

C-PEP-EASIA

KAP0401

Read entire protocol before use.

C-PEP-EASIA

I. INTENDED USE

Immunoenzymetric assay for the *in vitro* quantitative measurement of human C-PEPTIDE (C-PEPTIDE) in serum.

II. GENERAL INFORMATION

- A. **Proprietary name :** BioSource C-PEP-EASIA Kit
- B. **Catalogue number :** KAP0401 : 96 tests
- C. **Manufactured by :** BioSource Europe 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

The BioSource C-PEP-EASIA is a solid phase Enzyme Amplified Sensitivity Immunoassay performed on a microtiterplate. A fixed amount of C-PEPTIDE labelled with horseradish peroxidase (HRP), compete with unlabelled C-PEPTIDE present in the calibrators, controls and samples for a limited number of binding sites on a specific antibody.

After 2 hours incubation at room temperature, the microtiterplate is washed to stop the competition reaction.

The chromogenic solution (TMB – H₂O₂) is added and incubated for 30 min. The reaction is stopped with the addition of Stop Solution and the microtiterplate is then read at the appropriate wavelength. The amount of substrate turnover is determined colourimetrically by measuring the absorbance, which is inversely proportional to the C-PEPTIDE concentration.

A calibration curve is plotted and C-PEPTIDE concentration in samples is determined by interpolation from the calibration curve.

V. REAGENTS PROVIDED

Reagents	96 tests Kit	Color Code	Reconstitution
 Microtiterplate with 96 anti C-PEPTIDE coated wells	96 wells	blue	Ready for use
AgHRPCONC Conjugate: HRP labelled C-PEPTIDE (HPLC grade) in TRIS-HCl buffer with bovine serum albumin and thymol	1 vial 0.2 ml	red	Dilute 100 x with conjugate buffer
CONJBUF Conjugate buffer : in TRIS-MALEATE buffer with bovine casein and thymol	1 vial 5.5 ml	red	Ready for use
CAL0 Zero calibrator in human serum and thymol	1 vial lyophilized	yellow	Add 2.0 ml distilled water
CALN Calibrator N = 1 to 5 (see exact values on vial labels) in human serum and thymol	5 vials lyophilized	yellow	Add 1.0 ml distilled water
WASHSOLNCONC Wash Solution (Tris-HCl)	1 vial 10 ml	brown	Dilute 200 x with distilled water (use a magnetic stirrer).
CONTROLN Controls - N = 1 or 2 in human serum with thymol	2 vials lyophilized	silver	Add 0.5 ml distilled water
CHROMTMB Chromogen TMB (Tetramethylbenzidine)	1 vial 25 ml	white	Ready for use
STOPSOLN Stop solution: HCl 1.0N	1 vial 25 ml	white	Ready for use

Note: 1. Use the zero calibrator for sample dilutions.
2. 1 ng of the calibrator is equivalent to 1 ng of the NIBSC IRR 84/510.

VI. SUPPLIES NOT PROVIDED

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

- High quality distilled water
- Pipettes for delivery of: 50 µl, 100 µl, 200 µl, 500 µl, 1 ml and 2 ml (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended)
- Vortex mixer
- Magnetic stirrer
- Horizontal microtiterplate shaker capable of 700 rpm ± 100 rpm
- Washer for microtiterplates
- Microtiterplate reader capable of reading at 450 nm and 650 nm (or 630 nm)

VII. REAGENT PREPARATION

- Calibrators** : Reconstitute the zero calibrator with 2.0 ml distilled water and the other calibrators with 1.0 ml distilled water.
- Controls** : Reconstitute the controls with 0.5 ml distilled water.
- Working C-Peptide-HRP Conjugate** : pipette 50 µl of the conjugate (concentrated C-Peptide-HRP solution) into 5 ml of conjugate buffer for 96 wells used. Extemporaneous preparation is recommended
- Working Wash solution** : Prepare an adequate volume of Working Wash solution by adding 199 volumes of distilled water to 1 volume of Wash Solution (200x). 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 kit components are stable until the expiry date, indicated on the vial label, if kept at 2 to 8°C.
- § Unused strips must be stored, at 2-8°C, in a sealed bag containing a desiccant until expiration date.
- § After reconstitution, calibrators and controls are stable for 1 week at 2 to 8°C. For longer storage periods, aliquots should be made and kept at -20°C. Avoid successive freeze thaw cycles.
- § The concentrated Wash Solution is stable at room temperature until expiration date.
- § Freshly prepared Working Wash solution should be used on the same day.
- § The Working C-PEPTIDE-HRP conjugate is stable for 18 hours at 2 to 8°C.
- § Alterations in physical appearance of kit reagents may indicate instability or deterioration.

IX. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- § Serum must be kept at 2 - 8°C.
- § If the test is not run within 24 hours, storage in aliquots at -20°C is recommended. Avoid subsequent freeze thaw cycles.
- § Prior to use, all samples should be at room temperature. It is recommended to vortex the samples before use.
- § Do not use haemolysed samples.

X. PROCEDURE

- 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.
Perform calibrators, controls and samples in duplicate. Vertical alignment is recommended.
Use a clean plastic container to prepare the Wash Solution.
In order to avoid cross-contamination, use a clean disposable pipette tip for the addition of each reagent and sample.
For the dispensing of the Chromogenic Solution and the Stop Solution avoid pipettes with metal parts.
High precision pipettes or automated pipetting equipment will improve the precision.
Respect the incubation times.
To avoid drift, the time between pipetting of the first calibrator and the last sample must be limited to the time mentioned in section XIII paragraph E (Time delay).
Prepare a calibration curve for each run, do not use data from previous runs.
Dispense the Chromogenic Solution within 15 minutes following the washing of the microtiterplate.
During incubation with Chromogenic Solution, avoid direct sunlight on the microtiterplate.

B. Procedure

1. Select the required number of strips for the run. The unused strips should be resealed in the bag with a desiccant and stored at 2-8°C.
2. Secure the strips into the holding frame.
3. Pipette 100 µl of each Calibrator, Control and Sample into the appropriate wells.
4. Pipette 50 µl of diluted anti-C-PEPTIDE-HRP conjugate into all the wells.
5. Incubate for 2 hours at room temperature on a horizontal shaker set at 700 rpm ± 100 rpm.
6. Aspirate the liquid from each well.
7. Wash the plate 3 times by:
§ dispensing 0.4 ml of Wash Solution into each well
§ aspirating the content of each well
8. Pipette 100 µl of the chromogenic solution into each well within 15 minutes following the washing step.
9. Incubate the microtiterplate for 30 minutes at room temperature on a horizontal shaker set at 700 rpm ± 100 rpm, avoid direct sunlight.
10. Pipette 100 µl of Stop Solution into each well.
11. Read the absorbencies at 450 nm (reference filter 630 nm or 650 nm) within 3 hours and calculate the results as described in section XI.

XI. CALCULATION OF RESULTS

1. Read the plate at 450 nm against a reference filter set at 650 nm (or 630 nm).
2. Calculate the mean of duplicate determinations.
3. Calculate for each calibrator, control and sample:

$$B/B_0(\%) = \frac{OD \text{ (Calibrator, Control or Sample)}}{OD \text{ (Zero Calibrator)}} \times 100$$

4. Using either linear-linear or semi-logarithmic graph paper, plot the (B/B₀(%)) values for each calibrator point as a function of the C-PEPTIDE concentration of each calibrator point. Reject obvious outliers.
5. 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.
6. By interpolation of the sample (B/B₀ (%)) values, determine the C-PEPTIDE concentrations of the samples from the calibration curve.

XII. TYPICAL DATA

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

C-PEP-EASIA		OD units
Calibrator	0 pmol/ml	1.796
	0.05 pmol/ml	1.513
	0.13 pmol/ml	1.216
	0.48 pmol/ml	0.786
	1.6 pmol/ml	0.404
	4.9 pmol/ml	0.196

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 above the average OD at zero binding, was 0.01 pmol/ml.

B. Specificity

The specificity was estimated by spiking a pool of C-Peptide serum with concentration lower than 0.03 pmol/ml with the following peptides :

Compound	Quantity added (ng/ml)	Cross-reaction (%)
- Biosynthetic human proinsulin	6.25	12.50
- Purified porcine proinsulin	50.00	ND
- Monkey C-Peptide	6.00	30.00
- Pork C-Peptide	6000.00	0.03
- Pork Insulin	18000.00	0.01
- Pork Glucagon	1000.00	ND
- Beef Glucagon	1000.00	ND

ND : No interference Detected

C. Precision

INTRA ASSAY				INTER ASSAY			
Serum	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)
A	20	0.19 ± 0.01	5.8	A	20	0.28 ± 0.03	9.2
B	20	0.59 ± 0.05	8.4	B	20	0.74 ± 0.05	7.2

SD : Standard Deviation; CV: Coefficient of variation

D. Accuracy

RECOVERY TEST

Sample	Added C-PEPTIDE (pmol/ml)	Recovered C-PEPTIDE (pmol/ml)	Recovery (%)
Serum	0.60	0.49	82
	1.20	1.16	97
	2.41	2.32	96
	4.12	4.02	98

DILUTION TEST

Sample	Dilution	Theoretical Concent. (pmol/ml)	Measured Concent. (pmol/ml)
Serum	1/1	-	4.13
	1/2	2.07	1.99
	1/4	1.03	1.07
	1/8	0.52	0.54
	1/16	0.26	0.24
	1/32	0.13	0.11

Samples were diluted with zero calibrator.

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. Controls that contain azide will interfere with the enzymatic reaction and cannot be used.
- § Acceptance criteria for the difference between the duplicate results of the samples should rely on Good Laboratory Practises
- § It is recommended that Controls be routinely assayed as unknown samples to measure assay variability. The performance of the assay should be monitored with quality control charts of the controls.
- § It is good practise to check visually the curve fit selected by the computer.

XV. REFERENCE INTERVALS

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

Identification	Number of subjects	Range pmol/ml
Diabetes type I	32	0.01 – 0.28
Diabetes type II	41	0.43 – 2.60
Normal	41	0.28 - 2.00

The ranges are based on 2.5% to 97.5% percentiles.

XVI. PRECAUTIONS AND WARNINGS

Safety

For *in vitro* diagnostic use only.

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 all reagents, Stop Solution contains HCl, the chromogen contains TMB and H₂O₂. In case of contact, wash thoroughly with water. 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 β-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-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

	CALIBRATORS (µl)	SAMPLE(S) CONTROLS (µl)
Calibrators (0-5) Controls, Samples Working Anti-C-PEPTIDE- HRP conjugate	100 - 50	- 100 50
Incubate for 2 hours at room temperature with continuous shaking at 700 rpm. Aspirate the contents of each well. Wash 3 times with 400 µl of Wash Solution and aspirate.		
Chromogenic Solution	100	100
Incubate for 30 min at room temperature with continuous shaking at 700 rpm.		
Stop Solution	100	100
Read on a microtiterplate reader and record the absorbance of each well at 450 nm (versus 630 or 650 nm)		

BioSource Catalogue Nr : KAP0401	P.I. Number : 1700522/en	Revision nr : 050211/1
-------------------------------------	-----------------------------	---------------------------

Vor Gebrauch des Kits lesen Sie bitte diese Packungsbeilage.

C-PEP-EASIA

I. VERWENDUNGSZWECK

Ein immunenzymetrisches Assay für die quantitative *in vitro* Bestimmung von humanem C-Peptid (C-PEPTIDE) in Serum.

II. ALLGEMEINE INFORMATION

- A. **Handelsbezeichnung :** BioSource C-PEP-EASIA Kit
- B. **Katalognummer :** KAP0401 : 96 Tests
- C. **Hergestellt von:** BioSource Europe 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 : orderingde@biosource.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

Der BioSource C-PEP-EASIA ist ein solid phase-Enzyme Amplified Sensitive Immunoassay (EASIA) im Mikrotiterplattenformat. Eine festgesetzte Menge an mit Meerrettich-Peroxidase (MRP) markiertem C-PEPTIDE konkurriert mit dem zu messenden, in der Probe oder in dem Kalibrator vorhandenen C-PEPTIDE um eine festgesetzte Menge an Antikörperbindungsstellen. Nach 2-stündiger Inkubation bei Raumtemperatur wird die Mikrotiterplatte gewaschen, um die Konkurrenzreaktion zu stoppen. Farblösung (TMB – H₂O₂) wird hinzugefügt und inkubiert. Die Reaktion wird durch Hinzufügen einer Stopplösung beendet und die Mikrotiterplatte wird bei adäquater Wellenlänge ausgewertet. Die Menge an Substratumsatz wird kolorimetrisch durch Messung der Absorption bestimmt, die proportional zur C-PEPTIDE-Konzentration ist. Eine Kalibrationskurve wird gedruckt und die C-PEPTIDE-Konzentrationen der Proben werden über Dosis Interpolation der Kalibrationskurve bestimmt.

V. MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenzien	96 Test Kit	Farb-code	Rekonstitution			
 Mikrotiterplatte mit 96 anti C-PEPTIDE-beschichtete Wells	96 Wells	Blau	gebrauchsfertig			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>HRP</td><td>CONC</td></tr></table> Konjugat: MRP beschriftete C-PEPTIDE (HPLC grade) in TRIS-HCl -Puffer mit Rinderserumalbumin und Thymol	Ag	HRP	CONC	1 Gefäß 0,2 ml	Rot	Mit Konjugatpuffer 100 x verdünnen
Ag	HRP	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONJ</td><td>BUF</td></tr></table> Konjugatpuffer: TRIS Maleat-puffer mit Rinder-casein und Thymol	CONJ	BUF	1 Gefäß 5,5 ml	Rot	gebrauchsfertig	
CONJ	BUF					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Null-Kalibrator in Humanserum und Thymol	CAL	0	1 Gefäß lyophilisiert	Gelb	2,0 ml dest. Wasser zugeben	
CAL	0					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibrator - N = 1 bis 5 (genaue Werte auf Gefäß-Etiketten) in Humanserum und Thymol	CAL	N	5 Gefäße lyophilisiert	Gelb	1,0 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	Braun	200 x mit dest. Wasser verdünnen (Magnetrührer benutzen).
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Kontrollen - N = 1 oder 2 Humanserum und Thymol	CONTROL	N	2 Gefäße lyophilisiert	Silber	0,5 ml dest. Wasser zugeben	
CONTROL	N					
<table border="1"><tr><td>CHROM</td><td>TMB</td></tr></table> Chromogenes TMB (Tetramethylbenzidin)	CHROM	TMB	1 Gefäß 25 ml	Weiß	gebrauchsfertig	
CHROM	TMB					
<table border="1"><tr><td>STOP</td><td>SOLN</td></tr></table> Stopplösung: HCl 1.0N	STOP	SOLN	1 Gefäß 25 ml	Weiß	gebrauchsfertig	
STOP	SOLN					

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

VI. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL

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

- Hochwertiges destilliertes Wasser
- Pipetten: 50 µl, 100 µl, 200 µl, 500 µl, 1 ml und 2 ml (Verwendung von Präzisionspipetten mit Einwegplastikspitzen wird empfohlen)
- Vortex Mixer
- Magnetrührer
- Horizontaler Schüttler für Mikrotiterplatte Kap. 700 rpm ± 100 rpm
- Waschgerät für Mikrotiterplatten
- Mikrotiterplatten-Lesegerät zur Auswertung bei 450 nm und 650 nm (oder 630 nm)

VII. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- A. Kalibratoren:** Rekonstituieren Sie den Null-Kalibrator mit 2,0 ml dest. Wasser, die anderen Kalibratoren mit 1,0 ml dest. Wasser.
- B. Kontrollen:** Rekonstituieren Sie die Kontrollen mit 0,5 ml dest. Wasser.
- C. Gebrauchsfertiges C-PEPTIDE-HRP-Konjugat:** Lösen Sie 50 µl des konzentrierten C-PEPTIDE-HRP-Konjugats in 5 ml Konjugatpuffer (für 96 Wells). Es wird empfohlen, die Lösung frisch zuzubereiten.
- D. Waschlösung:** Bereiten Sie ein angemessenes Volumen Waschlösung aus einem Anteil Waschlösung (200 x) mit 199 Anteilen dest. Wasser zu. Verwenden Sie einen Magnetrührer zum gleichmäßigen Durchmischen. Werfen Sie die nicht benutzte Waschlösung am Ende des Tages weg.

VIII. AUFBEWAHRUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- § Vor dem Öffnen oder der Rekonstitution sind die Reagenzien des Kits bis zum Ablaufdatum (Angaben auf Etikett) bei Lagerung bei 2°C bis 8°C stabil.
- § Nicht verwendete Mikrotiterstreifen sollten bis zum Verfallsdatum dicht in der Folie verschlossen mit Trockenmittel bei 2° bis 8°C gelagert werden.
- § Nach der Rekonstitution sind die Kalibratoren und Kontrollen bei 2°C bis 8°C 7 Tage stabil. Aliquots müssen bei längerer Aufbewahrung bei -20°C eingefroren werden, dann sind Sie 3 Monate haltbar. Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.
- § Die konzentrierte Waschlösung ist bei Raumtemperatur bis zum Verfallsdatum haltbar.
- § Frisch zubereitete Waschlösung sollte am selben Tag benutzt werden.
- § Das gebrauchsfertige C-PEPTIDE-HRP-Konjugat ist bei 2-8°C 18 Stunden lang stabil.
- § Veränderungen im Aussehen der Kitkomponenten können ein Anzeichen für Instabilität oder Zerfall sein.

IX. PROBENSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG

- § Serumproben müssen bei 2-8°C aufbewahrt werden.
- § Falls der Test nicht innerhalb von 24 Std. durchgeführt wird, ist die Aufbewahrung bei -20°C erforderlich.
- § Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.
- § Vor Gebrauch müssen alle Proben Raumtemperatur erreichen. Vortexmischen der Proben wird vor Gebrauch empfohlen.
- § Keine hämolytischen Proben benutzen.

X. DURCHFÜHRUNG

- A. Bemerkungen zur Durchführung**
Verwenden Sie den Kit oder dessen Komponenten nicht nach Ablaufdatum.
Vermischen Sie Materialien von unterschiedlichen Kit-Chargen nicht. Bringen Sie alle Reagenzien vor der Verwendung auf Raumtemperatur. Mischen Sie alle Reagenzien und Proben gründlich durch sanftes Schütteln oder Rühren.
Führen Sie Kalibratoren, Kontrollen und Proben doppelt aus. Vertikale Ausrichtung wird empfohlen.
Verwenden Sie zur Zubereitung der Waschlösung reinen Kunststoffbehälter.
Verwenden Sie saubere Einwegpipettenspitzen, um Kreuzkontamination zu vermeiden.
Verwenden Sie zur Pipettierung der Farblösung und der Stopplösung keine Pipetten mit Metallteilen.
Präzisionspipetten oder ein automatisches Pipettiersystem erhöhen die Präzision.
Achten Sie auf die Einhaltung der Inkubationszeiten.
Zur Vermeidung von Drift muss die Zeit zwischen dem Pipettieren des ersten Kalibrators und der letzten Probe auf die Zeit beschränkt werden, die in Abschnitt XIII Absatz E (Zeitverzögerung) erwähnt wird.
Erstellen Sie für jeden Durchlauf eine Kalibrationskurve, verwenden Sie nicht die Daten von früheren Durchläufen.
Pipettieren Sie die Farblösung innerhalb von 15 Minuten nach dem Waschen der Mikrotiterplatte.
Während der Inkubation mit der Farblösung ist die Mikrotiterplatte vor direktem Sonnenlicht zu schützen.

- B. Durchführung**
 - Wählen Sie die erforderliche Anzahl der Streifen für den Lauf aus. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen sollten wieder dicht in der Folie verschlossen mit Trockenmittel bei 2° bis 8°C gelagert werden.
 - Befestigen Sie die Streifen im Halterahmen.
 - Pipettieren Sie jeweils 100 µl Kalibrator, Kontrolle und Probe in die entsprechenden Wells.
 - Pipettieren Sie 50 µl C-PEPTIDE-MRP Konjugat in alle Wells.
 - Inkubieren Sie 2 Stunden bei Raumtemperatur auf horizontalem Schüttler bei 700 rpm ± 100 rpm.

- Saugen Sie die Flüssigkeit aus jedem Well ab.
- Waschen Sie die Platte dreimal:
§ pipettieren Sie 0,4 ml Waschlösung in jeden Well
§ saugen Sie der Inhalt jedes Wells ab
- Pipettieren Sie 100 µl der Chromogenes TMB innerhalb von 15 Minuten nach dem Waschvorgang in jeden Well.
- Inkubieren Sie die Mikrotiterplatte 30 Minuten bei Raumtemperatur auf horizontalem Schüttler bei 700 rpm ± 100 rpm; vermeiden Sie direktes Sonnenlicht.
- Pipettieren Sie 100 µl der Stopplösung in jeden Well.
- Werten Sie die Absorptionen bei 450 nm (Referenzfilter 630 nm oder 650 nm) innerhalb 3 Stunden aus und berechnen Sie die Resultate wie in Abschnitt XI beschrieben.

XI. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

- Werten Sie die Platte bei 450 nm gegen einen Referenzfilter auf 650 nm (oder 630 nm) aus.
- Berechnen Sie den Durchschnitt aus den Doppelbestimmungen.
- Berechnen Sie für jeden Kalibrator, jede Kontrolle und jede Probe:

$$B/B_0(\%) = \frac{OD \text{ (Kalibrator, Kontrolle oder Probe)}}{OD \text{ (Null Kalibrator)}} \times 100$$

- Verwenden Sie semi-logarithmisches oder doppelt-logarithmisches Millimeterpapier (über 3 Größenordnungen), drucken Sie die (B/B₀(%)) Werte für jeden Kalibratorpunkt als Funktion der C-PEPTIDE-Konzentration für jeden Kalibratorpunkt. Schließen Sie offensichtliche „Ausreißer“ aus.
- 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.
- Bestimmen Sie die C-PEPTIDE-Konzentrationen der Proben über Interpolation der Probenwerte (B/B₀(%)) der Kalibrationskurve.

XII. TYPISCHE WERTE

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

C-PEP-EASIA		OD Einheiten
Kalibrator	0 pmol/ml	1,796
	0,05 pmol/ml	1,513
	0,13 pmol/ml	1,216
	0,48 pmol/ml	0,786
	1,6 pmol/ml	0,404
	4,9 pmol/ml	0,196

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 0,01 pmol/ml.
- B. Spezifität**
Die Spezifität wurde dadurch bestimmt, dass einem Pool von C-Peptid-Serum mit einer Konzentration unter 0,03 pmol/ml die folgenden Peptide zugesetzt wurden:

Substanz	Zugesetzte Menge (ng/ml)	Kreuzreaktivität (%)
- Biosynthetisches humanes Proinsulin	6,25	12,50
- Gereinigtes Proinsulin vom Schwein	50,00	KF
- C-Peptid vom Affen	6,00	30,00
- C-Peptid vom Schwein	6000,00	0,03
- Insulin vom Schwein	18000,00	0,01
- Glucagon vom Schwein	1000,00	KF
- Glucagon vom Rind	1000,00	KF

KF: Keine Interferenz festgestellt

C. Präzision

INTRA ASSAY				INTER ASSAY			
Serum	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)
A	20	0,19 ± 0,01	5,8	A	20	0,28 ± 0,03	9,2
B	20	0,59 ± 0,05	8,4	B	20	0,74 ± 0,05	7,2

SD : Standardabweichung; CV: Variationskoeffizient

D. Genauigkeit

WIEDERFINDUNGSTEST			
Probe	Zugeg. C-PEPTIDE (pmol/ml)	Wiedergef. C-PEPTIDE (pmol/ml)	Wiedergefunden (%)
Serum	0,60	0,49	82
	1,20	1,16	97
	2,41	2,32	96
	4,12	4,02	98

VERDÜNNUNGSTEST			
Probe	Verdünn.	Theoret. Konz. (pmol/ml)	Gemess. Konz. (pmol/ml)
Serum	1/1	-	4,13
	1/2	2,07	1,99
	1/4	1,03	1,07
	1/8	0,52	0,54
	1/16	0,26	0,24
	1/32	0,13	0,11

Die Proben wurden mit Null-Kalibrator verdünnt.

XIV. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

- § Entsprechen die Ist-Werte nicht den auf den Fläschchen angegebenen Soll-Werten, können die Werte, ohne treffende Erklärung der Abweichungen, nicht weiterverarbeitet werden.
- § Falls zusätzliche Kontrollen erwünscht sind, kann jedes Labor seinen eigenen Pool herstellen, der in Aliquots eingefroren werden sollte. Kontrollen mit erhöhten Azidkonzentrationen stören die Enzymreaktion und können nicht verwendet werden.
- § Akzeptanzkriterien für die Differenz zwischen den Resultaten der Wiederholungstests anhand der Proben müssen auf Guter Laborpraxis beruhen.
- § Es wird empfohlen, Kontrollen im Assay routinemäßig wie unbekannte Proben zu behandeln, um die Assayvarianz zu messen. Die Leistung des Assay muss mit den Qualitätskontrollkarten der Kontrollen überprüft werden.
- § Es hat sich bewährt, die durch den Computer ausgewählte Kurvenanpassung visuell zu überprüfen.

XV. REFERENZ INTERVALLE

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

Identifikation	Anzahl Personen	Bereich (pmol/ml)
Typ-1-Diabetes	32	0,01 - 0,28
Typ-2-Diabetes	41	0,43 - 2,60
Normal	41	0,28 - 2,00

Bereich auf Basis der 2,5% und 97,5%

XVI. VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNUNGEN

Sicherheit
Nur für diagnostische Zwecke.
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 potenziell infektiös betrachtet werden. Vermeiden Sie Hautkontakt mit allen Reagenzien; Stopplösung enthält HCl, Farblösung enthält TMB und H₂O₂. Bei Kontakt gründlich mit Wasser spülen. Bitte rauchen, trinken, essen Sie nicht in Ihrem Arbeitsbereich, und verwenden Sie keine Kosmetika. Pipettieren Sie nicht mit dem Mund. Verwenden 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 β-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.ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS

	KALIBRATOREN (µl)	PROBE(N) KONTROLLEN (µl)
Kalibratoren (0-5) Proben, Kontrollen Gebrauchsfertiges C- PEPTIDE-MRP-Konjugat	100 - 50	- 100 50
2 Std. bei Raumtemperatur unter ständigem Schütteln bei 700 rpm inkubieren. Inhalt jedes Wells absaugen. Dreimal mit 400 µl Waschlösung waschen und absaugen.		
Chromogenes TMB	100	100
30 min. bei Raumtemperatur unter ständigem Schütteln bei 700 rpm inkubieren.		
Stopplösung	100	100
Auf einem Mikrotiterplatten-Lesegerät auswerten und Absorption jedes Wells bei 450 nm (gg. 630 oder 650 nm) vermerken.		

BioSource Katalognummer : KAP0401	Beipackzettelnnummer: 1700522/de	Nummer der Originalausgabe: 050211/1
--------------------------------------	-------------------------------------	--

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

C-PEP-EASIA

I. USO DEL KIT

Kit immunoenzimatico per la determinazione quantitativa in vitro del Peptide C umano (C-PEPTIDE) in siero.

II. INFORMAZIONI DI CARATTERE GENERALE

- A. Nome commerciale:** BioSource C-PEP-EASIA Kit
- B. Numero di catalogo:** KAP0401: 96 test
- C. Prodotto da:** BioSource Europe 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 biologica

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

BioSource C-PEP-EASIA è un immunosaggio a sensibilità amplificata a fase solida eseguito su piastre di microtitolazione. Una quantità definita di C-PEPTIDE marcato con horseradish perossidasi (HRP) compete con il C-PEPTIDE presente in calibratore e campioni per un numero definito di siti di un anticorpo. Dopo 2 ore di incubazione a temperatura ambiente, la piastra di microtitolazione viene lavata per arrestare la reazione di competizione. La soluzione cromogena (TMB – H₂O₂) viene aggiunta e incubata. La reazione viene interrotta con l’aggiunta di Soluzione di arresto; quindi la piastra di microtitolazione viene letta alla lunghezza d’onda adeguata. La quantità di turnover del substrato viene determinata colorimetricamente misurando l’assorbanza che è proporzionale alla concentrazione di C-PEPTIDE. La concentrazione di C-PEPTIDE nei campioni viene calcolata per interpolazione sulla curva calibratore.

V. REATTIVI FORNITI

Reattivi	Kit da 96 test	Codice colore	Volume di ricostituzione			
 Piastra di microtitolazione con 96 pozzetti rivestiti anti C-PEPTIDE	96 pozzetti	Blu	Pronte per l'uso			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>HRP</td><td>CONC</td></tr></table> Coniugato: marcato HRP C-PEPTIDE (grado HPLC) in tampone TRIS-HCl con BSA e timolo	Ag	HRP	CONC	1 flacone 0,2 ml	Rosso	Diluire 100 x con tampone coniugato
Ag	HRP	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONJ</td><td>BUF</td></tr></table> Buffer coniugato: tampone TRIS-maleato con caseina bovina e timolo	CONJ	BUF	1 flacone 5,5 ml	Rosso	Pronte per l'uso	
CONJ	BUF					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Calibratore zero in siero umano contenente timolo	CAL	0	1 flacone liofiliz.	Giallo	Aggiungere 2 ml di acqua distillata	
CAL	0					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibratore 1-5 (le concentrazioni esatte degli calibratore sono riportate sulle etichette dei flaconi), in siero umano contenente timolo	CAL	N	5 flaconi liofiliz.	Giallo	Aggiungere 1 ml di acqua distillata	
CAL	N					
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Tampone di lavaggio (TRIS HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 flacone 10 ml	Bruno	Diluire 200 x con acqua distillata usando un agitatore magnetico
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controlli: N = 1 o 2, in siero umano contenente timolo	CONTROL	N	2 flaconi liofiliz.	Argento	Aggiungere 0,5 ml di acqua distillata	
CONTROL	N					
<table border="1"><tr><td>CHROM</td><td>TMB</td></tr></table> Soluzione cromogena (tetrametilbenzidina)	CHROM	TMB	1 flacone 25 ml	bianco	gebrauchsfertig	
CHROM	TMB					
<table border="1"><tr><td>STOP</td><td>SOLN</td></tr></table> Soluzione di arresto: HCl 1,0N	STOP	SOLN	1 flacone 25 ml	bianco	gebrauchsfertig	
STOP	SOLN					

Note: 1. Usare lo standard zero per diluire i campioni.
2. 1 ng della preparazione calibratore è equivalente a 1 ng NIBSC IRR 84/510

VI. REATTIVI NON FORNITI

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

- Acqua distillata di qualità elevata
- Pipette per dispensare 50 µl, 100 µl, 200 µl, 500 µl, 1 ml e 2 ml (Si raccomanda di utilizzare pipette accurate con puntale in plastica monouso).
- Agitatore tipo vortex.
- Agitatore magnetico.
- Agitatore piastra di microtitolazione orizzontale capace di 700 rpm ± 100 rpm
- Lavatrice per piastra di microtitolazione

7. Lettore piastra di microtitolazione con una potenza di lettura di 450 nm e 650 nm (o 630 nm).

VII. PREPARAZIONE DEI REATTIVI

- Calibratore:** Ricostituire lo calibratore zero con 2 ml di acqua distillata e gli altri calibratore con 1 ml di acqua distillata.
- Controlli:** Ricostituire i controlli con 0,5 ml di acqua distillata.
- Coniugato C-PEPTIDE-HRP attivo:** diluire 50 µl del coniugato concentrato C-PEPTIDE-HRP in 5 ml buffer coniugato. Si raccomanda una preparazione estemporanea.
- Soluzione di lavoro del tampone di lavaggio:** Preparare la quantità necessaria di soluzione di lavoro del tampone di lavaggio aggiungendo 199 parti di acqua distillata ad una parte di tampone di lavaggio concentrato (200 x). 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..
- Le strisce reattive inutilizzate devono essere conservate a 2-8°C, in un contenitore sigillato che contenga un essiccante fino alla data di scadenza.
- Dopo ricostituzione, calibratore e controlli sono stabili 7 giorni a 2-8°C e, suddivisi in aliquote a –20°C per periodi più lunghi per 3 mesi. Evitare ripetuti cicli di congelamento-scongelo dei campioni.
- La soluzione di lavaggio concentrata è stabile a temperatura ambiente fino alla data di scadenza.
- La soluzione di lavoro del tampone di lavaggio deve essere preparata fresca ogni volta e usata nello stesso giorno della preparazione.
- Il coniugato attivo C-PEPTIDE-HRP è stabile per 18 ore a 2-8°C, evitare la luce solare diretta.
- 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 24 ore dal prelievo, si raccomanda di conservare i campioni a –20°C.
- Evitare ripetuti cicli di congelamento-scongelo dei campioni.
- Prima dell’impiego, tutti i campioni devono essere a temperatura ambiente. Si raccomanda di vortexare i campioni prima di utilizzarli.
- Non usare campioni emolizzati.

X. METODO DEL DOSAGGIO

- 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.
Eseguire calibratori, controlli e campioni in doppio. Si raccomanda l’allineamento verticale.
Utilizzare un contenitore di plastica pulito per preparare la soluzione di lavaggio.
Per evitare cross-contaminazioni, cambiare il puntale della pipetta ogni volta che si usi un nuovo reattivo o campione.
Per la distribuzione della soluzione cromogena e la soluzione di arresto evitare pipette con parti metalliche.
L’uso di pipette ben tarate e ripetibili o di sistemi di pipettamento automatici migliora la precisione del dosaggio.
Rispettare i tempi di incubazione.
Per evitare il drift, il tempo tra il pipettamento del primo calibratore e dell’ultimo campione deve essere limitato al tempo menzionato nella sezione XIII paragrafo E (Ritardo).
Allestire una curva di calibrazione per ogni seduta analitica, in quanto non è possibile utilizzare per un dosaggio curve di calibrazione di sedute analitiche precedenti.
Distribuzione della Soluzione cromogena entro 15 minuti dopo il lavaggio della piastra di microtitolazione.
Durante l’incubazione con la Soluzione di rivelazione evitare la luce diretta del sole sulla piastra di microtitolazione.
- Metodo del dosaggio**
 - Selezionare il numero di strisce reagenti necessario per il test. Le strisce reagenti inutilizzate devono essere risigillate nel contenitore con un essiccante e conservate a 2-8°C.
 - Assicurare le strisce reagenti nel telaio di supporto.
 - Pipettare 100 µl di ogni calibratore, controllo e campione nei pozzetti adeguati.

4.

Pipettare 50 µl di coniugato C-PEPTIDE-HRP in tutti i pozzetti.
5.

Incubare per 2 ore a temperatura ambiente su di un agitatore orizzontale regolato a 700 rpm ± 100 rpm.
6.

Aspirare il liquido da ogni pozzetto.
7.

Lavare la piastra 3 volte :
§ versando 0,4 ml di soluzione di lavaggio in ogni pozzetto
§ aspirando il contenuto di ogni pozzetto
8.

Pipettare 100 µl di soluzione cromogena in ogni pozzetto entro 15 minuti dalla fase di lavaggio.
9.

Incubare la piastra di microtitolazione per 30 minuti a temperatura ambiente su di un agitatore orizzontale regolato a 700 rpm ± 100 rpm; evitare la luce diretta del sole.
10.

Pipettare 100 µl di Soluzione di arresto in ogni pozzetto.
11.

Leggere le assorbanze a 450 nm (filtro di riferimento a 630 nm o 650 nm) entro 3 ore e calcolare i risultati come descritto nella sezione XI.

XI. CALCOLO DEI RISULTATI

1.

Leggere la piastra a 450 nm rispetto a un filtro di riferimento regolato a 650 nm (o 630 nm).
2.

Calcolare la media delle determinazioni in duplicato.
3.

Calcolare per ogni calibratore, controllo e campione:

$$B/B0\text{ (\%)} = \frac{OD\text{ (Calibrato re, Controllo e Campione)}}{OD\text{ (Calibrato re zero)}} \times 100$$

1.

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 calibrazione, scartare i valori palesemente discordanti.
2.

È possibile utilizzare un sistema di interpolazione dati automatizzato. Con un sistema automatico di interpolazione dati, utilizzare la curva a 4 parametri.
4.

Per interpolazione sulla curva di calibrazione dei rapporti di competizione di campioni e controlli, determinare le rispettive concentrazioni di C-PEPTIDE. .

XII. CARATTERISTICHE TIPICHE

I sotto riportati sono forniti a titolo di esempio e non devono essere utilizzati per calcolare le concentrazioni di insulina in campioni e controlli al posto della curva calibrazione, che va eseguita per ogni dosaggio.

C-PEP-EASIA		Unità OD
Calibratore	0 pmol/ml	1,796
	0,05 pmol/ml	1,513
	0,13 pmol/ml	1,216
	0,48 pmol/ml	0,786
	1,6 pmol/ml	0,404
	4,9 pmol/ml	0,196

XIII. CARATTERISTICHE E LIMITI DEL METODO

A. Sensibilità

Venti replicati dello standard zero sono stati dosati insieme agli altri standard. La sensibilità, calcolata come concentrazione apparente di un campione con OD pari alla media meno 2 deviazioni standard di 20 replicati dello standard zero, è risultata essere 0,01 pmol/ml.

B. Specificità

La specificità è stata stimata arricchendo un gruppo di sieri con Peptide C con concentrazioni inferiori a 0,03 pmol/ml con i seguenti peptidi :

Composto	Quantità aggiunte (ng/ml)	Cross-Reattività (%)
- Proinsulina umana di biosintesi	6,25	12,50
- Proinsulina suina purificata	50,00	ND
- Peptide C di scimmia	6,00	30,00
- Peptide C di maiale	6000,00	0,03
- Insulina di maiale	18000,00	0,01
- Glucagone di maiale	1000,00	ND
- Glucagone di manzo	1000,00	ND

ND : Nessuna interferenza rilevata

C. Precisione

INTRA SAGGIO				INTER SAGGIO			
Siero	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)	Siero	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)
A	20	0,19 ± 0,01	5,8	A	20	0,28 ± 0,03	9,2
B	20	0,59 ± 0,05	8,4	B	20	0,74 ± 0,05	7,2

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	-	4,13
	1/2	2,07	1,99
	1/4	1,03	1,07
	1/8	0,52	0,54
	1/16	0,26	0,24
	1/32	0,13	0,11

I campioni sono stati diluiti con calibratore zero.

TEST DI RECUPERO			
Campione	C-PEPTIDE aggiunta (pmol/ml)	C-PEPTIDE recuperata (pmol/ml)	Recupero (%)
Siero	0,60	0,49	82
	1,20	1,16	97
	2,41	2,32	96
	4,12	4,02	98

XIV. CONTROLLO DI QUALITA' 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 controlli che contengono azide interferiscono con la reazione enzimatica e quindi non possono essere utilizzati.
- §

I criteri di accettazione delle differenze tra i risultati in duplicato dei campioni devono basarsi sulla buona prassi di laboratorio.
- §

Si raccomanda di saggiare i controlli con regolarità come campioni sconosciuti per misurare la variabilità del saggio. La resa del saggio deve essere monitorata con tabelle di controllo qualità dei controlli.
- §

È buona pratica verificare visivamente il modello di curva selezionato dal computer.

XV. INTERVALLI DI RIFERIMENTO

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

Identificazione	Numero di soggetti	Intervallo pmol/ml)
Diabete tipo I	32	0,01 - 0,28
Diabete tipo II	41	0,43 - 2,60
Normale	41	0,28 - 2,00

Intervallo basati su 2,5% e 97,5% percentili

XVI. PRECAUZIONI PER L'USO

Sicurezza

Il kit è solo per uso diagnostico in vitro. 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 qualsiasi contatto della cute con tutti i reagenti. La Soluzione di arresto contiene HCl, il cromogeno contiene TMB e H₂O₂. In caso di contatto, lavare abbondantemente con acqua. Non fumare, bere, mangiare o applicare cosmetici nell'area di lavoro. Non pipettare i reattivi con pipette a bocca. Utilizzare indumenti protettivi e guanti monouso.

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 β-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-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. SCHEMA DEL DOSAGGIO

	CALIBRATORE (µl)	CAMPIONI CONTROLLI (µl)
Calibratore (0 - 5) Campioni, controlli Coniugato C-PEPTIDE-HRP attivo	100 - 50	- 100 50
Incubare per 2 ore a temperatura ambiente in agitazione a 700 rpm. Aspirare il contenuto di ogni pozzetto. Lavare 3 volte con 400 µl di soluzione di lavaggio e aspirare.		
Soluzione cromogena	100	100
Incubare per 30 minuti a temperatura ambiente in agitazione a 700 rpm.		
Soluzione di arresto	100	100
Leggere su un lettore per piastra da microtitolazione e registrare l'assorbanza di ogni pozzetto a 450 nm (rispetto a 630 o 650 nm)		

Numero di catalogo di BioSource : KAP0401	P.I. numero : 1700522/it	Revisione numero : 050211/1
--	-----------------------------	--------------------------------

Leer el protocolo completo antes de usar.

C-PEP-EASIA

I. INSTRUCCIONES DE USO

Enzimmunoensayo para la determinación cuantitativa in vitro del Peptido-C (C-PEPTIDE) humano en suero.

II. INFORMACIÓN GENERAL

- A. Nombre:** BioSource C-PEP-EASIA Kit
- B. Número de Catálogo:** KAP0401 : 96 tests
- C. Fabricado por:** BioSource Europe 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 prognosis 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

El BioSource C-PEP-EASIA es un “Enzyme Amplified Sensitivity Immunoassay” a fase solida efectuado con placas de microvaloración. Una cantidad fija de C-PEPTIDE marcada con peroxidasa de rábano picante (HRP) compite con el C-PEPTIDE a medir, presente en la muestra ó en el calibrador, por los puntos de unión del anticuerpo. Después de 2 horas de incubación a temperatura ambiente, la placa de microvaloración es lavada para parar la reacción de competición. La Solución cromógena (TMB – H₂O₂) es añadida y incubada durante 30 min. La reacción se para con la adición de la Solución de Parada y la placa de microvaloración se lee en la longitud de onda apropiada. La cantidad de recambio de sustrato es determinada de manera colorimétrica por la medición de la absorbancia, que es inversamente proporcional a la concentración de C-PEPTIDE. 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		96 tests Kit	Código de Color	Reconstitución
 Placa de microvaloración con pocillos recubiertos anti C-PEPTIDE		96 pocillos	azul	Listo para uso
Ag HRP CONC Conjugado: HRP marcada con C-PEPTIDE (grado HPLC) en tampón TRIS-HCl con albumen bovino y thymol.		1 vial 0,2 ml	rojo	Diluir 100 x con tampón de conjugado
CONJ BUF Tampón de Conjugado: tampón TRIS-maleato con caseína bovina y thymol.		1 vial 5,5 ml	rojo	Listo para uso
CAL 0 Calibrador cero en suero humano con thymol		1 vial liofilizados	amarillo	Añadir 2 ml de agua destilada
CAL N Calibradores N = 1 al 5 (mirar los valores exactos en las etiquetas) en suero humano con thymol		5 viales líoofilizados	amarillo	Añadir 1 ml de agua destilada
WASH SOLN CONC Solución de lavado (Tris-HCl)		1 vial 10 ml	marrón	Diluir 200 x con agua destilada (utilizar agitador magnético)
CONTROL N Controles - N = 1 o 2 en suero humano y thymol.		2 viales líoofilizados	plateado	Añadir 0,5 ml de agua destilada
CHROM TMB Solución cromógena TMB (Tetrametilbenzidine)		1 vial 25 ml	blanco	Listo para uso
STOP SOLN Solución de Parada: HCl 1,0N		1 vial 25 ml	blanco	Listo para uso

Nota: 1. Para diluciones de muestras utilizar Calibrador 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 50 µl, 100µl, 200 µl, 500, 1 ml µl y 2 ml (Se recomienda el uso de pipetas precisas con puntas desechables de plástico)
3. Vortex
4. Agitador magnético
5. Agitador de placas de microvaloración horizontal capaz de 700 rpm ± 100 rpm
6. Lavador de placas de microvaloración
7. Lector de placas de microvaloración capaz de leer a 450 nm y 650 nm (o 630 nm)

VII. PREPARACIÓN REACTIVOS

- A. **Calibradores:** Reconstituir el calibrador cero con 2,0 ml de agua destilada y otros calibradores con 1,0 ml de agua destilada.
- B. **Controles:** Reconstituir los controles con 0,5 ml de agua destilada.
- C. **Conjugado C-PEPTIDE-HRP de trabajo :** diluir 50 µl del conjugado C-PEPTIDE-HRP concentrado en 5 ml tampón de conjugado (96 tests). Se recomienda una preparación extemporánea.
- D. **Solución de lavado de trabajo:** Preparar el volumen necesario de Solución de lavado de trabajo mezclando 199 partes de agua destilada por 1 parte de Solución de lavado (200x). 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.
- § Las tiras sin usar deben ser guardadas a 2-8°C, en un saco sellado con un desicante hasta la fecha de caducidad.
- § Después de su reconstitución los calibradores y controles son estables durante una semana a 2-8°C. Para periodos más largos, alícuotar y guardar a –20°C. Evitar congelar y descongelar sucesivamente.
- § La Solución de Lavado concentrada es estable a temperatura ambiente hasta la fecha de caducidad.
- § La solución de lavado de trabajo recién preparada solo debe utilizarse en el mismo día.
- § El conjugado C-PEPTIDE-HRP de trabajo es estable durante 18 horas a 2-8°C, evitar la luz solar directa.
- § 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 24 hrs., almacenar las muestras a –20°.
- § Evitar congelar y descongelar sucesivamente.
- § Antes del uso cada muestra debe ser a temperatura ambiente. Vortexar cada muestra antes del uso.
- § No utilizar muestras hemolizadas.

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 municiosamente todos los reactivos y muestras, agitándolos o girándolos suavemente. Efectuar los calibradores, los controles y las muestras por duplicado. Se recomienda una alineación vertical. Utilizar un recipiente de plástico limpio para preparar la Solución de Lavamiento. Con el fin de evitar ninguna contaminación utilizar puntas de pipetas desechables y limpias para la adición de cada reactivo y muestra. Evitar pipetas con piezas de metal para dispensar la Solución cromógena Revelación y la Solución de Parada. El uso de pipetas de precisión ó equipamiento de dispensación automática mejorara la precisión. Respetar los tiempos de incubación. Con el fin de evitar anomalías, el tiempo de espera entre la dispensación del primero calibrador y de la última muestra debe ser limitado al tiempo mencionado a la sección XIII párrafo E (Tiempo de espera). Preparar la curva de calibración en cada ensayo, no utilizar los datos de un ensayo previo. Dispensar la Solución cromógena en menos de 15 minutos después del lavamiento de la placa de microvaloración. Durante la incubación con la Solución cromógena, evitar la luz solar directa sobre la placa de microvaloración.

B. Protocolo

1. Seleccionar el nombre requerido de tiras para el ensayo. Las tiras sin usar tienen que ser selladas en el saco con un desicante y guardadas a 2-8°C.
2. Fijar las tiras en el soporte.
3. Pipetar 100 µl de cada Calibrador, Control y Muestra en los pocillos apropiados.
4. Pipetar 50 µl del conjugado C-PEPTIDE-HRP en cada pocillo.
5. Incubar durante 2 horas a temperatura ambiente en un agitador horizontal a 700 rpm ± 100 rpm.
6. Aspirar el líquido de cada pocillo.
7. Lavar la placa 3 veces:
§ Dispensar 0,4 ml de la Solución de Lavado en cada pocillo
§ Aspirar el contenido de cada pocillo
8. Pipetar 100 µl de la solución cromógena en cada pocillo en menos de 15 minutos después de la fase de lavamiento.
9. Incubar la placa de microvaloración durante 30 minutos a temperatura ambiente en un agitador horizontal a 700 rpm ± 100 rpm, evitar la luz solar directa.
10. Pipetar 100 µl de la Solución de Parada en cada pocillo.
11. Leer las absorbancias a 450 nm (filtro de referencia 630 nm o 650 nm) en menos de 3 horas y calcular los resultados como descrito en la sección XI.

XI. CALCULO DE RESULTADOS

1. Leer la placa a 450 nm contra un filtro de referencia a 650 nm (o 630 nm).
2. Calcular el promedio de las determinaciones dobles.
3. Calcular para cada calibrador, control y muestra:
$$B/B0(\%) = \frac{OD \text{ (Calibrador, Controles ó Muestrar)}}{OD \text{ (Calibrador Cero)}} \times 100$$
4. Utilizando papel 3 ciclo semilogarítmico ó logit-log, representar los valores de (B/B0%) de cada calibrador frente a las contraciones del C-PEPTIDE de cada calibrador, rechazando los extremos claros.
5. 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”.
6. 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.

XII. EJEMPLO DE RESULTADOS

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

C-PEP-EASIA		Unidades OD
Calibrador	0 pmol/ml	1,796
	0,05 pmol/ml	1,513
	0,13 pmol/ml	1,216
	0,48 pmol/ml	0,786
	1,6 pmol/ml	0,404
	4,9 pmol/ml	0,196

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 la media de enlace del calibrador cero, fue de 0,01 pmol/ml.

B. Especificidad

La especificidad fue estimada por la adición de los siguientes peptidos a una serie de peptido-C con una concentración debajo de 0,03 pmol/ml:

Componente	Cantidad añadida (ng/ml)	Reacción-cruzada (%)
- Proinsulina humana biosintética	6,25	12,50
- Proinsulina porcina purificada	50,00	ND
- Peptido-C de mono	6,00	30,00
- Peptido-C de cerdo	6000,00	0,03
- Insulina de cerdo	18000,00	0,01
- Glucagon de cerdo	1000,00	ND
- Glucagon bovino	1000,00	ND

ND : No interferencia Detectada

C. Precisión

PRECISIÓN INTRA-ENSAYO				PRECISIÓN INTER-ENSAYO			
Suero	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)	Suero	N	<X> ± SD (pmol/ml)	CV (%)
A	20	0,19 ± 0,01	5,8	A	20	0,28 ± 0,03	9,2
B	20	0,59 ± 0,05	8,4	B	20	0,74 ± 0,05	7,2

SD : Desviación Estándar; CV: Coeficiente de Variación

D. Exactitud

TEST DILUCIÓN			
Muestra	Dilución	Concent. Teórica (pmol/ml)	Concent. Medida (pmol/ml)
Suero	1/1	-	4,13
	1/2	2,07	1,99
	1/4	1,03	1,07
	1/8	0,52	0,54
	1/16	0,26	0,24
	1/32	0,13	0,11

Las muestras fueron diluidas con calibrador cero.

TEST DE RECUPERACIÓN			
Muestra	C-PEPTIDE añadido (pmol/ml)	C-PEPTIDE Recuperado (pmol/ml)	Recuperado (%)
Suero	0,60	0,49	82
	1,20	1,16	97
	2,41	2,32	96
	4,12	4,02	98

XIV. CONTROL DE CALIDAD INTERNO

- Si los resultados obtenidos para el Control 1 y/ó 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. Controles que contienen azida interfieren con la reacción enzimática y no pueden ser utilizados.
- Los criterios de aceptación de la diferencia entre los resultados de los duplicados de las muestras se apoyan en las prácticas de laboratorio corrientes.
- Recomendamos que los controles sean probados como muestras desconocidas para medir la variabilidad del ensayo. El funcionamiento del ensayo tiene que ser controlado con cartas de control de calidad de los controles.
- Recomendamos un control visual de la curva seleccionada por el ordenador.

XV. INTERVALOS DE REFERENCIA

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

Identificación	Número de sujetos	Alcance pmol/ml)
Diabetes tipo I	32	0,01 – 0,28
Diabetes tipo II	41	0,43 – 2,60
Normal	41	0,28 - 2,00

Alcance basados en percentilos de 2,5% & 97,5%

XVI. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Seguridad

Para uso solo en diagnóstico in vitro. 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 sustancias animales deberán ser consideradas como potencialmente infecciosas.

Evitar contacto de la piel con los reactivos, la Solución de Parada contiene HCl, el cromógeno contiene TMB y H₂O₂. En caso de contacto lavar con abundante agua.

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 β-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 hyperlypocidemia 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. RESUMEN DEL PROTOCOLO

	CALIBRADORES (µl)	MUESTRA(S) CONTROL(S) (µl)
Calibradores (0 - 5) Muestras, controles Conjugado C-PEPTIDE- HRP de trabajo	100 - 50	- 100 50
Incubar durante 2 horas a temperatura ambiente con agitación continua a 700 rpm. Aspirar el contenido de cada pocillo. Lavar 3 veces con 400 µl de la Solución de Lavado y aspirar.		
Solución cromógena	100	100
Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente con agitación continua a 700 rpm		
Solución de parada	100	100
Leer con un lector de placas de microvaloración y notar la absorbancia de cada pocillo a 450 nm (versus 630 o 650 nm).		

BioSource Catalogo Nr: KAP0401	P.I. Numero: 1700522/es	Revisión nr: 050211/1
-----------------------------------	----------------------------	--------------------------



Διαβάστε ολόκληρο το πρωτόκολλο πριν από τη χρήση.

C-PEP-EASIA

I. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Ανοσοενζυμομετρικός προσδιορισμός για την *in vitro* ποσοτική μέτρηση του ανθρώπινου C-πεπτιδίου (C-Peptide) σε ορό.

II. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

- A. **Εμπορική ονομασία:** Κιτ C-PEP-EASIA της BioSource
- B. **Αριθμός καταλόγου:** KAP0401: 96 προσδιορισμοί
- Γ. **Κατασκευάζεται από την:** BioSource Europe 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 προϊνσουλίνη. Στα εκκριτικά κοκκία των β-κυττάρων, η προϊνσουλίνη διασπάται σε ινσουλίνη και σε ένα πεπτίδιο 31 αμινοξέων, το οποίο ονομάζεται συνδετικό πεπτίδιο ή C-πεπτίδιο. Η ινσουλίνη και το C-πεπτίδιο 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

Ο προσδιορισμός C-PEP-EASIA της BioSource είναι ένας ενζυμικός ανοσοπροσδιορισμός ενισχυμένης ευαισθησίας, στερεής φάσης, ο οποίος εκτελείται σε πλάκες μικροτιτλοδότησης. Μια καθορισμένη ποσότητα C-πεπτιδίου σημασμένου με ραφανδική υπεροξειδάση (HRP), ανταγωνίζεται το μη σημασμένο C-πεπτίδιο που υπάρχει στους βαθμονομητές, τους ορούς ελέγχου και τα δείγματα για ένα περιορισμένο αριθμό θέσεων δέσμευσης σε ένα ειδικό αντίσωμα. Μετά από επώαση 2 ωρών σε θερμοκρασία δωματίου, λαμβάνει χώρα έκπλυση της πλάκας μικροτιτλοδότησης για να τερματιστεί η αντίδραση ανταγωνισμού. Προστίθεται χρωμογόνο διάλυμα (TMB – H₂O₂) και επωάζεται για 30 λεπτά. Η αντίδραση σταματά με την προσθήκη ανασχετικού διαλύματος και στη συνέχεια γίνεται ανάγνωση της πλάκας μικροτιτλοδότησης στο κατάλληλο μήκος κύματος. Η ποσότητα μετατροπής του υποστρώματος καθορίζεται χρωματομετρικά μετρώντας την απορρόφηση, η οποία είναι αντιστρόφως ανάλογη προς τη συγκέντρωση του C-πεπτιδίου. Παριστάνεται γραφικά μια καμπύλη βαθμονόμησης και προσδιορίζεται η συγκέντρωση της C-PEPTIDE στα δείγματα με αναγωγή από την καμπύλη βαθμονόμησης.

V. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Αντιδραστήρια	Κιτ 96 προσδιορι- σμών	Χρωμα- τικός κωδικός	Ανασύσταση
 Πλάκα μικροτιτλοδό- τησης με 96 υποδοχές επιστρωμένες με αντι C-PEPTIDE	96 υποδοχές	μπλε	Έτοιμο για χρήση
Ag HRP CONC Σύζευγμα: Αντι-C-PEPTIDE (μονοκλωνικά αντισώματα) σημασμένα με HRP σε ρυθμιστικό διάλυμα TRIS-HCl με βόεια ορολευκοματίνη και θυμόλη	1 φιαλίδιο 0,2 ml	κόκκινο	Αραιώστε 100 x με ρυθμιστικό διάλυμα συζεύγματος
CONJ BUF Ρυθμιστικό διάλυμα συζεύγματος: σε ρυθμιστικό διάλυμα TRIS- μυλικών με βόεια καζεΐνη και θυμόλη	1 φιαλίδιο 5,5 ml	κόκκινο	Έτοιμο για χρήση
CAL 0 Μηδενικός βαθμονομητής σε ανθρώπινο ορό και θυμόλη	1 φιαλίδιο λυοφιλοποι- ημένο	κίτρινο	Προσθέστε 2,0 ml απεσταγμένου νερού
CAL N Βαθμονομητής N = 1 έως 5 (δείτε τις ακριβείς τιμές πάνω στις ετικέτες των φιαλιδίων) σε ανθρώπινο ορό και θυμόλη	5 φιαλίδια λυοφιλοποι- ημένο	κίτρινο	Προσθέστε 1,0 ml απεσταγμένου νερού
WASH SOLN CONC Διάλυμα πλύσης (Tris-HCl)	1 φιαλίδιο 10 ml	καφέ	Αραιώστε 200 x με απεσταγμένο νερό (χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα).
CONTROL N Οροί ελέγχου - N = 1 ή 2 σε ανθρώπινο ορό με θυμόλη	2 φιαλίδια λυοφιλοποι- ημένο	ασημί	Προσθέστε 0,5 ml απεσταγμένου νερού
CHROM TMB Χρωμογόνος TMB (τετραμεθυλβενζυδίνη)	1 φιαλίδιο 25 ml	λευκό	Έτοιμο για χρήση
STOP SOLN Ανασχετικό αντιδραστήριο: HCl 1,0N	1 φιαλίδιο 25 ml	λευκό	Έτοιμο για χρήση

Σημείωση: 1. Χρησιμοποιείτε το μηδενικό βαθμονομητή για αραιώσεις δειγμάτων.
2. 1 ng του παρασκευάσματος του 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:
- Απεσταγμένο νερό υψηλής ποιότητας
 - Πιπέτες για διανομή: 50 μl, 100 μl, 200 μl, 500 μl, 1 ml και 2 ml (συνιστάται η χρήση πιπετών ακριβείας με αναλώσιμα πλαστικά ρύγχη)
 - Αναμεικτης στροβιλισμού
 - Μαγνητικός αναδευτήρας
 - Οριζόντια συσκευή ανάδευσης πλακών μικροτιτλοδότησης με δυνατότητα 700 rpm ± 100 rpm
 - Συσκευή πλύσης για πλάκες μικροτιτλοδότησης
 - Συσκευή ανάγνωσης πλακών μικροτιτλοδότησης με δυνατότητα ανάγνωσης στα 450 nm και 650 nm (ή 630 nm)

VII. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

- A. **Βαθμονομητές:** Ανασυστήστε το μηδενικό βαθμονομητή με 2,0 ml απεσταγμένου νερού και άλλους βαθμονομητές με 1,0 ml απεσταγμένου νερού.
- B. **Οροί ελέγχου:** Ανασυστήστε τους ορούς ελέγχου με 0,5 ml απεσταγμένου νερού.
- C. **Σύζευγμα εργασίας C-πεπτιδίου-HRP:** Διανείμετε με πιπέτα 50 μl από το σύζευγμα (συμπυκνωμένο διάλυμα C-πεπτιδίου-HRP) σε 5 ml ρυθμιστικού διαλύματος συζεύγματος για τις 96 υποδοχές που χρησιμοποιούνται. Συνιστάται αυτόσχέδια προετοιμασία.
- Γ. **Διάλυμα πλύσης εργασίας:** Προετοιμάστε επαρκή όγκο διαλύματος πλύσης εργασίας με προσθήκη 199 όγκων απεσταγμένου νερού σε 1 όγκο διαλύματος πλύσης (200x). 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 του φιαλιδίου, εφόσον διατηρούνται σε θερμοκρασία 2 έως 8° C.
- § Οι μη χρησιμοποιημένες ταινίες πρέπει να φυλάσσονται στους 2-8° C, σε σφραγισμένη σακούλα που περιέχει αποξηραντικό παράγοντα, μέχρι την ημερομηνία λήξης.
- § Μετά την ανασύσταση, οι βαθμονομητές και οι οροί ελέγχου παραμένουν σταθεροί για μία εβδομάδα σε θερμοκρασία 2 έως 8° C. Για μεγαλύτερες περιόδους φύλαξης, πρέπει να σχηματίζονται κλάσματα/δόσεις μιας χρήσης και να διατηρούνται στους -20° C. Αποφύγετε τους επανειλημμένους κύκλους απόψυξης-κατάψυξης.
- § Το συμπυκνωμένο διάλυμα πλύσης είναι σταθερό σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι την ημερομηνία λήξης.
- § Φρέσκο, παρασκευασμένο διάλυμα πλύσης εργασίας θα πρέπει να χρησιμοποιείται την ίδια ημέρα.
- § Το σύζευγμα εργασίας C-πεπτιδίου-HRP παραμένει σταθερό επί 18 ώρες σε θερμοκρασία 2 έως 8° C.
- § Τυχόν μεταβολές της φυσικής εμφάνισης των αντιδραστηρίων του κιτ ενδέχεται να υποδηλώνουν αστάθεια ή αλλοίωση.

IX. ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- § Ο ορός πρέπει να φυλάσσεται σε θερμοκρασία 2-8° C.
- § Εάν η εξέταση δεν πραγματοποιηθεί εντός 24 ωρών, συνιστάται η φύλαξη σε κλάσματα/δόσεις μιας χρήσης στους -20° C. Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.
- § Φέρετε όλα τα δείγματα σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Συνιστάται η ανάμειξη των δειγμάτων σε συσκευή στροβιλισμού πριν από τη χρήση.
- § Μην χρησιμοποιείτε δείγματα που έχουν υποστεί αιμόλυση.

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. Αναμείξτε καλά όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα με απαλή ανακίνηση ή ανάδευση. Εκτελέστε εις διπλούν ανάληψη των βαθμονομητών, των ορών ελέγχου και των δειγμάτων. Συνιστάται κάθετη ευθυγράμμιση. Χρησιμοποιήστε ένα καθαρό, πλαστικό δοχείο για να ετοιμάσετε το διάλυμα πλύσης. Χρησιμοποιείτε ένα καθαρό αναλώσιμο ρύγχος πιπέτας για την προσθήκη κάθε διαφορετικού αντιδραστηρίου και δείγματος προκειμένου να αποφύγετε την επιμόλυνση.

Για τη διανομή του χρωμογόνου διαλύματος και του ανασχετικού διαλύματος αποφύγετε πιπέτες με μεταλλικά μέρη. Η ακρίβεια βελτιώνεται με χρήση πιπετών υψηλής ακρίβειας ή αυτοματοποιημένου εξοπλισμού διανομής με πιπέτες. Τηρείτε τους χρόνους επώασης. Για να αποφύγετε τη μετατόπιση, ο χρόνος μεταξύ της διανομής με πιπέτα του πρώτου βαθμονομητή και του τελευταίου δείγματος δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερος από 30 λεπτά. Προετοιμάστε μια καμπύλη βαθμονόμησης για κάθε ανάλυση και μη χρησιμοποιείτε δεδομένα από προηγούμενες αναλύσεις. Διανείμετε το χρωμογόνο διάλυμα εντός 15 λεπτών μετά την πλύση της πλάκας μικροτιτλοδότησης. Κατά τη διάρκεια της επώασης με το χρωμογόνο διάλυμα, αποφύγετε την άμεση έκθεση της πλάκας μικροτιτλοδότησης στην ηλιακή ακτινοβολία.

B. Διαδικασία

- Επιλέξτε τον απαιτούμενο αριθμό ταινιών για την ανάλυση. Οι μη χρησιμοποιημένες ταινίες πρέπει να ξανασφραγιστούν μέσα στη σακούλα με τον αποξηραντικό παράγοντα και να φυλαχτούν σε θερμοκρασία 2-8° C.
- Ασφαλίστε τις ταινίες μέσα στο πλαίσιο στήριξης.
- Διανείμετε με πιπέτα 100 μl από κάθε βαθμονομητή, ορό ελέγχου και δείγμα στις κατάλληλες υποδοχές.
- Διανείμετε με πιπέτα 50 μl συζεύγματος αντι-C-PEPTIDE μέσα σε όλες τις υποδοχές.
- Επώστε επί 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου σε οριζόντιο αναδευτήρα ρυθμισμένο στις 700 rpm ± 100 rpm.
- Αναρροφήστε το υγρό από κάθε υποδοχή.
- Πλύνετε την πλάκα 3 φορές:
§ διανέμοντας 0,4 ml διαλύματος πλύσης σε κάθε υποδοχή.
§ αναρροφώντας το περιεχόμενο κάθε υποδοχής.
- Διανείμετε με πιπέτα 100 μl χρωμογόνου διαλύματος μέσα σε κάθε υποδοχή εντός 15 λεπτών από το βήμα της πλύσης.
- Επώστε την πλάκα μικροτιτλοδότησης επί 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου σε οριζόντιο αναδευτήρα στις 700 rpm ± 100 rpm, αποφύγετε την άμεση έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία.
- Διανείμετε με πιπέτα 100 μl ανασχετικού αντιδραστήριου σε κάθε υποδοχή.
- Κάντε ανάγνωση των απορροφήσεων στα 450 nm (φίλτρο αναφοράς 630 nm ή 650 nm) εντός 3 ωρών και υπολογίστε τα αποτελέσματα όπως περιγράφεται στην ενότητα XI.

XI. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

- Κάντε ανάγνωση της πλάκας στα 450 nm έναντι ενός φίλτρου αναφοράς που ρυθμίζεται στα 650 nm (ή τα 630 nm).
- Υπολογίστε τη μέση τιμή των διπλών προσδιορισμών.
- Υπολογίστε για κάθε βαθμονομητή, ορό ελέγχου και δείγμα:

$$B/B0(\%) = \frac{OD \text{ (Calibrator, Control or Sample)}}{OD \text{ (Zero Calibrator)}} \times 100$$

- Με χρήση γραμμικού-γραμμικού ή ημιλογαριθμικού χαρτιού γραφήματος, παραστήστε γραφικά τις τιμές (B/B0(%)) για κάθε σημείο βαθμονομητή ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του C-πεπτιδίου 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 του C-πεπτιδίου των δειγμάτων από την καμπύλη βαθμονόμησης.

XII. ΤΥΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

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

C-PEP-EASIA		Μονάδες OD
Βαθμονομητής	0 pmol/ml	1,796
	0,05 pmol/ml	1,513
	0,13 pmol/ml	1,216
	0,48 pmol/ml	0,786
	1,6 pmol/ml	0,404
	4,9 pmol/ml	0,196

XIII. ΑΠΟΛΟΣΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

A. Όριο ανίχνευσης

Μετρήθηκαν είκοσι μηδενικοί βαθμονομητές μαζί με ένα σύνολο άλλων βαθμονομητών. Το όριο ανίχνευσης, οριζόμενο ως η φαινομενική συγκέντρωση δύο τυπικών αποκλίσεων πάνω από τις μέσες μετρήσεις OD σε μηδενική δέσμευση, ήταν 0,01 pmol/ml.

B. Ειδικότητα

Η ειδικότητα υπολογίστηκε με τον εμβολιασμό ενός μείγματος ορού C-πεπτιδίου με συγκέντρωση μικρότερη από 0,03 ng/ml με τα ακόλουθα πεπτίδια:

Ένωση	Προσθεθείσα ποσότητα (ng/ml)	Διασταυρούμενη αντίδραση (%)
- Βιοσυνθετική ανθρώπινη προίνσουλίνη	6,25	12,50
- Κεκαθαρμένη χοίρειος προΐνσουλίνη	50,00	Μη ανιχν.
- C-πεπτίδιο μαϊμούς	6,00	30,00
- C-πεπτίδιο χοίρου	6000,00	0,03
- Ινσουλίνη χοίρου	18000,00	0,01
- Γλυκαγόνο χοίρου	1000,00	Μη ανιχν.
- Βόειο γλυκαγόνο	1000,00	Μη ανιχν.

Μη ανιχν.: Δεν ανιχνεύθηκαν επιδράσεις

Γ. Ακρίβεια

ΓΙΑ ΤΟΝ ΙΔΙΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ				ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΩΝ			
Ορός	N	<X> ± T.A. (pmol/ml)	Σ.Α. (%)	Ορός	N	<X> ± T.A. (pmol/ml)	Σ.Α. (%)
A	20	0,19 ± 0,01	5,8	A	20	0,28 ± 0,03	9,2
B	20	0,59 ± 0,05	8,4	B	20	0,74 ± 0,05	7,2

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

Δ. Ορθότητα

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ

Δείγμα	Προσθεθείσα C-PEPTIDE (pmol/ml)	Ανακτηθείσα C-PEPTIDE (pmol/ml)	Ανάκτηση (%)
Ορός	0,60	0,49	82
	1,20	1,16	97
	2,41	2,32	96
	4,12	4,02	98

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΡΑΙΩΣΗΣ

Δείγμα	Αραίωση	Θεωρητική συγκέντρωση (μIU/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (μIU/ml)
Ορός	1/1	-	4,13
	1/2	2,07	1,99
	1/4	1,03	1,07
	1/8	0,52	0,54
	1/16	0,26	0,24
	1/32	0,13	0,11

Τα δείγματα αραιώθηκαν με μηδενικό βαθμονομητή.

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. Οροί ελέγχου που περιέχουν αζίδιο θα επιδράσουν στην ενζυμική αντίδραση και δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν.

- § Τα κριτήρια αποδοχής για τη διαφορά μεταξύ των διπλών αποτελεσμάτων των δειγμάτων θα πρέπει να βασίζονται σε ορθές εργαστηριακές πρακτικές.
- § Συνιστάται οι οροί ελέγχου να υποβάλλονται σε προσδιορισμό τακτικά ως άγνωστα δείγματα για να μετράται η μεταβλητότητα του προσδιορισμού. Η απόδοση του προσδιορισμού πρέπει να παρακολουθείται με διαγράμματα ποιοτικού ελέγχου των ορών ελέγχου.
- § Είναι καλό το να ελέγχετε οπτικά την προσαρμογή της καμπύλης που επιλέχθηκε από τον υπολογιστή.

XV. TIMEΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

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

Ταυτοποίηση	Αριθμός ατόμων	Πεδίο τιμών (pmol/ml)
Διαβήτη τύπου Ι	32	0,01 – 0,28
Διαβήτη τύπου ΙΙ	41	0,43 – 2,60
Φυσιολογικό	41	0,28 - 2,00

Τα πεδία τιμών βασίζονται σε εκατοστημύρια από 2,5% έως 97,5%.

XVI. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

Ασφαλείας

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

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.

Αποφύγετε κάθε επαφή με το δέρμα με όλα τα αντιδραστήρια. Το ανασχετικό διάλυμα περιέχει HCl, το χρωμογόνο διάλυμα περιέχει TMB και H₂O₂. Σε περίπτωση επαφής, πλύνετε σχολαστικά με νερό.

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

- 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 Reviewvs in Clinial 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. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

	ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΕΣ (μl)	ΔΕΙΓΜΑ(ΤΑ) ΟΡΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ (μl)
Βαθμονομητές (0-5) Δείγματα, οροί ελέγχου Σύζευγμα αντι-C-PEPTIDE-HRP	100 - 50	- 100 50
Επωάστε επί 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου με συνεχή ανάδευση στις 700 rpm. Αναρροφήστε το περιεχόμενο κάθε υποδοχής. Πλύνετε 3 φορές με 400 ml διαλύματος πλύσης και αναρροφήστε.		
Χρωμογόνο διάλυμα	100	100
Επωάστε επί 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου με συνεχή ανάδευση στις 700 rpm).		
Ανασχετικό διάλυμα	100	100
Κάντε ανάγνωση σε συσκευή ανάγνωσης πλακών μικροτιτλοδότησης και καταγράψτε την απορρόφηση κάθε υποδοχής στα 450 nm (έναντι 630 ή 650 nm)		

Αρ. καταλόγου BioSource: KAP0401	Αριθμός P.I.: 1700522/el	Αρ. αναθεώρησης: 050211/1
-------------------------------------	-----------------------------	------------------------------

	<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 jusqu'à
	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	Calibrateur zéro
	Calibrator #	Calibrateur #
	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'Elution
	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	Micro-plaque 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

	<u>Gebruikte symbolen</u>	<u>Gebrauchte Symbolen</u>
	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	Immunadsorbens
	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 Conjugaat	HRP Konjugat
	HRP Conjugaat	HRP Konjugat
	HRP Conjugaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	HRP Conjugaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	Conjugaat buffer	Konjugatpuffer
	Chromogene TMB geconcentreerd	Chromogenes TMB Konzentrat
	Chromogene Oplossing TMB	Farblösung TMB
	Substraatbuffer	Substratpuffer
	Stopoplossing	Stopplösung
	Incubatieserum	Inkubationsserum
	Buffer	Puffer
	AP Conjugaat	AP Konjugat
	Substraat PNPP	Substraat PNPP
	Geconcentreerd Biotine conjugaat	Biotin-Konjugat-Konzentrat
	Geconcentreerd Avidine-HRP conjugaat	Avidin-HRP-Konzentrat
	Assay buffer	Assaypuffer

	<u>Simboli utilizzati</u>	<u>Símbolos utilizados</u>
	Consultare le istruzioni per l'uso	Consultar las instrucciones de uso
	Limitazioni di temperatura	Limitación de temperatura
	Utilizzare entro	Fecha de caducidad
LOT	Numero di lotto	Código de lote
REF	Numero di catalogo	Número de catálogo
CONTROL	Controllo	Control
I V D	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Fabbricante	Fabricante
	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos
WASH SOLN CONC	Tampone di lavaggio concentrato	Solución de lavado concentrada
CAL 0	Calibratore zero	Calibrador cero
CAL N	Standard #	Calibrador #
CONTROL N	Controllo #	Control #
Ag 125I	Marcato	Trazador
Ab 125I	Marcato	Trazador
Ag 125I CONC	Marcato concentrato	Trazador concentrada
Ab 125I CONC	Marcato concentrato	Trazador concentrada
	Provette	Tubos
INC BUF	Tampone incubazione	Tampón de incubación
ACETONITRILE	Acetonitrile	Acetonitrilo
SERUM	Siero	Suero
DIL SPE	Diluente campione	Diluyente de Muestra
DIL BUF	Tampone diluizione	Tampón de dilución
ANTISERUM	Antisiero	Antisuero
IMMUNOADSORBENT	Immunoassorbente	Inmunoadsorbente
DIL CAL	Diluente calibratore	Diluyente de calibrador
REC SOLN	Soluzione di ricostituzione	Solución de Reconstitución
PEG	Polietilenglicole	Glicol Polietileno
EXTR SOLN	Soluzione di estrazione	Solución de extracción
ELU SOLN	Soluzione di eluizione	Solución de elución
GEL	Cartucce di silice bond elut	Cartuchos Bond Elut Silica
PRE SOLN	Soluzione di pretrattamento	Solución de Pre-tratamiento
NEUTR SOLN	Soluzione di neutralizzazione	Solución de Neutralización
TRACEUR BUF	Tracer Buffer	Tampón de trazador
	Piastra di microtitolazione	Placa de microvaloración
Ab HRP	HRP Coniugato	HRP Conjugado
Ag HRP	HRP Coniugato	HRP Conjugado
Ab HRP CONC	HRP Coniugato concentrato	HRP Conjugado concentrada
Ag HRP CONC	HRP Coniugato concentrato	HRP Conjugado concentrada
CONJ BUF	Buffer coniugato	Tampón de Conjugado
CHROM TMB CONC	Cromogena TMB concentrato	Cromógena TMB concentrada
CHROM TMB	Soluzione cromogena TMB	Solución Cromógena TMB
SUB BUF	Tampone substrato	Tampón de sustrato
STOP SOLN	Soluzione di arresto	Solución de Parada
INC SER	Incubazione con siero	Suero de Incubación
BUF	Buffer	Tampón
Ab AP	AP Coniugato	AP Conjugado
SUB PNPP	Substrato PNPP	Sustrato PNPP
BIOT CONJ CONC	Concentrato coniugato con biotina	Concentrado de conjugado de biotina
AVID HRP CONC	Concentrato avidina HRP	Concentrado avidina-HRP
ASS BUF	Soluzione tampone per test	Tampón de ensayo

	<u>Símbolos utilizados</u>	<u>Använda symboler</u>
	Consulte instruções de utilização	Läs instruktionerna före användning
	Temperatura de conservação	Förvaringstemperatur
	Utilizar antes de	Används av
LOT	Código de lote	Lotnummer
REF	Número de catálogo	Katalognummer
CONTROL	Controlo	Kontroll
I V D	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro	In vitro diagnostiskt kit
	Fabricante	Tillverkare
	Conteúdo suficiente para <n> testes	Innehållet räcker till <n> prover
WASH SOLN CONC	Solução de lavagem concentrada	Tvättlösning, koncentrerad
CAL 0	Calibrador zero	Nollkalibrerare
CAL N	Calibrador #	Kalibrator #
CONTROL N	Controlo #	Kontroll #
Ag 125I	Marcador	Radioisotop, antigen
Ab 125I	Marcador	Radioisotop, antikropp
Ag 125I CONC	Marcador concentrada	Radioisotop, antigen koncentrerad
Ab 125I CONC	Marcador concentrada	Radioisotop, antikropp koncentrerad
	Tubos	Rör
INC BUF	Tampão de incubação	Inkuberingsbuffert
ACETONITRILE	Acetonitrilo	Acetonitril
SERUM	Soro	Serum
DIL SPE	Diluidor de espécimes	Spädningsbuffert för prover
DIL BUF	Tampão de diluição	Spädningsbuffert
ANTISERUM	Anti-soro	Antiserum
IMMUNOADSORBENT	Imunoadsorvente	Immunoadsorberare
DIL CAL	Diluyente do calibrador	Kalibratordiluent
REC SOLN	Solução de Reconstituição	Rekonstitutionslösning
PEG	Polietileno-glicol	Polyetylen glykol
EXTR SOLN	Solução de Extração	Extraktionslösning
ELU SOLN	Solução de Eluição	Elueringslösning
GEL	Cartuchos de sílica Bond Elut	Silikonpatroner för elueringsbindning
PRE SOLN	Solução de pré-tratamento	Förbehandlingslösning
NEUTR SOLN	Solução de neutralização	Neutraliseringslösning
TRACEUR BUF	Tampão Marcador	Tracerbuffert
	Placa de micro titulação	Microtiterplatta
Ab HRP	HRP Conjugação	HRP-konjugat
Ag HRP	HRP Conjugação	HRP-konjugat
Ab HRP CONC	HRP Conjugação concentrada	HRP-konjugat-koncentrat
Ag HRP CONC	HRP Conjugação concentrada	HRP-konjugat-koncentrat
CONJ BUF	Conjuge o tampão	Konjugatbuffert
CHROM TMB CONC	Cromogénica TMB concentrada	Kromogeniskt TMB-koncentrat
CHROM TMB	Solução Cromogénica TMB	Kromogenisk TMB-lösning
SUB BUF	Tampão de substrato	Substratbuffert
STOP SOLN	Solução de Paragem	Stopplösning
INC SER	Soro de incubação	Inkubationsserum
BUF	Tampão	Buffert
Ab AP	AP Conjugação	AP-konjugat
SUB PNPP	Substrato PNPP	Substrat-PNPP
BIOT CONJ CONC	Concentrado conjugado de biotina	Biotinkonjugat koncentrat
AVID HRP CONC	Concentrado HRP de avidina	Avidin HRP-koncentrat
ASS BUF	Tampão de ensaio	Provbuffert

	<u>Επεξήγηση συμβόλων</u>	<u>Anvendte symboler</u>
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	Læs brugsvejledningen
	Θερμοκρασία αποθήκευσης	Opbevaringstemperatur
	Ημερομηνία λήξης	Anvend inden
LOT	Αριθμός παρτίδας	Batchkode
REF	Αριθμός καταλόγου	Katalognummer
CONTROL	Πρότυπο ελέγχου	Kontrol
IVD	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnosticering
	Κατασκευαστής	Fabrikant
	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις	Indeholder nok til <n> test
WASH SOLN CONC	Συμπυκνωμένο διάλυμα έκπλυσης	Koncentreret vaskeopløsning
CAL 0	Μηδενικός βαθμονομητής	Nul-kalibrator
CAL N	Βαθμονομητής #	Kalibrator nr.
CONTROL N	Ορός ελέγχου #	Kontrol nr.
Ag 125I	Ιχνηθέτης	Markør
Ab 125I	Ιχνηθέτης	Markør
Ag 125I CONC	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης	Koncentreret markør
Ab 125I CONC	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης	Koncentreret markør
	Σωληνάρια	Tuber
INC BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης	Inkubationsbuffer
ACETONITRILE	Ακετονιτρίλιο	Acetonitril
SERUM	Ορός	Serum
DIL SPE	Διάλυμα αραιώσης δειγμάτων	Prøvediluent
DIL BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης	Fortyndingsbuffer
ANTISERUM	Αντιορός	Antiserum
IMMUNOADSORBENT	Ανοσοπροσροφητικό	Immonoadsorbent
DIL CAL	Αραιωτικό βαθμονομητών	Kalibratordiluent
REC SOLN	Διάλυμα ανασύστασης	Rekonstitueringsopløsning
PEG	Πολυαιθυλενογλυκόλη	Polyetylenglykol
EXTR SOLN	Διάλυμα εκχύλισης	Ekstraktionsopløsning
ELU SOLN	Διάλυμα έκλουσης	Elueringsopløsning
GEL	Φόσισγγες πυριτίου Bond Elut	Patroner med bindingselueringssilica
PRE SOLN	Διάλυμα προπεξεργασίας	Forbehandlingsopløsning
NEUTR SOLN	Διάλυμα εξουδετέρωσης	Neutraliseringsopløsning
TRACEUR BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα	Markørbuffer
	Πλάκα μικροτιτλοδότησης	Mikrotiterplade
Ab HRP	HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat
Ag HRP	HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat
Ab HRP CONC	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat-koncentreret
Ag HRP CONC	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat-koncentreret
CONJ BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα συζεύγματος	Konjugatbuffer
CHROM TMB CONC	Χρωμογόνος TMB	Kromogen TMB-koncentreret
CHROM TMB	Διάλυμα χρωμογόνου TMB	Kromogen TMB-opløsning
SUB BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος	Substratbuffer
STOP SOLN	Ανασχετικό αντιδραστήριο	Stopopløsning
INC SER	Ορός επώασης	Inkubationsserum
BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα	Buffer
Ab AP	AP Σύζευγμα	AP-konjugat
SUB PNPP	PNPP υποστρώματος	Substrat PNPP
BIOT CONJ CONC	Συμπυκνωμένο αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη	Biotin konjugat koncentrat
AVID HRP CONC	Συμπυκνωμένο διάλυμα αβιδίνης-HRP	Avidin HRP koncentrat
ASS BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού	Prøvebuffer