

## PÉPTIDO-C [I-125] IRMA KIT

**RK-84CT.**Estuche para 100 determinaciones

Ensayo inmunoradiométrico para la determinación cuantitativa *in vitro* del péptido-C en suero humano, en el rango de 0,105 – 30 ng/mL.

### Introducción

El péptido-C (péptido conectivo) es un polipéptido de 3600 Da y 31 aminoácidos que se sintetiza en las células  $\beta$  de los islotes pancreáticos a partir del precursor proinsulina. La proinsulina se divide enzimáticamente para formar insulina y péptido-C, los cuales se almacenan en el páncreas y son secretados en cantidades equimolares. Al contrario de la insulina, el péptido-C no es extraído por el hígado, sino que pasa íntegramente a la circulación sanguínea. Por consecuencia, la medición del péptido-C es un método más exacto de estimar la secreción de insulina que la medición de la propia insulina. Otra ventaja del péptido-C es que su determinación no se ve afectada por la presencia de autoanticuerpos anti-insulina, los cuales existen frecuentemente en los pacientes bajo tratamiento de insulina. Además, es de gran utilidad para evaluar la actividad residual de las células de islotes para el diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus.

### Principio del ensayo

Este ensayo utiliza el principio del análisis inmunoradiométrico (IRMA) en fase sólida. Para ello emplea dos anticuerpos monoclonales que reconocen dos epítomos diferentes de la molécula. Uno de ellos está marcado con radioyodo (anticuerpo “señal”) y el otro, conjugado a biotina, funciona como anticuerpo “captura”. El inmunocomplejo formado por el antígeno con los dos anticuerpos ("sándwich") se inmoviliza en la superficie de los tubos de ensayo recubiertos con estreptavidina (reacción estreptavidina-biotina) durante un período de incubación de 3 horas bajo agitación constante. Después se decantan los tubos y se mide la radiactividad enlazada en un contador gamma. La radiactividad presente en los tubos es directamente proporcional a la concentración de la hormona presente en el sistema. Utilizando calibradores de concentración conocida de péptido-C se prepara una curva de calibración a partir de la cual se determina por interpolación la concentración de péptido-C presente en las muestras.

### Contenido del juego

1. TRAZADOR, 1 frasco con 21 mL, listo para usar, contiene < 740 kBq de anti-péptido-C marcado con  $^{125}\text{I}$  y anti-péptido-C biotinilado en solución tampón con 0,1 %  $\text{NaN}_3$  y colorante rojo.
2. CALIBRADORES (S0-S5), 6 frascos con: 2,5 mL de suero bovino listo para usar (S0) y 0,5 mL de suero humano liofilizado (S1-S5) con 0,1%  $\text{NaN}_3$ . Los calibradores contienen: 0, 0,25, 0,9, 3, 9 y 30 ng/mL, respectivamente y han sido calibrados contra el estándar de referencia WHO RP 84/510.
3. SUERO CONTROL, 1 frasco, contiene 0,5 mL de suero humano liofilizado con 0,1%  $\text{NaN}_3$ . La concentración del suero control está especificada en el certificado de calidad incluido.
4. TUBOS RECUBIERTOS: 2x50 tubos de 12x75 mm, empaquetados en cajas plásticas, listos para usar.
5. SOLUCIÓN DE LAVADO, 1 frasco, contiene 20 mL de solución concentrada. Diluir con 700 mL de agua destilada. Contiene 0,2 %  $\text{NaN}_3$ .

### Materiales y equipos necesarios

Gradilla para tubos de ensayo, pipetas de precisión con puntas desechables (20, 50, 200 y 1500  $\mu\text{L}$ ), agitador horizontal u orbital, lámina de polietileno, papel absorbente, contador gamma.

#### **Materiales y equipos recomendados:**

Pipetas de repetición (200 y 1500  $\mu\text{L}$ ). Jeringa automática (dispensador) para el lavado.

### Recolección y almacenamiento de las muestras

Las muestras de suero deben colectarse de acuerdo a los procedimientos habituales que se practican en los laboratorios clínicos. Las muestras pueden conservarse entre 2 y 8 °C si el análisis habrá de efectuarse dentro de las 24 horas siguientes, de lo contrario deben conservarse congeladas a una temperatura igual o menor que -20 °C. ¡No conservar las muestras por más de 2 meses! Las muestras congeladas deben descongelarse y mezclarse completamente antes de su uso. Evitar la congelación y descongelación repetida de las muestras.

### Preparación y conservación de los reactivos

La solución concentrada de lavado debe diluirse con 700 mL de agua destilada. Así diluida esta solución se conserva entre 2 y 8 °C hasta la fecha de vencimiento del juego.

Los calibradores (S1-S5) y el suero control se reconstituyen con 0,5 mL de agua destilada. Para ello se debe mezclar suavemente evitando la formación de espuma. Permitir que la solución alcance la temperatura ambiente (20 a 30 °C) antes de su uso. Para usos posteriores alicuotar y conservar por debajo de -20 °C hasta la fecha de vencimiento. ¡No se debe exponer los calibradores y el control a más de 2 ciclos de congelación-descongelación!

Conservar los demás reactivos entre 2 y 8 °C después de abiertos. A esta temperatura cada componente es estable hasta la fecha de vencimiento del juego (ver fecha exacta en la etiqueta del estuche y en el certificado de calidad).

#### **¡PRECAUCIÓN!**

Permitir que todos los reactivos y muestras alcancen la temperatura ambiente. Homogenizar completamente todos los reactivos y muestras antes de su uso, evitando la formación de espuma.

### Procedimiento para el ensayo

(Ver Tabla 1.)

1. Rotular los tubos recubiertos por duplicado para la actividad total (T), calibradores (S0-S5), suero control (C) y muestras (M).
2. Añadir por duplicado 50  $\mu\text{L}$  de calibrador, suero control y muestras en los tubos apropiados.
3. Añadir 200  $\mu\text{L}$  de trazador en cada tubo.
4. Fijar la gradilla con los tubos de ensayo firmemente en el agitador horizontal. Cubrir los tubos con una lámina de polietileno. Encender el agitador y ajustar la velocidad de manera tal que el líquido en los tubos esté rotando o agitándose constantemente. Agitar 3 horas a temperatura ambiente.
5. Añadir 1,5 mL de solución de lavado a cada tubo. Aspirar o decantar el líquido de todos los tubos (excepto T) mediante la inversión de la gradilla. Colocar la gradilla sobre un papel absorbente por 2 minutos manteniendo la posición invertida.
6. Repetir dos veces el procedimiento de lavado según el punto 5.
7. Medir la radiactividad de cada tubo por 60 segundos en un contador gamma y calcular la concentración de péptido-C en las muestras como se describe a continuación.

Tabla 1. Protocolo del ensayo (volúmenes en microlitros)

|                                       | T   | S0-S5 | C    | M    |
|---------------------------------------|-----|-------|------|------|
| Calibrador                            |     | 50    |      |      |
| Control                               |     |       | 50   |      |
| Muestra                               |     |       |      | 50   |
| Trazador                              | 200 | 200   | 200  | 200  |
| Agitar 3 horas a temperatura ambiente |     |       |      |      |
| Solución de lavado                    |     | 1500  | 1500 | 1500 |
| Decantar y secar en papel absorbente  |     |       |      |      |
| Solución de lavado                    |     | 1500  | 1500 | 1500 |
| Decantar y secar en papel absorbente  |     |       |      |      |
| Solución de lavado                    |     | 1500  | 1500 | 1500 |
| Decantar y secar en papel absorbente  |     |       |      |      |
| Medir la radiactividad (60 s/tubo)    |     |       |      |      |
| Procesar los datos                    |     |       |      |      |

Cálculo de los resultados

En la Tabla 2 y la figura 1 se muestran a manera de ejemplo los cálculos y una curva estándar típica de un ensayo. Para los cálculos: Hallar la media de los conteos por minuto (cpm) para cada par de tubos. Restar de cada media el promedio de cpm obtenido para el calibrador de concentración cero (S0 = enlace no específico, NSB). Los valores así corregidos se dividen por la actividad total (T) como se muestra a continuación:

B/T (%) = (S1-5/C/Mx/ (cpm) –S0(cpm) / T (cpm)) x 100

Construir una curva estándar ploteando las medias de cpm o, alternativamente, los valores B/T% contra la concentración de péptido-C de cada calibrador en un papel log-log. Determinar la concentración de péptido-C en las muestras basándose en las respectivas medias de cpm o en los valores B/T%, por interpolación de la curva estándar. No extrapolar valores fuera del rango de la curva. Para el procesamiento automatizado de los datos, recomendamos el uso del programa de ajuste tipo spline, desarrollado especialmente para el análisis inmunoradiométrico. Existen programas que interpolan los valores que se encuentran entre el calibrador de concentración cero y el primer calibrador. Entre las concentraciones así calculadas, solo aquellas mayores que el límite de detección del ensayo pueden considerarse como reales (ver sensibilidad).

Tabla 2. Resultados característicos del ensayo

| Tubos | Conteos cpm      | Media cpm | B/T%  | ng/mL |
|-------|------------------|-----------|-------|-------|
| T     | 273835<br>274213 | 274024    |       |       |
| S0    | 74<br>68         | 71        | 0,00  |       |
| S1    | 1363<br>1378     | 1370      | 0,47  |       |
| S2    | 4744<br>4815     | 4780      | 1,72  |       |
| S3    | 17158<br>18023   | 17591     | 6,39  |       |
| S4    | 50937<br>53632   | 52285     | 19,05 |       |
| S5    | 115771<br>118580 | 117176    | 42,74 |       |
| C     | 27956<br>26006   | 26981     |       | 4,5   |

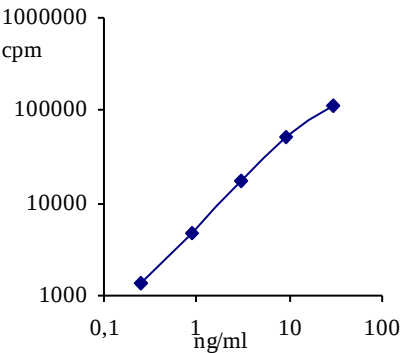


Figura 1.

Curva estándar típica (¡No utilizar para calcular concentraciones de las muestras!)

Características del ensayo

Las características del ensayo fueron determinadas bajo condiciones óptimas: trazador fresco y 3 lavados. Si se omite el tercer lavado solo se afecta la sensibilidad analítica del ensayo.

Sensibilidad

La sensibilidad analítica es de 0,0056 ng/mL (0,0186 con 2 lavados), calculada como la concentración correspondiente al valor de enlace medio más dos desviaciones estándar, para 20 réplicas del calibrador de concentración cero.

La sensibilidad funcional es de 0,105 ng/mL, determinada por extrapolación del 20% del perfil de precisión inter-ensayo obtenido con la evaluación de muestras con baja concentración de péptido-C, en 10 series diferentes.

Especificidad

Los valores de reacción cruzada están estimados como el cociente de la masa de analito adicionado/péptido-C medido cuando ambas ocasionan igual desplazamiento.

|                 |          |
|-----------------|----------|
| Insulina humana | < 0,04 % |
| Proinsulina     | 27,1 %   |

Dado que la razón molar proinsulina/péptido-C en condiciones fisiológicas normales es del 5%, el error analítico que puede causar la reacción cruzada con la proinsulina es de 2 – 4%.

Precisión

La precisión de un solo sitio se calculó utilizando cinco muestras a diferentes concentraciones de Péptido-C, de acuerdo con el documento EP05-A3 del CLSI. Las muestras se midieron en veinte días, con dos ensayos por día y utilizando dos réplicas por muestra.

| Muestra | Media (ng/ml) | Repetibilidad |      | Precisión intra-laboratorio |      |
|---------|---------------|---------------|------|-----------------------------|------|
|         |               | SD            | CV%  | SD                          | CV%  |
| Pool 1  | 0,66          | 0,01          | 1,97 | 0,02                        | 3,44 |
| Pool 2  | 1,49          | 0,02          | 1,53 | 0,04                        | 2,92 |
| Pool 3  | 3,11          | 0,06          | 2,01 | 0,11                        | 3,45 |
| Pool 4  | 5,87          | 0,13          | 2,22 | 0,19                        | 3,16 |
| Pool 5  | 9,95          | 0,17          | 1,69 | 0,29                        | 2,90 |

La precisión multi-sitio se calculó utilizando 5 muestras a diferentes concentraciones de Péptido-C, de acuerdo con el documento EP05-A3 del CLSI. Las muestras se midieron en tres sitios diferentes, en cada sitio se realizaron cinco corridas, una corrida por día y utilizando cinco réplicas por corrida.

| Muestra | Media (ng/mL) | Repetibilidad |      | Precisión intra-laboratorio |      | Reproducibilidad |      |
|---------|---------------|---------------|------|-----------------------------|------|------------------|------|
|         |               | SD            | CV%  | SD                          | CV%  | SD               | CV%  |
| Pool 1  | 0,67          | 0,022         | 3,26 | 0,023                       | 3,47 | 0,027            | 3,96 |
| Pool 2  | 1,50          | 0,073         | 4,86 | 0,078                       | 5,19 | 0,082            | 5,44 |
| Pool 3  | 3,13          | 0,080         | 2,56 | 0,088                       | 2,81 | 0,097            | 3,08 |
| Pool 4  | 5,88          | 0,088         | 1,49 | 0,110                       | 1,87 | 0,147            | 2,50 |
| Pool 5  | 9,74          | 0,517         | 5,31 | 0,488                       | 5,01 | 0,501            | 5,14 |

Prueba de Recuperación

La recuperación se determinó como la diferencia porcentual entre el incremento observado y el incremento esperado, luego de añadir concentraciones conocidas a 3 niveles de péptido-C a 9 muestras de suero diferentes. La recuperación fue de 97,2% ± 8,5% (media ± SD).

Linealidad

La linealidad se evaluó de acuerdo con el documento EP06-Ed2 del CLSI. El método resultó lineal desde 0,08 ng/ml hasta 37,14 ng/ml, con un margen de error <15 % en este intervalo. La máxima desviación de la linealidad observada en un panel de 10 muestras fue de -9.3%.

Valores de referencia

Los valores presentados a continuación deben considerarse como informativos. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.

|               | n  | Media | SD   | Mín  | Max  |
|---------------|----|-------|------|------|------|
| Suero, ayunas | 27 | 1,77  | 0,62 | 1,07 | 3,51 |
| Suero, diario | 71 | 4,88  | 2,6  | 1,37 | 11,8 |

(Valores en ng/mL)

### Interferencia:

Las pruebas de interferencia se realizaron de acuerdo con el documento EP07-A2 del CLSI. No se observa interferencia hasta las siguientes concentraciones:

|                        |             |
|------------------------|-------------|
| Bilirrubina            | 190 µmol/L  |
| Triglicéridos          | 11,0 mmol/L |
| Hemoglobina            | 12,6 g/L    |
| Biotina                | 200 ng/mL   |
| Paracetamol            | 15,6 mg/dL  |
| Ácido acetilsalicílico | 3,0 mg/dL   |
| Acido ascórbico        | 5,25 mg/dL  |
| Diclofenaco            | 2,4 mg/dL   |
| Ibuprofeno             | 21,9 mg/dL  |

### Conversión de las unidades de medida

1 nmol/L = 3,617 ng/mL

1 ng/mL = 0,276 nmol/L

### Limitaciones del procedimiento

- Los reactivos provistos en este juego están optimizados para la medición del péptido-C en suero humano.
- Los resultados de este análisis deben ser utilizados conjuntamente a la información clínica pertinente.
- Las muestras hemolizadas, turbias o lipémicas pueden dar resultados falsos, evite su uso.
- No se observa efecto Hook con el uso del presente producto en concentraciones de péptido-C hasta 90 ng/mL. Para cualquier muestra con una concentración en el intervalo entre 30-90 ng/mL se obtendrán valores superiores a 30 ng/mL. Estas muestras deben ser diluidas con el calibrador de concentración cero y reanalizadas.

### Notas acerca del procedimiento

1) **Fuente de error!** Los tubos recubiertos no están marcados individualmente. Se debe evitar la mezcla con tubos de ensayo comunes. Para minimizar este riesgo, no se deben sacar de la caja más tubos de los necesarios, de igual manera los tubos no utilizados en una serie deben ser guardados de nuevo en su caja. Se recomienda rotular los tubos con marcador permanente.

2) **Fuente de error!** Para asegurar la agitación eficiente de los tubos se debe utilizar una gradilla que los ajuste firmemente. Una agitación inadecuada puede provocar un rendimiento deficiente del ensayo y falsos resultados.

3) **Dosificación de la solución de lavado.** Para la adición de la solución de lavado se recomienda una jeringa automática o dispensador, equipado con un recipiente de 1 litro y un tubo flexible para la dosificación. En su ausencia puede utilizarse una pipeta automática apropiada.

¡Atención! ¡No mezclar los componentes de lotes diferentes o con productos de otro fabricante!

### Precauciones

#### Material radiactivo

Este producto contiene material radiactivo. Es responsabilidad de cada laboratorio cumplir con las regulaciones locales referentes a la manipulación, conservación y desecho de materiales radiactivos.

#### Material potencialmente infeccioso

El suero humano utilizado en este producto ha sido analizado con métodos aprobados y no ha presentado positividad para anticuerpos frente a los virus de Inmunodeficiencia Humana (Anti-HIV-1/2) y Hepatitis-C (HCV), anticuerpos anti-Treponema y el antígeno de superficie de la Hepatitis-B (HBsAg). Ninguno de los métodos analíticos disponibles actualmente puede garantizar por completo la eliminación de posibles riesgos biológicos. Se deben manipular todos los reactivos y muestras de sangre como *material potencialmente infeccioso*.

El suero bovino utilizado en este producto proviene de países donde no se ha reportado la encefalopatía esponjiforme. No obstante, los componentes que contienen suero animal deben considerarse como *material potencialmente infeccioso*.

#### Peligro químico

Algunos componentes de este juego contienen azida sódica como preservante. Al verter los desechos no radiactivos al sistema de desagüe se debe diluir con grandes cantidades de agua, para evitar la acumulación de azidas metálicas explosivas en las tuberías de plomo y cobre. Este producto contiene en total 66 mg de azida sódica.

**MSDS:** La hoja de datos de seguridad está disponible públicamente en el sitio web [www.izotop.hu/immunoassay](http://www.izotop.hu/immunoassay).

### Literatura

1: Bristow AF, Gaines RE. WHO International reference reagents for human proinsulin and human insulin C-Peptide. *J Biol Stand* 16:179-186, 1988.

2: Brandenburg D. History and Diagnostic Significance of C-Peptide. *Experimental Diabetes Research* 2008. 2008:576862. Review.

3: Cryer PE, Axelrod L, Grossman AB, Heller SR, Montori VM, Seaquist ER, Service FJ; Endocrine Society. Evaluation and management of adult hypoglycemic disorders: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Mar;94(3):709-28.

4: Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Lernmark Å, Metzger BE, Nathan DM, Sue Kirkman M. Executive Summary: Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *Clin Chem*. 2023 Aug 2;69(8):777-784.

5: Buzzetti R, Tuomi T, Mauricio D, Pietropaolo M, Zhou Z, Pozzilli P, Leslie RD. Management of Latent Autoimmune Diabetes in Adults: A Consensus Statement from an International Expert Panel. *Diabetes*. 2020 Oct;69(10):2037-2047.

6: Hope SV, Wienand-Barnett S, Shepherd M, King SM, Fox C, Khunti K, Oram RA, Knight BA, Hattersley AT, Jones AG, Shields BM. Practical Classification Guidelines for Diabetes in patients treated with insulin: a cross-sectional study of the accuracy of diabetes diagnosis. *Br J Gen Pract*. 2016 May;66(646):e315-22.

7: Ahn CH, Kim LK, Lee JE, Jung CH, Min SH, Park KS, Kim SY, Cho YM. Clinical implications of various criteria for the biochemical diagnosis of insulinoma. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2014 Dec 29;29(4):498-504. Erratum in: *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2017 Jun;32(2):306.

8: CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline—Third Edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.

9: CLSI. Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures. 2<sup>nd</sup> ed. CLSI guideline EP06 Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, 2020.

10: Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Second Edition. CLSI document EP7-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA; 2005.

|                                                                                   |                                                 |                                                                                   |                              |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
|   | Fecha de vencimiento                            |  | Número de lote               |
|   | Almacenar entre<br>2 y 8 °C                     |  | Suero Control                |
|  | Precaución                                      |  | Calibrador                   |
|  | Peligro biológico                               |  | Tubos recubiertos            |
|  | Consulte las<br>instrucciones                   |  | Trazador                     |
|  | Dispositivo para<br>diagnóstico <i>in vitro</i> |  | Tampón de lavado             |
|  | Fabricante                                      |  | Material radiactivo          |
| <b>REF</b>                                                                        | Número de referencia                            |  | Número de<br>determinaciones |



Sitio WEB: <http://www.izotop.hu>  
E-mail técnico: [immuno@izotop.hu](mailto:immuno@izotop.hu)  
E-mail comercial: [commerce@izotop.hu](mailto:commerce@izotop.hu)



INSTITUTE OF ISOTOPES Ltd.  
1535 Budapest. Pf.: 851.  
Tel.: (+36) 1-392-2577, Fax: (+36) 1-395-9247

*Edición: Mayo/2025*