

INTENCIÓN DE USO

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

MATERIALES PROVISTOS	96 Pruebas
1. Pocillos revestidos con anti-Pro Insulina	12x8x1
2. Estándares Pro Insulina, 6 viales (listo para su uso)	1 ml
3. Conjugado enzimático de Pro Insulina 11X: 1 vial	1.2 ml
4. Sustrato TMB: 1 frasco (listo para su uso)	14 ml
5. Solución de Paro: 1 botella (listo para su uso)	14 ml
6. Solución de Lavado 40X: 1 botella	30 ml
7. Diluyente de la muestra: 1 vial (listo para su uso)	2 ml
8. Diluyente del conjugado: 1 botella (listo para su uso)	12 ml
9. Control (bajo y alto)	2 ml
10. Tampón de ensayo: 1 botella (listo para su uso)	12 ml

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

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

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

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

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso exclusivo en investigación. No debe utilizarse en los procedimientos de diagnóstico.
2. Para uso en laboratorio.
3. Los materiales de potencial riesgo biológico: El calibrador y los controles contienen componentes de origen humano que han sido probados y encontrados no reactivos para el antígeno de superficie de la hepatitis B, así como de anticuerpos del VIH con reactivos con licencia FDA. Sin embargo, no existe un método de prueba que puede garantizar la completa seguridad de que el virus del VIH, la hepatitis B u otros agentes infecciosos. Estos reactivos deben ser manipulados en el nivel 2 de bioseguridad, como se recomienda en los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de Salud de Estados.
4. No pipetear con la boca. No fumar, comer o beber en las áreas en las que las muestras o los reactivos del kit se manipulen.

5. Los componentes de este kit están destinados para su uso como una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no deben ser mezclados.
6. Se recomienda que las muestras de normalización, control y suero se realizaron por duplicado.
7. Los resultados óptimos se obtienen mediante la estricta adhesión a este protocolo. Pipeteado exacto y preciso, así como después de los requisitos de tiempo y temperatura exactos prescritos son esenciales. Cualquier desviación de esto puede producir datos no válidos.

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

1. Recolecte sangre por venopunción y separe el suero de inmediato.
2. En caso de no llevar a cabo el examen inmediatamente, refrigere la muestra a (2-8°C) por cinco días. En caso de exceder dicho plazo, congele a -20°C hasta un mes.
3. Evite múltiples ciclos de congelamiento-descongelamientos de la muestra.
4. Previo al ensayo, la muestra deberá ser debidamente descongelada y mezclada bien.
5. Evite utilizar muestras con exceso de lípidos.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

1. Preparar tampón de lavado 1X añadiendo el contenido de la botella (30 ml, 40X) a 475 ml de agua destilada o desionizada. Almacenar a temperatura ambiente.
2. Diluir el concentrado de conjugado de enzima en el diluyente del conjugado (100µ l de conjugado de enzima + 1,000 l diluyente de conjugado). Por cada así que necesita 100µl del diluido conjugado enzimático. El conjugado de enzima diluida es estable durante 24h a temperatura ambiente.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Antes del ensayo, permitir a los reactivos reposar a temperatura ambiente. Mezclar suavemente todos los reactivos antes de su uso.

1. Asegure el número deseado de pozos de micro titulación cubiertos en el soporte.
2. Dispensar 100 µl de control de normas Pro- Insulina y muestras en los pozos apropiados.
3. Dispensar 100 µl de tampón de ensayo en cada pocillo.
4. Mezclar a fondo durante 10 segundos.
5. Cubrir la placa con un sellador de placas e incubar durante la noche (16-24 horas) a 4°C en una cámara de humedad.
6. enérgicamente agitar el contenido de los pocillos. Lavar los pocillos 3 veces con solución de lavado diluido (350 µl por pocillo). Sacudir los pocillos con fuerza el papel absorbente para eliminar las gotas residuales.
7. Dispensar 100 µl del conjugado de enzima diluida en cada pocillo.
8. Mezclar a fondo durante 10 segundos.
9. Incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente sin agitación.
10. Enérgicamente agitar el contenido de los pocillos. Lavar los pocillos 5 veces con solución de lavado diluido (350 µl por pocillo). Sacudir los pocillos con fuerza en papel absorbente para eliminar las gotas residuales.
11. Añadir 100 ml de solución de sustrato a cada pocillo a intervalos de tiempo.
12. Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.
13. Parar la reacción enzimática mediante la adición de 50 µl de solución de paro a cada pocillo
14. Leer la DO a 450 ± 10 nm dentro de los 15 minutos después de añadir la solución de paro.

EJEMPLO DE CURVA ESTÁNDAR

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

Estándar	OD (450 nm)
Estándar 1 (0 pmol/l)	0.16
Estándar 2 (2.6 pmol/l)	0.25
Estándar 3 (6.6 pmol/l)	0.36
Estándar 4 (16.5 pmol/l)	0.63
Estándar 5 (33 pmol/l)	1.06
Estándar 6 (66 pmol/l)	1.82

CÁLCULO DE RESULTADOS

1. Construir una curva estándar trazando la absorbancia media obtenida de cada estándar de referencia contra su concentración en pmol/l con un valor de absorbancia en el eje vertical (Y) y la concentración en el eje horizontal (X).
2. Calcular los valores de absorbancia media para cada conjunto de estándares de referencia, controles y muestras de pacientes.
3. Utilizando el valor de absorbancia media para cada muestra, determinar la concentración correspondiente de Pro Insulina en pmol/l a partir de la curva estándar. Dependiendo de la experiencia o disponibilidad de la capacidad del ordenador, se pueden emplear otros métodos de reducción de datos.
4. Las muestras diluidas deben ser convertidos aún más por el factor de dilución apropiado.
5. Si en un ensayo inicial, se encuentra un espécimen para contener más de proinsulina que el límite superior de la curva estándar, las muestras deben diluirse con diluyente de muestra.

REFERENCIAS

1. Ashby, J. and Frier, B.: Circulating C-Peptide: Measurement and Clinical Applications. *Annals of Clinical Biochemistry*. 18:125, 1981
2. Beischer, W.: Proinsulin and C-Peptide in Humans. *Hormones in Normal and Abnormal Human Tissues*. Volume 3K, Fotherby and Pal, S., ed. (Berlin: Walter DeGruyter). pp. 1-43, 1983
3. Beyer, J., Krause V., Cordes V.: C-Peptide: Its Biogenesis, Structure, Determination and Clinical Significance. *Giornale Italiano di Chimica Clinica* 4 Supp. 9:22, 1979
4. Bonger, A. and Garcia-Webb, P.: C-Peptide Measurement: Methods and Clinical Utility. *CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 19:297, 1984.
5. Chevenne D., Ruiz J., Lohmann L., et.al. Immunoradiometric Assay of Human Intact Proinsulin Applied to Patients with Type 2 Diabetes, Impaired Glucose Tolerance, and Hyperandrogenism. *Clinical Chemistry*. 40/5:754, 1994
6. Bowsher R. R., Wolny J. D. and Frank B. H.: A Rapid and Sensitive Radioimmunoassay for the Measurement of Proinsulin in Human 2008-

Distribuido por:
Grupo Industrial MexLab S.A. de C.V.
01800-111-4343
www.grupomexlab.com