



### C - Péptido

Código de producto: 2775-300

**Uso previsto:** Determinación cuantitativa de la concentración de C - Péptido circulante en suero humano por prueba inmunológica de quimioluminiscencia en microplaca (CLIA)

### RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA:

La diabetes es una de las principales causas de discapacidad y muerte en los EE.UU. afecta a unos 16 millones de estadounidenses, aproximadamente un tercio de ellos ni siquiera saben que tienen la enfermedad. Las causas de la diabetes no se conocen con precisión, pero los factores genéticos y ambientales juegan un papel importante. La enfermedad se caracteriza por deficiencias en la capacidad del cuerpo para producir y utilizar correctamente la insulina. Las formas más comunes de diabetes son del tipo 1, en el que se destruye la capacidad del cuerpo para producir insulina, y el tipo 2, en la que el cuerpo es resistente a la insulina a pesar de una cierta cantidad de insulina se puede producir. determinación in vitro de la insulina y los niveles de péptido C de ayudar en el diagnóstico diferencial de enfermedad hepática, acromegalia, síndrome de Cushing, intolerancia a la glucosa familiar, insulinoma, insuficiencia renal, la ingestión accidental de fármacos hipoglucemiantes orales o insulina inducida por la hipoglucemia facticia. Tanto la insulina y péptido C se producen por escisión enzimática de la proinsulina. Proinsulina se almacena en los gránulos secretores de las células  $\beta$  del páncreas y se divide en un péptido de 31 amino ácidos de conexión (péptido C; MW 3600) y la insulina (MW 6000). C-péptido carece de actividad biológica, pero parece ser necesario para mantener la integridad estructural de la insulina. Aunque la insulina y péptido-C son secretadas a la circulación portal en concentraciones equimolares, el ayuno los niveles de péptido C se pliega 5.10 superiores a los de la insulina debido a la mayor vida media del C-péptido. El hígado no extrae C-péptido, sin embargo, se elimina de la circulación por la degradación en los riñones con una fracción desmayo sin cambios en la orina. Por lo tanto, los niveles de péptido C de la orina se correlacionan bien con niveles de péptido C en suero. El glucagón estimula la determinación de péptido C se utiliza a menudo para el diagnóstico diferencial de la insulina-

dependiente de los pacientes diabéticos no insulino-dependiente.

### PRINCIPIO

#### Ensayo inmunoenzimométrico

Los reactivos esenciales requeridos para un ensayo de quimioluminiscencia incluyen alta afinidad y especificidad de anticuerpos (enzima conjugado e inmovilizado), con el reconocimiento epítipo diferente y distinto, en exceso, y antígeno nativo. En este procedimiento, la inmovilización se produce durante el ensayo en la superficie de una microplaca bien a través de la interacción de estreptavidina (S. Avidina) recubierta por el bien y exógeno agregada biotinilado anticuerpo monoclonal anti-péptido C (Ab). Mezclando el anticuerpo monoclonal biotinilado, la enzima - anticuerpo etiquetado y un suero que contiene el antígeno nativo (Ag), los resultados de la reacción entre el antígeno nativo y los anticuerpos, sin competencia o impedimento estérico, para formar un complejo soluble en sándwich. La interacción es ilustrada por la siguiente ecuación:

$ka$   
 $EnzAb (m) + AGC-Pep. + BtnAb (m)$   
 $EnzAb (m) - AGC-Pep-BtnAb (m) k$

-A

$BtnAb (M) = Ab$  monoclonal biotinilado (Cantidad de la Franquicia)

$AGC-Pep =$  Nativo de antígeno (cantidad variable)

$EnzAb (M) = Ab$  monoclonal conjugado (exceso de cantidad) = Tasa  $EnzAb (M) - AGC-Pep - BtnAb (M) = k$  antígeno-anticuerpo complejo constante de la Asociación una

$k =$  tasa constante de disociación

-A

Al mismo tiempo, el complejo es depositado en el pozo a través de la reacción de alta afinidad de los anticuerpos con biotina y estreptavidina. Esta interacción se ilustra a continuación:

$EnzBtn$   
 $Ab (M) - Ag C-Pep-Ab (M) +$  estreptavidina CW  $\rightarrow$  complejo inmovilizar

StreptavidinCW = estreptavidina immobilized el bien complejo inmovilizado = complejo sándwich unido al bien.

Una vez se alcanza el equilibrio, la fracción de anticuerpo unido se separa de antígeno desatado por la decantación o aspiración. La actividad de la enzima, en la fracción de anticuerpo de ruedas, es directamente proporcional a la concentración de antígeno nativo. La actividad enzimática se determinó por reacción con un sustrato de emisión de luz. Al utilizar varias referencias distintas de suero de los valores de antígeno conocido, una curva dosis-respuesta se pueden generar a partir de la cual la concentración del antígeno de un desconocido puede ser comprobada.

### PRECAUCIONES:

*Para uso de diagnóstico in Vitro.*

*No es para usar externa o internamente en humanos o animales.*

Todos los productos que contienen suero humano han sido probados no-reactivos a Hepatitis B antígeno de superficie, HIV 1 y 2 y HCV por los exámenes de la FDA. Puesto que ninguna prueba conocida puede asegurar completamente la ausencia de agentes infecciosos, todos los productos que contienen suero humano deben ser manejados como potencialmente peligrosos y capaces de transmitir enfermedades infecciosas.

Los procedimientos de las Buenas Prácticas de Laboratorio para el manejo de productos sanguíneos se pueden encontrar en el Centro de Control de Enfermedades del Instituto Nacional de Salud, "Bioseguridad en Microbiología y Laboratorio Biomédicos" 2º Ed 1988 HHS.

### RECOLECCIÓN Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS:

Las muestras de suero de la sangre en el tipo y las precauciones habituales en la toma de muestras de punciones venosas. Para la comparación exacta de los valores normales establecidos, una muestra de suero de la mañana en ayunas debe ser obtenido. La sangre debe recogerse en un tubo de punción venosa normal de tapa roja sin aditivos o barrera de gel. Deje que la sangre se coagule. Centrifugar la muestra para separar el suero de las células. Las muestras pueden ser refrigeradas a 2-8 ° C durante un período máximo de cinco (5) días. Si la muestra (s) no se puede probar en este plazo, la muestra (s) puede ser almacenado a temperaturas de -20 ° C hasta por 30 días. Evitar la repetición de congelación y descongelación. Cuando se analizaron por duplicado, 0.100ml de la muestra se requiere.

### Materiales Provistos:

- A. Calibradores de C - Péptido** 2.0 ml/vial - Iconos A-F Seis (6) viales de referencia de Antígeno PSA en niveles de 0(A), 0.2(B), 1.0(C), 2.0(D), 5.0(E) y 10.0(F) ng/ml. Almacenar de 2 - 8° C Se agregó preservativo. Los calibradores reconstituidos son estables por sesenta días (60) a 2 - 8° C. Se agregó preservante. Los calibradores basados en suero humano fueron calibrados usando una preparación de referencia la misma que fue contrastada contra la OMS 1er IRP 66/304.
- B. Reactivo de C - Péptido trazador - 13 ml/vial** con Un (1) vial conteniendo anticuerpo etiquetado con enzima, IgG monoclonal de ratón con biotina en buffer, colorante y preservativo. Almacenar de 2 - 8° C

- C. Placa de 96 pocillos** de reacción cubiertos con estreptavidina y empacada en bolsa de aluminio con un agente desecante. Almacenar de 2 - 8° C
- D. Solución de lavado concentrado - 20 ml** Un (1) vial conteniendo surfactante en buffer salino. Se agregó preservativo. Almacenar de 2 - 8° C (ver sección Preparación de Reactivos)
- E. Reactivo A - 7.0 ml/vial** Una (1) botella conteniendo luminol en buffer. Almacenar de 2 - 8° C (ver sección Preparación de Reactivos)
- F. Reactivo B - 7.0 ml/vial** Una (1) botella conteniendo Peróxido de Hidrógeno (H2O2) en buffer. Almacenar de 2 - 8° C (ver sección Preparación de Reactivos)
- G. Inserto de instrucciones**

**Nota 1:** No usar los reactivos después de su fecha de expiración.

**Nota 2:** Los reactivos abiertos son estables por sesenta (60) días cuando se almacenan de 2 a 8° C

### Materiales Adicionales (No Provistos):

- 1.- Pipeta capaz de dispensar 50 ul con precisión de 1.5 %.
- 2.- Dispensador de capacidad: 0.100 ml y a 0.350 ml con precisión de 1.5 % (opcional)
- 3.- Dispensador de volumen ajustable de 200 - 1000 ul) para preparación de reactivos
- 4.- Lavador de microplacas o una pizeta (opcional).
- 5.- Tubos de ensayo para dilución
- 6.- Luminómetro de microplacas.
- 7.- Papel absorbente para secar los pocillos de la microplacas.
- 8.- Cubierta plástica para tapar las microplacas durante las incubaciones.
- 9.- Aspirador al vacío (opcional) para los procesos de lavado.
- 10.- Reloj cronómetro.
- 11.- Materiales de control de calidad.

### PREPARACION DE LOS REACTIVOS:

#### 1.- Buffer de lavado:

Diluir el contenido de la solución de lavado concentrada en 1,000 ml de agua destilada o desionizada en un depósito adecuado. Almacenar a temperatura ambiente de + 20° a + 27° C hasta por 60 días.

#### 2.- Solución de reactivo de trabajo:

Almacenar de + 2° a + 8° C. Determinar la cantidad de reactivo necesario y preparar mezclando en proporciones iguales el reactivo A y reactivo B en un depósito limpio. Por ejemplo, agregar 1 ml de A y 1 ml de B para 2 tiras de 8 pocillos.

## PROCEDIMIENTO DE ENSAYO:

Antes de proceder con el ensayo llevar todos los reactivos, sueros de referencia y controles a temperatura ambiente (20 a + 27°C)

1. Marcar los micropocillos para cada suero de referencia, control y muestra de paciente a ser ensayada en duplicado.  
NOTA: Cubrir los pocillos sin usar con el sellador de placas, sellar en la bolsa de plástico con desecante, y almacenar a 2-8 °C
2. Pipetear 0.050 ml (50 ul) del apropiado suero de referencia, control o muestra en los pocillos asignados.
3. Agregar 0.100 ml (100 ul) de reactivo trazador C - Peptido a cada pocillo. Es muy importante dispensar todos los reactivos cerca del fondo del pocillo recubierto.
4. Mover suavemente la placa por 20 a 30 segundos para mezclar y cubrir.
5. Incubar 60 minutos a temperatura ambiente.
6. Descartar el contenido de las microplacas por decantación o aspiración. Si se decanta dar un golpecito y secar con papel absorbente.
7. Agregar 350 µl de bufer de lavado (ver preparación de reactivos) decantar (golpear y secar) o aspirar. Repetir 4 veces adicionales para un total de 5 lavados. Se puede usar un lavador manual o automático. Seguir las instrucciones del fabricante para el uso apropiado. Si se emplea una pizeta, llenar cada pocillo por inclinación del depósito (evitando formar burbujas) para dispensar la solución de lavado. Decantar la sol. De lavado y repetir el procedimiento 4 veces adicionales.
8. Agregar 0.100 ml (100 ul) de reactivo de trabajo a todos los pocillos (ver Preparación de reactivos). Siempre agregar los reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias en el tiempo de reacción de cada pocillo.
9. Incubar a temperatura ambiente por 5 minutos en oscuridad.
10. Leer las unidades relativas de luz en cada pocillo, por 0.2 – 1.0 segundos, usando un luminómetro de microplacas. Los resultados deberán ser leídos entre los 30 minutos después e agregar la solución de sustrato.

## CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe correr controles en niveles bajo, medio y alto para poder monitorear el performance de la prueba. Estos controles deben ser trabajados como desconocidos y los valores determinados en cada prueba. Se debe llevar un registro del control de calidad para monitorear el performance de los reactivos. Se deben emplear métodos estadísticos pertinentes. Cada laboratorio individualmente debe establecer sus propios límites de aceptación. Una desviación significativa de los resultados puede indicar un

cambio no percibido en las condiciones experimentales o la degradación de los reactivos del kit. Se deben usar reactivos frescos para determinar las razones de las variaciones.

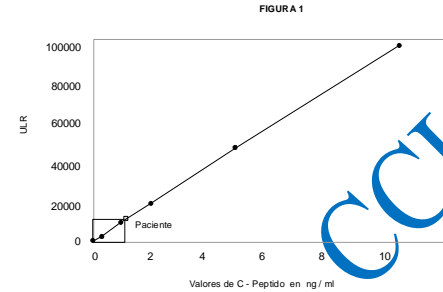
## RESULTADOS:

Se usa una curva de respuesta para determinar la concentración de C - Péptido circulante en la muestra del paciente.

1. Registrar el URL (Unidad de Luz Relativa) obtenido en el impreso del lector de microplaca como se indica en el ejemplo 1.
2. Plotear las URL para cada suero de referencia versus la concentración de C - Péptido correspondiente en ng/ml en un papel lineal gráfico (no promediar los duplicados de los sueros de referencia antes de plotearlos)
3. Dibujar la curva que mejor se ajusta a través de los puntos ploteados.
4. Para determinar la concentración de péptido C de una muestra desconocida, localizar el promedio de RLU's para cada desconocido en el eje vertical de la gráfica, encontrar el punto de intersección de la curva, y leer la concentración (en ng / ml) en el eje horizontal de la gráfica (los duplicados de lo desconocido puede ser un promedio, como se indica). En el siguiente ejemplo, el promedio de RLU's (12864 del paciente cruza la curva de calibración en (1.18ng/ml) la concentración de C-péptido (Ver Figura 1))

**Nota 1:** Aplicaciones informáticas de reducción de datos diseñado para ensayos de quimioluminiscencia también puede ser utilizado para la reducción de datos. Los duplicados de lo desconocido puede ser un promedio, como se indica (ver Figura 1).

**Nota 2:** Monobind puede ayudar al laboratorio en la compra e implementación de equipos y software para medir e interpretar los datos de quimioluminiscencia.



## EJEMPLO 1

Muestra ID	Pozo #	URL (A)	Media URL (B)	Valor (ng/ml)
Cal A	A1	163	161	0
	B	160		
Cal B	C1	1402	1432	0.2
	D1	1462		
Cal C	E1	10416	10837	1
	F1	11257		
Cal D	G1	20703	21370	2
	H1	22038		
Cal E	A2	54430	52387	5
	B2	50387		
Cal F	C2	100672	100000	10
	D2	99328		
Cont 1	E2	15212	15610	1.43
	F2	16008		
Cont 2	G2	61273	61198	5.84
	H2	61122		
Paciente	A3	12617	12864	1.18
	B3	13110		

Los datos presentados en el Ejemplo 1 y Figura 1 es sólo para ilustración y no debe ser utilizado en lugar de una curva dosis-respuesta preparada con cada ensayo. Además, los RLU de los calibradores han sido normalizados a 100,000 RLU's para el calibrador F (mayor salida de luz). Esta conversión elimina las diferencias causa por la eficiencia de los distintos instrumentos que se pueden utilizar para medir la salida de luz.

## PARAMETROS DE CONTROL DE CALIDAD

Para que los resultados del análisis sean considerados válidos los siguientes criterios deben cumplirse:  
1. La curva de respuesta de dosis debe estar dentro de los parámetros establecidos.

2. Cuatro de cada seis puntos ploteados de control de calidad deben estar dentro de los rangos establecidos.

## ANÁLISIS DE RIESGO

### A. Performance de la prueba

1. Es importante que el tiempo de reacción en cada pozo se mantenga constante para obtener resultados reproducibles.
2. Pipeteo de muestras no debe extenderse más allá de diez (10) minutos para evitar la deriva del análisis.
3. altamente lipémicas, hemolizadas o muy contaminación de la muestra (s) no debe utilizarse.
4. Si más de un (1) placa se utiliza, se recomienda repetir la curva dosis-respuesta.
5. La adición de reactivos de la señal inicia una reacción cinética, por lo tanto el reactivo de la señal (s) se debe agregar en la misma secuencia para eliminar cualquier desviación de tiempo durante la reacción.
6. Si no se retira la solución adecuadamente en la aspiración o la decantación (s) puede dar lugar a la réplica pobre ya resultados falsos.
7. Utilizar los componentes del mismo lote. No mezcle los reactivos de diferentes lotes.
8. Las muestras de pacientes con concentraciones de péptido C por encima de 10 ng / ml puede diluirse con el calibrador cero y re - ensayadas. Multiplicar el valor obtenido por el factor de dilución para obtener el valor corregido.
9. Precisa y una dosificación precisa, así como después de la hora exacta y los requisitos de temperatura prescrita son esenciales. Cualquier desviación de las instrucciones de uso Monobind los resultados pueden ser inexactos.
10. Todas las normas nacionales aplicables, reglamentos y leyes, incluyendo pero no limitado a, los procedimientos de laboratorio adecuadas, deben ser estrictamente seguidas para asegurar el cumplimiento y el uso adecuado del dispositivo.
11. Es importante para calibrar todo el equipo, por ejemplo, Pipetas, lectores, lavadoras y / o los instrumentos automatizados utilizados con este dispositivo, y para realizar el mantenimiento preventivo de rutina.
12. Análisis de riesgos-como exige el marcado CE IVD Directiva 98/79/CE para este y otros dispositivos, mediante Monobind, se puede solicitar a través de correo electrónico de Monobind@monobind.com.

### B. Interpretación

- 1 Los resultados de laboratorio sólo son sólo un aspecto para la determinación de la atención al paciente y no debe ser la única base para la terapia, particularmente si el conflicto resultados con otros determinantes.
- 2 Para los resultados de pruebas válidas, los controles adecuados y otros parámetros deben estar dentro de los rangos de la lista y los requisitos de ensayo.
- 3 Si los estuches de pruebas se alteran, por ejemplo,

partes de mezcla de diferentes kits, lo que podría producir resultados falsos de las pruebas, o si los resultados son mal interpretados, Monobind no tendrá ninguna responsabilidad.

4 Si la reducción de datos de la computadora controlada se utiliza para interpretar los resultados de la prueba, es imperativo que los valores previstos para los calibradores comprendidos dentro del 10% de las concentraciones asignadas

#### RANGO DE VALORES ESPERADO

los valores de péptido C son sistemáticamente más altos en el plasma que en el suero, por lo que el suero se prefiere. En comparación con el ayuno y los valores en los individuos no diabéticos no obesos, los niveles de péptido C son más elevados en sujetos obesos no diabéticos y bajos en atletas entrenados. Cada laboratorio se aconseja establecer sus propios rangos de poblaciones normales y anormales. Estos rangos son siempre depende de la configuración regional, la población, de laboratorio, la técnica y especificidad del método.

Con base en los datos clínicos recogidos por Monobind en concordancia con la literatura publicada de los siguientes rangos han sido asignados. Estos rangos se deben utilizar sólo como una guía

Adultos (normal) 0.7 – 1.9 ng / ml

#### CARACTERISTICAS DE PERFORMANCE

##### A. Precisión:

Los ensayos de precisión interno y externo de este método se determinaron por análisis en tres diferentes niveles de sueros control. El número, el valor medio, desviación estándar y coeficiente de variación para cada uno de estos sueros de control se presentan en los cuadros 2 y 3.

TABLA 2

##### Prueba de precisión interno (ng/ml)

Muestra	N	X	S.D.	C.V.
Nivel 1	20	0.82	0.07	8.5%
Nivel 2	20	3.16	0.19	6.0%
Nivel 3	20	8.11	0.52	6.4%

TABLA 3

##### Prueba de precisión externo ( ng/ml)

Muestra	N	X	S.D.	C.V.
Nivel 1	10	0.79	0.09	11.2%
Nivel 2	10	3.31	0.22	6.5%
Nivel 3	10	8.99	0.85	9.5%

\* Medido en 10 experimentos por duplicado.

#### B. Exactitud

El Monobind C-péptido AccuLite™ CLIA fue comparado con un inmunoensayo enzimático de referencia microplaca (ELISA), ensayo. Las muestras biológicas de la población (sintomáticos y asintomáticos) fueron utilizados. (Los valores oscilaron entre 0,2 ng / ml - 11.8ng/ml). El número total de especímenes fue 133. Los datos obtenidos se muestran en la Tabla 4

TABLA 4

##### Análisis de regresión cuadrada

Método	Media	Coef Co.
Este método (X)	1.068	0.962
Referencia (Y)	1.066	

$$Y = -0.2079 + 0.8036 X$$

Sólo cantidades ligero sesgo entre la C-péptido AccuLite™ CLIA y el método de referencia se indican por la cercanía de los valores medios. La ecuación de regresión del cuadrado y el coeficiente de correlación indica el acuerdo excelente método

#### C. Sensibilidad

La sensibilidad (límite de detección) fue comprobada por la determinación de la variabilidad de los 0 ng / ml de suero calibrador y el uso de la 2σ (95% de certeza) estadística para el cálculo de la dosis mínima. La sensibilidad del ensayo se encontró que 0.025 ng / ml.

#### D. Especificidad

La reactividad cruzada del C-péptido método AccuLite™ CLIA a las sustancias seleccionadas se evaluó mediante la adición de la sustancia interferente (s) a una matriz de suero en la concentración siguiente (s). La reactividad cruzada fue calculada derivando un cociente entre dosis de la sustancia que interfería con la dosis de C-péptido necesaria para producir la misma absorbancia

Sustancia	Reacción Cruzada	Concentración
C - Péptido	1.000	-
Proinsulina	0.120	100 ng / ml
Insulina	ND	1.0 mUI / ml
Glucagon	ND	150 ng / ml

#### E. Efecto por dosis alta

La prueba no se verá afectada por las concentraciones de péptido C de hasta 100 ng / ml en el suero. Sin embargo, las muestras se espera que más de 10 ng / ml deben diluirse 1:10 y 1:50 en el suero normal humano mezclado y la piscina normal ensayadas a lo largo de un lado a obtener un valor base. El valor base y el factor de dilución deberán tenerse en cuenta para obtener la concentración corregida de péptido C en la muestra

#### REFERENCIAS:

- 1 RD Eastham, Valores bioquímicos en Medicina Clínica, 7 de Inglaterra Ed, Bristol, John Wright & Sons Ltd (1985).
- 2 Gerbitz VKD, "Pancreatische B-Zellen péptido: und cinética y Konzentration von Insulina proinsulina y péptido C en plasma y Urin Probleme der Mezmethoden klinische Literaturübersicht", J Clin Biochem Chem 18, 313 - 326 (1980).
- 3 Boehm TM, Lebowitz HE, "El análisis estadístico de las respuestas de glucosa e insulina por vía intravenosa a la tolbutamida: evaluación de los estados de hipoglucemia y la hiperinsulinemia", Diabetes Care, 479-490, (1979).
- 4 Comité Nacional para Estándares de Laboratorio Clínico, "Procedimientos para la recogida de muestras de diagnóstico en sangre por punción venosa: las normas aprobadas", 4 de Ed, el NCCLS documento H3-A4, Wayne PA (1998).
- 5 Turkington RW, Estkowsk A, M Link, "La secreción de insulina o péptido de conexión, un factor de predicción de la dependencia de la insulina de los diabéticos obesos", Archives of Internal Med, 142, desde 1102 hasta 1105 (1982).
- 6 Sacos BD: Carbohidratos En Burtis, C.A. y Ashwood, AR (Eds) Tietz, de libros de texto de química clínica, 2ª edición de Philadelphia, WB Saunders Co. (1994).
- 7 Kahn CR, Rosenthal AS, "las reacciones inmunológicas a la insulina, la alergia a la insulina, resistencia a la insulina y el síndrome autoinmune de insulina". Cuidado de la Diabetes 2, 283-295 (1979).

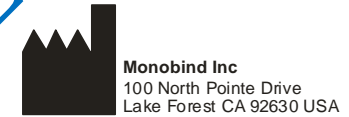
Versión: 3 Fecha: 112.210 ACA: 0383 Gato # 2775-300

#### INSTRUMENTOS Y APLICACIONES

Los inmunoensayos de Monobind son productos diseñados para trabajar en ambos ambientes de laboratorio Manual y Automatizado. AccuBind y AccuLite son compatibles con cualquier equipo abierto incluyendo analizadores químicos, lectores y lavadores de microplaca. Podemos tener la aplicación desarrollada para su equipo en particular, visite nuestra página en Internet.

Monobind ofrece varios instrumentos el Impuls 2 Luminómetro CLIA Lector de placa, diseñado mano a mano con nuestros productos y capacidad de 2 puntos

de calibración. Visite nuestro sitio en Internet para mayor información.



Tel 949-951-2665  
Fax: 949-951-3539  
Email: info@monobind.com  
En la web: www.monobind.com

