

**РК-84СТ CE210401**  
**Набор чС-пептид [<sup>125</sup>I] IRMA**  
(Номер: РК-84СТ)

Система С-ПЕПТИД [<sup>125</sup>I] IRMA позволяет проводить прямое количественное определение С-пептида в сыворотке и моче человека. Количественное определение С-пептида может проводиться в диапазонах 0-30 нг/мл (человеческая сыворотка) и 0-300 нг/мл (моча), при этом используются образцы сыворотки объемом 50 мкл. Каждый набор содержит материалы для 100 пробирок для количественного определения, что позволяет построить одну стандартную кривую и выполнить количественное определение 42 неизвестных образцов в двух экземплярах.

### Введение

С-пептид (соединительный пептид) представляет собой полипептид с молекулярной массой 3600, который содержит 31 аминокислоту. Его предшественником является проинсулин, который вырабатывается в бета-клетках поджелудочной железы. Проинсулин превращается с инсулин и С-пептид, которые затем в эквиволярных количествах секретируются в воротную вену (портальную кровь). В отличие от инсулина, С-пептид не задерживается в печени и попадает в системный круг кровообращения. При выставлении диагноза диабета С-пептид является более достоверным показателем секреции инсулина, чем сам инсулин. Кроме того, на концентрацию С-пептида не оказывает влияние наличие антител к инсулину, которые часто присутствуют у пациентов, получающих инсулин. Оценка остаточной эндогенной секреции инсулина путем определения уровня С-пептида является обязательной составляющей в диагностике и лечении сахарного диабета.

### Принцип метода

Технология, применяемая в системе иммунорадиометрического количественного определения (IRMA) подразумевает использование двух высокоафинных моноклональных антител. Сигнальное антитело, меченое <sup>125</sup>I, связывается с эпитопом молекулы С-пептида, которая отличается от молекулы, которая распознается немеченым захватывающим антителом. Два указанных антитела одновременно реагируют с антигеном, который содержится в стандартах и образцах сыворотки крови, что приводит к образованию комплекса захватывающее антитело – антиген – сигнальное антитело, который также называется «сэндвич».

Во время периода инкубации продолжительностью 3 часа, который сопровождается непрерывным перемешиванием, иммунный комплекс иммобилизуется на реакционной поверхности пробирок. Затем реакционная смесь сливается, пробирки тщательно промываются с последующим определением радиоактивности в гамма-счетчике. Концентрация антигена прямо пропорциональна уровню радиоактивности в пробирках. Путем построения калибровочной кривой, в которой отражаются полученные значения в сравнении с серией стандартных сывороток, содержащих известное количество С-пептида, может быть определена искомая концентрация С-пептида в образцах сыворотки крови пациента.

### Содержимое набора

- 1 флакон МЕТКИ, 21 мл, готовой к использованию. Содержит менее 740 кБк анти-С-пептида, меченного <sup>125</sup>I, и анти-С-пептида, меченного биотином, в буфер-содержащих белках, 0,1% азиде натрия, красной окраски.
- 6 флаконов СТАНДАРТОВ (S0-S5), S0 готовых к использованию. 2,5 мл, бычья сыворотка, содержащая 0,1% NaN<sub>3</sub>. (S1-S5) лиофилизированной. 0,5 мл, человеческая сыворотка, содержащая 0,1% NaN<sub>3</sub>. Конц.: 0, 0,25, 0,9, 3, 9, 30 нг/мл.
- 1 флакон КОНТРОЛЬНОЙ СЫВОРОТКИ, лиофилизированной. 0,5 мл человеческой сыворотки, содержащей 0,1% NaN<sub>3</sub>. Концентрация контрольной сыворотки указана в прилагаемом сертификате качества.
- 2 упаковки ПРОБИРОК С ПОКРЫТИЕМ, готовых к использованию. 2х50 пластиковых пробирок, покрытых стрептавидином.
- 1 флакон КОНЦЕНТРАТА ПРОМЫВОЧНОГО БУФЕРА, 20 мл, с 0,2% NaN<sub>3</sub>. Перед использованием развести в 700 мл дистиллированной воды. Сертификат качества Листок-вкладыш

### Необходимые материалы, инструменты и оборудование

Штатив для пробирок, высокоточные пипетки с одноразовыми наконечниками на 20 мкл (при выполнении количественного определения мочи), 50 мкл, 200 мкл, 1,5 мл, шейкер, полимерная пленка, абсорбирующая ткань, гамма-счетчик.

### Рекомендуемые инструменты и оборудование

Пипетки для серийных впрыскиваний, диспенсер с резервуаром (вместо пипетки объемом 1,5 мл)

### Сбор и хранение образцов

Образцы сыворотки могут быть приготовлены согласно общепринятым методикам, которые рутинно используются в клинической лабораторной практике. Если исследование проводится в течение 24 часов, образцы могут храниться при температуре от 2°C до 8°C. В иных случаях аликвоты должны приготавливаться и храниться в условиях глубокого замораживания (-20°C). Запрещается хранить образцы сыворотки более 2 месяцев. Запрещается использовать липемичные, гемолизированные и мутные образцы. Перед использованием замороженные образцы должны быть разморожены и тщательно перемешаны. Необходимо избегать повторного замораживания и размораживания образцов. При 24-часовом сборе мочи ее необходимо сразу же замораживать и затем объединять со следующими порциями, собранными в течение дня. Запрещается хранить образцы мочи более 2 месяцев. Для проведения количественного определения образцы мочи необходимо разморозить, тщательно перемешать и развести в 10 раз. Развести 20 мкл мочи в 180 мкл нулевого стандарта.

### Приготовление и хранение реактивов

После открывания хранить реактивы при температуре от 2°C до 8°C. При такой температуре каждый реактив (за исключением восстановленного стандарта и контроля) остается стабильным до окончания срока годности. Фактический срок годности указан на этикетке упаковки и в сертификате качества. Добавить 0,5 мл дистиллированной воды к лиофилизированному стандарту и контрольной сыворотке, аккуратно перемешать раствор путем встряхивания и круговых движений (необходимо избегать образования пены). Убедиться в том, что содержимое полностью растворилось, после чего дать раствору уравновеситься при комнатной температуре в течение как минимум 20 минут. При необходимости повторного использования остаток реагента может храниться в течение двух месяцев при температуре -20°C. Не рекомендуется использовать один и тот же флакон со стандартом более чем для двух циклов замораживания-размораживания. Добавить концентрат промывочного буфера в 700 мл дистиллированной воды. Разбавленный раствор может храниться до окончания срока годности набора при температуре от 2°C до 8°C.

**ВНИМАНИЕ!** Необходимо уравновесить все реактивы и образцы сыворотки до комнатной температуры. Перед использованием тщательно перемешать все реактивы и образцы. Избегать чрезмерного пенообразования.

## Процедура количественного определения

(Краткое описание)

1. Промаркировать в двух экземплярах пробирки с покрытием для каждого стандарта (S0-S5), контрольной сыворотки (C) и образцов (P). Также можно промаркировать еще две опытные пробирки для общего счета (T).
2. С помощью пипетки поместить по **50 мкл СТАНДАРТА (S0-S5), КОНТРОЛЯ (C) и ОБРАЗЦОВ (P)** в надлежащим образом промаркированные пробирки.
3. С помощью пипетки поместить по **200 мкл МЕТКИ** в каждую пробирку.
4. Аккуратно перемешать содержимое пробирок с помощью круговых движений. Запечатать все пробирки пластиковой пленкой. Если были приготовлены дополнительные пробирки для общего счета, поместить их отдельно от остальных.
5. Прочно зафиксировать штатив с опытными пробирками на тарелке шейкера. Включить шейкер и настроить необходимую скорость с тем, чтобы в каждой пробирке жидкость постоянно вращалась и перемешивалась. Инкубировать пробирки в течение 3 часов при комнатной температуре. (Примечание: эффективное вращение является критически важным фактором для правильного проведения исследования. Неравномерное или неполное встряхивание может привести к получению серьезных ошибок. Никогда не используйте штатив с открытым отверстием).
6. Добавить в каждую пробирку по 1.5 мл разбавленного промывного буфера. Слить супернатант из всех пробирок путем переворачивания штатива. На 2 минуты поместить штатив на фильтровальную бумагу в перевернутом состоянии.
7. Повторить Этап 6.
8. Повторить Этап 6. (Третий этап промывания может не проводиться. См. ниже примечание к данному аспекту.)
9. Рассчитать радиоактивность каждой пробирки в гамма-счетчике в течение как минимум 60 секунд.

## Расчет результатов

Рассчитать среднее значение СРМ для каждой пары пробирок для количественного определения. Построить стандартную кривую путем нанесения на график средних значений СРМ для каждого стандартного уровня (ордината) против соответствующей концентрации, за исключением 0 стандарта (абсцисса) с использованием логарифмической миллиметровой бумаги.

Получить концентрации для образцов путем интерполяции их счетов на стандартную кривую.

Для проведения компьютерных расчетов и/или оценки качества используются нормализованные значения специфического связывания, а не величины срм. Значения специфического связывания могут быть рассчитаны для каждого стандарта и образца с использованием следующей формулы:

$$B/T(\%) = \frac{S_{1-5} / C / P (\text{срм}) - S_0 (\text{срм})}{T(\text{срм})} \times 100$$

**Таблица 1. Протокол количественного определения, методика введения**  
(все объемы представлены в микролитрах)

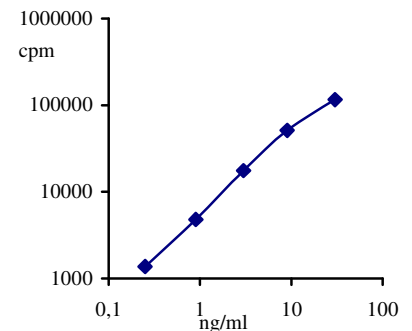
	T	S0-S5	C	P
Стандарт		50		
Контроль			50	
Образцы				50
Метка	200	200	200	200
Перемешивать в течение 3 часов при комнатной температуре				
Промывочный буфер		1500	1500	1500
Слить жидкость и поставить штатив на фильтровальную бумагу				
Промывочный буфер		1500	1500	1500
Слить жидкость и поставить штатив на фильтровальную бумагу				
Промывочный буфер		1500	1500	1500
Слить жидкость и поставить штатив на фильтровальную бумагу				
Рассчитать радиоактивность (60 сек/пробирка)				
Подсчитать результаты				

## Типичные данные количественного определения

Пробирки	Счет срм	Среднее значение срм	ВоТ %	нг/мл
T	273835 274213	274024		
S0	74 68	71	0.00	
S1	1363 1378	1370	0.47	
S2	4744 4815	4780	1.72	
S3	17158 18023	17591	6.39	

S4	50937 53632	52285	19.05	
S5	115771 118580	117176	42.74	
C	27956 26006	26981		4.5

## Типичная стандартная кривая



## Характеристика количественного определения

Рабочие параметры определялись в идеальных экспериментальных условиях с использованием свежих меток и протокола, предусматривающего 3 этапа промывания. Использование 2 этапов промывания влияет лишь на аналитическую чувствительность.

## Калибровка

Производилась калибровка стандартов к Международному стандарту ВОЗ, Код 84/510

## Параметры количественного определения

NSB/T < 0.05% (< 0.08% при использовании 2 этапов промывания)  
V<sub>макс</sub>/T > 35%

## Аналитическая чувствительность

Аналитическая чувствительность составляла 0.0056 нг/мл (0.0186 при использовании 2 этапов промывания). Под аналитической чувствительностью понимается концентрация С-пептида, эквивалентная среднему значению СРМ, полученному для 20 копий нулевого стандарта.

## Функциональная чувствительность

Значение функциональной чувствительности составляет 0.105 нг/мл. Под функциональной чувствительностью понимается значение, экстраполированное к 20% неточного профиля между количественными определениями, который был получен в 10 независимых сериях исследований образцов пациентов с низкими эндогенными концентрациями С-пептида.

## Эффект крючка

При концентрациях С-пептида до 90 нг/мл высокодозный «эффект крючка» отсутствует.

## Специфичность

Под перекрестной реактивностью понимается отношение масс перекрестно реагирующих веществ и С-пептида, причем указанные вещества должны обладать схожими показателями связывания.

Основываясь на значении соотношения проинсулин/инсулин в физиологических условиях (приблизительно 5%), величина потенциальной ошибки, обусловленная проинсулином, должна составлять менее 2-4%.

Перекрестно реагирующее вещество	% перекрестной реакции
Человеческий инсулин	< 0.04
Проинсулин	27.1

## Точность и воспроизводимость

Для определения точности в ходе количественного определения и между количественными определениями было проведено исследование 7 образцов в 20 повторях в 1 серии, а также в двойном экземпляре в 12 сериях. Ниже представлены полученные значения:

В ходе количественного определения		Между количественными определениями	
Среднее значение (нг/мл)	CV %	Среднее значение (нг/мл)	CV %
0.52	4.87	0.52	3.31
1.55	2.12	1.41	4.65
2.33	5.03	3.03	4.07
3.81	3.56	3.10	5.88
5.64	2.09	4.36	2.28
7.57	5.09	6.57	3.25
23.46	4.04	11.96	3.96

## Восстановление

Под восстановлением понималось зафиксированное увеличение, выраженное в процентах от ожидаемого роста пиков в образцах сыворотки крови с известным количеством С-пептида. Для 9 образцов сыворотки крови с С-пептидом на 3 уровнях было получено следующее значение:  $97.2 \pm 8.5\%$ .

## Тест разведения

Исследование 4 образцов проводилось в серии разведений (2, 4, 8, 16-кратное) с нулевым стандартом. Приведенная ниже формула, полученная для измеренной (Y) концентрации против ожидаемой (X), указывает на хорошую линейность:  $y = 1.014x - 0.011$   $R = 0.9973$ ,  $n = 16$

## Ожидаемые значения

Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория устанавливала собственные диапазоны эталонных значений.

утренние сыворотки от здоровых доноров натощак (N = 27)  $1,77 \pm 0,62$  нг / мл (мин. 1,07– макс. 3,51 нг / мл) - суточные сыворотки от здоровых доноров (N = 71)  $4,88 \pm 2,6$  нг / мл (мин. 1,37– макс. 11,8 нг / мл) -утренняя моча, натощак здоровых доноров (N = 29)  $35,8$   $19,2$  нг / мл (мин. 2,72 - макс. 78,3 нг / мл) .

Полученные результаты должны интерпретироваться только в контексте общей клинической картины. Ни один из наборов для диагностики *in vitro* не может использоваться как самостоятельное и единственное доказательство наличия какого-либо заболевания или расстройства.

## Преобразование единиц

1 нмоль/л = 3.617 нг/мл

1 нг/мл = 0.276 нмоль/л

## Дополнительная информация

Не следует смешивать или заменять компоненты из различных партий или из наборов разных производителей.

## Меры предосторожности

### Радиоактивность

Данный продукт содержит радиоактивный материал. Пользователь несет ответственность за соблюдение местных законов и правил по использованию радиоактивных материалов.

### Биологическая опасность

Продукты человеческой крови, которые используются в наборе, были получены от здоровых доноров. Они были подвергнуты индивидуальным исследованиям с использованием утвержденных методик (EIA, иммуноферментный анализ), по результатам которых были получены отрицательные результаты на наличие антител к вирусу иммунодефицита человека (анти-ВИЧ-1/2) антител к гепатиту С (anti-HCV), Антитела к трепонеме и поверхностных антигенов вируса гепатита В (HBsAg).

При работе с образцами, полученными от человека, которые подлежат исследованию с использованием диагностических наборов, необходимо всегда соблюдать осторожность. Даже если пациент прошел необходимые обследования, ни один из методов не может дать полной гарантии отсутствия инфекционных агентов. Следовательно, с образцами крови человека всегда необходимо обращаться как с потенциально инфекционно опасным материалом. Компоненты крупного рогатого скота происходят из стран, в

которых не регистрировалась губчатая энцефалопатия крупного рогатого скота.

Тем не менее, компоненты, содержащие вещества животного происхождения, следует рассматривать как потенциально инфекционные материалы.

Все продукты животного происхождения и их производные получены от здоровых животных. Тем не менее, компоненты, содержащие вещества животного происхождения, следует рассматривать как потенциально инфекционные материалы.

















## Химическая опасность

В качестве антибактериального агента компоненты набора содержат азид натрия. При утилизации отходов их необходимо смывать большим количеством воды для предотвращения накопления взрывоопасных азидов металлов в водопроводе, который может содержать части из меди и свинца. Общее содержание азидов в каждой упаковке составляет 66 мг.

## Хранение и срок годности

Хранить этот продукт при температуре 2-8 ° C. Срок годности: 60 суток с момента наличия.

## УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

	Использовано		Номер партии
	Температур-ный предел		Контроль
	Внимание, обратитесь к сопроводительным документам		Стандарт
	Биологическая опасность		Пробирка с покрытием
	Обратитесь к инструкции по использованию		Метка
	Устройство для проведения диагностики <i>in vitro</i>		Промывоч-ный буфер
	Производи-тель		Радиоактив-ный материал
	Номер по каталогу		

Сайт: <http://www.izotop.hu>

Технический e-mail: [immuno@izotop.hu](mailto:immuno@izotop.hu)

Коммерческий e-mail: [commerce@izotop.hu](mailto:commerce@izotop.hu)

**IZOTOP**

INSTITUTE OF ISOTOPES CO. LTD.

H-1121 Budapest, Konkoly-Thege Miklós út 29-33

Тел.: (36-1)392-2577,

Факс: (36-1)395-9247

Обновлено: апрель 2021