



Instructions for Use

C-Peptide RIA

IVD

CE

REF RIA-4383

Σ 96



DRG Instruments GmbH, Germany
Frauenbergstraße 18, D-35039 Marburg
Phone: +49 (0)6421-1700 0, Fax: +49 (0)6421-1700 50
Website: www.drg-diagnostics.de
E-mail: drg@drg-diagnostics.de



DRG International, Inc., USA
841 Mountain Ave., Springfield, NJ 07081
Phone: (973) 564-7555, Fax: (973) 564-7556
Website: www.drg-international.com
E-mail: corp@drg-international.com

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit.
Verwenden Sie nur die jeweils gültige, im Testkit enthaltene, Gebrauchsanweisung.
Si prega di usare la versione valida dell'inserto del pacco a disposizione con il kit.
Por favor, se usa solo la version valida de la metodico técnico incluido aqui en el kit.

Table of Contents / Inhaltsverzeichnis / Tabella die Contenuti / Tabla de Contenidos

1	INTENDED USE.....	3
2	CLINICAL BACKGROUND	3
3	PRINCIPLES OF THE METHOD	3
4	REAGENTS PROVIDED	4
5	SUPPLIES NOT PROVIDED	4
6	REAGENT PREPARATION	4
7	STORAGE AND EXPIRATION DATING OF REAGENTS	5
8	SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION.....	5
9	PROCEDURE	5
10	CALCULATION OF RESULTS.....	6
11	TYPICAL DATA.....	6
12	PERFORMANCE AND LIMITATIONS	7
13	INTERNAL QUALITY CONTROL.....	8
14	REFERENCE INTERVALS	8
15	PRECAUTIONS AND WARNINGS	8
16	BIBLIOGRAPHY.....	9
17	SUMMARY OF THE PROTOCOL.....	9

1	VERWENDUNGSZWECK.....	10
2	KLINISCHER HINTERGRUND	10
3	GRUNDSÄTZLICHES ZUR DURCHFÜHRUNG	10
4	MITGELIEFERTE REAGENZIEN.....	11
5	ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL	11
6	VORBEREITUNG DER REAGENZIEN.....	11
7	AUFBEWAHRUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN.....	12
8	PROBENSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG	12
9	DURCHFÜHRUNG	12
10	BERECHNUNG DER ERGEBNISSE	13
11	TYPISCHE WERTE	13
12	LEISTUNGSMERKMALE UND GRENZEN DER METHODIK	14
13	INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE	15
14	ZU ERWARTENDER BEREICH.....	15
15	VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNUNGEN	15
16	LITERATUR	16
17	ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS.....	16

1	INSTRUCCIONES DE USO	17
2	INFORMACIÓN CLÍNICA.....	17
3	PRINCIPIOS DEL MÉTODO	17
4	REACTIVOS SUMINISTRADOS.....	17
5	MATERIAL NO SUMINISTRADO.....	18
6	PREPARACIÓN REACTIVOS.....	18
7	ALMACENAJE Y CADUCIDADES DE LOS REACTIVOS	18
8	RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS.....	18
9	PROTOCOLO	18
10	CALCULO DE RESULTADOS	19
11	EJEMPLO DE RESULTADOS	19
12	REALIZACIÓN Y LIMITACIONES.....	20
13	CONTROL DE CALIDAD INTERNO	21
14	INTERVALOS DE REFERENCIA.....	21
15	PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS	21
16	BIBLIOGRAFIA	22
17	RESUMEN DEL PROTOCOLO.....	22
	SYMBOLS USED	23

1 INTENDED USE

Radioimmunoassay for the in vitro quantitative measurement of human C-Peptide in serum.

2 CLINICAL BACKGROUND

2.1 Biological Activity

Insulin is synthesized in the beta-cells of the islets of Langerhans as a precursor molecule, proinsulin. In the secretory granules of the beta-cells, proinsulin is cleaved into insulin and into a 31-amino-acid peptide, called the Connecting Peptide or C-Peptide. Insulin and C-Peptide are secreted in equimolar amounts. However, because of its longer half-life, the plasma concentration of C-peptide is higher than that of insulin.

The determination of plasma C-Peptide allows an assessment of the endogenous insulin production, even in the presence of exogenous insulin administration or in the presence of circulating anti-insulin antibodies.

Moreover, the determination of C-Peptide in urine provides a reliable index of the insulin production when blood sampling is difficult or when an integrated estimation of C-Peptide secretion over a period of several hours is requested.

2.2 Clinical applications

- Assessment of residual beta-cell function in diabetics under insulin therapy
- Detection and monitoring of the remission phase of type I diabetes
- Adjunct in the differential diagnosis between type I (insulin-dependent) and type II (non-insulin-dependent) diabetes
- Diagnosis of insulin-induced factitious hypoglycaemia
- Contribution to the diagnosis of insulinoma (insulin suppression test)
- Prognostic index of foetal outcome in pregnant diabetic women
- Evaluation of insulin secretion in liver disease
- Monitoring of pancreatectomy

3 PRINCIPLES OF THE METHOD

A fixed amount of ^{125}I labelled Tyr-C-Peptide competes with the C-Peptide to be measured present in the sample or in the calibrator for a fixed amount of antibody sites being immobilized to the wall of a polystyrene tube. Neither extraction nor chromatography is required. After 3 hours incubation at room temperature, an aspiration step terminates the competition reaction. The tubes are then washed with 3 mL of wash solution and aspirated again. A calibration curve is plotted and the C-Peptide concentrations of the samples are determined by dose interpolation from the calibration curve.

4 REAGENTS PROVIDED

	Reagents	96 Test Kit	Reconstitution
TUBES	Tubes coated with anti C-Peptide	2 x 48	Ready for use
Ag ¹²⁵I	TRACER: ¹²⁵ Iodine labelled Tyr-C-Peptide (HPLC grade) in phosphate buffer with bovine gelatine and azide (<0.1%)	1 vial lyophilised 175 kBq	Add 6 mL distilled water
CAL 0	Zero Calibrator in human serum and thymol	1 vial lyophilised	Add 3 mL distilled water
CAL N	Calibrators - N = 1 to 5 (see exact values on vial labels) in human serum and thymol	5 vials lyophilised	Add 1 mL distilled water
WASH SOLN CONC	Wash solution (TRIS-HCl)	1 vial 10 mL	Dilute 70 x with distilled water (use a magnetic stirrer).
CONTROL N	Controls - N = 1 or 2 in human plasma with thymol	2 vials lyophilised	Add 1 mL distilled water

Note : 1. Use the zero calibrator for sera dilutions.
 2. 1 ng of the calibrator preparation is equivalent to 1 ng NIBSC IRR 13/146

5 SUPPLIES NOT PROVIDED

1. The following material is required but not provided in the kit:
2. Distilled water
3. Pipettes for delivery of: 50 µL, 100 µL and 1 mL (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended)
4. Disposable polystyrene tubes (12 x 75 mm)
5. Vortex mixer
6. Magnetic stirrer
7. 5 mL automatic syringe (Cornwall type) for washing
8. Aspiration system (optional)
9. Any gamma counter capable of measuring ¹²⁵I may be used (minimal yield 70%).

6 REAGENT PREPARATION

A. **Calibrators:**

Reconstitute the zero calibrator with 3.0 mL distilled water and the other calibrators with 1.0 mL distilled water.

B. **Controls:**

Reconstitute the controls with 1.0 mL distilled water.

C. **Tracer:**

Reconstitute the tracer with 6.0 mL distilled water.

D. **Working Wash solution:**

Prepare an adequate volume of Working Wash solution by adding 69 volumes of distilled water to 1 volume of Wash Solution (70x). Use a magnetic stirrer to homogenize. Discard unused Working Wash solution at the end of the day.

7 STORAGE AND EXPIRATION DATING OF REAGENTS

Before opening or reconstitution, all kits components are stable until the expiry date, indicated on the label, if kept at 2 °C to 8 °C.

After reconstitution, tracer must be used immediately or stored at -20 °C, until the expiration date.

After reconstitution, calibrators and controls are very unstable, use them immediately after reconstitution.

For longer storage periods, aliquots should be made and kept at -20 °C for maximally 3 months.

Avoid subsequent freeze-thaw cycles.

Freshly prepared Working Wash solution should be used on the same day.

Alterations in physical appearance of kit reagents may indicate instability or deterioration.

8 SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Serum samples must be kept at 2 °C - 8 °C.

If the test is not run within 8 hours, storage in aliquots at -20 °C is recommended.

Avoid subsequent freeze-thaw cycles.

9 PROCEDURE

9.1 Handling notes

Do not use the kit or components beyond expiry date.

Do not mix materials from different kit lots.

Bring all the reagents to room temperature prior to use.

Thoroughly mix all reagents and samples by gentle agitation or swirling.

Use a clean disposable pipette tip for addition of each different reagent and sample in order to avoid cross-contamination.
High precision pipettes or automated pipetting equipment will improve the precision.

Respect the incubation times.

Prepare a calibration curve for each run, do not use data from previous runs.

9.2 Procedure

1. Label coated tubes in duplicate for each calibrator, control and sample.
For the determination of total counts, label 2 normal tubes
2. Briefly vortex calibrators, controls and samples and dispense 100 µL of each into the respective tubes.
This operation must be achieved within 15 minutes.
3. Dispense 50 µL of ¹²⁵Iodine labelled Tyr-C-Peptide into each tube, including the uncoated tubes for total counts.
4. Shake the tube rack gently by hand to liberate any trapped air bubbles.
5. Incubate for 3 hours at room temperature.
6. Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts). Be sure that the plastic tip of the aspirator reaches the bottom of the coated tube in order to remove all the liquid.
7. Wash tubes with 3 mL Working Wash solution (except total counts) and aspirate (or decant). Avoid foaming during the addition of the Working Wash solution.
8. Let the tubes stand upright for two minutes and aspirate the remaining drop of liquid.
9. Count tubes in a gamma counter for 60 seconds.

10 CALCULATION OF RESULTS

1. Calculate the mean of duplicate determinations.
2. Calculate the bound radioactivity as a percentage of the binding determined at the zero calibrator point (0) according to the following formula :

$$B/B_0 (\%) = \frac{\text{Counts (Calibrator or Sample)}}{\text{Counts (Zero Calibrator)}} \times 100$$

3. Using a 3 cycle semi-logarithmic or logit-log graph paper, plot the (B/B0(%)) values for each calibrator point as a function of the C-Peptide concentration of each calibrator point. Reject obvious outliers.
4. Computer assisted methods can also be used to construct the calibration curve. If automatic result processing is used, a 4-parameter logistic function curve fitting is recommended.
5. By interpolation of the sample (B/B0 (%)) values, determine the C-Peptide concentrations of the samples from the calibration curve.
6. For each assay, the percentage of total tracer bound in the absence of unlabelled C-Peptide (B0/T) must be checked.

11 TYPICAL DATA

The following data are for illustration only and should never be used instead of the real time calibration curve.

C-Peptide	cpm	B/Bo (%)
Total count	75295	
Calibrator 0.0 pmol/mL	17690	100.0
0.09 pmol/mL	14319	80.9
0.29 pmol/mL	11618	65.7
0.95 pmol/mL	6534	36.9
2.98 pmol/mL	3361	19.0
9.94 pmol/mL	1379	7.8

12 PERFORMANCE AND LIMITATIONS

12.1 Detection limit

Twenty zero calibrators were assayed along with a set of other calibrators.

The detection limit, defined as the apparent concentration two standard deviations below the average counts at zero binding, was 0.04 pmol/mL.

12.2 Specificity

The percentage of cross-reaction estimated by comparison of the concentration yielding a 50% inhibition are respectively:

Compound	Cross-Reactivity (%)
Biosynthetic human Proinsulin	5.6
Human Glucagon	-
Human Insulin	-

12.3 Precision

INTRA-ASSAY PRECISION				INTER-ASSAY PRECISION			
Serum	N	$\langle X \rangle \pm SD$ (pmol/mL)	CV (%)	Serum	N	$\langle X \rangle \pm SD$ (pmol/mL)	CV (%)
A	24	0.28 ± 0.03	10.7	A	21	0.28 ± 0.03	10.7
B	26	1.21 ± 0.04	3.3	B	21	1.12 ± 0.11	9.8
C	24	0.18 ± 0.01	5.6	C	22	0.17 ± 0.02	11.8
D	24	0.68 ± 0.04	5.9	D	22	0.65 ± 0.05	7.7
E	24	1.60 ± 0.11	6.9	E	22	1.68 ± 0.12	7.1

SD: Standard Deviation; CV: Coefficient of variation

12.4 Accuracy

DILUTION TEST

Sample	Dilution	Theoretical Concent. (pmol/mL)	Measured Concent. (pmol/mL)
Serum	1/1	-	6.99
	1/2	3.50	3.04
	1/4	1.75	1.56
	1/8	0.87	0.80
	1/16	0.44	0.46
	1/32	0.22	0.28
	1/64	0.11	0.07

Samples were diluted with zero calibrator.

RECOVERY TEST

Sample	added C-Peptide (pmol/mL)	Recovered C-Peptide (pmol/mL)	Recovered (%)
Serum	0.14	0.14	100
	0.17	0.19	112
	0.22	0.22	100
	0.39	0.44	113
	1.14	1.12	98
	3.14	3.02	96

Conversion factor :

From ng/mL to pmol/mL: 3

12.5 Time delay between last calibrator and sample dispensing

As shown hereafter, the dispensing of samples must be done within a maximum delay of 15 minutes after the calibrator dispensing.

TIME DELAY

Serum pmol/mL	0'	5'	10'	15'	20'	30'
C1	0.66	0.53	0.55	0.61	0.52	0.41
C2	2.27	2.14	2.58	1.90	1.79	2.07

13 INTERNAL QUALITY CONTROL

- If the results obtained for Control 1 and/or Control 2 are not within the range specified on the vial label, the results cannot be used unless a satisfactory explanation for the discrepancy has been given.
- If desirable, each laboratory can make its own pools of control samples, which should be kept frozen in aliquots.
- Acceptance criteria for the difference between the duplicate results of the samples should rely on Good Laboratory Practises.

14 REFERENCE INTERVALS

These values are given only for guidance; each laboratory should establish its own normal range of values.

In a group of 79 normal subjects, the mean human C-Peptide concentration found was 1.02 pmol/mL (range, based on 2.5% to 97.5% percentiles: 0.59 - 1.56 pmol/mL).

15 PRECAUTIONS AND WARNINGS

Safety

For in vitro diagnostic use only.

This kit contains ^{125}I (half-life: 60 days), emitting ionizing X (28 keV) and γ (35.5 keV) radiations.

This radioactive product can be transferred to and used only by authorized persons; purchase, storage, use and exchange of radioactive products are subject to the legislation of the end user's country. In no case the product must be administered to humans or animals.

All radioactive handling should be executed in a designated area, away from regular passage. A logbook for receipt and storage of radioactive materials must be kept in the lab. Laboratory equipment and glassware, which could be contaminated with radioactive substances, should be segregated to prevent cross contamination of different radioisotopes.

Any radioactive spills must be cleaned immediately in accordance with the radiation safety procedures. The radioactive waste must be disposed of following the local regulations and guidelines of the authorities holding jurisdiction over the laboratory. Adherence to the basic rules of radiation safety provides adequate protection.

The human blood components included in this kit have been tested by European approved and/or FDA approved methods and found negative for HbsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 and 2. No known method can offer complete assurance that human blood derivatives will not transmit hepatitis, AIDS or other infections. Therefore, handling of reagents, serum or plasma specimens should be in accordance with local safety procedures.

All animal products and derivatives have been collected from healthy animals. Bovine components originate from countries where BSE has not been reported. Nevertheless, components containing animal substances should be treated as potentially infectious.

Avoid any skin contact with reagents (sodium azide as preservative). Azide in this kit may react with lead and copper in the plumbing and in this way form highly explosive metal azides. During the washing step, flush the drain with a large amount of water to prevent azide build-up.

Do not smoke, drink, eat or apply cosmetics in the working area. Do not pipette by mouth. Use protective clothing and disposable gloves.

16 BIBLIOGRAPHY

1. BEISCHER, W. et al. (1976). **Human C-Peptide. Part I Radioimmunoassay.** Klin. Wschr. 54, 709.
2. BEISCHER, W. et al. (1976). **Human C-Peptide. Part II: Clinical studies.** Klin. Wschr. 54, 717.
3. BLIX, P.M. et al. (1982). **Urinary C-Peptide: an indicator of β-cell secretion under different metabolic conditions.** J. Clin. Endocrinol. Metab., 54/3, 574.
4. BONSER, A et al. (1984). **C-Peptide measurement: method and clinical utility.** CRC Critical Reviewvs in Clinical Laboratory Sciences, 19 297.
5. HORWITZ, D.L. et al. (1975). **Proinsulin, insulin and C-Peptide concentrations in human portal and peripheral blood.** J. Clin. Invest., 55, 1278.
6. RENDELL, M. (1983). **C-Peptide levels as a criterion in treatment of maturity onset diabetes.** J. Clin. Endocrinol. Metab., 57/6, 1198.
7. RUBENSTEIN, A.H. et al. (1977). **Clinical significance of circulating proinsulin and C-Peptide.** Rec. Prog. Horm. Res., 33, 435.
8. TROPEANO, G. et al. (1994). **Insulin, C-Peptide, androgens, and beta endorphin response to oral glucose in patients with polycystic ovary syndrome.** J. Clin. Endocrinol. Metab., 78/2, 305-9.
9. CONGEL, I. et al. (1993). **Effect of hyperlipidemia on plasma C-Peptide concentration during euglycemic hyperinsulinemic clamp.** Diabetes Res., 22/1, 41-8.
10. KREW, M.A. et al. (1994). **Relation of amniotic fluid C-Peptide levels to neonatal body composition.** Obstet. Gynecol., 84/1, 96-100.

17 SUMMARY OF THE PROTOCOL

	TOTAL COUNTS µL	CALIBRATORS µL	SAMPLE (S) CONTROLS µL
Calibrators (0 to 5) Samples, Controls Tracer	- - 50	100 - 50	- 100 50
Incubation	3 hours at room temperature		
Separation Working Wash solution Separation	-	Aspirate (or decant) 3.0 mL Aspirate (or decant)	
Counting	Count tubes for 60 seconds		

1 VERWENDUNGSZWECK

Ein Radio-Immunoassay für die quantitative in vitro Bestimmung von humanem C-Peptid in Serum.

2 KLINISCHER HINTERGRUND

2.1 Biologische Aktivität

Insulin wird in den Beta-Zellen der Langerhans-Inseln als ein Vorläufermolekül, Proinsulin, synthetisiert. In den Sekretgranula der Beta-Zellen wird Proinsulin in Insulin und in ein Peptid mit 31 Aminosäuren, das so genannte C-Peptid („Connecting Peptide“) gespalten. Insulin und C-Peptid werden in äquimolaren Mengen sezerniert. Wegen seiner längeren Halbwertszeit ist die Plasmakonzentration von C-Peptid jedoch höher als jene von Insulin.

Die Bestimmung von C-Peptid im Plasma ermöglicht eine Beurteilung der endogenen Insulinproduktion, auch bei Vorliegen exogener Insulinverabreichung oder in Anwesenheit zirkulierender Anti-Insulin-Antikörper.

Darüber hinaus bietet die Bestimmung von C-Peptid im Harn einen zuverlässigen Index der Insulinproduktion, wenn die Abnahme von Blutproben schwierig ist oder wenn eine integrierte Schätzung der Sekretion von C-Peptid über einen Zeitraum von mehreren Stunden erforderlich ist.

2.2 Klinische Anwendungen

- Beurteilung der Restfunktion der Beta-Zellen bei Diabetes unter Insulintherapie.
- Erkennung und Kontrolle der Remissionsphase von Typ-1-Diabetes.
- Zusatz in der Differenzialdiagnose zwischen Typ-1- (insulinabhängig) und Typ-2- (nicht insulinabhängig) Diabetes.
- Diagnose insulininduzierter artifizieller Hypoglykämie.
- Beitrag zur Diagnose von Insulinom (Insulin-Suppressionstest).
- Prognostischer Index der Wirkung auf den Fötus bei schwangeren Diabetikerinnen.
- Bewertung der Insulinsekretion bei Lebererkrankung.
- Kontrolle von Pankreatektomie.

3 GRUNDSÄTZLICHES ZUR DURCHFÜHRUNG

Eine festgesetzte Menge an ^{125}I -markiertem C-Peptid konkurriert mit dem zu messenden, in der Probe oder in dem Kalibrator vorhandenen C-Peptid um eine Menge an Antikörperbindungsstellen, die an der Wand des Polystyren-Röhrchens fixiert sind.

Weder Extraktions-, noch Vorbehandlungsschritt sind erforderlich, um C-Peptid in den Proben zu bestimmen.

Nach einer dreistündigen Inkubation bei Raumtemperatur, beendet das Absaugen die Verdrängungsreaktion. Die Röhrchen werden anschließend mit Waschlösung gewaschen, danach wird nochmals abgesaugt.

Eine Kalibrationskurve wird gedruckt und die C-Peptid-Konzentrationen der Proben werden über Dosis Interpolation der Kalibrationskurve bestimmt.

4 MITGELIEFERTE REAGENZIEN

	Reagenz	96 Test Kit	Rekonstitution
TUBES	Mit anti-C-Peptid beschichtete Röhrchen	2 x 48	gebrauchsfertig
Ag ¹²⁵I	Tracer : ¹²⁵ Iod-markiertes C-Peptid (HPLC grade) in Phosphatpuffer mit Rinderserumgelatine und Azid (<0,1%)	1 Gefäß lyophilisiert 175 kBq	6 mL dest. Wasser zugeben
CAL 0	Null-Kalibrator in Humanserum und Thymol	1 Gefäß lyophilisiert	3 mL dest. Wasser zugeben
CAL N	Kalibratoren C-Peptid: N = 1 bis 5 (genaue Werte auf Gefäß-Etiketten) in Humanserum und Thymol	5 Gefäße lyophilisiert	1 mL dest. Wasser zugeben
WASH SOLN CONC	Waschlösung (TRIS-HCl)	1 Gefäß 10 mL	70x mit dest. Wasser (Magnetrührer verwenden) verdünnen.
CONTROL N	Kontrollen : N = 1 oder 2 in Humanplasma und Thymol	2 Gefäße lyophilisiert	1 mL dest. Wasser zugeben

Bemerkung: 1. Benutzen Sie den Null-Kalibrator zur Probenverdünnung.
2. 1 ng der Standardzubereitung ist äquivalent zu 1 ng NIBSC IRR 13/146.

5 ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL

Folgendes Material wird benötigt, aber nicht mit dem Kit mitgeliefert:

1. Dest. Wasser
2. Pipetten: 50 µL, 100 µL und 1 mL (Verwendung von Präzisionspipetten mit Einwegpipettenspitzen wird empfohlen)
3. Einwegpolystyrenröhren (12 x 75 mm)
4. Vortexmixer
5. Magnetrührer
6. 5 mL automatische Spritze (Cornwall-Typ) zum Waschen
7. Absaugsystem (optional)
8. Jeder Gamma-Counter, der ¹²⁵I messen kann, kann verwendet werden. Maximale Messeffizienz sollte gewährleistet sein.

6 VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

A. Kalibratoren:

Rekonstituieren Sie den Nullstandard mit 3 mL dest. Wasser, die anderen Standards mit 1 mL dest. Wasser.

B. Kontrollen:

Rekonstituieren Sie die Kontrollen mit 1 mL dest. Wasser.

C. Tracer:

Rekonstituieren Sie den Tracer mit 6 mL dest. Wasser.

D. Waschlösung:

Zur Vorbereitung eines angemessenen Volumens nutzbarer Waschlösung, mischen Sie zu einem Volumen Waschlösung (70x) 69 Volumen destilliertes Wasser. Benutzen Sie einen Magnetrührer. Entsorgen Sie nach jedem Arbeitstag die überflüssige Waschlösung.

7 AUFBEWAHRUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

Vor dem Öffnen und Rekonstituieren sind alle Kitkomponenten bei 2 °C bis 8 °C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar.

Nach der Rekonstituierung muss der Tracer sofort benutzt, oder bis zum Verfallsdatum bei -20 °C aufbewahrt werden.

Nach der Rekonstituierung sind die Kalibratoren und Kontrollen sehr instabil, benutzen Sie sie deshalb sofort nach der Rekonstituierung. Werden sie aliquotiert und eingefroren, sind sie bei -20 °C 3 Monate haltbar.

Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.

Die Waschlösung sollte frisch hergestellt und am selben Tag aufgebraucht werden.

Veränderungen im Aussehen der Kitkomponenten können auf Instabilität bzw. Zerfall hindeuten.

8 PROBENSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG

Serumproben müssen bei 2 °C - 8 °C aufbewahrt werden.

Falls der Test nicht innerhalb von 8 Stunden durchgeführt wird, müssen die Proben bei -20 °C aufgehoben werden.

Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.

9 DURCHFÜHRUNG

9.1 Bemerkungen zur Durchführung

Verwenden Sie den Kit oder dessen Komponenten nicht nach dem Ablaufdatum. Vermischen Sie nie Materialien von unterschiedlichen Kit-Chargen. Bringen Sie alle Reagenzien vor der Verwendung auf Raumtemperatur.

Mischen Sie alle Reagenzien und Proben gründlich durch sanftes Schütteln oder Rühren. Verwenden Sie saubere Einwegpipettenspitzen, um Kreuzkontamination zu vermeiden.

Präzisionspipetten oder ein automatisches Pipettiersystem erhöhen die Präzision. Achten Sie auf die Einhaltung der Inkubationszeiten.

Erstellen Sie für jeden Durchlauf eine Kalibrationskurve, verwenden Sie nicht die Daten von früheren Durchläufen.

9.2 Durchführung

1. Beschriften Sie je 2 beschichtete Röhrchen für jeden Kalibrator, jede Probe und jede Kontrolle.
Zur Bestimmung der Gesamtaktivität, beschriften Sie 2 normale Röhrchen.
2. Vortexen Sie Kalibratoren, Proben und Kontrollen kurz und geben Sie 100 µL von jedem in ihre Röhrchen.
Dieser Schritt muss innerhalb von 15 Minuten abgeschlossen sein.
3. Geben Sie 50 µL des ¹²⁵Iod-markierten C-Peptid in jedes Röhrchen, einschließlich der unbeschichteten Röhrchen für die Gesamtaktivität.
4. Schütteln Sie vorsichtig die Halterung mit den Röhrchen um Blasen zu entfernen.
5. Inkubieren Sie 3 Stunden bei Raumtemperatur.
6. Saugen Sie den Inhalt jedes Röhrchens ab (außer Gesamtaktivität). Vergewissern Sie sich, dass die Plastikspitze des Absaugers den Boden des beschichteten Röhrchens erreicht, um die gesamte Flüssigkeit zu entfernen.
7. Waschen Sie die Röhrchen mit 3 mL Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab. Vermeiden Sie Schaumbildung bei Zugabe der Waschlösung.
8. Lassen Sie die Röhrchen 2 Minuten aufrecht stehen, und saugen Sie den verbleibenden Flüssigkeitstropfen ab.
9. Werten Sie die Röhrchen in einem Gamma-Counter über 60 Sekunden aus.

10 BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

1. Berechnen Sie den Durchschnitt aus den Doppelbestimmungen.
2. Berechnen Sie die gebundene Radioaktivität als Prozentsatz des am Null-Kalibratorpunkt (0) bestimmten Wertes nach folgender Formel:

$$B/B_0 (\%) = \frac{\text{Aktivität (Kalibrator oder Probe)}}{\text{Aktivität (Null-Kalibrator)}} \times 100$$

3. Verwenden Sie semi-logarithmisches oder doppelt-logarithmisches Millimeterpapier (über 3 Größenordnungen), tragen Sie die (B/B0(%))-Werte für jeden Kalibratorpunkt ein als Funktion der C-Peptid-Konzentration für jeden Kalibratorpunkt, schließen Sie offensichtliche „Ausreißer“ aus.
4. Computergestützte Methoden können ebenfalls zur Erstellung der Kalibrationskurve verwendet werden. Falls die Ergebnisberechnung mit dem Computer durchgeführt wird, empfehlen wir die Berechnung mit einer „4 Parameter“-Kurvenfunktion.
5. Bestimmen Sie die C-Peptid-Konzentrationen der Proben durch Interpolation der Probenwerte B/B0(%) aus der Referenzkurve.
6. Bei jedem Assay muss der Prozentsatz des gesamten gebundenen Tracers ohne unmarkiertes C-Peptid (B0/T) geprüft werden.

11 TYPISCHE WERTE

Die folgenden Daten dienen nur zu Demonstrationszwecken und können nicht als Ersatz für die Echtzeitkalibrationskurve verwendet werden.

C-Peptid	Cpm	B/Bo (%)
Gesamtaktivität	75295	
Kalibrator		
0,0 pmol/mL	17690	100,0
0,09 pmol/mL	14319	80,9
0,29 pmol/mL	11618	65,7
0,95 pmol/mL	6534	36,9
2,98 pmol/mL	3361	19,0
9,94 pmol/mL	1379	7,8

12 LEISTUNGSMERKMALE UND GRENZEN DER METHODIK

12.1 Nachweisgrenze

Zwanzig Null-Kalibratoren wurden zusammen mit einem Satz anderer Kalibratoren gemessen.

Die Nachweisgrenze, definiert als die scheinbare Konzentration bei zwei Standardabweichungen unterhalb des gemessenen Durchschnittswerts bei Nullbindung, entsprach 0,04 pmol/mL.

12.2 Spezifität

Der Prozentsatz der Kreuzreaktion, der im Vergleich der Konzentration geschätzt wurde, welche eine 50%ige Inhibition ergibt, beträgt respektive:

Substanz	Kreuzreakтивität (%)
Biosynthetisches humanes Proinsulin	5,6
Humanes Glukagon	-
Humaninsulin	-

12.3 Präzision

INTRA-ASSAY PRÄZISION				INTER-ASSAY PRÄZISION			
Serum	N	$\langle X \rangle \pm SD$ (pmol/mL)	CV (%)	Serum	N	$\langle X \rangle \pm SD$ (pmol/mL)	CV (%)
A	24	0,28 ± 0,03	10,7	A	21	0,28 ± 0,03	10,7
B	26	1,21 ± 0,04	3,3	B	21	1,12 ± 0,11	9,8
C	24	0,18 ± 0,01	5,6	C	22	0,17 ± 0,02	11,8
D	24	0,68 ± 0,04	5,9	D	22	0,65 ± 0,05	7,7
E	24	1,60 ± 0,11	6,9	E	22	1,68 ± 0,12	7,1

SD : Standardabweichung; CV: Variationskoeffizient

12.4 Genauigkeit

VERDÜNNUNGSTEST

Probe	Verdünnung	Theoretische Konzent. (pmol/mL)	Gemessene Konzent. (pmol/mL)
Serum	1/1	-	6,99
	1/2	3,50	3,04
	1/4	1,75	1,56
	1/8	0,87	0,80
	1/16	0,44	0,46
	1/32	0,22	0,28
	1/64	0,11	0,07

Die Proben wurden mit den Null-Kalibrator verdünnt.

WIEDERFINDUNGSTEST

Probe	Zugeg. C-Peptid (pmol/mL)	Wiedergef. C-Peptid (pmol/mL)	Wiedergefunden (%)
Serum	0,14	0,14	100
	0,17	0,19	112
	0,22	0,22	100
	0,39	0,44	113
	1,14	1,12	98
	3,14	3,02	96

Umrechnungsfaktor:

Von ng/mL in pmol/mL: 3

12.5 Zeitverzögerung zwischen letzter Kalibrator- und Probenzugabe

Wie im Folgenden gezeigt, muss die Probenzugabe innerhalb von höchstens 15 Minuten nach der Kalibratorzugabe erfolgen.

Zeitabstand

Serum pmol/mL	0'	5'	10'	15'	20'	30'
C1	0,66	0,53	0,55	0,61	0,52	0,41
C2	2,27	2,14	2,58	1,90	1,79	2,07

13 INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

- Entsprechen die Ist-Werte nicht den auf den Fläschchen angegebenen Soll-Werten, können diese Werte, ohne treffende Erklärung für die Abweichungen, nicht weiterverarbeitet werden.
- Falls zusätzliche Kontrollen erwünscht sind, kann jedes Labor seinen eigenen Pool herstellen, der in Aliquots eingefroren werden sollte.
- Akzeptanzkriterien für die Differenz zwischen den Resultaten der Wiederholungstests anhand der Proben müssen auf Guter Laborpraxis beruhen.

14 ZU ERWARTENDER BEREICH

Diese Werte sind nur Richtwerte; jedes Labor muss seinen eigenen Normalwertbereich ermitteln.

In einer Gruppe von 79 gesunden Personen wurde eine mittlere Konzentration von humanem C-Peptid von 1,02 pmol/mL festgestellt (Bereich basiert auf 2,5% bis 97,5% Perzentilen: 0,59 - 1,56 pmol/mL).

15 VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNUNGEN

Sicherheit

Nur für diagnostische Zwecke.

Dieser Kit enthält ¹²⁵I (Halbwertzeit: 60 Tagen), das ionisierende X (28 keV) und γ (35.5 keV) Strahlungen emittiert.

Dieses radioaktive Produkt kann nur an autorisierte Personen abgegeben und darf nur von diesen angewendet werden; Erwerb, Lagerung, Verwendung und Austausch radioaktiver Produkte sind Gegenstand der Gesetzgebung des Landes des jeweiligen Endverbrauchers. In keinem Fall darf das Produkt an Menschen oder Tieren angewendet werden.

Der Umgang mit radioaktiven Substanzen sollte fern von Durchgangsverkehr in einem speziell ausgewiesenen Bereich stattfinden. Ein Logbuch für Protokolle und Aufbewahrung muss im Labor sein. Die Laborausrüstung und die Glasbehälter, die mit radioaktiven Substanzen kontaminiert werden können, müssen ausgesondert werden, um Kreuzkontaminationen mit unterschiedlichen Radioisotopen zu verhindern.

Verschüttete radioaktive Substanzen müssen sofort den Sicherheitsbestimmungen entsprechend entfernt werden. Radioaktive Abfälle müssen entsprechend den lokalen Bestimmungen und Richtlinien der für das Labor zuständigen Behörden gelagert werden. Das Einhalten der Sicherheitsbestimmungen für den Umgang mit radioaktiven Substanzen gewährleistet ausreichenden Schutz.

Die menschlichen Blutkomponenten in diesem Kit wurden mit europäischen und in den USA erprobten FDA-Methoden getestet, sie waren negativ für HBsAg, anti-HCV und anti-HIV 1 und 2. Keine bekannte Methode kann jedoch vollkommene Sicherheit darüber liefern, dass menschliche Blutbestandteile nicht Hepatitis, AIDS oder andere Infektionen übertragen. Deshalb sollte der Umgang mit Reagenzien, Serum oder Plasmaproben in Übereinstimmung mit den Sicherheitsbestimmungen erfolgen.

Alle tierischen Produkte und deren Derivate wurden von gesunden Tieren gesammelt. Komponenten von Rindern stammen aus Ländern in denen BSE nicht nachgewiesen wurde. Trotzdem sollten Komponenten, die tierische Substanzen enthalten, als potentiell ansteckend behandelt werden.

Vermeiden Sie Hautkontakt mit den Reagenzien (Natriumazid als Konservierungsmittel). Das Azid in diesem Kit kann mit Blei oder Kupfer in den Abflussrohren reagieren und so hochexplosive Metallazide bilden. Spülen Sie während der Waschschrifte den Abfluss gründlich mit viel Wasser, um die Metallazidbildung zu verhindern.

Bitte rauchen, trinken, essen Sie nicht in Ihrem Arbeitsbereich, und verwenden Sie keine Kosmetika. Pipettieren Sie nicht mit dem Mund. Tragen Sie Schutzkleidung und Wegwerfhandschuhe.

16 LITERATUR

1. BEISCHER, W. et al. (1976). **Human C-Peptide. Part I Radioimmunoassay.** Klin. Wschr. 54, 709.
2. BEISCHER, W. et al. (1976). **Human C-Peptide. Part II: Clinical studies.** Klin. Wschr. 54, 717.
3. BLIX, P.M. et al. (1982). **Urinary C-Peptide: an indicator of β-cell secretion under different metabolic conditions.** J. Clin. Endocrinol. Metab., 54/3, 574.
4. BONSER, A et al. (1984). **C-Peptide measurement: method and clinical utility.** CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 19 297.
5. HORWITZ, D.L. et al. (1975). **Proinsulin, insulin and C-Peptide concentrations in human portal and peripheral blood.** J. Clin. Invest., 55, 1278.
6. RENDELL, M. (1983). **C-Peptide levels as a criterion in treatment of maturity onset diabetes.** J. Clin. Endocrinol. Metab., 57/6, 1198.
7. RUBENSTEIN, A.H. et al. (1977). **Clinical significance of circulating proinsulin and C-Peptide.** Rec. Prog. Horm. Res., 33, 435.
8. TROPEANO, G. et al. (1994). **Insulin, C-Peptide, androgens, and beta endorphin response to oral glucose in patients with polycystic ovary syndrome.** J. Clin. Endocrinol. Metab., 78/2, 305-9.
9. CONGEL, I. et al. (1993). **Effect of hyperlipidemia on plasma C-Peptide concentration during euglycemic hyperinsulinemic clamp.** Diabetes Res., 22/1, 41-8.
10. KREW, M.A. et al. (1994). **Relation of amniotic fluid C-Peptide levels to neonatal body composition.** Obstet. Gynecol., 84/1, 96-100.

17 ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS

	GESAMTAKTIVITÄT (µL)	KALIBRATOREN (µL)	PROBE(N) / KONTROLLEN (µL)
Kalibratoren (0 to 5) Proben, Kontrollen Tracer	- - 50	100 - 50	- 100 50
Inkubation	3 Stunden bei Raumtemperatur		
Separation Waschlösung Separation	absaugen 3,0 mL absaugen		
Auswertung	Messen der Röhrchen 60 Sekunden		

1 INSTRUCCIONES DE USO

Radioinmunoensayo para la determinación cuantitativa in vitro del Péptido-C humano en suero.

2 INFORMACIÓN CLÍNICA

2.1 Actividades biológicas

La insulina es sintetizada en las células beta de las islas de Langerhans como una molécula precursora, la proinsulina. En los gránulos secretorios de las células beta la proinsulina es escindida en insulina y en un peptido con 31 aminoácidos, el Peptido de Conexión o el Peptido-C. La insulina y el Peptido-C son segregados en cantidades equimolares. Sin embargo, la concentración en plasma del Peptido-C es más elevada que la concentración de la insulina por su media-vida más larga.

La determinación del Peptido-C en plasma permite una evaluación de la producción de insulina endógena, incluso en caso de administración de insulina exógena o en caso de presencia de anticuerpos anti-insulina circulantes.

Además, la determinación del Peptido-C en orina presenta un índice seguro para la producción de insulina si muestras sanguíneas se obtienen difícilmente o si una evaluación integrada de la secreción del Peptido-C durante un período de unas horas es necesaria.

2.2 Aplicaciones clínicas

- Evaluación de la función de las células beta residual en diabéticos bajo tratamiento con insulina
- Detección y observación de la fase de remisión de las diabetes tipo I
- Medio auxiliar para el diagnóstico diferencial entre las diabetes tipo I (dependiente de la insulina) y tipo II (no dependiente de la insulina)
- Diagnóstico de la hipoglicemia facticia inducida por la insulina
- Contribución al diagnóstico de la insulinoma (test de supresión de la insulina)
- Índice de prognosis para el resultado fetal en mujeres diabéticas embarazadas
- Evaluación de la secreción de insulina en caso de enfermedad del hígado
- Observación de la pancreatectomía

3 PRINCIPIOS DEL MÉTODO

Una cantidad fija de C peptide marcada con I^{125} compite con el C peptide a medir, presente en la muestra ó en el calibrador, por los puntos de unión del anticuerpo inmovilizado en las paredes de un tubo de poliestireno. No se requiere ni extracción ni cromatografía. Después de 3 horas de incubación a T.A., una aspiración termina con la reacción de competición. Los tubos se lavan con 3 mL de Solución de lavado y se aspiran otra vez.

Se dibuja la curva de calibración y las concentraciones de C peptide de las muestras se determinan por interpolación de la dosis en la curva de calibración.

4 REACTIVOS SUMINISTRADOS

	Reactivos	Kit 96 test	Reconstitución
TUBES		2 x 48	Listo para uso
Ag I^{125}	TRAZADOR: C peptide marcado con I^{125} (grado HPLC) en tampón fosfático con gelatina bovina y azida (<0,1%)	1 vial liofilizado 175 kBq	Añadir 6 mL de agua destilada
CAL 0	Calibrador cero en suero humano y thymol	1 vial liofilizado	Añadir 3 mL de agua destilada
CAL N	Calibradores C peptide - N = 1 al 5 (mirar los valores exactos en las etiquetas) en suero humano y thymol	5 viales liofilizados	Añadir 1 mL de agua destilada
WASH SOLN CONC	Solución de lavado (TRIS-HCl)	1 vial 10 mL	Diluir 70 x con agua destilada (utilizar agitador magnético)
CONTROL N	Controles - N = 1 o 2 en plasma humano y thymol	2 viales liofilizados	Añadir 1 mL de agua destilada

Nota: 1. Para diluciones de muestras utilizar estandar cero.
2. 1 ng de la preparación del calibrador es equivalente a 1 ng NIBSC IRR 13/146.

5 MATERIAL NO SUMINISTRADO

El material mencionado a continuación es necesario y no esta incluido en el kit

1. Agua destilada
2. Pipetas de 50 µL, 100 µL y 1 mL (Se recomienda el uso de pipetas precisas con puntas desechables de plástico)
3. Tubos de polistireno desechables (12 x 75 mm)
4. Vortex
5. Agitador magnético
6. Jeringa automática 5 mL (tipo Cornwall) para el lavado
7. Sistema de aspiración (opcional)
8. Contador de radiaciones gamma para medir I¹²⁵ (mínima eficiencia 70%)

6 PREPARACIÓN REACTIVOS

A. Calibradores:

Reconstituir el calibrador cero con 3 mL de agua destilada y otros calibradores con 1 mL de agua destilada.

B. Controles:

Reconstituir los controles con 1 mL de agua destilada.

C. Trazador:

Reconstituir el trazador con 6 mL de agua destilada.

D. Solución de lavado de trabajo:

Preparar el volumen necesario de Solución de lavado de trabajo mezclando 69 partes de agua destilada por 1 parte de Solución de lavado (70x). Utilizar un agitador magnético para homogeneizar. Desechar la solución de lavado de trabajo no utilizada al final del día.

7 ALMACENAJE Y CADUCIDADES DE LOS REACTIVOS

Antes de abrir ó reconstituir todos los componentes de los kits son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, si se guardan a 2 °C - 8 °C.

Dopo ricostituzione, il tracciante deve essere usato immediatamente o conservato a -20 °C fino alla data di scadenza.

Dopo ricostituzione, i calibratori e i controlli sono molto instabili, utilizzarli immediatamente dopo la ricostituzione.

Congelar inmediatamente en alicuotas y guardar a -20 °C durante 3 meses.

Evitar congelar y descongelar sucesivamente.

La solución de lavado de trabajo recién preparada solo debe utilizarse en el mismo día.

Las alteraciones de los reactivos en el aspecto físico pueden indicar inestabilidad ó deterioro.

8 RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

- Las muestras de suero deben ser guardadas a 2 °C - 8 °C.
- Si el ensayo no se realiza en 8 hrs., almacenar las muestras a -20 °C.
- Evitar congelar y descongelar sucesivamente.

9 PROTOCOLO

9.1 Notas de manejo

No utilizar el kit ó componentes después de la fecha de caducidad. No mezclar reactivos de diferente numero de lote. Llevar todos los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso.

Agitar municiosamente todos los reactivos y muestras, agitándolos o girándolos suavemente. Con el fin de evitar ninguna contaminación utilizar puntas de pipetas desechables y limpias para la adición de cada reactivo y muestra.

El uso de pipetas de precisión ó equipamiento de dispensación automática mejorara la precisión. Respetar los tiempos de incubación.

Preparar la curva de calibración en cada ensayo, no utilizar los datos de un ensayo previo.

9.2 Protocolo

1. Marcar los tubos recubiertos por duplicado para cada uno de los estándares, muestras y controles. Para la determinación de las Cuentas Totales, marcar 2 tubos normales.
2. Agitar brevemente los calibradores, muestras y controles y dispensar 100 µL de cada uno en sus respectivos tubos. **Esta operación debe ser terminada en menos de 15 minutos.**
3. Dispensar 50 µL de C peptideE marcado con I¹²⁵ en cada tubo, incluyendo los tubos descubiertos a las Cuentas Totales.
4. Agitar suavemente la gradilla de tubos para soltar cualquier burbuja cautiva de las paredes de los tubos.
5. Incubar durante 3 horas a T.A.
6. Aspirar el contenido de cada tubo (excepto los de Cuentas Totales). Asegurarse que la punta de la pipeta de aspiración toca el fondo del tubo con el fin de aspirar todo el líquido.
7. Lavar los tubos con 3 mL de Solución de lavado de trabajo (excepto los de Cuentas Totales) y aspirar. Evitar la formación de espuma durante la adición de la Solución de lavado
8. Dejar los tubos en posición inversa durante 2 minutos y aspirar el líquido restante.
9. Medir la actividad de cada tubo durante 60 segundos en un Contador Gamma.

10 CALCULO DE RESULTADOS

1. Calcular la media de los duplicados.
2. Calcular la radiactividad enlazada como un porcentaje de la unión con respecto al calibrador cero (0) de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$B/B_0 (\%) = \frac{\text{Cuentas (Calibrador ó muestra)}}{\text{Cuentas (Calibrador Cero)}} \times 100$$

3. Utilizando papel 3 ciclo semilogarítmico ó logit-log, representar los valores de (B/B₀) de cada calibrador frente a las contracciones del C peptide de cada calibrador, rechazando los extremos claros
Métodos computarizados de computación de resultados pueden ser utilizados para la construcción de la curva de calibración. Si se utiliza un sistema automático de cálculo de resultados, se recomienda usar la representación gráfica "4 parámetros".
4. Por interpolación de los valores (B/B%) de las muestras, se determinan los valores de las concentraciones de las mismas desde la curva de calibración.
5. El porcentaje total de enlace del trazador en ausencia de C peptide no marcado (B₀/T) debe ser calculado en cada ensayo.

11 EJEMPLO DE RESULTADOS

Los datos mostrados a continuación sirven como ejemplo y nunca deberán ser usados como una calibración real.

C-Peptide	cpm	B/B ₀ (%)
Cuentas Totales	75295	
Calibrador 0,0 pmol/mL	17690	100,0
0,09 pmol/mL	14319	80,9
0,29 pmol/mL	11618	65,7
0,95 pmol/mL	6534	36,9
2,98 pmol/mL	3361	19,0
9,94 pmol/mL	1379	7,8

12 REALIZACIÓN Y LIMITACIONES

12.1 Límite de detección

Veinte calibradores cero fueron medidos en una curva con otros calibradores.

El límite de detección, definido como la concentración aparente resultante de dos desviaciones estándares debajo de la media de enlace del calibrador cero, fue de 0,04 pmol/mL.

12.2 Especificidad

El porcentaje de reacción cruzada estimada por la comparación de la concentración (indicando una inhibición de 50 %) es respectivamente :

Componente	Reacción-cruzada (%)
Proinsulina Biosintética humana	5,6
Glucagón humano	-
Insulina humana	-

12.3 Precision

PRECISION INTRA-ENSAYO				PRECISION INTER-ENSAYO			
Suero	N	$\langle X \rangle \pm SD$ (pmol/mL)	CV (%)	Suero	N	$\langle X \rangle \pm SD$ (pmol/mL)	CV (%)
A	24	0.28 ± 0.03	10.7	A	21	0.28 ± 0.03	10.7
B	26	1.21 ± 0.04	3.3	B	21	1.12 ± 0.11	9.8
C	24	0.18 ± 0.01	5.6	C	22	0.17 ± 0.02	11.8
D	24	0.68 ± 0.04	5.9	D	22	0.65 ± 0.05	7.7
E	24	1.60 ± 0.11	6.9	E	22	1.68 ± 0.12	7.1

SD : Desviación Estándar; CV: Coeficiente de Variación

12.4 Exactitud

TEST DILUCIÓN

Muestra	Dilución	Concent. Teórica (pmol/mL)	Concent. Medida (pmol/mL)
suero	1/1	-	6,99
	1/2	3,50	3,04
	1/4	1,75	1,56
	1/8	0,87	0,80
	1/16	0,44	0,46
	1/32	0,22	0,28
	1/64	0,11	0,07

Las muestras fueron diluidas con el calibrador cero.

TEST DE RECUPERACIÓN

Muestra	C peptide añadido (pmol/mL)	C peptide Recuperado (pmol/mL)	Recuperado (%)
suero	0.14	0.14	100
	0.17	0.19	112
	0.22	0.22	100
	0.39	0.44	113
	1.14	1.12	98
	3.14	3.02	96

Factor de conversión :

De ng/mL a pmol/mL : 3

12.5 Tiempo de espera entre la dispensación del último calibrador y la de la muestra

Como indicado más abajo, la dispensación de las muestras debe ser terminada en menos de 15 minutos después de la dispensación del calibrador.

TIEMPO DE ESPERA

Suero pmol/mL	0'	5'	10'	15'	20'	30'
C1	0,66	0,53	0,55	0,61	0,52	0,41
C2	2,27	2,14	2,58	1,90	1,79	2,07

13 CONTROL DE CALIDAD INTERNO

Si los resultados obtenidos para el Control 1 y/o Control 2 no están dentro del rango especificado en la etiqueta del vial, los resultados obtenidos no podrán ser utilizados a no ser que se pueda dar una explicación convincente de dicha discrepancia

Si es conveniente, - cada laboratorio puede utilizar sus propios pools de controles, lo cuales se guardan en alícuotas congeladas.

Los criterios de aceptación de la diferencia entre los resultados in duplo de las muestras se apoyan en las prácticas de laboratorio corrientes.

14 INTERVALOS DE REFERENCIA

Estos valores solamente sirven de pauta; cada laboratorio tiene que establecer sus propios valores normales.

En un grupo de 79 individuos normales, la concentración mediana del péptido C humano fue 1,02 pmol/mL (alcance basado en percentilos de 2,5% a 97,5%:0,59 - 1,56 pmol/mL).

15 PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Seguridad

Para uso solo en diagnóstico in vitro.

Este kit contiene I¹²⁵ (vida media : 60 días) emisor de rayos X (28 keV) y de rayos γ (35.5 keV) ionizantes.

Este producto radiactivo solo puede ser manejado y utilizado por personas autorizadas; la compra, almacenaje, uso y cambio de productos radiactivos están sujetos a la legislación del país del usuario. En ningún caso el producto deberá ser suministrado a humanos y animales.

Todo el manejo de producto radiactivo se hará en una área señalizada, diferente de la de paso regular. Deberá de utilizarse un libro de registros de productos radiactivos utilizados. El material de laboratorio, vidrio que podría estar contaminado radiactivamente deberá de descontaminarse para evitar la contaminación con otros isótopos.

Cualquier derramamiento radiactivo deberá ser limpiado de inmediato de acuerdo con los procedimientos de seguridad. Los desperdicios radiactivos deberán ser almacenados de acuerdo con las regulaciones y normativas vigentes de la legislación a la cual pertenezca el laboratorio. El ajustarse a las normas básicas de seguridad radiológica facilita una protección adecuada.

Los componentes de sangre humana utilizados en este kit han sido testados por métodos aprobados por la CEE y/o la FDA dando negativo a HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 y 2. No se conoce ningún método que asegure que los derivados de la sangre humana no transmitan hepatitis, SIDA ó otras infecciones. Por lo tanto el manejo de los reactivos y muestras se hará de acuerdo con los procedimientos de seguridad locales.

Todos los productos animales y derivados han sido obtenidos a partir de animales sanos. Componentes bovinos originales de países donde BSE no ha sido informado. Sin embargo, los componentes contenido substancias animales deberán ser consideradas como potencialmente infecciosas.

Evitar cualquier contacto de los reactivos con la piel (azida sódica como conservante). La azida en este kit puede reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías y producir azidas metálicas altamente explosivas. Durante el proceso de lavado, hacer circular mucha cantidad de agua por el sumidero para evitar el almacenamiento de la azida.

No fumar, beber, comer ó utilizar cosméticos en el área de trabajo. No pipetejar con la boca. Utilizar ropa de protección y guantes.

16 BIBLIOGRAFIA

1. BEISCHER, W. et al. (1976). **Human C-Peptide. Part I Radioimmunoassay.** Klin. Wschr. 54, 709.
2. BEISCHER, W. et al. (1976). **Human C-Peptide. Part II: Clinical studies.** Klin. Wschr. 54, 717.
3. BLIX, P.M. et al. (1982). **Urinary C-Peptide: an indicator of β-cell secretion under different metabolic conditions.** J. Clin. Endocrinol. Metab., 54/3, 574.
4. BONSER, A et al. (1984). **C-Peptide measurement: method and clinical utility.** CRC Critical Review in Clinical Laboratory Sciences, 19 297.
5. HORWITZ, D.L. et al. (1975). **Proinsulin, insulin and C-Peptide concentrations in human portal and peripheral blood.** J. Clin. Invest., 55, 1278.
6. RENDELL, M. (1983). **C-Peptide levels as a criterion in treatment of maturity onset diabetes.** J. Clin. Endocrinol. Metab., 57/6, 1198.
7. RUBENSTEIN, A.H. et al. (1977). **Clinical significance of circulating proinsulin and C-Peptide.** Rec. Prog. Horm. Res., 33, 435.
8. TROPEANO, G. et al. (1994). **Insulin, C-Peptide, androgens, and beta endorphin response to oral glucose in patients with polycystic ovary syndrome.** J. Clin. Endocrinol. Metab., 78/2, 305-9.
9. CONGEL, I. et al. (1993). **Effect of hyperlipidemia on plasma C-Peptide concentration during euglycemic hyperinsulinemic clamp.** Diabetes Res., 22/1, 41-8.
10. KREW, M.A. et al. (1994). **Relation of amniotic fluid C-Peptide levels to neonatal body composition.** Obstet. Gynecol., 84/1, 96-100.

17 RESUMEN DEL PROTOCOLO

	CUENTAS TOTALES (μL)	CALIBRADORES (μL)	MUESTRA(S) CONTROL(S) (μL)
Calibradores (0 al 5)	-	100	-
Muestras, controles	-	-	100
Trazador	50	50	50
Incubación	3 horas a T.A.		
Separación	-	aspirar	
Solución de lavado de trabajo	-	3,0 mL	
Separación	-	aspirar	
Contaje	Contar los tubos durante 60 segundos		

SYMBOLS USED

Symbol	English	Deutsch	Italiano	Español	Français
	European Conformity	CE-Konformitäts-kennzeichnung	Conformità europea	Conformidad europea	Conformité normes européennes
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consultare le istruzioni per l'uso	Consulte las instrucciones de uso	Consulter les instructions d'utilisation
	In vitro diagnostic medical device	In-vitro-Diagnostikum	Dispositivo medico-diagnóstico in vitro	Producto sanitario para diagnóstico In vitro	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Catalogue number	Katalognummer	Numero di Catalogo	Número de catálogo	Référence de catalogue
	Batch code	Chargenbezeichnung	Codice del lotto	Código de lote	Numéro de lot
	Contains sufficient for <n> tests	Ausreichend für <n> Prüfungen	Contenuto sufficiente per "n" saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenu suffisant pour "n" tests
	Temperature limit	Temperaturgrenzwerte	Temperatura di conservazione	Temperatura de conservación	Température de conservation
	Use-by date	Verwendbar bis	Utilizzare prima del	Establa hasta	Utiliser jusque
	Manufacturer	Hersteller	Fabbricante	Fabricante	Fabricant
	Distributor *	Vertriebspartner *	Distributore	Distribuidor	Distributeur
	Date of manufacture	Herstellungsdatum	Data di produzione	Fecha de fabricación	Date de production
	Biological risks	Biologische Risiken	Rischi biologici	Riesgos biológicos	Risques biologiques
	Caution	Achtung	Attenzione	Precaución	Attention
	Unique device Identifier	eindeutige Produktidentifizierung			
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Solo a scopo di ricerca	Sólo para uso en investigación	Seulement dans le cadre de recherches
<i>Content</i>	Content	Inhalt	Contenuto	Contenido	Contenu
<i>Volume/No.</i>	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Quantità	Volumen/Número	Volume/Quantité