή όγκο διαλύματος πλύσης εργασίας με προσθήκη 69 όγκων απεσταγμένου νερού σε 1 όγκο διαλύματος πλύσης (70x). Χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα για την ομογενοποίηση. Απορρίψτε το μη χρησιμοποιημένο διάλυμα πλύσης εργασίας στο τέλος της ημέρας.

#### VIII. ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΛΗΞΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

- Πριν από το άνοιγμα ή την ανασύσταση, όλα τα συστατικά του κιτ παραμένουν σταθερά έως την ημερομηνία λήξης, η οποία αναγράφεται στην ετικέτα, εφόσον διατηρούνται σε θερμοκρασία 2 έως 8° C.
- Μετά την ανασύσταση, ο ιχνηθέτης πρέπει να χρησιμοποιηθεί αμέσως ή να φυλαχθεί στους -20° C, έως την ημερομηνία λήξης.
- Μετά την ανασύσταση, οι βαθμονομητές και οι οροί ελέγχου είναι πολύ ασταθείς. Χρησιμοποιήστε τους αμέσως μετά την ανασύσταση. Για μεγαλύτερες περιόδους φύλαξης, πρέπει να σχηματίζονται κλάσματα/δόσεις μιας χρήσης και να διατηρούνται στους -20° C για 3 μήνες το ανώτερο. Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.
- Φρέσκο, παρασκευασμένο διάλυμα πλύσης εργασίας θα πρέπει να χρησιμοποιείται την ίδια ημέρα.
- Τυχόν μεταβολές της φυσικής εμφάνισης των αντιδραστηρίων του κιτ ενδέχεται να υποδηλώνουν αστάθεια ή αλλοίωση.

#### IX. ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- Τα δείγματα ορού πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2-8° C.
- Εάν η εξέταση δεν πραγματοποιηθεί εντός 8 ωρών, συνιστάται η φύλαξη στους -20° C.
- Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.

#### X. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

##### A. Σημειώσεις σχετικά με το χειρισμό

Μη χρησιμοποιείτε το κιτ ή τα συστατικά μετά την ημερομηνία λήξης. Μην αναμειγνύετε υλικά από διαφορετικές παρτίδες κιτ. Φέρετε όλα τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Αναμειξτε καλά όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα με απαλή ανακίνηση ή ανάδευση. Χρησιμοποιείτε ένα καθαρό αναλώσιμο ρύγχος πιπέτας για την προσθήκη κάθε διαφορετικού αντιδραστηρίου και δείγματος προκειμένου να αποφύγετε την επιμόλυνση. Η ακρίβεια βελτιώνεται με χρήση πιπετών υψηλής ακρίβειας ή αυτοματοποιημένου εξοπλισμού διανομής με πιπέτες. Τηρείτε τους χρόνους επώασης. Προετοιμάστε μια καμπύλη βαθμονόμησης για κάθε ανάλυση και μη χρησιμοποιείτε δεδομένα από προηγούμενες αναλύσεις.

##### B. Διαδικασία

1. Σημάνετε επιστρωμένα σωληνάρια εις διπλούν για κάθε βαθμονομητή, δείγμα και ορό ελέγχου. Για τον προσδιορισμό των μετρήσεων του ιχνηθέτη <sup>125</sup>I ("total"), σημάνετε 2 κοινά (μη επιστρωμένα) σωληνάρια.
2. Αναμειξτε για λίγο (με αναμεικτική στροβιλισμού τύπου vortex) βαθμονομητές, προαραιωμένα δείγματα και ορούς ελέγχου και διανείμετε 100 µl από έκαστο σε αντίστοιχα σωληνάρια.
3. Αυτή η διαδικασία θα πρέπει να ολοκληρώνεται εντός 15 λεπτών. Διανείμετε 50 µl C-peptide σημασμένου με <sup>125</sup>I σε κάθε σωληνάριο, συμπεριλαμβανοντας τα μη επιστρωμένα σωληνάρια που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη <sup>125</sup>I ("total").
4. Ανακινήστε απαλά με το χέρι τη βάση στήριξης των σωληναρίων για να απελευθερώσετε τυχόν παγιδευμένες φυσαλίδες αέρα.
5. Επώαστε επί 3 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Αναρροφήστε (ή μεταγγίστε) το περιεχόμενο κάθε σωληναρίου (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη <sup>125</sup>I ["total"]). Βεβαιωθείτε ότι το πλαστικό ρύγχος του αναρροφητή φθάνει στον πυθμένα του επιστρωμένου σωληναρίου προκειμένου να αφαιρεθεί όλη η ποσότητα του υγρού.
7. Πλύνετε τα σωληνάρια με 3 ml διαλύματος πλύσης εργασίας (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη <sup>125</sup>I ["total"]) και αναρροφήστε (ή μεταγγίστε). Αποφύγετε το σχηματισμό αφρού κατά τη διάρκεια της προσθήκης του διαλύματος πλύσης εργασίας.
8. Αφήστε τα σωληνάρια να σταθούν σε όρθια θέση για δύο λεπτά και αναρροφήστε τη σταγόνα υγρού που απομένει.
9. Μετρήστε τα σωληνάρια σε μετρητή γ ακτινοβολίας για 60 δευτερόλεπτα.



## XI. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

- Υπολογίστε τη μέση τιμή των διπλών προσδιορισμών.
- Υπολογίστε τη δεσμευμένη ραδιενέργεια ως ποσοστό της δέσμησης που προσδιορίζεται στο σημείο μηδενικού βαθμονομητή (0) σύμφωνα με τον ακόλουθο τύπο:

$$B/B0(\%) = \frac{\text{Μετρήσεις (Βαθμονομητής ή δείγμα)}}{\text{Μετρήσεις (Μηδενικός βαθμονομητής)}} \times 100$$

- Με χρήση ημιλογαριθμικού χαρτιού γραφήματος ή χαρτιού γραφήματος logit-log 3 κύκλων, παραστήστε γραφικά τις τιμές (B/B0(%)) για κάθε σημείο βαθμονομητή ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του C peptide για κάθε σημείο βαθμονομητή. Απορρίψτε τις εμφανείς μη αποδεκτές τιμές.
- Για την κατασκευή της καμπύλης βαθμονόμησης είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν επίσης μέθοδοι με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή. Εάν χρησιμοποιείται αυτόματη επεξεργασία αποτελεσμάτων, συνιστάται προσαρμογή καμπύλης λογιστικής συνάρτησης 4 παραμέτρων.
- Με αναγωγή των τιμών των δειγμάτων (B/B0 (%)), προσδιορίστε τις συγκεντρώσεις C peptide των δειγμάτων από την καμπύλη βαθμονόμησης.
- Για κάθε προσδιορισμό, πρέπει να ελέγχεται το ποσοστό του συνολικού ιχνηθέτη που δεσμεύεται απουσία του μη σημασμένου C peptide (B0/T).

## XII. ΤΥΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Τα ακόλουθα δεδομένα προορίζονται μόνο ως παράδειγμα και δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ποτέ αντί της καμπύλης βαθμονόμησης πραγματικού χρόνου.

C-peptide	cpm	B/Bo (%)
Κρούσεις του ιχνηθέτη <sup>125</sup> I ("total")	75295	
Βαθμονομητής		
0,0 pmol/ml	17690	100,0
0,09 pmol/ml	14319	80,9
0,29 pmol/ml	11618	65,7
0,95 pmol/ml	6534	36,9
2,98 pmol/ml	3361	19,0
9,94 pmol/ml	1379	7,8

## XIII. ΑΠΟΔΟΣΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

### A. Όριο ανίχνευσης

Υποβλήθηκαν σε προσδιορισμό είκοσι μηδενικοί βαθμονομητές μαζί με ένα σύνολο άλλων βαθμονομητών.

Το όριο ανίχνευσης, οριζόμενο ως η φαινομενική συγκέντρωση δύο τυπικών αποκλίσεων κάτω από τις μέσες καταμετρήσεις σε μηδενική δέσμηση, ήταν 0,04 pmol/ml.

### B. Ειδικότητα

Το ποσοστό διασταυρούμενης αντίδρασης, που υπολογίζεται με σύγκριση της συγκέντρωσης που αποδίδει αναστολή 50%, είναι αντίστοιχα:

Ένωση	Διασταυρούμενη αντίδραση (%)
Βιοσυνθετική ανθρώπινη προΐνσουλίνη	5,6
Ανθρώπινο γλυκαγόνο	-
Ανθρώπινη ινσουλίνη	-

### Γ. Ακρίβεια

ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΙΔΙΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ

ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΩΝ

Ορός	N	<X> ± T.A. (pmol/ml)	Σ.Δ. (%)	Ορός	N	<X> ± T.A. (pmol/ml)	Σ.Δ. (%)
A	24	0.28 ± 0.03	10.7	A	21	0.28 ± 0.03	10.7
B	26	1.21 ± 0.04	3.3	B	21	1.12 ± 0.11	9.8
C	24	0.18 ± 0.01	5.6	C	22	0.17 ± 0.02	11.8
D	24	0.68 ± 0.04	5.9	D	22	0.65 ± 0.05	7.7
E	24	1.60 ± 0.11	6.9	E	22	1.68 ± 0.12	7.1

T.A.: Τυπική απόκλιση, Σ.Δ.: Συντελεστής διακύμανσης

## Δ. Ορθότητα

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΡΑΙΩΣΗΣ

Δείγμα	Αραίωση	Θεωρητική συγκέντρωση (pmol/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (pmol/ml)
ορός	1/1	-	6,99
	1/2	3,50	3,04
	1/4	1,75	1,56
	1/8	0,87	0,80
	1/16	0,44	0,46
	1/32	0,22	0,28
	1/64	0,11	0,07

Τα δείγματα αραιώθηκαν με μηδενικό βαθμονομητή.

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ

Δείγμα	Προσθεθείς C peptide (pmol/ml)	Ανακτηθείς C peptide (pmol/ml)	Ανακτηθείς (%)
ορός	0.14	0.14	100
	0.17	0.19	112
	0.22	0.22	100
	0.39	0.44	113
	1.14	1.12	98
	3.14	3.02	96

Συντελεστής μετατροπής:

Από ng/ml σε pmol/ml: : 3

## E. Μεσοδιάστημα μεταξύ της διανομής τελευταίου βαθμονομητή και δείγματος

Όπως φαίνεται πιο κάτω, η διανομή των δειγμάτων πρέπει να γίνεται εντός διαστήματος 15 λεπτών το μέγιστο μετά τη διανομή του βαθμονομητή.

ΜΕΣΟΔΙΑΣΤΗΜΑ

Ορός pmol/ml	0'	5'	10'	15'	20'	30'
C1	0,66	0,53	0,55	0,61	0,52	0,41
C2	2,27	2,14	2,58	1,90	1,79	2,07

## XIV. ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

- Εάν τα αποτελέσματα που λαμβάνονται για τον ορό ελέγχου 1 ή/και τον ορό ελέγχου 2 δε βρίσκονται εντός του πεδίου τιμών που καθορίζεται στην ετικέτα του φιαλιδίου, τα αποτελέσματα δεν είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν, εκτός εάν έχει δοθεί ικανοποιητική εξήγηση για την ασυμφωνία.
- Εάν είναι επιθυμητό, κάθε εργαστήριο μπορεί να δημιουργήσει τα δικά του μείγματα δειγμάτων ελέγχου (pools), τα οποία πρέπει να διατηρούνται κατεψυγμένα σε κλάσματα/δόσεις μιας χρήσης.
- Τα κριτήρια αποδοχής για τη διαφορά μεταξύ των διπλών αποτελεσμάτων των δειγμάτων θα πρέπει να βασίζονται σε ορθές εργαστηριακές πρακτικές.

## XV. ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Οι τιμές αυτές παρέχονται μόνον ως οδηγός. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να καθιερώσει το δικό του πεδίο φυσιολογικών τιμών.

Σε μια ομάδα 79 φυσιολογικών ατόμων, η μέση συγκέντρωση του ανθρώπινου C-πεπτιδίου βρέθηκε ότι ήταν 1,02 pmol/ml (πεδίο τιμών με βάση τα εκατοστημόρια από 2,5% έως 97,5%: 0,59 - 1,56 pmol/ml).

## XVI. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

### Ασφάλεια

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

Το kit αυτό περιέχει το <sup>125</sup>I (Χρόνος ημιζωής: 60 ημέρες), μια ραδιενεργή ουσία η οποία εκπέμπει ιονίζουσα ακτινοβολία Χ (28 keV) και γ (35.5 keV). Αυτό το ραδιενεργό προϊόν είναι δυνατό να μεταφερθεί και να χρησιμοποιηθεί μόνο από εξουσιοδοτημένα άτομα. Η αγορά, φύλαξη, χρήση και ανταλλαγή ραδιενεργών προϊόντων υπόκεινται στη νομοθεσία της χώρας του τελικού χρήστη. Σε καμία περίπτωση δεν πρέπει να χορηγείται το προϊόν σε ανθρώπους ή ζώα.

Όλος ο χειρισμός του ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να εκτελείται σε καθορισμένο χώρο, μακριά από χώρους τακτικής διέλευσης. Στο εργαστήριο πρέπει να διατηρείται ημερολόγιο για την παραλαβή και τη φύλαξη ραδιενεργών υλικών. Εξοπλισμός και γυάλινα σκεύη του εργαστηρίου, τα οποία θα μπορούσαν να μολυνθούν με ραδιενεργές ουσίες, θα πρέπει να φυλάσσονται σε ξεχωριστό χώρο για την πρόληψη επιμόλυνσης των διαφόρων ραδιοισότοπων.

Τυχόν διαρροές ραδιενεργών υγρών πρέπει να καθαρίζονται αμέσως σύμφωνα με τις διαδικασίες ασφάλειας από ραδιενέργεια. Τα ραδιενεργά απόβλητα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς και τις κατευθυντήριες οδηγίες των αρχών που έχουν δικαιοδοσία στο εργαστήριο. Η τήρηση των βασικών κανόνων ασφάλειας από ραδιενέργεια παρέχει επαρκή προστασία.

Τα συστατικά ανθρώπινου αίματος που περιλαμβάνονται στο κιτ αυτό έχουν ελεγχθεί με μεθόδους εγκεκριμένες στην Ευρώπη ή/και από τον FDA και έχει διαπιστωθεί ότι είναι αρνητικά ως προς την παρουσία HbsAg, αντι-HCV, αντι-HIV-1 και 2. Καμία γνωστή μέθοδος δεν είναι δυνατό να παρέχει πλήρη διασφάλιση ότι παράγωγα του ανθρώπινου αίματος δε θα μεταδώσουν ηπατίτιδα, AIDS ή άλλες λοιμώξεις. Επομένως, ο χειρισμός αντιδραστηρίων, δειγμάτων ορού ή πλάσματος θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τις τοπικές διαδικασίες περί ασφάλειας.

Όλα τα ζωικά προϊόντα και παράγωγα έχουν συλλεχθεί από υγιή ζώα. Τα βόεια συστατικά προέρχονται από χώρες όπου δεν έχει αναφερθεί BSE. Παρ' όλ' αυτά, συστατικά που περιέχουν ζωικές ουσίες θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά.

Αποφεύγετε οποιαδήποτε επαφή του δέρματος με αντιδραστήρια (χρησιμοποιείται αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό). Το αζίδιο στο κιτ αυτό ενδέχεται να αντιδράσει με μόλυβδο και χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων και να σχηματίσει με τον τρόπο αυτό ιδιαίτερα εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Κατά τη διάρκεια του βήματος πλύσης, εκπλύνετε την αποχέτευση με μεγάλη ποσότητα νερού, για την πρόληψη τυχόν συσσώρευσης αζιδίου.

Μην καπνίζετε, μην πίνετε, μην τρώτε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά στο χώρο εργασίας. Μην διανέμετε με πιπέτα χρησιμοποιώντας το στόμα σας. Χρησιμοποιείτε προστατευτικό ρουχισμό και γάντια μιας χρήσης.

#### XVII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. BEISCHER, W. et al. (1976).  
**Human C-Peptide. Part I Radioimmunoassay.**  
Klin. Wschr. 54, 709.
2. BEISCHER, W. et al. (1976).  
**Human C-Peptide. Part II: Clinical studies.**  
Klin. Wschr. 54, 717.
3. BLIX, P.M. et al. (1982).  
**Urinary C-Peptide: an indicator of  $\beta$ -cell secretion under different metabolic conditions.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 54/3, 574.
4. BONSER, A et al. (1984).  
**C-Peptide measurement: method and clinical utility.**  
CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 19 297.
5. HORWITZ, D.L. et al. (1975).  
**Proinsulin, insulin and C-Peptide concentrations in human portal and peripheral blood.**  
J. Clin. Invest., 55, 1278.

6. RENDELL, M. (1983).  
**C-Peptide levels as a criterion in treatment of maturity onset diabetes.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 57/6, 1198.
7. RUBENSTEIN, A.H. et al. (1977).  
**Clinical significance of circulating proinsulin and C-Peptide.**  
Rec. Prog. Horm. Res., 33, 435.
8. TROPEANO, G. et al. (1994).  
**Insulin, C-Peptide, androgens, and beta endorphin response to oral glucose in patients with polycystic ovary syndrome.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 78/2, 305-9.
9. CONGEL, I. et al. (1993).  
**Effect of hyperlipocidemia on plasma C-Ptpdie concentration during euglycemic hyperinsulinemic clamp.**  
Diabetes Res., 22/1, 41-8.
10. KREW, M.A. et al. (1994).  
**Relation of amniotic fluid C-Peptide levels to neonatal body composition.**  
Obstet. Gynecol., 84/1, 96-100.

#### XVIII. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

	ΚΡΟΥΣΕΙΣ "TOTAL" μl	ΒΑΘΜΟΝΟ ΜΗΤΕΣ μl	ΔΕΙΓΜΑ (TA) ΟΡΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ μl
Βαθμονομητές (0 έως 5) Δείγματα, οροί ελέγχου Ιχνηθέτης	- - 50	100 - 50	- 100 50
Επώαση	3 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου		
Διαχωρισμός Διάλυμα πλύσης εργασίας Διαχωρισμός	-	Αναρρόφηση (ή μετάγγιση) 3,0 ml Αναρρόφηση (ή μετάγγιση)	
Μέτρηση	Μέτρηση σωληναρίων επί 60 δευτερόλεπτα		

Αρ. καταλόγου DIAsource: KIP0409 – KIP0408	Αριθμός P.I.: 1700444/eI	Αρ. αναθεώρησης: 100719/1
---	-----------------------------	------------------------------



Læs hele protokollen før brug

## C-PEP II-RIA-CT

### I. ANVENDELSESFORMÅL

Radioimmunoanalyse til *in vitro* kvantitativ måling af human C-peptid i serum.

### II. GENERELLE INFORMATIONER

- A. **Indregistreret navn:** DIAsource C-PEP II-RIA-CT kit
- B. **Katalog nr.:** KIP0409 : 96 test  
KIP0408: 4 x 96 test
- C. **Fremstillet af:** DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgien.

For at få teknisk assistance eller bestillingsoplysninger, kontakt:

Tlf.: +32 (0)67 88.99.99

Fax: +32 (0)67 88.99.96

### III. KLINISK BAGGRUND

#### A. Biologisk aktivitet

Insulin syntetiseres i beta-cellerne i Langerhans-øerne som et præcursormolekyle, proinsulin. I beta-cellerne sekretgranula klæber proinsulin til insulin og til en 31-aminosyrepeptid, der kaldes "Connecting Peptide" eller C-Peptid. Insulin og C-peptid afsendes i ækvimolære mængder. Da halveringstiden er længere, er C-peptids plasmakoncentration imidlertid højere end insulins. Bestemmelse af plasma C-peptid gør det muligt at vurdere den endogene insulinproduktion, selv hvor der er samtidig eksogen insulinadministration, eller hvor der cirkulerer anti-insulin antistoffer. Desuden giver bestemmelsen af C-peptid i urin et pålideligt indeks for insulinproduktionen, når det er vanskeligt at tage blodprøver, eller når der anmodes om en integreret vurdering af udskillelsen af C-peptid for en periode på flere timer.


#### B. Kliniske anvendelsesformål

- Vurdering af resterende beta-cellers funktion i diabetes, mens der behandles med insulin.
- Registrering og overvågning af bedringsfasen ved diabetes af type I
- Hjælpemiddel til differentialdiagnose mellem diabetes af type I (insulinafhængig) og type II (ikke insulinafhængig)
- Diagnosticering af insulinfremkaldt falsk hypoglykæmi
- Bidrag til diagnosen af insulinoma (test af insulinsuppression)
- Prognoseindeks af fosterresultat hos gravide kvinder med diabetes
- Evaluering af insulinsekretion i forbindelse med leversygdom
- Overvågning af pancreatektomi

#### IV. METODENS PRINCIPPER

En bunden mængde  $^{125}\text{I}$  mærket Tyr-C-peptid konkurrerer med C-peptid om at blive målt som tilstedeværende i prøven eller i kalibratoren til et bundet antal antistofpunkter, der immobiliseres mod væggen i en polystyrentube. Der er hverken brug for ekstraktion eller kromatografi. Efter 3 timers inkubation ved stuetemperatur afslutter et aspirationstrin konkurrencereaktionen. Dernæst vaskes tuberne med 3 ml vaskeopløsning og aspireres igen. En kalibreringskurve indtegnes, og prøvernes koncentrationer af C-peptid bestemmes ved at interpolere dosis fra kalibreringskurven.

#### V. MEDFØLGENDE REAGENSER

Reagenser	96 testkit	4 x 96 testkit	Farvekode	Rekonstituering			
 Tuber coatet med anti C-peptid	2 x 48	8 x 48	appelsin	Klar til brug			
<table border="1" data-bbox="119 571 255 616"> <tr> <td>Ag</td> <td><math>^{125}\text{I}</math></td> </tr> </table> MARKØR: $^{125}\text{Jod}$ mærket Tyr-C-peptid (HPLC grad) i fosfatbuffer med bovin gelatine og azid (<0,1%)	Ag	$^{125}\text{I}$	1 hætteglas lyofiliseret 175 kBq	4 hætteglas lyofiliseret 4 x 175 kBq	rød	Tilsæt 6 ml destilleret vand	
Ag	$^{125}\text{I}$						
<table border="1" data-bbox="103 739 239 784"> <tr> <td>CAL</td> <td>0</td> </tr> </table> Nulkalibrator i human serum og thymol	CAL	0	1 hætteglas lyofiliseret	2 hætteglas lyofiliseret	gul	Tilsæt 3 ml destilleret vand	
CAL	0						
<table border="1" data-bbox="103 840 239 884"> <tr> <td>CAL</td> <td>N</td> </tr> </table> Kalibratoren - N = 1 til 5 (se de præcise værdier på hætteglassenes etiketter) i human serum og thymol	CAL	N	5 hætteglas lyofiliseret	10 hætteglas lyofiliseret	gul	Tilsæt 1 ml destilleret vand	
CAL	N						
<table border="1" data-bbox="119 996 287 1041"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Vaskeopløsning (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 hætteglas 10 ml	4 hætteglas 10 ml	brun	Fortynd 70 x med destilleret vand (anvend magnetomrører).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1" data-bbox="87 1120 263 1164"> <tr> <td>CONTROL</td> <td>N</td> </tr> </table> Kontroller - N = 1 eller 2 i human serum med thymol	CONTROL	N	2 hætteglas lyofiliseret	4 hætteglas lyofiliseret	sølv	Tilsæt 1 ml destilleret vand	
CONTROL	N						

**Bemærk:**

1. Benyt nulkalibratoren til serumfortyndinger.
2. 1 ng klargjort kalibrator er lig med 1 ng NIBSC IRR 84/510

#### VI. FORSYNINGER DER IKKE LEVERES

Der er brug for nedenstående materialer, som ikke medfølger i kitted:

1. Destilleret vand
2. Pipetter til levering af: 50  $\mu\text{l}$ , 100  $\mu\text{l}$  og 1 ml (det anbefales at benytte nøjagtige pipetter med plasticspidser til engangsbrug)
3. Tuber af polystyrene til engangsbrug (12 x 75 mm)
4. Hvirvelmikser
5. Magnetomrører
6. 5 ml automatisk kanyle (af typen Cornwall) til vask
7. Aspirationssystem (ekstra)
8. Der kan anvendes enhver gammattæller, der kan måle  $^{125}\text{I}$  (minimumsresultat 70%).

#### VII. KLARGØRING AF REAGENS

- A. Kalibratoren:** Gendan nulkalibratoren med 3,0 ml destilleret vand og de andre kalibratoren med 1,0 ml destilleret vand.
- B. Kontroller:** Gendan kontrollerne med 1,0 ml destilleret vand.
- C. Markør:** Gendan markøren med 6,0 ml destilleret vand.
- D. Arbejdsvaskeopløsning:** Klargør en passende mængde arbejdsvaskeopløsning ved at tilsætte 69 x destilleret vandmængde til 1 mængde vaskeopløsning (70 x). Benyt en magnetomrører til at homogenisere. Kassér ubrugt vaskeopløsning, når dagen er omme.

#### VIII. REAGENSERS OPBEVARING OG UDLØBSDATO

- Før de åbnes eller gendannes er komponenterne i alle kit stabile indtil udløbsdatoen, som ses på etiketten, forudsat de opbevares ved 2 til 8° C.
- Efter rekonstituering skal markøren straks bruges eller opbevares ved -20°C indtil udløbsdatoen.
- Efter rekonstituering er kalibratoren og kontroller meget ustabile, og skal derfor bruges straks efter rekonstituering. Til længere opbevaringsperioder skal der laves aliquoter, som opbevares ved -20° C i højst 3 måneder. Undgå senere cyklusser med frysning og optøning.
- Nytilberedt arbejdsvaskeopløsning skal anvendes samme dag.
- Forandringer af reagensernes fysiske udseende kan være et tegn på manglende stabilitet eller nedbrydning.

#### IX. INDSAMLING OG KLARGØRING AF PRØVER

- Serumprøver skal opbevares ved 2-8° C.
- Hvis testen ikke køres inden for 8 timer, anbefales opbevaring i aliquoter ved -20° C.
- Undgå senere cyklusser med frysning og optøning.

#### X. PROCEDURE

##### A. Bemærkninger vedrørende håndtering

Kitted eller komponenterne må ikke anvendes efter udløbsdatoen. Bland aldrig materialer fra forskellige kitpartier. Sørg for at alle reagenser har fået stuetemperatur, før de tages i brug. Alle reagenser og prøver blandes grundigt ved hjælp af forsigtig omrøring eller hvirvlen rundt. Benyt en ren pipettespids til engangsbrug til at tilsætte hver eneste forskellige reagens og prøve, så krydskontaminering undgås. Nøjagtigheden forbedres med meget præcise pipetter eller automatisk pipetteudstyr. Sørg for at overholde inkubationstiderne. Udarbejd en kalibreringskurve for hver kørsel. Data fra tidligere kørsler må ikke anvendes.

##### B. Procedure

1. Sæt etikette på coatede duplikattuber til hver kalibrator, kontrol og prøve. Til bestemmelse af de totale tællinger sættes der etikette på 2 normale tuber.
2. Kalibratoren, kontroller og prøver hvirvles rundt et kort øjeblik, og der dispenseres 100  $\mu\text{l}$  af hver i de respektive tuber.
3. **Denne opgave skal gennemføres på mindre end 15 minutter.** Dispensér 50  $\mu\text{l}$   $^{125}\text{Jod}$  mærket Tyr-C-peptid i hver tube, inklusive i de ikke-coatede tuber til totaltællinger.
4. Ryst forsigtigt tuberækken manuelt, så eventuelle indfangede luftbobler frigøres.
5. Inkuberes i 3 timer ved stuetemperatur.
6. Aspirér (eller dekantér) hver tubes indhold (undtagen totaltællingerne). Se efter at aspiratorens plasticspids når ned til bunden af den coatede tube, så al væske fjernes.
7. Vask tuberne med 3 ml arbejdsvaskeopløsning (undtagen totaltællinger) og aspirér (eller dekantér). Undgå skumdannelse, mens der tilsættes arbejdsvaskeopløsning.
8. Lad tuberne stå i opret stilling i 2 minutter, hvorefter de sidste dråber væske aspireres.
9. Tæl tuberne i en gammattæller i 60 sekunder.

#### XI. BEREGNING AF RESULTATER

1. Beregn duplikaternes gennemsnitlige bestemmelse.
2. Beregn den bundne radioaktivitet som en procentdel af den binding, der fastsættes ved nulkalibratorpunktet (0) ifølge nedenstående formel:
3. Indtegn på et 3-cyklus halvlogaritme- eller "logit-log"-millimeterpapir værdierne (B/B0(%)) for hvert kalibratorpunkt som en funktion af hvert kalibratorpunkts koncentration af C-peptid. Afvis værdier, der ligger klart uden for det tilladte.

$$B/B_0 (\%) = \frac{\text{Tællinger (kalibrator el. prøve)}}{\text{Tællinger (nulkalibrator)}} \times 100$$

4. Der kan også benyttes computerstøttede metoder til at konstruere kalibreringskurven. Hvis der benyttes automatisk resultatbearbejdning, anbefales en logistisk funktionskurvetilpasning med 4 parametre.
5. Ved at interpolere prøvens (B/B0 (%)) værdier bestemmes prøvernes koncentration af C-peptid ud fra kalibreringskurven.
6. Til hver analyse skal den procentdel af markør kontrolleres, der er bundet, hvor der ikke forefindes umærket C-peptid (B0/T).

## XII. TYPISKE DATA

Nedenstående data er kun et eksempel og må aldrig benyttes i stedet for kalibreringskurven i realtid.

C-peptid	cpm	B/Bo (%)
Total tælling	75295	
Kalibrator		
0,0 pmol/ml	17690	100,0
0,09 pmol/ml	14319	80,9
0,29 pmol/ml	11618	65,7
0,95 pmol/ml	6534	36,9
2,98 pmol/ml	3361	19,0
9,94 pmol/ml	1379	7,8

## XIII. PRÆSTATIONER OG BEGRÆNSNINGER

### A. Registreringsgrænse

Der blev analyseret 20 nulkalibratører samtidig med et sæt andre kalibratører. Registreringsgrænsen, der er defineret som den tydelige koncentration af 2 standardafvigelse under de gennemsnitlige tællinger ved nulbinding, var 0,04 pmol/ml.

### B. Specificitet

Procentdelen af krydsreaktion, anslået ved at sammenligne den koncentration, der gav et resultat på 50% inhibering, er henholdsvis:

Forbindelse	Krydsreaktivitet (%)
Biosyntetisk human proinsulin	5,6
Human glukagon	-
Human insulin	-

### C. Præcision

#### INTRAANALYSES PRÆCISION

#### INTERANALYSES PRÆCISION

Serum	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)
A	24	0,28 ± 0,03	10,7	A	21	0,28 ± 0,03	10,7
B	26	1,21 ± 0,04	3,3	B	21	1,12 ± 0,11	9,8
C	24	0,18 ± 0,01	5,6	C	22	0,17 ± 0,02	11,8
D	24	0,68 ± 0,04	5,9	D	22	0,65 ± 0,05	7,7
E	24	1,60 ± 0,11	6,9	E	22	1,68 ± 0,12	7,1

SD: Standardafvigelse, CV: Variations koefficient

### D. Nøjagtighed

#### FORTYNDINGSTEST

Prøve	Fortynding	Teoretisk koncent. (pmol/ml)	Målt koncent. (pmol/ml)
Serum	1/1	-	6,99
	1/2	3,50	3,04
	1/4	1,75	1,56
	1/8	0,87	0,80
	1/16	0,44	0,46
	1/32	0,22	0,28
	1/64	0,11	0,07

Prøverne blev fortyndet med nulkalibrator.

## GENINDVINDINGSTEST

Prøve	Tilsat C-peptid (pmol/ml)	Genindvundet C-peptid (pmol/ml)	Genindvundet (%)
Serum	0,14	0,14	100
	0,17	0,19	112
	0,22	0,22	100
	0,39	0,44	113
	1,14	1,12	98
	3,14	3,02	96

#### Konverteringsfaktor:

Fra ng/ml til pmol/ml: : 3

### E. Tidsforsinkelsen mellem sidste kalibrator og prøvens dispensering.

Som det ses herunder, skal prøvernes dispenseret inden for en forsinkelse på højst 15 minutter, efter kalibratoren er dispenseret.

#### TIDSFORSINKELSE

Serum pmol/ml	0'	5'	10'	15'	20'	30'
C1	0,66	0,53	0,55	0,61	0,52	0,41
C2	2,27	2,14	2,58	1,90	1,79	2,07

## XIV. INTERN KVALITETSKONTROL

- Hvis de resultater, der fås for Kontrol 1 og/eller Kontrol 2 ikke ligger inden for det område, der er specificeret på hætteglassets etikette, så kan resultaterne ikke bruges, medmindre der er givet en tilfredsstillende forklaring på uoverensstemmelsen.
- Hvis det er bedst, kan hvert laboratorium lave sine egne puljer med kontrolprøver, som skal opbevares frosne i aliquoter.
- Kriterierne for accept af forskellen mellem prøvernes duplikatresultater skal hvile på god laboratoriepraksis.

## XV. REFERENCEINTERVALLER

Disse værdier er kun anført som vejledende, og hvert laboratorium skal fastsætte sit eget normale værdiområde.

I en gruppe med 79 normale forsøgspersoner fandt man, at den gennemsnitlige humane koncentration af C-peptid var 1,02 pmol/ml (interval, baseret på 2,5% til 97,5% percentiler: 0,59 - 1,56 pmol/ml).

## XVI. FORHOLDSREGLER OG ADVARSLER

### Sikkerhed

Kun til in vitro diagnosticering.

Dette kit indeholder <sup>125</sup>I (halveringstid: 60 dage), som udsender ioniserende røntgen – (28 keV) og gammastråler (35,5 keV).

Dette radioaktive produkt må kun overlades til og anvendes af autoriserede personer. Indkøb, opbevaring, brug og udveksling af radioaktive produkter henhører under lovgivningen i slutbrugers land. Produktet må under ingen omstændigheder gives til mennesker eller dyr.

Al håndtering af radioaktive materialer skal udføres på et område, der er specielt afsat til det formål, væk fra regelmæssig gennemgang. Laboratoriet skal opbevare en logbog til modtagelseskvittering og opbevaring af radioaktive materialer. Laboratorieudstyr og -glasartikler, som muligvis kontamineres med radioaktive stoffer, skal holdes strengt adskilte, så krydskontaminering af forskellige radioisotoper forhindres.

Ethvert radioaktivt udslip skal straks renses op i henhold til procedurerne for strålingssikkerhed. Det radioaktive affald skal bortskaffes i henhold til de stedlige love og retningslinier fra myndigheder med jurisdiktion over laboratoriet. Overholdelse af de grundlæggende regler for strålingssikkerhed yder tilstrækkelig beskyttelse.

De humane blodkomponenter, der findes i dette kit, er blevet testede ved hjælp af europæisk godkendte og/eller FDA-godkendte metoder og fundet negative over for HbsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 og 2. Der findes ingen kendte metoder, der kan give fuldstændig sikkerhed for at humane blodderivater ikke spreder hepatitis, AIDS eller andre infektioner. Derfor skal håndtering af reagenser, serum- eller plasmaprøver udføres i overensstemmelse med de stedlige sikkerhedsprocedurer.

Alle dyriske produkter og derivater er hentet fra sunde dyr. Bovine komponenter stammer fra lande, hvor BSE (kogalskab) ikke er blevet rapporteret. Ikke desto mindre skal komponenter, der indeholder dyriske stoffer, behandles som potentielt smittefarlige.

Reagenser må aldrig komme i kontakt med huden (de indeholder natriumazid som konserveringsmiddel). Azid i dette kit kan reagere sammen med bly og kobber i afløbsrør, hvorved der dannes højeksplosive metalazider. I forbindelse med vaskestadiet skal afløbet skylles med rigelige vandmængder, så opbygning af azider forhindres.

Man må ikke ryge, drikke, spise eller anvende kosmetik på arbejdsområdet. Der må ikke pipetteres med munden. Vær iført beskyttelsesdragt og -handsker til engangsbrug.

## XVII. BIBLIOGRAFI

1. BEISCHER, W. et al. (1976).  
**Human C-Peptide. Part I Radioimmunoassay.**  
Klin. Wschr. 54, 709.
2. BEISCHER, W. et al. (1976).  
**Human C-Peptide. Part II: Clinical studies.**  
Klin. Wschr. 54, 717.
3. BLIX, P.M. et al. (1982).  
**Urinary C-Peptide: an indicator of  $\beta$ -cell secretion under different metabolic conditions.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 54/3, 574.
4. BONSER, A et al. (1984).  
**C-Peptide measurement: method and clinical utility.**  
CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 19 297.
5. HORWITZ, D.L. et al. (1975).  
**Proinsulin, insulin and C-Peptide concentrations in human portal and peripheral blood.**  
J. Clin. Invest., 55, 1278.
6. RENDELL, M. (1983).  
**C-Peptide levels as a criterion in treatment of maturity onset diabetes.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 57/6, 1198.

7. RUBENSTEIN, A.H. et al. (1977).  
**Clinical significance of circulating proinsulin and C-Peptide.**  
Rec. Prog. Horm. Res., 33, 435.
8. TROPEANO, G. et al. (1994).  
**Insulin, C-Peptide, androgens, and beta endorphin response to oral glucose in patients with polycystic ovary syndrome.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 78/2, 305-9.
9. CONGEL, I. et al. (1993).  
**Effect of hyperlipocidemia on plasma C-Ptpdie concentration during euglycemic hyperinsulinemic clamp.**  
Diabetes Res., 22/1, 41-8.
10. KREW, M.A. et al. (1994).  
**Relation of amniotic fluid C-Peptide levels to neonatal body composition.**  
Obstet. Gynecol., 84/1, 96-100.

## XVIII. OPSUMMERING AF PROTOKOLLEN

	TOTAL-TÆLLINGER $\mu$ l	KALIBRATORER $\mu$ l	PRØVE-KONTROL $\mu$ l
Kalibratore (0 til 5)	-	100	-
Prøver, kontroller markør	-	-	100
	50	50	50
Inkubation	3 timer ved stuetemperatur		
Separation Arbejdsvaskeopløsning Separation	-	Aspirér (eller dekantér) 3,0 ml Aspirér (eller dekantér)	
Tælling	Tællingstuber til 60 sekunder		

DIASource katalog nr: KIP0409 – KIP0408	P.I. nummer: 1700444/da	Revision nr: 100719/1
--	----------------------------	--------------------------

Udstedelsesdato: 2010-07-19

Przed zastosowaniem należy przeczytać cały protokół.

## C-PEP II-RIA-CT

### I. PRZEZNACZENIE

Oznaczenie radioimmunoenzymatyczne do ilościowego pomiaru peptydu C, w surowicy ludzkiej metodą *in vitro*.

### II. INFORMACJE OGÓLNE

- A. Nazwa firmowa:** DIASource C-PEP II-RIA-CT
- B. Numer katalogowy:** KIP0409 : 96 oznaczeń  
KIP0408: 4 x 96 oznaczeń
- C. Wyprodukowano przez:** DIASource ImmunoAssays S.A.  
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgia.

**Dział pomocy technicznej oraz informacje dotyczące zamówień:**

**Tel.: +32 (0)67 88.99.99**

**Fax: +32 (0)67 88.99.96**

### III. INFORMACJE KLINICZNE

#### A. Aktywność biologiczna

Insulina jest syntetyzowana w komórkach beta w wysepkach Langerhansa trzustki, w postaci cząsteczki prekursorowej, proinsuliny. W ziarnistościach wydzielniczych komórek beta, proinsulina jest przekształcana do insuliny i peptydu składającego się z 31 aminokwasów, zwanego peptydem C (ang. Connecting Peptide). Insulina i peptyd C są wydzielane w ilościach równomolarnych. Jednak, ze względu na dłuższy okres półtrwania, stężenie peptydu C w osoczu jest wyższe, niż insuliny.

Oznaczenie poziomu peptydu C w osoczu, umożliwia ocenę endogennej produkcji insuliny, nawet w obecności podawanej insuliny egzogennej lub przeciwciał antyinsulinowych we krwi krążącej.

Ponadto, oznaczenie peptydu C w moczu, pozwala na właściwą ocenę wytwarzania insuliny, gdy pobranie krwi obwodowej jest utrudnione lub wymagana jest całościowa ocena wydzielania peptydu C w okresie kilku godzin.


#### B. Zastosowania kliniczne

- . Ocena resztkowej czynności komórek beta trzustki u chorych na cukrzycę, leczonych insuliną
- . Wykrywanie i monitorowanie fazy remisji w cukrzycy typu 1
- . Wspomaganie diagnostyki różnicowej pomiędzy cukrzycą typu 1 (zależną od insuliny) a cukrzycą typu 2 (niezależną od insuliny)
- . Diagnostyka hipoglikemii poinsulinowej
- . Element diagnostyki wyspiaka (test hamowania insuliny)
- . Wskaźnik prognostyczny płodu u ciężarnych kobiet z cukrzycą
- . Ocena wydzielania insuliny w chorobach wątroby
- . Monitorowanie pankreatektomii

#### IV. ZAGADNIENIA DOTYCZĄCE METODY

Stała ilość peptydu Tyr-C znakowanego <sup>125</sup>I współzawodniczy z peptydem C, obecnym w badanej próbce lub w kalibratorze, o stałą ilość miejsc na przeciwciałach, unieruchomionych na ściankach próbki polistyrenowej. Nie jest wymagana ani ekstrakcja, ani chromatografia. Po trzygodzinnej inkubacji w temperaturze pokojowej, wykonanie aspiracji przerywa reakcję kompetycyjną. Następnie próbki są płukane przy pomocy 3 ml roztworu płuczącego i aspirowane. Wykreślana jest krzywa kalibracyjna a stężenia peptydu C w próbkach są określane na podstawie nałożenia dawki na krzywą kalibracyjną.

#### V. ODCZYNNIKI DOSTARCZONE

Odczynniki	Zestaw 96 oznaczeń	Zestaw 4 x 96 oznaczeń	Kolor	Rekonstytucja			
 Probówki opłaszczony anty-C-Peptide	2 x 48	8 x 48	pomarańczowy	Gotowe do zastosowania.			
<table border="1" data-bbox="119 604 255 649"> <tr> <td>Ag</td> <td><sup>125</sup>I</td> </tr> </table> ZNACZNIK IZOTOPOWY: Peptyd Tyr-C oznakowany jodem <sup>125</sup> (poziom HPLC) w buforze fosforanowym, zawierającym żelatynę bydlęcą i azydek (<0,1%).	Ag	<sup>125</sup> I	1 fiolka materiał liofilizowany y 175 kBq	4 fioleki materiał liofilizowany y 4 x 175 kBq	czerwony	Dodać 6 ml wody destylowanej	
Ag	<sup>125</sup> I						
<table border="1" data-bbox="119 851 255 896"> <tr> <td>CAL</td> <td>0</td> </tr> </table> Kalibrator zerowy na bazie surowicy ludzkiej z tymolem.	CAL	0	1 fiolka materiał liofilizowany y	2 fioleki materiał liofilizowany y	żółty	Dodać 3 ml wody destylowanej	
CAL	0						
<table border="1" data-bbox="119 974 255 1019"> <tr> <td>CAL</td> <td>N</td> </tr> </table> Kalibratory - N = od 1 do 5 (dokładne wartości na etykietach fiolek) na bazie surowicy ludzkiej z tymolem.	CAL	N	5 fiolek materiał liofilizowany y	10 fiolek materiał liofilizowany y	żółty	Dodać 1 ml wody destylowanej	
CAL	N						
<table border="1" data-bbox="55 1142 287 1187"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Roztwór płuczący (TRIS HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 fiolka 10 ml	4 fioleki 10 ml	brązowy	Rozcieńczyć 70x wodą destylowaną (wykorzystać mieszadło magnetyczne).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1" data-bbox="71 1321 271 1366"> <tr> <td>CONTROL</td> <td>N</td> </tr> </table> Kontrole - N = od 1 do 2 w surowicy ludzkiej z tymolem	CONTROL	N	2 fioleki materiał liofilizowany y	4 fioleki materiał liofilizowany y	srebrny	Dodać 1 ml wody destylowanej	
CONTROL	N						

Uwaga: 1. Do rozcieńczania próbek należy używać kalibratora zerowego.  
2. 1 ng przygotowanego kalibratora jest równoważny 1 ng pierwszego IRR 84/510 - NIBSC.

#### VI. MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE

Poniższe materiały są wymagane, ale nie są dostarczone w zestawie:

1. Woda destylowana
2. Pipety do dozowania: 50 µl, 100 µl i 1 ml (zaleca się korzystanie z dokładnych pipet z jednorazowymi końcówkami plastikowymi)
3. Jednorazowe próbki polistyrenowe (12 x 75 mm)
4. Mieszadło wirowe
5. Mieszadło magnetyczne
6. Strzykawka automatyczna o objętości 5 ml (rodzaj Cornwall) do płukania
7. Układ do aspiracji (opcjonalnie)
8. Może być wykorzystywany jakiegokolwiek licznik gamma, odpowiedni do pomiaru <sup>125</sup>I (minimalny uzysk 70%)

#### VII. PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

- A. Kalibratory:** Rekonstruować kalibrator zerowy przy pomocy 3 ml wody destylowanej a inne kalibratory przy pomocy 1 ml wody destylowanej.
- B. Kontrole:** Kontrole należy rekonstruować przy pomocy 1 ml wody destylowanej.
- C. Znacznik izotopowy:** Rekonstruować znacznik przy pomocy 6 ml wody destylowanej.

- D. Roboczy roztwór płuczący:** Właściwą objętość roboczego roztworu płuczącego należy przygotować dodając 69 objętości wody destylowanej do 1 objętości roztworu płuczącego (70x). Do homogenizacji należy wykorzystać mieszadło magnetyczne. Niewykorzystany roboczy roztwór płuczący należy wylać pod koniec dnia.

#### VIII. PRZECHOWYWANIE I DATA WAŻNOŚCI ODCZYNNIKÓW

- Przed otwarciem lub rekonstytucją wszystkie składniki zestawu zachowują trwałość do daty ważności przedstawionej na etykiecie, jeżeli są przechowywane w temperaturze od 2 do 8°C.
- Po rekonstytucji, znacznik musi być natychmiast wykorzystany lub może być przechowywany w temperaturze -20°C do upływu daty ważności.
- Po rekonstytucji, kalibratory i kontrole są bardzo niestabilne i należy je natychmiast wykorzystać. W razie konieczności przechowywania przez dłuższy okres czasu, należy przygotować niewielkie objętości kontroli, co pozwala przechowywać je w temperaturze -20 °C przez 3 miesiące. Unikać powtarzanych cykli zamrażania-odmrażania.
- Świeżo przygotowany roboczy roztwór płuczący powinien być wykorzystany w tym samym dniu.
- Zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników w zestawie mogą wskazywać na ich niestabilność lub zużycie.

#### IX. POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE MATERIAŁU DO BADANIA

- Próbkę surowicy muszą być przechowywane w temperaturze 2-8°C.
- Jeżeli oznaczenie nie jest wykonywane w ciągu 8 godzin, zaleca się przechowywanie w małych objętościach w temperaturze -20°C.
- Należy unikać powtarzanych cykli zamrażania-odmrażania.

#### X. PROCEDURA

##### A. Uwagi dotyczące obsługi

Nie wolno wykorzystywać składników zestawu po upływie podanej daty ważności. Nie wolno mieszać materiałów pochodzących z różnych serii zestawów. Przed wykorzystaniem wszystkie odczynniki powinny osiągnąć temperaturę pokojową. Wszystkie odczynniki i próbki należy dokładnie wymieszać przez delikatne potrząsanie lub obracanie. Aby uniknąć zanieczyszczenia krzyżowego, do dodawania poszczególnych odczynników i próbek należy wykorzystywać czyste końcówki jednorazowe pipet. Pipety wysokiej precyzji lub pipety automatyczne poprawiają precyzję wykonania oznaczenia. Należy przestrzegać czasów inkubacji. Przygotować krzywą kalibracyjną dla każdego cyklu pomiarowego; nie wolno wykorzystywać danych z poprzednich oznaczeń.

##### B. Procedura

1. Dla każdego kalibratora, próbki i kontroli, należy oznaczyć opłaszczony próbki w badaniach podwójnych. W celu określenia całkowitych zliczeń, należy oznaczyć 2 standardowe próbki.
2. Należy szybko wymieszać, wirując: kalibratory, próbki i kontrole, i dozować po 100 µl każdej substancji do odpowiednich próbek. **To działanie musi być wykonane w ciągu 15 minut.**
3. Do każdej próbki, w tym do próbek nieopłaszczonych do całkowitego zliczania, należy dodać po 50 µl peptydu Tyr-C, oznakowanego jodem<sup>125</sup>.
4. Należy delikatnie potrząsnąć statywem, w celu uwolnienia uwięzionych pęcherzyków powietrza.
5. Należy inkubować przez 3 godziny w temperaturze pokojowej.
6. Należy aspirować (lub odlać) zawartość każdej próbki (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania). Aby usunąć cały płyn, należy upewnić się, że plastikowa końcówka aspiratora osiągnęła dno opłaszczony próbki.
7. Przy pomocy 3 ml roboczego roztworu płuczącego (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania), należy przepłukać próbki i aspirować zawartość (lub odlać ją). W trakcie dodawania roboczego roztworu płuczącego, należy unikać wytwarzania piany.
8. Probówki należy pozostawić na dwie minuty w pozycji stojącej do góry i aspirować pozostałe krople płynu.
9. Probówki należy zliczać w liczniku gamma przez 60 sekund.



## XI. OBLICZANIE WYNIKÓW

- Należy obliczyć średnią oznaczeń podwójnych.
- Należy bliczyć związaną radioaktywność jako odsetek wiązania określonego w zerowym punkcie kalibracji (0), zgodnie z poniższym wzorem:

$$B/B0(\%) = \frac{\text{Liczba zliczeń (dla kalibratora lub próbki)}}{\text{Liczba zliczeń (dla kalibratora zerowego)}} \times 100$$

- Na 3 arkuszach półlogarymicznych lub papierze milimetrowym, należy wykreślić wartości (B/B0(%)) dla każdego punktu kalibratora, jako funkcję stężenia peptydu C każdego punktu kalibratora. Należy odrzucić oczywiste wartości graniczne.
- Do opracowania krzywej kalibracyjnej mogą być wykorzystane również metody wspomagania komputerowego. Jeżeli ma być zastosowane automatyczne przetwarzanie wyników, zaleca się dopasowanie krzywej logistycznej 4 parametrowej.
- Nakładając wartości (B/B0 (%)) próbki, należy określić stężenia peptydu C w próbkach z krzywej kalibracyjnej.
- Dla każdego oznaczenia należy sprawdzić odsetek całkowitego związanego znacznika izotopowego, przy braku nieoznakowanego peptydu C (B0/T).

## XII. PRZYKŁAD DANYCH TYPOWYCH

Poniższe dane są przedstawione wyłącznie w celach przykładowych i nie powinny być nigdy stosowane zamiast rzeczywistych krzywych kalibracyjnych.

Peptyd C		cpm	B/Bo (%)
Zliczanie całkowite		75295	
Kalibrator	0,0 pmol/ml	17690	100,0
	0,09 pmol/ml	14319	80,9
	0,29 pmol/ml	11618	65,7
	0,95 pmol/ml	6534	36,9
	2,98 pmol/ml	3361	19,0
	9,94 pmol/ml	1379	7,8

## XIII. DZIAŁANIE I OGRANICZENIA

### A. Granica wykrywania

Dwadzieścia kalibratorów zerowych oznaczano wraz z zestawem innych kalibratorów.

Granica wykrywania, zdefiniowana jako odmienne stężenie dwóch odchyłeń standardowych poniżej przeciętnej wartości zliczania, przy wiązaniu zerowym, kształtowała się na poziomie 0,04 pmol/ml.

### B. Swoistość

Odsetek reaktywności krzyżowej, oceniany przez porównanie stężenia prowadzącego do 50% zahamowania, przedstawia się następująco:

Związek	Reaktywność krzyżowa (%)
Syntetyzowana proinsulina ludzka	5,6%
Glukagon ludzki	-
Insulina ludzka	-

### C. Precyzja

#### PRECYZJA W SERII

#### PRECYZJA MIĘDZY SERIAMI

Surowica	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)	Surowica	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)
A	24	0,28 ± 0,03	10,7	A	21	0,28 ± 0,03	10,7
B	26	1,21 ± 0,04	3,3	B	21	1,12 ± 0,11	9,8
C	24	0,18 ± 0,01	5,6	C	22	0,17 ± 0,02	11,8
D	24	0,68 ± 0,04	5,9	D	22	0,65 ± 0,05	7,7
E	24	1,60 ± 0,11	6,9	E	22	1,68 ± 0,12	7,1

SD: Odchylenie standardowe; CV: Współczynnik zmienności

## D. Dokładność

### BADANIE ROZCIENCZENIA

Próbka	Rozcieńczenie	Stęż. teoretyczne (pmol/ml)	Stęż. zmierzone (pmol/ml)
Surowica	1/1	-	6,99
	1/2	3,50	3,04
	1/4	1,75	1,56
	1/8	0,87	0,80
	1/16	0,44	0,46
	1/32	0,22	0,28
	1/64	0,11	0,07

Próbki zostały rozcieńczone przy pomocy kalibratora zerowego.

### BADANIE ODZYSKU

Próbka	dodano peptyd C (pmol/ml)	Odzyskany peptyd C (pmol/ml)	Odzysk (%)
Surowica	0,14	0,14	100
	0,17	0,19	112
	0,22	0,22	100
	0,39	0,44	113
	1,14	1,12	98
	3,14	3,02	96

Współczynnik konwersji:

Z ng/ml na pmol/ml : 3

### E. Opóźnienie pomiędzy oznaczeniem ostatniego kalibratora i dozowaniem próbki

Jak dalej przedstawiono, dozowanie próbek musi być wykonane w ciągu maksymalnie 15 minut po dozowaniu kalibratora.

### OPÓŹNIENIE CZASOWE

Surowica pmol/ml	0'	5'	10'	15'	20'	30'
C1	0,66	0,53	0,55	0,61	0,52	0,41
C2	2,27	2,14	2,58	1,90	1,79	2,07

## XIV. WEWNĘTRZNA KONTROLA JAKOŚCI

- Jeżeli wyniki uzyskane dla kontroli 1 i 2 nie znajdują się w zakresie określonym na etykiecie fiołki, wyniki nie mogą zostać wykorzystane, dopóki nie uda się znaleźć właściwego wyjaśnienia tego odchylenia.
- Jeżeli to konieczne, każde laboratorium może wykonać własne próbki zbiorcze w celach kontrolnych, które powinny być zamrożone w małych objętościach.
- Dopuszczalne kryteria, dotyczące różnicy pomiędzy wynikami oznaczeń podwójnych próbek, powinny być zgodne z zasadami prawidłowej pracy w laboratorium.

## XV. ZAKRESY REFERENCYJNE

Wartości są przedstawione wyłącznie w celach orientacyjnych, każde laboratorium powinno opracować własne wartości referencyjne.

W grupie 79 zdrowych osobników, średnie stężenie ludzkiego peptydu C wynosiło 1,02 pmol/ml (zakres od 2,5% do 97,2% percentyla: 0,59 – 1,56 pmol/ml).

## XVI. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI I OSTRZEŻENIA

### Bezpieczeństwo

Tylko do diagnostyki *in vitro*.

Zestaw zawiera <sup>125</sup>I (Okres połowicznego rozpadu: 60 dni), emitujący promieniowanie jonizujące X (28 keV) i γ (35,5 keV).

Ten produkt radioaktywny może być transportowany i wykorzystany wyłącznie przez osoby autoryzowane; zakup, przechowywanie, stosowanie i wymiana produktów radioaktywnych podlega regulacjom prawnym kraju użytkownika końcowego. W żadnym wypadku produkt nie może być podawany ludziom lub zwierzętom.

Obsługa materiałów radioaktywnych powinno być przeprowadzana w miejscach do tego przeznaczonych, z dala od miejsc ogólnej użyteczności. W laboratorium musi być przechowywany rejestr przyjęć i przechowywania materiałów radioaktywnych. Wyposażenie laboratorium oraz szkło, które może być skażone

substancjami radioaktywnymi, powinno być oddzielone, w celu uniknięcia krzyżowego zanieczyszczenia różnych radioizotopów.

Wszelkie plamy z substancji radioaktywnych muszą być natychmiast oczyszczone, zgodnie z procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa radiologicznego. Odpady radioaktywne muszą być usuwane zgodnie z miejscowymi przepisami i ogólnie przyjętymi wytycznymi obowiązującymi w laboratorium. Przestrzeganie podstawowych zasad bezpieczeństwa radiologicznego zapewnia wystarczające zabezpieczenie.

Składniki zawierające ludzką krew, dostarczone w zestawie, zostały przebadane metodami zaaprobowanymi przez instytucje europejskie i/lub FDA. Stwierdzono, że nie zawierają one HbsAg, przeciwciał anty-HCV, anty-HIV-1 i 2. Żadna ze znanych metod nie może dać całkowitej pewności, że materiały pochodzenia ludzkiego nie przeniosą czynników zakaźnych wirusowego zapalenia wątroby, AIDS i innych. Dlatego, postępowanie z odczynnikami i próbkami surowicy lub osocza, powinno być zgodne z miejscowymi procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa.

Produkty pochodzenia zwierzęcego były pobierane od zdrowych zwierząt. Składniki bydłace pochodzą z krajów, w których nie odnotowano występowania BSE. Pomimo to, składniki zawierające substancje pochodzenia zwierzęcego powinny być traktowane jako potencjalnie zakaźne.

Należy unikać kontaktu skóry z odczynnikami (zawierają azydek sodowy jako środek konserwujący). Azydek znajdujący się w zestawie, może reagować z miedzią i ołowiem w układzie kanalizacyjnym, tworząc związki o właściwościach wybuchowych. W czasie płukania odprowadzany płyn należy płukać dużymi objętościami wody, aby zapobiec kumulacji azydków.

Nie wolno palić, spożywać napojów ani pokarmów bądź używać kosmetyków w miejscu pracy. Nie pipetować ustami. Zakładać ubranie ochronne i rękawiczki jednorazowe.

#### XVII. BIBLIOGRAFIA

- BEISCHER, W. et al. (1976).  
**Human C-Peptide. Part I Radioimmunoassay.**  
Klin. Wschr. 54, 709.
- BEISCHER, W. et al. (1976).  
**Human C-Peptide. Part II: Clinical studies.**  
Klin. Wschr. 54, 717.
- BLIX, P.M. et al. (1982).  
**Urinary C-Peptide: an indicator of  $\beta$ -cell secretion under different metabolic conditions.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 54/3, 574.
- BONSER, A et al. (1984).  
**C-Peptide measurement: method and clinical utility.**  
CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 19 297.
- HORWITZ, D.L. et al. (1975).  
**Proinsulin, insulin and C-Peptide concentrations in human portal and peripheral blood.**  
J. Clin. Invest., 55, 1278.
- RENDELL, M. (1983).  
**C-Peptide levels as a criterion in treatment of maturity onset diabetes.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 57/6, 1198.
- RUBENSTEIN, A.H. et al. (1977).  
**Clinical significance of circulating proinsulin and C-Peptide.**  
Rec. Prog. Horm. Res., 33, 435.
- TROPEANO, G. et al. (1994).  
**Insulin, C-Peptide, androgens, and beta endorphin response to oral glucose in patients with polycystic ovary syndrome.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 78/2, 305-9.
- CONGEL, I. et al. (1993).  
**Effect of hyperlipocidemia on plasma C-Peptide concentration during euglycemic hyperinsulinemic clamp.**  
Diabetes Res., 22/1, 41-8.

- KREW, M.A. et al. (1994).

**Relation of amniotic fluid C-Peptide levels to neonatal body composition.**

Obstet. Gynecol., 84/1, 96-100.

#### XVIII. PODSUMOWANIE PROTOKOŁU

	CAŁKOWIT A LICZBA ZLICZEŃ $\mu$ l	KALIBRATORY $\mu$ l	PRÓBK KONTROLE $\mu$ l
Kalibratory (0 - 5)	-	100	-
Próbki, kontrole	-	-	100
Znacznik izotopowy	50	50	50
Inkubacja	3 godziny w temperaturze pokojowej		
Rozdzielenie	-	Aspiracja (lub odlewanie)	
Roboczy roztwór	-	3,0 ml	
płuczający	-	Aspiracja (lub odlewanie)	
Rozdzielenie			
Zliczanie	Zliczanie próbek przez 60 sekund		

Nr katalogowy DIAsource KIP0409-KIP0408	Numer P.I. 1700444/pl	Nr aktualizacji : 100719/1
--	--------------------------	-------------------------------

Data wydania : 2010-07-19



Прочетете целия протокол преди употреба

## C-PEP II-RIA-CT

### I. УПОТРЕБА

Радиоимунно изследване за количествено измерване *in vitro* на съдържанието на човешки C-пептид в серум.

### II. ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

- A. Патентовано име: DIAsource C-PEP II-RIA-CT Kit
- B. Каталоген номер: KIP0409: 96 теста  
KIP0408: 4 x 96 теста
- C. Произведено от: DIAsource ImmunoAssays S.A.  
Rue De l'Industrie 8 B-1400 Nivelles, Belgium.

За техническа помощ или поръчка:  
Тел.: +32 (0)67 88.99.99      Факс: +32 (0)67 88.99.96

### III. КЛИНИЧЕН ПРЕГЛЕД

#### A. Биологична активност

Инсулинът се синтезира в бета-клетките на Лангерхансовите острови като молекула-прекурсор, проинсулин. В секреторните гранули на бета-клетките проинсулинът се разделя на инсулин и 31-аминокиселинен пептид, наречен свързващ пептид или C-пептид. Инсулинът и C-пептидът се секретират в еквимоларни количества. Поради по-големият полуживот на C-пептида, обаче, неговата плазмена концентрация е по-висока от тази на инсулина.

Определянето на съдържащия се в плазмата C-пептид позволява извършването на количествена оценка на произвеждания ендогенен инсулин, дори и при администриране на екзогенен инсулин или при наличие на циркулиращи анти-инсулинови антитела.

Нещо повече, съдържанието на C-пептид в урината е надежден индекс за произвеждания инсулин, когато взимането на кръвна проба е трудно или когато трябва да се направи интегрирана оценка на секрецията на C-пептид за период от няколко часа.

#### B. Клинични приложения

- . Анализ на функцията на остатъчните бета-клетки при диабет с инсулинова терапия
- . Детекция и наблюдаване на ремисионната фаза при диабет тип I
- . Помощен анализ на диференциалната диагностика на диабет тип I (инсулинозависим) и тип II (неинсулинозависим)
- . Диагностика на инсулин-индуцираната фалшива хипогликемия
- . Подпомагане на диагностиката на инсулином (изследване на инсулиновата супресия)
- . Критерий за прогнозиране на изхода от бременността при жени, страдащи от диабет
- . Определяне на секрецията на инсулин при заболяване на черния дроб
- . Следене на панкреатектомии

#### IV. ПРИНЦИПИ НА МЕТОДА

Определено количество натоварен с  $^{125}\text{I}$  тирозин С-пептид се конкурира с подлежащата на измерване С-пептид от пробите, контролите или калибраторите за определено количество центрове на специфични антитела, имобилизирани на стените на полистиролови епруветки. Не е необходима нито екстракция, нито хроматография. След тричасова инкубация при стайна температура конкурентната реакция приключва с аспирация. След това епруветките се измиват с 3 ml измивач разтвор и отново се аспирират. Начертава се калибрационна крива и се определят концентрациите на С-пептид в пробите на базата на интерполация на дозите от калибрационната крива.

#### V. ИЗПОЛЗВАНИ РЕАГЕНТИ

Реагенти	Количество 96 теста	Количество 4 x 96 теста	Цветен код	Приготвяне
Епруветки, покрити с анти-С- пептид	2 x 48	8 x 48	оранжев	Готов за употреба
Ab $^{125}\text{I}$ ПРОСЛЕДЯВАЩО ВЕЩЕСТВО: тирозин С- пептид, натоварен с $^{125}\text{I}$ йод (HPLC скала) във фосфатен буфер с волски желатин и азид ( $<0.1\%$ )	1 флакон лиофилизир ани 175 kBq	4 флакона лиофилизир ани 4 x 175 kBq	червен	Добавете 6 ml дестилирана вода
CAL 0 Нулев Калибратор в човешки серум с тимол	1 флакон лиофилизир ани	2 флакона лиофилизир ани	жълт	Добавете 3 ml дестилирана вода
CAL N Калибратор - N = 1 до 5 (виж точните стойности на етикета на флаконите) в човешки серум с тимол	5 флакона лиофилизир ани	10 флакона лиофилизир ани	жълт	Добавете 1 ml дестилирана вода
WASH SOLN CONC Измивач разтвор (TRIS- HCl)	1 флакон 10 ml	4 флакона 10 ml	кафяв	Разредете 70x с дестилирана вода (използвайте магнитен сепаратор)
CONTROL N Контроли 1 и 2 в човешки серум с тимол	2 флакона лиофилизир ани	4 флакона лиофилизир ани	сребърен	Добавете 1 ml дестилирана вода

Забележка : 1. Използвайте нулевия калибратор за серумните разреждания.  
2. 1 ng от калибрационния препарат е равен на 1 ng NIBSC IRR 84/510

#### VI. СРЕДСТВА, КОИТО НЕ СЕ ОСИГУРЯВАТ

Следните материали са необходими, но не се осигуряват в набора:

1. Дестилирана вода
2. Пипети от: 50  $\mu\text{l}$  , 100  $\mu\text{l}$  и 1 ml (препоръчва се използването на прецизни пипети с накрайници за еднократна употреба).
3. Полистиролови епруветки за еднократна употреба (12 x 75 mm)
4. Завихрящ смесител
5. Магнитен сепаратор
6. 5 ml автоматична спринцовка (тип Cornwall) за измиване
7. Аспирационна система (по избор).
8. Всякакъв гама брояч, който може да измери употребеното количество  $^{125}\text{I}$  (минимален капацитет от 70%)

#### VII. ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТА

- Калибратори:** Реконституирайте нулевия калибратор с 3,0 ml дестилирана вода, а останалите калибратори с 1,0 ml дестилирана вода.
- Контроли:** Реконституирайте контролите с 1,0 ml дестилирана вода
- Проследяващо вещество:** Реконституирайте трейсъра с 6,0 ml дестилирана вода.
- Работен измивач разтвор:** Подгответе адекватен обем от работния измивач разтвор чрез добавянето на 69 обема дестилирана вода към 1 обем от измивачия разтвор (70x). Използвайте магнитен сепаратор, за да хомогенизирате. Изхвърлете неупотребеното количество от работния измивач разтвор в края на деня.

#### VIII. СЪХРАНЕНИЕ И СРОК НА ГОДНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ

- Всички компоненти на кита са стабилни до датата на срока на годност, посочен на опаковката, при температура на съхранение от 2 °C до 8 °C преди отваряне или реконституиране.
- След разтваряне, трейсърът / проследяващо вещество/ трябва да се използва незабавно или да се съхранява при температура - 20 °C до датата на срока на годност.
- След разтваряне калибраторите и контролите са много нестабилни, използвайте ги незабавно след разтваряне. При по-продължителни периоди на съхранение трябва да се приготвят аликвоти и да се съхраняват при -20 °C за не повече от 3 месеца. Избягвайте последващите цикли на замразяване - размразяване.
- Прясно приготвения Работен измивач разтвор трябва да бъде използван същия ден.
- Промени във физическия вид на реагентите на кита индицират нестабилност или негодност.

#### IX. СЪБИРАНЕ НА ПРОБИТЕ И ОБРАБОТКА

- Серумът трябва да се съхранява при температури 2-8 °C.
- Ако тестът не се направи в рамките на 8 часа, се препоръчва съхранение при температура -20 °C.
- Избягвайте последващи цикли на замразяване-размразяване.

#### X. ПРОЦЕДУРА

##### A. Общи бележки

Не използвайте кита или компонентите му след датата на изтичане срока на годност. Не смесвайте материали от различни партиди китове. Преди употреба оставете всички реагенти на стайна температура. Внимателно смесвайте всички реагенти с пробите чрез нежно раклащане или въртеливо размесване. За да избегнете кръстосана контаминация, използвайте чист пипетен накрайник за еднократна употреба за добавянето на всеки реагент към съответната проба. Високо прецизираните пипети или автоматичните пипети биха подобрили точността. Съобразявайте се с времето за инкубация. Подгответе калибрационна крива за всяко измерване и не използвайте данни от предишни измервания.

##### B. Процедура

1. Означете две по две покритите епруветки за всеки калибратор, контрола и проба. За определяне на общия брой импулси, означете 2 нормални епруветки.
2. Разклатете за кратко време калибраторите, контролите и пробите и разпределете по 100  $\mu\text{l}$  от всяко в съответните епруветки.  
**Тази операция трябва да се извърши в рамките на 15 минути.**
3. Разпределете 50  $\mu\text{l}$  тирозин С-пептид, натоварен с  $^{125}\text{I}$  йод във всяка епруветка, включително в непокритите епруветки за общото преброяване.
4. Разклатете нежно с ръка контейнера с епруветките, за да освободите всяко останало въздушно мехурче.
5. Инкубирайте за 3 часа при стайна температура.
6. Аспирирайте (или прелейте) съдържанието на всяка епруветка (освен епруветките за определяне на общия брой импулси). Уверете се, че пластмасовият край на аспиратора достига дъното на покритата епруветка, за да може да отстрани цялата течност.
7. Измийте епруветките с 3 ml Работен Разтвор за измиване (с изключение на общия брой) и аспирирайте (или прелейте). Избягвайте разпенване по време на добавянето на Работния Разтвор за измиване.
8. Оставете епруветките в изправено положение за две минути и аспирирайте останалите капки течност.
9. Отчетете епруветките в гама брояч за 60 секунди.

#### XI. ИЗЧИСЛЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

1. Изчислете средното аритметично на резултатите, получени от две по две епруветките.
2. Изчислете свързващата радиоактивност като процент от свързването, определен при нулевата калибрационна точка (0) според следната формула :
3. Използвайки 3 циклична семи-логаритмична или logit-log графична хартия, нанесете (B/B0(%)) стойностите за всяка калибрационна точка като функция на С-пептид концентрацията на всяка калибрационна точка. Отхвърлете очевидните отклонения..

$$В/В0 (\%) = \frac{\text{брой (Калибратор и проба)}}{\text{брой (Нулев Калибратор)}} \times 100$$

- Компютърно асистирани методи също могат да бъдат използвани, за да се построи калибрационната крива. Ако се използва автоматичен метод на обработка на резултатите, се препоръчва подходяща 4-параметрова логистична крива.
- Чрез интерполация на (В/В0 (%)) стойностите от пробата се определят С-пептид концентрациите на пробите от калибрационната крива.
- Процентът на общото проследяващо вещество, свързано при липса на ненатоварен С-пептид (В0/Т), трябва да се провери за всяко изследване.

## XII. ХАРАКТЕРНИ ДАННИ

Данните, изложени по-долу са само за илюстрация и никога не бива да се използват вместо истинската калибрационна крива.

С-пептид	срм	В/В0 (%)
Общ брой	75295	
Калибратор		
0,0 pmol/ml	17690	100,0
0,09 pmol/ml	14319	80,9
0,29 pmol/ml	11618	65,7
0,95 pmol/ml	6534	36,9
2,98 pmol/ml	3361	19,0
9,94 pmol/ml	1379	7,8

## XIII. ИЗПЪЛНЕНИЕ И ОГРАНИЧЕНИЯ

### А. Определен лимит

Двадесет нулеви калибратора са били изпитани заедно с комплект от други калибратори. Определения лимит, дефиниран като явната концентрация на две стандартни отклонения над средния брой при нулево свързване, е бил 0,04 pmol/ml.

### В. Специфичност

Процентът на кръстосана реакция, преценен чрез сравняване с концентрацията при 50% потискане, е съответно:

Съединение	Кръстосана реактивност (%)
Биосинтетичен човешки проинсулин	5,6%
Човешки глюкагон	-
Човешки инсулин	-

### Г. Прецизност

ПО ВРЕМЕ НА ИЗПИТВАНЕТО

Серум	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)	Серум	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)
A	24	0.28 ± 0.03	10.7	A	21	0.28 ± 0.03	10.7
B	26	1.21 ± 0.04	3.3	B	21	1.12 ± 0.11	9.8
C	24	0.18 ± 0.01	5.6	C	22	0.17 ± 0.02	11.8
D	24	0.68 ± 0.04	5.9	D	22	0.65 ± 0.05	7.7
E	24	1.60 ± 0.11	6.9	E	22	1.68 ± 0.12	7.1

SD : Стандартно отклонение; CV: Коефициент на вариация

## D. Точност

### ТЕСТ С РАЗРЕЖДАНЕ

Проба	Разреждане	Теоретична концентрация (pmol/ml)	Измерена концентрация (pmol/ml)
Серум	1/1	-	6,99
	1/2	3,50	3,04
	1/4	1,75	1,56
	1/8	0,87	0,80
	1/16	0,44	0,46
	1/32	0,22	0,28
	1/64	0,11	0,07

Пробите бяха разредени с нулев калибратор

### ВЪЗСТАНОВИТЕЛЕН ТЕСТ

Проба	Добавен С-пептид (pmol/ml)	Възстановен С-пептид (pmol/ml)	Възстановен (%)
Серум	0.14	0.14	100
	0.17	0.19	112
	0.22	0.22	100
	0.39	0.44	113
	1.14	1.12	98
	3.14	3.02	96

### Конверсионен фактор:

От ng/ml до pmol/ml : : 3

## D. Закъснение

Както е показано по-долу, резултатите от изпитването остават точни дори когато пробата е разпределена 15 минути след като калибраторът е бил добавен към покритата епруветка.

### Закъснение

Серум pmol/ml	0'	5'	10'	15'	20'	30'
C1	0,66	0,53	0,55	0,61	0,52	0,41
C2	2,27	2,14	2,58	1,90	1,79	2,07

## XIV. ВЪТРЕШЕН КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

- Ако резултатите, получени за Контрола 1 и/или Контрола 2 не са в рамките на нивото, указано на етикета на флакона, то резултатите не могат да бъдат използвани, освен ако не се предостави задоволително обяснение на това несъответствие.
- По желание, всяка лаборатория може да си направи собствен комплект от контролни проби, които трябва да се съхраняват замразени в кратни съотношения.
- Критериите за приемане на разликата от двойните резултати на пробите трябва да се опират на Добрата Лабораторна Практика.

## XV. РЕФЕРЕНТНИ ИНТЕРВАЛИ

Стойностите, показани по-долу, са предоставени само за напътствие; всяка лаборатория трябва да установи свои собствен нормален обхват на стойности.

В група от 79 нормални субекта изчислената средна стойност на концентрацията на човешки С-пептид бе 1.02 pmol/ml (а диапазонът - от 2.5% до 97.5%: 0.59 - 1.56 pmol/ml).

## XVI. ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

### Безопасност

Само за *in vitro* диагностика.

Този набор съдържа <sup>125</sup>I (полуживот: 60 дни), емитиращ йонизиращи X (28 keV) и γ (35.5 keV) лъчения.

Този радиоактивен продукт може да се пренася и да се използва само от оторизирани лица; покупката, съхранението, употребата и размяната на радиоактивни продукти са предмет на законодателството на държавата, на крайния потребител. Този продукт не бива в никакъв случай да се прилага на хора или животни.

Боравенето с радиоактивния продукт трябва да се извършва в определена за целта територия, далеч от регулярни зони на преминаване. В лабораторията

трябва да се поддържа дневник за получаването и съхранението на радиоактивни материали. Лабораторната екипировка и стъклария, които могат да бъдат контаминирани с радиоактивни субстанции, трябва да бъдат отделени с цел да се избегне кръстосана контаминация с различни радионуклиди.

Всякакви радиоактивни пръски трябва да се почистват незабавно в съответствие с процедурите за радиационна безопасност. Радиоактивните отпадъци трябва да се изхвърлят, следвайки местните наредби и ръководства на властите, упражняващи юрисдикцията, над лабораториите. Придържането към основните правила за радиационна безопасност осигуряват адекватна защита.

Човешките кръвни компоненти, включени в кита, са били тествани чрез одобрени от Европейски и/или FDA (Американска агенция по храните и лекарствата) методи и са дали отрицателен резултат за HbsAg, анти-HCV, анти-HIV-1 и 2. Няма известен метод, който да дава пълна гаранция за това, че човешките кръвни деривати не пренасят хепатит, СПИН или други инфекции. Ето защо, боравенето със реагентите, серумните или плазмените проби трябва да бъде в съответствие с местните процедури по безопасност.

Всички животински продукти и деривати са били събирани от здрави животни. Волските компоненти са с произход от страни, където BSE (волска серумна енцефалопатия) не е била установявана. Независимо от това, компонентите, съдържащи животински субстанции трябва да се третират като потенциално инфекциозни.

Избягвайте каквото и да било кожен контакт с реагентите (съдържат натриев азид като консервант). Азидът в този кит може да реагира с оловото и медта във водопроводните инсталации като по този начин се получават силно експлозивни метални азиди. По време на измивния етап, промийте със силна и обилна струя вода канализацията, за да избегнете формирането на азиди.

Не пушете, не пийте, не яжте и не си слагайте козметика в работната територия. Не пипетирайте с уста. Използвайте защитно облекло и ръкавици за еднократна употреба.

## XVII. ОБОБЩЕНИЕ НА ПРОТОКОЛА

	ОБЩА АКТИВНОСТ µl	КАЛИБРАТОРИ µl	ПРОБА (И) КОНТРОЛИ µl
Калибратори (0-5) Проби, контроли Трейсьър	- - 50	100 - 50	- 100 50
Инкубация	3 часа при стайна температура		
Сепарация Измиващ разтвор Сепарация	- - -	аспирирайте (или прелейте) 3.0 ml аспирирайте (или прелейте)	
Броене	Отчетете епруветките за 60 секунди		

DIASource каталог номер: KIP0409 - KIP0408	P.I. номер: 1700444/bu	Номер на ревизия: 100719/1
---	---------------------------	-------------------------------

Дата на ревизия: 2010-07-19

- BEISCHER, W. et al. (1976).  
**Human C-Peptide. Part I Radioimmunoassay.**  
Klin. Wschr. 54, 709.
- BEISCHER, W. et al. (1976).  
**Human C-Peptide. Part II: Clinical studies.**  
Klin. Wschr. 54, 717.
- BLIX, P.M. et al. (1982).  
**Urinary C-Peptide: an indicator of β-cell secretion under different metabolic conditions.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 54/3, 574.
- BONSER, A et al. (1984).  
**C-Peptide measurement: method and clinical utility.**  
CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 19 297.
- HORWITZ, D.L. et al. (1975).  
**Proinsulin, insulin and C-Peptide concentrations in human portal and peripheral blood.**  
J. Clin. Invest., 55, 1278.
- RENDELL, M. (1983).  
**C-Peptide levels as a criterion in treatment of maturity onset diabetes.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 57/6, 1198.
- RUBENSTEIN, A.H. et al. (1977).  
**Clinical significance of circulating proinsulin and C-Peptide.**  
Rec. Prog. Horm. Res., 33, 435.
- TROPEANO, G. et al. (1994).  
**Insulin, C-Peptide, androgens, and beta endorphin response to oral glucose in patients with polycystic ovary syndrome.**  
J. Clin. Endocrinol. Metab., 78/2, 305-9.
- CONGEL, I. et al. (1993).  
**Effect of hyperlipocidemia on plasma C-Peptide concentration during euglycemic hyperinsulinemic clamp.**  
Diabetes Res., 22/1, 41-8.
- KREW, M.A. et al. (1994).  
**Relation of amniotic fluid C-Peptide levels to neonatal body composition.**  
Obstet. Gynecol., 84/1, 96-100.

	<u>Used symbols</u>	<u>Symboles utilisés</u>
	Consult instructions for use	Consulter les instructions d'utilisation
	Storage temperature	Température de conservation
	Use by	Utiliser jusque
	Batch code	Numéro de lot
	Catalogue number	Référence de catalogue
	Control	Contrôle
	In vitro diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Manufacturer	Fabricant
	Contains sufficient for <n> tests	Contenu suffisant pour <n> tests
	Wash solution concentrated	Solution de lavage concentrée
	Zero calibrator	Calibreur zéro
	Calibrator #	Calibreur #
	Control #	Contrôle #
	Tracer	Traceur
	Tracer	Traceur
	Tracer concentrated	Traceur concentré
	Tracer concentrated	Traceur concentré
	Tubes	Tubes
	Incubation buffer	Tampon d'incubation
	Acetonitrile	Acétonitrile
	Serum	Sérum
	Specimen diluent	Diluant du spécimen
	Dilution buffer	Tampon de dilution
	Antiserum	Antisérum
	Immunoabsorbent	Immunoabsorbant
	Calibrator diluent	Diluant de calibrateur
	Reconstitution solution	Solution de reconstitution
	Polyethylene glycol	Glycol Polyéthylène
	Extraction solution	Solution d'extraction
	Elution solution	Solution d'élution
	Bond Elut Silica cartridges	Cartouches Bond Elut Silica
	Pre-treatment solution	Solution de pré-traitement
	Neutralization solution	Solution de neutralisation
	Tracer buffer	Tampon traceur
	Microtiterplate	Microplaque de titration
	HRP Conjugate	HRP Conjugué
	HRP Conjugate	HRP Conjugué
	HRP Conjugate concentrate	HRP Conjugué concentré
	HRP Conjugate concentrate	HRP Conjugué concentré
	Conjugate buffer	Tampon conjugué
	Chromogenic TMB concentrate	Chromogène TMB concentré
	Chromogenic TMB solution	Solution chromogène TMB
	Substrate buffer	Tampon substrat
	Stop solution	Solution d'arrêt
	Incubation serum	Sérum d'incubation
	Buffer	Tampon
	AP Conjugate	AP Conjugué
	Substrate PNPP	Tampon PNPP
	Biotin conjugate concentrate	Biotine conjugué concentré
	Avidine HRP concentrate	Avidine HRP concentré
	Assay buffer	Tampon de test
	Biotin conjugate	Biotine conjugué
	Specific Antibody	Anticorps spécifique
	Streptavidin HRP concentrate	Concentré streptavidine HRP
	Non-specific binding	Liant non spécifique
	2nd Antibody	Second anticorps
	Acidification Buffer	Tampon d'acidification

	<b><u>Gebruikte symbolen</u></b>	<b><u>Gebrauchte Symbolen</u></b>
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Gebrauchsanweisung beachten
	Bewaartemperatuur	Lagern bei
	Houdbaar tot	Verwendbar bis
	Lotnummer	Chargenbezeichnung
	Catalogusnummer	Bestellnummer
	Controle	Kontrolle
	Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek	In Vitro Diagnostikum
	Fabrikant	Hersteller
	Inhoud voldoende voor <n> testen	Ausreichend für <n> Ansätze
	Wasoplossing, geconcentreerd	Waschlösung-Konzentrat
	Nulkalibrator	Null kalibrator
	Kalibrator #	Kalibrator #
	Controle #	Kontrolle #
	Tracer	Tracer
	Tracer	Tracer
	Tracer geconcentreerd	Tracer Konzentrat
	Tracer geconcentreerd	Tracer Konzentrat
	Buisjes	Röhrchen
	Incubatiebuffer	Inkubationspuffer
	Acetonitrile	Azetonitril
	Serum	Humanserum
	Specimen diluent	Probenverdünner
	Verdunningsbuffer	Verdünnungspuffer
	Antiserum	Antiserum
	Immunoabsorbent	Immunoabsorbens
	Kalibratorverdunner	Kalibratorverdünnung
	Reconstitutieoplossing	Rekonstitutionslösung
	Polyethyleen glycol	Polyethylenglykol
	Extractieoplossing	Extraktionslösung
	Elutieoplossing	Eluierungslösung
	Bond Elut Silica kolom	Bond Elut Silikakartuschen
	Pre-behandelingsoplossing	Vorbehandlungslösung
	Neutralisatieoplossing	Neutralisierungslösung
	Tracerbuffer	Tracer-Puffer
	Microtiterplaat	Mikrotiterplatte
	HRP Conjuaat	HRP Konjugat
	HRP Conjuaat	HRP Konjugat
	HRP Conjuaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	HRP Conjuaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	Conjuaat buffer	Konjugatpuffer
	Chromogene TMB geconcentreerd	Chromogenes TMB Konzentrat
	Chromogene Oplossing TMB	Farblösung TMB
	Substraatbuffer	Substratpuffer
	Stopoplossing	Stopplösung
	Incubatieserum	Inkubationsserum
	Buffer	Puffer
	AP Conjuaat	AP Konjugat
	Substraat PNPP	Substrat PNPP
	Geconcentreerd Biotine conjuaat	Biotin-Konjugat-Konzentrat
	Geconcentreerd Avidine-HRP conjuaat	Avidin-HRP-Konzentrat
	Assay buffer	Assaypuffer
	Biotine conjuaat	Biotin-Konjugat
	Specifiek antilichaam	Spezifischer Antikörper
	Streptavidine-HRP concentraat	HRP Streptavidinkonzentrat
	Aspecifieke binding	Unspezifische Bindung
	2de antilichaam	Sekundärer Antikörper
	Verzuringbuffer	Ansäuerungspuffer



	<b><u>Simboli utilizzati</u></b>	<b><u>Símbolos utilizados</u></b>
	Consultare le istruzioni per l'uso	Consultar las instrucciones de uso
	Limitazioni di temperatura	Limitación de temperatura
	Utilizzare entro	Fecha de caducidad
	Numero di lotto	Código de lote
	Numero di catalogo	Número de catálogo
	Controllo	Control
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Fabbricante	Fabricante
	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos
	Tampone di lavaggio concentrato	Solución de lavado concentrada
	Calibratore zero	Calibrador cero
	Standard #	Calibrador #
	Controllo #	Control #
	Marcato	Trazador
	Marcato	Trazador
	Marcato concentrato	Trazador concentrada
	Marcato concentrato	Trazador concentrada
	Provette	Tubos
	Tampone incubazione	Tampón de incubación
	Acetonitrile	Acetonitrilo
	Siero	Suero
	Diluente campione	Diluyente de Muestra
	Tampone diluizione	Tampón de dilución
	Antisiero	Antisuero
	Immunoassorbente	Immunoabsorbente
	Diluente calibratore	Diluyente de calibrador
	Soluzione di ricostituzione	Solución de Reconstitución
	Polietilenglicole	Glicol Polietileno
	Soluzione di estrazione	Solución de extracción
	Soluzione di eluizione	Solución de elución
	Cartucce di silice bond elut	Cartuchos Bond Elut Silica
	Soluzione di pretrattamento	Solución de Pre-tratamiento
	Soluzione di neutralizzazione	Solución de Neutralización
	Tracer Buffer	Tampón de trazador
	Piastra di microtitolazione	Placa de microvaloración
	HRP Coniugato	HRP Conjugado
	HRP Coniugato	HRP Conjugado
	HRP Coniugato concentrato	HRP Conjugado concentrada
	HRP Coniugato concentrato	HRP Conjugado concentrada
	Buffer coniugato	Tampón de Conjugado
	Cromogena TMB concentrato	Cromógena TMB concentrada
	Soluzione cromogena TMB	Solución Cromógena TMB
	Tampone substrato	Tampón de sustrato
	Soluzione di arresto	Solución de Parada
	Incubazione con siero	Suero de Incubación
	Buffer	Tampón
	AP Coniugato	AP Conjugado
	Substrato PNPP	Sustrato PNPP
	Concentrato coniugato con biotina	Concentrado de conjugado de biotina
	Concentrato avidina HRP	Concentrado avidina-HRP
	Soluzione tampone per test	Tampón de ensayo
	Coniugato con biotina	Conjugado de biotina
	Anticorpo Specifico	Anticuerpo específico
	Streptavidina-HRP concentrata	Estreptavidina-HRP Concentrado
	Legame non-specifico	Unión no específica
	2° Anticorpo	Segundo anticuerpo
	Tampone Acidificante	Tampón de Acidificación

	<b><u>Símbolos utilizados</u></b>	<b><u>Använda symboler</u></b>
	Consulte instruções de utilização	Läs instruktionerna före användning
	Temperatura de conservação	Förvaringstemperatur
	Utilizar antes de	Används av
	Código de lote	Lotnummer
	Número de catálogo	Katalognummer
	Controlo	Kontroll
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro	In vitro diagnostiskt kit
	Fabricante	Tillverkare
	Conteúdo suficiente para <n> testes	Innehållet räcker till <n> prover
	Solução de lavagem concentrada	Tvättlösning, koncentrerad
	Calibrador zero	Nollkalibrerare
	Calibrador #	Kalibrator #
	Controlo #	Kontroll #
	Marcador	Radioisotop, antigen
	Marcador	Radioisotop, antikropp
	Marcador concentrada	Radioisotop, antigen koncentrerad
	Marcador concentrada	Radioisotop, antikropp koncentrerad
	Tubos	Rör
	Tampão de incubação	Inkuberingsbuffert
	Acetonitrilo	Acetonitril
	Soro	Serum
	Diluidor de espécimes	Spädningsbuffert för prover
	Tampão de diluição	Spädningsbuffert
	Anti-soro	Antiserum
	Imunoadsorvente	Immunoadsorberare
	Diluyente do calibrador	Kalibratordiluent
	Solução de Reconstituição	Rekonstitutionslösning
	Poliétileno-glicol	Polyetylen glykol
	Solução de Extração	Extraktionslösning
	Solução de Eluição	Elueringslösning
	Cartuchos de sílica Bond Elut	Silikonpatroner för elueringsbindning
	Solução de pré-tratamento	Förbehandlingslösning
	Solução de neutralização	Neutraliseringslösning
	Tampão Marcador	Tracerbuffert
	Placa de micro titulação	Microtiterplatta
	HRP Conjugação	HRP-konjugat
	HRP Conjugação	HRP-konjugat
	HRP Conjugação concentrada	HRP-konjugat-koncentrat
	HRP Conjugação concentrada	HRP-konjugat-koncentrat
	Conjuge o tampão	Konjugatbuffert
	Cromogénica TMB concentrada	Kromogeniskt TMB-koncentrat
	Solução Cromogénica TMB	Kromogenisk TMB-lösning
	Tampão de substrato	Substratbuffert
	Solução de Paragem	Stopplösning
	Soro de incubação	Inkubationsserum
	Tampão	Buffert
	AP Conjugação	AP-konjugat
	Substrato PNPP	Substrat-PNPP
	Concentrado conjugado de biotina	Biotinkonjugat koncentrat
	Concentrado HRP de avidina	Avidin HRP-koncentrat
	Tampão de ensaio	Provbuffert
	Conjugado de biotina	Biotinkonjugat
	Anticorpo específico	-
	Estreptavidina HRP concentrado	-
	Ligações não específicas	-
	Anticorpo secundário	-
	Tampão de acidificação	-

	<u>Επεξήγηση συμβόλων</u>	<u>Anvendte symboler</u>
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	Læs brugsvejledningen
	Θερμοκρασία αποθήκευσης	Opbevaringstemperatur
	Ημερομηνία λήξης	Anvend inden
	Αριθμός παρτίδας	Batchkode
	Αριθμός καταλόγου	Katalognummer
	Πρότυπο ελέγχου	Kontrol
	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnosticering
	Κατασκευαστής	Fabrikant
	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις	Indeholder nok til <n> test
	Συμπυκνωμένο διάλυμα έκπλυσης	Koncentreret vaskeopløsning
	Μηδενικός βαθμονομητής	Nul-kalibrator
	Βαθμονομητής #	Kalibrator nr.
	Ορός ελέγχου #	Kontrol nr.
	Ιζηθέτης	Markør
	Ιζηθέτης	Markør
	Χρωμογόνος Ιζηθέτης	Koncentreret markør
	Χρωμογόνος Ιζηθέτης	Koncentreret markør
	Σοληνάρια	Tuber
	Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης	Inkubationsbuffer
	Ακετονιτρίλιο	Acetonitril
	Ορός	Serum
	Διάλυμα αραιώσης δειγμάτων	Prøvediluent
	Ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης	Fortyndingsbuffer
	Αντιορός	Antiserum
	Ανοσοπροσροφητικό	Immonoadsorbent
	Αραιωτικό βαθμονομητών	Kalibratordiluent
	Διάλυμα ανασύστασης	Rekonstitueringsopløsning
	Πολυαιθυλενογλυκόλη	Polyetylglykol
	Διάλυμα εκχύλισης	Ekstraktionsopløsning
	Διάλυμα έκλυσης	Elueringsopløsning
	Φύσιγγες πυριτίου Bond Elut	Patroner med bindingselueringssilica
	Διάλυμα προεπεξεργασίας	Forbehandlingsopløsning
	Διάλυμα εξουδετέρωσης	Neutraliseringsopløsning
	Ρυθμιστικό διάλυμα	Markørbuffer
	Πλάκα μικροτιτλοδότησης	Mikrotiterplade
	HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat
	HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat
	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat-koncentreret
	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat-koncentreret
	Ρυθμιστικό διάλυμα συζεύγματος	Konjugatbuffer
	Χρωμογόνος TMB	Kromogen TMB-koncentreret
	Διάλυμα χρωμογόνου TMB	Kromogen TMB-opløsning
	Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος	Substratbuffer
	Ανασχετικό αντιδραστήριο	Stopopløsning
	Ορός επώασης	Inkubationsserum
	Ρυθμιστικό διάλυμα	Buffer
	AP Σύζευγμα	AP-konjugat
	PNPP υποστρώματος	Substrat PNPP
	Συμπυκνωμένο αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη	Biotin konjugat koncentrat
	Συμπυκνωμένο διάλυμα αβιδίνης-HRP	Avidin HRP koncentrat
	Ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού	Prøvebuffer
	αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη	Biotin konjugat
	Ειδικό Αντίσωμα	-
	Συμπυκνωμένη στρεπταβιδίνη συνεξευγμένη με HRP	-
	μη-ειδική δέσμευση	-
	2ο Αντίσωμα	-
	Ρυθμιστικό Διάλυμα όξινο	-

	<b>Stosowane symbole</b>	<b>Használt szimbólumok</b>
	Przed zastosowaniem zapoznać się z instrukcją	Olvassa el a használati útmutatót
	Temperatura przechowywania	Tárolási hőmérséklet
	Zużyć przed	Lejáratí idő
	Kod serii	Gyártási kód
	Numer katalogowy	Katalógus szám
	Kontrola	Kontrol
	Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro	In vitro diagnosztikai eszköz
	Producent	Gyártó
	Zawartość wystarczająca do <n> testów	Tartalma <n> teszt elvégzésére elegendő
	Roztwór płuczący stężony	Mosó folyadék koncentrátum
	Kalibrator zerowy	Zero kalibrátor
	Kalibrator nr	Kalibrátor #
	Kontrola nr	Kontrol #
	Znacznik izotopowy	Nyomjelző izotóp
	Znacznik izotopowy	Nyomjelző izotóp
	Znacznik izotopowy stężony	Nyomjelző izotóp koncentrátum
	Znacznik izotopowy stężony	Nyomjelző izotóp koncentrátum
	Probówki	Csővek
	Wymagana inkubacja buforu	Inkubáló puffer
	Acetonitryl	Acetonitril
	Surowica	Szérum
	Rozcieńczalnik próbki	Mintahígító
	Bufor do rozcieńczania	Hígító puffer
	Antysurowica	Antiszérum
	Immunoabsorbent	Immunadsorbens
	Rozcieńczalnik kalibratora	Kalibrátor hígító
	Roztwór do rozcieńczania	Mintaelőkészítő oldat
	Glikol poli(oksy)etylenowy	Polietylén glikol
	Roztwór ekstrakcyjny	Extraktív oldat
	Roztwór elucyjny	Eluáló oldat
	Kolumny krzemionkowe Bond Elut	Bond Elut Silica szilikagél patronok
	Roztwór do przygotowania wstępnego	Előkezelő oldat
	Roztwór neutralizujący	Semlegesítő oldat
	Bufor znacznika	Nyomjelző izotóp hígító puffer
	mikroplytka	Mikrotiter lemez
	Koniugat peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum
	Koniugat peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum
	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum koncentrátum
	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum koncentrátum
	Bufor do koniugacji	Konjugátum puffer
	Koncentrat chromogenu TMB (czterometrylobenzodyny)	Kromogén TMB koncentrátum
	Roztwór chromogenu TMB (czterometrylobenzodyny)	Kromogén TMB oldat
	Bufor substratu	Szubsztrát puffer
	Roztwór zatrzymujący reakcję	Stop oldat
	Wymagana inkubacja surowicy	Inkubációs szérum
	Bufor	Puffer
	Koniugat AP (fosfatazy alkalicznej)	AP konjugátum
	p-nitrofenylofosforan substratowy	Szubsztrát PNPP
	Koncentrat koniugatu biotyny	Biotin konjugátum koncentrátum
	Koncentrat peroksydazy chrzanowej z awidyną	Avidin HRP koncentrátum
	Bufor do oznaczania	Vizsgálati puffer
	Koniugatu biotyny	Biotin konjugátum
	Przeciwciało swoiste	Specifikus ellenanyag
	Koncentrat streptawidyny HRP	Sztreptawidin HRP koncentrátum
	Wiązanie nieswoiste	Nem-specifikus kötődés
	Drugie przeciwciało	Másodlagos ellenanyag
	Bufor zakwaszający	Savas puffer

	<b><u>Използвани символи</u></b>
	Вижте инструкцията за работа
	Температура на съхранение
	Използвайте с
<b>LOT</b>	Партиден код
<b>REF</b>	Каталожен номер
<b>CONTROL</b>	Контрол
<b>IVD</b>	Ин витро диагностично медицинско изделие
	Производител
	Съдържание достатъчно за <n> теста
WASH SOLN CONC	Концентриран измиващ разтвор
CAL 0	Нулев калибратор
CAL N	Калибратор #
CONTROL N	Контрол #
Ag 125I	Трейсър
Ab 125I	Трейсър
Ag 125I CONC	Концентриран маркер
Ab 125I CONC	Концентриран маркер
	Епруветки
INC BUF	Инкубационен буфер
ACETONITRILE	Ацетонитрил
SERUM	Серум
DIL SPE	Разредител за пробите
DIL BUF	Буфер за разреждане
ANTISERUM	Антисерум
IMMUNOABSORBENT	Имуноабсорбент
DIL CAL	Разредител за калибратора
REC SOLN	Пресъздаващ разтвор
PEG	Полиетилен гликол
EXTR SOLN	Екстрактов разтвор
ELU SOLN	Разтвор за елюиране
GEL	Силикагелни пълнители
PRE SOLN	Пред-лечебен разтвор
NEUTR SOLN	Неутрализиращ разтвор
TRACEUR BUF	Маркерен буфер
<b>ULI</b>	Микротигърна пластина
Ab HRP	HRP конюгат / Конюгат на хряннова пероксидаза
Ag HRP	HRP конюгат / Конюгат на хряннова пероксидаза
Ab HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
Ag HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
CONJ BUF	Буфер за конюгата
CHROM TMB CONC	Хромогенен ТМВ концентрат
CHROM TMB	Хромогенен ТМВ разтвор
SUB BUF	Субстратен буфер
STOP SOLN	Стоп разтвор
INC SER	Инкубационен серум
BUF	Буфер
Ab AP	AP конюгат / конюгат на алкална фосфатаза
SUB PNPP	Субстрат PNPP / пара нитрофенил фосфат
BIOT CONJ CONC	Биотин конюгиран концентрат
AVID HRP CONC	Авидин HRP концентрат
ASS BUF	Буфер за пробите
Ab BIOT	Биотин конюгат
Ab	специфично антитяло
SAV HRP CONC	стрептавидин HRP концентрат
NSB	не специфично свързване
2nd Ab	второ антитяло
ACID BUF	киселинизиращ буфер