

INTENCIÓN DE USO

Para uso exclusivo en investigación. No debe utilizarse en los procedimientos de diagnóstico.

MATERIALES PROVISTOS	96 Pruebas
1. Pocillos recubiertos con anti Péptido-C Ab	12x8x1
2. Estándares (1-6) , 6 viales liofilizados	2 ml DH ₂ O
3. Conjugado enzimático: (listo para su uso)	12 ml
4. Sustrato TMB	12ml
5. Solución de Paro	12ml
6. Solución de Lavado 20X	25ml

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

1. Agua destilada o desionizada.
2. Pipetas de precisión.
3. Puntas de pipetas desechables.
4. Lector Microelisas con lente a 450 nm.
5. Papel absorbente o toalla de papel.
6. Papel cuadriculado.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Almacene el kit a 2 - 8°C.
2. Mantenga las tiras de los pocillos selladas en una bolsa seca con desecantes.
3. Todos los compuestos son estables hasta su fecha de expiración siempre y cuando las condiciones de almacenaje sean estrictamente llevadas a cabo como aquí se indica.
4. No exponga los reactivos al calor, luz solar o intensa luz eléctrica.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso exclusivo en investigación. No debe utilizarse en los procedimientos de diagnóstico.
2. Para uso en laboratorio.
3. Los materiales de potencial riesgo biológico:
El calibrador y los controles contienen componentes de origen humano que han sido probados y encontrados no reactivos para el antígeno de superficie de la hepatitis B, así como de anticuerpos del VIH con reactivos con licencia FDA. Sin embargo, no existe un método de prueba que puede garantizar la completa seguridad de que el virus del VIH, la hepatitis B u otros agentes infecciosos. Estos reactivos deben ser manipulados en el nivel 2 de bioseguridad, como se recomienda en los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de Salud de Estados.
4. No pipetear con la boca. No fumar, comer o beber en las áreas en las que las muestras o los reactivos del kit se manipulen.
5. Los componentes de este kit están destinados para su uso como una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no deben ser mezclados.
6. Se recomienda que las muestras de normalización, control y suero se realizaron por duplicado.
7. Los resultados óptimos se obtienen mediante la estricta adhesión a este protocolo. Pipeteado exacto y preciso, así como después de los requisitos de tiempo y temperatura exactos prescritos son esenciales. Cualquier desviación de esto puede producir datos no válidos.

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

1. Suero:

- a) Recoger muestras de sangre y separar el suero inmediatamente.
- b) Las muestras pueden almacenarse a una temperatura (2-8°C) durante 2 días. Si el tiempo de almacenamiento es superior a los 2 días, almacenar congelado a (-20°C) durante un máximo de un mes.
- c) Evitar múltiples ciclos de congelación y descongelación.
- d) Antes del ensayo, el suero congelado se descongela y se mezcla completamente bien.
- e) No utilizar muestras con exceso de lípidos.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Normas: Reconstituir las normas liofilizadas con 2,0 ml de agua destilada. Esto les permite permanecer en reposo hasta que se disuelvan por completo y luego se mezclan bien por inversión suave.

Tampón de lavado: Preparar tampón de lavado 1X mediante la adición de los contenidos de la botella (25 ml, 20x) a 475 ml de agua destilada o desionizada. Conservar a temperatura ambiente (20-25 ° C).

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Antes de proceder con el análisis, tenga todos los reactivos, referencias y controles a temperatura ambiente (20-25° C).

1. Formato de los pocillos de la microplaca para cada referencia, controles y muestras a ser analizadas por duplicado. Devuelva los micropozos no usados a la bolsa, selle y almacene a 2-8°C.
2. Pipetear 50µl de la norma adecuada, control o muestra en el pozo asignado.
3. Pipetear 100 µl de conjugado de enzima en cada pocillo.
4. Mezclar suavemente la placa durante 15-20 segundos.
5. Incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente.
6. Retirar el líquido de los pozos. Se lavan los pocillos tres veces con 300 µl de tampón de lavado 1X (véase la sección de la preparación del reactivo). Sacudir sobre papel absorbente.
7. Añadir 100 µl de sustrato TMB a todos los pocillos.
8. Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente.
9. Añadir 50 µl de solución de paro a cada pocillo y mezclar suavemente durante 15-20 segundos.
10. Leer la absorbancia del lector Microelisas de cada pocillo a 450 nm dentro de los 15 minutos después de añadir la solución de paro.

CÁLCULO DE RESULTADOS

La curva estándar se construye como sigue:

1. Comprobar el valor estándar del Péptido-C en el vial estándar. Este valor puede variar de un lote a otro. Asegúrese de verificar el valor de cada kit. Véase el ejemplo de la norma adjunta.
2. Para construir la curva estándar, la trama de la DO para cada punto estándar del Péptido-C (eje vertical) frente a las concentraciones estándar Péptido-C (eje horizontal) en un papel milimetrado. Dibuje la mejor curva a través de los puntos.
3. Lea la concentración (ng / ml) para los controles y cada muestra desconocida a partir de la curva. Registrar el valor de cada control o muestra desconocida.

EJEMPLO DE CURVA ESTÁNDAR

Los siguientes datos son sólo para demostración y no se pueden utilizar en lugar de las generaciones de datos en el momento de ensayo.

Estándar	OD (450 nm)
Estándar 1 (0 ng / ml)	0.014
Estándar 2 (0.2 ng / ml)	0.044
Estándar 3 (1.0 ng / ml)	0.219
Estándar 4 (2.0 ng / ml)	0.527
Estándar 5 (5.0 ng / ml)	1.656
Estándar 6 (10 ng / ml)	3.042

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. No utilice azida de sodio como conservante. La azida de sodio inhibe la actividad de las enzimas HRP.

REFERENCIAS

1. Ashby, J. and Frier, B.: Circulating C-Peptide: Measurement and Clinical Applications. *Annals of Clinical Biochemistry*. 18:125, 1981.
2. Beischer, W.: Proinsulin and C-Peptide in Humans. *Hormones in Normal and Abnormal Human Tissues*. Volume 3K, Fotherby and Pal, S., ed. (Berlin: Walter DeGruyter). pp. 1-43, 1983
3. Beyer, J., and Krause V., Cordes V.: C-Peptide: Its Biogenesis, Structure, Determination and Clinical Significance. *Giornale Italiano di Chimica Clinica* 4 Supp. 9:22, 1979
4. Bonger, A. and Garcia-Webb, P.: C-Peptide Measurement: Methods and Clinical Utility. *CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 19:297, 1984.
5. Blix, P. Boddie-Wills, C., Landau, R., Rochman, H. Rubenstein, A.: Urinary C-Peptide: An Indicator of Beta-Cell Secretion under Different Metabolic Conditions. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 54:574, 1982.
6. Rendell, M.: C-Peptide Levels as a Criterion in Treatment of Maturity-Onset Diabetes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 57 (6): 1198, 1983
7. Horwitz, D., et al.: Proinsulin, Insulin and C-Peptide concentrations in Human Portal and Peripheral Blood. *Journal of Clinical Investigation*. 55:1278, 1975