



C-peptide IRMA KIT

REF IM3639

TABLE OF CONTENTS

English	2	Slovenčina	29
Français	5	한국어	32
Deutsch	8	Türkçe	35
Italiano	11	Русский	38
Español	14	中文 ZH-TW	41
Ελληνικά	17	Србија	44
Lietuviškai	20	APPENDIX	47
Polski	23		
Čeština	26		

ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com



IMMUNOTECH s.r.o., Radiova 1, 102 27 Prague 10, Czech Republic

C-peptide IRMA KIT

REF IM3639

IMMUNORADIOMETRIC ASSAY FOR THE IN VITRO DETERMINATION OF C-PEPTIDE IN HUMAN SERUM, PLASMA AND URINE

For *in vitro* diagnostic use.

PRINCIPLE

The immunoradiometric assay of C-peptide is a "sandwich" type assay. The same kit may be employed for the measurement of C-peptide either directly in serum and plasma or, after dilution, in urine.

In the kit, mouse monoclonal antibodies directed against two different epitopes of C-peptide and hence not competing are used.

Serum, plasma or diluted urine samples, the controls and calibrators are incubated in tubes coated with the first monoclonal antibody in the presence of the second monoclonal antibody labeled with iodine 125. After incubation, the contents of the tubes are rinsed so as to remove unbound ¹²⁵I-labeled antibody. The bound radioactivity is then determined in a gamma counter. The C-peptide concentrations in the samples are obtained by interpolation from the standard curve. The concentration of C-peptide in the samples is directly proportional to the radioactivity.

WARNING AND PRECAUTIONS

General remarks:

- The vials with calibrators and controls should be opened as short time as possible to avoid evaporation.
- Do not mix the reagents from kits of different lots.
- A standard curve must be established with each assay.
- It is recommended to perform the assay in duplicate.
- Each tube must be used only once.

Basic rules of radiation safety

The purchase, possession, utilization, and transfer of radioactive material is subject to the regulations of the country of use. Adherence to the basic rules of radiation safety should provide adequate protection:

- No eating, drinking, smoking or application of cosmetics should be carried out in the presence of radioactive materials.
- No pipeting of radioactive solutions by mouth.
- Avoid all contact with radioactive materials by using gloves and laboratory overalls.
- All manipulation of radioactive substances should be done in an appropriate place, distant from corridors and other busy places.
- Radioactive materials should be stored in the container provided in a designated area.
- A record of receipt and storage of all radioactive products should be kept up to date.
- Laboratory equipment and glassware which are subject to contamination should be segregated to prevent cross-contamination of different radioisotopes.
- Each case of radioactive contamination or loss of radioactive material should be resolved according to established procedures.
- Radioactive waste should be handled according to the rules established in the country of use.

Sodium azide

Some reagents contain sodium azide as preservative. Sodium azide may react with lead, copper or brass to form explosive metal azides. Dispose of the reagents by flushing with large amounts of water through the plumbing system.

Material of human origin

All serum and plasma samples should be handled as if capable of transmitting hepatitis or AIDS and waste should be discarded according to the country rules.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Wash Solution (20X) DANGER



H360	May damage fertility or the unborn child.
P201	Obtain special instructions before use.
P280	Wear protective gloves, protective clothing and eye/face protection.
P308+P313	IF exposed or concerned: Get medical advice/attention. Boric Acid 0.1-0.3% Sodium Borate Decahydrate 0.1-0.3%

SDS Safety Data Sheet is available at techdocs.beckmancoulter.com

SPECIMEN COLLECTION, PROCESSING, STORAGE AND DILUTION

Collection of serum and plasma samples

- Collect blood in dry tubes or in tubes containing EDTA.
- Separate serum or plasma from cells by centrifugation.
- Serum and plasma samples may be stored at 2-8°C, if the assay is to be performed within 24 hours. For longer storage keep frozen (at < -20°C for 2 months or preferably at < -70°C for 1 year maximum) after aliquoting so as to avoid repeated freezing and thawing. Thawing of sample should be performed at room temperature.

Human C-peptide is relatively unstable molecule in liquid serum or plasma (the considerable degradation may be observed already in a few day period). The recommendation concerning storage should be therefore strictly adhered.

- If samples have concentrations greater than the highest calibrator, they must be diluted in the dilution buffer.

Serum and EDTA plasma values for 20 samples (serum values ranging from 576.1 to 3,739 pM) were compared using the IM3639 C-Peptide IRMA kit. Results are as follows:

$$[\text{EDTA-plasma}] = 0.9623[\text{serum}] + 49.99$$

$$R = 0.9960$$

Collection of urine samples

- Collect 24-hour urine in flask.
- Determine volume.
- Centrifuge or filter before assay, if necessary.
- Samples may be stored at 2-8°C, if the assay is to be performed within 24 hours. For longer storage, keep frozen at < -18°C for 1 year maximum, after aliquoting so as to avoid repeated freezing and thawing. Thawing of sample should be performed at room temperature.
- The content of C-peptide in urine samples is often over the concentration of the higher calibrator. Therefore dilution 1:21 with dilution buffer is recommended, e.g. 25 µL of urine should be diluted with 500 µL of dilution buffer.

MATERIALS PROVIDED

All reagents of the kit are stable until the expiry date indicated on the kit label, if stored at 2-8°C. Expiry dates printed on vial labels apply to the long-term storage of components by the manufacturer only, prior to assembly of the kit. Do not take into account.

Storage conditions for reagents after reconstitution or dilution are indicated in paragraph Procedure.

Anti-C-peptide monoclonal antibody coated tubes: 2 x 50 tubes (ready-to-use)

¹²⁵I-labeled monoclonal anti-C-peptide antibody: one 17 mL vial (ready-to-use)

The vial contains 640 kBq, at the date of manufacture, of ¹²⁵I-labeled immunoglobulins in buffer containing bovine serum albumin, sodium azide (<0.1%) and a dye.

C-peptide dilution buffer: one 25 mL vial (ready-to-use)

The solution contains bovine serum albumin and sodium azide (<0.1%).

Calibrators: six vials (lyophilized)

The calibrator vials contain from 0 to approximately 6,400 pM of C-peptide in buffer with bovine serum albumin and sodium azide (<0.1%). The exact concentration is indicated on each vial label. The calibrators were calibrated against the international standard, WHO IRR C-Peptide 84/510.

Control sera: two vials (lyophilized)

The vials contain C-peptide lyophilized in bovine serum and sodium azide (<0.1%). The expected values are in the concentration range indicated on a supplement.

Wash solution (20x): one 50 mL vial

Concentrated solution has to be diluted before use.

MATERIALS REQUIRED, BUT NOT PROVIDED

In addition to standard laboratory equipment, the following items are required:

- precision micropipets (50 µL; 25 µL).
- semi-automatic pipet (150 µL).
- vortex-type mixer.
- horizontal or orbital shaker (> 280 rpm).
- aspiration system.
- gamma counter set for ¹²⁵I.

RESULTS

Results are obtained from the standard curve by interpolation. The curve serves for the determination of C-peptide concentrations in samples measured at the same time as the calibrator.

Standard curve

The results in the quality control department were calculated using *spline* curve fit with determined radioactivity ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) on the log vertical axis and analyte concentration of the calibrators on the log horizontal axis (pM).

Other data reduction methods may give slightly different results.

Total activity: 227,129 cpm				
Calibrators	C-peptide (pM)	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{cal} - cpm_{cal0}$
0	0	53	0.02	-
1	32	985	0.43	932
2	103	2,935	1.29	2,882
3	375	10,863	4.78	10,810
4	1,530	42,652	18.78	42,599
5	6,100	118,237	52.06	118,184

(Example of standard curve, do not use for calculation)

Samples

For each sample, locate the cpm or B/T value on the vertical axis and read off the corresponding analyte concentration on the horizontal axis.

The concentrations of diluted samples must be corrected by the dilution factor.

To convert pmol/L (pM) into ng/mL, multiply results by **0.003**.

24 hours urine excretion

For diluted urines (dilution 1:21), the following formula must be used for the determination of 24 hours C-peptide excretion:

$$\text{C-Peptide (nmol/24h)} = \frac{\text{measured concentration (pM)} \times 21 \times V}{1000}$$

where V = 24 h urine volume in litres

EXPECTED VALUES

It is suggested that each laboratory establishes its own normal values. The following values obtained with healthy subjects are indicative only.

Sera

- The serum samples of 156 fasting healthy individuals were analyzed.

	Mean	Median	Standard Deviation (SD)	Min-Max
pM	519	471	255	32.6-1,458
ng/mL	1.56	1.41	0.766	0.098-4.380

The 95 percentile range was **160-1,100 pM** (0.48-3.30 ng/mL).

- As an example, the average C-peptide concentrations in the OGTT of twelve young, healthy individuals are presented in the following table.

Time (min)	C-peptide (pM) Average ± 1 SD	C-peptide (ng/mL) Average ± 1 SD
0	520 ± 169	1.56 ± 0.507
35	2,274 ± 1,116	6.82 ± 3.348
65	3,067 ± 987	9.20 ± 2.961
95	3,488 ± 1,038	10.46 ± 3.114
125	3,008 ± 593	9.02 ± 1.779

Urines

- 48 samples of the first morning urine and 20 samples of a 24-hour urine collection were determined.

	Mean	Standard deviation	Min-Max
First morning urine (nmol/L)	20.12	16.70	1.22 - 66.39
24 hour urine collection (nmol/24 hrs)	23.13	12.77	7.76 - 49.38

QUALITY CONTROL

Good laboratory practices imply that control samples must be used regularly to ensure the quality of the results obtained. These samples must be processed exactly the same way as the assay samples, and it is recommended to analyze their results using appropriate statistical methods.

In case of packaging deterioration or if data obtained show some performance alteration, please contact your local distributor or use the following e-mail address: imunochem@beckman.com

PROCEDURE

Preparation and storage of reagents

Let all the reagents come to room temperature.

Reconstitution of calibrators

The content of the vials is reconstituted with the volume of distilled water indicated on the label. Wait for 10 min following reconstitution and mix gently to avoid foaming before dispensing. Store the reconstituted solutions at 2-8°C for one week or frozen at < -18°C for a longer time, until the expiry date of the kit.

Reconstitution of control samples

The content of the vials is reconstituted with the volume of distilled water indicated on the label. Wait for 10 min following reconstitution and mix gently to avoid foaming before dispensing. Store the reconstituted solutions at 2-8°C for one day or aliquoted at < -18°C for a longer time, until the expiry date of the kit.

Preparation of the wash solution

Pour the content of the vial into 950 mL of distilled water and homogenize. The diluted solution may be stored at 2-8°C until the expiry date of the kit.

Bring all reagents to room temperature before pipeting.

Step 1 Additions*	Step 2 Incubation	Step 3 Counting
To coated tubes, add successively: 50 µL of calibrator, control or sample (serum, plasma, pre-diluted urine) and 150 µL of tracer. Mix.	Incubate 2 hours at 18-25°C with shaking (> 280 rpm).	Aspirate carefully the contents of tubes (except the 2 tubes «total cpm»). Wash twice with 2 mL of wash solution. Count activity (cpm) for 1 min.

*Add 150 µL of tracer to 2 additional tubes to obtain total cpm.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

(for more details, see the data sheet "APPENDIX")

Representative data are provided for illustration only. Performance obtained in individual laboratories may vary.

Sensitivity

Analytical sensitivity: 3.79 pM (0.011 ng/mL)

Functional sensitivity: 13.9 pM (0.042 ng/mL)

Specificity

No cross-reactivity was observed with insulin, pancreatic polypeptide, somatostatin or glucagon. The cross-reaction with proinsulin is only 3% (w/w, equivalent to 10% on a molar basis).

Precision

Intra-assay

Samples were assayed in 25 replicates in the same series. The coefficients of variation were found below or equal to 3.1% for serum samples and to 3.2% for urine samples.

Inter-assay

Samples were assayed in duplicate in 10 different series. Coefficients of variation were found below or equal to 5.2% for serum samples and to 4.8% for urine samples.

Accuracy

Dilution test

High-concentration serum and urine samples were serially diluted in the dilution buffer. The recovery percentages were obtained between 96% and 114% for serum samples and between 86% and 105% for urine samples.

Recovery test

Serum and urine samples were spiked with known quantities of C-peptide. The recovery percentages were obtained between 83% and 105% for serum samples and between 80% and 104% for urine samples.

Measurement range (from analytical sensitivity to highest calibrator): 3.79 to approximately 6,400 pM.

LIMITATIONS

The non-respect of the instructions in this package insert may affect results significantly. Results should be interpreted in the light of the total clinical presentation of the patient, including clinical history, data from additional tests and other appropriate information.

Do not use hemolyzed, lipemic or icteric samples.

"Hook effect" of this IRMA kit may appear in samples containing C-peptide concentration equal or higher than 50,000 pM. The samples with clinical suspicion to very high concentrations should be diluted with dilution buffer. Values obtained must be corrected by the dilution factor.

For assays employing antibodies, the possibility exists for interference by heterophile antibodies in the patient sample. Patients who have been regularly exposed to animals or have received immunotherapy or diagnostic procedures utilizing immunoglobulins or immunoglobulin fragments may produce antibodies, e.g. HAMA, that interfere with immunoassays.

Such interfering antibodies may cause erroneous results. Carefully evaluate the results of patients suspected of having these antibodies.

C-peptide IRMA KIT

REF IM3639

TROUSSE IMMUNORADIOMETRIQUE POUR LE DOSAGE IN VITRO DU C-PEPTIDE DANS LE SERUM, LE PLASMA ET LES URINES HUMAINES Pour un usage diagnostique *in vitro*.

PRINCIPE

Le dosage immunoradiométrique du C-peptide est un dosage de type sandwich. Cette même trousse permet de doser les taux de C-peptide directement dans le sérum, le plasma ou, après dilution, dans l'urine humaine.

La trousse utilise des anticorps monoclonaux de souris dirigés contre deux épitopes différents de la molécule et réagissant sans compétition.

Dans des tubes recouverts d'un premier anticorps monoclonal, les échantillons ou les calibrateurs sont incubés en présence d'un second anticorps monoclonal marqué à l'iode 125. Après incubation, le contenu des tubes est vidé par aspiration, les tubes sont rincés pour éliminer les anticorps marqués non fixés et la radioactivité liée est mesurée par un compteur gamma. Les valeurs inconnues sont déterminées par interpolation à l'aide de la courbe standard. La quantité de radioactivité est directement proportionnelle à la concentration de C-peptide de l'échantillon.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Précautions générales

- Les flacons de calibrateurs ou de contrôles doivent rester ouverts le moins de temps possible afin d'éviter les phénomènes d'évaporation.
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents.
- Effectuer simultanément la courbe standard et le dosage des échantillons.
- Il est recommandé de réaliser les dosages en double.
- Chaque tube ne doit être utilisé qu'une seule fois.

Les règles de bases de la radio protection

L'achat, la possession, l'utilisation et l'échange de matières radioactives sont soumis aux réglementations en vigueur dans le pays de l'utilisateur. L'application des règles de base de protection contre les rayonnements ionisants assure une protection adéquate. Certaines d'entre elles sont rappelées ci-après :

- Ne pas manger, ni boire, ni fumer, ni appliquer de cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés.
- Ne pas pipeter des solutions radioactives avec la bouche.
- Eviter le contact direct avec tout produit radioactif en utilisant des blouses et des gants de protection.
- Toute manipulation de matières radioactives se fera dans un local approprié, éloigné de tout passage.
- Les produits radioactifs seront stockés dans leur conditionnement d'origine dans un local approprié.
- Un cahier de réception et de stockage de produits radioactifs sera tenu à jour.
- Le matériel de laboratoire et la verrerie qui ont été contaminés doivent être éliminés au fur et à mesure afin d'éviter une contamination croisée de plusieurs isotopes.
- Chaque cas de contamination ou perte de substance radioactive devra être résolu selon les procédures établies.
- Toute mise aux déchets de matière radioactive se fera en accord avec les règlements en vigueur.

Azide de sodium

Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium comme agent conservateur. L'azide de sodium peut réagir avec le plomb, le cuivre et le laiton et former des azides métalliques explosifs. Lors du rejet de telles solutions à l'évier, laisser couler un volume important d'eau dans les canalisations.

Les produits d'origine humaine

Tous les échantillons de sérum ou de plasma doivent être manipulés comme étant susceptibles de contenir les virus de l'hépatite ou du SIDA et les déchets doivent éliminés selon les réglementations nationales en vigueur.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Wash Solution (20X) DANGER



H360	Peut nuire à la fertilité ou au fœtus.
P201	Se procurer les instructions avant utilisation.
P280	Porter des gants de protection, des vêtements de protection et un équipement de protection des yeux/du visage.
P308+P313	EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : demander un avis médical/consulter un médecin. Acide borique 0,1-0,3% Burate de sodium décahydraté 0,1-0,3%

SDS

La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse techdocs.beckmancoulter.com

PRELEVEMENT, PREPARATION, CONSERVATION ET DILUTION DES ECHANTILLONS

Prélèvement des échantillons sériques ou plasmatiques

- Recueillir le sang dans des tubes secs sans additif ou des tubes contenant de l'EDTA.
- Séparer le sérum ou le plasma des cellules par centrifugation.
- Les échantillons sériques ou plasmatiques peuvent être conservés à 2-8 °C si le dosage est réalisé dans les 24 heures. Sinon, il est préférable de les conserver congelés (< -20 °C, 2 mois maximum ou à < -70 °C 1 an maximum,) et de préférence aliquotés, afin d'éviter les congélations et décongélations successives. La décongélation de l'échantillon peut être réalisée à température ambiante.
La molécule de C-peptide étant relativement instable dans le sérum ou le plasma (une nette dégradation peut être observée en quelques jours), il est conseillé de suivre strictement les recommandations énoncées ci-dessus.
- Si l'échantillon analysé a une concentration supérieure au calibrateur le plus élevé de la gamme, le diluer dans le tampon de dilution.

Des valeurs sériques et de plasma EDTA de 20 échantillons (valeurs sériques allant de 576,1 à 3 739 pM) ont été comparés au moyen de la trousse IM3639 C-Peptide IRMA pour le dosage du c-peptide. Les résultats sont comme suit:

[plasma EDTA] = 0,9623[serum] + 49,99

r = 0,9960

Prélèvement des échantillons urinaires

- Recueillir les urines de 24 heures dans un flacon.
- Mesurer le volume final.
- Centrifuger ou filtrer avant le dosage, si nécessaire.
- Les échantillons peuvent être conservés à 2-8 °C si le dosage est réalisé dans les 24 heures. Pour des périodes plus longues, il est préférable de les conserver congelés, de préférence aliquotés (à < -18 °C, 1 an maximum) afin d'éviter les congélations et décongélations successives. La décongélation de l'échantillon peut être réalisée à température ambiante.
- La concentration en C-peptide dans les urines est fréquemment supérieure à la concentration du calibrateur le plus élevé de la gamme. Il est donc recommandé de diluer les échantillons au 1:21 avant dosage (25 µL d'urine dans 500 µL de tampon de dilution).

MATÉRIEL FOURNI

Tous les réactifs de la trousse conservés non ouverts à 2-8 °C sont stables jusqu'à la date de péremption mentionnée sur la trousse. Les dates d'expiration imprimées sur les étiquettes des flacons concernent uniquement

le stockage à long terme des réactifs par le fabricant, avant l'assemblage de la trousse. Ne pas en tenir compte.

Les conditions de conservation des réactifs après reconstitution ou dilution sont indiquées dans le paragraphe Procédure.

Tubes revêtus d'anticorps anti-C-peptide : 2 x 50 tubes (prêts à l'emploi)

Anticorps monoclonal marqué à l'iode 125 : 1 flacon de 17 mL (prêt à l'emploi)

Le flacon contient 640 kBq, en début de lot, d'immunoglobulines marquées sous forme liquide avec de la sérum albumine bovine, de l'azide de sodium (<0,1 %) et un colorant.

Tampon de dilution (C-peptide – Buffer) : 1 flacon de 25 mL (prêt à l'emploi)

La solution contient de l'albumine sérique bovine et de l'azide de sodium (<0,1 %).

Calibrateurs : 6 flacons (lyophilisés)

Les flacons de calibrateurs contiennent entre 0 à environ 6 400 pM de C-peptide en tampon avec de l'albumine sérique bovine et de l'azide de sodium (<0,1 %). La concentration exacte est indiquée sur l'étiquette de chaque flacon. Les calibrateurs ont été calibrés par rapport au standard international, WHO IRR C-Peptide 84/510.

Sérums de contrôle : 2 flacons (lyophilisés)

Les flacons contiennent du C-peptide lyophilisé dans du sérum bovin et de l'azide de sodium. Les valeurs attendues sont comprises dans la fourchette de concentrations indiquée sur une feuille séparée.

Solution de lavage (20x) : 1 flacon de 50 mL

Solution concentrée, à diluer avant usage.

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

En plus de l'équipement de laboratoire usuel, il est nécessaire d'utiliser le matériel suivant :

- micropipette de précision (50 µL; 25 µL).
- pipettes semi-automatique (150 µL).
- mélangeur de type vortex.
- agitateur à mouvement de va-et-vient horizontal ou orbital (> 280 rpm).
- système d'aspiration.
- compteur gamma calibré pour l'iode ¹²⁵.

RÉSULTATS

Les résultats sont déduits de la courbe standard par interpolation. La courbe sert à déterminer les taux de C-peptide de tous les échantillons mesurés en même temps que les calibrateurs.

Courbe standard

Les résultats obtenus par le service chargé du contrôle de qualité ont été calculés en utilisant un ajustement de courbe *spline* avec ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) sur l'axe log vertical et la concentration en analyte des calibrateurs sur l'axe log horizontal (pM).

L'utilisation d'un autre mode de calcul peut conduire à des résultats légèrement différents.

Activité totale : 227 129 cpm				
Calibrateurs	C-peptide (pM)	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{cal} - cpm_{cal0}$
0	0	53	0,02	-
1	32	985	0,43	932
2	103	2 935	1,29	2 882
3	375	10 863	4,78	10 810
4	1 530	42 652	18,78	42 599
5	6 100	118 237	52,06	118 184

(Exemple de courbe standard, ne pas utiliser pour les calculs)

Echantillons

Pour chaque échantillon, repérer les valeurs de cpm ou B/T sur l'axe vertical et lire la concentration de l'échantillon en analytes correspondante sur l'axe horizontal.

Les concentrations des échantillons dilués doivent être corrigées avec le facteur de dilution.

Pour convertir des concentrations de pM (pmol/L) en ng/mL, multipliez les résultats par **0,003**.

24 heures urine excretion

Pour les urines (1:21), la formule suivante doit être utilisée pour la détermination de l'excrétion de 24 heures du C-peptide.

$$C\text{-Peptide (nmol/24h)} = \frac{\text{valeurs mesurée (pM)} \times 21 \times V}{1000}$$

où, V = volume d'urines de 24 h en litres

VALEURS ATTENDUES

Il est conseillé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs de références. A titre indicatif, les résultats cliniques donnent les valeurs de référence ci-dessous :

Sérums

- Les échantillons sériques provenant de 156 sujets présumés sains à jeun ont été dosés.

	Moyenne	Médiane	Ecart-type (ET)	Min-Max
pM	519	471	255	32,6-1 458
ng/mL	1,56	1,41	0,766	0,098-4,380

L'intervalle correspondant aux 95ème percentiles était **160 – 1100 pM** (0,48-3,30 ng/mL).

- Les taux moyens en C-peptide obtenus chez 12 sujets sains après un test de tolérance orale au glucose sont présentés, à titre indicatif, dans le tableau ci-dessous.

Temps, min	C-peptide (pM) Average ± 1 ET	C-peptide (ng/mL) Moyenne ± 1 ET
0	520 ± 169	1,56 ± 0,507
35	2 274 ± 1 116	6,82 ± 3,348
65	3 067 ± 987	9,20 ± 2,961
95	3 488 ± 1 038	10,46 ± 3,114
125	3 008 ± 593	9,02 ± 1,779

Urine

- 48 échantillons correspondant aux urines du matin et 20 échantillons correspondant aux urines de 24 heures ont été dosés.

	Moyenne	Ecart-type	Fourchette Attendue
Urines du matin (nmol/L)	20,12	16,70	1,22 - 66,39
Urines de 24heures (nmol/24 heures)	23,13	12,77	7,76 - 49,38

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les bonnes pratiques de laboratoire impliquent que des échantillons de contrôle soient utilisés dans chaque série de dosage pour s'assurer de la qualité des résultats obtenus. Ces échantillons devront être traités de la même façon que les prélèvements à doser et il est recommandé d'en analyser les résultats à l'aide de méthodes statistiques appropriées.

En cas de détérioration de l'emballage ou si les résultats obtenus montrent une perte de performance du produit, veuillez contacter notre service Support Technique. E-mail : imunochem@beckman.com

PROCÉDURE

Préparation et conservation des réactifs

Équilibrer les réactifs à la température du laboratoire.

Préparation des calibrateurs

Prendre par le volume d'eau distillée indiqué sur les étiquettes des flacons. Attendre 10 min après reconstitution et agiter doucement en évitant la formation de mousse avant de répartir dans les tubes. Les calibrateurs reconstitués peuvent être conservés une semaine à 2-8 °C. Au-delà il est préférable de les conserver congelés à une température inférieure à -18 °C jusqu'à la date d'expiration de la trousse.

Préparation des sérums de contrôle

Prendre par le volume d'eau distillée indiqué sur les étiquettes des flacons. Attendre au moins 10 min après reconstitution et agiter doucement en évitant la formation de mousse avant de répartir dans les tubes. Les sérums de

contrôle reconstitués peuvent être conservés un jour à 2-8 °C. Au-delà il est préférable de les conserver aliquotés congelés à une température inférieure à -18 °C jusqu'à la date d'expiration de la trousse.

Préparation de la solution de lavage

Verser le contenu du flacon dans 950 mL d'eau distillée. Homogénéiser. La solution diluée peut être conservée à 2-8 °C jusqu'à la date de péremption de la trousse.

Equilibrer les réactifs à la température du laboratoire avant utilisation.

Etape 1 Répartition*	Etape 2 Incubation	Etape 3 Comptage
Dans les tubes recouverts d'anticorps, distribuer successivement : 50 µL de calibrateur, de contrôle ou d'échantillon (sérum, plasma, urines pré-diluée) et 150 µL de traceur. Agiter.	Incuber 2 heures à 18-25 °C avec agitation (>280 rpm).	Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube (sauf les 2 tubes «cpm totaux»). Laver 2 fois avec 2 mL de solution de lavage. Compter les cpm liés (B) et les cpm totaux (T) pendant 1 min.

*Ajouter 150 µL de traceur dans 2 tubes supplémentaires pour obtenir les cpm totaux.

PERFORMANCES DU DOSAGE

(voir la feuille "APPENDIX" pour plus de détails)

Les données représentatives ne sont fournies qu'à titre d'illustration. Les performances obtenues dans les laboratoires individuels peuvent varier.

Sensibilité

Sensibilité analytique : 3,79 pM (0,011 ng/mL)

Sensibilité fonctionnelle : 13,9 pM (0,042 ng/mL)

Spécificité

Aucune réactivité croisée avec l'insuline humaine, le polypeptide pancréatique, la somatostatine ou le glucagon n'a été mise en évidence. La réactivité croisée avec la pro-insuline est seulement de 3 % (en concentration pondérale, ce qui correspond à 10 % sur une base molaire).

Précision

Intra-essai

Des échantillons ont été dosés 25 fois dans une même série. Les coefficients de variation obtenus étaient inférieurs ou égales à 3,1 % pour les sérums et à 3,2 % pour les urines.

Inter-essais

Des échantillons ont été dosés en doublet dans 10 séries différentes. Les coefficients de variation obtenus étaient inférieurs ou égales à 5,2 % pour les sérums et à 4,8 % pour les urines.

Exactitude

Epreuve de dilutions

Des échantillons de concentration élevée ont été dilués dans le tampon de dilution. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 96 % et 114 % pour les sérums et entre 86 % et 105 % pour les urines.

Epreuve de surcharge

Des quantités connues de C-peptide ont été ajoutées à des sérums humains. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 83 % et 105 % pour les sérums et entre 80 % et 104 % pour les urines.

Plage de mesure (de la sensibilité analytique au calibrateur le plus élevé) : 3,79 à environ 6 400 pM.

LIMITES

Le non-respect des recommandations indiquées dans cette notice peut avoir un impact significatif sur les résultats. Les résultats doivent être interprétés à la lumière du dossier clinique complet du patient, incluant l'historique clinique et les données des tests additionnels et toute autre information appropriée.

Ne pas utiliser de spécimens hémolysés, ictériques ou lipémiques.

L'effet "crochet" survient à des concentrations supérieures à 50 000 pM. Les échantillons suspectés de contenir des concentrations élevées de C-peptide doivent être dilués dans le tampon de dilution. Les valeurs ainsi obtenues doivent être corrigées par le facteur de dilution.

Pour les tests employant des anticorps, il existe la possibilité d'une interférence par des anticorps hétérophiles présents dans l'échantillon du patient. Les patients qui ont été régulièrement exposés à des animaux ou qui ont reçu une immunothérapie ou qui ont subi des procédures diagnostiques utilisant des immunoglobulines ou des fragments d'immunoglobulines peuvent produire des anticorps, par exemple des anticorps HAMA (anticorps humains anti-souris), qui interfèrent avec les tests immunologiques.

Ces anticorps qui interfèrent peuvent être la cause de résultats erronés. Evaluer avec précaution les résultats de patients suspectés de posséder ces anticorps.

C-peptide IRMA KIT

REF IM3639

RADIOIMMUNOASSAY FÜR DIE IN-VITRO BESTIMMUNG VON C-PEPTID IN HUMANEM SERUM, PLASMA UND URIN

In-vitro-Diagnostikum.

PRINZIP

Der Radioimmunoassay C-Peptid basiert auf dem typischen "Sandwichprinzip". Derselbe Test kann verwendet entweder zur Bestimmung von C-Peptid direkt im Serum oder Plasma, oder -nach Verdünnung- im Urin werden.

In dem Kit werden zwei verschiedene monoklonale Mausantikörper, mit nicht miteinander konkurrierenden Epitopen gegen C-Peptid verwendet.

Serum-, Plasma- oder verdünnte Urinproben, sowie die Kontrollen und Kalibratoren werden in Anwesenheit mit dem ¹²⁵I-markierten monoklonalen Antikörper und dem an der Röhrchenwand immobilisiertem Antikörper inkubiert. Nach der Inkubation werden die Röhrchen zum vollständigen Entfernen des nicht gebundenen Tracer-Antikörpers gewaschen. Die gebundene Radioaktivität wird anschließend in einem γ -Counter bestimmt. Unbekannte Probenwerte werden mittels Interpolation aus der Standardkurve bestimmt. Die Konzentration des C-Peptid in den Proben ist direkt proportional zu der Radioaktivität.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Allgemeinhinweise:

- Die Flaschen mit Kalibratoren oder Kontrollen sollten möglichst geschlossen bleiben, um jegliche Verflüchtigung zu vermeiden.
- Reagenzien aus Kits von verschiedenen Produktionsserien sollten nicht miteinander vermischt werden.
- Eine Standardkurve ist für jeden Assay notwendig.
- Der Assay sollte in Doppelbestimmung durchgeführt werden.
- Jedes Röhrchen darf nur einmal verwendet werden.

Grundregeln der Handhabung von Radioaktivität

Annahme, Besitz und Verwendung, Lagerung, Transport und Beseitigung unterliegen den Vorschriften der Atomenergie- bzw. der jeweiligen staatlichen Behörde. Die Einhaltung der Grundregeln beim Umgang mit Radioaktivität sollte eine ausreichende Sicherheit gewährleisten:

- In Räumen, in denen mit radioaktiven Materialien gearbeitet wird, sollte Essen, Trinken, Rauchen und das Auftragen von Kosmetika vermieden werden.
- Keine Mundpipette verwenden.
- Direkter Kontakt mit radioaktiven Materialien sollte durch Tragen entsprechender Schutzkleidung (Laborkittel, Handschuhe) vermieden werden.
- Das Arbeiten mit radioaktiven Stoffen muß in dafür speziell gekennzeichneten Bereichen, die vom normalen Laborbetrieb abgetrennt sind, erfolgen.
- Radioaktive Materialien sollten in einem speziell gekennzeichneten Bereich gelagert werden.
- Ein Register der Eingänge und Lagerung aller radioaktiven Produkte sollte ständig aktualisiert werden.
- Kontaminierte Labor- und Glasgeräte sollten isoliert werden, um eine Kreuzkontamination von verschiedenen Radioisotopen zu verhindern.
- Kontaminationen des Arbeitsplatzes müssen unverzüglich sorgfältig nach den üblichen Verfahren entfernt werden.
- Radioaktiver Abfall muss entsprechend den Richtlinien jedes Einsatzortes entsorgt werden.

Natriumazid

Zur Vermeidung mikrobieller Kontamination enthalten einige Reagenzien Natriumazid. Natriumazid kann mit Blei, Kupfer oder Messing zu explosiven Metallaziden reagieren. Um dies zu vermeiden, sollte bei einer Entsorgung über Rohrleitungen mit viel Wasser nachgespült werden.

Bestandteile menschlichen Ursprungs

Alle Serum- und Plasmaproben sollten als potentielle Überträger von Hepatitis und AIDS behandelt und Abfälle entsprechend den jeweiligen Länderbestimmungen entsorgt werden.

PI-IM3639-03

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Wash Solution (20X) GEFAHR



H360

Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen.

P201

Vor dem Gebrauch besondere Anweisungen einholen.

P280

Schutzhandschuhe, Schutzkleidung und Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

P308+P313

BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
Borsäure 0,1-0,3%
di-Natriumtetraborat-Decahydrat 0,1-0,3%



Das Sicherheitsdatenblatt ist auf techdocs.beckmancoulter.com verfügbar.

PROBENENTNAHME, -BEHANDLUNG, -LAGERUNG UND VERDÜNNUNG

Entnahme von Serum- und Plasmaproben

- Das Blut sollte in Röhrchen gesammelt werden, die entweder nichts oder EDTA enthalten.
- Trennen Sie Die Zellen vom Serum oder Plasma durch Zentrifugation.
- Serum- und Plasmaproben können bei 2-8 °C gelagert werden, wenn der Assay innerhalb von 24h durchgeführt wird. Für eine längere Lagerung sollte die Probe aliquotiert werden und eingefroren werden (bei < -20 °C, maximum 2 Monate, oder bei < -70 °C, maximum 1 Jahr). Wiederholtes Auftauen und Einfrieren sollte vermieden werden. Auftauen sollte bei Raumtemperatur stattfinden.
Humanes C-Peptid ist ein relativ instabiles Molekül in flüssigem Serum oder Plasma (ein beachtlicher Abbau kann innerhalb weniger Tage stattfinden). Die Lagerungsanweisungen sollten deshalb genauestens befolgt werden.
- Wenn die Proben Konzentrationen über dem höchsten Kalibratorwert haben, müssen sie in Verdünnungspuffer verdünnt werden.

Die Serum- und EDTA-Plasmapwerte von 20 Proben (Serumwerte im Bereich zwischen 576,1 und 3 739 pM) wurden im IM3639 C-Peptide IRMAKIT verglichen. Das Ergebnis lautet:

[Plasma-EDTA] = 0,9623[Serum] + 49,99

r = 0,9960

Sammeln von Urinproben

- Sammeln Sie den 24-Stunden Urin in der Flasche.
- Bestimmen Sie Das Volumen.
- Vor dem Assay zentrifugieren oder filtern, wenn nötig.
- Urinproben können bei 2-8 °C gelagert werden, wenn der Assay innerhalb von 24h durchgeführt wird. Für eine längere Lagerung sollten die Proben aliquotiert und eingefroren werden (< -18 °C, maximum 1 Jahr), um wiederholtes Auftauen und Einfrieren zu vermeiden. Auftauen sollte bei Raumtemperatur stattfinden.
- Der Menge an C-Peptid im Urin ist oft höher als der höchste Kalibratorwert. Es wird geraten in einem Verhältnis von 1:21 in Verdünnungspuffer zu verdünnen, z.B. 25 μ L Urin in 500 μ L Verdünnungspuffer.

MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Die Reagenzien sind verwendbar bis zum Verfallsdatum, wenn sie bei 2-8 °C gelagert werden. Auf die Fläschchen gedruckte Verfallsdaten betreffen nur die Langzeitlagerung beim Hersteller, vor der Zusammensetzung des Kits. Bitte nicht beachten.

Lagerungskonditionen der Reagenzien nach der Wiederherstellung oder Verdünnung werden im Abschnitt „Durchführung“ angegeben.

Röhrchen mit anti-C-Peptid monoklonalen Antikörpern beschichtet: 2 x 50 Röhrchen (gebrauchsfertig)

¹²⁵I-markierte monoklonale Anti-C-Peptid-Antikörper Lösung: eine 17 mL Flasche (gebrauchsfertig)

Die Flasche enthält 640 kBq (am Tag der Herstellung) des ¹²⁵I-markierten Immunglobulins in Puffer mit Bovinem Serum Albumin, Natriumazid (<0,1 %), und einem Farbstoff.

C-Peptid Verdünnungspuffer: eine 25 mL Flasche (gebrauchsfertig)

Die Lösung enthält Bovines Serum Albumin und Natriumazid (<0,1 %).

Kalibrators: sechs Fläschchen (lyophilisiert)

Die Kalibratorflaschen enthalten zwischen 0 bis ungefähr 6 400 pM C-Peptid in Puffer mit Bovinem Serum Albumin und Natriumazid (<0,1 %). Die genauen Konzentrationen sind auf jedem Fläschchen angegeben. Die Kalibratoren wurden gegen die internationale Standard-Präparation WHO IRR C-Peptide 84/510 kalibriert.

Serumkontrollen: zwei Fläschchen (lyophilisiert)

Die Fläschchen enthalten C-Peptid lyophilisiert in Bovinem Serum Albumin und Natriumazid (<0,1 %). Der Konzentrationsbereich wird auf der Packungsbeilage angegeben.

Waschlösung (20x): eine 50 mL Flasche

Die konzentrierte Lösung muss vor Gebrauch verdünnt werden.

ERFORDERLICHE, JEDOCH NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Zusätzlich zu der Standardlaborausstattung, werden die folgenden Materialien benötigt:

- Präzisionspipette (50 µL; 25 µL).
- halbautomatische Pipetten (150 µL).
- vortex-mixer.
- Horizontal-, oder Orbitalschüttler (> 280 rpm).
- Absaugsystem.
- Gamma-Counter für ¹²⁵I.

ERGEBNISSE

Die Ergebnisse werden aus der Standardkurve mittels Interpolation ermittelt. Die Kurve kann für die Bestimmung der C-Peptid-Konzentration in den Proben dienen, die zur gleichen Zeit wie die Standardkurve gemessen wurden.

Standardkurve

Die Ergebnisse wurden in der Abteilung für Qualitätskontrolle anhand einer *Spline*-Kurvenanpassung mit Radioaktivitätsbestimmung ($cpm_{kal} - cpm_{kalo}$) auf der logarithmischen vertikalen Achse und der Analytkonzentration der Kalibratoren auf der logarithmischen horizontalen Achse berechnet (pM).

Andere Datenreduktions-Methoden können zu leicht abweichenden Ergebnissen führen.

Totalaktivität: 227 129 cpm				
Kalibratoren	C-Peptid (pM)	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{kal} - cpm_{kalo}$
0	0	53	0,02	-
1	32	985	0,43	932
2	103	2 935	1,29	2 882
3	375	10 863	4,78	10 810
4	1 530	42 652	18,78	42 599
5	6 100	118 237	52,06	118 184

(Beispiel einer Standardkurve, nicht zur Berechnung benutzen)

Proben

Für jede Probe den cpm- oder B/T-Wert auf der vertikalen Achse ausfindig machen und die zugehörige Analytkonzentration auf der horizontalen Achse ablesen.

Die Konzentrationen der verdünnten Proben müssen um den Verdünnungsfaktor korrigiert werden.

Um die Werte von pmol/L (pM) in ng/mL umzurechnen, müssen sie mit **0,003** multipliziert werden.

24-Stunden Urinexkretion

Für verdünnten Urin (Verdünnung 1:21) muss die folgende Formel zur Bestimmung der 24-Stunden C-Peptid-Exkretion verwendet werden:

$$C\text{-Peptid (nmol/24h)} = \frac{\text{gemessene Konzentration (pM)} \times 21 \times V}{1000}$$

V = 24-Stunden Urinvolumen in Litern.

ERWARTETE WERTE

Jedes Labor sollte seinen eigenen Normalbereich in Gruppen von gesunden Testpersonen festlegen. Die hier angegebenen Werte dienen nur als Richtlinie.

Serum

- Serumproben von 156 fastenden gesunden Individuen wurden getestet.

	Mittelwert	Median	Standardabweichung (SD)	Wertebereich
pM	519	471	255	32,6-1 458
ng/mL	1,56	1,41	0,766	0,098-4,380

Der 95 Perzentile- Bereich betrug **160-1100 pM** (0,48-3,30 ng/mL).

- Die Durchschnittswerte der C-Peptid Konzentrationen nach einem oralen Glukose-Toleranztest bei zwölf jungen, gesunden Individuen sind als Beispiel in der folgenden Tabelle angegeben.

Zeit (min)	C-Peptid (pM) Durchschnittswert ± 1 SD	C-Peptid (ng/mL) Durchschnittswert ± 1 SD
0	520 ± 169	1,56 ± 0,507
35	2 274 ± 1 116	6,82 ± 3,348
65	3 067 ± 987	9,20 ± 2,961
95	3 488 ± 1 038	10,46 ± 3,114
125	3 008 ± 593	9,02 ± 1,779

Urin

- 48 Proben Morgen-Urin und 20 Proben 24-Stunden Urin wurden getestet.

	Mittelwert	Standardabweichung	Erwarteter Bereich
Morgen-Urin (nmol/L)	20,12	16,70	1,22 - 66,39
24 Stunden Urin (nmol/24 Stunden)	23,13	12,77	7,76 - 49,38

QUALITÄTSKONTROLLE

Zur Einhaltung der Laborgrundregeln sollten regelmäßig Kontrollproben benutzt werden, um die Qualität der Ergebnisse zu sichern. Diese Proben müssen in genau derselben Weise wie die Assay Proben getestet werden, und die Analyse der Ergebnisse sollte mit angebrachten statistischen Methoden stattfinden.

Im Falle von Verpackungsschäden oder einer Leistungsbeeinträchtigung des Produkts, kontaktieren Sie bitte Ihren lokalen Vertreter oder benutzen Sie die folgende e-mail: imunochem@beckman.com

DURCHFÜHRUNG

Präparation der Reagenzien

Die Reagenzien sollten Raumtemperatur haben.

Wiederaufnahme der Kalibratoren

Der Inhalt der Fläschchen wird mit einem auf dem Etikett angegebenen Volumen destilliertem Wasser wiederaufgenommen. Eine Wartezeit von 10 Minuten und leichtes Mischen sollten jegliches Schäumen vor dem Verteilen vermeiden. Die wiederaufgenommenen Lösungen können bei 2-8 °C für eine Woche, oder aliquotiert bei < -18 °C für eine längere Zeit, bis zum Verfallsdatum des Kits, gelagert werden.

Wiederaufnahme der Serumkontrollen

Der Inhalt der Fläschchen wird mit einem auf dem Etikett angegebenen Volumen destilliertem Wasser wiederaufgenommen. Eine Wartezeit von

10 Minuten und leichtes Mischen sollten jegliches Schäumen vor dem Verteilen vermeiden. Die wiederaufgenommenen Lösungen können bei 2-8 °C für einen Tag, oder aliquotiert bei < -18 °C für eine längere Zeit, bis zum Verfallsdatum des Kits, gelagert werden.

Präparation der Waschlösung.

Den Inhalt der Flasche in 950 mL destilliertes Wasser schütten und homogenisieren. Die verdünnte Lösung ist bei 2-8 °C bis zum Verfallsdatum haltbar.

Die Reagenzien sollten Raumtemperatur haben vor dem Pipettieren.

Schritt 1 Zugabe*	Schritt 2 Inkubation	Schritt 3 Messung
Zugabe zu den beschichteten Röhrchen (in dieser Reihenfolge): 50 µL Kalibrator, Kontrolle oder Probe (Serum, Plasma, verdünnter Urin) und 150 µL Tracer. Mischen.	2 Stunden bei 18-25 °C mit Schütteln (>280 rpm).	Vorsichtig den Inhalt der Röhrchen absaugen (außer den zwei Röhrchen für die Totalaktivität). Zweimal mit 2 mL Waschlösung waschen. Messung der gebundenen Radioaktivität (cpm) (1 Min)

*Fügen Sie 150 µL Tracer in 2 zusätzliche Röhrchen hinzu, um die Totalaktivität zu erhalten.

Spezifische Leistungsmkmale

(für mehr Details siehe die Beilage "APPENDIX")

Repräsentative Daten dienen nur der Veranschaulichung. Die in einzelnen Labors erzielten Leistungen können anders ausfallen.

Empfindlichkeit

Analytische Sensitivität: 3,79 pM (0,011 ng/mL)

Funktionelle Sensitivität: 13,9 pM (0,042 ng/mL)

Spezifität

Keine Kreuzreaktivität mit Insulin, Pankreatischem Polypeptid, Somatostatin oder Glukagon wurde ermessens. Die Kreuzreaktivität mit Proinsulin beträgt nur 3 % (entsprechend 10 % auf einer molaren Basis).

Präzision

Intra-Assay

Proben aus derselben Serie wurden 25 mal getestet. Der Variationskoeffizient war jeweils weniger oder gleich 3,1 % für Serumproben bzw. 3,2 % für Urinproben.

Inter-assay

Proben aus 10 verschiedenen Serien wurden als Doppelbestimmungen getestet. Der Variationskoeffizient war jeweils weniger oder gleich 5,2 % für Serumproben bzw. 4,8 % für Urinproben.

Genauigkeit

Verdünnungstest

Hoch konzentrierte Serum- und Urinproben wurden mit Verdünnungspuffer verdünnt. Die erhaltene Wiederfindung befindet sich zwischen 96 % und 114 % für Serumproben, bzw. 86 % und 105 % für Urinproben.

Wiederfindungstest

Serum- und Urinproben wurden mit definierten C-Peptid-Mengen vermischt. Die erhaltene Wiederfindung befindet sich zwischen 83 % und 105 % für Serumproben, bzw. 80 % und 104 % für Urinproben.

Meßbereich(von der analytischen Sensitivität bis zum höchsten Kalibrator): 3,79 bis ungefähr 6 400 pM.

EINSCHRÄNKUNGEN

Die Nichtbeachtung der Anweisungen in dieser Packungsbeilage kann die Ergebnisse signifikant beeinflussen. Die erhaltenen Ergebnisse sind vor dem Hintergrund der gesamten klinischen Situation des Patienten unter Berücksichtigung seiner klinischen Vorgeschichte, den Ergebnissen anderer Testergebnisse sowie weiteren vorliegenden Informationen zu interpretieren.

Es dürfen keine hämolytischen, ikterischen oder lipämischen Proben verwendet werden.

Ein "Hook Effekt" kann für Werte über 50 000 pM erscheinen. Wenn auf klinischer Basis ein sehr hoher Konzentrationswert vermutet wird, sollten die Proben in Verdünnungspuffer verdünnt werden. In diesem Fall müssen die erhaltenen Werte mit dem Verdünnungsfaktor korrigiert werden.

Bei Assays, die Antikörper nutzen, besteht die Möglichkeit einer Störung durch in der Patientenprobe enthaltene heterophile Antikörper. Patienten, die regelmäßig mit Tieren in Kontakt kommen oder sich immuntherapeutischen oder -diagnostischen Verfahren unter Einsatz von Immunglobulinen oder Immunglobulin-Fragmenten unterzogen haben, können Antikörper bilden (wie bspw. HAMA), welche die Immunoassays stören.

Derartige störende Antikörper können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Die Ergebnisse von Patienten, bei denen das Vorliegen derartiger Antikörper zu vermuten ist, sind sorgfältig zu untersuchen.

C-peptide IRMA KIT

REF IM3639

KIT IMMUNORADIOMETRICO PER LA DETERMINAZIONE IN VITRO DEL C-PEPTIDE IN SIERO, PLASMA E URINE
Per uso diagnostico *in vitro*.

PRINCIPIO

Il dosaggio del C-peptide è un metodo immunoradiometrico tipo "sandwich". Il kit può essere utilizzato per la determinazione diretta del C-peptide nel siero o nel plasma o, dopo diluizione, nelle urine.

Nel kit sono utilizzati anticorpi monoclonali da topo, diretti contro due differenti epitopi del C-peptide e, quindi, non in competizione fra loro.

Campioni di siero o plasma o urine diluite e calibratori vengono incubati in provette sensibilizzate con il primo anticorpo monoclonale in presenza del secondo anticorpo monoclonale, marcato con ¹²⁵I. Al termine dell'incubazione le provette vengono aspirate e contate con un contatore gamma. La concentrazione di C-peptide nei campioni viene ricavata per interpolazione dalla curva standard. La radioattività legata alle provette è direttamente proporzionale alla concentrazione di C-peptide in campioni e calibratori.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Considerazioni generali:

- aprire i flaconi dei calibratori e controlli nel più breve tempo possibile per evitarne l'eccessiva evaporazione,
- Non utilizzare reattivi di lotti diversi.
- Inserire la curva standard in ogni esperimento.
- Eseguire il dosaggio in duplicato.
- Le provette sono monouso.

Norme di radioprotezione

L'acquisto, la detenzione, l'utilizzo e il trasporto di materiale radioattivo sono soggetti a regolamentazione locale. Lo scrupoloso rispetto delle norme per l'uso di sostanze radioattive fornisce una protezione adeguata agli utilizzatori.

- Nei luoghi dove si usano sostanze radioattive non è consentito consumare cibi o bevande, fumare o usare cosmetici.
- Non pipettare materiale radioattivo con pipette a bocca.
- Usare sempre guanti e camici da laboratorio quando si manipola materiale radioattivo.
- Tutte le manipolazioni di sostanze radioattive devono essere fatte in posti appropriati, lontano da corridoi ed altri posti affollati.
- Le sostanze radioattive devono essere conservate in propri contenitori in appositi locali che devono essere interdetti alle persone non autorizzate.
- Deve essere tenuto un registro di carico e scarico del materiale radioattivo.
- Il materiale di laboratorio e la vetreria deve essere dedicato all'uso di isotopi specifici per evitare cross-contaminazioni.
- In caso di contaminazione o dispersione di materiale radioattivo, fare riferimento alle norme locali di radioprotezione.
- I rifiuti radioattivi devono essere smaltiti secondo le norme locali di radioprotezione.

Sodio azide

Alcuni reattivi contengono sodio azide come conservante, che può reagire con piombo, rame o ottone presenti nelle tubature di scarico per formare metallo-azidi esplosive. Smaltire questi reattivi facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi.

Materiale di origine umana

Manipolare tutti i campioni di sangue come potenziali fonti di infezioni. (Ad es. epatite o AIDS). I rifiuti devono essere smaltiti secondo le disposizioni legislative e la regolamentazione vigente in ciascun Paese.

CLASSIFICAZIONE PERICOLI GHS

Wash Solution (20X) PERICOLO



H360	Può nuocere alla fertilità o al feto.
P201	Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.
P280	Indossare guanti/indumenti protettivi e proteggere gli occhi/il viso.
P308+P313	IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico. Acido borico 0,1-0,3% Sodio borato decaidrato 0,1-0,3%

SDS

La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile su techdocs.beckmancoulter.com

RACCOLTA, MANIPOLAZIONE, DILUIZIONE E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Raccolta di campioni di siero o plasma

- Raccogliere i campioni in provette senza anticoagulante o in provette con EDTA.
- Separare per centrifugazione il siero o il plasma dalla parte corpuscolata.
- I campioni possono essere conservati fino a 24 ore a 2-8 °C o, suddivisi in aliquote, a < -20 °C fino ad 2 mesi o a < -70 °C fino ad un anno. Evitare ripetuti cicli di congelamento – scongelamento dei campioni. Lo scongelamento deve avvenire a temperatura ambiente.
Il C-peptide è una molecola particolarmente instabile nei liquidi biologici e subisce una considerevole degradazione già nei primi giorni dopo il prelievo. Attenersi strettamente alle modalità consigliate di conservazione dei campioni.
- Campioni con concentrazioni di C-peptide superiori a quelle dello calibratore a concentrazione più elevata devono essere diluiti con il tampone di diluizione.

Sono stati confrontati i valori di siero e di plasma-EDTA di 20 campioni (valori del siero compresi nel range da 576,1 a 3.739 pM), usando il kit IM3639 C-Peptide IRMA. Sono stati ottenuti i risultati seguenti.

[Plasma-EDTA] = 0,9623[siero] + 49,99;

r = 0,9960

Raccolta delle urine

- Raccogliere in un contenitore le urine delle 24 ore.
- Determinare il volume delle urine.
- Centrifugare o filtrare prima del saggio, se necessario.
- I campioni possono essere conservati fino a 24 ore a 2-8 °C o, suddivisi in aliquote, a -18 °C o a temperature inferiori per periodi più lunghi (fino ad un anno). Evitare ripetuti cicli di congelamento – scongelamento dei campioni. Lo scongelamento deve avvenire a temperatura ambiente.
- La concentrazione di C-peptide nelle urine è solitamente superiori a quelle dello calibratore a concentrazione più elevata. Diluire le urine 1:21 con tampone di diluizione (ad es. 25 µL di urine + 500 µL di tampone di diluizione).

MATERIALI FORNITI

I reattivi, conservati a 2-8 °C, sono stabili fino alla data di scadenza riportata sul kit. Le date di scadenza riportate sulle etichette di ciascun flacone si riferiscono alla conservazione dei reattivi stabilita in produzione, prima del loro inserimento nel kit.

Le modalità di conservazione dei reagenti dopo la ricostituzione o la diluizione sono indicate nel paragrafo Procedura.

Provette sensibilizzate con anticorpo anti-C-peptide: 2 x 50 provette (pronte per l'uso).

Anticorpo monoclonale anti-C-peptide-¹²⁵I: un flacone (17 mL) (pronto per l'uso).

Il flacone contiene 640 kBq, alla data di marcatura, di immunoglobuline marcate con ¹²⁵I in tampone con BSA, sodio azide (<0,1%) e un colorante inerte.

C-peptide, tampone di diluizione (C-peptide – Buffer): un flacone (25 mL) (pronto per l'uso).

Il flacone contiene albumina bovina e sodio azide (<0,1%).

Calibratori: Sei flaconi (liofilizzati)

I flaconi contengono calibratori a concentrazioni comprese tra 0 e circa 6400 pmol/L; gli calibratori sono liofilizzati in albumina bovina con sodio azide (<0,1%). L'esatta concentrazione degli calibratori è riportata sulle etichette dei flaconi. Gli calibratori sono calibrati contro lo standard internazionale WHO IRR C-Peptide 84/510.

Sieri di controllo: Due flaconi (liofilizzati)

Il flaconi contengono C-peptide a due livelli in siero bovino con sodio azide (<0,1%). I valori attesi sono riportati sul foglio del controllo di qualità.

Soluzione di lavaggio (20x): Un flacone 50 mL

Soluzione concentrata da diluire prima dell'uso.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Oltre alla normale attrezzatura da laboratorio, è richiesto il materiale seguente:

- micropipette di precisione (25 µL; 50 µL)
- pipette semi-automatiche (150 µL)
- agitatore tipo vortex.
- agitatore oscillante per provette (> 280 rpm).
- sistema di aspirazione.
- contatore gamma programmato per leggere ¹²⁵I.

RISULTATI

Le concentrazioni di C-peptide in campioni e controlli vengono calcolate per interpolazione sulla curva standard. Campioni e controlli devono essere dosati insieme ai calibratori.

Curva standard

I risultati registrati dal reparto responsabile del controllo di qualità sono stati calcolati utilizzando l'adattamento della curva con metodo *spline* con radioattività determinata ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) sull'asse verticale logaritmico e la concentrazione di analiti dei calibratori sull'asse orizzontale logaritmico (pM).

Altri metodi di interpolazione dati possono dare risultati leggermente differenti.

Attività totale: 227.129 cpm				
Calibratori	C-peptide (pM)	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{cal} - cpm_{cal0}$
0	0	53	0,02	-
1	32	985	0,43	932
2	103	2.935	1,29	2.882
3	375	10.863	4,78	10.810
4	1.530	42.652	18,78	42.599
5	6.100	118.237	52,06	118.184

(Esempio di curva standard. Non usare per calcolare il valore dei propri campioni)

Campioni

Per ogni campione, individuare il cpm o il valore B/T sull'asse verticale e leggere la concentrazione dell'analita corrispondente sull'asse orizzontale espressa.

Le concentrazioni di campioni diluiti devono essere corrette dal fattore di diluizione.

Fattore di conversione per passare da pmol/L (pM) a ng/mL: Moltiplicare i risultati per **0.003**.

Escrezione di urine nelle 24 ore

Per calcolare l'escrezione di urine nelle 24 (diluite 1:21), usare la seguente formula:

$$\text{C-Peptide (nmol/24ore)} = \frac{\text{concentrazione misurata (pM)} \times 21 \times V}{1000}$$

dove V = volume delle urine delle 24 ore (in litri)

VALORI ATTESI

Ogni laboratorio deve stabilire i propri limiti di riferimento in campioni provenienti da soggetti caratterizzati clinicamente. Si prega di considerare solo come guida i valori sotto riportati.

Sieri

- Sono stati dosati campioni di siero da 156 soggetti apparentemente sani.

	Mean	Media	Deviazione Standard (DS)	Min-Max
pM	519	471	255	32,6-1.458
ng/mL	1,56	1,41	0,766	0,098-4,380

L'intervallo dei valori ottenuti (95° percentile) è stato **160-1100 pM** (0,48-3,30 ng/mL).

- Nella tabella successiva sono riportate, come esempio, le medie dei livelli di C-peptide dopo curva da carico orale con glucosio (OGTT) di 12 soggetti in giovane età.

Tempo (min)	C-peptide (pM) Media ± 1 DS	C-peptide (ng/mL) Media ± 1 DS
0	520 ± 169	1,56 ± 0,507
35	2.274 ± 1.116	6,82 ± 3,348
65	3.067 ± 987	9,20 ± 2,961
95	3.488 ± 1.038	10,46 ± 3,114
125	3.008 ± 593	9,02 ± 1,779

Urine

- Sono stati dosati 48 campioni delle prime urine del mattino e 20 campioni delle urine raccolte nelle 24 ore.

	Mean	Deviazione standard	Range atteso
Prime urine del mattino (nmol/L)	20,12	16,70	1,22 - 66,39
Raccolta delle urine delle 24 ore (nmol/24 ore)	23,13	12,77	7,76 - 49,38

CONTROLLO DI QUALITÀ

Si consiglia ad ogni laboratorio di dosare regolarmente campioni di controllo per verificare la qualità dei risultati ottenuti. Questi campioni devono essere manipolati esattamente come i campioni in esame; i risultati devono essere analizzati con metodi statistici appropriati.

In caso il kit fosse danneggiato o i dati ottenuti mostrino un'alterazione della performance, si prega di contattare il distributore locale o di scrivere al indirizzo e-mail seguente: imunochem@beckman.com

PROCEDURA

Preparazione e conservazione dei reattivi

Portare i reattivi a temperatura ambiente.

Ricostituzione degli calibratori

Ricostituire il contenuto dei flaconi con il volume di acqua distillata riportato sull'etichetta di ciascun flacone. Lasciar riposare per almeno 10 minuti e controllare la completa dissoluzione del liofilizzato invertendo più volte i flaconi. Gli calibratori ricostituiti sono stabili 1 settimana a 2-8 °C e a -18 °C o a temperature inferiori per periodi più lunghi o fino alla scadenza del kit.

Ricostituzione dei sieri di controllo

Ricostituire il contenuto dei flaconi con il volume di acqua distillata riportato sull'etichetta di ciascun flacone. Lasciar riposare per almeno 10 minuti e controllare la completa dissoluzione del liofilizzato invertendo più volte i flaconi. I controlli ricostituiti sono stabili 24 ore a 2-8 °C e a -18 °C o a temperature inferiori per periodi più lunghi o fino alla scadenza del kit.

Preparazione della soluzione di lavaggio

Diluire il contenuto del flacone con 950 mL e agitare con cura. La soluzione diluita è stabile a 2-8 °C fino alla scadenza del kit.

Prima dell'uso lasciare equilibrare i reattivi a temperatura ambiente.

Fase 1 Dispensazione*	Fase 2 Incubazione	Fase 3 Conteggio
Aggiungere in successione alle provette sensibilizzate: 50 µL di calibratori, controlli, campioni (siero, plasma o urine pre-diluite) e 150 µL di marcato. Mescolare.	Incubare 2 ore a 18-25 °C in agitazione (> 280 rpm).	Aspirare con cura il contenuto delle provette (eccetto le 2 provette per l'attività totale). Lavare 2 volte con 2 mL di soluzione di lavaggio. Contare la radioattività legata (B) e l'attività totale (T) per 1 minuto.

*Aggiungere 150 µL di marcato a 2 provette non sensibilizzate per la determinazione dell'attività totale.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

(ulteriori dati sono riportati in APPENDICE)

Vengono forniti dati rappresentativi a mero scopo illustrativo. I risultati possono variare da laboratorio a laboratorio.

Sensibilità

Sensibilità analitica: 3,79 pM (0,011 ng/mL)

Sensibilità funzionale: 13,9 pM (0,042 ng/mL)

Specificità

Non sono state trovate cross-reazioni con insulina, polipeptide pancreatico 3% (in peso, equivalente al 10% su base molare).

Precisione

Intra-saggio

Alcuni campioni sono stati analizzati 25 volte in uno stesso esperimento. Per i campioni di siero è stato trovato un coefficiente di variazione del 3,1% o inferiore, per le urine del 3,2% o inferiore.

Inter-saggio

Alcuni campioni sono stati analizzati in duplicato in 10 esperimenti differenti. Per i campioni di siero è stato trovato un coefficiente di variazione del 5,2% o inferiore, per le urine del 4,8% o inferiore.

Accuratezza

Test di diluizione

Alcuni campioni ad alta concentrazione di C-peptide sono stati diluiti con diluizioni seriali con il tampone di diluizione. Il recupero è risultato essere compreso tra 96% e 114% per i campioni di siero e tra 86% e 105% per i campioni di urine.

Test di recupero

Ad alcuni campioni a bassa concentrazione di C-peptide sono state aggiunte quantità note di C-peptide. Il recupero è risultato essere compreso tra 83% e 105% per i campioni di siero e tra 80% e 104% per i campioni di urine.

Campo di misura (è compreso tra la concentrazione della sensibilità analitica alla concentrazione del calibratore più elevato): 3,79 e circa 6.400 pM.

LIMITAZIONI

Rispettare accuratamente le istruzioni d'uso per evitare risultati aberranti. I risultati ottenuti con questo dosaggio devono essere interpretati con un software dedicato, insieme ai dati clinici e ad altri dati di laboratorio o strumentali.

Non usare campioni emolizzati, itterici o lipemici.

Non si verifica **effetto hook** per campioni a concentrazione inferiore o uguale a 50 000 pmol/L. Diluire i campioni con sopetto clinico di avere valori elevati di C-peptide con tampone di diluizione. Moltiplicare il valore ottenuto per l'eventuale fattore di diluizione.

Nei test anticorpali, esiste la possibilità di interferenza degli anticorpi eterofili presenti nei campioni dei pazienti. I pazienti regolarmente a contatto con animali o sottoposti a immunoterapia o a procedure diagnostiche a base di immunoglobuline o frammenti di immunoglobuline possono produrre anticorpi, p.e. HAMA, che interferiscono con gli immunodosaggi.

Tali anticorpi interferenti possono portare a risultati errati. Valutare attentamente i risultati di pazienti che potrebbero presentare questi anticorpi.

C-peptide IRMA KIT

REF IM3639

ANÁLISIS INMUNORADIOMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN IN VITRO DEL PÉPTIDO-C EN SUERO EN PLASMA U ORINA HUMANOS

Para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO

El análisis inmunoradiométrico del péptido-C es de tipo "sandwich". En el equipo se utilizan dos anticuerpos monoclonales de ratón dirigidos contra dos epítopes diferentes del péptido-C.

Los calibradores, los testigos y las muestras desconocidas se incuban en tubos recubiertos con el primer anticuerpo monoclonal en presencia del segundo anticuerpo monoclonal el cual está marcado con I125.

Después de la incubación se aspira el contenido de los tubos y estos se lavan para retirar el anticuerpo marcado con I¹²⁵ pero no enlazado. Se determina la actividad enlazada mediante un contador gamma. Las concentraciones del péptido-C en las muestras son obtenidas por interpolación a partir de una curva estándar, las cuales son directamente proporcionales a la radiactividad medida.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Precauciones generales

- Los viales de los calibradores y controles deben ser abiertos durante el menor tiempo posible, para así evitar evaporaciones excesivas.
- No mezclar los reactivos de lotes diferentes.
- Incluir una curva estándar en cada ensayo.
- Se recomienda realizar el ensayo por duplicado.
- Cada tubo debe estar utilizado solamente una vez.

Reglas básicas de seguridad radiológica

La compra, posesión, uso y transferencia de material radiactivo están sujetos de las disposiciones legales del país en el que se utiliza. El cumplimiento de las normas básicas de seguridad radiológica proporciona una protección adecuada.

- No se debe comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en presencia de materiales radiactivos.
- No pipetear las soluciones radiactivas con la boca.
- Evitar cualquier contacto con materiales radiactivos mediante el uso de guantes y bata de laboratorio.
- Toda manipulación de material radiactivo debe realizarse en el lugar adecuado, alejado de corredores y espacios ocupados.
- Los materiales radiactivos deben almacenarse en el contenedor aprobado en una zona especializada.
- Se debe llevar y conservar actualizado un registro de las entradas y almacenamiento de todos los productos radiactivos.
- El equipo y material de vidrio de laboratorio que son objeto de contaminación se deben separar para evitar la contaminación con otros radioisótopos.
- Cada caso de contaminación radiactiva, o de pérdida de materiales radiactivos se debe resolver de acuerdo con los procedimientos establecidos.
- El desecho radiactivo debe manipularse de acuerdo a las reglas establecidas por el país donde se utiliza.

Azida de sodio

Algunos reactivos contienen azida de sodio como conservador. La azida de sodio puede reaccionar con el plomo, el cobre y el bronce para formar azidas metálicas explosivas. Deseche los reactivos a través del sistema de drenaje mediante lavado con grandes cantidades de agua.

Material de origen humano

Todas las muestras de suero y plasma deben manejarse como si fueran capaces de transmitir enfermedades (ej. hepatitis o SIDA). Por lo tanto los residuos se deberán eliminar de acuerdo con las reglamentaciones de las agencias autorizadas que tengan jurisdicción sobre el laboratorio, y con las normativas de cada país.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

Wash Solution (20X) PELIGRO



H360

Puede perjudicar a la fertilidad o dañar al feto.

P201

Procurarse las instrucciones antes del uso.

P280

Use guantes, ropa y equipo de protección para los ojos y la cara.

P308+P313

EN CASO DE exposición confirmada o supuesta: consultar a un médico.
Acido bórico 0,1-0,3%
di-Sodio tetraborato decahidrato 0,1-0,3%

SDS

La hoja de datos de seguridad está disponible en techdocs.beckmancoulter.com

RECOLECCIÓN, PROCESAMIENTO, ALMACENAMIENTO Y DILUCION DE LAS MUESTRAS

Colección de muestras de suero y plasma

- Recolectar la sangre en tubos secos o en tubos que contengan EDTA.
- Separar el suero o el plasma de las células mediante centrifugación.
- Si el análisis habrá de realizarse dentro de las 24 horas siguientes las muestras pueden almacenarse entre 2 y 8 °C. Para un periodo mayor almacenar (a < -20 °C 2 meses máximo o a < -70 °C, 1 año máximo); después de preparar alícuotas para evitar el congelamiento y la descongelación repetidos de las muestras. La descongelación de las muestras debe realizarse a temperatura ambiente.
El péptido-C humano es una molécula relativamente inestable en suero o en plasma líquidos (en unos cuantos días ya es posible observar una degradación considerable). Apegarse estrictamente a la recomendación que se hace sobre su almacenamiento.
- Si las muestras se encuentren en concentraciones más altas a aquellas de los calibradores, diluirlas con el amortiguador de dilución.

Se compararon los valores en suero y, plasma con EDTA de 20 muestras (valores séricos de 576.1 a 3739 pM) utilizando el equipo IM3639 C-Peptide IRMA. Los resultados fueron los siguientes:

[Plasma con EDTA] = 0.9623[suero] + 49.99;

r = 0.9960

Colección de las muestras de orina

- Colectar la orina de 24 horas en un frasco
- Determinar el volumen
- Centrifugar o filtrar antes del análisis, si es necesario.
- Las muestras de orina pueden almacenarse a 2-8 °C si el análisis se realiza en las 24 horas, sino es preferible conservarlas congeladas, preferentemente en alícuotas (< -18 °C, 1 año máximo) con el fin de evitar congelaciones y descongelaciones sucesivas. La descongelación de las muestras debe realizarse a temperatura ambiente.
- Con frecuencia el contenido de péptido-C en las muestras de orina excede 6000 pM. Por tanto, se recomienda una dilución de 1:21 con el amortiguador de dilución; por ejemplo, 25 µL de orina deben diluirse con 500 µL de amortiguador de dilución.

MATERIALES PROPORCIONADOS

Todos los reactivos son estables entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad del equipo indicada en las etiquetas. Las fechas de caducidad impresas sobre las etiquetas de los frascos son válidas sólo para el fabricante, durante su almacenamiento a largo plazo hasta antes del ensamblaje del equipo. No tener en cuenta.

Las condiciones de conservación de los reactivos después de la reconstitución o dilución se indican en el apartado Procedimiento.

Tubos recubiertos con anticuerpo monoclonal anti-péptido-C: 2 x 50 piezas (listos para su uso)

Anticuerpo monoclonal anti-péptido-C marcado con I¹²⁵: 1 frasco de 17 mL (listo para su uso).

El frasco contiene 640 kBq (en la fecha de fabricación) de inmonoglobulinas marcadas con I¹²⁵ en amortiguador con albumina de suero bovino, azida de sodio (< 0,1 %), y un colorante.

Amortiguador de dilución para el péptido-C: un frasco de 25 mL (listo para su uso)

La solución contiene albúmina sérica bovina y azida de sodio (<0,1 %).

Calibradores: 6 frascos (liofilizados).

Los frascos calibradores contienen desde 0 hasta aproximadamente 6400 pM de péptido-C en amortiguador con albúmina de suero de bovino y azida de sodio (<0,1 %). Las concentraciones precisas se manifiestan en las etiquetas de los frascos. Los calibradores fueron calibrados contra el estándar internacional IRR C-Peptide 84/510, de la Organización Mundial de la Salud.

Suero control: 2 frascos (liofilizados)

Los frascos contienen suero bovino liofilizado y azida de sodio (<0,1 %). Los valores esperados se encuentran en el intervalo de concentración que se indican en el suplemento.

Solución de lavado (20x): un frasco de 50 mL

La solución concentrada debe diluirse antes de su uso.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS

Además del equipo normal de laboratorio se requiere lo siguiente:

- Micropipetas de precisión (50 µL; 25 µL).
- Pipeta semiautomática (150 µL).
- mezclador tipo vórtex.
- Agitador horizontal u orbital (> 280 rpm).
- sistema de aspiración.
- Contador gamma calibrado para I¹²⁵.

RESULTADOS

Los resultados se obtienen por interpolación con la curva estándar. La curva sirve para determinar la concentración del péptido-C en las muestras medidas al mismo tiempo que los calibradores.

Curva estándar

Los resultados del departamento de control de calidad se calcularon usando el ajuste de curva *spline* con radioactividad determinada ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) en el eje logarítmico vertical y la concentración de analitos de los calibradores en el eje logarítmico horizontal (pM).

Otros métodos de reducción de datos pueden dar resultados ligeramente diferentes.

Actividad total: 227 129 cpm				
Calibradores	Péptido-C (pM)	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{cal} - cpm_{cal0}$
0	0	53	0,02	-
1	32	985	0,43	932
2	103	2935	1,29	2882
3	375	10 863	4,78	10 810
4	1530	42 652	18,78	42 599
5	6100	118 237	52,06	118 184

(Ejemplo de curva estándar, no utilizar para los cálculos)

Muestras

En cada muestra, localice los cpm o el valor B/T del eje vertical y lea la concentración del analito correspondiente en el eje horizontal.

Las concentraciones de muestras diluidas deben corregirse con el factor de dilución.

Para convertir pmol/L (pM) en ng/mL, multiplicar los resultados por **0.003**.

Excreción de orina de 24 horas.

Para las orinas diluidas (dilución 1:21) debe utilizarse la fórmula siguiente en la determinación de la excreción de péptido-C en 24 horas:

$$\text{Péptido-C (nmol/24h)} = \frac{\text{concentración medida (pM)} \times 21 \times V}{1000}$$

donde, V = volumen de orina en 24 horas expresado en litros.

VALORES ESPERADOS

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia. Los valores que se muestran a continuación fueron obtenidos de sujetos sanos y deben de considerarse solo como orientativos

Sueros

- Se analizaron muestras de suero de 156 personas saludables.

	Media	Mediana	Desviación estándar (DE)	Mín - Máx
pM	519	471	255	32,6-1458
ng/mL	1,56	1,41	0,766	0,098-4,380

El rango percentil 95 fue **160-1100 pM** (0,48-3,30 ng/mL).

- En la siguiente tabla se muestra como ejemplo el promedio de las concentraciones de péptido-C en el OGTT de 11 personas jóvenes y saludables.

Tiempo (min)	Péptido-C (pM) promedio ± 1 DE	Péptido-C (ng/mL) promedio ± 1 DE
0	520 ± 169	1,56 ± 0,507
35	2274 ± 1116	6,82 ± 3,348
65	3067 ± 987	9,20 ± 2,961
95	3488 ± 1038	10,46 ± 3,114
125	3008 ± 593	9,02 ± 1,779

Orinas

- Se analizaron 48 muestras de la primera orina matutina y 20 muestras de colecciones de 24 horas.

	Media	Desviación estándar	Rango esperado
Primera orina matutina (nmol/L)	20,12	16,70	1,22 - 66,39
Colección de orina de 24 horas (nmol/24 h)	23,13	12,77	7,76 - 49,38

CONTROL DE CALIDAD

La obtención de óptimos resultados implica que las muestras testigo sean usadas en cada serie de experimentos para asegurar la calidad de los resultados obtenidos. Dichas muestras testigo deben ser procesadas de la misma manera que las muestras a analizar. Es recomendado que los resultados sean analizados utilizando los métodos estadísticos apropiados.

En caso de detectar un deterioro en el empaque del producto ó que los resultados expresen una alteración en las características del mismo, contactar con el Distribuidor local ó notificar a la dirección de e-mail: imunochem@beckman.com

PROCEDIMIENTO

Preparación de los reactivos

Permita que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente.

Reconstitución de los calibradores

Reconstituir el contenido de los frascos con el volumen de agua destilada señalado en la etiqueta. Después de la reconstitución, esperar 10 minutos y agitar vigorosamente para evitar la formación de burbujas antes de repartir la solución en los tubos. Almacenar las soluciones reconstituidas entre 2-8 °C si se utilizan en una semana o a < -18 °C si se requiere utilizarlas después de un periodo mayor, hasta la fecha de caducidad del equipo.

Reconstitución de las muestras Controles.

Reconstituir el contenido de los frascos con el volumen de agua destilada señalado en la etiqueta. Después de la reconstitución, esperar 10 minutos y agitar vigorosamente para evitar la formación de burbujas antes de repartir

la solución en los tubos. Almacenar las soluciones reconstituidas entre 2-8 °C si se utilizan en un día o en alícuotas a < -18 °C si se requiere utilizarlas después de un periodo mayor, hasta la fecha de caducidad del equipo.

Preparación de la solución de lavado

Verter el contenido de un frasco en 950 mL de agua destilada y homogeneizar. La solución diluida se puede almacenar entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad del equipo.

Permitir que los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de su uso.

Paso 1 Adiciones*	Paso 2 Incubación	Paso 3 Contaje
A los tubos recubiertos agregar sucesivamente 50 µL de calibradores controles o de muestras (suero, plasma, orina pre-diluida) 150 µL de trazador. Mezclar.	Incubar 2 horas entre 18-25 °C en movimiento (>280 rpm).	Aspirar cuidadosamente el contenido de los tubos (excepto el de los dos tubos "cpm total"). Lavar dos veces con 2 mL de solución de lavado. Contar las cpm enlazadas (B) y de las cpm totales (T) durante 1 minuto.

*Adicionar 150 µL de trazador a 2 tubos adicionales para obtener las cpm totales

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

(para mayores detalles ver la página de "APENDICES")

Se facilitan datos representativos solo a modo de ejemplo. El rendimiento obtenido en los distintos laboratorios puede variar.

Sensibilidad

Sensibilidad Analítica: 3,79 pM (0,011 ng/mL)

Sensibilidad funcional: 13,9 pM (0,042 ng/mL)

Especificidad

No se observaron niveles de reacción cruzada con insulina, polipéptido pancreático, somatostatina o glucagón. La reacción cruzada con proinsulina es de solo 3 % (p/p, equivalente a 10 % en una base molar).

Precisión

Intra- ensayo

Las muestras se evaluaron 25 veces en las mismas series. Los coeficientes de variación fueron iguales o por debajo de 3,1 % para las muestras de suero y de 3,2 % para las muestras de orina.

Inter-análisis

Las muestras se evaluaron en duplicado en 10 series diferentes. Los coeficientes de variación fueron iguales o por debajo de 5,2 % para las muestras de suero y de 4,8 % para las muestras de orina.

Precisión

Prueba de dilución

Las muestras altamente concentradas se diluyeron serialmente con el amortiguador de dilución. Los porcentajes recuperados fueron entre 96 % y 114 % para las muestras de suero y entre 86 % y 105 % para las muestras de orina.

Prueba de recuperación

Las muestras de orina y suero se regularon con concentraciones conocidas de péptido-C. Los porcentajes recuperados fueron entre 83 % y 105 % para las muestras de suero y entre 80 % y 104 % para las muestras de orina.

Rango de medida (a partir de la sensibilidad analítica del calibrador más alto): desde 3.79 hasta aproximadamente 6400 pM.

LIMITACIONES

El no respetar las instrucciones de uso puede afectar significativamente a los resultados. Los resultados deben ser interpretados con la luz de la presentación clínica total del paciente, incluyendo su historia clínica, los datos de pruebas adicionales y las otras informaciones apropiadas.

No utilice muestras hemolizadas, ictericas o lipémicas.

Puede aparecer un "efecto Hook" en las muestras de este equipo IRMA que contengan una concentración de péptido-C igual o mayor que 50 000 pM. Las muestras que, de acuerdo a indicios clínicos, están a concentraciones muy altas deben diluirse con el amortiguador de dilución. Los valores obtenidos deben corregirse con el factor de dilución.

En los ensayos en los que se utilizan anticuerpos existe la posibilidad de que se produzcan interferencias debido a la presencia de anticuerpos heterófilos en la muestra del paciente. Los pacientes que hayan estado en contacto regularmente con animales o hayan recibido inmunoterapia o procedimientos diagnósticos con inmunoglobulinas o fragmentos de inmunoglobulinas pueden producir anticuerpos, p.ej. HAMA, que interfieren con los inmunoensayos.

Esos anticuerpos que crean interferencias pueden causar resultados erróneos. Evaluar cuidadosamente los resultados de los pacientes que se sospeche que puedan tener esos anticuerpos.

C-peptide IRMA KIT

REF IM3639

ΑΝΟΣΟΡΑΔΙΟΜΕΤΡΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΓΙΑ ΤΟΝ IN VITRO ΠΟΣΟΤΙΚΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΟΥ C-ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΟ, ΤΟ ΠΛΑΣΜΑ ΚΑΙ ΤΑ ΟΥΡΑ Για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Η ανοσοραδιομετρική εξέταση του C-πεπτιδίου είναι εξέταση τύπου σάντουιτς. Το ίδιο kit μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μέτρηση του C-πεπτιδίου είτε απευθείας στον ορό και το πλάσμα είτε στα ούρα, έπειτα από αραιώση.

Στο kit χρησιμοποιούνται μονοκλωνικά αντισώματα ποντικού κατά δύο διαφορετικών επιτόπων του C-πεπτιδίου και επομένως μη ανταγωνιστικά.

Ο ορός, το πλάσμα ή τα αραιωμένα δείγματα ούρων, τα δείγματα ελέγχου και τα βαθμονομητές, επωάζονται σε σωληνάρια επιστρωμένα με το πρώτο μονοκλωνικό αντίσωμα υπό την παρουσία του δεύτερου μονοκλωνικού αντισώματος, το οποίο είναι επισημασμένο με Ιώδιο 125. Μετά την επώαση αποχύνεται το περιεχόμενο και τα σωληνάρια ξεπλένονται έτσι ώστε να απομακρυνθεί όλο το μη δεσμευμένο επισημασμένο αντίσωμα. Στη συνέχεια μετράται η δεσμευμένη ραδιενέργεια σε gamma counter. Οι συγκεντρώσεις του C-πεπτιδίου προκύπτουν από παρεμβολή στην πρότυπη καμπύλη. Η συγκέντρωση του C-πεπτιδίου των δειγμάτων είναι ευθέως ανάλογη με τη ραδιενέργεια.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Γενικές παρατηρήσεις:

- Τα φιαλίδια των ορών βαθμονόμησης και των ορών ελέγχου πρέπει να ανοίγονται όσο το δυνατόν λιγότερο, προς αποφυγήν εξατμίσεως του περιεχομένου.
- Μην ανακατεύετε αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες.
- Κάνετε ταυτόχρονα την πρότυπη καμπύλη και τον ποσοτικό προσδιορισμό των δειγμάτων.
- Σας συστήνεται να πραγματοποιείτε δύο φορές τον κάθε προσδιορισμό.
- Κάθε σωληνάριο πρέπει να χρησιμοποιηθεί μόνο μια φορά.

Προστασία από την ιονίζουσα ακτινοβολία

Η αγορά, η κατοχή, η χρήση και η μεταφορά του ραδιενεργού υλικού υπόκεινται στους κανονισμούς της χώρας στην οποία το υλικό αυτό χρησιμοποιείται. Η συμμόρφωση με τους βασικούς κανόνες ασφάλειας από την ακτινοβολία παρέχει επαρκή προστασία.

- Υπό την παρουσία ραδιενεργών υλικών, μην καταναλώνετε τρόφιμα ή ποτά, μην καπνίζετε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά.
- Μη χρησιμοποιείτε το στόμα για να πιπιλέσετε τα ραδιενεργά υλικά.
- Αποφύγετε κάθε άμεση επαφή με τα ραδιενεργά υλικά, και χρησιμοποιείτε γάντια και εργαστηριακή ποδιά.
- Κάθε χειρισμός ραδιενεργού υλικού πρέπει να γίνεται σε κατάλληλο χώρο, μακριά από διαδρόμους και άλλα πολυσύχναστα μέρη.
- Το αρχείο παραλαβής και αποθήκευσης ραδιενεργών υλικών πρέπει να είναι πάντα ενημερωμένο.
- Το αρχείο παραλαβής και αποθήκευσης ραδιενεργών υλικών πρέπει να είναι πάντα ενημερωμένο.
- Ο εργαστηριακός εξοπλισμός ή τα γυάλινα σκεύη που έχουν μολυνθεί από ραδιενεργά υλικά πρέπει να απομονώνονται, προκειμένου να αποφευχθεί μόλυνση από διαφορετικά ραδιοϊσότοπα.
- Κάθε περίπτωση ραδιενεργής μόλυνσης ή απώλειας ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να επιλύεται με βάση τις ισχύουσες διαδικασίες.
- Ο χειρισμός των ραδιενεργών αποβλήτων πρέπει να ακολουθεί τους κανονισμούς της χώρας στην οποία χρησιμοποιείται το ραδιενεργό υλικό.

Αζίδιο του Νατρίου

Κάποια αντιδραστήρια περιέχουν αζίδιο του Νατρίου ως συντηρητικό. Το αζίδιο του Νατρίου μπορεί να αντιδράσει με το χαλκό ή το μόλυβδο προς το σχηματισμό εκρηκτικών αζιδίων των μετάλλων. Η απόρριψη των αντιδραστηρίων πρέπει να γίνεται μέσα από το υδραυλικό σύστημα, χρησιμοποιώντας μεγάλες ποσότητες νερού.

Υλικό ανθρώπινης προέλευσης

Όλα τα δείγματα ορού και πλάσματος πρέπει να τα χειρίζεστε ως ικανά να μεταδώσουν ηπατίτιδα ή AIDS. Κάθε σωληνάριο πρέπει να χρησιμοποιηθεί μόνο μια φορά.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ ΠΕΣ

Wash Solution (20X)

ΚΙΝΔΥΝΟΣ



H360

P201

P280

P308+P313

Μπορεί να βλάψει τη γονιμότητα ή το έμβρυο. Εφοδιαστείτε με τις ειδικές οδηγίες πριν από τη χρήση. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα και μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/το πρόσωπο. Σε περίπτωση έκθεσης ή πιθανότητας έκθεσης: συμβουλευθείτε/επισκεφθείτε γιατρό. Βορικό οξύ 0,1-0,3% Δεκαένυδρο βορικό νάτριο 0,1-0,3%

SDS

Το Δελτίο δεδομένων ασφάλειας είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση techdocs.beckmancoulter.com

ΣΥΛΛΟΓΗ, ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ, ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΑΡΑΙΩΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Συλλογή δειγμάτων ορού ή πλάσματος

- Συλλέξτε το αίμα σε στεγνά σωληνάρια, ή σε σωληνάρια που περιέχουν EDTA.
- Διαχωρίστε τον ορό ή το πλάσμα από τα κύτταρα με φυγοκέντρηση.
- Τα δείγματα ορού ή πλάσματος μπορούν να διατηρηθούν στους 2-8 °C, αν η εξέταση πρόκειται να γίνει μέσα σε 24 ώρες. Για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα, είναι προτιμότερο να διατηρούνται στην κατάψυξη (< -20 °C, για 2 μήνες το πολύ ή < -70 °C, για 1 χρόνο το πολύ) και κατά προτίμηση χωρισμένα σε μικρότερες ποσότητες, ώστε να αποφεύγεται η επαναλαμβανόμενη κατάψυξη και απόψυξη. Η απόψυξη των δειγμάτων πρέπει να γίνεται σε θερμοκρασία δωματίου. *Καθώς το ανθρώπινο C-πεπτίδιο είναι σχετικά ασταθές μόριο σε υγρό ορό ή πλάσμα (η αισθητή αποικοδόμηση μπορεί να παρατηρηθεί μέσα σε διάστημα λίγων ημερών), η σχετική με την αποθήκευση σύσταση πρέπει να τηρηθεί αυστηρά.*
- Αν τα δείγματα που έχουν αναλυθεί έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση από το βαθμονομητο με την υψηλότερη συγκέντρωση, πρέπει να αραιωθούν στο ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσεως.

Τιμές ορού και EDTA πλάσματος από 20 δείγματα (δείγματα ορού κυμαίνονται από 576.1 μέχρι 3.739 pM) συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας IM3639 C-Peptide IRMA αντιδραστήριο. Τα αποτελέσματα παραθέτονται παρακάτω:

[πλάσμα] = 0.9623[ορός] + 49.99;

r = 0.9960

Συλλογή των δειγμάτων των ούρων

- Συλλέξτε ούρα 24 ωρου σε ένα δοχείο.
- Μετρήστε και καταγράψτε τον τελικό όγκο.
- Φυγοκεντρήστε ή φιλτράρετε πριν από την εξέταση, αν είναι απαραίτητο.
- Τα δείγματα ούρων μπορούν να διατηρηθούν στους 2-8 °C, αν η εξέταση πρόκειται να γίνει σε 24 ώρες. Για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα, είναι προτιμότερο να διατηρούνται στην κατάψυξη (< -18 °C, για 1 χρόνο) και κατά προτίμηση χωρισμένα σε μικρότερες ποσότητες, ώστε να αποφεύγεται η επαναλαμβανόμενη κατάψυξη και απόψυξη. Η απόψυξη των δειγμάτων πρέπει να γίνεται σε θερμοκρασία δωματίου.
- Το περιεχόμενο του C-πεπτιδίου στα ούρα υπερβαίνει συχνά το βαθμονομητο με την υψηλότερη συγκέντρωση. Κατά συνέπεια

συστήνεται αραιώση 1:21 με το ρυθμιστικό αραιώσης, π.χ. 25 µL ούρων πρέπει να αραιωθούν με 500 µL ρυθμιστικού αραιώσης.

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

Όλα τα αντιδραστήρια είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του kit, όταν αποθηκεύονται σε θερμοκρασία 2-8 °C. Οι ημερομηνίες λήξης που αναγράφονται στις ετικέτες των φιαλιδίων αφορούν αποκλειστικά στη μακροπρόθεσμη αποθήκευση των αντιδραστηρίων από τον κατασκευαστή, πριν από τη συναρμολόγηση του kit. Να μη λαμβάνονται υπόψη.

Οι συνθήκες αποθήκευσης των αντιδραστηρίων μετά από ανασύσταση ή αραιώση αναφέρονται στην παράγραφο «Διαδικασία».

Σωληνάρια επιστρωμένα με αντίσωμα κατά του C-πεπτιδίου: 2 x 50 σωληνάρια (έτοιμα προς χρήση).

Μονοκλωνικό αντίσωμα κατά του C-πεπτιδίου επισημασμένο με ¹²⁵I: 1 φιαλίδιο των 17 mL (έτοιμο προς χρήση).

Το φιαλίδιο περιέχει, την ημέρα που παρασκευάζεται, 640 kBq επισημασμένων με ¹²⁵I ανοσοσφαιρινών, σε ρυθμιστικό που περιέχει αλμπουμίνη βοδινού ορού, αζίδιο του Νατρίου (<0,1%), και μια χρωστική.

Ρυθμιστικό αραιώσης C-πεπτιδίου (C-peptide – Buffer): 1 φιαλίδιο των 25 mL (έτοιμο προς χρήση).

Το διάλυμα περιέχει αλμπουμίνη βοδινού ορού και αζίδιο του Νατρίου (<0,1%).

Βαθμονομητές: 6 φιαλίδια (λυοφιλημένα)

Τα βαθμονομητές φιαλίδια περιέχουν C-Πεπτιδίο σε συγκεντρώσεις από 0 μέχρι κατά προσέγγιση 6.400 pM C-πεπτιδίου μέσα σε ρυθμιστικό που περιέχει αλμπουμίνη βοδινού ορού και αζίδιο του Νατρίου (<0,1%). Η ακριβής συγκέντρωση αναγράφεται στην ετικέτα κάθε φιαλιδίου. Τα βαθμονομητές που παρέχονται με το kit είναι βαθμονομημένα με βάση το διεθνές πρότυπο WHO IRR C-Peptide 84/510.

Οροί ελέγχου: 2 φιαλίδια (λυοφιλημένα)

Τα φιαλίδια περιέχουν λυοφιλημένο C-πεπτιδίο σε βοδινό ορό με αζίδιο του Νατρίου (<0,1%). Οι αναμενόμενες τιμές κυμαίνονται μεταξύ των συγκεντρώσεων που αναγράφονται σε συμπληρωματικό φυλλάδιο.

Διάλυμα πλύσης (20x): 1 φιαλίδιο των 50 mL

Το συμπυκνωμένο διάλυμα πρέπει να αραιωθεί πριν από τη χρήση.

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Ο απαιτούμενος εργαστηριακός εξοπλισμός, επιπλέον του συνήθους, είναι ο εξής:

- Μικροπιπέτες ακριβείας (50 µL, 25 µL).
- Ημιαυτόματη πιπέτα (150 µL).
- Μίξερ τύπου vortex.
- Shaker με οριζόντια πλατφόρμα παλινδρόμησης ή με πλατφόρμα ταλάντωσης (> 280 rpm).
- Σύστημα απόχυσης.
- gamma counter σει για ¹²⁵I.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα των δειγμάτων υπολογίζονται με παρεμβολή στην πρότυπη καμπύλη. Η καμπύλη χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων C-πεπτιδίου σε δείγματα που μετρώνται ταυτόχρονα με τα βαθμονομητές.

Πρότυπη καμπύλη

Τα αποτελέσματα στο τμήμα ποιοτικού ελέγχου υπολογίστηκαν μέσω προσαρμογής της καμπύλης *spline* με την προσδιορισθείσα ραδιενέργεια ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) στον κατακόρυφο άξονα και τη συγκέντρωση των βαθμονομητών στον οριζόντιο άξονα (pM) της λογαριθμικής κλίμακας.

Άλλες μέθοδοι αναγωγής των δεδομένων μπορεί να δώσουν ελαφρώς διαφορετικά αποτελέσματα.

Ολική ραδιενέργεια: 227.129 cpm				
Βαθμονομητές	C-πεπτιδίο (pM)	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{cal} - cpm_{cal0}$
0	0	53	0,02	-
1	32	985	0,43	932
2	103	2.935	1,29	2.882
3	375	10.863	4,78	10.810
4	1.530	42.652	18,78	42.599
5	6.100	118.237	52,06	118.184

(Παράδειγμα πρότυπης καμπύλης, να μη χρησιμοποιηθεί σε υπολογισμούς)

Δείγματα

Για κάθε δείγμα, εντοπίστε την τιμή cpm ή B/T στον κατακόρυφο άξονα και διαβάστε την αντίστοιχη συγκέντρωση της αναλυόμενης ουσίας στον οριζόντιο άξονα.

Οι συγκεντρώσεις των αραιωμένων δειγμάτων πρέπει να διορθώνονται με τη χρήση του συντελεστή αραιώσης.

Για να μετατρέψετε τις συγκεντρώσεις από pmol/L (pM) σε ng/mL, πολλαπλασιάστε τα αποτελέσματα με το **0.003**.

24ωρη απέκκριση ούρων

Για τα αραιωμένα ούρα (αραιώση 1:21), πρέπει να χρησιμοποιηθεί ο ακόλουθος τύπος για τον υπολογισμό της απέκκρισης C-πεπτιδίου σε ούρα 24ώρου:

$$C\text{-πεπτιδίο (nmol/24h)} = \frac{\text{μετρημένη συγκέντρωση (pM)} \times 21 \times V}{1000}$$

όπου, V = ο όγκος ούρων 24ώρου σε λίτρα.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Προτείνουμε το κάθε εργαστήριο να καθιερώσει τις δικές τους τιμές αναφοράς. Οι τιμές που ακολουθούν προέκυψαν από υγιή άτομα και είναι απλώς ενδεικτικές.

Οροί

- Αναλύθηκαν δείγματα ορού από 156 νηστικά υγιή άτομα.

	Μέσος	Διάμεσος	Τυπική Απόκλιση	Min-Max
pM	519	471	255	32,6-1.458
ng/mL	1,56	1,41	0,766	0,098-4,380

Το εύρος συγκεντρώσεων κατά 95% ήταν **160-1100 pM** (0,48 - 3,30 ng/mL).

- Οι μέσες συγκεντρώσεις C-πεπτιδίου που προέκυψαν σε 12 νεαρά, υγιή άτομα, μετά από δοκιμή στοματικής ανοχής στη γλυκόζη, παρουσιάζονται ενδεικτικά στον παρακάτω πίνακα.

Χρόνος (λεπτά)	C-πεπτιδίο (pM) Μέσος Όρος ± σ	C-πεπτιδίο (ng/mL) Μέσος Όρος ± σ
0	520 ± 169	1,56 ± 0,507
35	2.274 ± 1.116	6,82 ± 3,348
65	3.067 ± 987	9,20 ± 2,961
95	3.488 ± 1.038	10,46 ± 3,114
125	3.008 ± 593	9,02 ± 1,779

Ούρα

- Αναλύθηκαν 48 δείγματα από πρώτα πρωινά ούρα και 20 δείγματα από ούρα 24ώρου.

	Μέσος	Τυπική απόκλιση	ΠΕΔΙΟ ΤΙΜ
Πρώτα πρωινά ούρα (nmol/L)	20,12	16,70	1,22 - 66,39
Ούρα 24ώρου (nmol/24 hrs)	23,13	12,77	7,76 - 49,38

ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Η σωστή εργαστηριακή πρακτική προϋποθέτει την τακτική χρήση δειγμάτων ελέγχου, προκειμένου να διασφαλίζεται η ποιότητα των αποτελεσμάτων. Η επεξεργασία των δειγμάτων αυτών πρέπει να γίνεται με τον ίδιο τρόπο με τον οποίο γίνεται η επεξεργασία των άγνωστων δειγμάτων. Επιπλέον, συστήνεται η ανάλυση των αποτελεσμάτων τους να γίνεται με τη βοήθεια των κατάλληλων στατιστικών μεθόδων.

Σε περίπτωση επιδείνωσης συσκευασίας ή εάν τα αποτελέσματα που προέκυψαν έχουν τροποποίηση απόδοσης, παρακαλώ ελάτε σε επαφή

με τον τοπικό διανομέα σας ή χρησιμοποιήστε την ακόλουθη διεύθυνση ηλεκτρονικού ταχυδρομείου: imunochem@beckman.com

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Προετοιμασία και αποθήκευση των αντιδραστηρίων

Αφήστε όλα τα αντιδραστήρια να φθάσουν σε ισορροπία σε θερμοκρασία δωματίου.

Ανασύσταση βαθμονομητών

Το περιεχόμενο των φιαλιδίων ανασυστάται με τον όγκο απεσταγμένου νερού που αναγράφεται στην ετικέτα. Περιμένετε 10 λεπτά μετά από την ανασύσταση και ανακατέψτε με προσοχή χωρίς να δημιουργηθεί αφρός, πριν τη διανομή του αντιδραστήριου στα σωληνάρια. Τα αραιωμένα βαθμονομητές μπορούν να διατηρηθούν για μία εβδομάδα στους 2-8 °C. Για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, αποθηκεύστε σε θερμοκρασία χαμηλότερη των -18 °C, μέχρι την ημερομηνία λήξης του kit.

Προετοιμασία των ορών ελέγχου

Το περιεχόμενο των φιαλιδίων ανασυστάται με τον όγκο απεσταγμένου νερού που αναγράφεται στην ετικέτα. Περιμένετε 10 λεπτά μετά από την ανασύσταση και ανακατέψτε με προσοχή χωρίς να δημιουργηθεί αφρός, πριν τη διανομή του αντιδραστήριου στα σωληνάρια. Τα αραιωμένα δείγματα ελέγχου μπορούν να διατηρηθούν για μία ημέρα στους 2-8 °C. Για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, αποθηκεύστε τα χωρισμένα σε θερμοκρασία χαμηλότερη των -18 °C, μέχρι την ημερομηνία λήξης του kit.

Προετοιμασία του διαλύματος πλύσης

Προσθέστε το περιεχόμενο του φιαλιδίου σε 950 mL απεσταγμένου νερού και ομογενοποιήστε. Το αραιωμένο διάλυμα μπορεί να αποθηκευθεί στους 2-8 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης του kit.

Αφήστε τα αντιδραστήρια να φθάσουν σε ισορροπία σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση.

Βήμα 1 Προσθήκες*	Βήμα 2 Επώαση	Βήμα 3 Μέτρηση
Στα επιστρωμένα με αντισώμα σωληνάρια προσθέστε διαδοχικά: 50 μL βαθμονομητές, δείγματος ελέγχου ή δείγματος (ορός, πλάσμα, αραιωμένο δείγμα ούρων) και 150 μL ιχνηθέτη. Ανακατέψτε.	Επώαστε για 2 ώρες στους 18-25 °C με ανάδευση (> 280 rpm).	Αποχύστε προσεκτικά τα περιεχόμενα των σωληναρίων (εκτός των 2 σωληναρίων «ολικές κρούσεις»). Πλύντε 2 φορές με 2 mL διαλύματος πλύσης. Μετρήστε τις δεσμευμένες κρούσεις (B) και τις ολικές κρούσεις (T) για 1 λεπτό.

*Προσθέστε 150 μL ιχνηθέτη στα 2 επιπλέον σωληνάρια για να βρείτε τις ολικές κρούσεις.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

(βλέπε τη σελίδα "APPENDIX" για περισσότερες λεπτομέρειες)

Τα αντιπροσωπευτικά δεδομένα παρέχονται μόνο ως παράδειγμα. Η απόδοση που επιτυγχάνεται σε κάθε εργαστήριο μπορεί να διαφέρει.

Ευαισθησία

Αναλυτική ευαισθησία: 3,79 pM (0,011 ng/mL)

Λειτουργική ευαισθησία: 13,9 pM (0,042 ng/mL)

Εξειδίκευση

Δε βρέθηκε καμία διασταυρωτή αντίδραση με την ινσουλίνη, το παγκρεατικό πολυπεπτιδίο, τη σωματοστατίνη ή τη γλυκαγόνη. Η διασταυρωτή αντίδραση με την προΐνσουλίνη είναι μόνο 3% (κ.β., ισοδύναμη με 10% σε γραμμομοριακή βάση).

Ακρίβεια

Εντός της δοκιμής

Διάφορα δείγματα εξετάστηκαν 25 φορές στην ίδια σειρά. Οι συντελεστές απόκλισης που προέκυψαν ήταν μικρότεροι ή ίσοι με 3,1% για τα δείγματα ορών και μικρότεροι ή ίσοι με 3,2% για τα δείγματα ούρων.

Εκτός της δοκιμής

Διάφορα δείγματα εξετάστηκαν δύο φορές το καθένα σε 10 διαφορετικές σειρές. Οι συντελεστές απόκλισης που προέκυψαν ήταν μικρότεροι ή ίσοι με 5,2% για τα δείγματα ορών και χαμηλότεροι ή ίσοι με 4,8% για τα δείγματα ούρων.

Ακρίβεια

Δοκιμή αραιώσης

Δείγματα ορού και ούρων υψηλής συγκέντρωσης αραιώθηκαν διαδοχικά σε ρυθμιστικό αραιώσης. Τα ποσοστά ανάκτησης κυμαίνονταν μεταξύ 96% και 114% για τα δείγματα ορών και μεταξύ 86% και 105% για τα δείγματα ούρων.

Δοκιμή ανάκτησης

Δείγματα ορού και ούρων κορέστηκαν με γνωστές ποσότητες C-πεπτιδίου. Τα ποσοστά ανάκτησης κυμαίνονταν μεταξύ 83% και 105% για τα δείγματα ορών και μεταξύ 80% και 104% για τα δείγματα ούρων.

Εύρος μέτρησης (από αναλυτική ευαισθησία έως τον υψηλότερο βαθμονομητή): από 3.79 μέχρι κατά προσέγγιση 6.400 pM.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Η μη τήρηση των οδηγιών που περιέχονται στο έντυπο μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τα αποτελέσματα. Τα αποτελέσματα πρέπει να ερμηνευθούν λαμβάνοντας υπόψη τη συνολική κλινική παρουσίαση της ασθενούς συμπεριλαμβανομένων της κλινικής ιστορίας, των δεδομένων από συμπληρωματικές εξετάσεις και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Αποφύγετε τη χρήση βαριά αιμόλυση, ικτερικά ή λιπαιμικά δείγματα.

Το "hook effect" σε αυτό το kit IRMA μπορεί να εμφανιστεί σε δείγματα που περιέχουν C-Πεπτιδίο σε συγκεντρώσεις ίσες ή μεγαλύτερες από 50.000 pM. Τα δείγματα που είναι κλινικώς ύποπτα να εμφανίσουν πολύ υψηλές συγκεντρώσεις πρέπει να αραιωθούν με το ρυθμιστικό αραιώσης. Οι τιμές που προκύπτουν πρέπει να διορθωθούν με βάση τον παράγοντα αραιώσης.

Για προσδιορισμούς που χρησιμοποιούν αντισώματα, υπάρχει πιθανότητα παρεμβολής από ετερόφιλα αντισώματα στο δείγμα του ασθενούς. Οι ασθενείς που ήρθαν σε συχνή επαφή με ζώα ή έκαναν ανοσοθεραπεία ή διαγνωστικές επεμβάσεις με τη βοήθεια ανοσοσφαιρινών ή τμήματα ανοσοσφαιρίνης πιθανόν να παράγουν αντισώματα, π.χ. HAMA, που παρεμβάλλουν στους ανοσοπροσδιορισμούς.

Τα εν λόγω παρεμβάλλοντα αντισώματα πιθανόν να προκαλέσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Να αξιολογείτε προσεκτικά τα αποτελέσματα ασθενών που υποπτεύεστε ότι φέρουν αυτά τα αντισώματα.

C-peptide IRMA KIT

REF IM3639

RINKINYS RADIOIMUNINIAM C-PEPTIDO HORMONO NUSTATYMU IŅ VITRO ŽMOGAUS KRAUJO SERUME, PLAZMOJE IR ŠLAPIME Diagnostikai *in vitro*.

PRINCIPAS

C-peptido imunoradiometrinis tyrimo rinkinys yra "sumuštinio" tipo rinkinys. Tą patį rinkinį galima naudoti C-peptidams tiesiogiai nustatyti serume ir plazmoje arba, atskiedus, - šlapime.

Rinkinyje du monokloniniai pelės antikūnai yra nukreipti į du skirtingus C-peptido epitopus.

Serumo, plazmos ar atskiesti šlapimo mėginiai, kontroliniai mėginiai ir kalibravimo mėginiai yra inkubuojami mėgintuvėliuose, padengtuose pirmuoju monokloniniu antigenu kartu su antruoju monokloniniu antikūnu, pažymėtu "jodas¹²⁵". Po inkubavimo mėgintuvėlių turinys pašalinamas ir mėgintuvėliai yra praplaunami, kad pašalintų laisvas, ¹²⁵I pažymėtas antikūnas. Tuomet gama skaičiuotuviu nustatomas surištas radioaktyvumas, tiesiogiai proporcingas C-peptidų koncentracijai. C-peptidų koncentracijos mėginiuose nustatomi interpoliacijos būdu pagal standartinę kreivę.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

Bendros pastabos:

- Buteliukus su kalibravimo ir kontroliniais mėginiais laikyti atidarytus minimalų laiko tarpą, kad neišgaruotų skystis.
- Nemaišyk skirtingų rinkinių partijų reagentus.
- Standartinė kreivė turi būti nustatyta kiekvienam tyrimui.
- Rekomenduojama atlikti bandinį du kartus.
- Kiekvienas mėgintuvėlis turi būti panaudotas tik vieną kartą.

Pagrindinės radiacinės saugos taisyklės

Įsigyjant, naudojant ir gabenant radioaktyvias medžiagas būtina laikytis toje šalyje nustatytų radiacinio saugumo normų ir darbo su radioaktyviomis medžiagomis sanitarinių taisyklių. Laboratorijose draudžiama valgyti, gerti, rūkyti, naudoti kosmetiką.

- Šalia radioaktyviųjų medžiagų negalima valgyti, gerti, rūkyti ar taikyti kosmetikos priemones
- Negalima pipetuoti radioaktyviųjų tirpalų burna.
- Venkite bet kokio kontakto su radioaktyviomis medžiagomis, mūvėdami pirštinėmis ir vilkėdami laboratorinius chalatus.
- Visos manipuliacijos su radioaktyviomis medžiagomis turi būti vykdomos tinkamoje vietoje, toli nuo koridorių ir kitų judrių vietų.
- Radioaktyvios medžiagos turi būti saugomos konteineryje tam skirtoje vietoje.
- Turi būti vedama savalaikė visų radioaktyviųjų produktų gavimo ir saugojimo registracija.
- Laboratorinė įranga ir stikliniai indai, kurie gali būti užteršti, turėtų būti atskirti, siekiant išvengti kryžminio užteršimo skirtingais radioizotopais.
- Kiekvienas radioaktyvaus užteršimo ar radioaktyvios medžiagos praradimo atvejis turi būti tvarkomas pagal nustatytas procedūras.
- Radioaktyvios atliekos turi būti tvarkomos pagal šalyje nustatytas taisykles.

Natrio azidas

Kai kuriuose rinkinio komponentuose yra natrio azido kaip konservuojančios medžiagos. Reaguodamas su švinu, variu ar žalvariu, natrio azidas sudaro sprogius metalų azidus. Vartotus reagentus būtina atskiesti dideliu kiekiu vandentiekio vandens, po to juos galima išpilti į kanalizaciją.

Žmogaus kilmės medžiagos

Su visais serumo ir plazmos mėginiais elgėtės kaip su galinčiais perduoti hepatitą ar AIDS atliekos turi būti pašalinamos, vadovaujantis valstybės nustatyta tvarka.

GHS PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Wash Solution (20X) PAVOJUS



H360	Gali pakenkti vaisingumui arba negimusiam vaikui.
P201	Prieš naudojimą gauti specialias instrukcijas.
P280	Mūvėti apsaugines pirštines, vilkėti apsauginę aprangą ir naudoti akių (veido) apsaugos priemones.
P308+P313	Esant sąlyčiui arba jeigu numanomas sąlytis: kreiptis į gydytoją. Boro rūgštis 0,1-0,3% Natrio borato dekahidratas 0,1-0,3%

SDS

Saugos duomenų lapą galima gauti interneto svetainėje techdocs.beckmancoulter.com

MĖGINIŲ ĖMIMAS, PARUOŠIMAS, LAIKYMAS IR PRASKIEDIMAS

serumo ir plazmos mėginių paėmimas

- Surinkti kraują į švairius sausius mėgintuvėlius ar mėgintuvėlius, kuriuose yra EDTA.
- Atskirkite serumą ar plazmą nuo forminių elementų centrifuguojant.
- Serumo ar plazmos mėginius galima laikyti 2-8 °C temperatūroje, jei tyrimą planuojama atlikti per 24 valandas. Norint laikyti ilgesnį laiką, juos reikia laikyti užšaldytus (< -20 °C temperatūroje, iki 2 mėnesių, ar < -70 °C, iki 1 metų). Mėginius reikia padalinti į atskiras dalis, kad mėginių nereikėtų pakartotinai užšaldyti ir atšildyti. Tiriamus mėginius reikia atšildyti kambario temperatūroje.

Žmogaus C-peptido molekulė yra gana nestabili skystame serume ar plazmoje (žymus irimas pastebimas jau po kelių dienų), todėl laikymo rekomendacijų reikia griežtai laikytis.

- Jeigu tiriamo mėginio koncentracija viršija didžiausio kalibravimo mėginio koncentraciją, jį reikia atskiesti buferiniu skiedžiamuoju tirpalu.

Serumas ir EDTA plazma vertinamas 20 pavyzdžiams (serumas vertinamas riboje nuo 576,1 iki 3 739 pM) kur palyginama naudojant IM3639 C-Peptide IRMArinkinį. Rezultatai yra tokie:

[EDTA-plazma] = 0,9623[serumas] + 49,99

R = 0,9960

Šlapimo mėginių paėmimas

- Surinkti paros šlapimą.
- Pamatuoti jos turį.
- Reikalui esant, prieš tyrimą išcentrifuguokite ar išfiltruokite.
- Šlapimo mėginius galima laikyti 24 valandas 2-8 °C temperatūroje. Norint laikyti ilgiau, juos reikia suskirstyti atskirais dalimis ir užšaldyti < -18 °C temperatūroje, iki 1 metų. Vengti pakartotino mėginių užšaldymo ir atšildymo. Tiriamus mėginius reikia atšildyti kambario temperatūroje.
- C-peptidų koncentracija šlapimo mėginiuose dažnai viršija didžiausio kalibravimo mėginio koncentraciją, todėl rekomenduojama šlapimo mėginį atskiesti buferiniu skiedžiamuoju tirpalu 1:21 santykiu. Pavyzdžiui, 25 µl šlapimo reikėtų atskiesti 500 µl buferinio skiedžiamojo tirpalo.

PATEIKIAMOS MEDŽIAGOS

Visi rinkinio reagentai yra patvarūs, kol nepasibaigęs rinkinio tinkamumo naudoti laikas, nurodytas ant rinkinio etiketės, jei laikomi 2-8 °C temperatūroje. Buteliukų su reagentais etiketėse nurodyta galiojimo terminas galioja tik laikant reagentus gamybinėmis sąlygomis iki pat rinkinio komplektavimo ir netaikytina vartotojo gautai produkcijai.

Reagentų laikymo sąlygos po jų ištirpinimo ar praskiedimo nurodytos skyriuje „Procedūra“.

Anti-C-peptido monokloniniais antikūnais padengti mėgintuvėliai: 2 x 50 mėgintuvėlių (paruoštų naudoti).

Monokloninis anti-C-peptido antikūnas, pažymėtas ¹²⁵I: 1 x 17 ml buteliukas (paruoštas naudoti).

Pagaminimo dieną ampulėje yra 640 kBq jodu 125 paženklinto imunoglobulino apsauginiame tirpale iš gyvulių serumo albumino, natrio azido (<0,1 %) ir dažų.

C-peptido buferinis skiedžiamasis tirpalas: 1 x 25 ml buteliukas (paruoštas naudoti).

Tirpale yra jaučio serumo albumino ir natrio azido (<0,1 %).

Kalibravimo mėginiai: 6 buteliukai (liofilizuoti preparatai)

Kalibravimo mėginiuose buteliuke yra nuo 0 iki maždaug 6 400 pM C-peptido buferyje su jaučio serumo albuminu, natrio azidu (<0,1 %). Tiksliai koncentracija nurodyta kiekvieno buteliuko etiketėje. Kalibravimo mėginiai buvo sukalibruoti pagal Pasaulio sveikatos organizacijos tarptautinį standartą WHO IRR C-Peptide 84/510.

Kontrolinis serumas: 2 buteliukai (liofilizuoti preparatai)

Buteliukuose yra C-peptidas, liofilizuotas jaučio serume ir natrio azide (<0,1 %). Tikėtinos koncentracijos ribos nurodytos priede.

Praplovimo tirpalas (20 x): 1 buteliukas, 50 ml.

Koncentruotą tirpalą prieš naudojimą reikia praskiesti.

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS MEDŽIAGOS

Be standartinės laboratorinės įrangos, reikalingi:

- tikslių mikropipetų (50 µl ir 25 µl),
- pusiau automatinių pipetų (150 µl),
- Vortex tipo sukurinis maišytuvas
- horizontalaus ar orbitinio kratytuvo (> 280 aps./min.)
- čiurkšlinis siurblys;
- gama skaičiuotuvus ¹²⁵I aktyvumui skaičiuoti.

REZULTATAI

Rezultatai apskaičiuojami interpoliacijos būdu pagal standartinę kreivę, pagal kurią nustatomos C-peptidų koncentracijos mėginiuose, nubrėžiant mėginių kreivę tuo pačiu metu kaip ir standartų.

Kalibravimo kreivė

Kokybės kontrolės skyriaus pateikti rezultatai apskaičiuoti naudojant *glodžiosios* kreivės pritaikymą, logaritminėje vertikaliojoje ašyje nurodant nustatytas radioaktyvumo reikšmes (*skč./min._{kal}* – *skč./min._{kal0}*), o logaritminėje horizontaliojoje ašyje – kalibratorių analitės koncentraciją (pM).

Naudojant kitus duomenų redukcijos metodus, rezultatai gali šiek tiek skirtis.

Bendras aktyvumas: 227 129 imp./min.				
Kalibratoriai	C-peptidas (pM)	skč./min. (n=3)	B/T (%)	skč./min. _{kal} - skč./min. _{kal.0}
0	0	53	0,02	-
1	32	985	0,43	932
2	103	2 935	1,29	2 882
3	375	10 863	4,78	10 810
4	1 530	42 652	18,78	42 599
5	6 100	118 237	52,06	118 184

(Standartinės kalibravimo kreivės pavyzdys. Nesinaudoti skaičiuojant rezultatus.)

Ėminiai

Kiekvieno mėginio atveju vertikaliojoje ašyje raskite skč./min. arba B/T reikšmę ir horizontaliojoje ašyje patikrinkite atitinkamą analitės koncentraciją.

Atskiestų mėginių koncentracijas reikia koreguoti pagal skiedimo koeficientą. pmol/l (pM) vienetams paversti ng/ml, rezultatus padauginkite iš **0,003**.

24 val. šlapimo ekskrecija

C-peptido 24 val. ekskrecijai nustatyti atskiesto šlapimo (santykiu 1:21) mėginiuose reikia naudoti tokią formulę:

$$C-peptidas (nmol/24 val.) = \frac{\text{Apskaičiuota koncentracija (pM)} \times 21 \times V}{1000}$$

kai V = 24 val. šlapimo tūris litrais

TIKĖTINOS VERTĖS

Rekomenduojame, kad kiekviena laboratorija nusistatytų savo etaloninius dydžius. Žemiau pateikti dydžiai, nustatyti sveikuose asmenyse, yra tik indikatyvūs.

Serumai

- Iširti 156 sveikų asmenų tuščiu skrandžiu serumai.

	Vidurkis	Mediana	Standartinis nuokrypis (SN)	Min.- maks.
pM	519	471	255	32,6-1 458
ng/ml	1,56	1,41	0,766	0,098-4,380

95 procentilio diapazonas buvo nuo **160 iki 1100 pM** (0,48 – 3,30 ng/ml),

- Kaip pavyzdį, žemiau esančioje lentelėje pateikiame vidutinę dvylikos jaunuų, sveikų asmenų C-peptido koncentraciją OGTT (oraliniame gliukozės tolerancijos teste):

Laikas (min)	C-peptidai (pM) Vid, ± 1 SN	C-peptidai (ng/ml) Vid, ± 1 SN
0	520 ± 169	1,56 ± 0,507
35	2 274 ± 1 116	6,82 ± 3,348
65	3 067 ± 987	9,20 ± 2,961
95	3 488 ± 1 038	10,46 ± 3,114
125	3 008 ± 593	9,02 ± 1,779

Šlapimai

- Iširti 48 pirmojo rytinio šlapimo ir 20 24 val, šlapimo mėginių,

	Vidurkis	stand. nuokrypis	Min-maks
Pirmasis rytinis šlapimas (nM)	20,12	16,70	1,22 - 66,39
24 val, šlapimas (nmol/24 val.)	23,13	12,77	7,76 - 49,38

KOKYBĖS KONTROLĖ

Vadovaujantis „Good laboratory practices“ (geri laboratoriniai įgūdžiai) metodais atliekamų tyrimų kokybei patikrinti, būtina reguliariai naudotis kontroliniais pavyzdžiais, kurių tyrimo etapai tokie patys kaip ir tiriamųjų mėginių. Kokybės tikrinimo rezultatus patartina apdoroti taikant specialius statistinius metodus.

Tuo atveju, kai pakuotė rimtai pažeista arba gauti rezultatai nesutampa su tyrimų charakteristikomis, prašome kreiptis į mūsų specialistus: Elektroninis paštas: imunochem@beckman.com

PROCEDŪRA

Reagentų paruošimas ir laikymas

Palaikykite visus reagentus į kambario temperatūrą.

Kalibravimų mėginių atstatymas

Buteliukų turinys atskiedžiamas distiliuoto vandens kiekiu, nurodytu etiketėje. Po atskiedimo palaukite 10 min. ir švelniai sumaišykite, stengdamiesi, kad nesusidarytų putų. Atskiestus tirpalus laikykite 2-8 °C temperatūroje vieną savaitę arba užšaldytus < -18 °C temperatūroje ilgesnį laikotarpį, iki rinkinio galiojimo termino pabaigos.

Kontrolinių mėginių skiedimas

Buteliukų turinys atskiedžiamas distiliuoto vandens kiekiu, nurodytu etiketėje. Po atskiedimo palaukite 10 min. ir švelniai sumaišykite, stengdamiesi, kad nesusidarytų putų. Atskiestus tirpalus laikykite 2-8 °C temperatūroje vieną savaitę arba padalinus į atskiras dalis < -18 °C temperatūroje ilgesnį laikotarpį, iki rinkinio galiojimo termino pabaigos.

Praplovimo tirpalo paruošimas.

Supilkite buteliuko turinį į 950 ml distiliuoto vandens ir išmaišykite. Praskiestą tirpalą galima sugoti 2-8 °C temperatūroje, kol nesibaigs rinkinio galiojimo laikas.

Prieš pipetavimą padėk visus reagentus į kambario temperatūrą.

I žingsnis Užpildymas komponentais*	II žingsnis Inkubacija	III žingsnis Rezultatų matavimas
Į antikūniais padengtus mėgintuvėlius paeiliui įlašinti: 50 µl kalibravimo mėginiai, kontrolinio serumo arba mėginio (serumo, plazmos, iš anksto atskiesto šlapimo) ir 150 µl žymens. Sumaišyk.	Inkubuoti mėginius 2 valandas 18-25 °C temperatūroje nuolat kratant. (>280 osc./min.)	Kruopščiai aspiruokite mėgintuvėlių turinį (išskyrus dviejų "bendro aktyvumo" mėgintuvėlių). Du kartus praplauk su 2 ml praplovimo tirpalo. Išmatuoti 125 l aktyvumą (skč./min.) per 1 minutę.

*įlašinkite 150 µl žymens į 2 papildomus mėgintuvėlius "bendram aktyvumui" gauti.

ANALITINĖS CHARAKTERISTIKOS

(detalesnė informacija pateikiama skyriuje „APPENDIX“)

Tipingi duomenys pateikiami tik kaip iliustracija. Atskirose laboratorijose gauti efektyvumo duomenys gali skirtis.

Jautris

Analitinis jautrumas: 3,79 pM (0,011 ng/ml)

Funkcinis jautrumas: 13,9 pM (0,042 ng/ml)

Specifiškumas

Kryžminė antikūnų reakcija buvo pastebėta su insulinu, kasos polipeptidais, somatostatinu ar gliukagonu. Kryžminė reakcija su proinsulinu yra tik 3 % (w/w. atitinka 10 % molekulinio pagrindu).

Preciziškumas

Analizės metu

Mėginiai buvo ištirti 25 kartus toje pačioje serijoje. Nustatyti variacijos koeficientai serumo mėginiuose neviršijo 3,1 %, o šlapimo mėginiuose – 3,2 %.

Tarp analizių

Mėginiai buvo ištirti du kartus 10 skirtingų serijų. Nustatyti variacijos koeficientai serumo mėginiuose neviršijo 5,2 %, o šlapimo mėginiuose – 4,8 %.

Tikslumas

Praskiedimo testas

Didelės koncentracijos serumo ir šlapimo mėginiai buvo iš eilės praskiesti buferiniame skiedžiamajame tirpale. Gauti regeneracijos procentai serumo mėginiuose svyravo nuo 96 % iki 114 %, o šlapimo mėginiuose – nuo 86 % iki 105 %.

„Atsidarymo“ testas

Serumo ir šlapimo mėginiai buvo papildyti žinoma C-peptido koncentracija. Gauti regeneracijos procentai serumo mėginiuose svyravo nuo 83 % iki 105 %, o šlapimo mėginiuose – nuo 80 % iki 104 %.

Nustatymo ribos (nuo analitinio jautrumo iki aukščiausios kalibravimo mėginio reikšmės): 3,79 iki maždaug 6 400 pM.

RIBOJIMAI

Tyrimo metodikos nepaisymas gali iškreipti tyrimo rezultatus. Nustatymo rezultatai turi būti interpretuojami atsižvelgiant į bendrą paciento klinikinę būklę, įskaitant anamnezę, kitų testų duomenis ir kitą tinkamą informaciją.

Nenaudokite lipeminių, ūminių ar hemolizuotų bandinių.

Šio IRMA rinkinio kablo ("Hook") efektas gali pasireikšti mėginiuose, kur C-peptidų koncentracija yra nemažesnė kaip 50 000 pM. Kliniškai įtariant, kad mėginiuose gali būti labai didelės koncentracijos, mėginiai atskiedžiami buferiniu skiedžiamuoju tirpale. Gautus dydžius reikia pakoreguoti skiedimo rodikliu.

Tyrimams, kuriuose naudojami antikūnai, gali trukdyti paciento mėginyje esantys heterofiliniai antikūnai. Pacientai, nuolat kontaktuojantys su gyvūnais arba tie, kuriems taikyta imunoterapija arba diagnostinės procedūros naudojant imunoglobulinus ar imunoglobulinų fragmentus, gali sintetinti antikūnus, pvz., HAMA, trukdančius atlikti imuninius tyrimus.

Tokie trukdantys antikūnai gali lemti klaidingus rezultatus. Pacientų, kurie įtariami turintys šių antikūnų, rezultatus reikia vertinti atsargiai.

C-peptide IRMA KIT

REF IM3639

IMMUNORADIOMETRYCZNA METODA DO OZNACZANIA IN VITRO C-PEPTYDU W LUDZKIEJ SUROWICY, OSOCZU I MOCZU

Do użytku diagnostycznego *in vitro*.

ZASADA

Do oznaczania C-peptydu zastosowano metodę immunoradiometryczną typu kanapkowego. Ten sam zestaw może być zastosowany do mierzenia C-peptydu bezpośrednio w surowicy i osoczu, a po rozcieńczeniu, w moczu.

W zestawie użyto monoklonalne mysie przeciwciała skierowane przeciw dwóm różnym epitopom C-peptydu i w związku z tym nie konkurujących.

Próbki surowicy, osocza lub rozcieńczonego moczu, kontrole oraz kalibratory są inkubowane w probówkach pokrytych pierwszym przeciwciałem monoklonalnym w obecności drugiego przeciwciała monoklonalnego znakowanego ¹²⁵J. Po inkubacji zawartość probówek jest płukana, aż do usunięcia nie związanego znakowanego ¹²⁵J przeciwciała. Następnie związana radioaktywność jest mierzona w liczniku gamma. Stężenie C-peptydu w próbce jest odczytywane z krzywej standardowej. Radioaktywność związana jest wprost proporcjonalna do stężenia C-peptydu w próbce.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Uwagi ogólne:

- Fiolki z kalibratorami i kontrolami nie powinny pozostawać otwarte przez czas dłuższy niż jest to konieczne aby uniknąć nadmiernego odparowania zawartości fiolek.
- Nie należy mieszać odczynników z różnych serii produkcyjnych.
- Krzywa standardowa musi być wykonana podczas każdego oznaczania.
- Zalecane jest wykonywanie oznaczeń w duplikatach.
- Każda próbka może być użyta tylko raz.

Podstawowe zasady bezpieczeństwa podczas postępowania z promieniowaniem

Wejście w posiadanie, używanie, utylizacja i transfer materiałów radioaktywnych powinno być zgodne z prawem obowiązującym w danym kraju. Przestrzeganie podstawowych zasad bezpieczeństwa przy stosowaniu materiałów radioaktywnych powinno zapewnić odpowiednią ochronę:

- Nie jeść, nie pić, nie palić wyrobów tytoniowych, nie aplikować kosmetyków w obecności materiałów radioaktywnych.
- Nie pipetować radioaktywnych roztworów przy użyciu ust.
- Unikać wszelkiego kontaktu z materiałami radioaktywnymi poprzez stosowanie rękawic i ubrań ochronnych.
- Wszystkie czynności przy użyciu materiałów radioaktywnych powinny być wykonywane w przeznaczonym do tego celu miejscu, znajdującym się w odpowiedniej odległości od korytarzy i innych pomieszczeń.
- Materiały radioaktywne powinny być przechowywane w zabezpieczonym pojemniku.
- Należy zapisać datę przyjęcia radioaktywnych produktów, a czas ich przechowywania powinien być zgodny z odpowiednim terminem.
- Sprzęt laboratoryjny i naczynia, które uległy kontaminacji powinny być oddzielone od pozostałych, aby nie spowodować kontaminacji krzyżowej różnymi radioizotopami
- W sytuacji zanieczyszczenia radioizotopami i/lub zgubieniu radioaktywnego materiału powinno być powzięte postępowanie zgodne z prawem obowiązującym w kraju użytkownika.
- Radioaktywne odpady powinny być przechowywane zgodnie z przepisami obowiązującymi w kraju użytkownika.

Azydek sodu

Niektóre odczynniki zawierają azydek sodu jako środek konserwujący. Azydek sodu wchodzi w reakcję z ołowiem, miedzią lub mosiądzem, tworząc wybuchowe azydki. W związku z tym odczynniki zawierające azydek sodu powinny być rozcieńczane dużą ilością wody przed wylaniem ich do kanalizacji.

Materiały pochodzące od człowieka

Wszystkie surowice i osocza należy tak traktować jakby były materiałem do zakażenia hepatitis lub AIDS, a niszczenie odpadów powinno być przeprowadzone zgodnie z przepisami obowiązującymi w danym kraju.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Wash Solution (20X)

NIEBEZPIECZEŃSTWO



H360

Może działać szkodliwie na płodność lub na dziecko w łonie matki.

P201

Przed użyciem zapoznać się ze specjalnymi środkami ostrożności.

P280

Stosować rękawice ochronne, odzież ochronną i ochronę oczu/ochronę twarzy.

P308+P313

W przypadku narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
Kwas borowy 0,1-0,3%
Dziesięciowodny boran sodu 0,1-0,3%

SDS

Karta charakterystyki jest dostępna w witrynie techdocs.beckmancoulter.com

ZBIERANIE PRÓB, PRZYGOTOWYWANIE, ROZCIEŃCZANIE I PRZECHOWYWANIE

Zbieranie próbek surowicy i osocza

- Pobierać krew do suchych probówek lub zawierających EDTA.
- Oddzielić surowce lub osocze od komórek poprzez wirowanie.
- Próbki surowicy i osocza powinny być przechowywane w 2-8°C, jeżeli oznaczenie zostanie przeprowadzone w ciągu 24 godzin. W celu dłuższego przechowywania próbki podzielić, aby uniknąć wielokrotnego zamrażania i rozmrażania i zamrozić (< -20°C, w ciągu 2 miesięcy, lub < -70°C najdłużej 1 rok). Rozmrażanie próbek musi być przeprowadzane w temperaturze pokojowej.
Ludzki C-peptyd jest cząsteczką względnie niestabilną w płynnej surowicy lub osoczu (znaczna degradacja może być zaobserwowana po okresie kilku dni). W związku z tym zalecane warunki przechowywania powinny być dokładnie przestrzegane.
- Jeżeli stężenie w próbce jest większe niż najwyższy kalibrator, to musi być rozcieńczona w buforze do rozcieńczenia.

Wartości surowicy i osocza z EDTA dla 20 prób (zakres wartości dla próbek surowicy 576.1 – 3739 pM) zostały porównane przy użyciu zestawu IM3639 C-Peptide IRMA. Uzyskane wyniki:

[osocze] = 0.9623[surowica] + 49.99;

r = 0.9960

Zbieranie próbek moczu

- Zrobić dobową (24 godz.) zbiórkę moczu.
- Zmierzyć objętość.
-
-
- Próbki moczu mogą być przechowywane w 2-8°C, jeżeli oznaczenie zostanie przeprowadzone w ciągu 24 godzin. Jeżeli oznaczenie będzie przeprowadzone później, to należy odpowiednio rozdozowane próbki zamrozić (< -18°C, najdłużej 1 rok), aby nie powtarzać zamrażania i rozmrażania tej samej próbki. Rozmrażanie próbek musi być przeprowadzane w temperaturze pokojowej.
- Zawartość C-peptydu w moczu jest często wyższa niż w najwyższym kalibratorze. W związku z tym rozcieńczyć 1: 21 buforem do rozcieńczenia, np.: 25 µL moczu powinno być rozcieńczone w 500 µL buforu do rozcieńczenia.

MATERIAŁY DOSTARCZONE

Wszystkie odczynniki zestawu są stabilne zgodnie z datą ich ważności umieszczoną na opakowaniu, pod warunkiem przechowywania ich w temperaturze 2-8°C. Daty ważności są wydrukowane tylko na etykietach fiolek z przedłużonym okresem skladowania składników przez producenta. Nie należy brać ich pod uwagę.

Warunki przechowywania odczynników po odtworzeniu lub rozcieńczeniu są podane w akapicie Procedura.

Probówki pokryte przeciwciałem monoklonalnym przeciw C-peptydowi: 2 x 50 probówek (gotowe do użycia)

Znakowane ¹²⁵J przeciwciało monoklonalne przeciw C-peptydowi: jedna fiołka 17 mL (gotowe do użycia)

Fiołka zawiera 640 kBq, w dniu produkcji, znakowanego ¹²⁵J przeciwciała w buforze zawierającym albuminę bydlęcej surowicy, azydek sodu (<0,1%) i barwnik.

Bufor do rozcieńczenia w zestawie C-peptyd: jedna fiołka 25 mL (gotowe do użycia)

Roztwór zawiera albuminę bydlęcej surowicy i azydek sodu (<0,1%).

Kalibratory: sześć fiolek (liofilizat)

Fiolki ze kalibratorami zawierają od 0 do około 6400 pM C-peptydu w buforze z albuminą bydlęcej surowicy i azydek sodu (<0,1%). Właściwe stężenia są podane na etykiecie znajdującej się na każdej fiołce. Kalibratory są wykalibrowane przy zastosowaniu międzynarodowego standardu WHO IRR C-Peptide 84/510.

Surowica kontrolna: 2 fiołki (liofilizat)

Fiolki zawierają lizofilizowany C-peptyd w bydlęcej surowicy i azydek sodu (<0,1%). Oczekiwany zakres stężeń podano w dodatku.

Płyn do płukania (20x): jedna 50 mL fiołka

Koncentrat musi być rozcieńczony przed użyciem.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZANE

Poza standardowym wyposażeniem laboratorium wymagane są następujące urządzenia:

- dokładna mikropipeta (50 µL, 25 µL).
- półautomatyczna pipeta (150 µL).
- Mieszadło wirowe („vortex“).
- Pozioma lub orbitalna wytrząsarka (> 280 rpm).
- System odciągający.
- Licznik gamma do ¹²⁵Jodu.

WYNIKI

Wyniki należy odczytać z krzywej standardowej. Krzywa standardowa służy do oznaczania stężenia C-peptydu w próbkach mierzonych w tym samym czasie co kalibratory.

Krzywa standardowa

Wyniki w dziale kontroli jakości obliczono przy użyciu krzywej *składanej* dopasowania z oznaczoną promieniotwórczością ($cpm_{kal} - cpm_{kal0}$) na logarytmicznej osi pionowej i stężeniem analitu w kalibratorach na logarytmicznej osi poziomej (pM).

Zastosowanie innych metod do opracowania danych może dać nieco inne wyniki.

Całkowita aktywność: 227 129 cpm				
Kalibratory	C-peptyd (pM)	cpm (n=3)	B/T (%)	(cpm _{kal} - cpm _{kal0})
0	0	53	0,02	-
1	32	985	0,43	932
2	103	2935	1,29	2882
3	375	10 863	4,78	10 810
4	1530	42 652	18,78	42 599
5	6100	118 237	52,06	118 184

(Przykładowe wartości do krzywej wzorcowej, nie do zastosowania)

Próbki

W przypadku każdej próbki należy zlokalizować wartość cpm lub B/T na osi pionowej i odczytać odpowiednie stężenie analitu na osi poziomej.

Stężenia próbek rozcieńczonych należy skorygować o współczynnik rozcieńczenia.

W celu zamiany pmol/L (pM) na ng/mL, pomnóż wyniki przez **0.003**.

24- godzinna (dobowa) zbiórka moczu

Do obliczenia stężenia C-peptydu w moczu (rozcieńczenie: 1 : 21) w jego 24-godzinnej zbiorce, obrazującej jego 24 godzinne wydalanie, musi być użyte następujące równanie:

$$C\text{- Peptyd (nmol/24godz.)} = \frac{\text{zmierzono stężenie (pM)} \times 21 \times V}{1000}$$

Gdzie V = objętość 24 godzinnej zbiórki moczu w litrach

OCZEKIWANE WARTOŚCI

Doradza się, aby w każdym laboratorium ustalić własną wartość normalną. Poniższe wartości otrzymane od zdrowych osób, są jedynie wskazówką.

Surowica

- Przeanalizowano 156 próbek od osób będących na czczo.

	Średnia	Mediana	Odchylenie Standardowe (SD)	Min- Maks.
pM	519	471	255	32,6-1458
ng/mL	1,56	1,41	0,766	0,098-4,380

W 95 percentylu zakres był **160 –1100 pM** (0,48 – 3,30 ng/mL).

- Przykładowe średnie stężenia C-peptydu w teście glukozowym (OGTT), przeprowadzonym u dwunastu młodych osób, podano w poniższej tabeli

Czas (min)	C-peptyd (pM) Średnia +/- 1 SD	C-peptyd (ng/mL) Średnia +/- 1 SD
0	520 ± 169	1,56 ± 0,507
35	2274 ± 1116	6,82 ± 3,348
65	3067 ± 987	9,20 ± 2,961
95	3488 ± 1038	10,46 ± 3,114
125	3008 ± 593	9,02 ± 1,779

Mocz

- Oznaczono 48 próbek z pierwszego porannego moczu i 20 próbek ze zbiórek dobowych.

	Średnia	Odchylenie standardowe	Oczekiwany zakres
Pierwszy poranny mocz (nmol/L)	20,12	16,70	1,22 - 66,39
Zbiórka dobowego moczu (nmol/24 godz.)	23,13	12,77	7,76 - 49,38

KONTROLA JAKOŚCI

Dobrze funkcjonujące laboratorium dla swej wiarygodności stosuje regularnie wewnętrzną kontrolę jakości otrzymanych wyników. Te próbki muszą być przygotowywane i oznaczane zgodnie z procedurą. Ich przydatność do oceny każdego zestawu będzie właściwa przy zastosowaniu odpowiedniej analizy statystycznej.

W przypadku uszkodzenia paczki lub jeżeli opracowanie otrzymanych wyników sprawia trudności proszę się kontaktować z miejscowym dystrybutorem lub pod adresem E-mail: imunochem@beckman.com

PROCEDURA

Przygotowanie i przechowywanie odczynników

Wszystkie odczynniki należy doprowadzić do temperatury pokojowej.

Odtworzenie kalibratorów

Zawartość fiolek jest odtwarzana przez dodanie wody destylowanej, której objętość podana jest na etykiecie fiołki. Następnie należy odczekać 10 minut i delikatnie zamieszać, aby uniknąć spienienia przed dozowaniem. Przechowywać odtworzone roztwory w temperaturze 2-8°C przez jeden tydzień lub podzielone w < -18°C przez dłuższy czas, zgodnie z datą ważności zestawu.

Odtworzenie prób kontrolnych

Zawartość fiolek jest odtwarzana przez dodanie wody destylowanej, której objętość podana jest na etykiecie fiołki. Następnie należy odczekać 10 minut i delikatnie zamieszać, aby uniknąć spienienia przed dozowaniem. Przechowywać odtworzone roztwory w temperaturze 2-8°C przez jeden tydzień lub podzielone w < -18°C przez dłuższy czas, zgodnie z datą ważności zestawu.

Przygotowanie płynu do płukania

Umieścić zawartość fiołki w 950 mL wody destylowanej i zamieszać. Płyn może być przechowywany w 2-8°C, zgodnie z datą ważności zestawu.

Wszystkie odczynnik przed pipetowaniem należy doprowadzić do temperatury pokojowej.

Etap 1 Dodawanie	Etap 2 Inkubacja	Etap 3 Zliczanie
Do pokrytych próbek dodać kolejno: 50 µL kalibratory, kontrole lub próbki (surowicy, osocza lub rozcieńczonego moczu) i 150 µL znacznika. Zamieszać.	Inkubacja 2 godziny w 18-25°C z wytrząsaniem (>280 rpm).	Odciągnąć starannie zawartość próbek (z wyjątkiem 2 próbek «całkowite cpm»). Przepłukać dwukrotnie 2 mL płynu do płukania. Oznaczać aktywność (cpm) przez 1 min.

*Dodać 150 µL znacznika do 2 dodatkowych próbek, aby otrzymać całkowite cpm.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

(Po więcej wiadomości zajrzyj do zestawu danych w "DODATKU")

Reprezentatywne dane są przedstawiane tylko do celów ilustracyjnych. Uzyskiwane parametry mogą się różnić w zależności od laboratoriów.

Czułość

Analalityczna czułość: 3,79 pM (0,011 ng/mL)

Funkcjonalna czułość: 13,9 pM (0,042 ng/mL)

Specyficzność

Nie stwierdzono reaktywności krzyżowej z insuliną, polipeptydem trzustkowym, somatostatyną i glukagonem. Reaktywność krzyżowa jest tylko 3% w stosunku do proinsuliny (10% odpowiednika podstawy cząsteczki).

Kontrola precyzji

Wewnątrz zestawu

Próbki z tej samej serii były oznaczane 25 razy. Współczynniki wariacji były poniżej lub równe wartości do 3,1% dla próbek surowicy i 3,2% dla próbek moczu.

Między oznaczeniami

Próbki były oznaczane w duplikatach w 10 różnych seriach. Współczynniki wariacji były poniżej lub równe wartości do 5,2% dla próbek surowicy i do 4,8% dla próbek moczu.

Kontrola dokładności

Test rozcieńczania

Próbki surowicy i moczu o wysokim stężeniu były seryjnie rozcieńczane buforem do rozcieńczania. Procent odzysku otrzymano dla próbek surowicy między 96% a 114% a dla próbek moczu między 86% a 105%.

Test odzysku

Próbki surowicy i moczu o niskim stężeniu były mieszane ze znaną ilością C-peptydu. Procentowe odzyski dla surowicy otrzymano między 83% i 105%, a dla moczu między 80% a 104%.

Zakres pomiarowy (od czułości analitycznej testu do stężenia najwyższego kalibratora): 3.79 do około 6400 pM.

OGRANICZENIA

Niestosowanie się do instrukcji załączonej do zestawu może znacznie wpływać na wyniki. Wyniki powinny być interpretowane w oparciu o całość stanu klinicznego pacjenta, włącznie z historią choroby, danymi z dodatkowych testów i innymi informacjami.

Nie używać zhemolizowanych, żółtaczkowych i lipemicznych próbek.

Efekt wysokiej dawki („hook effect”) może pojawić się przy stosowaniu tego zestawu IRMA w próbkach zawierających stężenie C-peptydu równe lub wyższe 50 000 pM. Próbki, które według danych klinicznych, mogą mieć bardzo wysokie stężenie C-peptydu powinny być rozcieńczone buforem do rozcieńczania. Otrzymana wartość musi być pomnożona przez współczynnik rozcieńczenia.

W przypadku oznaczeń z wykorzystaniem przeciwciał istnieje możliwość zakłóceń spowodowanych przez obce przeciwciała w próbce pacjenta. Pacjenci, którzy byli regularnie wystawieni na kontakt ze zwierzętami lub byli poddawani immunoterapii lub zabiegom diagnostycznym z użyciem immunoglobulin lub fragmentów immunoglobulin, mogą wytworzyć przeciwciała (np. HAMA) zakłócające wyniki oznaczeń immunologicznych.

Takie przeciwciała zakłócające mogą prowadzić do uzyskania błędnych wyników. Należy starannie przeanalizować wyniki u pacjentów z podejrzeniem obecności tych przeciwciał.

C-peptide IRMA KIT

REF IM3639

IN VITRO IMUNORADIOMETRICKÉ STANOVENÍ C-PEPTIDU V LIDSKÉM SÉRU, PLAZMĚ A MOČI Pro diagnostické účely *in vitro*.

PRINCIP

Imunoradiometrické stanovení C-peptidu je stanovení typu "sandwich". Souprava může být použita pro stanovení C-peptidu v séru nebo plazmě a po zředění též ve vzorcích moči.

V soupravě jsou použity myší monoklonální protilátky proti dvěma různým epitopům C-peptidu.

Vzorky séra, plazmy a zředěné moči, kontrolní vzorky a kalibrátory se inkubují ve zkumavkách potažených první monoklonální protilátkou společně s druhou monoklonální protilátkou značenou ¹²⁵I. Po inkubaci se obsah zkumavek vymyje, aby se odstranila nenavázaná značená protilátka. Vázaná aktivita ¹²⁵I se poté měří na gama-čítači. Koncentrace C-peptidu ve vzorcích je přímo úměrná změřené radioaktivitě a získá se interpolací z kalibrační křivky.

VAROVÁNÍ A OPATŘENÍ

Obecné poznámky:

- Lahvičky s kalibrátory a kontrolními vzorky nechávejte otevřené jen po nejnutnější dobu, aby nedocházelo k odpařování.
- Nemíchejte substance ze souprav různých šarží.
- Pro každou novou sérii analýz je nutné provést novou kalibraci.
- Doporučuje se provádět stanovení v duplikátech.
- Každá zkumavka může být použita jen jednou.

Základní pravidla radiační bezpečnosti

Tento radioaktivní materiál mohou přijímat, skladovat a používat pouze pracoviště, která splňují platné zákonné předpisy upravující podmínky pro bezpečné nakládání s otevřenými radionuklidovými zářiči. Při práci s radioaktivními látkami dodržujte následující pravidla:

- Všechny radioaktivní látky musí být skladovány v původním balení a jen na místech k tomu určených.
- Příjem a spotřeba radioaktivních látek musí být evidována.
- Práce s radioaktivními látkami musí být prováděny pouze ve vyhrazených prostorách.
- Pipetování nesmí být prováděno ústy.
- V laboratořích určených k práci s radioaktivními látkami je zakázáno jíst, pít, kouřit, líčit se a pod.
- Obalový materiál, který není kontaminován, je možno odložit do běžného odpadu pouze po odstranění varovných nápisů a značek.
- Povrch pracovních stolů, který by mohl být kontaminován, je třeba pravidelně kontrolovat. Všechno laboratorní sklo, které bylo použito pro práci s radioaktivními látkami, musí být řádně dekontaminováno a proměřeno před dalším použitím.
- V případě kontaminace nebo úniku radioaktivního materiálu postupujte podle stanovených předpisů.
- Radioaktivní odpad likvidujte v souladu s platnými zákony a předpisy.

Azid sodný

Některé substance jsou konzervovány azidem sodným. Azid sodný může reagovat s olovem, medí nebo mosazí za vzniku příslušných výbušných azidů. Proto likvidované reagentie splachujte velkým množstvím vody.

Biologický materiál lidského původu

Se všemi vzorky séra a plazmy musí být manipulováno jako s potenciálně infekčními (hepatitis nebo AIDS). Veškerý vzniklý odpad je třeba likvidovat podle platných předpisů.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Wash Solution (20X)

NEBEZPEČÍ



H360

Může poškodit reprodukční schopnost nebo plod v těle matky.

P201

Před použitím si obstarejte speciální instrukce.

P280

Používejte ochranné rukavice, ochranný oděv a ochranné brýle/obličejový štít.

P308+P313

PŘI expozici nebo podezření na ni: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

Kyselina boritá 0,1-0,3%

Boritan sodný, dekahydrát 0,1-0,3%

SDS

Bezpečnostní list je k dispozici na adrese
techdocs.beckmancoulter.com

SBĚR A PŘÍPRAVA, SKLADOVÁNÍ A ŘEDĚNÍ VZORKŮ

Vzorky plazmy a séra

- Odebírejte vzorky krve do zkumavek bez aditiv nebo s EDTA.
- Centrifugací oddělte od buněk frakci séra nebo plazmy.
- Vzorky séra nebo plazmy mohou být skladovány při 2-8 °C po dobu 24 hodin. Při delším skladování je nutno uchovávat vzorky zmrazené (při < -20 °C, maximálně 2 měsíce, nebo raději při < -70 °C maximálně 1 rok), nejlépe v alikvotech. Je třeba se vyvarovat opakovaného zmrazování vzorků. Rozmrazování provádějte při laboratorní teplotě.

Molekula lidského C-peptidu je v prostředí kapalného séra nebo plazmy velmi nestabilní, a již po několika dnech dochází k jeho degradaci, proto je nezbytně nutné dodržovat výše uvedené doporučení.

- Pokud obsahují vzorky vyšší koncentraci než je koncentrace nejvyššího kalibrátoru, je třeba je zředit ředícím roztokem.

Soupravou IM3639C-Peptide IRMA bylo porovnáno 20 dvojic vzorků séra a EDTA-plazmy (hodnoty sér byly od 576,1 do 3 739 pM.) Výsledky dávají rovnici:

[EDTA-plazma] = 0,9623[sérum] + 49,99

r = 0,9960

Sběr vzorků moči

- Sbírejte moč po 24 hodin.
- Stanovte objem.
- Vzorky moči musí být před analýzou zfiltrovány nebo odstředěny.
- Vzorky moči lze skladovat při 2-8 °C, jestliže bude stanovení provedeno do 24 hodin. Při delším skladování (maximálně 1 rok) je nutno vzorky zamrazit při < -18 °C, nejlépe v alikvotech, aby se předešlo opakovanému rozmrazování a zmrazování. Rozmrazování provádějte při laboratorní teplotě.
- Obsah C-peptidu ve vzorcích moči je často vyšší než je koncentrace nejvyššího kalibrátoru. Proto se doporučuje močové vzorky ředit ředícím roztokem v poměru 1:21, např. k 25 µl moči by mělo být přidáno 500 µl ředícího roztoku.

POSKYTNUTÉ MATERIÁLY

Všechny reagentie v soupravě jsou stabilní do data expirace, uvedeného na štítku krabice, jestliže jsou skladovány při 2-8 °C. Data expirací uvedená na štítcích jednotlivých složek se vztahují pouze k dlouhodobému skladování u výrobce před kompletací souprav. Neberte na ně tedy, prosím, ohled.

Skladovací podmínky pro zředěné nebo rekonstituované reagentie jsou uvedeny v odstavci Postup.

Zkumavky potažené monoklonální protilátkou proti C-peptidu: 2 x 50 zkumavek; připraveny k použití.

Monoklonální protilátka proti C-peptidu, značená ¹²⁵I: 1 lahvička (17 ml); připravena k použití.

Lahvička obsahuje ke dni výroby 640 kBq ¹²⁵I značeného imunoglobulinu v tlumivém roztoku s hovězím sérovým albuminem, azidem sodným (<0,1 %) a barvivem.

C-peptid ředící roztok (C-peptide – Buffer): 1 lahvička (25 ml); připraven k použití.

Roztok obsahuje hovězí sérový albumin a azid sodný (<0,1 %).

Kalibrátory: 6 lahviček (lyofilizáty).

Lahvičky obsahují C-peptid v tlumivém roztoku s hovězím sérovým albuminem a azidem sodným (<0,1 %), koncentrační rozmezí po rekonstituci je 0 do přibližně 6 400 pM. Přesné hodnoty koncentrací jsou uvedeny na štítcích lahviček. Kalibrátory jsou kalibrovány na mezinárodní standard WHO IRR C-Peptide 84/510.

Kontrolní vzorky: 2 lahvičky (lyofilizované).

Lahvičky obsahují lyofilizovaný C-peptid v hovězím séru s azidem sodným (<0,1 %). Koncentrační rozmezí očekávaných hodnot jsou uvedena v příloze návodu.

Promývací roztok (20x): 1 lahvička 50 ml.

Koncentrovaný roztok musí být před použitím zředěn.

VYŽADOVANÉ, ALE NEPOSKYTNUTÉ MATERIÁLY

Kromě obvyklého laboratorního zařízení je pro analýzu potřebné následující vybavení:

- přesná mikropipeta (50 µl; 25 µl).
- poloautomatická pipeta (150 µl).
- vibrační míchadlo
- horizontální nebo orbitální třepačka (> 280 kmitů/min),
- vývěva
- gama-čítač, nastavený na ¹²⁵I.

VÝSLEDKY

Výsledky se získají interpolací z kalibrační křivky, která slouží pouze pro analýzu těch vzorků, které byly inkubovány společně s kalibrátory.

Kalibrační křivka

Výsledky v sekci kontroly kvality jsou vypočteny za použití křivky *spline* s parametrem určené radioaktivity ($cpm_{kal} - cpm_{kal.0}$) na svislé ose log a koncentrací analytu kalibrátorů na vodorovné ose log (pM).

Jiné metody zpracování mohou dávat mírně rozdílné výsledky.

Celková aktivita: 227 129 cpm				
Kalibrátory	C-peptid (pM)	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{kal} - cpm_{kal.0}$
0	0	53	0,02	-
1	32	985	0,43	932
2	103	2 935	1,29	2 882
3	375	10 863	4,78	10 810
4	1 530	42 652	18,78	42 599
5	6 100	118 237	52,06	118 184

(Příklad typického stanovení, nepoužívejte pro výpočet.)

Vzorky

Pro každý vzorek vyhledejte na svislé ose hodnotu cpm nebo B/T a na vodorovné ose odečtěte odpovídající koncentraci analytu.

Koncentrace naředěných vzorků je třeba opravit použitím faktoru ředění.

Hodnoty koncentrací v ng/ml získáte vynásobením koncentrací vyjádřených v pmol/L (pM) faktorem **0,003**.

Množství C-peptidu vyloučeného močí za 24 hodin

Množství C-peptidu vyloučeného za 24 hodin se z koncentrace vzorku močí (zředěné 1:21) vypočte podle následujícího vzorce.

$$C\text{-Peptid (nmol/24hod)} = \frac{\text{naměřená koncentrace (pM)} \times 21 \times V}{1000}$$

kde V = objem močí (v litrech) za 24 hodin

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní rozmezí referenčních hodnot. Následující hodnoty byly stanoveny u zdravých jedinců a jsou zde uvedeny pro informaci.

Séra

- Byly analyzovány vzorky sér od 156 zdravých jedinců (odebrány nalačno).

	Střed. hodn.	Medián	Standardní odchylka	Min–Max
pM	519	471	255	32,6-1 458
ng/ml	1,56	1,41	0,766	0,098-4,380

Rozmezí dané 95 %-mi percentily je **160-1100 pM** (0,48-3,30 ng/ml).

- V následující tabulce jsou pro příklad uvedeny průměry koncentrací C-peptidu u dvanácti mladých, zdravých jedinců po OGTT.

Čas (min)	C-peptid (pM) Průměr ± SD	C-peptid (ng/ml) Průměr ± SD
0	520 ± 169	1,56 ± 0,507
35	2 274 ± 1 116	6,82 ± 3,348
65	3 067 ± 987	9,20 ± 2,961
95	3 488 ± 1 038	10,46 ± 3,114
125	3 008 ± 593	9,02 ± 1,779

Moč

- Byly analyzovány dva druhy močových vzorků: 48 vzorků první ranní moči a 20 vzorků po 24 hodinovém sběru.

	Střed. hodn.	Standardní odchylka	Očekávaný rozsah
První ranní moč (nmol/l)	20,12	16,70	1,22 - 66,39
Moč po 24 hodinovém sběru (nmol/24 hodin)	23,13	12,77	7,76 - 49,38

KONTROLA KVALITY

Správná laboratorní praxe předpokládá řádné a pravidelné používání kontrolních vzorků, aby mohla být zajištěna kontrola kvality stanovených výsledků. Kontrolní vzorky musí být stanoveny naprosto stejným způsobem jako neznámé vzorky a k vyhodnocení výsledků se mají použít vhodné statistické metody.

V případě závažného poškození obalu, nebo jestliže získané výsledky nejsou ve shodě s analytickými parametry stanovení, kontaktujte prosím naše odborné pracovníky. E-mail: imunochem@beckman.com

POSTUP

Příprava a skladování reagensů

Vytemperujte všechny reagensy na laboratorní teplotu.

Příprava kalibrátorů

Obsah lahviček se rozpustí v destilované vodě, její objem je uveden na štítku lahvičky. Po přidání vody nechejte kalibrátory volně rozpouštět 10 minut a potom lehce bez napěnění promíchejte. Rozpuštěné kalibrátory je možno skladovat jeden týden při 2–8 °C, a po rozdělení na alikvoty zmrazené při < -18 °C do data expirace soupravy.

Příprava kontrolních vzorků

Obsah lahviček se rozpustí v destilované vodě, její objem je uveden na štítku lahvičky. Po přidání vody nechejte kontrolní vzorky volně rozpouštět 10 minut a potom lehce bez napěnění promíchejte. Rozpuštěné kontrolní vzorky je možno skladovat jeden den při 2–8 °C, a po rozdělení na alikvoty zmrazené při < -18 °C do data expirace soupravy.

Příprava promývacího roztoku

Obsah lahvičky přidejte k 950 ml destilované vody a promíchejte. Zředěný roztok může být skladován při 2-8 °C do data expirace soupravy.

Nechte reagentie před pipetací vytemperovat na laboratorní teplotu.

Krok 1 Pipetace	Krok 2 Inkubace	Krok 3 Měření
Do potažených zkumavek postupně přidejte 50 µl kalibrátoru, kontrolního nebo neznámého vzorku (sérum, plazma, zředěná moč) a 150 µl radioindikátoru. Promíchejte.	Inkubujte 2 hodiny při 18-25 °C za stálého třepání (>280 kmitů/min).	Pečlivě odsajte obsah zkumavek (s výjimkou zkumavek na stanovení celkové aktivity). 2 x promyjte 2 ml promývacího roztoku a odsajte. Měřte po dobu 1 min. vázanou aktivitu (B) a celkovou aktivitu (T).

*Připravte si odděleně dvě zkumavky a napipetujte do nich 150 µl radioindikátoru pro určení celkové aktivity (T).

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

(podrobnosti jsou uvedeny v příloze "APPENDIX")

Vzorová data slouží pouze k ilustrativním účelům. Výsledky získané v jednotlivých laboratořích se mohou lišit.

Citlivost

Analytická citlivost: 3,79 pM (0,011 ng/ml)

Funkční citlivost: 13,9 pM (0,042 ng/ml)

Specifita

Nebyla nalezena žádná zkřížená reaktivita s insulinem, pankreatickým polypeptidem, somatostatinem ani s glukagonem. Zkřížená reakce s proinsulinem je pouze 3 % hm. (odpovídá asi 10 % v molárních koncentracích).

Přesnost

Intra-assay

Vzorky byly analyzovány 25x v jednom stanovení. Nalezené hodnoty variačních koeficientů nepřesáhly 3,1 % pro vzorky séra a 3,2 % pro močové vzorky.

Inter-assay

Vzorky byly stanoveny v duplikátech v 10 různých stanoveních. Nalezené hodnoty variačních koeficientů nepřesáhly 5,2 % pro vzorky séra a 4,8 % pro močové vzorky.

Správnost

Test ředění

Sérové a močové vzorky s vysokou koncentrací C-peptidu byly postupně ředěny ředicím roztokem. Procento recovery se pohybovalo mezi 96 % a 114 % pro vzorky séra a mezi 86 % a 105 % pro vzorky moči.

Test „recovery“

Různá množství C-peptidu byla přidávána ke vzorkům séra a moči, vzorky pak byly analyzovány. Procento recovery se pohybovalo mezi 83 % a 105 % pro vzorky séra a mezi 80 % a 104 % pro vzorky moči.

Rozsah stanovení (od analytické citlivosti do nejvyššího kalibrátoru): 3,79 do přibližně 6 400 pM.

OMEZENÍ

Nedodržení instrukcí uvedených v tomto návodu může vést k nesprávným výsledkům. Výsledky stanovení by měly být interpretovány ve světle celkového klinického obrazu pacienta včetně anamnézy, údajů z dalších testů a jiných vhodných informací.

Nepoužívejte hemolyzované, ikterické ani lipemické vzorky.

Tzv. „hook efekt“ této IRMA soupravy se může projevit, jestliže vzorek obsahuje C-peptid v koncentraci rovné nebo vyšší než 50 000 pM. U vzorků s klinickým podezřením na velmi vysokou hladinu C-peptidu doporučujeme ředit ředicím roztokem. Nalezené hodnoty je pak nutné vynásobit faktorem ředění.

U stanovení využívajících protilátky existuje možnost interference heterofilních protilátek přítomných v patientském vzorku. Pacienti, kteří byli pravidelně ve styku se zvířaty nebo podstoupili imunoterapii nebo diagnostické procedury využívající imunoglobuliny nebo fragmenty imunoglobulinů, mohou produkovat protilátky jako například HAMA (Human Anti-Mouse Antibodies - lidské protilátky proti myším proteinům), které interferují při imunologických stanoveních.

Takové interferující protilátky mohou vést k chybným výsledkům. Výsledky pacientů, u nichž existuje podezření na přítomnost takovýchto protilátek, posuzujte s opatrností.

C-peptide IRMA KIT

REF IM3639

IN VITRO IMUNORÁDIOMETRICKÉ STANOVENIE C-PEPTIDU V ĽUDSKOM SÉRE, PLAZME A MOČI Na *in vitro* diagnostické použitie.

PRINCÍP

Imunorádiometrické stanovenie C-peptidu je stanovenie typu "sandwich". Súprava môže byť použitá na stanovenie C-peptidu v sére alebo plazme a po zriedení aj vo vzorkách moča.

V súprave sú použité myšacie monoklonálne protilátky proti dvom rôznym epitopom C-peptidu.

Vzorky séra, plazmy a zriedeného moča, kontrolné vzorky a kalibrátory sa inkubujú v skúmavkách potiahnutých prvou monoklonálnou protilátkou spoločne s druhou monoklonálnou protilátkou označenou ¹²⁵I. Po inkubácii sa obsah skúmaviek vymyje, aby sa odstránila nenaviazaná označená protilátka. Viazaná aktivita ¹²⁵I sa potom meria na gama-merači. Koncentrácia C-peptidu vo vzorkách je priamo úmerná nameranej rádioaktivite a získa sa interpoláciou z kalibračnej krivky.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

Obecné poznámky:

- Fľaštičky s kalibrátormi a kontrolnými vzorkami nechávajú otvorené iba na najnutnejšiu dobu, aby nedochádzalo k odparovaniu.
- Nemiešajte substancie zo súprav rôznych šarží.
- Ku každému radu stanovení je treba vždy stanoviť novú kalibračnú závislosť.
- Doporučuje sa robiť stanovenia v duplikátoch.
- Skúmavky sú iba na jedno použitie.

Základné pravidlá radiačnej bezpečnosti

Táto súprava obsahuje rádioaktívny materiál, ktorý môžu prijímať, skladovať a používať iba pracovníci, ktorí spĺňajú platné zákonné predpisy upravujúce podmienky pre bezpečné nakladanie s otvorenými rádionuklidovými žiaričmi. Pri práci s rádioaktívnymi látkami dodržujte nasledujúce pravidlá:

- Všetky rádioaktívne látky sa musia skladovať v pôvodnom balení a iba na miestach k tomu určených.
- Nesmie sa pipetovať ústami.
- Príjem a spotreba rádioaktívnych látok musia byť evidované.
- Práce s rádioaktívnymi látkami sa musia robiť iba vo vyhradených priestoroch.
- V laboratóriách určených na prácu s rádioaktívnymi látkami je zakázané jesť, piť, fajčiť, líčiť sa a pod.
- Obalový materiál, ktorý nie je kontaminovaný, možno odložiť do bežného odpadu až po odstránení výstražných nápisov a značiek.
- Povrch pracovných stolov, ktorý by mohol byť kontaminovaný, treba pravidelne kontrolovať.
- V prípade kontaminácie alebo úniku rádioaktívneho materiálu postupujte podľa stanovených predpisov.
- Rádioaktívny odpad likvidujte v súlade s platnými zákonmi a predpismi.

Azid sodný

Niektoré substancie sú konzervované azidom sodným. Azid sodný môže reagovať s olovom, meďou alebo mosadzou za vzniku príslušných výbušných azidov. Preto likvidované reagenty splachujte veľkým množstvom vody.

Biologický materiál ľudského pôvodu

So všetkými vzorkami séra a plazmy musí byť manipulované ako s potenciálne infekčnými (hepatitis, alebo AIDS). Všetok vzniknutý odpad treba likvidovať podľa platných predpisov.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Wash Solution (20X)

NEBEZPEČENSTVO



H360

Môže poškodiť plodnosť alebo nenarodené dieťa.

P201

Pred použitím sa oboznámte s osobitnými pokynmi.

P280

Noste ochranné rukavice, ochranný odev a ochranné okuliare/ochranu tváre.

P308+P313

Po expozícii alebo podozrení z nej: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

Kyselina boritá 0,1-0,3%

Dekahydrát boritanu

sodného (bórax) 0,1-0,3%

SDS

Bezpečnostný list je k dispozícii na stránkach techdocs.beckmancoulter.com

ZBER A PRÍPRAVA, SKLADOVANIE A RIEDENIE VZORIEK

Odber a skladovanie vzoriek séra a plazmy

- Odoberajte vzorky krvi do skúmaviek bez aditív alebo s EDTA.
- Centrifugáciou oddelíte od buniek frakciu séra alebo plazmy.
- Vzorky séra alebo plazmy sa môžu skladovať pri 2-8°C po dobu 24 hodín. Pri dlhšom skladovaní je nutné uchovávať vzorky zmrazené (pri < -20°C, maximálne 2 mesiace, alebo pri < -70°C, maximálne 1 rok), najlepšie v alikvótoch. Treba sa vyvarovať opakovanému zmrazovaniu vzoriek. Rozmrazovanie robte pri laboratórnej teplote.

Molekula ľudského C-peptidu je v prostredí kvapalného séra alebo plazmy veľmi nestabilná a už po niekoľkých dňoch dochádza k jej degradácii. Preto je nevyhnutné dodržiavať vyššie uvedené odporúčenia.

- Pokiaľ obsahujú vzorky vyššie koncentrácie ako je koncentrácia najvyššieho kalibrátora, treba ich zriediť riediacim roztokom.

Súpravou IM3639 C-Peptide IRMA kit bolo porovnaných 20 dvojíc vzoriek séra a EDTA-plazmy (hodnoty sér boli od 576,1 do 3739 pM). Výsledky dávajú rovnicu:

[EDTA-plazma] = 0,9623[sérum] + 49,99

r = 0,9960

Zber vzoriek moča

- Zbierajte moč 24 hodín. Stabilizácia nie je nutná.
- Stanovte objem.
- Vzorky moča sa musia pred analýzou odfiltrovať alebo odstrediť.
- Vzorky moča možno skladovať pri 2-8 °C, ak sa stanovenie urobí do 24 hodín. Pri dlhšom skladovaní (maximálne 1 rok) je nutné vzorky zmraziť pri < -18 °C, najlepšie v alikvótoch, aby sa predišlo opakovanému rozmrazovaniu a zmrazovaniu. Rozmrazovanie robte pri laboratórnej teplote.
- Obsah C-peptidu vo vzorkách moča je často vyšší ako je koncentrácia najvyššieho kalibrátora. Preto sa doporučuje močové vzorky riediť riediacim roztokom v pomere 1:21, napr. k 25 µl moča by sa malo pridať 500 µl riediaceho roztoku.

POSKYTOVANÝ MATERIÁL

Všetky reagenty v súprave sú stabilné do dátumu expirácie, uvedeného na štítku krabice, ak sú skladované pri 2-8 °C. Dátum expirácie uvedené na štítkoch jednotlivých zložiek sa vzťahujú iba na dlhodobé skladovanie u výrobcu pred kompletizáciou súprav. Neberte na ne, prosím, ohľad.

Skladovacie podmienky pre činidlá po rekonštitúcii alebo riedení sú uvedené v kapitole Postup.

Skúmavky potiahnuté monoklonálnou protilátkou proti C-peptidu: 2 x 50 skúmaviek; pripravené na použitie.

Monoklonálna protilátka proti C-peptidu, označená ¹²⁵I: 1 fľaštička (17 ml); pripravená na použitie.

Fľaštička obsahuje ku dňu výroby 640 kBq ¹²⁵I označeného imunoglobulínu v tlmivom roztoku s hovädzím sérovým albumínom, azidom sodným (<0,1 %) a farbivom.

C-peptid riediaci roztok (C-peptide – Buffer): 1 fľaštička (25 ml); pripravená na použitie.

Roztok obsahuje hovädzí sérový albumín a azid sodný (<0,1 %).

Kalibrátory: 6 fľaštičiek, lyofilizáty.

Fľaštičky obsahujú C-peptid v tmivom roztoku s hovädzím sérovým albumínom a azidom sodným (<0,1 %), koncentračný rozsah po rekonštitúcii je 0 do približne 6400 pM. Presné hodnoty koncentrácií sú uvedené na štítkoch fľaštičiek. Kalibrátory sú kalibrované na medzinárodný štandard WHO IRR C-Peptide 84/510.

Kontrolné vzorky: 2 fľaštičky; lyofilizát.

Fľaštičky obsahujú lyofilizovaný C-peptid v hovädzom sére s azidom sodným (<0,1 %). Koncentračné rozsahy očakávaných hodnôt sú uvedené v príloze Návodu.

Premývací roztok: 1 fľaštička (50 ml); 20x konc.

Koncentrovaný roztok sa musí pred použitím zriediť.

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ SA NEPOSKYTUJE

Okrem obvyklého laboratórneho zariadenia je pre analýzu potrebné nasledujúce vybavenie:

- presná mikropipeta (50 µl; 25 µl).
- poloautomatická pipeta (150 µl).
- vibračné miešadlo
- horizontálna alebo orbitálna trepačka (> 280 kmitov/min),
- výveva
- gama-merač nastavený na ¹²⁵I.

VÝSLEDKY

Výsledky sa získajú interpoláciou z kalibračnej krivky, ktorá slúži iba pre analýzu tých vzoriek, ktoré boli inkubované spoločne s kalibrátormi.

Kalibračná krivka

Výsledky uvedené v časti o kontrole kvality boli vypočítané preloženie krivky metódou *spline* v grafe s hodnotami stanovenej rádioaktivity ($cpm_{kal} - cpm_{kal.0}$) na logaritmickú vertikálnu osi a koncentraciami analytov v kalibrátoroch na logaritmickú horizontálnu osi (pM).

Iné metódy spracovania môžu dávať mierne rozdielne výsledky.

Celková aktivita: 227 129 cpm				
Kalibrátory	C-peptid (pM)	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{kal} - cpm_{kal.0}$
0	0	53	0,02	-
1	32	985	0,43	932
2	103	2935	1,29	2882
3	375	10 863	4,78	10 810
4	1530	42 652	18,78	42 599
5	6100	118 237	52,06	118 184

(Príklad typického stanovenia, nepoužívajte pre výpočet.)

Vzorky

Pri každej vzorke vyhľadajte na vertikálnej osi hodnotu cpm alebo B/T a odčítajte príslušnú koncentráciu analytu na horizontálnej osi.

Koncentrácie zriedených vzoriek sa musia skorigovať podľa faktora riedenia.

Hodnoty koncentrácií v ng/ml získate vynásobením koncentrácií vyjadrených v pmol/L (pM) faktorom **0,003**.

Množstvo C-peptidu vylúčeného močom za 24 hodín

Množstvo C-peptidu vylúčeného za 24 hodín sa z koncentrácie vzorky moča (zriedenej 1:21) vypočíta podľa nasledujúceho vzorca.

$$\text{C-Peptid (nmol/24hod)} = \frac{\text{nameraná koncentrácia (pM)} \times 21 \times V}{1000}$$

kde V = objem moča (v litroch) za 24 hodín

OČAKÁVANÉ HODNOTY

Každé laboratórium by si malo stanoviť vlastný rozsah referenčných hodnôt. Uvádzané hodnoty sa stanovili u zdravých jedincov a sú iba informačné.

Séra

- Boli analyzované vzorky séra 156 zdravých jedincov (nalačno).

	Priemer	Medián	Štandardná odchyľka	Min–Max
pM	519	471	255	32,6-1458
ng/ml	1,56	1,41	0,766	0,098-4,380

Rozsah daný 95 %-mi percentilami je **160-1100 pM** (0,48-3,30 ng/ml).

- V nasledujúcej tabuľke sú ako príklad uvedené priemery koncentrácií C-peptidu u dvanástich mladých, zdravých jedincov po OGTT.

Čas (min)	C-peptid (pM) Priemer ± SD	C-peptid (ng/ml) Priemer ± SD
0	520 ± 169	1,56 ± 0,507
35	2274 ± 1116	6,82 ± 3,348
65	3067 ± 987	9,20 ± 2,961
95	3488 ± 1038	10,46 ± 3,114
125	3008 ± 593	9,02 ± 1,779

Moč

- Boli analyzované dva druhy močových vzoriek: 48 vzoriek prvého ranného moča a 20 vzoriek po 24 hodinovom zbere.

	Priemer	Štandardná odchyľka	Očakávaný rozsah
Prvý ranný moč (nmol/l)	20,12	16,70	1,22 - 66,39
Moč po 24 hodinovom zbere (nmol/24 hodín)	23,13	12,77	7,76 - 49,38

KONTROLA KVALITY

Správna laboratórna prax predpokladá riadne a pravidelné používanie kontrolných vzoriek, aby mohla byť zaistená kontrola kvality stanovených výsledkov. Kontrolné vzorky sa musia stanovovať úplne rovnakým spôsobom ako neznáme vzorky a na vyhodnotenie výsledkov sa majú použiť vhodné štatistické metódy.

V prípade závažného poškodenia obalu, alebo ak získané výsledky nie sú v zhode s analytickými parametrami stanovenia, kontaktujte prosím našich odborných pracovníkov. E-mail: imunochem@beckman.com

POSTUP

Príprava a skladovanie reagensí

Vytemperujte všetky reagensie na laboratórnu teplotu.

Príprava kalibrátorov

Obsah fľaštičiek sa rozpustí v destilovanej vode, ktorej objem je uvedený na štítku fľaštičky. Po pridaní vody nechajte kalibrátory voľne sa rozpúšťať 10 minút a potom ich ľahko, bez napenenia, premiešajte. Rozpustené kalibrátory možno skladovať jeden týždeň pri 2–8 °C a po rozdelení na alikvóty zmrazené pri < -18 °C do dátumu expirácie súpravy.

Príprava kontrolných vzoriek

Obsah fľaštičiek sa rozpustí v destilovanej vode, jej objem je uvedený na štítku fľaštičky. Po pridaní vody nechajte kontrolné vzorky voľne sa rozpúšťať 10 minút a potom ich ľahko, bez napenenia, premiešajte. Rozpustené kontrolné vzorky možno skladovať jeden deň pri 2–8 °C a po rozdelení na alikvóty zmrazené pri < -18 °C do dátumu expirácie súpravy.

Príprava premývacieho roztoku

Obsah fľaštičky pridajte k 950 ml destilovanej vody a premiešajte. Zriedený roztok sa môže skladovať pri 2-8 °C do dátumu expirácie súpravy.

Nechajte reagencie pred pipetovaním vytemperovať na laboratórnu teplotu.

Krok 1 Pipetácia	Krok 2 Inkubácia	Krok 3 Meranie
Do potiahnutých skúmaviek postupne pridajte: 50 µl kalibrátora, kontrolnej alebo neznámej vzorky (sérum, plazma, zriedený moč) a 150 µl rádioindikátora. Premiešajte.	Inkubujte 2 hodiny pri 18-25 °C za stáleho trepania (>280 kmitov/min).	Pozorne odsajte obsah skúmaviek (s výnimkou skúmaviek na stanovenie celkovej aktivity). 2x premyte 2 ml premývacieho roztoku a odsajte. Merajte viazanú aktivitu (B) a celkovú aktivitu (T) po dobu 1 min.

*Pripravte si oddelene dve skúmavky a napipetujte do nich 150 µl rádioindikátora na určenie celkovej aktivity (T).

VÝKONNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY (podrobnosti sú uvedené v prílohe "APPENDIX")

Vzorové dáta slúžia iba k informačným účelom. Výsledky získané v jednotlivých laboratóriách sa môžu líšiť.

Citlivosť

Analytická citlivosť: 3,79 pM (0,011 ng/ml)

Funkčná citlivosť: 13,9 pM (0,042 ng/ml)

Špecifita

Nebola nájdená žiadna skřížená reakcia s inzulínom, pankreatickým polypeptidom, somatostatínom ani s glukagónom. Skřížená reakcia s proinzulínom je iba 3 % hm. (odpovedá asi 10 % v molárnych koncentráciách).

Presnosť

Intra-assay

Vzorky boli analyzované 25x v jednom stanovení. Nájdené hodnoty variačných koeficientov nepresiahli 3,1 % pre vzorky séra a 3,2 % pre močové vzorky.

Inter-assay

Vzorky boli stanovené v duplikátoch v 10 rôznych stanoveniach. Nájdené hodnoty variačných koeficientov nepresiahli 5,2 % pre vzorky séra a 4,8 % pre močové vzorky.

Správnosť

Test riedenia

Sérové a močové vzorky s vysokou koncentráciou C-peptidu sa postupne riedili riediacim roztokom. Percento recovery sa pohybovalo medzi 96 % a 114 % pre vzorky séra a medzi 86 % a 105 % pre vzorky moča.

Test „recovery“

Rôzne množstvá C-peptidu sa pridávali k vzorkám séra a moča a potom sa vzorky analyzovali. Percento recovery sa pohybovalo medzi 83 % a 105 % pre vzorky séra a medzi 80 % a 104 % pre vzorky moča.

Rozsah merania (od analytickej citlivosti po najvyšší kalibrátor): 3,79 do približne 6400 pM.

OBMEDZENIA

Nedodržanie inštrukcií uvedených v tomto návode môže viesť k nesprávnym výsledkom. Výsledky stanovenia by sa mali interpretovať v súlade s celkovým klinickým obrazom pacienta vrátane anamnézy, údajov z ďalších testov a iných vhodných informácií.

Nepoužívajte hemolyzované, ikterické ani lipemické vzorky.

Tzv. „hook efekt“ tejto IRMA súpravy sa môže prejaviť vtedy, ak vzorka obsahuje C-peptid v koncentrácii rovnakej alebo vyššej ako 50 000 pM. U vzoriek s klinickým podozrením na veľmi vysokú hladinu C-peptidu doporučujeme riediť riediacim roztokom. Nájdené hodnoty potom treba vynásobiť faktorom riedenia.

Pri stanoveniach využívajúcich protilátky existuje možnosť interferencie heterofilných protilátok prítomných v patientskej vzorke. Pacienti, ktorí pravidelne prichádzali do kontaktu so zvieratami alebo užívali imunoterapiu, prípadne podstúpili diagnostické procedúry využívajúce imunoglobulíny alebo fragmenty imunoglobulínov, môžu produkovať protilátky, napríklad ľudské protilátky proti myším proteínom (HAMA), ktoré interferujú pri imunologických stanoveniach.

Také interferujúce protilátky môžu mať za následok chybné výsledky. Výsledky pacientov, u ktorých existuje podozrenie na prítomnosť takýchto protilátok, posudzujte s opatrnosťou.

C-peptide IRMA KIT

REF IM3639

사람 혈청과 혈장, 뇨 안의 C-peptide의 시험관 내 측정을 위한 방사선 면역 측정법 체의 진단용으로 사용됩니다.

원리

C-peptide의 면역방사계수 측정은 샌드위치식 측정법이다. 이 kit는 혈청과 혈장에서부터 직접 C-peptide를 측정하거나 뇨로부터 희석한 후 측정할 수 있다.

사람의 C-peptide의 2가지 다른 항원결정기에 대한 mouse 단세포군 항체가 본 kit에서 사용된다.

혈청, 혈장 또는 희석된 뇨 검체, 정도관리혈청과 표준용액은 ¹²⁵I로 표지된 제 2 단일클론 항체에서 첫 번째 단일클론 항체로 피복된 시험관내에서 배양된다. 배양 후, 시험관의 내용물은 비결합형 항체를 제거하기 위해 세척된다. 결합형 방사능량이 감마카운터로 측정된다. 검체의 c-peptide 농도는 표준곡선의 내삽에 의해 구해진다. 검체의 c-peptide 농도는 방사능량에 비례한다.

경고 및 주의 사항

일반적인 주의

- 표준액과 정도관리용액은 증발을 막기 위해 가능한 짧게 개봉해야 한다.
- 상이한 lot의 kit들을 서로 섞지 않는다.
- 각 측정마다 새로운 표준 곡선이 필요하다.
- 2번의 반복 측정이 권장된다.
- 각 튜브는 반드시 한번씩만 사용해야 한다.

방사선 안전에 대한 기본 규칙

방사성 물질의 구입, 소유와 양도는 사용되는 국가의 규제에 따른다. 기본 규칙에 대한 연수는 충분한 보호를 제공한다.

- 방사성 물질이 있는 장소에서는 취식, 음주, 흡연과 화장을 하지 않도록 한다.
- 방사성 용액을 입으로 pipetting 하지 않도록 한다.
- 장갑과 실험복을 착용하여 방사성 물질에 대한 모든 접촉을 피하여라.
- 방사성 물질의 모든 조작은 복도와 다른 바쁜 장소에서 적절한 장소, 거리에서 수행되어야 한다.
- 방사성 물질은 지정된 장소 내에서 제공되는 용기에 보관되어야 한다.
- 모든 방사성 제품의 수령과 저장에 대한 기록은 최신정보로 갱신하여야 한다.
- 오염이 되기 쉬운 실험실 장비와 유리제품은 다른 종류의 방사성 동위원소와의 교차오염의 예방을 위해 분리 보관되어야 한다.
- 모든 경우의 방사성 오염이나 방사성 물질의 분실은 규정된 절차에 의해 해결되어야만 한다
- 방사성 폐기물은 사용되는 국가에서 규정한 규제에 따라 처리되어야만 한다.

아지드화 나트륨

어떤 시약은 방부제로서 아지드화 나트륨을 포함하고 있다. 아지드화 나트륨은 납, 구리, 황동과 폭발성 오오드화 금속의 형태를 띠는 반응을 일으킬 수 있다. 시약은 많은 양의 물로 씻어내어 배관계통을 통해 처분하라.

사람 기원 물질

모든 혈액 검체는 질병을 전염시키는 것으로(예를 들면 간염이나 AIDS) 취급하라.

GHS 유해물질 등급

Wash Solution (20X) 위험



H360

생식능력이나 태아에 손상을 일으킬 수 있음.

P201

사용 전 취급 설명서를 확보하십시오.

P280

보호용 장갑, 보호용 의류 및 눈/안면 보호장구를 착용하십시오.

P308+P313

노출되었거나 노출이 우려되는 경우: 의학적인 조언/주의를 받으십시오.

농산 0.1-0.3%

농산 나트륨 10수화물 0.1-0.3%



안전보건자료는 techdocs.beckmancoulter.com에서 이용할 수 있습니다

표본 채집, 처리, 보관 및 희석

혈청과 혈장 수집

- 건조한 시험관이나 EDTA가 들어간 시험관에 혈액을 수집한다
- 혈청과 혈장은 원심침전법에 의해 분리한다.
- 혈청 검체는 측정이 24시간 이내에 이루어진다면 2-8°C에서 보관할 수 있다. 더 오랜 기간의 보관을 위해서는 -20°C, 2 개월 이내, 는 < -70°C 최대 1년. 이하에서 분리 보관하여 반복적인 냉동과 해동을 피한다. 검체는 실온에서 해동시킨다.

사람 C-peptide는 혈청과 혈장에서 상대적으로 불안정하다. 그러므로 보관방법에 대해서는 더욱 주의를 요한다.

- 만약 검체의 농도가 최고 표준용액보다 높으면 희석용액으로 희석해야 한다.

20개의 검체(576.1~3,739 pM)의 혈청과 EDTA 혈장 값은 IM3639 C-Peptide IRMAkit로 비교되었다. 결과값은 다음과 같다:

[혈장] = 0.9623[혈청] + 49.99;

r = 0.9960

뇨 검체의 수집

- 플라스크에 24시간동안의 축뇨를 수집한다.
- 부피를 측정한다.
- 필요하면, 원심분리를 하거나 여과시킨다.
- 검사가 24시간 이내에 수행된다면 뇨를 2-8°C에서 보관할 수 있다. 더 오랜 기간의 보관을 위해서는, 검체를 -18°C, 최대 1년, 이하에서 보관하여야 한다. 검체는 실온에서 해동시킨다.
- 뇨 검체의 농도는 주로 최고 표준액 농도보다 높다. 그러므로 희석액으로 1:21의 비율로 희석하는걸 추천한다. 예로 25μL의 뇨는 500μL의 희석액으로 희석한다.

제공되는 품목

Kit 내의 모든 시약은 2~8°C에 저장하면 Kit label에 표기된 유효기간까지 안정하다. 구성 바이알에 표기된 온도와 유효기간은 제조사를 위한 표기이니, 참고하지 마십시오.

복원 또는 희석 후 시약에 대한 보관 조건은 절차 단락에 명시되어 있습니다.

항 C-peptide 단일클론 항체로 피복된 시험관: 2 × 50 tubes (즉시사용가능)

¹²⁵I 표지 단일클론 항-C-peptide 항체: 17mL vial 1개 (즉시사용가능)

제조당시 한 개의 vial 내에는 소혈청 알부민, 아지드화 나트륨 (<0.1%)과 염색제를 포함한 완충액 내에 ¹²⁵I 표지 단세포군 항체 640 kBq 을 담고 있다.

C-peptide 희석액: 25mL vial 1개 (즉시사용가능)

Vial은 완충액 내에 소혈청알부민과 아지드화 나트륨(<0.1%)을 포함한다.

표준액 : 6 개(동결건조)

Vial은 소혈청알부민과 아지드화 나트륨(<0.1%)과 함께 0에서 대략6,400 pM의 C-peptide를 포함하고 있다. 정확한 농도는 각각의 vial에 표기되어 있다. 표준액은 국제기준을 WHO IRR C-Peptide 84/510 따라 표준화되었다.

정도관리 용액: 2 vials (동결건조 상태)

Vial은 소혈청알부민과 아지드화 나트륨(<0.1%)내에 동결건조 된 c-peptide 포함하고 있다. 기댓값은 보충자료에 표시된 농도 범위 안에 있다.

세척액(20×) : 50mL vial 1개

농축되어 있는 용액은 사용하기 전에 희석해야 한다.

필요하지만 제공되지 않는 품목

표준적인 실험실 기기에 부가하여 아래의 항목들이 요구된다.

- 정밀 micropipet (50 μL, 25 μL)

- 반복형 micropipet (150 µL)
- Vortex형 믹서
- 수평 궤도형 shaker(> 280rpm)
- 흡입용 system
- ¹²⁵I를 위한 gamma counter

결과

결과값은 검체와 함께 측정하여 작성된 표준곡선으로부터의 내삽으로 얻어진다. 곡선은 표준용액과 동시에 측정된 검체 내 C-peptide 농도를 결정짓는다.

표준곡선

정도관리 부서의 결과는 대수 수직 축에 결정된 방사능($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$)이 있고 대수 수평 축에 교정물질의 분석물질 농도(pM)가 있는 스플라인 곡선 맞춤을 사용하여 산출되었습니다.

다른 데이터의 공제 방법은 다른 결과값을 보여줄 수 있다.

총 방사능량: 227,129 cpm				
표준용액	C-peptide (pM)	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{cal} - cpm_{cal0}$
0	0	53	0.02	-
1	32	985	0.43	932
2	103	2,935	1.29	2,882
3	375	10,863	4.78	10,810
4	1,530	42,652	18.78	42,599
5	6,100	118,237	52.06	118,184

(표준곡선의 예, 결과값에는 적용하지 마십시오.)

검체

각 검체별로 세로 축에서 cpm 또는 B/T 값을 찾은 다음 가로 축에서 해당하는 분석물질 농도를 읽습니다.

희석된 검체의 농도는 희석 배수로 교정해야 합니다.

pmol/L(pM)을 ng/mL로 바꾸기 위해서는 결과값에 **0.003**을 곱해준다.

24시간 뇨

희석된 소변을 위해, 24시간 C-peptide 분비의 측정을 위해 다음과 같은 공식이 사용된다.

$$C\text{-Peptide (nmol/24h)} = \frac{\text{measured concentration (pM)} \times 21 \times V}{1000}$$

where V = 24 h urine volume in litres

기대값

각 검사실마다 각자의 참고값을 설정하기를 권장한다. 다음과 같은 범위는 여가 임상 실험실의 건강한 검체로부터 얻어진 값이다.

혈청

- 156명의 건강한 개인으로부터의 혈청 검체가 측정되었다.

	평균	중간값	표준편차 (SD)	Min-Max
pM	519	471	255	32.6-1,458
ng/mL	1.56	1.41	0.766	0.098-4.380

95 % 범위 : **160 ~1100pM** (0.48~3.30 ng/mL)

- 한 예로, 건강하고 젊은 12명의 OGTT내 c-peptide 농도가 다음 표에 나타나 있다.

시간 (분))	C-peptide (pM) Average ± 1 SD	C-peptide (ng/mL) Average ± 1 SD
0	520 ± 169	1.56 ± 0.507
35	2,274 ± 1,116	6.82 ± 3.348
65	3,067 ± 987	9.20 ± 2.961
95	3,488 ± 1,038	10.46 ± 3.114
125	3,008 ± 593	9.02 ± 1.779

뇨

- 오전 첫 소변 48개 검체와 24시간 수집 소변 20개 검체가 측정되었다.

	평균	표준편차	최소-최대
오전 첫 뇨 (nmol/L)	20.12	16.70	1.22 - 66.39
24 시간 뇨 (nmol/24 hrs)	23.13	12.77	7.76 - 49.38

정도관리

좋은 실험 실습은 control 검체가 결과값의 질을 향상시켜주는데 이용되는 것을 내포한다. 검체들은 측정 검체와 같은 방법으로 처리되어야 하며 적절한 통계방법에 의해서 분석되어진 결과값이 권장된다.

만약 포장에 이상이 있거나 결과값에 문제가 있으면, 공급업체나 다음의 메일로 연락주시기 바랍니다. imunochem@beckman.com

절차

시약의 준비

모든 시약들이 실온에 이르게 한다.

표준액의 재구성

vial의 내용물은 vial label에 표기된 증류수로 재구성 한다. 분배하기 전, 거품생성 방지를 위해 10분간 방치 후 조심스럽게 섞어준다. 재구성한 용액은 2-8°C에서 1주일간 보관하거나 -18°C이하에서 유효기간까지 냉동상태로 저장한다.

정도관리용액의 재구성

vial의 내용물은 vial label에 표기된 증류수로 재구성 한다. 분배하기 전, 거품생성 방지를 위해 10분간 방치 후 조심스럽게 섞어준다. 재구성한 용액은 2-8°C에서 하루동안 보관하거나 -18°C이하에서 유효기간까지 냉동상태로 저장한다.

세척액 준비

vial을 950mL의 증류수와 혼합하고 균질화 한다. 이 용액은 유효기간까지 2-8°C에 저장한다.

pipeting하기 전에 모든 시약을 실온에 가져온다.

1단계 첨가	2단계 배양	3단계 계수
코팅된 튜브에 차례대로 첨가한다: 표준액, 정도관리혈청 또는 검체 (혈청, 혈장, 희석된 뇨) 50µL와 Tracer 150µL 혼합한다.	18~25°C에서 2시간, 280rpm 이상으로 shaking하며 incubation 한다.	시험관의 내용물을 조심스럽게 흡입한다 (시험관 T 2개는 제외) 2mL의 세척액으로 2번 세척한다. 방사능 (cpm)을 1분간 계수한다.

*총 cpm을 얻기 위한 2개의 시험관에 tracer 150µL를 첨가한다.

성능 특성

(더 자세한 사항은 "APPENDIX"를 참고하세요.)

제시된 자료는 예시 참고용입니다. 각 실험실의 결과들은 다를 수 있습니다.

민감도

분석적 민감도: 3.79 pM (0.011 ng/mL)

기능적 민감도: 13.9 pM (0.042 ng/mL)

특이도

Insulin, pancreatic polypeptide, somatostatin 또는 glucagon과의 교차반응은 관찰되지 않았다. proinsulin과의 교차반응은 단 3%이다.

정밀성

측정내

검체들은 같은 종류로 25번 측정된다. 변이계수는 혈청 검체에 대해서는 3.1%나 그 이하이고 뇨 검체는 3.2%이하에서 보여진다.

측정간

검체들은 10가지의 다른 종류로 2번 반복 측정된다. 변이계수는 혈청 검체에 대해서는 5.2%나 그 이하이고 뇨 검체는 4.8%이하에서 보여진다.

정확성

희석 검사

고농도의 혈청과 뇨 검체들은 희석용 완충액으로 연속적으로 희석되었다. 회수율 비율은 혈청 검체는 96 ~ 114% 사이였고 뇨 검체는 86 ~ 105% 이었다.

회수율 검사

혈청과 뇨 검체들에 정량의 C-peptide를 첨가하였다. 회수율 비율은 혈청 검체는 83 ~ 105 % 사이였고 뇨 검체는 80 ~ 104 % 이었다.

측정범위 (분석적 민감도부터 최고 표준농도까지) 3.79 에서 대략 6,400 pM.

한계

이 사용설명서를 준수하지 아니하면 결과에 크게 영향을 미칠 것이다. 결과는 환자의 임상학적 가족력과 추가되는 실험이나 적절한 정보 등 모든 임상학적 자료를 통해 해석해야 한다.

용혈된 검체나 고지혈증, 황달이 있는 검체의 사용은 피한다.

IRMA kit의 "Hook 효과"는 C-peptide 농도 50,000 pM보다 높거나 같은 검체에서 나타난다. 매우 고농도로 임상적 의심이 가는 검체는 희석용 완충액으로 희석해야 한다. 얻어진 결과값은 희석 factor로 반드시 수정해야 한다.

본 검사에 사용되는 항체는 환자 검체의 헤테로필릭 항체의 간섭을 받을 수 있다. 정기적으로 동물에 노출되거나 면역치료 또는 항체를 생산할 수 있는 면역글로블린 (예: HAMMA)을 이용하는 진단 검사를 받은 환자는 면역검사에 간섭을 받을 수 있다.

이와 같이 간섭을 일으키는 항체는 잘못된 결과를 가져올 수 있습니다. 이러한 항체를 보유한 것으로 의심되는 환자의 결과를 주의해서 평가하십시오.



C-peptide IRMA KIT

REF IM3639

İNSAN SERUM, PLAZMA VE İDRARINDA C-PEPTİD'İN IN VITRO TESPİTİ İÇİN IMMUNORADIOMETRİK TESTTİR *in vitro* diagnostik kullanım içindir.

PRENSİP

C-Peptid'in immunoradiometrik deneyi, sandwich tipi bir testtir. Aynı kit C-peptid'in doğrudan serum veya plazmada veya dilüsyondan sonra idrarda ölçülmesi için kullanılabilir.

Kitte, C-peptid molekülünün iki farklı epitoplara karşı yönelen ancak yarışmayan fare monoklonal antikorları kullanılmıştır.

Numune ve kalibratörler, ilk monoklonal antikor ile kaplanmış tüplerde, iyot 125 ile işaretlenmiş ikinci monoklonal antikor varlığında inkübe edilirler. İnkübasyon sonrasında, tüp sıvı içeriği yıkanır. Bağlanmış radyoaktivite bir gamma sayacında ölçülür. Numunelerdeki C-peptid konsantrasyonu bir standard eğrisinden interpolasyon yoluyla alınır. Numunedeki C-Peptid konsantrasyonu, radyoaktivite ile doğru orantılıdır.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

Genel yorumlar:

- Kalibratör, kontrol şişeleri, buharlaşmayı önlemek amacıyla mümkün olduğunca geç açılmamalıdır.
- Farklı lotlardan kit reaktiflerini karıştırmayınız.
- Her deney için bir standard eğrisi dahil edilmelidir.
- Testi duplika olarak çalışmak önerilmektedir.
- Her tüp sadece bir kez kullanılmalıdır.

Radyasyon güvenliği için temel kurallar

Satınalma, sahip olma, kullanma ve radyoaktif materyalin taşınması, kullanılan ülkenin yönetmeliğine tabidir. Radyasyon güvenliğinin temel kurallarına bağlı kalınması, yeterli korumayı sağlayacaktır.

- Radyoaktif materyallerin bulunduğu ortamda yeme, içme, sigara içme, kozmetik uygulaması gibi faaliyetler gerçekleştirilmemelidir.
- Radyoaktif materyallerin pipetlemesi ağızla yapılmamalıdır.
- Eldiven ve laboratuvar kıyafetleri giyerek, radyoaktif materyallerle teması önleyiniz.
- Radyoaktif malzemelerle ilgili bütün işlemler, kalabalık ortamlar ve koridorlardan uzakta uygun bir ortamda gerçekleştirilmelidir.
- Radyoaktif materyaller, bu malzemeler için ayrılmış bir bölümde ve kapalı bir dolapta saklanmalıdır.
- Radyoaktif ürünlerin girişi ve saklanması ile ilgili bir kayıt güncel olarak tutulmalıdır.
- Kontaminasyona uğramış laboratuvar ekipmanları ve tüpler, farklı radyoizotopların çapraz kontaminasyonunu önlemek için ayrı tutulmalıdır.
- Her bir radyoaktif kontaminasyon veya radyoaktif malzeme kayıp vakası, belirlenen prosedürler izlenerek çözümlenmelidir.
- Radyoaktif atıklar, ülkenin kurallarına uyularak ele alınmalı ve yok edilmelidir.

Sodyum asit

Bazı reaktifler koruyucu olarak sodyum asit içermektedir. Sodyum asit, kurşun, bakır veya pirinç ile reaksiyona girebilir ve patlayıcı metal asitler oluşturabilir. Reaktiflerin, lavabo ve boru sisteminden bol su akıtılarak giderilmesi gerekmektedir.

İnsan kaynaklı materyal

Bütün serum ve plazmalara, hepatitler ve AIDS'i geçirebilecek gibi işlem yapılmalıdır. Atıklar, ülkenin kurallarına göre yok edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Wash Solution (20X)

TEHLİKE



H360

Doğmamış çocukta hasara yol açabilir veya üremeye zarar verebilir.

P201

Kullanmadan önce özel talimatları okuyun.

P280

Koruyucu eldiven, koruyucu kıyafet ve göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.

P308+P313

Maruz kalınma veya etkileşme halinde: Tıbbi yardım/bakım alın. Borik Asit 0,1-0,3% Sodyum Borat Dekahidrat 0,1-0,3%

SDS

Güvenlik Bilgi Formuna techdocs.beckmancoulter.com adresinden ulaşılabilir

NUMUNE TOPLANMASI, SAKLANMASI VE DİLÜSYONU

Serum ve plazma numunelerinin toplanması

- Kanı, kuru tüplere veya EDTA içeren tüplere alınır.
- Serum veya plazmayı hücrelerden santrifüje ayırınız.
- Eğer test 24 saat içinde gerçekleştirilecekse, serum ve plazma numuneleri 2-8°C'de saklanabilir. Daha uzun süre saklanacaksa, tekrar çözüp dondurma işlemini önlemek için bölünüz ve dondurarak (< -20°C, 2 ay içinde, veya < -70°C maksimum 1 yıl,) saklayınız. Numunelerin buzu oda ısısında çözündürülmelidir.

İnsan C-peptidi, sıvı serum veya plazmada nispeten stabil değildir (Birkaç günlük süreçte indirgenme gözlemlenir). Bu sebeple saklama koşullarına sıkı bir şekilde uyulması gerekmektedir.

- Numuneler en yüksek kalibratörden daha yüksek değere sahipse, dilüsyon tamponu ile dilüe edilmelidir.

20 numunenin serum ve EDTA-plazma değerleri (serum numuneleri 576,1 ile 3.739 pM değerleri arasında) IM3639 C-Peptide IRMA Kiti kullanılarak karşılaştırıldı. Sonuçlar aşağıda belirtilmiştir:

[plazma] = 0,9623[serum] + 49,99;

r = 0,9960

İdrar numunelerinin toplanması

- 24-saatlik idrarı bir kaba toplayınız.
- Miktarını ölçünüz.
- Testten önce santrifüj ediniz ve gerekiyorsa filtreleyiniz.
- Eğer test 24 saat içinde gerçekleştirilecekse, idrar numuneleri 2-8°C'de saklanabilir. Daha uzun süre saklanacaksa (< -18°C, maksimum 1 yıl)'de tekrar çözüp dondurma işlemini önlemek için bölerek dondurunuz. Numunelerin buzu oda ısısında çözündürülmelidir.
- İdrar numunelerindeki C-peptid genellikle en yüksek kalibratörden daha yüksek konsantrasyona sahiptir. Bu sebeple 1:21 dilüsyon önerilmektedir, ör. 25 µL idrar 500 µL dilüsyon tamponu ile dilüe edilmelidir.

SAĞLANAN MALZEMELER

2-8°C'de saklandığında bütün reaktifler, kit etiketindeki son kullanma tarihine kadar stabildir. Şişe üzerindeki son kullanma tarihleri sadece üretici tarafından içeriklerin uzun süreli saklanmaları durumunda geçerlidir.

Sulandırma veya dilüsyon sonrasındaki reaktif saklama koşulları Prosedür paragrafında belirtilmiştir.

Anti-C-peptid monoklonal antikor kaplanmış tüpler: 2 x 50 tüp (kullanıma hazır)

¹²⁵I-ışaretlenmiş monoklonal anti-C-peptid antikor: 17 mL bir şişe (kullanıma hazır)

Şişe üretim tarihinde, bovin serum albumin, sodyum asit (<= 0,1) ve boya içeren bir tampon içindeki ¹²⁵I-ışaretlenmiş immuno-globulinlerden, 640 kBq içerir.

C-peptid dilüsyon tamponu: 25 mL 1 şişe (kullanıma hazır)

Solüsyon, bovin serum albumin ve sodyum asit (<= 0,1) içerir.

Kalibratörler: altı şişe (liyofilize)

Kalibratör şişeleri, bovin serum albumin ve sodyum asit (<% 0,1) tamponu içinde 0 ile yaklaşık 6.400 pM C-peptid içerir. Tam konsantrasyon, şişe üzerindeki etikette belirtilmiştir. Kalibratörler, WHO IRR C-Peptide 84/510 uluslararası standartlarına göre kalibre edilmiştir.

Kontrol serumu: iki şişe (toz halinde)

Şişe, bovin serumunda liyofilize C-peptid içermektedir. Beklenen konsantrasyon aralığı kit içinde ayrıca not olarak eklenmiştir.

Yıkama solüsyonu (20x): 50 mL bir şişe

Konsantre solüsyon kullanmadan önce dilüe edilmelidir.

GEREKLİ OLAN ANCAK SAĞLANMAYAN MALZEMELER

Standard laboratuvar ekipmanlarına ek olarak aşağıdaki malzemeler gerekmektedir:

- Hassas mikropipet (50 µL; 25 µL).
- Yarı-otomatik pipet (150 µL).
- Vorteks tipi mikser.
- Horizontal veya orbital shaker (> 280 rpm).
- Aspirasyon sistemi.
- ¹²⁵Iyot için gamma counter seti.

SONUÇLAR

Sonuçlar, standard eğrisinden interpolasyon yoluyla alınır. Eğri, kalibratörlerle aynı anda ölçülen numunedeki C-peptid konsantrasyonunu belirlemede hizmet eder.

Standard eğrisi

Kalite kontrol bölümündeki sonuçlar, log dikey ekseninde belirlenmiş radyoaktivite ($\text{sayım/dak}_{\text{kar}} - \text{sayım/dak}_{\text{kalo}}$) ve log yatay ekseninde kalibratörlerin analit konsantrasyonu (pM) ile spline eğri uydurma kullanılarak hesaplanmıştır.

Diğer veri indirgeme metodları biraz farklı sonuçlar verebilir.

Total aktivite: 227.129 sayım/dak				
Kalibratörler	C-peptide (pM)	sayım/dak (n=3)	B/T (%)	sayım/ dak _{Kal} - sayım/ dak _{Kalo}
0	0	53	0,02	-
1	32	985	0,43	932
2	103	2.935	1,29	2.882
3	375	10.863	4,78	10.810
4	1.530	42.652	18,78	42.599
5	6.100	118.237	52,06	118.184

(Standard eğrisi örneği, hesaplamada kullanmayınız)

Numuneler

Her örnek için dikey ekseninde sayım/dak'ı veya B/T değerini bulun ve karşılık gelen analit konsantrasyonunu yatay ekseninde okuyun.

Seyreltilmiş örneklerin konsantrasyonları, seyreltme faktörüyle düzeltilmelidir. pmol/L (pM)'i ng/mL'ye dönüştürmek için, sonuçları **0,003** ile çarpınız.

24 saatlik idrar atımı

Dilüe edilmiş idrarlar için (1:21 dilüsyon), 24 saatlik C-peptid atımı için aşağıdaki formül kullanılmalıdır:

$$\text{C-Peptide (nmol/24h)} = \frac{\text{ölçülen konsantrasyon (pM)} \times 21 \times V}{1000}$$

V = Litre olarak 24 saatlik idrar volümü

BEKLENEN DEĞERLER

Her laboratuvarın kendi referans değerlerini oluşturmasını öneririz. Aşağıda verilen değerler sağlıklı kişilerden elde edilmiştir ve sadece belirleyicidir.

Serumlar

- Sağlıklı bireylerden açık sonrası 156 serum numunesi analiz edildi.

	Ortalama	Medyan	Standard Sapması (SD)	Min-Max
pM	519	471	255	32,6-1.458
ng/mL	1,56	1,41	0,766	0,098-4,380

% 95 'inde sınırlar **160-1100 pM** (0,48-3,30 ng/mL) arasında bulundu.

- Örnek olarak, on iki gencin C-peptid konsantrasyonu, sağlıklı bireylerde aşağıdaki gibi bulunmuştur.

Süre (dak)	C-peptide (pM) Ortalama ± 1 SD	C-peptide (ng/mL) Ortalama ± 1 SD
0	520 ± 169	1,56 ± 0,507
35	2.274 ± 1.116	6,82 ± 3,348
65	3.067 ± 987	9,20 ± 2,961
95	3.488 ± 1.038	10,46 ± 3,114
125	3.008 ± 593	9,02 ± 1,779

İdrarlar

- İlk sabah idrarından 48 numune ve 24 saatlik idrardan 20 numune test edildi.

	Ortalama	Standard sapması	Beklenen değerler
İlk sabah idrarı (nmol/L)	20,12	16,70	1,22 - 66,39
24 saat biriktirilmiş idrar (nmol/24 hrs)	23,13	12,77	7,76 - 49,38

KALİTE KONTROL

İyi laboratuvar uygulamaları, alınan sonuçların kalitesini garanti altına almak için kontrol numunelerinin düzenli olarak kullanılmasını gerektirir. Bu numuneler, aynen test numuneleri gibi kullanılmalıdır ve sonuçlarının uygun istatistiksel metodlarla analiz edilmesi önerilmektedir.

Paketteki bozulma veya alınan verilerde değişiklik olduğu durumlarda lütfen yerel distribütörünüzü arayınız veya aşağıdaki e-mail adresini kullanınız. imunochem@beckman.com

PROSEDÜR

Numunelerin hazırlanması ve saklanması

Reaktifleri oda ısısına getiriniz.

Kalibratörlerin hazırlanması

Şişelerin içeriği etikette belirtilen miktarda distile su ile sulandırılmalıdır. Sulandırdıktan sonra 10 dakika bekleyiniz ve köpüklenmeden yavaşça karıştırınız. Sulandırılmış solüsyonları 2-8°C'de bir hafta veya < -18°C'de daha uzun süre, kitin son kullanma tarihine kadar saklayabilirsiniz.

Kontrol serumlarının hazırlanması

Şişelerin içeriği etikette belirtilen miktarda distile su ile sulandırılmalıdır. Sulandırdıktan sonra 10 dakika bekleyiniz ve köpüklenmeden yavaşça karıştırınız. Sulandırılmış solüsyonları 2-8°C'de bir hafta veya < -18°C'de daha uzun süre, kitin son kullanma tarihine kadar saklayabilirsiniz.

Yıkama solüsyonunun hazırlanması

Şişe içeriğini 950 mL distile su içine boşaltınız ve homojenize ediniz. Dilüe edilmiş solüsyon, 2-8°C'de etiket üzerindeki son kullanma tarihine kadar stabildir.

Pipetlemeden önce bütün reaktifleri oda ısısına getiriniz.

Aşama 1 Ekleme*	Aşama 2 Inkübasyon	Aşama 3 Sayım
Kaplanmış tüplere, dikkatlice ekleyiniz: 50 µL kalibratör, kontrol veya numune (serum, plazma, dilüe edilmiş idrar) ve 150 µL tracer. Karıştırınız.	2 saat 18-25°C'de shakerda (> 280 rpm) inkübe ediniz.	Tüp içeriğini dikkatli bir şekilde aspire ediniz (2 «total sayım/dak» tüpü dışında). İki kez 2 mL yıkama solüsyonu lie yıkayınız. Aktiviteyi (sayım/dak) 1 dakika sayınız.

*Total sayım/dak'yi elde etmek için 2 ek tüpe 150 µL tracer ekleyiniz.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

(daha fazla bilgi için ekteki "APPENDIX-EK" veri formuna bakınız)

Temsili veriler yalnızca örnek olarak verilmiştir. Her bir laboratuarda elde edilen performans farklılık gösterebilir.

Duyarlılık

Analitik duyarlılık: 3,79 pM (0,011 ng/mL)

Fonksiyonel duyarlılık: 13,9 pM (0,042 ng/mL)

Özgüllük

Insulin, pankreatik polipeptid, somatostatin veya glucagona karşı çapraz reaksiyon tespit edilmemiştir. Proinsulin ile çapraz reaksiyon sadece % 3'tür (a/a molar bazda % 10'a eşittir).

Kesinlik

Deney-içi

Numuneler, aynı seride 25 replikede tekrarlandı. Değişim katsayısı serumda % 3,1'e ve idrarda % 3,2'ye eşit veya altında bulundu.

Testler arası

Numuneler 10 farklı seride duplike olarak test edildi. Değişim katsayısı serumda % 5,2'ye ve idrarda % 4,8'e eşit veya altında bulundu.

Doğruluk

Dilüsyon testi

Yüksek konsantrasyonlu serum ve idrar numuneleri dilüsyon tamponu ile seri olarak dilüe edildi. Alınan düzeltme oranı serumda % 96 ve 114, idrarda % 86 ve 105 arasında idi.

Düzeltilme testi

Düşük konsantrasyonlu serum ve idrar numuneleri, bilinen miktarda C-peptid ile karıştırıldı. Alınan düzeltme oranı serumda % 83 ve % 105, idrar numunelerinde % 80 ve 104 arasında idi.

Ölçüm aralığı (analitik duyarlılıktan en yüksek kalibratöre kadar): 3,79 ile yaklaşık 6.400 pM.

SINIRLAMALAR

Bu kullanım kılavuzuna uyulmaması, sonuçları belirgin olarak etkileyebilir. Sonuçlar, klinik hikaye, ek testlerden alınan veriler ve diğer bilgilerin de yeraldığı hastanın toplam klinik durumu ışığı altında değerlendirilmelidir.

Çok hemolizli, sararmış ve lipemik numuneleri kullanmayınız.

Bu IRMA kitinde 50.000 pM ve üzerindeki C-peptid konsantrasyonlarında "hook etkisi" görülebilir. Yüksek konsantrasyona sahip olduğundan klinik olarak şüphelenilen numuneler, dilüsyon tamponu ile dilüe edilerek tekrar test edilmelidir. Alınan değerler dilüsyon faktörü ile düzeltilmelidir.

Antikor içeren testlerde, hasta serumu içindeki heterofil antikorlar tarafından interferans olasılığı bulunmaktadır. Hayvanlarla sürekli etkileşimde bulunan hastalar veya immunoterapi gören veya ör. HAMA gibi immunoassay ile etkileşim gösteren immunoglobulinler veya immunoglobulin fragmanlarının kullanıldığı tedavi gören hastalarda antikor oluşturabilir.

Etkileşime giren bu tür antikorlar hatalı sonuçlar üretebilir. Bu antikorlara sahip olduğundan şüphe duyulan hastaların sonuçlarını dikkatle değerlendirin.



C-peptide IRMA KIT

REF IM3639

НАБОР ДЛЯ ИММУНОРАДИОМЕТРИЧЕСКОГО IN VITRO ОПРЕДЕЛЕНИЯ В СЫВОРОТКЕ, ПЛАЗМЕ И МОЧЕ ЧЕЛОВЕКА

Для диагностики *in vitro*.

ПРИНЦИП

Иммунорадиометрическое определение С-пептида относится к анализам типа «сэндвич». С помощью данного набора можно проводить прямое определение С-пептида в образцах сыворотки, плазмы и разведенных пробах мочи.

В наборе используется два вида мышиных моноклональных антител к различным эпитопам С-пептида.

Исследуемые образцы, контрольные и калибровочные пробы инкубируют в пробирках, покрытых одним видом моноклональных антител, совместно с раствором других моноклональных антител, меченных ¹²⁵I. После окончания инкубации удаляют жидкое содержимое, промывают пробирки и измеряют связанную активность ¹²⁵I. Концентрацию С-пептида, прямо пропорциональную связанной активности, определяют методом интерполяции по калибровочной кривой.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Общие замечания:

- Флаконы с калибровочными и контрольными пробами следует держать открытыми в течение минимального промежутка времени для предотвращения испарения жидкости.
- Не смешивать реагенты из наборов разных серий.
- Анализ калибровочных и исследуемых проб должен проводиться одновременно.
- Анализ рекомендуется проводить в дубликатах.
- Пробирки только для одноразового применения.

Основные правила радиационной безопасности

Получение, использование и транспортировка радиоактивных материалов должны происходить в соответствии с принятыми в данной стране нормами радиационной безопасности и санитарными правилами работы с радиоактивными веществами.

- В лабораториях запрещается принимать пищу, курить, пользоваться косметикой.
- Не пипетировать растворы радиоактивных веществ ртом.
- Для ограничения контакта с радиоактивными материалами рекомендуется использовать разовые перчатки и лабораторную спецодежду.
- Все манипуляции с радиоактивными веществами следует проводить в специально оборудованных для этого помещениях, удаленных от мест постоянного пребывания людей.
- Радиоактивные вещества следует хранить с использованием контейнеров в специально отведенных для этого местах.
- Необходимо регистрировать поступление и расход радиоактивных материалов.
- Лабораторное оборудование и посуду следует хранить отдельно, чтобы предотвратить их загрязнение радиоактивными изотопами.
- Любой случай радиоактивного загрязнения или исчезновения радиоактивного материала должен рассматриваться в соответствии с законодательством.
- Утилизация радиоактивных отходов должна осуществляться в соответствии с законодательством.

Азид натрия

Некоторые компоненты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Вступая в реакцию со свинцом, медью и латунью, азид натрия образует взрывоопасные азиды металлов. Отработанные реагенты следует разбавлять большим количеством водопроводной воды, после чего их можно сливать в канализацию.

Материал человеческого происхождения

С исследуемыми образцами сыворотки или плазмы крови следует обращаться как с потенциально инфекционным материалом, могущим содержать вирусы СПИД и гепатита. Утилизация отходов должна осуществляться в соответствии с законодательством.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ GHS

Wash Solution (20X) ОПАСНО!



H360

Может привести к нарушению репродуктивной функции или нанести вред ребенку в утробе матери.

P201

Перед использованием получить специальные инструкции.

P280

Надевать защитные перчатки, защитную одежду, средства защиты органов зрения/лица.

P308+P313

ПРИ воздействии или подозрении на воздействие: обратиться за медицинской помощью. Борная кислота 0,1-0,3% Натрия борат, декагидрат 0,1-0,3%



Паспорт безопасности доступен на сайте techdocs.beckmancoulter.com

ПОЛУЧЕНИЕ, ОБРАБОТКА, ХРАНЕНИЕ И РАЗВЕДЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Получение образцов плазмы и сыворотки крови

- Собрать кровь в чистые сухие пробирки, или пробирки с ЭДТА.
- Отделить сыворотку/плазму от клеток крови центрифугированием.
- Образцы сыворотки и плазмы можно хранить при 2-8°C в течение 24 часов. Для более длительного хранения их необходимо разделить на аликвоты и заморозить при температуре < -20°C, до 2 месяцев, или при < -70°C до 1 года. Избегать повторного замораживания-оттаивания проб. Анализируемые образцы следует размораживать при комнатной температуре.
С-пептид человека в составе сыворотки или плазмы крови является достаточно лабильной молекулой (значительная степень его деградации наблюдается уже через несколько дней). Поэтому необходимо строго соблюдать рекомендации по хранению анализируемых образцов.
- Если концентрация С-пептида в исследуемом образце выходит за пределы калибровочной кривой, его необходимо разбавить специальным буфером и провести анализ повторно.

Используя набор IM3639 C-Peptide IRMA сравнили результаты исследований сыворотки и плазмы с ЭДТА в 20 образцах (диапазон значений в сыворотке от 576,1 до 3 739 пмоль/л). Были получены результаты:

[плазма с ЭДТА] = 0,9623[сыворотка] + 49,99 ;

r = 0.9960

Получение и обработка образцов мочи

- Собрать суточную мочу.
- Измерить ее объем.
- Перед проведением анализа мочу следует отцентрифугировать или профильтровать.
- Образцы мочи можно хранить при 2-8°C в течение 24 часов. Для более длительного хранения их следует разделить на аликвоты и заморозить при температуре < -18°C, до 1 года. Избегать

повторного замораживания и оттаивания проб. Анализируемые образцы следует размораживать при комнатной температуре.

- Так как концентрация С-пептида в пробах мочи часто выходит за пределы калибровочной кривой, их рекомендуется разводить специальным буфером в соотношении 1:21, например, смешать 25 мкл мочи и 500 мкл буфера для разведения.

ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Все реагенты стабильны при 2-8°C до окончания срока годности набора, указанного на этикетке. Сроки годности, указанные на этикетках флаконов с реагентами, относятся только к их хранению в производственных условиях вплоть до момента комплектации набора и не распространяются на полученную заказчиком продукцию.

Условия хранения компонентов набора после их растворения или разбавления указаны в разделе «Процедура».

Пробирки, покрытые моноклональными антителами к С-пептиду: 2 x 50 шт. (готовы к использованию).

Метка, раствор моноклональных антител к С-пептиду, меченных ¹²⁵I: один флакон, 17 мл (готова к использованию).

На дату изготовления флакон содержит 640 кБк ¹²⁵I-иммуноглобулинов в буфере с бычьим сывороточным альбумином, красителем и азидом натрия (< 0,1%).

Буфер для разведения образцов (C-peptide – Buffer): один флакон, 25 мл (готов к использованию).

Буферный раствор содержит бычий сывороточный альбумин и азид натрия (< 0,1%).

Калибровочные пробы: 6 флаконов (лиофилизированные препараты)

Калибровочные пробы содержат С-пептид в диапазоне концентраций от 0 до приблизительно 6400 пмоль/л в буфере с бычьим сывороточным альбумином и азидом натрия (< 0,1%). Точные концентрации С-пептида, калиброванные по международному стандарту WHO IRR C-Peptide 84/510, указаны на этикетках флаконов.

Контрольная сыворотка: 2 флакона (лиофилизированные препараты)

Флаконы содержат лиофилизованную бычью сыворотку с известным количеством С-пептида и азидом натрия (< 0,1%). Ожидаемый диапазон концентраций указан на отдельном листке-вкладыше.

Промывочный раствор (20x): 1 флакон, 50 мл.

Концентрированный раствор должен быть разведен перед использованием.

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Помимо стандартного лабораторного оборудования необходимо иметь следующее:

- микропипетки (50 мкл; 25 мкл)
- полуавтоматическая пипетка (150 мкл)
- вихревой смеситель типа Vortex
- горизонтальный или орбитальный встряхиватель (> 280 осц./мин.);
- водоструйный насос
- гамма-счетчик для измерения активности ¹²⁵I.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты рассчитывают методом интерполяции по калибровочной кривой, полученной одновременно с анализом неизвестных образцов.

Калибровочная кривая

Результаты в отделе контроля качества рассчитаны с использованием подбора кривой «сплайн» с установленной радиоактивностью (имп/мин_{cal}-имп/мин_{cal10}) по логарифмической вертикальной оси и концентрацией аналита калибраторов по логистической горизонтальной оси (пМ).

Другие методы обсчета могут давать несколько отличающиеся результаты.

Общий счет: 227129 имп./мин.				
Калибраторы	С-пептид (пмоль/л)	Имп./мин. (n=3)	В/Т (%)	имп/мин _{cal} -имп/мин _{cal10}
0	0	53	0,02	-
1	32	985	0,43	932
2	103	2 935	1,29	2 882
3	375	10 863	4,78	10 810
4	1 530	42 652	18,78	42 599
5	6 100	118 237	52,06	118 184

(Пример типичной калибровочной кривой. Не использовать для обсчета результатов.)

Образцы

Для каждой пробы определите значение имп/мин или В/Т по вертикальной оси и узнайте соответствующую концентрацию аналита по горизонтальной оси.

Значения концентрации разведенных проб следует корректировать на коэффициент разведения.

Для перевода концентраций из пмоль/л в нг/мл нужно умножить полученный результат на **0.003**.

Образцы мочи

Расчет концентраций С-пептида в разведенных образцах мочи (1:21) суточную экскрецию С-пептида с мочой (нмоль/24 часа) можно рассчитать по формуле:

$$\text{С-пептид (нмоль/24 часа)} = \frac{\text{измеренная концентрация (пмоль/л)} \times 21 \times V}{1000}$$

где V = объем суточной мочи в литрах.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В каждой лаборатории рекомендуется установить собственные уровни тестостерона, соответствующие нормальным. Приведенные ниже значения являются всего лишь ориентировочными:

Сыворотка и плазма крови

- Результаты анализа образцов сыворотки крови, полученных натощак у 156 здоровых людей, приведены в таблице.

	Среднее	Средняя	Стандартное отклонение	Минимум-Максимум
пмоль/л	519	471	255	32,6-1 458
нг/мл	1,56	1,41	0,766	0,098-4,380

Пограничные концентрации для 95% популяции составили **160-1100 пмоль/л** (0,48-3,3 нг/мл).

- В таблице в качестве примера приведена средняя концентрация С-пептида у двенадцати молодых здоровых людей в ходе теста на толерантность к глюкозе.

Время (мин.)	Средняя концентрация С-пептида (пмоль/л) ± S.D.	Средняя концентрация С-пептида (нг/мл) ± S.D.
0	520 ± 169	1,56 ± 0,507
35	2 274 ± 1 116	6,82 ± 3,348
65	3 067 ± 987	9,20 ± 2,961
95	3 488 ± 1 038	10,46 ± 3,114
125	3 008 ± 593	9,02 ± 1,779

Экскреция с мочой:

- В таблице приведены результаты анализа 48 образцов первой порции утренней мочи, а также 20 проб суточной мочи.

	Среднее	Станд. откл.	Диапазон значений
Первая порция утренней мочи (нмоль/л)	20,12	16,70	1,22 - 66,39
Суточная моча (нмоль/24 часа)	23,13	12,77	7,76 - 49,38

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

В соответствии с требованиями Good laboratory practices для контроля качества проводимых исследований следует регулярно использовать контрольные образцы, которые должны проходить те же стадии анализа, что и анализируемые пробы. Результаты контроля качества рекомендуется обрабатывать с помощью специальных статистических методов.

В случае серьезного повреждения упаковки, или в случае несоответствия полученных результатов аналитическим характеристикам обратитесь, пожалуйста, к нашим специалистам. E-mail: imunochem@beckman.com или beckman.ru@beckman.com

ПРОЦЕДУРА

Подготовка и хранение реагентов

Довести все реагенты до комнатной температуры.

Растворение калибровочных проб

Растворить лиофилизированные препараты в указанном на этикетке объеме дистиллированной воды. Через 10 минут аккуратно перемешать содержимое флаконов, избегая образования пены. Подготовленные к работе растворы можно хранить в течение 1 недели при 2-8°C, или разделенными на аликвоты при < -18°C до окончания срока годности набора.

Растворение контрольных сывороток

Растворить лиофилизированные препараты в указанном на этикетке объеме дистиллированной воды. Через 10 минут аккуратно перемешать содержимое флаконов, избегая образования пены. Подготовленные к работе контрольные сыворотки можно хранить в течение 1 дня при 2-8°C или разделенными на аликвоты при < -18°C до окончания срока годности набора.

Подготовка промывочного раствора

Тщательно смешать содержимое флакона с концентратом и 950 мл дистиллированной воды. Подготовленный к работе промывочный раствор можно хранить при 2-8°C до окончания срока годности набора.

Перед использованием довести реагенты до комнатной температуры.

Чувствительность

Аналитическая чувствительность: 3,79 пмоль/л (0,011 нг/мл)

Функциональная чувствительность: 13,9 пмоль/л (0,042 нг/мл)

Специфичность

Антитела, используемые в данном наборе, не имеют перекрестной реакции с инсулином, панкреатическим полипептидом, соматостатином и глюкагоном. Перекрестная реакция с проинсулином составляет всего лишь 3% (по весу, что соответствует 10% по молярному соотношению).

Воспроизводимость

Внутри анализа

Анализ образцов проводили в 25 репликатах в пределах одной серии определений. Коэффициент вариации измеренных уровней С-пептида в сыворотке крови не превышал 3,1%, а в пробах мочи – 3,2%.

Между анализами

Анализ образцов в дубликатах проводили в 10 различных сериях определений. Коэффициент вариации измеренных уровней С-пептида в сыворотке крови не превышал 5,2%, а в пробах мочи – 4,8%.

Точность

Тест на разведение

Образцы сыворотки крови и мочи с высокой концентрацией С-пептида разводили специальным буфером для разведения проб. Процент «открытия» составил 96 - 114% для образцов сыворотки крови и 86 - 105% для проб мочи.

Тест на открытие стандартной добавки

Известные количества С-пептида добавляли к образцам сыворотки крови и мочи. Измеренная величина «открытия» составляла от 83 - 105% для образцов сыворотки крови и 80 - 104% для проб мочи.

Диапазон определений (от аналитической чувствительности до значения наивысшей калибровочной пробы): 3,79 до приблизительно 6400 пмоль/л.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Нарушение методики проведения анализа может привести к искажению результатов исследования. Результаты определения должны быть интерпретированы в свете общей клинической картины пациента, включая анамнез, данные других тестов и подходящую иную информацию

Не используйте гемолизированные, желтушные или липемические образцы.

«Хук-эффект» в данном наборе может наблюдаться при анализе проб с концентрацией С-пептида, превышающей 50 000 пмоль/л. Образцы с предполагаемой высокой концентрацией С-пептида следует разбавить специальным буфером для разведения проб, а полученный результат умножить на фактор разведения.

При выполнении анализов с использованием антител возможна интерференция гетерофильными антителами в пробе пациента. У пациентов, имеющих постоянный контакт с животными или проходивших иммунотерапию или диагностические процедуры с использованием иммуноглобулинов или их фрагментов, могут вырабатываться антитела (т.е. НАМА), которые влияют на результаты иммунного анализа.

Интерференция со стороны этих антител может привести к получению ошибочных результатов. Тщательно проверяйте результаты анализов пациентов с подозрением на наличие этих антител.

Стадия 1 Внесение компонентов*	Стадия 2 Инкубация	Стадия 3 Измерение результатов
В покрытые антителами пробирки последовательно внести: 50 мкл калибровочных, контрольных и анализируемых проб (сыворотка, плазма, разведенная моча) и 150 мкл метки. Перемешать.	Инкубировать пробы 2 часа при 18-25°C и постоянном встряхивании. (>280 осц./мин.).	Тщательно удалить содержимое всех пробирок (кроме проб «Т»). Промыть пробирки 2 раза по 2 мл промывочного раствора. Измерить связанную (В) и общую (Т) активность 125I (имп./мин.) в течение 1 минуты.

*Для определения общей активности 125I (имп./мин.) в две дополнительные пробирки внести по 150 мкл раствора метки.

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

(более подробная информация приведена в разделе "APPENDIX")

Репрезентативные данные предоставлены исключительно для пояснений. Показатели, полученные в конкретной лаборатории, могут отличаться.

C-peptide IRMA KIT

REF IM3639

免疫放射分析在體外測定 C-肽在人血清，血漿和尿 體外診斷用

原理

放射免疫法檢測的C-肽是一個“三明治”式的分析。同樣的工具包可能會被用於測量的C-肽直接和血漿或血清，稀釋後，尿中。

在工具包，鼠標單克隆抗體是針對兩種不同的抗原表位的C肽，因此不是競爭的使用。

血清，血漿或尿液樣本稀釋，控制和校準器是孵化塗在管與第一單克隆抗體的存在，第二單克隆抗體標記的碘125。孵育後，其內容是管沖洗，以除去未結合的¹²⁵I標記抗體。結合的放射性然後確定一個伽瑪計數器。這架C-肽濃度的樣品，獲得了從標準曲線插值。該濃度的C-肽的樣品是成正比的放射性。

警告和預防措施

一般注意事項：

- 每瓶的校正液和對照液應儘快打開以免過度揮發。
- 請勿混合不同批號之分析組試劑
- 應建立各次分析的標準曲線
- 建議進行分析兩次
- 各管均僅限單次使用

放射線安全的基本原則

放線性物質的購買、擁有、利用及運送均受到使用者當地國家的法規所規範。

- 在放射性物質的使用區域中，不可吃東西、喝飲料、抽煙或使用化妝品
- 不可以用嘴來分注具有放射性的溶液
- 利用手套及實驗室防護衣來避免接觸所有放射性物質
- 所有放射性物質的處置均應在距離走廊及其他較多人走動之區域較遠的適當處進行
- 放射性物質應儲存於指定區域的容器中
- 所有放射性產物的接收和儲存記錄應及時更新。
- 易受污染的實驗室裝置和玻璃器皿應予以隔離，以防止不同的放射性同位素之間發生交叉感染。
- 應根據已確立的程序處理放射性污染或放射性物質丟失的個案。
- 應根據所在國家確立的原則處理放射性廢棄物。

疊氮化鈉

有些試劑中含有疊氮化鈉作為防腐劑，疊氮化鈉可能與鉛、銅或黃銅反應形成具有爆炸性的疊氮金屬物，因此在棄置時應以大量清水沖洗水管線系統。

材料來源是人類

所有血清及血漿檢體均應視為具有傳染肝炎或AIDS能力來處置，廢棄物的棄置應遵循當地法規。

GHS 危害分類

Wash Solution (20X)

危險



H360

可能對生殖能力或胎兒造成傷害。

P201

使用前應獲取特殊說明。

P280

戴防護手套、穿防護服、戴眼睛/面部防護物品。

P308+P313

如果已經暴露或對此有擔憂：尋求醫療建議/就醫。

硼酸 0.1-0.3%

十水合四硼酸鈉 0.1-0.3%

SDS

安全性資料表載於 techdocs.beckmancoulter.com

檢體收集、處理、儲存、以及稀釋

採集的血清和血漿樣品

- 將血液收集在有或無含EDTA。
- 利用離心將血清或血漿與細胞分開。
- 如果預計要在24小時內進行分析，請將血清和血漿樣品被儲存在2-8°C。若需要長期的儲存，請分裝後冷凍保存在<-20°C(最長兩個月)或低於-70°C(最長一年)，以避免反復凍融。檢體必需在室溫下解凍。

人類C-肽是相對不穩定的分子在液體血清或血漿(相當大的退化可能已被觀察在數天時間)。有關儲存的建議因此，應當嚴格遵守。

- 如果樣品濃度大於最高校準器，它們必須在稀釋緩衝液稀釋。

20個樣品的血清和EDTA血漿值(血清抽樣範圍從 576.1 到 3,739 pM) 使用 IM3639 C-Peptide IRMA 成套試劑 結果如下：

[血漿] = 0.9623[血清] + 49.99;

r = 0.9960

收集尿液樣本

- 收集24小時尿瓶。
- 確定量。
- 如有必要先離心或過濾。
- 若預計在24小時內進行分析，請將尿液檢體儲存於2-8°C 的溫度下。若需較長期儲存，請分裝後冷凍儲存(低於-18°C, 最長1年)，避免重複的冷凍及解凍。等待直到樣品完全地被解凍並且使他們均勻在分析用試樣之前。檢體必需在室溫下解凍。
- 內容的C-肽尿液樣本通常是在濃度較高的校準。因此稀釋緩衝液稀釋1點21與建議，如：25µL的稀釋尿液，應與500µL的稀釋緩衝液。

提供的材料

若將分析組的所有試劑儲存於2-8°C的溫度下，則所有分析組之試劑在其標籤指明的有效期限內都可維持穩定。在配件小瓶標籤打印有效期限，僅適用於在組成套之前製造商長期儲備。一般不適用。

重製或稀釋後之試劑的儲存條件將於分析步驟的章節中加以說明。

抗-C-肽單克隆抗體塗層管：2 × 50管 (立即可用)

¹²⁵I標記單克隆抗C-肽抗體：一小瓶17毫升 (立即可用)

小瓶含有640 kBq，在生產日期，對¹²⁵I標記免疫球蛋白在緩衝區含有牛血清白蛋白，疊氮化鈉 (<0.1%) 和染料。

C肽稀釋緩衝液：1瓶25毫升 (可直接使用)

該解決方案包含了牛血清白蛋白和疊氮化鈉 (<0.1%) 。

校準：6瓶 (凍乾)

該校準器小瓶包含從0至大約6400時的C-肽與牛血清白蛋白的緩衝和疊氮化鈉 (<0.1%)。確切的濃度為每小瓶標籤上註明。該校準器進行了校準違反國際標準，世衛組織的內部回報率的C-肽五百一分之八十四。

對照血清：2瓶 (凍乾)

該瓶含有C肽凍乾牛血清和疊氮化鈉 (<0.1%)。預期值，在濃度為表示對一個補充。

清洗液(20x)：每瓶50 mL

濃縮液，需在使用前進行稀釋。

需要但未附的物品

除了一般實驗室設備以外，尚需要下列各物品

- 精密micropipets (50微升, 25微升)。
- 半自動吸管 (150微升)。
- 震盪行混合器。
- 水平式或旋轉震盪器 (>280轉)。
- 吸入系統。
- 適用¹²⁵I加碼計數器。

結果

結果是從標準曲線插值。該服務的決心曲線的C-肽濃度測定樣品在同一時間的校準。

標準曲線

品質管制部門的結果使用樣條曲線擬合計算，其中確定放射性 ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) 在對數垂直軸上，校準品的分析物濃度在對數水平軸上 (pM)。

利用其他資料縮減的統計方法所得到的結果可能會稍微不同。

總放射性計數值: 227,129 cpm				
校正液	C肽 (pM)	cpm (3次)	B/T(%)	$cpm_{cal} - cpm_{cal0}$
0	0	53	0.02	-
1	32	985	0.43	932
2	103	2,935	1.29	2,882
3	375	10,863	4.78	10,810
4	1,530	42,652	18.78	42,599
5	6,100	118,237	52.06	118,184

(標準曲線範例，請勿用此進行計算)

檢體

每個檢體需找到垂直軸上的 cpm 或 B/T 值，並在水平軸上判讀對應的分析物濃度。

稀釋檢體濃度必須透過稀釋係數校正。

要轉換 pmol/L 時 (下午) 到納克/毫升，乘結果由 **0.003**。

24小時尿排泄

對於尿液稀釋 (1:21稀釋)，下面的公式必須用於測定 24小時 C肽分泌：

$$C\text{-肽 (nmol/24h)} = \frac{\text{測得濃度 (下午)} \times 21 \times V}{1000}$$

其中 V = 24小時尿量(L)

預期數值

這是建議各實驗室建立自己的正常值。下面的值獲得與正常人只是象徵性的。

血清

- 血清樣本 156空腹健康人進行了分析。

	平均值	Median	誤差值 (SD)	最小-最大
pM	519	471	255	32.6-1,458
ng/mL	1.56	1.41	0.766	0.098-4.380

95百分位範圍為 **160-1100**時 (0.48-3.30納克/毫升)。

- 作為一個例子，平均C肽濃度的糖耐量12年輕，健康的人列於下表。

時間 (min)	C肽 (pM) 一般 ± 1 SD	C肽(ng/mL) 一般 ± 1 SD
0	520 ± 169	1.56 ± 0.507
35	2,274 ± 1,116	6.82 ± 3.348
65	3,067 ± 987	9.20 ± 2.961
95	3,488 ± 1,038	10.46 ± 3.114
125	3,008 ± 593	9.02 ± 1.779

正常人尿液

- 48個樣本的第一個早晨尿液樣本中，20個樣本 24小時收集尿液測定。

	平均值	Standard deviation	Min-Max
早上最先的尿液 (nmol/L)	20.12	16.70	1.22 - 66.39
24小時收集的尿液 (nmol/24小時)	23.13	12.77	7.76 - 49.38

品質控制

良好的實驗室控制樣品的做法意味著必須經常使用，以確保質量取得的成果。這些樣本必須處理完全一樣的檢測樣本，這是他們的分析結果建議使用適當的統計方法。

如果遇到包裝破碎或所得結果出現一些偏差，請聯絡您的地區分銷商或使用這個E-mail地址：imunochem@beckman.com

程序

試劑的準備工作

讓所有試劑回到室溫

重組的校準

依據標籤上註明的蒸餾水量來重製瓶中的內容物。等待10分鐘，後輕輕的混合，以避免再分注前產生氣泡。分析後的存儲解決方案，在2-8°C的一周或凍結在<-18°C的時間較長，直至終止日期的試劑盒。

重建控制樣本

內容重組的小瓶是與體積蒸餾水標籤上註明。等待10分鐘後輕輕重組和結構，以避免前發泡膠。改組後的存儲解決方案，在2-8°C的一天或aliquoted在<-18°C的時間較長，直至終止日期的試劑盒。

清洗液的製備

依據標籤上註明950mL的蒸餾水量和 homogenize 來重製瓶中的內容物。在分析組的有效期限內將重製溶液儲存在低於2-8°C的溫度下。

所有試劑在分注前需回到室溫

步驟一 加入*	步驟二 培養	步驟三 計數
在附著試管中，陸續加入： 50 μL 的標準品質控品或樣本 (血液,血漿,已前處理的尿液)立即添加 150 μL 的標記物,* 然後混合	室溫下培養2小時 (18~25°C)振盪器轉速 (>280 rpm).	小心抽掉管內溶液 (除了2管外 < 總cpm >), 2mL沖洗液沖洗2次 計算1分鐘內的結合cpm(B)及總cpm(T)

*在另外2館加入150微升追蹤劑獲得總CPM。

性能特色

(有關更多細節，請參閱資料表中的「附錄」)

提供代表的資料只為了說明用。每個實驗室所得到的結果都不同。

靈敏度

分析靈敏度：下午3.79點 (0.011納克/毫升)

功能靈敏度：13.9分 (0.042納克/毫升)

特異性

無交叉反應，觀察與胰島素，胰多肽，生長抑素或胰高血糖素。交叉反應與胰島素原只有3% (瓦特/瓦特，相當於10%的基礎上白齒)。

精度

各次分析內

在25個樣品進行檢測重複同一系列。係數的變化.發現低於或等於 3.1% 的血清樣品和尿液樣品為 3.2%。

各次分析間-

樣品一式兩份，分別檢測了10種不同系列。被發現的變異係數低於或等於 5.2% 的血清樣品和尿液樣品為 4.8%。

準確性

稀釋試驗

高濃度的血清和尿液樣品進行系列稀釋後的稀釋緩衝液。得到的恢復率分別在96%和114%的血清樣品和86%至105%的尿液樣本。

回收試驗

血清和尿液樣品加標與已知數量的C-肽。得到的恢復率分別為 83%至 105% 的血清樣品和80至104%的尿液樣本。

測量範圍 (從分析到高靈敏度校準器)：3.79至大約6,400 pM.

限制

不尊重本說明書的指示可能會影響結果的顯著。結果的解釋應根據總的臨床表現的病人，包括病史，額外的測試數據和其他適當的信息。

不要使用嚴重溶血或脂血樣本。

“胡克效應”這個伊爾瑪包可能會出現在樣品含C肽濃度等於或高於 50 000 點。該樣本臨床懷疑到非常高濃度應與稀釋緩衝液稀釋。價值觀必須得到糾正的稀釋因素。

為使用抗體的分析用試樣，可能為由heterophile抗體的干涉存在病人樣品中。通常病人被暴露在動物或接受了免疫療法或運用免疫球蛋白或免疫球蛋白片段的診斷過程也許生產抗體，即HAMA，干擾免疫測定法。

這樣干涉的抗體也許導致錯誤結果。如被懷疑有這些抗體小心地評估患者的結果。

C-peptide IRMA KIT

REF IM3639

IMUNORADIOMETRIJSKI TEST ZA IN VITRO ODREĐIVANJE C-PEPTIDA U HUMANOM SERUMU, PLAZMI I URINU

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.

PRINCIP

Radioimunometrijski test za C-peptid je "sendvič" tip testa. Isto pakovanje se može upotrebiti za određivanje C-peptida ili direktno u serumu i plazmi, ili nakon razblaživanja, u urinu.

U pakovanju su iskorišćena mišija monoklonska antitela usmerena protiv dva različita epitopa C-peptida, i stoga nema kompeticije.

Uzorci seruma, plazme ili razblaženog urina, kontrole i kalibratori se inkubiraju u epruvetama obloženim prvim monoklonskim antitelom sa jodom ¹²⁵. Nakon inkubacije, sadržaj epruvete se ispira da bi se uklonila nevezana antitela obeležena sa ¹²⁵I. Vežana radioaktivnost se zatim određuje pomoću gama brojača. Koncentracija C-peptida u uzorcima se dobija interpolacijom sa standardne krive. Koncentracija C-peptida u uzorcima je direktno proporcionalna očitanoj radioaktivnosti.

UPOZORENJE I MERE OPREZA

Opšte napomene:

- Bočice sa kalibratorima i kontrolama treba da budu otvorene što je kraće moguće da bi se izbeglo prekomerno isparavanje.
- Ne mešati reagense iz kitova različitih lotova.
- Standardna kriva mora biti obuhvaćena sa svakim testom.
- Preporučeno je da se test vrši u duplikatu.
- Svaka epruveta mora da se upotrebi samo jedanput.

Osnovna pravila bezbednosti od radijacije

Kupovina, posedovanje, upotreba i prenos radioaktivnog materijala je predmet regulative zemlje korisnika. Pridržavanje osnovnih pravila bezbednosti od radijacije treba da obezbedi adekvatnu zaštitu:

- Ne treba jesti, piti, pušiti ili nanositi kozmetiku u prisustvu radioaktivnih materijala.
- Ne pipetirati radioaktivni rastvor ustima.
- Izbegavati svaki kontakt sa radioaktivnim materijalom upotrebom rukavica i laboratorijskog kombinezona.
- Sva manipulacija radioaktivnim supstancama treba da se obavi u odgovarajućem prostoru, udaljenom od hodnika i drugih prometnih mesta.
- Radioaktivni materijali treba da se čuvaju u kontejnerima koji su obezbeđeni u označenom prostoru.
- Zapis o prijemu i skladištenju svih radioaktivnih proizvoda treba da se vodi ažurno.
- Laboratorijska oprema i stakleno posuđe koje je podložno kontaminaciji treba da budu razdvojeni da bi se izbegla unakrsna kontaminacija različitim radioizotopima.
- Svaki slučaj radioaktivne kontaminacije ili gubitka radioaktivnog materijala treba da bude rešen u skladu sa ustanovljenim procedurama.
- Postupanje sa radioaktivnim otpadom treba da bude u skladu sa pravilima utvrđenim u zemlji korisnika.

Natrijum azid

Neki reagensi sadrže natrijum azid kao konzervans. Natrijum azid može da reaguje sa olovom, bakrom ili mesingom i da formira eksplozivne metalne azide. Izbaciti reagense ispiranjem sa velikom količinom vode kroz vodovodne instalacije.

Materijali humanog porekla

Sa svim uzorcima seruma i plazme treba postupati kao da su sposobni za prenos hepatitisa ili AIDS-a tako da otpad treba odlagati u skladu sa propisima države.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Wash Solution (20X) OPASNOST



H360	Može da ošteti plodnost ili nerođeno dete.
P201	Potrebna su posebna uputstva pre upotrebe.
P280	Nositi zaštitne rukavice, zaštitnu odeću i zaštitna sredstva za oči/lice.
P308+P313	AKO ste izloženi ili zabrinuti: Potražite medicinski savet/mišljenje. Borna kiselina 0,1-0,3% Natrijum-borat dekahidrat 0,1-0,3%

SDS

Bezbednosni list je dostupan na internet adresi techdocs.beckmancoulter.com

PRIKUPLJANJE UZORAKA, OBRADA, SKLADIŠTENJE I RAZBLAŽIVANJE Sakupljanje uzoraka seruma i plazme

- Krv sakupljati u suvim epruvetama ili epruvetama sa EDTA.
- Odvojite serum ili plazmu od ćelija centrifugiranjem.
- Uzorci seruma i plazme se mogu čuvati na 2-8°C, ako se test izvodi u toku 24 časa. Za duže skladištenje držati ih zamrznutim (na < -20°C tokom 2 meseca ili poželjnije na < -70°C najduže 1 godinu) nakon alikvotiranja kako bi se izbeglo ponovljeno zamrzavanje i odmrzavanje. Odmrzavanje uzorka trebalo bi izvoditi na sobnoj temperaturi.

Humani C-peptid je relativno nestabilan molekul u tečnom serumu ili plazmi (značajno propadanje može se primetiti već u epruvetu od nekoliko dana). Preporuke u pogledu čuvanja bi stoga trebalo striktno poštovati.

- Ako je koncentracija u uzorcima viša od najvišeg kalibratora isti se moraju razblažiti puferom za razblaživanje.

Serum i EDTA plazma vrednosti za 20 uzoraka (vrednosti u serumu u opsegu od 576,1 do 3.739 pM) su upoređivani korišćenjem IM3639 C-Peptide IRMA kita. Rezultati su u nastavku:

(EDTA-plazma) = 0,9623 (serum) + 49,99

R = 0,9960

Prikupljanje uzoraka urina

- 24-časovni urin sakupljati u posudu.
- Odrediti volumen.
- Centrifugirati ili filtrirati pre testiranja, ako je neophodno.
- Uzorci urina se mogu čuvati na 2-8°C, ako se test izvodi u toku 24 časa. Za duže skladištenje držati ih zamrznutim na < -18°C najduže 1 godinu, nakon alikvotiranja kako bi se izbeglo ponovljeno zamrzavanje i odmrzavanje. Sačekati da se uzorci potpuno odmrznu i homogenizovati ih pre testiranja. Odmrzavanje uzorka trebalo bi izvoditi na sobnoj temperaturi.
- Sadržaj C-peptida u uzorcima urina je često iznad koncentracije najvišeg kalibratora. Stoga je preporučeno razblaživanje u odnosu 1:21 pomoću pufera za razblaživanje, npr. 25 µL urina bi trebalo razblažiti sa 500 µL pufera.

ISPORUČENI MATERIJALI

Svi reagensi kita su stabilni do isteka roka označenog na etiketi kita, pod uslovom da se čuvaju na 2-8°C. Rokovi odštampani na etiketama bočica važe za dugoročno skladištenje komponenti samo od strane proizvođača, pre sastavljanja kita. Ovo ne uzimajte u obzir.

Uslovi čuvanja za reagense nakon rekonstitucije ili razblaživanja su navedeni u paragrafu Postupak.

Epruvete obložene anti-C-peptid monoklonskim antitelima: 2 x 50 epruveta (spremno za upotrebu)

¹²⁵I **obeženi anti-C-peptid monoklonsko antitelo: jedna bočica 17 ml** (spremno za upotrebu)

Bočica sadrži 640 kBq, na dan proizvodnje ¹²⁵I-obeženog imunoglobulina u formi tečnosti koja sadrži goveđi serumski albumin, natrijum azid (<0,1%), i boju.

C-peptid pufer za razblaživanje: jedna bočica 25 ml (spremno za upotrebu)

Rastvor sadrži albumin goveđeg seruma i natrijum azidom (<0,1%).

Kalibratori: šest bočica (liofilizovano)

Bočice kalibratora sadrže od 0 do približno 6,400 pM C-peptida u puferu sa albuminom goveđeg seruma i natrijum azidom (<0,1%). Tačna koncentracija je navedena na svakoj nalepnici bočice. Kalibratori se proveravaju prema internacionalnom standardu, WHO IRR C-peptide 84/510.

Kontrolni serum: dve bočice (liofilizovane)

Bočica sadrži C-peptid liofilizovan u govđem serumu sa natrijum azidom (<0,1%). Očekivane vrednosti su u opsegu koncentracija navedenom u dodatku.

Rastvor za pranje (20x): jedna bočica od 50 ml

Koncentrovani rastvor mora da se razblaži pre upotrebe.

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU OBEZBEĐENI

Pored standardne laboratorijske opreme, potrebne su sledeće stavke:

- Precizne mikropipete (50 µl; 25 µl).
- Polu-automatska pipeta (150 µl).
- Vorteks tip miksera.
- Horizontalna ili kružna mešalica (> 280 rpm).
- Aspiracioni sistem.
- Gama brojač za ¹²⁵I.

REZULTATI

Rezultati su dobijeni interpolacijom sa standardne krive. Kriva služi za određivanje koncentracije C-peptide u uzorcima izmerene u isto vreme kad i kalibratori.

Standardna kriva

Rezultati u odeljenju za kontrolu kvaliteta izračunati su upotrebom *splajn* krive koja ima utvrđenu radioaktivnost ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) na logaritamskoj vertikalnoj osi i koncentraciju analita kalibratora na logaritamskoj horizontalnoj osi (pM).

Druge metode redukcije podataka mogu dati neznatno različite rezultate.

Ukupna aktivnost: 227.129 cpm				
Kalibratori	C-peptid (pM)	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{cal} - cpm_{cal0}$
0	0	53	0,02	-
1	32	985	0,43	932
2	103	2.935	1,29	2.882
3	375	10.863	4,78	10.810
4	1.530	42.652	18,78	42.599
5	6.100	118.237	52,06	118.184

(Primer standardne krive, ne koristiti za proračun)

Uzorci

Za svaki uzorak pronađite vrednost cpm ili B/T na vertikalnoj osi i pročitajte odgovarajuću koncentraciju analita na horizontalnoj osi.

Koncentracije razblaženih uzoraka korigovati za diluicioni faktor.

Za prevođenje pmol/l (pM) u ng/ml, pomnožiti sa **0,003**.

Ekskrecija 24-časovnog urina

Za razblažene uzorke urina (razblaženje 1:21), mora se koristiti sledeća formula za određivanje 24-časovne ekskrecije C-peptida:

$$C\text{-peptid (nmol/24 h)} = \frac{\text{izmerena koncentracija (pM)} \times 21 \times V}{1000}$$

pri čemu je V = 24 h zapremina urina u litrima

OČEKIVANE VREDNOSTI

Laboratorije trebaju da uspostave svoje vlastite referentne vrednosti. Sledeći rezultati dobijeni od zdravih osoba su samo indikativni.

Serum

- Uzorci seruma od 156 zdravih pojedinaca, uzetih natašte, su analizirani.

	Srednja vrednost (%)	Srednji	Standardna devijacija (SD)	Min-Max
pM	519	471	255	32,6-1.458
ng/ml	1,56	1,41	0,766	0,098-4,380

95 postotni opseg je bio **160-1.100 pM** (0,48-3,30 ng/ml).

- Kao primer, prosečna C-peptid koncentracija u OGTT dvanaestoro mladih, zdravih pojedinaca je predstavljena u tabeli ispod.

Vreme (min)	C-peptid (pM) Prosečna vrednost ± 1 SD	C-peptid (ng/mL) Prosečna vrednost ± 1 SD
0	520 ± 169	1,56 ± 0,507
35	2.274 ± 1.116	6,82 ± 3,348
65	3.067 ± 987	9,20 ± 2,961
95	3.488 ± 1.038	10,46 ± 3,114
125	3.008 ± 593	9,02 ± 1,779

Urini

- 48 uzoraka prvog jutarnjeg urina i 20 uzoraka 24-časovnog urina su određivani.

	Srednja vrednost (%)	Standardna Devijacija	Min-Maks
Prvi jutarnji urin (nmol/L)	20,12	16,70	1,22 - 66,39
24-časovni urin (nmol/24h)	23,13	12,77	7,76 - 49,38

KONTROLA KVALITETA

Dobra laboratorijska praksa nalaže da se kontrolni uzorci moraju redovno koristiti da bi se osigurao kvalitet dobijenih rezultata. Ti uzorci se moraju obraditi na potpuno isti način kao i testirani uzorci, i preporučeno je da se njihovi rezultati analiziraju upotrebom odgovarajućih statističkih metoda.

U slučaju oštećenja pakovanja ili ako dobijeni podaci pokazuju neku promenu performansi, molimo da kontaktirate vašeg lokalnog distributera ili upotrebite sledeću e-mail adresu: imunochem@beckman.com

POSTUPAK

Priprema reagenasa

Neka svi reagensi dostignu sobnu temperaturu.

Rekonstitucija kalibratora

Sadržaj bočice se rekonstituiše zapreminom destilovane vode navedenoj na nalepnici. Sačekati najmanje 10 minuta nakon rekonstitucije i blago mešati da se izbegne stvaranje pene pre upotrebe. Čuvati rekonstituisane rastvore na 2-8°C do 7 dana ili alikvotirane na < -18°C duži period, do isteka roka upotrebe kita.

Rekonstitucija kontrolnih uzoraka

Sadržaj bočice se rekonstituiše zapreminom destilovane vode navedenoj na nalepnici. Sačekati najmanje 10 minuta nakon rekonstitucije i blago mešati da se izbegne stvaranje pene pre upotrebe. Čuvati rekonstituisane rastvore na 2-8°C do 1 dana ili alikvotirane na < -18°C duži period, do isteka roka upotrebe kita.

Priprema rastvora za pranje

Sipati sadržaj bočice u 950 ml destilovane vode i homogenizirajte ga. Razblažen rastvor se može čuvati na 2-8°C do isteka roka upotrebe.

Neka svi reagensi dostignu sobnu temperaturu.

Korak 1 Dodaci*	Korak 2 Inkubacija	Korak 3 Brojanje
Obloženim epruvetama, sukcesivno dodavati: 50 µL kalibratora, kontrole ili uzorka (serum, plazma, prethodno razblaženi urin) i 150 µL tracer. Promešati.	Inkubirajte 120 minuta na 18-25°C uz mešanje (>280rpm).	Pažljivo aspirirati sadržaj epruveta (izuzev 2 epruvete «ukupan cpm»). Dva puta operite sa 2 ml rastvora za pranje. Brojati aktivnost (cpm) za 1 min.

*Dodati 150 µl obeleživača (tracer) u 2 dodatne epruvete da se dobije ukupni cpm.

KARAKTERISTIKE PERFORMANSI

(za više detalja, videti "DODATAK")

Reprezentativni podaci su obezbeđeni u svrhu ilustracije. Performanse dobijene u pojedinačnim laboratorijama mogu da variraju.

Osetljivost

Analitička osetljivost: 3,79 pM (0,011 ng/ml)

Funkcionalna osetljivost: 13,9 pM (0,042 ng/ml)

Specifičnost

Nije primećena unakrsna reaktivnost sa insulinom, pankreasnim polipeptidom, somatostatinom ili glukagonom. Unakrsna reaktivnost sa proinsulinom je samo 3% (w/w ekvivalentno 10% na molarnoj osnovi).

Preciznost

Unutar serije

Uzorci su testirani u 25 puta u istoj seriji. Ustanovljeni su koeficijenti varijacije manji ili jednaki 3,1% za serum i manji ili jednaki 3,2% za urin.

Između serija

Uzorci seruma su testirani u duplikatu u 10 različitih serija. Ustanovljeni su koeficijenti varijacije manji ili jednaki 5,2% za serum i manji ili jednaki 4,8% za urin.

Tačnost

Test razblaživanja

Visoko koncentrovani uzorci seruma i urina su serijski razblaženi puferom za razblaživanje. Dobijeni procenti recovery vrednosti bili su između 96% i 114% za serum i između 86% i 105% za urin.

Recovery test

U uzorke seruma i urina su dodate poznate količine C-peptida. Dobijeni procenti recovery vrednosti bili su između 83% i 105% za serum i između 80% i 104% za urin.

Opseg određivanja (od analitičke osetljivosti do najvišeg kalibratora): 3,79 do otprilike 6.400 pM.

OGRANIČENJA

Nepridržavanje instrukcija u ovom uputstvu iz pakovanja može značajno da utiče na rezultate. Rezultate treba interpretirati u skladu sa celokupnom kliničkom slikom pacijenta, uključujući kliničku istoriju, podatke iz dodatnih testova i druge odgovarajuće informacije.

Ne koriste se hemolizovani, ikterični ili lipemični uzorci.

"Hook-ov" efekat kod ovog IRMA testa može se javiti kod uzoraka sa koncentracijom C-peptida jednakoj ili višoj od 50.000 pM. Uzorke za koje postoji klinička pretpostavka da sadrže visoku koncentraciju bi trebalo razblažiti puferom za razblaživanje. Dobijene vrednosti se moraju korigovati za faktor razblaženja.

Za testove koji upotrebljavaju antitela, postoji mogućnost mešanja od strane heterofilnih antitela u uzorku pacijenta. Pacijenti koji su bili redovno izloženi životinjama ili su primili imunoterapiju ili dijagnostičke procedure koje koriste imunoglobuline ili imunoglobulinske fragmente mogu proizvesti antitela, npr. HAMA, koji utiču na imunotestove.

Takva interferirajuća antitela mogu uzrokovati pogrešne rezultate. Pažljivo procenite rezultate pacijenata za koje se sumnja da imaju ova antitela.

APPENDIX

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Representative data are provided for illustration only. Performance obtained in individual laboratories may vary.

Precision

Intra-assay (n = 25)

Serum	S1	S2	S3
Mean value (pM)	310	693	1,428
CV (%)	3.06	2.33	2.73

Urine	U1	U2	U3
Mean value (pM)	4,986	13,977	31,106
CV (%)	3.21	2.83	2.84

EDTA-plasma	P1	P2	P3
Mean value (pM)	300.4	904.9	2,695
CV (%)	2.81	3.99	1.88

Inter-assay (n = 10)

Serum	S1	S2	S3	S4	S5
Mean value (pM)	290	479	546	702	1,269
CV (%)	5.15	3.59	3.56	4.65	3.29

Urine	U1	U2	U3	U4	U5
Mean value (pM)	4,836	14,057	30,870	23,165	9,128
CV (%)	4.76	4.31	1.90	3.32	4.01

EDTA-plasma	P1	P2	P3	P4	P5
Mean value (pM)	93.76	323.4	840.2	3,434	4,301
CV (%)	3.88	2.08	2.00	1.55	2.37

Accuracy

Dilution test

Five serum, EDTA-plasma and urine samples were diluted with the dilution buffer and assayed according to the procedure of the kit.

Serum	Dilution	C-peptide (pM)		Ratio (%) Measured/Expected
		Expected	Measured	
S1	Undiluted	941	941	-
	1:2	470	469	99.7
	1:4	235	252	107
	1:8	118	130	110
	1:16	58.8	61.7	105
	1:32	29.4	33.4	114
S2	Undiluted	2,164	2,164	-
	1:2	1,082	1,102	102
	1:4	541	577	107
	1:8	270	284	105
	1:16	135	141	104
	1:32	67.6	73.8	109
S3	Undiluted	1,266	1,266	-
	1:2	633	640	101
	1:4	316	332	105
	1:8	158	164	104
	1:16	79.1	85.6	108
	1:32	39.6	42.8	108
S4	Undiluted	1,829	1,829	-
	1:2	914	911	99.6
	1:4	457	472	103
	1:8	229	239	104
	1:16	114	116	102
	1:32	57.2	58.2	102
S5	Undiluted	1,656	1,656	-
	1:2	828	799	96.5
	1:4	414	424	102
	1:8	207	200	96.6
	1:16	103	100	96.6
	1:32	51.7	49.5	95.7

EDTA-plasma	Dilution	C-peptide (pM)		Ratio (%) Measured/Expected
		Expected	Measured	
P1	-	-	997.3	-
	1:2	498.7	496.9	99.65
	1:4	249.3	252.8	101.4
	1:8	124.7	129.8	104.1
	1:16	62.33	69.73	111.9
	1:32	31.17	35.71	114.6
P2	-	-	1,478	-
	1:2	738.9	732.8	99.18
	1:4	369.5	365.6	98.96
	1:8	184.7	183.0	99.08
	1:16	92.36	92.55	100.2
	1:32	46.18	47.26	102.3
P3	-	-	2,640	-
	1:2	1,320	1,266	95.94
	1:4	660.0	585.8	88.76
	1:8	330.0	301.5	91.37
	1:16	165.0	153.6	93.12
	1:32	82.50	81.69	99.02
P4	-	-	3,359	-
	1:2	1,679	1,668	99.32
	1:4	834.0	837.6	100.4
	1:8	417.0	417.8	100.2
	1:16	208.5	223.0	106.9
	1:32	104.2	108.7	104.2
P5	-	-	5,960	-
	1:2	2,980	3,243	108.8
	1:4	1,490	1,597	107.2
	1:8	745.0	781.4	104.9
	1:16	372.5	402.4	108.0
	1:32	186.2	203.2	109.1

Urine	Dilution	C-peptide (pM)		Ratio (%) Measured/Expected
		Expected	Measured	
U1	1:10	2,062	2,062	-
	1:20	1,031	1,020	98.9
	1:40	515	499	96.8
	1:80	258	241	93.4
	1:160	129	115	89.1
	1:320	64.4	60.4	93.8
U2	1:10	2,050	2,050	-
	1:20	1,025	1,003	97.8
	1:40	512	504	98.3
	1:80	256	245	95.7
	1:160	128	119	93.0
	1:320	64.1	59.9	93.4
U3	1:10	944	944	-
	1:20	472	469	99.4
	1:40	236	227	96.2
	1:80	118	111	94.1
	1:160	59.0	50.7	85.9
	1:320	29.5	27.2	92.2
U4	1:10	245	245	-
	1:20	122	111	90.6
	1:40	61.3	58.6	95.6
	1:80	30.6	26.3	85.9
	1:160	15.3	13.5	88.2
	1:320	7.66	7.47	97.5
U5	1:10	1,005	1,005	-
	1:20	502	499	99.3
	1:40	251	264	105
	1:80	126	123	97.6
	1:160	62.8	57.5	91.6
	1:320	31.4	32.9	105

Recovery test

Known amount of C-peptide was added to serum, EDTA-plasma and diluted urine samples. Samples were then assayed according to the procedure of the kit.

Serum	C-peptide (pM)				Ratio (%) Measured/ Expected
	Endogen.	Added	Expected	Measured	
S1	362	89,0	451	437	84.3
	362	333	695	696	100
	362	665	1,027	1,010	97.4
S2	696	178	874	843	82.6
	696	665	1,361	1,343	97.3
	696	3,325	4,021	4,114	103
S3	1,196	333	1,529	1,497	90.4
	1,196	1,662	2,858	2,822	97.8
	1,196	3,325	4,521	4,697	105

EDTA plasma	C-peptide (pM)				Ratio (%) Measured/ Expected
	Endogen.	Added	Expected	Measured	
P1	690.5	336.6	1,027	1,016	98.95
	683.8	666.7	1,350	1,469	108.8
	670.6	1,308	1,978	2,146	108.5
P2	474.5	253.1	727.6	800.3	110.0
	471.0	502.5	973.5	1,076	110.6
	464.4	968.9	1,433	1,634	114.0
P3	951.3	491.5	1,443	1,600	110.9
	937.8	968.9	1,907	1,960	102.8
	911.8	1,884	2,796	3,248	116.2
P4	1,130	551.9	1,682	1,815	107.9
	1,112	1,076	2,188	2,458	112.3
	1,079	2,065	3,144	3,499	111.3
P5	1,311	780.7	2,091	2,346	112.2
	1,282	1,516	2,798	3,201	114.4
	1,233	2,750	3,983	4,401	110.5

Urine	C-peptide (pM)				Ratio (%) Measured/ Expected
	Endogen.	Added	Expected	Measured	
U1	59.5	28.3	87.8	83.3	84.1
	59.5	110	169	168	98.6
	59.5	297	356	349	97.5
U2	412.5	28.3	441	435	79.5
	412.5	297	710	696	95.5
	412.5	3,325	3,738	3,856	104
U3	894	55.0	949	942	87.3
	894	890	1,784	1,726	93.5
	894	3,325	4,219	4,289	102

¹²⁵I Characteristics

$$T_{1/2} (^{125}\text{I}) = 1443 \text{ h} = 60.14 \text{ d}$$

¹²⁵ I	E (MeV)	%
γ	0.035	
X	0.027	114
	0.032	25

Symbols Key

REF Product Reference / Référence du produit / Produktreferenz / Riferimento prodotto / Número de referencia del producto / Referência do produto / Produktreferenz / Κωδικός αναφοράς προϊόντος / 产品参考 / Gaminio nuoroda / Termékszám / Dane referencyjne produktu / Reference k produktu / Referenčné označenie výrobku / 제품 참조 자료 / Ürün Referansı / Ссылка на продукт / Референция за продукт / 產品參考

IVD In Vitro Diagnostic / Diagnostic in vitro / In-vitro-Diagnostikum / Diagnostica in vitro / Para diagnóstico in vitro / Diagnóstico in vitro / InVtro-diagnostik / Για διάγνωση in vitro / 体外诊断 / In vitro diagnostika / In vitro diagnosztikai felhasználásra / Diagnostyka in vitro / Diagnostika in vitro / 체외 진단 / In Vitro Diagnostik / Diagnostika in vitro / Ин vitro диагностика / 體外診斷

CONTENTS Contents / Contenu / Inhalt / Contenuto / Contenido / Conteúdo / Περιεχόμενα / 组成 / Rinkinio sudėtis / Tartalom / Zawartość / Obsah / Obsah / 내용물 / İçindekiler / Содержание / Съдържание / 目錄

Manufactured by / Fabriqué par / Hergestellt von / Prodotto da / Fabricado por / Tillverkas av / Κατασκευαστής / 制造商 / Gamintojas / Gyártó: / Producent / Výrobce / Уробца / 제조 / Üretici / Изготовлено / Произведено от / 製造商

Σ Contains sufficient for <n> tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenido suficiente para <n> ensayos / Conteúdo suficiente para "n" ensaios / Rækker til "n" antal tester / Περιεχόμενο επαρκές για "n" εξετάσεις / 含量足够 <n> 次测试 / Turinio pakanka <n> tyrim / <n> teszthez elegendő mennyiségű tartalmaz / Zawartość wystarcza na <n> testów / Lze použít pro <n> testů / Obsah vystačí na <n> testov / <n> 테스트에 대해 충분한 양 포함 / <n> sayida test için yeterlidir / Содержит достаточно для количества тестов: <n> / Съдържа достатъчно за <n> теста / 內容物足夠執行 <n> 次測試

CE CE Mark / Marquage CE / CE-Kennzeichnung / Marchio CE / Marcado CE / Marcação CE / CE-märkning / Σήμωση CE / CE 标志 / CE ženklas / CE jelzés / Znak CE / Značka CE / Označenie CE / CE 표시 / CE İşareti / Маркировка CE / CE маркировка / CE 標識

SDS Safety Data Sheet / Fiche technique santé-sécurité / Sicherheitsdatenblatt / Scheda dati di sicurezza / Hoja de datos de seguridad / Ficha de Dados de Segurança / Säkerhetsdatablad / Φύλλο δεδομένων ασφαλείας / 安全数据单 / Saugos duomenų lapas / Biztonsági adatlap / Karta Charakterystyki Bezpieczeństwa / Bezpečnostní list / Bezpečnostný list / 안전보건자료 / Güvenlik Bilgi Formu / Паспорт безопасности / Информационен Лист За Безопасност / 安全性資料表

i Consult Instructions for Use / Consultez le mode d'emploi / Siehe Gebrauchsanweisung / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte las Instrucciones de uso / Instruções de utilização / Konsultera bruksanvisning / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / 请参阅使用说明 / Skaitykite naudojimo instrukciją / Olvassa el a használati utasítást / Zapoznać się z instrukcją użycia / Postupujte podle návodu k použití / Prečitajte si návod na použitie / 사용 안내 문의 / Kullanma Talimatına Başvurun / Обратитесь к инструкциям / Вижте Инструкциите за употреба / 請參閱使用說明

Temperature range(s) / Plage(s) de température / Temperaturbereich(es) / Intervallo/i di temperatura / Intervalo(s) de temperatura / Intervalo(s) de temperatura / Temperaturintervall / Εύρος(-η) θερμοκρασίας / 溫度範圍 / Temperatūros diapazonas (-ai) / Hőmérséklet-tartomány(ok) / Zakres(y) temperatury / Rozsahy teplot / Rozsah(y) teploty / 온도 범위 / Sicaklık aralıkları / Диапазон(-ы) температуры / Температурен(ни) диапазон(и) / 溫度範圍

Caution / Précaution / Achtung / Attenzione / Precaución / Atenção / Försiktighet / Προσοχή / 注意事项 / [ispėjimas / Figyelem / Uwaga / Urozornění / Urozornenie / 주의 / Dikkat / Внимание / 注意

Expiration Date / Date d'expiration / Verfallsdatum, Verw. bis: / Data Di Scadenza / Fecha De Caducidad / Data de validade / Utgångsdatum / Ημερομηνία λήξης / 失效日期 / Galiojimo data / Lejárati idő / Data ważności / Datum expirace / Datum expirácie / 만료 날짜 / Son Kulanma Tarihi / Срок годности / Срок на годност / 到期日

LOT Lot Number / Numéro de lot / Chargennummer / Numero di lotto / Lote número / Número de lote / Satsnummer / Αριθ. παρτίδας / 批次号 / partijos numeris / Tételszám / Numer serii / Číslo šarže / 로트 번호 / Lot Numarası / Номер партии / Номер на партида / 批號

Date of Manufacture / Date de Fabrication / Herstellungsdatum / Data di Fabbricazione / Fecha de Fabricación / Data de Fabrico / Produktionsdatum / Ημερομηνία Παραγωγής / 生产日期 / Pagaminimo Data / Gyártás Dátuma / Data Produkcji / Datum Výroby / Datum Výroby / 제조 일자 / Üretim Tarihi / Дата Производства / Дата на Производство / 製造日期



Biohazard / Risque biologique / Biogefährdung / Rischio biologico / Riesgo biológico / Risco biológico / Biologisk fara / Βιολογικός κίνδυνος / 生物危害 / Biologisk fara / Veszélyes biológiai anyag / Zagrożenie biologiczne / Biologické riziko / Biologické riziko / 생물학적 위험 / Biolojik tehlike / Биологическая опасность / Биологична опасност / 生物危害



Radioactive / Radioactif / Radioaktiv / Radioattivo / Radiactivo / Radioactivo / Radioaktivt / Ραδιενεργό / 放射性 / Radioaktyvioji medžiaga / Radioaktiv / Radioaktywny / Radioaktivní / Rádioaktívny / 방사성 / Radyoaktif / Радиоактивный / Радиоактивен / 具放射性

DANGER

DANGER / DANGER / GEFAHR / PERICOLO / PELIGRO / PERIGO / FARA / ΚΙΝΔΥΝΟΣ / 危險 / PAVOJUS / VESZÉLY / NIEBEZPIECZENSTWO / NEBEZPEČÍ / NEBEZPEČENSTVO / 위험 / ТЕΗΛΙΚΕ / ОПАСНО / ОПАСНОСТ / 危險

Ag ^{125I}

Ab ^{125I}

Tracer / Traceur / Tracer / Marcato / Trazador / Marcador / Tracer / Ανιχνευτής / 追踪剂 / Atekamoji medžiaga / Nyomjelző / Znacznik / Radioindikátor / Indikátor (tracer) / 트레이서 / Tracer'lar / метка / Индикатор / 追蹤劑

CAL

CAL **0**

Calibrator / Calibrateur / Kalibrator / Calibratore / Calibrador / Calibrador / Kalibrator / Βαθμονομητής / 校准品 / Kalibravimo medžiaga / Kalibrátor / Kalibrator / kalibrátor / Kalibrátor / 보정 물질 / Kalibrátor / Калибратор / Калибратор / 校正液

CTRL

Control / Contrôle / Kontrolle / Controlla / Control / Controla / Kontrolle / Μάρτυρας / 质控品 / Kontroliné / Kontroll / Kontrola / Kontrola / Kontrola / 정도관리 / Kontrol / Контроль / Контролна / 质控品

TUBE

Tubes / tubes / Röhrchen / provette / tubos / Tubos de amostra / Provrór / σωληνάρια / 试管 / Mėgintuvėliai / Csövek / Probówki / Zkumavky / Skúmavky / 튜브 / Túpler / пробирки / Bulgarian / 試管

IFU

Instruction for Use / Mode d'emploi / Gebrauchsanweisung / Istruzioni per l'uso / Instrucciones de uso / Instruções de utilização / Bruksanvisning / Οδηγίες χρήσης / 使用说明 / Naudojimo instrukcija / Használati utasítás / Instrukcja użycia / Návod k použití / Návod na použitie / 사용 안내 / Kullanma Talimatı / Инструкции / Инструкции за употреба / 使用说明

SOLN **WASH** **20x**

Wash Solution Concentrate 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Waschlösungskonzentrat 20X / Concentrato di soluzione di lavaggio 20X / Solución de lavado concentrada 20X / Concentrado de solução de lavagem 20X / Tvättlösningskoncentrat 20X / Συμπυκνωμένο διάλυμα πλύσης 20X / 濃縮清洗液 20X / Plovimo tirpalas koncentratas 20X / 20X mosóoldat-koncentrátum / Koncentrat 20X roztworu płuczącego / Koncentrát mycího roztoku 20X / Koncentrát premývacieho roztoku 20X / 농축 세척액(20배) / Yıkama Çözeltisi Konsantresi 20X / Концентрат промывочного раствора 20X / Концентрат на разтвор за промиване 20X / 清洗溶液濃縮 20X

BUF

Buffer, Tampon, Puffer, Tampone, Tampón, Tampão, Buffert, Ρυθμιστικό διάλυμα, 缓冲液, Buferinis tirpalas, Puffer, Bufor, Puf, Tlmitivý roztok, 완충, Tampon, Буфер, буфер, 緩衝劑

3 August 2018