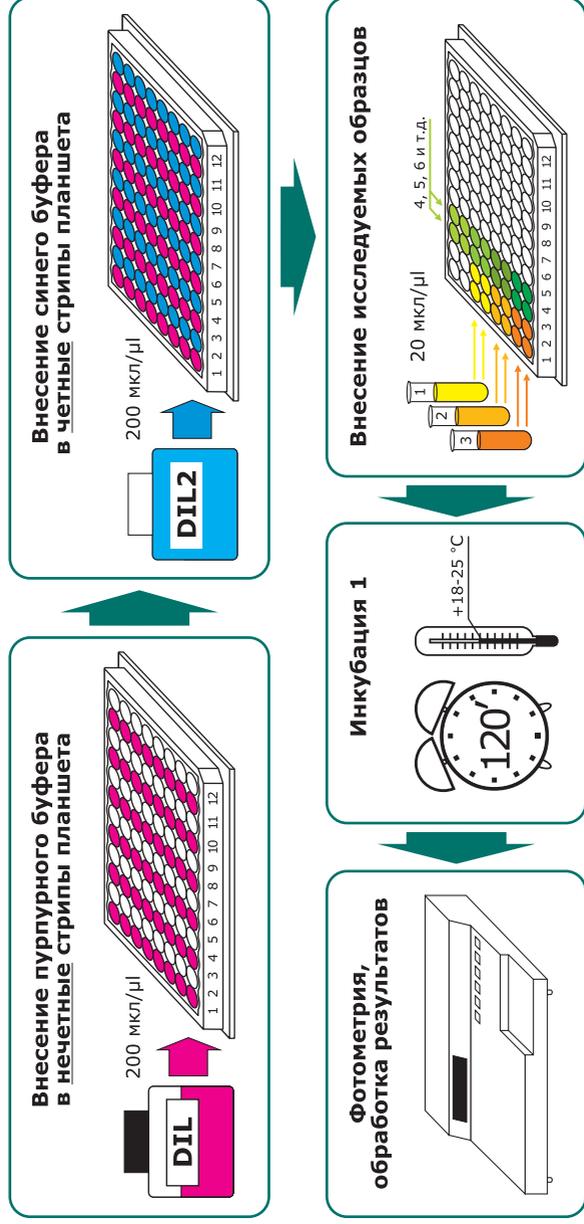


# Схема проведения анализа / Test procedure



## **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 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 IgG 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, болезни 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 определяются 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	R470Z	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	K470I	Инструкция по применению Набора реагентов «ЦИК-ХЕМА»	1	шт	-
6	K470Q	Паспорт контроля качества Набора реагентов «ЦИК-ХЕМА»	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 96х4 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...+25 °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...+25 °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	<b>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</b>																																																						
3	<b>Внесите по 20 мкл исследуемых образцов в 4 повторах в соответствии со схемой</b>																																																						
	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> <th>4</th> <th>5</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><b>A</b></td> <td>-</td> <td>-</td> <td>#4</td> <td>#4</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td><b>B</b></td> <td>-</td> <td>-</td> <td>#4</td> <td>#4</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td><b>C</b></td> <td>#1</td> <td>#1</td> <td>#5</td> <td>#5</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td><b>D</b></td> <td>#1</td> <td>#1</td> <td>#5</td> <td>#5</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td><b>E</b></td> <td>#2</td> <td>#2</td> <td>#6</td> <td>#6</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td><b>F</b></td> <td>#2</td> <td>#2</td> <td>#6</td> <td>#6</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td><b>G</b></td> <td>#3</td> <td>#3</td> <td>#7</td> <td>#7</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td><b>H</b></td> <td>#3</td> <td>#3</td> <td>#7</td> <td>#7</td> <td>...</td> </tr> </tbody> </table>		1	2	3	4	5	<b>A</b>	-	-	#4	#4	...	<b>B</b>	-	-	#4	#4	...	<b>C</b>	#1	#1	#5	#5	...	<b>D</b>	#1	#1	#5	#5	...	<b>E</b>	#2	#2	#6	#6	...	<b>F</b>	#2	#2	#6	#6	...	<b>G</b>	#3	#3	#7	#7	...	<b>H</b>	#3	#3	#7	#7	...
	1	2	3	4	5																																																		
<b>A</b>	-	-	#4	#4	...																																																		
<b>B</b>	-	-	#4	#4	...																																																		
<b>C</b>	#1	#1	#5	#5	...																																																		
<b>D</b>	#1	#1	#5	#5	...																																																		
<b>E</b>	#2	#2	#6	#6	...																																																		
<b>F</b>	#2	#2	#6	#6	...																																																		
<b>G</b>	#3	#3	#7	#7	...																																																		
<b>H</b>	#3	#3	#7	#7	...																																																		
4	<b>Заклейте планшет бумагой для заклеивания планшета. Инкубируйте планшет в течение 120 минут при температуре +18...+25 °С.</b>																																																						
5	<b>Измерьте величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм.</b> Бланк фотометра представляйте по лункам контроля Буфера для разведения (например, А1). ОП контроля Буфера для разведения не должно превышать 0.07 оптических единиц.																																																						
6	<b>Рассчитайте единицы ЦИК.</b> (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