

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	2
2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА	3
3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	3
4. СОСТАВ НАБОРА	4
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	4
6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ	4
7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА	5
8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	5
9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	6
10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ	7
11. ЛИТЕРАТУРА	7

Инструкция составлена Руководителем службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикиным

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ «ЦИК-ХЕМА»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ЦИК-ХЕМА» предназначен для определения циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови человека методом иммунного турбодиметрического анализа.

1.2. Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) образуются и циркулируют в кровяном русле в ответ на введение чужеродного агента (антигена). Они представляют собой комплексы, состоящие из антител, антигена и компонентов комплемента. Образование ЦИК – физиологический механизм защиты организма, приводящий к быстрому удалению эндогенных и экзогенных антигенов (вирусы, паразиты, бактерии, микроорганизмы, антигены растений, пыльца, пищевые продукты) через ретикуло-эндотелиальную систему. Образующиеся иммунные комплексы в норме захватываются фагоцитами и разрушаются ими. Метаболизм ЦИК протекает также и в печени. Далее происходит их удаление из организма. При инфицировании, аллергии, болезнях иммунных комплексов происходит повышенное образование ЦИК, и, в ряде случаев, откладывание этих комплексов в корковом слое почек с развитием воспаления. Вследствие избыточного накопления ЦИК, последующей активации комплемента и лизосомальных ферментов в различных тканях происходят воспалительные процессы, сопровождающиеся поражением органов. Высокое содержание ЦИК обнаруживается при онкологических заболеваниях.

Иммунные комплексы, содержащие IgA и компоненты комплемента, откладываются в капиллярах, мелких артериолах и мезангии, вызывая острое воспаление с повышением сосудистой проницаемости, выходом жидкой части плазмы в ткани и кровоизлияниями. Иммунные комплексы образуются при каждой встрече антител с антигеном и обычно эффективно разрушаются фагоцитами, но иногда сохраняются в течение длительного времени и откладываются в различных тканях и органах. Реакции, развивающиеся в таких случаях и опосредуемые комплементом и эффекторными клетками, называют реакциями гиперчувствительности 111 типа или болезнью иммунных комплексов. Непосредственное участие циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в развитии воспалительного процесса убедительно доказано главным образом для системной красной волчанки. Тем не менее, данный показатель обычно учитывают в ревматологии, поскольку он часто бывает повышен при иммунопатологических заболеваниях. Уровень ЦИК дает определенное представление об активности иммунного воспаления и эффективности проводимой терапии. Повышение уровня ЦИК наблюдается при диффузных болезнях соединительной ткани, системных васкулитах, подостром инфекционном эндокардите, ВИЧ-инфекции, болезни Крона, аутоиммунном гепатите и др. У больных ревматоидным артритом увеличение содержания ЦИК свидетельствует о развитии системного ревматического процесса. Для определения уровня ЦИК чаще всего применяют метод селективной преципитации полиэтиленгликолем. Вместе с тем, учитывая гетерогенность ЦИК, целесообразно применять одновременно

несколько методов определения, причем наилучшим считается метод связывания ЦИК с C1q-компонентом комплемента. При анализе результатов, полученных в процессе определения как ЦИК, так и иммуноглобулинов, следует учитывать, что клиническое значение имеют только кратное (в 2, 3 раза и более) повышение их содержания.

Для более глубоко и всестороннего изучения иммунологических реакций обычно проводят более детальное изучение иммунных комплексов и системы комплемента

1.3. Диагностическая значимость определения.

Содержание ЦИК в крови – показатель развития различных воспалительных процессов в организме и показатель активности течения аутоиммунных заболеваний. Основными показаниями к проведению анализа на ЦИК являются: аутоиммунные заболевания, ревматизм, коллагенозы, вирусные бактериальные и грибковые заболевания, гломерулонефрит, артриты, аллергия.

Также довольно распространенной болезнью иммунных комплексов является системная красная волчанка (СКВ), повышенные значения «единиц ЦИК» наблюдаются также при васкулитах, аутоиммунном гепатите, эндокардитах, болезнях Крона и некоторых других заболеваниях.

Показания к назначению анализа на ЦИК в клинической лабораторной практике:

- диагностика и мониторинг аутоиммунных заболеваний;
- диагностика и мониторинг хронических инфекционных заболеваний;
- мониторинг хронических воспалительных заболеваний почек;
- в комплексе с другими исследованиями для диагностики иммунодефицитных состояний.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

В организме человека экзо- и эндогенные антигены могут образовывать иммунные комплексы с соответствующими антителами (циркулирующие иммунные комплексы – ЦИК), которые определяют путем преципитации полиэтиленгликолем (ПЭГ 6000) в лунках планшета. Единицы ЦИК определяют сравнением оптических плотностей сыворотки в среде с и без ПЭГ.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Воспроизводимость.

Коэффициент вариации результатов определения содержания ЦИК в одном и том же образце сыворотки (плазмы) крови с использованием Набора «ЦИК-ХЕМА» не превышает 8,0%.

4. СОСТАВ НАБОРА

Код компонента	Символ	Наименование	Кол-во	Ед.	Описание
1	P470Z	Планшет 96-луночный полистироловый, стрипированный, готов к использованию	4	шт	-
2	S007Z	Пурпурный Буфер для разведения, готов к использованию (40 мл)	1	шт	прозрачная жидкость пурпурного цвета
3	S470Z	Синий Буфер для разведения с 4,5% ПЭГ, готов к использованию (40 мл)	1	шт	прозрачная жидкость синего цвета
4	N003	Бумага для заклеивания планшета	4	шт	-
5	K470IR	Инструкция по применению Набора реагентов «ЦИК-ХЕМА», русская	1	шт	-

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- 5.1.** Потенциальный риск применения Набора – класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).
- 5.2.** При работе с Набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемиологического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).
- 5.3.** При работе с Набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированный материал, способный длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

6. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканирования, позволяющий измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;
- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 20–250 мкл;
- перчатки резиновые или пластиковые;

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

7.2. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы хранить при температуре +2-25 °С в течение всего срока годности Набора.

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

8.1. Набор реагентов «ЦИК-ХЕМА» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2-25 °С в течение всего срока годности, указанного на упаковке Набора.

Не допускается замораживание целого набора.

8.2. Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 92 исследуемых образцов (всего 96x4 определений).

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

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно заклеить бумагой для заклеивания планшета и хранить при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности Набора;
- Пурпурный Буфер для разведения, Синий Буфер для разведения с 4,5% ПЭГ после вскрытия флаконов следует хранить при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности Набора;

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

8.4. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку (плазму) крови, а также сыворотку (плазму) крови, содержащую азид натрия.

Если анализ производится не в день взятия крови, сыворотку (плазму) следует хранить при температуре -20 °С. Повторное замораживание-оттаивание образцов сыворотки (плазмы) крови не допускается.

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

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1	Поместите в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 4 повторах и 4 лунки для контроля Буфера для разведения (A1, A2, B1, B2).																																																						
2	Внесите Пурпурный Буфер для разведения – 200 мкл в нечетные (1, 3, 5...) стрипы планшета. Внесите Синий Буфер для разведения с 4,5% ПЭГ – 200 мкл в четные (2, 4, 6...) стрипы планшета																																																						
3	Внесите по 20 мкл исследуемых образцов в 4 повторах в соответствии со схемой																																																						
	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>1</td> <td>2</td> <td>3</td> <td>4</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>#4</td> <td>#4</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>B</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>#4</td> <td>#4</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>C</td> <td>#1</td> <td>#1</td> <td>#5</td> <td>#5</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>D</td> <td>#1</td> <td>#1</td> <td>#5</td> <td>#5</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>E</td> <td>#2</td> <td>#2</td> <td>#6</td> <td>#6</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>F</td> <td>#2</td> <td>#2</td> <td>#6</td> <td>#6</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>G</td> <td>#3</td> <td>#3</td> <td>#7</td> <td>#7</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>H</td> <td>#3</td> <td>#3</td> <td>#7</td> <td>#7</td> <td>...</td> </tr> </table>		1	2	3	4	5	A	-	-	#4	#4	...	B	-	-	#4	#4	...	C	#1	#1	#5	#5	...	D	#1	#1	#5	#5	...	E	#2	#2	#6	#6	...	F	#2	#2	#6	#6	...	G	#3	#3	#7	#7	...	H	#3	#3	#7	#7	...
	1	2	3	4	5																																																		
A	-	-	#4	#4	...																																																		
B	-	-	#4	#4	...																																																		
C	#1	#1	#5	#5	...																																																		
D	#1	#1	#5	#5	...																																																		
E	#2	#2	#6	#6	...																																																		
F	#2	#2	#6	#6	...																																																		
G	#3	#3	#7	#7	...																																																		
H	#3	#3	#7	#7	...																																																		
4	Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. Инкубируйте планшет в течение 120 минут при температуре +18-25 °С.																																																						
5	Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм. Бланк фотометраставляйте по лункам контроля Буфера для разведения (например, A1). ОП контроля Буфера для разведения не должно превышать 0.07 оптических единиц.																																																						
6	Рассчитайте единицы ЦИК. (ОП образца N с Синим Буфером для разведения) МИНУС (ОП образца N с Пурпурным Буфером для разведения) Разницу УМНОЖИТЬ на 1000 = Единицы ЦИК.																																																						

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И НОРМЫ

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

Исследуемая группа	Единицы ЦИК	
	Нижний предел	Верхний предел
норма	-	120
повышенный уровень	120	-

11. ЛИТЕРАТУРА

1. Tietz Clinical guide to laboratory tests. 4-th ed. Ed. Wu A.N.B.- USA, W.B Saunders Company, 2006, 1798 p.
2. Lambert P.H., et all – J.Clin Lab Imm., 1978, 1, 1-15

По вопросам, касающимся качества Набора «ЦИК-ХЕМА», следует обращаться в ООО «ХЕМА» по адресу:
105043, Москва, а/я 58,
тел./факс: (495) 737-39-36, 737-00-40, 510-57-07 (многоканальный)

электронная почта: info@xema.ru; rqc@xema.ru
интернет: www.xema.ru; www.xema-medica.com

Руководитель службы клиентского сервиса ООО «ХЕМА»,
к. б. н. Д. С. Кострикин

