

 IMMULITE[®]
2000

C-Peptide

DPC[®]

IMMULITE[®] 2000 C-Peptide

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE 2000 Analyzer — for the quantitative measurement of C-peptide in serum, heparinized plasma, or urine, as an aid in the diagnosis and treatment of patients with abnormal insulin secretion.

Catalog Number: **L2KPE2** (200 tests),
L2KPE6 (600 tests)

Test Code: **CPE** Color: **Dark Gray**

CDC Analyte Identifier Code: 1040
CDC Test System Identifier Code: 10418
CLIA Complexity Category: Moderate

Summary and Explanation

Human C-peptide is a 31 amino acid chain with a molecular mass of approximately 3,020 daltons. Metabolically inert, it originates in the pancreatic β -cells as a by-product of the enzymatic cleavage of proinsulin to insulin.^{1,2,5} In this process, insulin and C-peptide are split from the prohormone and secreted into the portal circulation in equimolar concentrations.^{4,5,7} It is this fact which underlies the clinical interest in plasma determinations of C-peptide.

Within limits, C-peptide levels can serve as a valuable index to insulin secretion. Thus, low C-peptide levels are to be expected where insulin secretion is diminished, as in insulin-dependent diabetes, or suppressed, as a normal response to exogenous insulin; whereas elevated C-peptide levels may result from the increased β -cell activity observed in insulinomas.^{3,4,6,9}

Accordingly, in the differential diagnosis of hypoglycemia, C-peptide determinations can be used to supplement insulin measurements as an index to pancreatic activity in the classic 72-hour fasting test, and as the sole indicator of pancreatic activity where insulin itself is administered to check for suppressibility.^{1,8} In addition, covert self-administration of insulin can be virtually ruled out as the cause of hyperinsulinemia by the finding of an elevated C-peptide level.^{2,3,8,9}

Circulating anti-insulin antibodies are commonly encountered in patients who

have undergone insulin therapy. These would typically interfere with immunoassays for insulin, making it impossible to use insulin measurements in this context to check on residual β -cell activity, even if treatment were temporarily suspended. C-peptide measurements have therefore been used as an alternative in this context, to yield information on the natural history of insulin-dependent diabetes, to indirectly monitor insulin secretion in the presence of anti-insulin antibodies, and to help settle on an appropriate course of treatment.^{3,6,7,10}

C-peptide has also been measured as an additional means for evaluating glucose tolerance and glibenclamide-glucose tests.^{2,3,10}

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 C-Peptide is a solid-phase, competitive chemiluminescent enzyme immunoassay.

Incubation Cycles: 1 × 60 minutes.

Specimen Collection

Serum and Heparinized Plasma:

The patient should be fasting. Collect blood by venipuncture,¹² avoiding hemolysis, into plain tubes (without anticoagulant) or heparinized tubes, noting the time of collection, and separate the serum or plasma from the cells.

The use of an ultracentrifuge is recommended to clear lipemic samples.

Hemolyzed samples may indicate mistreatment of a specimen before receipt by the laboratory; hence the results should be interpreted with caution.

EDTA plasma and sodium fluoride plasma are unsuitable for use.

Centrifuging serum samples before a complete clot forms may result in the presence of fibrin. To prevent erroneous results due to the presence of fibrin, ensure that complete clot formation has taken place prior to centrifugation of samples. Some samples, particularly those from patients receiving anticoagulant therapy, may require increased clotting time.

Blood collection tubes from different manufacturers may yield differing values, depending on materials and additives, including gel or physical barriers, clot activators and/or anticoagulants. IMMULITE 2000 C-Peptide has not been tested with all possible variations of tube types. Consult the section on Alternate Sample Types for details on tubes that have been tested.

Storage: Assay within 2-3 hours, or store frozen at -20°C for 1 week.¹¹

Urine – Collection and Storage:

Collect a 24-hour urine, without preservative, keeping the specimen refrigerated at $2-8^{\circ}\text{C}$ during collection. Record the total volume of the collection and retain a well-mixed aliquot for analysis. Before assay, clear the sample by centrifugation or filtration.

Storage: For longer storage, aliquot and freeze: stable at -20°C for 30 days.

Dilution Factor: At least 5. Using a dilution factor of 20 will bring *normal* urine samples within the assay's calibration range. (For urine samples, select 5 or 20 in the Dilution Factor window.)

Volume Required:

75 μL serum, plasma, or urine sample.

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.

Reagents: Store at $2-8^{\circ}\text{C}$. Dispose of in accordance with applicable laws.

Follow universal precautions, and handle all components as if capable of transmitting infectious agents. Source materials derived from human blood were tested and found nonreactive for syphilis; for antibodies to HIV 1 and 2; for hepatitis B surface antigen; and for antibodies to hepatitis C.

Sodium azide, at concentrations less than 0.1 g/dL, has been added as a preservative. On disposal, flush with large volumes of water to prevent the buildup of potentially explosive metal azides in lead and copper plumbing.

Chemiluminescent Substrate: Avoid contamination and exposure to direct sunlight. (See insert.)

Water: Use distilled or deionized water.

Materials Supplied

Components are a matched set. Labels on the inside box are needed for the assay.

C-Peptide Bead Pack (L2PE12)

With barcode. 200 beads, coated with polyclonal rabbit anti-C-peptide. Stable at $2-8^{\circ}\text{C}$ until expiration date.

L2KPE2: 1 pack **L2KPE6:** 3 packs.

C-Peptide Reagent Wedge (L2PEA2)

With barcode. 17.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to C-peptide in buffer. Stable at $2-8^{\circ}\text{C}$ until expiration date.

L2KPE2: 1 wedge. **L2KPE6:** 3 wedges

Before use, tear off the top of the label at the perforations, without damaging the barcode. Remove the foil seal from the top of wedge; snap the sliding cover down into the ramps on the reagent lid.

C-Peptide Adjustors (LPEL, LPEH)

Two vials (Low and High) of lyophilized C-peptide in buffered human albumin. Reconstitute each vial with **4.0 mL** distilled or deionized water. Let stand for 30 minutes. Mix by gentle swirling or inversion until the lyophilized material is fully dissolved. After reconstitution, aliquot and freeze. Stable at -20°C for 6 months. Discard aliquots after use.

L2KPE2: 1 set. **L2KPE6:** 2 sets.

Before making an adjustment, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes so that the barcodes can be read by the on-board reader.

Kit Components Supplied Separately

C-Peptide Sample Diluent (L2PEZ)

For the on-board dilution of urine samples and high serum/plasma samples. 25 mL of concentrated (ready-to-use), processed, C-peptide-free buffered human albumin, with preservative. Stable at $2-8^{\circ}\text{C}$ for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at -20°C .

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16×100 mm test tube, so that the barcode can be read by the on-board reader.

L2PEZ: 3 labels.

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
L2PWSM: Probe Wash
L2KPM: Probe Cleaning Kit
LRXT: Reaction Tubes (disposable)
L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes
(16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps
PECM: Tri-level C-Peptide Control Module
Also Required
Distilled or deionized water; test tubes;
controls.

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE 2000 Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval:
2 weeks.

Quality Control Samples: Use controls or serum pools with at least two levels (low and high) of C-peptide.

Expected Values

Serum and Heparinized Plasma:
Serum samples were collected from 71 fasting laboratory volunteers and analyzed by the IMMULITE 2000 C-Peptide procedure, with the median of 2.1 ng/mL (0.7 nmol/L; 695 pmol/L) and a nonparametric central 95% reference range of

1.1 – 5.0 ng/mL
(0.4 – 1.7 nmol/L; 364 – 1,655 pmol/L)

Urine: Mean ± SD of 79 ± 56 µg/day, with a range of 2 to 260 µg/day, representing the central 95% of the observations.

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

Because metabolism of C-peptide differs from that of insulin, C-peptide levels are at best a semi-quantitative index of insulin secretion. The half-life of C-peptide in plasma has been estimated as approximately 30 minutes, compared to

approximately 5 minutes for insulin. Because of the difference in half-life, C-peptide circulates in plasma at a level roughly five times that of insulin, even though the two molecules are secreted in an equimolar ratio. Again, the liver plays a major role in clearing insulin, whereas C-peptide is removed by degradation and elimination mainly through the kidneys. Hepatic and renal complications will therefore affect the circulating C-peptide/insulin ratio.

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Samples from patients routinely exposed to animals or animal serum products can demonstrate this type of interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in ng/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Conversion Factors:
ng/mL × 0.331 → nmol/L
ng/mL × 331 → pmol/L

Calibration Range: 0.5 – 7 ng/mL
(0.17 – 2.3 nmol/L; 166 – 2,317 pmol/L).
Standardized to WHO 1st IRP 84/510.

Analytical Sensitivity: 0.3 ng/mL
(0.10 nmol/L; 99 pmol/L).

Precision: Serum samples were assayed in duplicate over the course of 20 days, two runs per day, for a total of 40 runs and 80 replicates. (See "Precision" table.)

Linearity: Samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

Recovery: Serum samples spiked 1 to 19 with three C-peptide solutions (15, 54 and 112 ng/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for C-peptide. (See "Specificity" table.)

Bilirubin: Presence of bilirubin in concentrations up to 200 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Hemolysis: Presence of hemoglobin in concentrations up to 381 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of lipemia in concentrations up to 3,000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Alternate Sample Type: No significant effect for heparinized plasma. EDTA plasma and sodium fluoride plasma are unsuitable for use. By linear regression:

(Heparin) = 0.97 (Serum) + 0.51 ng/mL
r = 0.969

Means:
4.7 ng/mL (Serum)
5.1 ng/mL (Heparin)

Method Comparison: The assay was compared to DPC's IMMULITE C-Peptide procedure on 66 samples. (Concentration range: approximately 0.5 – 6.5 ng/mL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 0.97 (IML) + 0.16 ng/mL
r = 0.990

Means:
2.84 ng/mL (IMMULITE 2000)
2.76 ng/mL (IMMULITE)

References

1) Beischer W. Proinsulin and C-peptide in humans. In: Fotherby K, Pal S, editors. Hormones in Normal and Abnormal Human Tissues. Vol 3. Berlin: Walter DeGruyter, 1983: 1-43. 2) Beyer J, Krause U, Cordes U. C-peptide: its biogenesis, structure, determination and clinical significance. *Giornale Ital Chem Clin* 1979;4 Suppl 1:9-22. 3) Bonser A, Garcia-Webb P. C-Peptide measurement: methods and clinical utility. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci* 1984;19:297-352. 4) Gonen G, Rubenstein AH, Horwitz DL, Blix PM. Clinical significance of C-peptide. In: Baba S, Kaneko T, Yanaihara N, editors. Proinsulin, Insulin, C-Peptide. Amsterdam: Excerpta Medica, 1979: 246-53. 5) Horwitz D, et al. Proinsulin, insulin and C-peptide concentrations in human portal and

peripheral blood. *J Clin Invest* 1975;55:1278-83. 6) Horwitz D, Kuzuya H, Rubenstein AH. Circulating serum C-peptide. *N Engl J Med* 1976;295:207-9. 7) Polonsky KS, Rubenstein AH. C-peptide as a measure of the secretion and hepatic extraction of insulin; pitfalls and limitations. *Diabetes* 1984;33:486-93. 8) Rendell M. Expanding clinical use of C-peptide radioimmunoassay. *Acta Diabetol Lat* 1983;20:105-13. 9) Rubenstein AH, Kuzuya H, Horwitz DL. Clinical significance of circulating C-peptide in diabetes mellitus and hypoglycemic disorders. *Arch Intern Med* 1977;137:625-32. 10) Turkington RW, Estkowski A, Link M. Secretion of insulin or connecting peptide; a predictor of insulin dependence of obese diabetics. *Arch Intern Med* 1982;142:1102-5. 11) Data on file. 12) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard. 4th ed. NCCLS Document H3-A4, Wayne, PA: NCCLS, 1998.

Technical Assistance

In the United States, contact DPC's Technical Services department.
Tel: 800.372.1782 or 973.927.2828
Fax: 973.927.4101. Outside the United States, contact your National Distributor.

Manufactured by EURO/DPC Ltd. under a Quality System registered to ISO 13485:2003.

Tables and Graphs

Precision (ng/mL)

	Within-Run ¹			Total ²	
	Mean ³	SD ⁴	CV ⁵	SD	CV
1	0.74	0.105	14.1%	0.137	18.6%
2	1.49	0.093	6.3%	0.131	8.8%
3	3.02	0.210	7.0%	0.252	8.4%
4	6.45	0.319	4.9%	0.405	6.3%

Specificity

Compound ¹	Amount Added ²	% Cross-reactivity ³
Insulin	200 µIU/mL	ND
Glucagon	15,000 ng/mL	ND
Secretin	15,000 ng/mL	ND
Proinsulin	10 ng/mL	17%

ND: not detectable.⁴

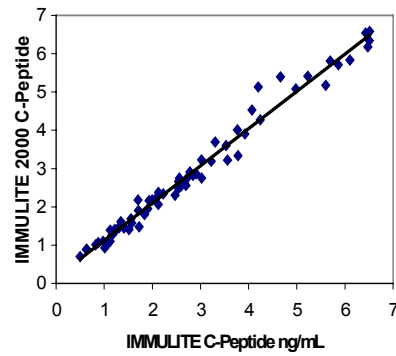
Linearity (ng/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	4 in 4 ⁵	1.8	—	—
	2 in 4	0.82	0.9	91%
	1 in 4	0.41	0.45	91%
2	8 in 8	3.7	—	—
	4 in 8	1.8	1.9	95%
	2 in 8	0.87	0.93	94%
	1 in 8	0.39	0.46	85%
3	8 in 8	4.9	—	—
	4 in 8	2.6	2.5	104%
	2 in 8	1.2	1.2	100%
	1 in 8	0.65	0.61	107%
4	8 in 8	6.2	—	—
	4 in 8	3.2	3.1	103%
	2 in 8	1.6	1.6	100%
	1 in 8	0.69	0.78	88%

Recovery (ng/mL)

	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	1.5	—	—
	A	2.1	2.2	96
	B	3.9	4.1	95
	C	6.5	7.0	93
2	—	1.8	—	—
	A	2.3	2.5	92
	B	4.3	4.3	100
	C	6.6	7.3	90
3	—	1.9	—	—
	A	2.5	2.6	96
	B	4.3	4.5	96
	C	6.8	7.4	88
4	—	2.0	—	—
	A	2.5	2.7	93
	B	4.0	4.6	87
	C	7.0	7.5	93
5	—	2.1	—	—
	A	2.5	2.8	89
	B	5.1	4.7	109
	C	6.9	7.6	91

Method Comparison



$$(IML 2000) = 0.97 (IML) + 0.16 \text{ ng/mL}$$

$$r = 0.990$$

Deutsch. Precision: ¹Intra-Assay, ²Gesamt, ³Mittelwert, ⁴S (Standardabweichung), ⁵CV (Variationskoeffizient). **Linearity:** ¹Verdünnung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E, ⁵4 in 4. **Recovery:** ¹Probe, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E. **Specificity:** ¹Verbindung, ²zugesetzte Menge, ³% Kreuzreaktivität, ⁴NN: Nicht nachweisbar. **Method Comparison:** C-Peptide: C-Peptid.

Español. Precision: ¹Intraensayo, ²Total, ³Media, ⁴DS, ⁵CV. **Linearity:** ¹Dilución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵4 en 4. **Recovery:** ¹Solución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. **Specificity:** ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³% Reacción cruzada, ⁴ND: no detectable. **Method Comparison:** C-Peptide: Péptido-C

Français. Precision: ¹Intraessai, ²Total, ³Moyenne, ⁴SD, ⁵CV. **Linearity:** ¹Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A, ⁵4 dans 4. **Recovery:** ¹Solution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A. **Specificity:** ¹Composé, ²ajouté, ³Réaction croisée %, ⁴ND: non détectable. **Method Comparison:** C-Peptide: C-Peptide

Italiano. Precision: ¹Intra-serie, ²Totale, ³Media, ⁴SD (Deviazione Standard), ⁵CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity:** ¹Diluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A, ⁵4 in 4. **Recovery:** ¹Soluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A. **Specificity:** ¹Composto, ²quantità aggiunta, ³Percentuale di Crossreattività, ⁴ND: non determinabile. **Method Comparison:** C-Peptide: C-Peptide

Português. Precision: ¹Entre-ensaios, ²Total, ³Média, ⁴Desvio padrão, ⁵Coefficiente de variação. **Linearity:** ¹Diluição, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵4 em 4. **Recovery:** ¹Solução, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. **Specificity:** ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³Porcentagem de reação cruzada,

Deutsch

C-Peptid - IMMULITE 2000

Verwendungszweck: Für in-vitro-diagnostische Tests mit dem Analysegerät IMMULITE 2000 – zur quantitativen Messung von C-Peptid im Serum, Heparin-Plasma und Urin, als Hilfe in der Diagnose und in der Behandlung von Patienten mit anormaler Insulinsekretion.

Artikelnummer: **L2KPE2** (200 tests), **L2KPE6** (600 tests)

Testcode: **CPE** Farbe: **dunkelgrau**

Klinische Relevanz

Humanes C-Peptid ist ein einkettiges Polypeptid (31 Aminosäureeinheiten) mit einem Molekulargewicht von annähernd 3 020 Dalton. In den β -Zellen des Pankreas entsteht das biologisch inaktive C-Peptid als Nebenprodukt bei der enzymatischen Spaltung von Proinsulin in Insulin.^{1,2,5} Während dieses Prozesses wird das Insulin und C-Peptid von dem Prohormon abgespalten und gelangt in äquimolaren Mengen durch die Vena portae in den Kreislauf.^{4,5,7} Diese Tatsache unterstreicht die klinische Bedeutung der C-Peptid-Bestimmung im Plasma.

Innerhalb bestimmter Grenzen können die C-Peptid Werte ein wertvoller Hinweis für die Insulinsekretion sein. Bei einer Insulin-abhängigen Diabetes können niedrige C-Peptid-Werte bei verminderter Insulin-Sekretion bzw. erniedrigte Werte als Reaktion auf exogenes Insulin erwartet werden. Erhöhte C-Peptid-Werte können von einer erhöhten Aktivität der β -Zellen bei Insulinomen herrühren.^{3,4,6,9}

Zusätzlich können C-Peptid Bestimmungen ergänzend zu den Insulin Bestimmungen in der Differentialdiagnose der Hypoglykämie als Maß für die Pankreasaktivität nach dem klassischen 72-Stunden-Fasten-Test oder auch als alleiniger Indikator der Pankreasaktivität in Verbindung mit einem Insulin-Suppressionstest dienen.^{1,8} Außerdem können heimliche Selbstverabreichungen

an Insulin bei erhöhten C-Peptid Werten als Ursache für eine Hyperinsulinämie praktisch ausgeschlossen werden.^{2,3,8,9}

Anti-Insulin-Antikörper treten häufig bei Patienten auf, die einer Insulintherapie unterzogen worden sind. Diese würden in einem Immunoassay zu Interferenzen führen, so dass die Insulinbestimmung in diesem Kontext zur Abklärung der Restaktivität der β -Zellen nicht benutzt werden kann, auch wenn die Therapie zeitweise unterbrochen wird. Die Bestimmung des C-Peptid kann in diesen Fällen als eine Alternative genutzt werden, um Informationen über den Verlauf der Insulin-abhängigen Diabetes zu gewinnen, um indirekt die Insulin-Sekretion in der Anwesenheit von Anti-Insulin-Antikörpern zu monitoren und um bei der Festlegung einer geeigneten Therapie zu helfen.^{3,6,7,10}

Die Bestimmung des C-Peptid kann als ein zusätzliches Hilfsmittel bei der Beurteilung der Glukosetoleranz- und Glibenclamid-Glukose-Tests eingesetzt werden.^{2,3,10}

Methodik

Der C-Peptid - IMMULITE-Test ist ein kompetitiver Festphasen-, Chemilumineszenz-Immunoassay.

Inkubationszyklen: 1 × 60 min.

Probenentnahme und Lagerung

Serum und Heparin- Plasma:

Der Patient sollte nüchtern sein. Die Blutentnahme erfolgt in normale Gefäße (ohne Antigerinnungsmittel) oder in Heparin-Röhrchenunter Vermeidung von Hämolyse.¹² Den Entnahmezeitpunkt notieren und das Serum oder Plasma von den Zellen trennen.

Der Einsatz einer Ultrazentrifuge wird zur Klärung von lipämischen Proben empfohlen.

Bei hämolysierten Proben besteht die Möglichkeit einer unsachgemäßen Handhabung vor Eintreffen im Labor, daher sind die Ergebnisse mit Vorsicht zu interpretieren.

EDTA-Plasma und Natriumfluoridplasma sind für dieses Testsystem nicht empfehlenswert.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analyseergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantien-therapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Blutentnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von den verwendeten Materialien und Additiven (Gel oder physische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und /oder Antikoagulantien) ab. IMMULITE 2000 C-Peptid sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Lagerung: Test innerhalb 2–3 Stunden, oder für 1 Woche bei –20°C eingefroren werden.¹¹

Urinsammeln und Lagerung: 24-Stunden-Urin ohne Konservierungsmittel sammeln. Während des Sammelns kühlen (2–8°C), Gesamtvolumen ermitteln, Urin gut mischen und in Teilmengen abfüllen. Urinproben vor dem Einsatz im Assay durch Zentrifugation oder Filtration klären.

Lagerung: Zur längeren Lagerung, aliquotieren und einfrieren. 30 Tage bei –20°C haltbar.

Verdünnungsfaktor: mindestens 5. Die Verdünnung der Urinproben um den Faktor 20 bringt *normale* Urinproben in den Messbereich des Assays. (Für Urinproben Verdünnungsfaktor 5 oder 20 im Fenster "Dilution Factor" auswählen.)

Erforderliche Menge: 75 µl Probe (Serum, Plasma oder Urin).

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (<0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu vermeiden, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chemilumineszenz-Substrat:

Kontamination und direkte Sonneneinstrahlung vermeiden. Siehe Packungsbeilage.

Wasser: Destilliertes oder deionisiertes Wasser verwenden.

Im Lieferumfang enthalten

Die Bestandteile sind aufeinander abgestimmt. Die Aufkleber auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung gebraucht.

C-Peptid Kugel-Container (L2PE12)

barcodiert, Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit polyklonalen anti-C-Peptid Antikörpern (Kaninchen). Gekühlt (2–8°C) haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum.

L2KPE2: 1 Container

L2KPE6: 3 Container

C-Peptid-Reagenzbehälter (L2PEA2)

Barcodiert, Reagenz-Container enthält 17,5 ml alkalische Phosphatase (Kalb). Konjugiert mit C-Peptid in Pufferlösung. Gekühlt (2–8°C) haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum.

L2KPE2: 1 Behälter.

L2KPE6: 3 Behälter

Vor Gebrauch den Aufkleber an der Perforation abreißen, ohne dabei die Barcodierung zu beschädigen. Die Folie von der Oberseite des Containers entfernen. Den Schiebedeckel nach unten in die Führung des Reagenziendeckels einrasten lassen.

C-Peptid- Kalibratoren (LPEL, LPEH)

Zwei Fläschchen (Low und High) mit lyophilisiertem C-Peptid in einer humanen Albumin-Lösung. Rekonstitution mit **4,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser. Vorsichtig durchmischen. Nach Rekonstituierung aliquotieren und einfrieren. 6 Monate bei -20°C haltbar. Aliquote nach Gebrauch verwerfen.

L2KPE2: 1 Set. **L2KPE6:** 2 Sets.

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Röhrchen kleben, so dass die Barcodes vom Barcode Reader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

C-Peptid -Verdünnungspuffer (L2PEZ)

Zur on board Verdünnung von Urinproben und von hoch Serum- und Plasmaproben. Enthält 25 ml prozessierte C-Peptid-freie humane Albumin/Puffermatrix, mit Konservierungsmitteln. Lagerung: 30 Tage nach dem Öffnen bei $2-8^{\circ}\text{C}$ oder 6 Monate bei -20°C (aliquotiert).

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett auf ein 16×100 mm Teströhrchen kleben, so dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.

L2PEZ: 3 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul

L2PWSM: Waschmodul

L2KPM: Reinigungsmodul

LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße

Zusätzlich erhältlich

L2ZT: 250 Teströhrchen (16×100 mm) für die Probenverdünnung

L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

PECM: Drei Konzentrationen C-Peptid-Kontrollmodul.

Ebenfalls benötigt:
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser;
Röhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im IMMULITE 2000-

Handbuch beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Kalibration, Test- und Qualitäts-kontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem IMMULITE 2000-Handbuch.

Kalibrierungsintervall: 2 Wochen.

Qualitätskontrollseren: Kontrollen oder Seren mit C-Peptid in zumindest zwei Konzentrationen (niedrige und hohe) verwenden.

Referenzwerte

Serum und Heparin- Plasma:

Serumproben wurden von 71 nüchternen Labormitarbeitern gesammelt und mit dem IMMULITE 2000 C-Peptide Assay analysiert. Es wurde ein Median von $2,1 \text{ ng/mL}$ ($0,7 \text{ nmol/L}$; 695 pmol/L) und folgender 95% Vertrauensbereich (nichtparametrische Verteilung) ermittelt:

$1,1 - 5,0 \text{ ng/mL}$
($0,4 - 1,7 \text{ nmol/L}$; $364 - 1\ 655 \text{ pmol/L}$)

Urin

In einer Studie des Herstellers wurden folgende Referenzwerte (24-Stunden-Sammelurin) ermittelt:

Mittelwert ($\pm 1\text{SD}$): $79 \pm 56 \text{ }\mu\text{g/ Tag}$

95 % Vertrauensbereich: $2 - 260 \text{ }\mu\text{g/ Tag}$

Da Referenzwerte von der Auswahl des Probandenkollektivs und von regionalen Gegebenheiten abhängig sind, sollte jedes Labor seine eigenen Referenzwerte ermitteln.

Grenzen der Methode

Da der Metabolismus von Insulin sich deutlich von dem des C-Peptids unterscheidet, sind die C-Peptid Spiegel bestenfalls als semi-quantitativer Index der Insulin Sekretion zu werten. Die Halbwertszeit des C-Peptids im Plasma beträgt ca. 30 Minuten, die des Insulins ca. 5 Minuten. Aufgrund der unterschiedlichen Halbwertszeiten zirkuliert das C-Peptid im Plasma in ca. 5-fach höheren Konzentrationen im Vergleich zum Insulin, obwohl beide Moleküle in equimolarem Verhältnis sezerniert werden. Während die Leber die Hauptrolle im Abbau des Insulins spielt, wird das C-Peptid hauptsächlich in den

Nieren degradiert und eliminiert. Hepatische und renale Komplikationen beeinflussen demnach die C-Peptid/Insulin Ratio im zirkulierenden Plasma.

Heterophile Antikörper in Humansenen können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen innerhalb des in vitro Immunoassays verursachen. (Clin. Chem. 1988;34:27-33) Proben von Patienten, die häufig mit Tier- bzw. Tierserumprodukten zu tun haben, können die erwähnten Interferenzen verursachen und zu anomalen Resultaten führen. Die verwendeten Reagenzien sind so konzipiert, dass das Risiko einer Interferenz mit den zu messenden Proben minimiert ist. Dennoch können potentiell Interaktionen zwischen seltenen Seren und den Testkomponenten auftreten. Zu diagnostischen Zwecken sollten die mit dem Assay erhaltenen Ergebnisse immer in Kombination mit der klinischen Untersuchung, der Patientenanamnese und anderen Befunden gesehen werden.

Leistungsdaten

Siehe „Tables and Graphs“ mit repräsentativen Daten für den Assay. Die Ergebnisse sind in ng/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden – sofern nicht anders angegeben – mit Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze ermittelt.)

Umrechnungsfaktor:

ng/ml x 0,331 → nmol/l

ng/ml x 331 → pmol/l

Messbereich: 0,5 – 7 ng/ml
(0,17 – 2,3 nmol/l; 166 – 2 317 pmol/l)
kalibriert nach WHO 1st IRP 84/510

Analytische Sensitivität: 0,3 ng/ml
(0,10 nmol/l; 99 pmol/l)

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen; siehe Tabelle „Precision“).

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet. (siehe Tabelle „Linearity“).

Wiederfindung: Proben wurden mit drei C-Peptid-Lösungen (15, 54 und

112 ng/ml) 1:19 versetzt. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

Spezifität: Hochspezifischer C-Peptid (siehe Tabelle „Specificity“).

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 381 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Lipämie hat in Konzentrationen bis zu 3 000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Alternative Probenarten: kein signifikanter Effekt durch Heparin-Plasma. EDTA- und Natriumfluorid-Plasma sind in diesem Testsystem nicht empfehlenswert. Eine lineare Regressionsanalyse ergibt folgende Gleichung:

(Heparin) = 0,97 (Serum) + 0,51 ng/ml
r = 0,969

Mittelwerte:

4,7 ng/ml (Serum)

5,1 ng/ml (Heparin)

Methodenvergleich: Der Assay wurde unter Verwendung von 66 Patientenproben mit dem IMMULITE C-Peptid verglichen. (Konzentrationsbereich ca. 0,5 – 6,5 ng/ml. Siehe Grafik.) Eine lineare Regressionsanalyse ergibt folgende Gleichung:

(IML 2000) = 0,97 (IML) + 0,16 ng/ml
r = 0,990

Mittelwerte:

2,84 ng/ml (IMMULITE 2000)

2,76 ng/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

Hergestellt von Euro/DPC Ltd. unter dem Qualitätssystem ISO 13485:2003.

Español

IMMULITE 2000 Péptido-C

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro* con el Analizador IMMULITE 2000— para la medida cuantitativa del Péptido-C en suero, plasma heparinizado, o urina, para su uso en diagnóstico *in vitro* como ayuda en el diagnóstico y tratamiento de los pacientes con secreción anormal de insulina.

Referencia: **L2KPE2** (200 tests),
L2KPE6 (600 tests)

Código del Test: **CPE**

Código de Color: **Gris Oscuro**

Resumen y Explicación del Test

El Péptido-C humano es una cadena de 31 aminoácidos con un peso molecular de aproximadamente 3 020 daltons. Metabólicamente inerte, se origina en las células β del páncreas como un subproducto del corte enzimático de la proinsulina.^{1,2,5} En este proceso, la insulina y el Péptido-C se separan a partir de la prohormona y se secretan a la circulación portal en concentraciones equimoleculares.^{4,5,7} En este hecho redunda el interés clínico de la determinación en plasma del Péptido-C.

Con limitaciones, los niveles de Péptido-C pueden ser utilizados como un índice valorable de secreción de insulina. Así, se esperarán bajos niveles de Péptido-C cuando la secreción de insulina se vea disminuida, como en el caso de una diabetes insulino-dependiente, o suprimida, como en una respuesta normal a la administración de insulina exógena; mientras que valores altos de Péptido-C pueden ser resultado de un incremento de actividad de las células β , como se observa en los insulinomas.^{3,4,6,9}

Por consiguiente, en el diagnóstico diferencial de la hipoglucemia, las determinaciones de Péptido-C pueden ser utilizadas junto con las medidas de insulina como un índice de actividad pancreática en el test clásico de 72 horas en ayuno, y como único indicador de la actividad pancreática cuando la insulina por sí sola es administrada para

comprobar el grado de supresión.^{1,8} Además, la auto-administración encubierta de insulina puede ser prácticamente descartada como causa de una hiperinsulinemia cuando se encuentran altos niveles de Péptido-C.^{2,3,8,9}

Normalmente, en pacientes que llevan a cabo un tratamiento con insulina, se encuentran anticuerpos anti-insulina circulantes. Esto puede interferir con los inmunoensayos de insulina, haciendo imposible en este contexto la cuantificación de insulina para comprobar la actividad residual de las células β , incluso cuando el tratamiento haya sido suspendido temporalmente. Por tanto, las cuantificaciones de Péptido-C pueden ser utilizadas como un alternativa en este contexto, para proporcionar información adicional a la historia natural de una diabetes insulino-dependiente, para monitorizar indirectamente la secreción de insulina en presencia de anticuerpo anti-insulina, y para ayudar a establecer un adecuado programa de tratamiento.^{3,6,7,10}

El Péptido-C también puede ser utilizado como un medio adicional para evaluar la tolerancia a la glucosa y los test de glibenclámid-glucosa.^{2,3,10}

Principio del Test

IMMULITE 2000 Péptido-C es un inmunoensayo competitivo quimioluminiscente en fase sólida.

Ciclos de incubación: 1 × 60 minutos.

Recogida de la muestra

Suero y Plasma heparinizado

El paciente debe estar en ayunas.

Recoger la sangre por venopunción,¹² evitando la hemólisis, en tubos sin anticoagulante o con heparina, anotando la hora de recogida y proceder a la separación del suero de las células.

Se recomienda el uso de una ultracentrífuga para aclarar las muestras lipémicas.

Las muestras hemolizadas podrían indicar una mala manipulación de la muestra antes de ser recibida por el laboratorio; en este caso, los resultados deben interpretarse con precaución.

No se recomienda el uso de plasma con EDTA ni de plasma con fluoruro sódico en este ensayo.

La centrifugación de las muestras de suero antes de que se forme el coágulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erróneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coágulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulación.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El Péptido-C IMMULITE 2000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos. Para obtener detalles sobre los tipos de tubos que se han analizado, consulte la sección de Tipos de Muestras Alternativas.

Conservación: utilizar en las 2-3 horas tras la recogida de muestra, o mantener congeladas a -20°C durante una semana.¹¹

Recogida de la Orina y Conservación:

Recoger una muestra de orina de 24 horas sin conservador, manteniendo la muestra refrigerada a $2-8^{\circ}\text{C}$ durante la recolección. Registrar el volumen total recogido y guardar una alícuota bien mezclada para analizar. Antes de analizar, aclarar la muestra por centrifugación o filtración.

Conservación: Para almacenamiento prolongado, alícuotar y congelar: estable a -20°C durante 30 días.

Factor de dilución: por lo menos 5. El uso de un factor de dilución de 20 dará lugar a muestras de orina *normales* dentro del rango de la calibración del análisis. (Para muestras de orina, elegir 5 o 20 en la ventana de Factor de Dilución.)

Volumen de Muestra

75 μL de la muestra (suero, plasma, o orina).

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Reactivos: Mantener a $2-8^{\circ}\text{C}$. Desechar de acuerdo con las normas aplicables.

Siga las precauciones universales y manipule todos los componentes como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Los materiales derivados de sangre humana han sido analizados y son negativos para sífilis; para anticuerpos frente al HIV 1 y 2; para el antígeno de superficie de hepatitis B y para los anticuerpos de hepatitis C.

Se ha usado Azida sodica, en concentraciones menores de 0,1 g/dl, como conservante. Para su eliminación, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitución de residuos de azidas metálicas, potencialmente explosivas, en las cañerías de cobre y plomo.

Sustrato quimioluminiscente: evite la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Use agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de bolas de Péptido-C (L2PE12)

Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo policlonal de conejo anti-Péptido-C. Estable a $2-8^{\circ}\text{C}$ hasta la fecha de caducidad.

L2KPE2: 1 cartucho.

L2KPE6: 3 cartuchos.

Vial de Reactivo de Péptido-C (L2PEA2)

Con códigos de barras. 17,5 ml con fosfatasa alcalina (intestino de ternera) conjugada al Péptido-C en una solución tampón. Guardar tapado y refrigerado: estable a $2-8^{\circ}\text{C}$ hasta la fecha de caducidad.

L2KPE2: 1 vial. **L2KPE6:** 3 viales.

Antes de usar, quitar la tira adhesiva de la parte superior sin dañar el código de barras. Quitar el precinto que cubren los orificios del vial; encajar la cubierta deslizante en las rampas de la tapa del reactivo.

Ajustadores de Péptido-C (LPEL, LPEH)

Dos viales (bajo y alto) de péptido C liofilizado en albúmina humana tamponada, con conservante. Reconstituir cada vial añadiendo **4,0 ml** de agua destilada. Mezcle por agitación o inversión suave. Deje reposar 30 minutos. Mezcle por agitación o inversión suave hasta que se haya disuelto completamente el material liofilizado. Después de la reconstitución, alicuotar y congelar. Estable a -20°C durante 6 meses.
L2KPE2: 1 juego. **L2KPE6:** 2 juegos.

Antes de hacer un ajuste, colocar las etiquetas a las alicuotas apropiadas (suministradas con el kit) sobre tubos de ensayo, de forma tal que los códigos de barras puedan ser leídos por el lector.

Componentes del kit que se suministran por separado

Diluyente de muestra de Péptido-C (L2PEZ)

Para diluciones automáticas de muestras de orina ó muestras de suero o plasma de elevada concentración. 25 ml de un concentrado listo para su uso de albúmina humana tamponada libre de Péptido-C con conservante. Estable a $2-8^{\circ}\text{C}$ durante 30 días después de abrise, o hasta 6 meses (aliquotados) a -20°C .

Se suministran etiquetas con códigos de barras para usarse con este diluyente. Antes de uso, colocar la etiqueta con el código de barras en un tubo de ensayo de 16×100 mm, así los código de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.

L2PEZ: 3 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminiscente

L2PWSM: Lavado de sonda

L2KPM: Kit de limpieza de sonda

LRXT: Tubos de reacción (desechables)

L2ZT: 250 tubos del diluyente de muestra (16×100 mm)

L2ZC: 250 tapones de los tubos del diluyente de muestra.

PECM: Módulo Control de Péptido-C con tres niveles.

También necesarios

Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles.

Ensayo

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el manual del operador de IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del operador de IMMULITE 2000 para: la preparación, instalación, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste: 2 semanas.

Muestras de Control de calidad: Usar controles o pools de suero con al menos dos niveles diferentes (bajo y alto) de Péptido-C.

Valores esperados

Suero y Plasma heparinizado:

Las muestras del suero fueron recogidas a partir de 71 voluntarios en ayunas, y analizadas por el procedimiento de IMMULITE 2000 Péptido-C, con una mediana de $2,1 \text{ ng/mL}$ ($0,7 \text{ nmol/L}$; 695 pmol/L) y un rango de referencia 95% no paramétrico central de:

$1,1 - 5,0 \text{ ng/ml}$
($0,4 - 1,7 \text{ nmol/l}$; $364 - 1\ 655 \text{ pmol/l}$)

Orina: Media \pm SD de $79 \pm 56 \text{ } \mu\text{g/día}$, con un intervalo de 2 a $260 \text{ } \mu\text{g/día}$, representando un rango central 95% de las observaciones.

Estos límites han de considerarse sólo como una guía. Cada laboratorio deberá establecer sus propios intervalos de referencia.

Limitaciones

Debido a que el metabolismo del Péptido-C difiere del metabolismo de la insulina, los niveles de Péptido-C son el mejor índice semicuantitativo de la secreción de insulina. La vida media del Péptido-C plasmático está estimada en 30 minutos, en comparación con los 5 minutos de la insulina plasmática. Debido a esta diferencia en su vida media, los niveles de Péptido-C plasmáticos son cinco veces más elevados que los de insulina, aunque estas dos moléculas se segreguen en cantidades equimolares. Además, el hígado es la principal vía de degradación de la insulina, mientras que el Péptido-C se degrada y elimina por vía

renal. Las complicaciones hepáticas y renales van a afectar a la proporción Péptido-C/ Insulina.

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia; no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características analíticas

Los resultados de Péptido-C se expresan como nanogramos por mililitro (ng/ml). A menos que se especifique lo contrario, todos los resultados se obtuvieron con muestras de suero recogidas en tubos sin anticoagulantes, geles separadores o aditivos promotores de la coagulación.

Factores de Conversión:

ng/ml \times 0,331 \rightarrow nmol/l

ng/ml \times 331 \rightarrow pmol/l

Intervalo de calibración: 0,5 – 7 ng/ml (0,17 – 2,3 nmol/l; 166 – 2 317 pmol/l), (WHO 1st IRP 84/510)

Sensibilidad: 0,3 ng/ml (0,10 nmol/l; 99 pmol/l)

Precisión: Las muestras fueron procesadas por duplicado durante 20 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 40 tandas y 80 replicados. (Véase la tabla "Precision").

Linealidad: las muestras fueron analizadas con varias diluciones. (Véase la tabla "Linearity" para resultados representativos).

Recuperación: Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con tres

soluciones de Péptido-C (15, 54 y 112 ng/ml). (Ver la tabla "Recovery" para resultados representativos).

Especificidad: El anticuerpo es altamente específico para Péptido-C. (Véase la tabla "Specificity").

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Hemolisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 381 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: La presencia de lipemia, en concentraciones hasta 3 000 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Tipo alternativo de muestra: Sin efecto significativo para plasma heparinizado. No se recomienda el uso de plasma con EDTA ni de plasma con fluoruro sódico en este ensayo. Por regresión lineal:

(Heparina) = 0,97 (Suero) + 0,51 ng/ml
r = 0,969

Medias:

4,7 ng/ml (Suero)

5,1 ng/ml (Heparina)

Comparación de los métodos: El ensayo se ha comparado con el Péptido-C IMMULITE de DPC en 66 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente 0,5 a 6,5 ng/ml. Ver la gráfica). Por regresión lineal::

(IML 2000) = 0,97 (IML) + 0,16 ng/ml
r = 0,990

Medias:

2,84 ng/ml (IMMULITE 2000)

2,76 ng/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con su Distribuidor Nacional.

Fabricado por EURO/DPC Ltd. bajo un Sistema de Calidad acorde con la ISO 13485:2003.

Français

IMMULITE 2000 C-Peptide

Domaine d'utilisation : Dosage quantitatif du C-Peptide dans le sérum, le plasma hépariné ou l'urine. Ce test est réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec l'Analyseur IMMULITE 2000 et constitue une aide au diagnostic et au traitement de patients présentant une sécrétion anormale d'insuline.

Référence catalogue :
L2KPE2 (200 tests), **L2KPE6** (600 tests)

Code produit : **CPE**
Code couleur : **gris foncé**

Introduction

Le C-Peptide humain est constitué d'une chaîne peptidique de 31 acides aminés, son poids moléculaire est d'environ 3 020 daltons. Métaboliquement inerte, il provient des cellules β du pancréas où il est issu du clivage enzymatique de la pro-insuline en insuline.^{1,2,5} Au cours de cette réaction, l'insuline et le C-Peptide sont donc libérés à partir de cette pro-hormone et sécrétés dans la circulation portale à des concentrations équimolaires.^{4,5,7} Ce mode de sécrétion explique l'intérêt clinique de la détermination du taux de C-Peptide plasmatique.

Dans certaines limites, le taux de C-Peptide peut donc constituer un index valable de la sécrétion d'insuline. De faibles taux de C-Peptide seront ainsi trouvés lors d'une diminution de la sécrétion d'insuline dans le diabète insulino-dépendant, ou en l'absence de toute sécrétion, lors de l'apport d'insuline exogène. En revanche, des taux élevés de C-Peptide peuvent être le résultat de l'augmentation de l'activité des cellules β observée dans les insulinomes.^{3,4,6,9}

Par conséquent dans le diagnostic différentiel de l'hypoglycémie, le dosage du C-Peptide, en complément du dosage de l'insuline, sera utilisé comme un index de l'activité pancréatique dans un test classique de diète de 72 heures et comme le seul indicateur de l'activité pancréatique lorsque l'insuline est administrée pour définir le taux de suppression.^{1,8} Enfin, une administration cachée d'insuline peut

être virtuellement éliminée des causes d'hyperinsulinémie si le taux de C-Peptide est élevé.^{2,3,8,9}

Des anticorps circulants anti-insuline sont fréquemment trouvés chez des patients sous traitement à l'insuline. Ces anticorps interfèrent dans le dosage de l'insuline, rendant alors impossible tout contrôle par le dosage de l'insuline de l'activité résiduelle des cellules β , même si le traitement est suspendu temporairement. Le dosage du C-Peptide remplace alors dans ce contexte celui de l'insuline et permet de définir l'origine d'un diabète insulino-dépendant, de suivre indirectement la sécrétion d'insuline en présence d'anticorps anti-insuline et d'aider à la mise en place d'un traitement approprié.^{3,6,7,10}

Le dosage du C-Peptide peut également permettre d'évaluer la tolérance, lors des tests au glucose et au glibenclamide – glucose.^{2,3,10}

Principe du test

Le test IMMULITE 2000 C-Peptide est un immunodosage par compétition, chimiluminescent, en phase solide.

Cycles d'incubation : 1 × 60 minutes.

Recueil des échantillons

Sérum et plasma hépariné:

Le patient doit être à jeun. Prélever par ponction¹² veineuse, en évitant l'hémolyse, sur tubes secs (sans anticoagulant) ou sur tubes héparinés. Noter l'heure du prélèvement et séparer le sérum ou le plasma des cellules.

Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

Des échantillons hémolysés peuvent être révélateurs d'une préparation inadéquate du prélèvement avant son envoi au laboratoire ; il faudra donc interpréter les résultats avec prudence.

Les plasmas EDTA et fluorure de sodium ne doivent pas être utilisés.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dus à la présence de fibrine, s'assurer de

la formation complète du caillot avant de centrifuger les échantillons. Certains échantillons, en particulier ceux provenant de patients sous anti-coagulants, peuvent nécessiter un temps plus long pour la formation du caillot.

Des tubes pour prélèvements sanguins provenant de fabricants différents peuvent donner des résultats différents, selon les matériaux et additifs utilisés, y compris gels ou barrières physiques, activateurs de la coagulation et/ou anticoagulants. Le coffret C-Peptide IMMULITE 2000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles. Veuillez consulter le chapitre intitulé Autres Types d'Échantillons pour plus de renseignements sur les tubes qui ont été évalués.

Conditions de conservation : Doser dans les 2 à 3 heures suivantes ou conserver congelé à -20°C pendant 1 semaine.¹¹

Urine – Recueil des échantillons et Conservation :

Collecter les urines de 24 heures sans conservateur et conserver les échantillons réfrigérés à $+2-8^{\circ}\text{C}$ durant le prélèvement. Inscrire le volume total des urines et conserver une partie bien homogénéisée pour l'analyse. Avant d'effectuer le dosage, clarifier les échantillons par une centrifugation ou par une filtration.

Conservation : Pour une conservation plus longue, aliquoter et congeler: stable 30 jours à -20°C .

Facteur de dilution : au moins 5. L'utilisation d'un facteur de dilution de 20 amènera les échantillons d'urine *normaux* dans le domaine de mesure du dosage. (Pour les échantillons d'urine, choisir 5 ou 20 dans la fenêtre Facteur de Dilution.)

Volume nécessaire : 75 μl de sérum, de plasma ou d'urine.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

Réactifs : conserver les réactifs à $+2/+8^{\circ}\text{C}$. Éliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement

infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-HCV et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

Substrat chimiluminescent : éviter la contamination et l'exposition directe au soleil. (Voir notice).

Eau : utiliser de l'eau distillée ou désionisée.

Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à l'intérieur du coffret sont nécessaires au dosage.

Cartouche de billes C-Peptide (L2PE12)

Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps polyclonal de lapin anti-C-Peptide. Stable à $+2^{\circ}\text{C}/+8^{\circ}\text{C}$ jusqu'à la date de péremption.

L2KPE2 : 1 cartouche.

L2KPE6 : 3 cartouches.

Cartouche à réactif C-Peptide (L2PEA2)

Avec code-barres. 17,5 ml de C-Peptide marqué à la phosphatase alcaline (intestins de veau) dans un tampon. Stable à $+2^{\circ}\text{C}/+8^{\circ}\text{C}$ jusqu'à la date de péremption.

L2KPE2 : 1 cartouche.

L2KPE6 : 3 cartouches.

Avant l'emploi, retirer la partie supérieure de l'étiquette au niveau des perforations en ayant soin de ne pas endommager le code-barres. Retirer le film protecteur situé sur la partie supérieure de la cartouche-réactif ; insérer le couvercle coulissant entre les glissières sur le dessus de la cartouche-réactif.

Ajusteurs C-Peptide (LPEL, LPEH)

2 flacons ("Haut" et "Bas") de C-Peptide lyophilisé dans de l'albumine humaine tamponnée. Reconstituer chaque flacon avec **4,0 ml** d'eau distillée ou désionisée.

Laisser reposer 30 mn. Agiter doucement jusqu'à complète dissolution du produit lyophilisé. Après reconstitution, aliquoter et congeler. Stable à -20 °C pendant 6 mois. Jeter les aliquots après utilisation
L2KPE2 : 1 jeu. **L2KPE6** : 2 jeux.

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes à essai de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Composants du coffret fournis séparément

Diluant C-Peptide (L2PEZ)

Pour la dilution à bord des échantillons d'urine et des échantillons de sérum/plasma de concentration élevée. 25 ml d'un concentré prétraité, prêt à l'emploi, composé d'albumine humaine tamponnée sans C-peptide avec conservateur. Stable à +2°C/+8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à -20 °C.

Les étiquettes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 x 100 mm de telle façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.

L2PEZ : 3 étiquettes.

L2SUBM : Substrat chimiluminescent

L2PWSM : Solution de lavage

L2KPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

LRXT : Godets réactionnels (jetables)

L2ZT : 250 Tubes À essai De Diluant échantillon (16 x 100 mm)

L2ZC : 250 Chapeaux De Tube De Diluant

PECM : Contrôle C-Peptide à trois niveaux.

Egalement requis

Eau distillée ou désionisée ; tubes ; contrôles.

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel d'Utilisation IMMULITE 2000.

Voir le manuel d'utilisation de l'IMMULITE 2000 pour la préparation, le

démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement : 2 semaines.

Echantillons pour le contrôle de qualité :

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de C-Peptide.

Valeurs attendues

Sérum et plasma hépariné :

Des échantillons de sérum provenant de 71 volontaires à jeun ont été analysés par le dosage IMMULITE 2000 C-Peptide, avec une médiane de 2,1 ng/mL (0,7 nmol/L; 695 pmol/L) et un domaine de référence non paramétrique centré à 95% de :

1,1 – 5,0 ng/ml
(0,4 – 1,7 nmol/l; 364 – 1 655 pmol/l)

Urine : Moyenne \pm SD de 79 \pm 56 μ g/jour, avec un domaine de 2 à 260 μ g/jour, représentant le domaine central à 95% des observations.

Ces valeurs sont fournies à titre indicatif uniquement. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

Limites

Puisque le métabolisme du C-Peptide est différent de celui de l'insuline, les taux du C-Peptide représentent un index semi-quantitatif de la sécrétion d'insuline. En effet, la demi-vie du C-Peptide dans le plasma est approximativement de 30 minutes et celle de l'insuline n'est que de 5 minutes. Pour cette raison, le taux plasmatique circulant du C-Peptide est grossièrement 5 fois celui de l'insuline bien que les deux molécules soient sécrétées selon un rapport équimolaire. Une fois encore, le foie joue un rôle majeur dans la clairance de l'insuline, alors que le C-Peptide est dégradé et éliminé principalement au niveau rénal. Par conséquent, les complications rénales ou hépatiques affectent le ratio C-Peptide/Insuline circulant.

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages in vitro. [Voir Boscato

LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en ng/mL. (En l'absence de précision supplémentaire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques prélevés sur tubes sans gel, ni activateur de la coagulation).

Facteurs de conversion :

ng/ml \times 0,331 \rightarrow nmol/l.

ng/ml \times 331 \rightarrow pmol/l.

Domaine de mesure : 0,5 – 7 ng/ml (0,17 to 2,3 nmol/l; 166 – 2 317 pmol/l). Standardisé par rapport au 1st IRP 84/510 de l'OMS.

Sensibilité analytique : 0,3 ng/ml

(0,10 nmol/l ; 99 pmol/l).

Précision : les valeurs ont été établies à partir de doublets dosés dans deux séries différentes chaque jour pendant 20 jours soit au total 40 séries et 80 résultats. (Voir le tableau " Precision ".)

Linéarité : les échantillons ont été testés avec des taux de dilution variés (Voir le tableau " Linearity " pour des données représentatives.)

Récupération : les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions (15, 54 et 112 ng/ml). (Voir le tableau " Recovery " pour des données représentatives.)

Spécificité : L'anticorps est hautement spécifique du C-Peptide. (Voir le tableau

" Specificity " pour des données représentatives.)

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Hémolyse : La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 381 mg/dl.

Lipémie : La présence de lipémie ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 3 000 mg/dl.

Utilisation de différents types

d'échantillons : aucun effet significatif pour le plasma hépariné. Les plasmas EDTA et fluorure de sodium ne doivent pas être utilisés. Par régression linéaire :

(Héparine) = 0,97 (Sérum) + 0,51 ng/ml
r = 0,969

Moyennes :

4,7 ng/ml (Sérum)

5,1 ng/ml (Héparine)

Comparaison de méthodes : le test a été comparé au test IMMULITE C-Peptide de DPC sur 66 échantillons (dont les concentrations allaient d'environ 0,5 – 6,5 ng/ml. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,97 (IML) + 0,16 ng/ml
r = 0,990

Moyennes :

2,84 ng/ml (IMMULITE 2000)

2,76 ng/ml (IMMULITE)

Assistance technique

Contactez votre distributeur national. En France distribué par DPC France 90 bd National 92257 La Garenne-Colombes.

Fabriqué par EURO/DPC Ltd. dans le cadre d'un Système Qualité enregistré sous ISO 13485:2003.

Italiano

IMMULITE 2000 C-Peptide

Uso: A solo uso diagnostico *in vitro* con l'analizzatore IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa del C-Peptide nel siero, nel plasma eparinizzato o nell'urina,

IMMULITE 2000 C-Peptide (PIL2KPE-16, 2005-07-06)

quale ausilio nella diagnosi e nel trattamento di pazienti con una secrezione anomala di insulina.

Numero di Codice: **L2KPE2** (200 test),
L2KPE6 (600 test)

Codice del Test: **CPE**
Colore: **Grigio Scuro**

RIASSUNTO E SPIEGAZIONE DEL TEST

Il C-peptide umano è costituito da una catena di 31 aminoacidi con una massa molecolare di circa 3 020 dalton. Metabolicamente inerte, ha origine nelle cellule pancreatiche β quale sottoprodotto della scissione enzimatica dalla proinsulina all'insulina.^{1,2,5} In questo processo, l'insulina ed il C-peptide sono divisi dal proormone e distribuiti nel circolo portale in concentrazioni equimolari.^{4,5,7} E' questo fatto che sottolinea l'interesse clinico nelle determinazioni del C-Peptide.

Entro dei limiti, i livelli di C-peptide possono servire come indice importante di secrezione dell'insulina. Per questo motivo, sono da attendersi livelli bassi di C-Peptide nei casi in cui la secrezione dell'insulina sia diminuita, come nel diabete insulino-dipendente, o soppressi, quale risposta normale all'insulina esogena; mentre livelli elevati di C-peptide possono essere causati dall'aumento dell'attività delle cellule- β osservato nell'insulinoma.^{3,4,6,9}

Per questo motivo, nella diagnosi differenziale di ipoglicemia, le determinazioni del C-Peptide possono essere utilizzate in aggiunta alle misurazioni dell'insulina quale indice dell'attività pancreatica nel classico test del digiuno di 72 ore, e come unico indicatore dell'attività pancreatica nei casi in cui l'insulina stessa venga somministrata per controllare la soppressione.^{1,8} Inoltre, l'autosomministrazione celata di insulina può essere virtualmente eliminata come causa di iperinsulinemia mediante la scoperta di un livello di C-peptide elevato.^{2,3,8,9}

Anticorpi anti-insulina circolanti sono spesso riscontrati in pazienti sottoposti a terapia con insulina. Di solito questi interferiscono con gli immunodosaggi della insulina, rendendo impossibile l'uso delle

determinazioni di insulina in questo contesto per controllare l'attività residua delle cellule- β , anche se il trattamento fosse temporaneamente sospeso. Per questo motivo, le misurazioni del C-peptide sono state utilizzate come alternativa in questo contesto, per ottenere informazioni sull'andamento del diabete insulino-dipendente, per controllare indirettamente la secrezione di insulina in presenza di anticorpi anti-insulina, e per aiutare nella scelta della terapia idonea.^{3,6,7,10}

Il C-Peptide è stato misurato anche come ulteriore strumento di valutazione della tolleranza al glucosio e nei dosaggi del glibenclamide-glucosio.^{2,3,10}

Principio del Metodo

Il dosaggio IMMULITE 2000 C-Peptide è un dosaggio immunoenzimatico competitivo chemiluminescente in fase solida.

Cicli d'incubazione: 1 × 60 minuti.

Raccolta del Campione

Siero e plasma eparinizzato: Il paziente deve essere a digiuno.
Effettuare il prelievo di sangue,¹² evitando l'emolisi, in provette semplici (senza anticoagulante) o in provette eparinizzate, annotando l'ora del prelievo, e separare il siero o il plasma dalle cellule.

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati possono indicare il trattamento non idoneo del campione prima dell'arrivo al laboratorio; per questo motivo, i risultati devono essere interpretati con prudenza.

Non si consiglia l'utilizzo di plasma EDTA e di fluoruro di sodio.

La centrifugazione di campioni di siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina, assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. L'IMMULITE 2000 C-Peptide non è stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Conservazione: I campioni di siero e di plasma non analizzati entro 2–3 ore possono essere *congelati* a –20°C per una settimana.¹¹

Urina – Raccolta e Conservazione:

Prelevare le urine nelle 24 ore, senza conservanti, mantenendo il campione refrigerato a 2–8°C durante il prelievo. Annotare il volume totale del prelievo e conservare un'aliquota ben mescolata per l'analisi. Prima del dosaggio, schiarire il campione attraverso centrifugazione e filtrazione.

Conservazione: Per una conservazione prolungata: aliquotare e congelare: stabile a –20°C per 30 giorni.

Fattore di diluizione: almeno 5. L'utilizzo di un fattore di diluizione di 20 porterà i campioni di urine *normali* entro il range di calibrazione del test. (Per i campioni di urina, scegliere 5 o 20 nella finestra del Fattore di Diluizione.)

Volume Richiesto:

75 µl di siero, plasma, o urina.

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

Reagenti: Conservare i reagenti a 2–8°C. Eliminare in conformità alle leggi vigenti.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la Sifilide, gli Anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'Antigene di Superficie dell'Epatite B e gli anticorpi Anti-Epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

Substrato Chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce solare diretta. (Vedi metodica.)

Acqua: Utilizzare solo acqua distillata o deionizzata.

Materiali Forniti

I componenti costituiscono un unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Sferette C-Peptide (L2PE12)

Con codice a barre. 200 sferette coattate con un anticorpo policlonale di coniglio anti-C-peptide. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KPE2: 1 confezione.

L2KPE6: 3 confezioni.

Porta Reagente C-Peptide (L2PEA2)

Con codice a barre. 17,5 ml di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con C-peptide in un tampone. Conservare nel frigorifero chiuso: stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KPE2: 1 Porta Reagente.

L2KPE6: 3 Porta Reagenti.

Prima dell'utilizzo rimuovere la parte superiore dell'etichetta lungo la perforazione senza danneggiare il codice a barre. Togliere il foglio protettivo dalla parte superiore del flacone. Far scattare nella corretta posizione il coperchio scorrevole lungo le guide del coperchio del reagente.

Calibratori C-Peptide (LPEL, LPEH)

Due flaconi (uno Basso e uno Alto) di C-Peptide liofilo in un tampone di albumina umana. Ricostituire ogni flacone con **4,0 ml** di acqua distillata o deionizzata. Lasciar riposare per 30 minuti. Mescolare agitando delicatamente o invertendo la miscela finché il materiale liofilo sia completamente dissolto. Dopo la ricostituzione, aliquotare e congelare. Stabile a –20°C per 6 mesi. Scartare le aliquote dopo l'uso.

L2KPE2: 1 set. **L2KPE6:** 2 set.

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste sulle provette delle aliquote (fornite col kit) cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

Componenti del kit forniti separatamente

Diluente del C-Peptide (L2PEZ)

Per la diluizione interna dei campioni di urina e dei campioni elevati di siero/plasma. 25 ml di un tampone di albumina umana concentrata e processata (pronta all'uso) priva di C-peptide con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

Vengono Fornite Le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare una etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm, cosicché il codice a barre possa essere letto dal lettore interno

L2PEZ: 3 etichette

L2SUBM: Substrato Chemiluminescente

L2PWSM: Tampone di lavaggio dell'Ago

L2KPM: Kit di Pulizia dell'Ago

LRXT: Tubi di Reazione (monouso)

L2ZT: 250 Provette (16 x 100 mm) per Diluente del Campione

L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

PECM: Controllo C-Peptide tri-livello

Materiali richiesti

Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro; controlli.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per avere prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di manutenzione di routine cosiccome definito nel Manuale dell'Operatore dell'IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale d'Uso dello strumento IMMULITE 2000 per: preparazione, messa a punto, diluizioni, calibrazione, dosaggi e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di ricalibrazione: 2 settimane.

Controllo di Qualità: Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (Alto e Basso) di C-Peptide.

Valori Attesi

Siero e plasma eparinizzato:

I campioni di siero sono stati prelevati da 71 volontari a digiuno ed analizzati con il dosaggio IMMULITE 2000 C-Peptide, con

la un valore mediano di 2,1 ng/ml (0,7 nmol/L; 695 pmol/L) e un range di riferimento non parametrico centrale 95% di:

1,1 – 5,0 ng/ml
(0,4 – 1,7 nmol/l; 364 – 1 655 pmol/l)

Urina

Media ± SD di 79 ± 56 µg/giorno, con un range da 2 a 260 µg/giorno che rappresenta un range centrale del 95% delle osservazioni.

Detti valori dovrebbero essere considerati solo come *suggerimento*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limiti

Poiché il metabolismo del C-peptide differisce dal metabolismo dell'insulina, i livelli di C-peptide sono un indice semi-quantitativo della secrezione di insulina. E' stata stimata l'emivita del C-peptide nel plasma di circa 30 minuti, paragonata a circa 5 minuti dell'insulina. A causa della differenza nell'emivita, il C-peptide circola nel plasma ad un livello cinque volte superiore a quello dell'insulina, anche se le due molecole sono secrete in rapporto equimolare. E' chiaro che il fegato ha un ruolo chiave nell'eliminazione dell'insulina, mentre il C-peptide viene rimosso mediante degradazione ed eliminazione principalmente attraverso i reni. Per questo motivo, complicazioni epatiche e renali avranno un effetto sul rapporto C-peptide/insulina circolante.

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi in vitro. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre

essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedere le tabelle ed i grafici per dati *rappresentativi* delle prestazioni del dosaggio. I risultati sono espressi in ng/mL. (Se non diversamente specificato, tutti i risultati sono stati generati su campioni di siero, prelevati in provette senza anticoagulanti, barriere di gel o additivi che favoriscano la formazione di coaguli).

Fattore di Conversione:

ng/ml \times 0,331 \rightarrow nmol/L

ng/ml \times 331 \rightarrow pmol/L

Range di calibrazione: 0,5 – 7 ng/mL (0,17 to 2,3 nmol/l; 166 – 2 317 pmol/L), (WHO 1st IRP 84/510)

Sensibilità analitica: 0,3 ng/mL (0,10 nmol/L; 99 pmol/L)

Precisione: I campioni di siero sono stati dosati in duplicato nel corso di 20 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedere la tabella "Precision")

Linearità: Sono stati dosati campioni in varie forme diluite. (Vedi la Tabella "Linearity" per dati rappresentativi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni 1:19 ai quali sono state aggiunte tre soluzioni (15, 54 e 112 ng/ml). (Vedi la Tabella "Recovery" per dati rappresentativi.)

Specificità: L'anticorpo è molto specifico per il C-Peptide. (Vedere la tabella "Specificity")

Bilirubina: La presenza di bilirubina in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 381 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di lipemia in concentrazioni fino a 3 000 mg/dL non ha nessun Effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Tipo di Campione Alternativo: Nessun effetto significativo per il plasma eparinizzato. Non si consiglia l'utilizzo di

plasma EDTA e di fluoruro di sodio con questo dosaggio. Mediante regressione lineare:

(Eparina) = 0,97 (Siero) + 0,51 ng/mL
 $r = 0,969$

Valore Medio:
4,7 ng/mL (Siero)
5,1 ng/mL (Eparina)

Comparazione di Metodi: Il dosaggio è stato comparato al dosaggio IMMULITE C-Peptide della DPC su 66 campioni di siero e di urina. (Range di concentrazione: 0,5 – 6,5 ng/ml. Vedi grafico.) Con regressione lineare:

(IML 2000) = 0,97 (IML) + 0,16 ng/ml
 $r = 0,990$

Valore Medio:
2,84 ng/ml (IMMULITE 2000)
2,76 ng/ml (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore DPC Nazionale.

Prodotto dalla EURO/DPC Ltd. nell'ambito di un Sistema di Qualità Certificato ISO 13485:2003.

Português

IMMULITE 2000 Péptido-C

Utilização: Para o doseamento *in vitro* de Peptido C em soro, plasma heparinizado ou urina, no auxílio ao diagnóstico e tratamento de doentes com secreção anormal de insulina, em conjunto com o Analisador IMMULITE 2000.

Números de catálogo:
L2KPE2 (200 testes) **L2KPE6** (600 testes)

Código do teste: **CPE**
Cor: **Cinzento escuro**

Sumário e explicação do teste

O Péptido-C humano é uma cadeia de 31 aminoácidos com uma massa molecular de aproximadamente 3 020 daltons. Metabólicamente inerte, tem origem nas β -células pancreáticas como um subproduto da segmentação enzimática de pró-insulina para insulina.^{1,2,5} Neste processo, a insulina e o Peptido C são separados da pró-hormona e segregados na circulação

portal em concentrações equimolares.^{4,5,7} É este factor que determina a base do interesse clínico nas determinações no plasma do Péptido-C.

Dentro de certos limites, os níveis de Péptido-C podem actuar como um índice valioso para a secreção de insulina. Deste modo, esperam-se baixos níveis de Péptido-C onde a secreção de insulina estiver diminuída, como no caso de diabetes dependente de insulina, ou suprimida, como resposta normal à insulina exógena; enquanto níveis elevados de Péptido-C podem resultar do aumento de actividade das β -células observado em insulinomas.^{3,4,6,9}

Deste modo, no diagnóstico diferencial de hipoglicémia, as determinações do Péptido-C podem ser utilizadas para complementar medições de insulina como um índice da actividade pancreática no clássico teste de jejum de 72 horas, e como o único indicador de actividade pancreática onde a própria insulina for administrada para verificar a supressibilidade.^{1,5} Além disso, a auto-administração dissimulada de insulina pode ser praticamente excluída como a causa de hiperinsulinémia pela descoberta de um nível elevado de Péptido-C.^{2,3,8,9}

Os anticorpos anti-insulina circulantes são normalmente encontrados em doentes que se submetem à terapia de insulina. Estes anticorpos poderiam tipicamente interferir com imunoenaios para insulina, impossibilitando o uso de medições de insulina neste contexto para verificar a actividade residual de β -células, mesmo se o tratamento fosse suspenso temporariamente. Deste modo, as medições de Péptido-C têm sido utilizadas como uma alternativa neste contexto, para produzir informações sobre a história natural de diabetes dependente de insulina, para monitorizar indirectamente a secreção de insulina na presença de anticorpos anti-insulina, e para auxiliar na determinação de um tratamento adequado.^{3,6,7,10}

O Péptido-C também é medido como meio adicional para avaliar a tolerância à glicose e testes de glicose-glibenclamida.^{2,3,10}

Princípio do procedimento

O IMMULITE 2000 C-Péptido é um imunoensaio competitivo de fase sólida, de enzimas químico-luminosas.

Ciclos de incubação: 1 × 60 minutos.

Colheita

Soro e Plasma heparinizado:

O doente deve estar em jejum. Tirar sangue da veia,¹² evitando hemólise, em tubos simples (sem anticoagulante) ou tubos heparinizados, anotando a hora, e separando o soro ou plasma das células.

Recomenda-se o uso de uma ultra centrífuga para clarear amostras lipémicas.

Amostras hemolisadas podem indicar tratamento incorrecto de uma amostra antes do envio para o laboratório; portanto os resultados devem ser interpretados com cuidado.

Plasma EDTA e plasma de fluoreto de sódio não são apropriados para uso.

A centrifugação de amostras de soro antes da formação completa do coágulo pode resultar na presença de fibrina. Para prevenir resultados errados devido à presença de fibrina, certifique-se que a formação do coágulo foi completa antes da centrifugação das amostras. Algumas amostras, em especial as de doentes que recebem terapia anticoagulante podem requerer um maior tempo de formação do coágulo.

Os tubos para colheita sanguínea de diferentes fabricantes, podem originar diferentes valores, dependendo dos materiais e aditivos, incluindo gel ou barreiras físicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 Péptido-C não foram ainda testados com todas as possíveis variações originadas pelos tipos de tubos. Consultar a secção Tipos de Amostras Alternativas para obter detalhes sobre os tubos que foram testados.

Estabilidade: Amostras de soro e plasma não doseadas dentro de 2–3 horas podem ser armazenadas congeladas a -20°C até 1 semana.¹¹

Urina – Colheita e Armazenamento:

Colher urina de 24 horas, sem conservante mantendo o espécimen refrigerado a uma temperatura de 2–8°C durante a colheita. Registrar o volume total da colheita e reter uma alíquota bem misturada para análise. Antes do ensaio, clarificar a amostra por centrifugação ou filtração.

Estabilidade: Para armazenamento por períodos maiores, separe em alíquotas e congele: estável por 30 dias a –20°C.

Fator de diluição: use pelo menos 5. Usando um fator de diluição de 20 vezes trar as amostras de urinas *normais* dentro da calibração. (Para amostras de urina, selecione o fator de 5 ou 20 na janela de Fator de Diluição.)

Volume de amostra: 75 µL de amostra de doente.

Precauções

Para uso de diagnóstico in vitro.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as normas aplicadas.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas obtidas de soro humano foram testadas, dando resultados negativos para a sífilis, para os anticorpos do vírus da imunodeficiência humana (HIV) 1 e 2; para o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e para os anticorpos do vírus da hepatite C.

Azida de sódio, com concentrações menores que 0,1 g/dL, foi adicionada a certos componentes como conservante. Ao eliminar, dilua com grandes volumes de água para evitar a acumulação de azidas metálicas explosivas em canalizações de chumbo e cobre.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula).

Água: Utilize água destilada ou desionizada.

Materiais fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. Os códigos de barras no interior das caixas são necessários para o ensaio.

Embalagem de pérolas de Péptido-C (L2PE12)

Com código de barras. Contém 200 esferas revestidas com anti-Péptido-C policlonal de coelho. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KPE2: 1 embalagem.

L2KPE6: 3 embalagens.

Embalagem de reagentes de Péptido-C (L2PEA2)

Com código de barras. 17,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugada com Péptido-C tamponizado. Estável até à data de validade a 2–8°C.

L2KPE2: 1 embalagem.

L2KPE6: 3 embalagens.

Antes de utilizar, retire a etiqueta de protecção da tampa deslizante; levante a tampa, remova o remanescente da etiqueta com o cuidado de não danificar o código de barras. Remova o selo de alumínio do topo da embalagem, encaixe a tampa deslizante nas ranhuras e verifique se a tampa desliza.

Ajustes de Peptido-C (LPEL, LPEH)

Contém dois frascos (nível alto e baixo) de Peptídeo C liofilizado em albumina humana tamponizada. Reconstitua cada frasco com **4,0 mL** de água destilada ou desionizada. Deixe repousar durante 30 minutos. Misture por inversão ou movimentos lentos até o material liofilizado dissolver completamente. Após reconstituição, divida em alíquotas e congele. Estável por 6 meses a –20°C. Rejeite as alíquotas após uso.

L2KPE2: 1 conjunto.

L2KPE6: 2 conjuntos.

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas da alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente**Diluyente de amostra para Péptido-C (L2PEZ)**

Para a diluição a bordo de amostras de urina o amostras de soro o plasma elevadas. 25 ml de concentrado (pronto a usar), processado, constituído por albumina humana em tampão livre de

Péptido-C, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C. Elimine de acordo com as normas aplicadas.

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.

L2PEZ: 3 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminescente

L2PWSM: Solução de lavagem

L2KPM: Kit de limpeza do pipetador

LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)

L2ZT: 250 Tubos de diluente da amostra (16 x 100 mm)

L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

PECM: Controlo de três níveis de Péptido-C

Também necessário:

Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos.

Doseamento

Têr em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador do IMMULITE 2000.

Ver o manual do operador do Sistema IMMULITE 2000 para instruções sobre preparação, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes: 2 semanas.

Amostras de controlo de qualidade: utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de Péptido-C.

Valores de Referência

Soro e Plasma heparinizado:

As amostras do serum foram coletadas de 71 voluntários fasting do laboratório e analisadas pelo procedimento de IMMULITE 2000 C-Peptide, com o número médio de 2,1 ng/mL (0,7 nmol/L; 695 pmol/L) e uma escala de referência nonparametric da central 95% de:

1,1 – 5,0 ng/mL
(0,4 – 1,7 nmol/L; 364 – 1 655 pmol/L)

Urina

Média de SD (desvio padrão) de 79 ± 56 µg/dia, com um intervalo de 2 a 260 µg/dia, representando o centro de 95% das observações.

Estes valores devem ser considerados apenas como directrizes. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

Limitações

Como o metabolismo do Péptido-C difere do da insulina, os níveis de Péptido-C são, no melhor dos casos, um índice semi-quantitativo da secreção de insulina. A semi vida do Péptido-C em plasma tem sido estimado em aproximadamente 30 minutos, comparado com aproximadamente 5 minutos para a insulina. Devido à diferença de tempo de semi vida, o Péptido-C circula no plasma a um nível aproximado 5 vezes superior ao da insulina, mesmo que as duas moléculas sejam segregadas numa proporção equimolar. Uma vez mais se insiste que o fígado tem um papel importante na eliminação de insulina, enquanto o Péptido-C é removido por degradação e eliminação, principalmente através dos rins. Complicações hepáticas e renais irão, portanto, afectar a proporção de circulação de insulina/Péptido-C.

Os anticorpos heterofílicos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoensaios in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de resultados anómalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interacções entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros achados que possam correlacionar.

Características do Ensaio

Ver tabelas e gráficos para dados representativos do desempenho do doseamento. Os resultados são apresentados em ng/mL. (Salvo referência em contrário, todos os dados provêm de amostras de soro colhidas em tubos sem anticoagulantes, barreiras de gel ou aditivos promotores de coagulação para o Peptido)

Factor de conversão:

ng/mL \times 0,331 \rightarrow nmol/L

ng/mL \times 331 \rightarrow pmol/L

Calibração:

0,5 – 7 ng/mL
(0,17 – 2,3 nmol/L; 166 – 2 317 pmol/L),
(WHO 1st IRP 84/510)

Sensibilidade Analítica:

0,3 ng/mL
(0,10 nmol/L; 99 pmol/L)

Precisão: Amostras de soro foram processadas em duplicado num período de 20 dias, dois ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Consulte a tabela "Precision".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearity" para dados representativos.)

Recuperação: As amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções (15, 54 e 112 ng/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Especificidade: O doseamento é específico para Peptido C. (Ver tabela de "Specificity".)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 381 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipémia: A presença de lipémia em concentrações até 3 000 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostras alternativas: Nenhum efeito significativo para o plasma heparinizado. Plasma EDTA ou plasma de fluoreto de sódio não são apropriados para uso. Regressão linear:

(Heparina) = 0,97 (Soro) + 0,51 ng/mL
r = 0,969

Médias:

4,7 ng/mL (Soro)

5,1 ng/mL (Heparina)

Comparação de Métodos:

O doseamento do comparado ao Kit de Peptido-C IMMULITE da DPC em 66 amostras de soro e urina. (Valores de concentração: approx. 0,5 – 6,5 ng/mL. Ver gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 0,97 (IML) + 0,16 ng/mL

r = 0,990

Médias:

2,84 ng/mL (IMMULITE 2000)

2,76 ng/mL (IMMULITE)

Assistência Técnica:

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

Fabricado pela EURO/DPC Ltd. de acordo com o Sistema de Qualidade registado segundo a norma ISO 13485:2003.

EURO/DPC LTD

Glyn Rhonwy
Llanberis, Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

DPC®

Diagnostic Products Corporation
Corporate Offices
5210 Pacific Concourse Drive
Los Angeles, CA 90045-6900
USA

2005-07-06

PIL2KPE – 16



EC REP DPC Biemann GmbH
61231 Bad Nauheim
Germany
+49 -6032-994-00