

ЗМІСТ

1. ПРИЗНАЧЕННЯ	2
2. ПРИНЦИП РОБОТИ НАБОРУ	3
3. АНАЛІТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ	3
4. СКЛАД НАБОРУ	4
5. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ	4
6. ОБЛАДНАННЯ ТА МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕОБХІДНІ ПІД ЧАС РОБОТИ З НАБОРОМ	5
7. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ ДЛЯ АНАЛІЗУ	5
8. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ ТА ЕКСПЛУАТАЦІЇ НАБОРУ	5
9. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ	6
10. ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ ТА НОРМИ	7
11. ЛІТЕРАТУРА	7

ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ НАБОРУ РЕАГЕНТІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ЦИРКУЛЮЮЧИХ ІМУННИХ КОМПЛЕКСІВ В СИРОВАТЦІ (ПЛАЗМІ) КРОВІ «ЦІК-ХЕМА»

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

1.1. Набір реагентів «ЦІК-ХЕМА» призначений для визначення циркулюючих імунних комплексів в сироватці крові людини методом імунного турбідиметричного аналізу.

1.2. Циркулюючі імунні комплекси (ЦІК) утворюються та циркулюють у кров'яному руслі у відповідь на введення агента (антигену). Вони являють собою комплекси, що складаються з антитіл, антигену і компонентів комплементу. Утворення ЦІК - фізіологічний механізм захисту організму, що призводить до швидкого видалення ендогенних і екзогенних антигенів (віруси, паразити, бактерії, мікроорганізми, антигени рослин, пилок, харчові продукти) через ретикуло-ендотеліальну систему. Утворені імунні комплекси в нормі захоплюються фагоцитами і руйнуються ними. Метаболізм ЦІК відбувається також і в печінці. Далі відбувається їх видалення з організму. При інфікуванні, алергії, хворобах імунних комплексів відбувається підвищене утворення ЦІК, і в ряді випадків, накопичення цих комплексів в кірковому шарі нирок з розвитком запалення. Внаслідок надлишкового накопичення ЦІК, подальшої активації комплементу і лізосомальних ферментів в різних тканинах відбуваються запальні процеси, що супроводжуються ураженням органів. Високий вміст ЦІК виявляється при онкологічних захворюваннях.

Імунні комплекси, що містять IgG і компоненти комплементу, накопичуються у капілярах, дрібних артеріолах і мезангії та викликають гостре запалення з підвищенням судинної проникності, виходом рідкої частини плазми в тканини і крововиливами. Імунні комплекси утворюються при кожній зустрічі антитіл з антигеном і зазвичай ефективно руйнуються фагоцитами, але іноді зберігаються протягом тривалого часу і накопичуються у різних тканинах і органах. Реакції, що розвиваються у таких випадках і опосередковані комплементом і ефекторними клітинами, називають реакціями гіперчутливості 111 типу або хворобою імунних комплексів. Безпосередню участь циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в розвитку запального процесу переконливо доведено головним чином для системного червоного вовчака. Проте, даний показник зазвичай враховують в ревматології, оскільки він часто буває підвищений при імунопатологічних захворюваннях. Рівень ЦІК дає певне уявлення про активність імунного запалення та ефективність терапії. Підвищення рівня ЦІК спостерігається при дифузних хворобах сполучної тканини, системних васкулітах, підгострому інфекційному ендокардиті, ВІЛ-інфекції, хвороби Крона, аутоімунному гепатиті та ін. У хворих на ревматоїдний артрит збільшення вмісту ЦІК свідчить про розвиток системного ревматичного процесу.

Для визначення рівня ЦІК найчастіше застосовують метод селективної преципітації поліетиленгліколем. Разом з тим, з огляду на гетерогенність ЦІК, доцільно застосовувати одночасно кілька методів визначення, причому найкращим вважається метод зв'язування ЦІК з СІq-компонентом комплекменту. При аналізі результатів, отриманих в процесі визначення як ЦІК, так і імуноглобулінів, слід враховувати, що клінічні значення мають лише кратні (в 2, 3 рази і більше) підвищення їх вмісту.

Для більш глибокого і всебічного вивчення імунологічних реакцій зазвичай проводять більш детальне вивчення імунних комплексів і системи комплекменту.

1.3. Діагностична значимість визначення.

Вміст ЦІК в крові - показник розвитку різних запальних процесів в організмі і показник активності перебігу аутоімунних захворювань. Основними показаннями до проведення аналізу на ЦІК є: аутоімунні захворювання, ревматизм, колагенози, вірусні бактеріальні і грибові захворювання, гломерулонефрит, артрити, алергія.

Також досить поширеною хворобою імунних комплексів є системний червоний вовчак (СЧВ), підвищені значення «одиниць ЦІК» спостерігаються також при васкулітах, аутоімунному гепатиті, ендокардитах, хвороби Крона і деяких інших захворюваннях.

Показання до призначення аналізу на ЦІК в клінічній лабораторній практиці:

- діагностика і моніторинг аутоімунних захворювань;
- діагностика і моніторинг хронічних інфекційних захворювань;
- моніторинг хронічних запальних захворювань нирок;
- в комплексі з іншими дослідженнями для діагностики імунодефіцитних станів.

2. ПРИНЦИП РАБОТИ НАБОРУ

В організмі людини екзо- і ендогенні антигени можуть утворювати імунні комплекси проти відповідних антитіл (циркулюючі імунні комплекси - ЦІК), які визначаються шляхом преципітації поліетиленгліколем (ПЕГ 6000) в лунках планшета. Одиниці ЦІК визначають порівнянням оптичної густини сироватки в середовищі з і без ПЕГ.

3. АНАЛІТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Відтворюваність.

Коефіцієнт варіації результатів визначення вмісту ЦІК у тому самому зразку сироватки (плазми) крові з використанням Набору «ЦІК-ХЕМА» не перевищує 8%.

4. СКЛАД НАБОРУ

Код компонента	Символ	Найменування	Кількість	Од.	Опис
1	R470Z	Планшет 96-лунковий полістироловий, стрипований, готовий до використання	4	шт.	
2	S007Z	Пурпурний Буфер для розведення, готовий до використання (40 мл)	1	шт	прозора рідина пурпурового кольору
3	S470Z	Синій Буфер для розведення з 4.5% ПЕГ, готовий до використання (40 мл)	1	шт	прозора рідина синього кольору
4	N003	Плівка для заклеювання планшета	4	шт	-
5	K470I	Інструкція з використання Набору реагентів «ЦІК-ХЕМА»	1	шт	-
6	K470Q	Паспорт контролю якості Набору реагентів «ЦІК-ХЕМА»	1	шт	-

5. ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

5.1. При роботі з Набором слід дотримуватись НПАОП 85.14-1.09-81. Правила обладнання, техніки безпеки, виробничої санітарії, протиепідемічного режиму і особистої гігієни при роботі в лабораторіях (відділеннях, відділах) санітарно-епідеміологічних установ системи Міністерства охорони здоров'я СРСР (НАОП 9.1.50-1.09-81).

5.2. При роботі з Набором необхідно користуватися одноразовими гумовими або пластиковими рукавичками, оскільки зразки крові людини слід розглядати як потенційно інфікований матеріал, здатний тривалий час зберігати і передавати віруси ВІЛ, гепатиту або будь-який інший збудник вірусної інфекції.

5.3. Не використовуйте Набір з ознаками пошкодження.

6. ОБЛАДНАННЯ ТА МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕОБХІДНІ ПІД ЧАС РОБОТИ З НАБОРОМ

- фотометр вертикального сканування, що дозволяє вимірювати оптичну густину вмісту лунок планшета при довжині хвилі 450 нм;
- дозатори зі змінними наконечниками, що дозволяють відбирати об'єми в діапазоні 25–250 мкл;
- рукавички гумові або пластикові;

7. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ ДЛЯ АНАЛІЗУ

7.1. Перед проведенням аналізу компоненти Набору та досліджувані зразки сироватки (плазми) крові слід витримати при кімнатній температурі (+18...+25°C) не менше 30 хв.

7.2. Приготування планшета.

Відкрити пакет із планшетом і встановити в рамку необхідну кількість стрипів. Стрипи, що залишилися невикористаними, ретельно заклеїти плівкою для заклеювання планшета з метою запобігання впливу вологи на лунки планшета. Планшет зберігати при температурі +2...+8°C протягом терміну придатності Набору.

8. УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ ТА ЕКСПЛУАТАЦІЇ НАБОРУ

8.1. Набір реагентів «ЦІК-ХЕМА» потрібно зберігати в упаковці підприємства-виробника при температурі +2...+25°C протягом усього терміну придатності, який вказаний на пакуванні Набору.

Не допускається заморожування цілого Набору.

8.2. Набір розрахований на проведення дослідження в двох повторях 92 досліджуваних зразків (всього 96x4 визначень).

8.3. У випадку часткового використання Набору, компоненти необхідно зберігати в такий спосіб:

– стрипи, що залишилися невикористаними, необхідно ретельно заклеїти плівкою для заклеювання планшета та зберігати при температурі +2...+25°C протягом всього терміну придатності Набору;

– Пурпурний Буфер для розведення, Синій Буфер для розведення з 4.5% ПЕГ після відкриття флаконів необхідно зберігати при температурі +2...+25°C протягом всього терміну придатності Набору.

Важливе зауваження: після використання реагенту закривайте флакон кришкою. Закривайте кожний флакон відповідною кришкою.

8.4. Для проведення аналізу не слід використовувати гемолізовану, непрозору сироватку (плазму) крові, а також сироватку (плазму) крові, що містить азид натрію. У разі проведення дослідження не в день взяття крові, сироватку (плазму) слід зберігати при температурі -20 °C. Не допускається повторне заморожування/розморожування зразків.

8.5. Не використовувати компоненти з інших наборів або з аналогічних наборів інших партій.

9. ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

1	Помістіть в рамку необхідну кількість стрипів – із розрахунку на кількість досліджуваних зразків в чотирьох повторях і 4 лунки для контролю Буфера для розведення (A1, A2, B1, B2).																																																						
2	Внесіть Пурпурний Буфер для розведення – 200 мкл в непарні (1, 3, 5...) стрипи планшета.																																																						
3	Внесіть Синій Буфер для розведення з 4.5% ПЕГ – 200 мкл в парні (2, 4, 6...) стрипи планшета.																																																						
4	Внесіть по 20 мкл досліджуваних зразків в 4 повторях відповідно до схеми: <table border="1" data-bbox="280 138 515 1394"> <thead> <tr> <th></th> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> <th>4</th> <th>5</th> </tr> </thead> <tbody> <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> </tbody> </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	...																																																		
5	Обережно перемішайте вміст планшета круговими рухами на горизонтальній поверхні, заклейте планшет плівкою для заклеювання планшета. Інкубуйте планшет протягом 120 хвилин при температурі +18...+25°С.																																																						
6	Визначте величину оптичної густини (ОГ) в лунках планшета за допомогою планшетного фотометра за довжини хвилі 450 нм. Вимірювання ОГ вмісту лунок планшета необхідно провести протягом 15 хвилин. Бланк фотометра вставляйте по лункам контролю Буфера для розведення (наприклад А1). ОГ контролю Буфера для розведення не повинна перевищувати 0.07 оптичних одиниць.																																																						
7	Розрахуйте одиниці ЦІК. (ОГ зразка N з Синім буфером для розведення) МІНУС (ОГ зразка N з Пурпурним Буфером для розведення). Різницю ПОМНОЖИТИ на 1000 = Одиниці ЦІК.																																																						

10. ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ ТА НОРМИ

10.1. Ґрунтуючись на результатах досліджень, що проведені фахівцями ТОВ «ХЕМА», рекомендуємо скористатися нормами, наведеними нижче. Разом із тим, у відповідності до принципів GLP (Належної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна самостійно визначити параметри норми, які є характерними для обстежуваної популяції.

Досліджувана група	Одиниці, ЦІК	
	Нижня межа	Верхня межа
норма	-	120
підвищений рівень	120	-

11. ЛІТЕРАТУРА

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

З питань якості Набору «**ЦІК-ХЕМА**» звертатися в ТОВ «ХЕМА» за адресою:
 м. Київ, вул. Академіка Єфремова, 23;
 тел./факс: + 38 (044) 422-62-16
 email: info@xema.com.ua;
 www.xema-medica.com
 Начальник відділу з контролю якості ТОВ «ХЕМА»
 Коваленко Єліна Володимирівна

