

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ С-ПЕПТИДА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ ЧЕЛОВЕКА «С-ПЕПТИД-ИФА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «С-пептид-ИФА» предназначен для количественного определения концентрации С-пептида в сыворотке (плазме) крови, моче методом твердофазного иммуноферментного анализа.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Определение С-пептида основано на использовании «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. На внутренней поверхности лунок планшета иммобилизованы мышиные моноклональные антитела к с-пептиду человека. В лунках планшета, при добавлении исследуемого образца, происходит связывание С-пептида, содержащегося в исследуемом образце, с антителами на твердой фазе. Образовавшийся комплекс выявляют с помощью конъюгата мышиных моноклональных антител к С-пептиду человека с пероксидазой хрена. В результате образуется связанный с пластиком «сэндвич», содержащий пероксидазу. Во время инкубации с раствором субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) происходит окрашивание растворов в лунках. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации С-пептида в исследуемом образце. Концентрацию С-пептида в исследуемых образцах определяют по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания С-пептида в калибровочных пробах.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Перекрестная реакция мышинных моноклональных антител к С-пептиду человека с другими анализатами приведена в таблице:

Аналит	Перекрестная реакция, %
инсулин человека	<0.01
проинсулин человека (интактный)	2.7
Humalog	0.3

3.2. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания С-пептида в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «С-пептид-ИФА» не превышает 8.0 %.

3.3. Линейность.

Зависимость концентрации С-пептида в образцах сыворотки (плазмы) крови при разведении их сывороткой (плазмой) крови, не содержащей С-пептид, имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0-С6 нг/мл и составляет ± 10.0 %.

3.4. Точность.

Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации С-пептида предписанной, полученной путем смешивания равных объемов контрольной сыворотки и калибровочной пробы С3 нг/мл. Процент «открытия» составляет 90–110 %.

3.5. Чувствительность.

Минимальная достоверно определяемая Набором «С-пептид-ИФА» концентрация С-пептида в сыворотке (плазме) крови не превышает 0.015 нг/мл.

3.6. Хук-эффект.

Не обнаружен до концентрации 400 нг/мл.

4. СОСТАВ НАБОРА

	Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P267CZ	SORB MTP	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	1	шт.	-
2	C267CZ	CAL 1 - 6	Калибровочные пробы на основе трис-буфера (pH 7.2-7.4), содержащие известные количества С-пептида, концентрация в калибровочных пробах указана в аналитическом паспорте и на этикетках флаконов, лиофилизированные (по 0.5 мл каждая)	6	шт.	после восстановления прозрачная бесцветная жидкость синего цвета (калибровочная проба 0 - прозрачная бесцветная жидкость)
3	Q267CZ	CONTROL	Контрольная сыворотка на основе сыворотки крови человека с известным содержанием С-пептида, лиофилизированная (0.5 мл)	1	шт.	после восстановления прозрачная бесцветная жидкость
4	T267CZ	CONJ HRP	Конъюгат , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
5	S011Z2	DIL SPE	ИФА-Буфер , готов к использованию (22 мл)	1	шт.	прозрачная жидкость синего цвета
6	R055Z	SUBS TMB	Раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
7	S008Z	BUF WASH 26X	Концентрат отмывочного раствора , 26х-кратный (22 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
8	R050Z	STOP	Стоп-реагент , готов к использованию (14 мл)	1	шт.	прозрачная бесцветная жидкость
9	N003	-	Бумага для заклеивания планшета	2	шт.	-
10	K267CI	-	Инструкция по применению Набора реагентов «С-пептид-ИФА»	1	шт.	-
11	K267CQ	-	Паспорт контроля качества Набора реагентов «С-пептид-ИФА»	1	шт	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Потенциальный риск применения Набора – класс 26 (ГОСТ Р 51609-2000).

5.2. Все компоненты Набора, за исключением стоп-реагента (5.0 % раствор серной кислоты), в используемых концентрациях являются нетоксичными. Раствор серной кислоты обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу и слизистые пораженный участок следует промыть большим количеством проточной воды.

5.3. При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

5.4. При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5.5. Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).

5.6. Медицинские отходы класса Б. Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 25–250 мкл;
- цилиндр мерный вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная.

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа компоненты Набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при комнатной температуре (+18...+25 °С) не менее 30 мин.

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы, чтобы предотвратить воздействие на них влаги, тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора.

7.3. Приготовление отмывочного раствора.

Содержимое флакона с концентратом отмывочного раствора (22 мл), перенести в мерный цилиндр вместимостью 1000 мл, добавить 550 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. В случае дробного использования Набора следует отобрать необходимое количество концентрата отмывочного раствора и развести

дистиллированной водой в 26 раз (1 мл концентрата отмывочного раствора + 25 мл дистиллированной воды).

7.4. Подготовка калибровочных проб.

Приготовьте калибровочные пробы и контрольную сыворотку: добавьте 0.5 мл бидистиллированной воды в каждый флакон и тщательно перемешайте. Жидкие калибраторы должны быть использованы в течение 72 часов; для повторного использования их рекомендуется заморозить в аликвотах при температуре ниже 15°C. Для более длительного хранения калибраторы можно аликвотировать и хранить замороженными при температуре ниже -15 °С. ВНИМАНИЕ: допускается не более 1 цикла замораживания-оттаивания!

7.5. Подготовка образцов мочи:

Осветлите образцы центрифугированием. Разбавьте в 21 раз Буфером для разведения образцов. Пример: 10 мкл образца + 200 мкл Буфера для разведения образцов. Внимание: разбавленный образец не хранится!

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «С-пептид-ИФА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора. Допускается хранение (транспортировка) Набора при температуре до +25 °С не более 15 суток. Не допускается замораживание целого набора.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 41 исследуемого образца, 6 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки (всего 96 определений).

8.3. В случае дробного использования Набора компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;

- ИФА-Буфер, конъюгат, субстрат, стоп-реагент после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;

- калибровочные пробы и контрольную сыворотку после приготовления следует хранить при температуре +2...+8 °С не более 72 часов. Допускается однократная заморозка при температуре -20 °С и ниже, хранить не более 12 месяцев;

- оставшийся неиспользованным концентрат отмывочного раствора следует хранить при температуре +2...+8 °С в течение всего срока годности Набора;

- приготовленный отмывочный раствор следует хранить при комнатной температуре (+18...+25 °С) не более 15 суток или при температуре +2...+8 °С не более 45 суток.

Примечание. После использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.4. Для проведения анализа не следует использовать гемолизованную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия. Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается. Допускается исследование сывороток, хранение которых с момента забора крови осуществлялось при температуре от +2 °С до +8 °С не более 7 суток. Образцы мочи следует осветлить центрифугированием перед анализом или после разморозки.

8.6. При использовании Набора для проведения нескольких независимых серий анализов следует иметь в виду, что для каждого независимого определения необходимо построение нового калибровочного графика; кроме этого, рекомендуется определение концентрации С-пептида в контрольной сыворотке.

8.7. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению Набора.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов - исследуемые образцы в 2 повторах и 14 лунок для калибровочных проб и контрольной сыворотки.
2	Приготовьте калибровочные пробы и контрольную сыворотку: добавьте 0,5 мл бидистиллированной воды в каждый флакон и тщательно перемешайте. Жидкие калибраторы должны быть использованы в течение 72 часов; для повторного использования их рекомендуется заморозить в аликвотах при температуре ниже -15°C. Для более длительного хранения калибраторы можно аликвотировать и хранить замороженными при температуре ниже -15°C. ВНИМАНИЕ: допускается не более 1 цикла замораживания-оттаивания!
3	Подготовьте образцы мочи для анализа (п. 7.5)
4	Внесите в соответствующие лунки в дубликатах по 25 мкл калибровочной пробы и контрольной сыворотки . В остальных лунки внесите в дубликатах по 25 мкл исследуемых образцов сыворотки (плазмы) крови, подготовленных образцов мочи. Внесение калибровочных проб, контрольной сыворотки и исследуемых образцов необходимо произвести в течение 15 минут. Если предполагается высокая концентрация анализа в исследуемом образце превышает максимальную точку калибровки, следует развести образец ИФА-Буфером.
5	Внесите во все лунки по 100 мкл конъюгата .
6	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета и инкубируйте его в течение 60 минут при температуре +18...+25 °C .
7	По окончании инкубации удалите содержимое лунок и отмойте лунки 5 раз . При каждой отмывке добавляйте во все лунки по 250 мкл отмывочного раствора (см. п.7.3), встряхните планшет круговыми движениями по горизонтальной поверхности с последующей аспирацией или декантированием. Задержка при отмывке (замачивание лунок) не требуется. При каждом декантировании необходимо тщательно удалять остатки жидкости из лунок постукиванием планшета в перевернутом положении по фильтровальной бумаге.
8	Внесите во все лунки по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина . Внесение раствора субстрата тетраме-тилбензидина в лунки необходимо произвести в течение 2-3 мин. Инкубируйте планшет в темноте при комнатной тем-пературе (+18...+25 °C) в течение 10-20 минут в зависимости от степени развития синего окрашивания.
9	Внесите во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента , при этом содержимое лунок окрашивается в ярко-желтый цвет.
10	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирова-ния при длине волны 450 нм. Измерение ОП содержимого лунок планшета необходимо произвести в течение 15 мин после внесения стоп-реагента. Бланк фотометра выставляйте по калибровочной пробе С1.
11	Постройте в линейных координатах калибровочный график: ось абсцисс (x) - концентрация С-пептида в калибровочных пробах (нг/мл), ось ординат (y) - оптическая плотность калибровочных проб (ОП 450 нм). Для алгоритма обсчета (ап-проксимации) калибровочного графика используйте интервальный (кусочно-линейный, «от точки к точке») метод.
12	Определите по калибровочному графику содержание С-пептида в исследуемых образцах. Если исследуемый образец предразводили (см. п.4), умножьте полученный результат на фактор разведения.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

10.1. Основываясь на результатах исследований, проведенных ООО «ХЕМА», рекомендуем пользоваться нормами, приведенными ниже. Вместе с тем, в соответствии с правилами GLP (Хорошей лабораторной практики), каждая лаборатория должна сама определить параметры нормы, характерные для обследуемой популяции.

Примечание. Значения концентраций С-пептида в исследуемых образцах, находящиеся ниже границы чувствительности Набора (0.015 нг/мл), а также превышающие значение верхней калибровочной пробы (С6) следует приводить в следующей форме: в исследуемом образце X концентрация С-пептида ниже 0.015 нг/мл или выше С6 нг/мл.

В Наборе «С-пептид-ИФА» значения концентраций калибровочных проб выражены в нг/мл. Для пересчета концентраций в пкмоль/л, полученное значение концентрации в нг/мл следует умножить на 331.

$$1 \text{ нг/мл} = 331 \text{ пкмоль/л}$$

Исследуемая группа	Единицы, нг/мл		Единицы доп., пкмоль/л	
	Нижний предел	Верхний предел	Нижний предел	Верхний предел
Сыворотка (плазма)	0.9	5.0	298	1655
моча	2 мкг/день	260 мкг/день		

По вопросам, касающимся качества Набора «С-пептид-ИФА», следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:
 105043, г. Москва, а/я 58
 105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, д. 48, 1-й под., 5 этаж,
 тел/факс (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)
 электронная почта: info@xema.ru; rqc@xema.ru
 интернет: www.xema.ru; www.xema-medica.com
 Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
 к. б. н. Д. С. Кострикин

Instruction for use

A SOLID-PHASE ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF TOTAL PSA IN HUMAN SERUM OR PLASMA

1. INTENDED USE

A solid-phase enzyme immunoassay for the quantitative determination of C-peptide in blood serum or plasma.

This kit is designed for measurement of C-peptide in blood serum or plasma. For possibility of use with other sample types, please, refer to Application Notes (on request). The kit contains reagents sufficient for 96 determinations and allows to analyze 41 unknown samples in duplicates.

2. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is based on two-site sandwich enzyme immunoassay principle. Tested specimen is placed into the microwells coated by specific murine monoclonal to human C-peptide-antibodies. Antigen from the specimen is captured by the antibodies coated onto the microwell surface. Second antibodies - murine monoclonal to human C-peptide, labelled with peroxidase enzyme, are then added into the microwells. After washing procedure, the remaining enzymatic activity bound to the microwell surface is detected and quantified by addition of chromogen-substrate mixture, stop solution and photometry at 450 nm. Optical density in the microwell is directly related to the quantity of the measured analyte in the specimen.

3. WARNINGS AND PRECAUTIONS

3.1. For professional use only.

3.2. This kit is intended for in vitro diagnostic use only.

3.3. INFECTION HAZARD: There is no available test methods that can absolutely assure that Hepatitis B and C viruses, HIV-1/2, or other infectious agents are not present in the reagents of this kit. All human products, including patient samples, should be considered potentially infectious. Handling and disposal should be in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guidelines or regulations.

3.4. Avoid contact with stop solution containing 5.0 % H₂SO₃. It may cause skin irritation and burns.

3.5. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents may give false results.

3.6. Do not use the kit beyond the expiration date.

3.7. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microplate readers.

3.8. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.

3.9. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guidelines or regulations.

3.10. Do not mix reagents from different lots.

3.11. Replace caps on reagents immediately. Do not swap caps.

3.12. Do not pipette reagents by mouth.

3.13. Specimens must not contain any AZIDE compounds – they inhibit activity of peroxidase.

3.14. Material Safety Data Sheet for this product is available upon request directly from XEMA Co., Ltd.

3.15. The Material Safety Data Sheet fit the requirements of EU Guideline 91/155 EC.

4.1. Contents of the Kit

4. KIT COMPONENTS

Symbol	Description	Qty	Units	Colour code	Stability of opened/diluted components
1 SORB MTP	C-peptide EIA strips, 8x12 wells	1	pcs		until exp.date
2 CAL 1 - 6	Calibrator set, 0.5 ml each. The set contains 6 calibrators: C1, C2, C3, C4, C5, C6 ng/ml	6	pcs	blue (C1 - colourless)	2 months
3 CON-TROL	Control serum (0.5 ml)	1	pcs	colourless	2 months
4 CONJ HRP	Conjugate, 14 ml	1	pcs	blue	until exp.date
5 DIL SPE	EIA buffer 22 ml	1	pcs	blue	until exp.date
6 SUBS TMB	Substrate solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
7 BUF WASH 26X	Washing solution concentrate 26x, 22 ml	1	pcs	colourless	Concentrate - until exp. date Diluted solution - 45 washing days at +2...+8 °C or 15 days at RT
8 STOP	Stop solution, 14 ml	1	pcs	colourless	until exp.date
9 N003	Plate sealing tape	2	pcs	-	N/A
10 K267CI	Instruction C-peptide EIA	1	pcs	-	N/A
11 K267CQ	QC data sheet C-peptide EIA			-	N/A

4.2. Equipment and material required but not provided

- Distilled or deionized water;
- Automatic or semiautomatic multichannel micropipettes, 100–250 µl, is useful but not essential;
- Calibrated micropipettes with variable volume, range volume 25–250 µl;
- Calibrated microplate photometer with 450 nm wavelength and OD measuring range 0–3.0

4.3. Storage and stability of the Kit

Store the whole kit at +2...+8 °C upon receipt until the expiration date.

After opening the pouch keep unused microtiter wells **TIGHTLY SEALED BY ADHESIVE TAPE (INCLUDED)** to minimize exposure to moisture.

5. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

Specimens of serum/plasma may be stored for up to 72 hours at +2...+8 °C before testing. For a longer storage, the specimens should be frozen at -20 °C or lower. Repeated freezing/thawing should be avoided.

Urine:

Centrifuge sample to clear. Urine samples may be stored for up to 36 hours at +2...+8 °C prior to assaying.

Dilute sample by DIL SPE in 21 times. Do not store diluted samples!

6. TEST PROCEDURE**6.1.** Reagent Preparation

- All reagents (including unsealed microstrips) should be allowed to reach room temperature (+18 to +25 °C) before use.
- All reagents should be mixed by gentle inversion or vortexing prior to use. Avoid foam formation.
- It is recommended to spin down shortly the tubes with calibrators on low speed centrifuge.
- Prepare washing solution from the concentrate BUF WASH 26X by 26 dilutions in distilled water.

6.2. Procedural Note:

It is recommended that pipetting of all calibrators and samples should be completed within 3 minutes.

6.3. Assay flowchart

See the example of calibration graphic in Quality Control data sheet.

6.4. Assay procedure

1	Put the desired number of microstrips into the frame; allocate 14 wells for the calibrators CAL 1 - 6 and control samples CONTROL and two wells for each unknown sample. DO NOT REMOVE ADHESIVE SEALING TAPE FROM UNUSED STRIPS.
2	Before first use of the kit dissolve the calibrators: add 0.5 ml deionized water to each vial and mix thoroughly avoiding foam formation. Liquid calibrators should be assayed within an 72 hour, aliquoted and stored frozen below -15 °C. For long term storage it is recommended to freeze the calibrators in aliquoted portions and store below -15 °C. ATTENTION: AVOID MORE THAN 1 FREEZE-THAW CYCLES!
3	Pipet 25 µl of calibrators CAL 1 - 6, control samples CONTROL and unknown samples into the wells.
4	Dispense 100 µl of CONJ HRP into the wells. Cover the wells by plate adhesive tape (included into the kit).
5	Incubate 60 minutes at 18-25°C.
6	Prepare washing solution by 26x dilution of washing solution concentrate (BUF WASH 26X) by distilled water. Wash the strips 5 times.
7	Dispense 100 µl of SUBS TMB into the wells.
8	Incubate 10-20 minutes at 18-25 °C.
9	Dispense 100 µl of STOP into the wells.
10	Measure OD (optical density) at 450 nm.
11	Set photometer blank on first calibrator.
12	Apply point-by-point method for data reduction.
13	Apply point-by-point method for data reduction.

6.5. Handling notes

Calibrators and control sample(s) – only one freezing/thawing cycle is allowed

7. QUALITY CONTROL

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results.

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable federal, state, and local standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications.

8. CALCULATION OF RESULTS

8.1. Calculate the mean absorbance values (OD450) for each pair of calibrators and samples.

8.2. Plot a calibration curve on graph paper: OD versus C-peptide concentration.

8.3. Determine the corresponding concentration of C-peptide in unknown samples from the calibration curve. Manual or computerized data reduction is applicable on this stage. Point-by-point or linear data reduction is recommended due to non-linear shape of curve.

8.4. Below is presented a typical example of a standard curve with the XEMA Co. Not for calculations!

9. EXPECTED VALUES

Therapeutical consequences should not be based on results of IVD methods alone – all available clinical and laboratory findings should be used by a physician to elaborate therapeutically measures. Each laboratory should establish its own normal range for C-peptide. Based on data obtained by XEMA, the following normal range is recommended (see below). NOTE: the patients that have received murine monoclonal antibodies for radioimaging or immunotherapy develop high titered anti-mouse antibodies (HAMA). The presence of these antibodies may cause false results in the present assay. Sera from HAMA positive patients should be treated with depleting adsorbents before assaying.

Sex, age	Units, ng/ml		Units alternative, pM	
	Lower limit	Upper limit	Lower limit	Upper limit
serum (plasma)	0.9	5.0	298	1655
urine	2 ug/day	260 ug/day	0	0

10. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

10.1. Analytical specificity / Cross reactivity

Analyte	Cross-reactivity, % wt/wt
Human insulin	<0.01
Human proinsulin (intact)	2.7
Humalog	0.3

10.2. Precision

Intra-assay precision is shown below:

Serum, no	uplicated	value, ng/ml	CV1, %
1	10	0.6	6.7
2	10	5.8	7,7

Inter-assay precision is shown below:

Serum, no	uplicated	value, ng/ml	CV, %
1	10	0.85	4.5
2	10	4.3	5.6

10.3. Analytical sensitivity

Sensitivity of the assay was assessed as being 0.015 ng/ml.

10.4. Linearity

Linearity was checked by assaying dilution series of 5 samples with different C-peptide concentrations. Linearity percentages obtained ranged within 90 to 110%.

10.5. Recovery

Recovery was estimated by assaying 5 mixed samples with known C-peptide concentrations. The recovery percentages ranged from 90 to 110%.