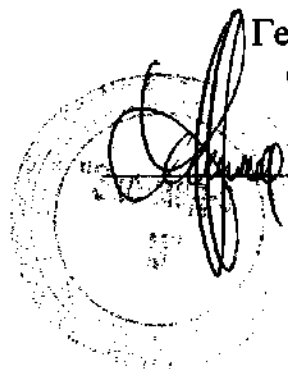


УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор  
ООО «Эко-мед-с М»

Ворошилов Н.А.

«01» февраля 2010 г



## **ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**

### **Реагенты in-vitro для исследования гемостаза «Латекс» в наборах и отдельных упаковках**

1. НАЗНАЧЕНИЕ
2. ОСНОВНЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
3. ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ
4. ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ ИЗДЕЛИЯ
5. ПОРЯДОК РАБОТЫ ИЗДЕЛИЯ
6. ПРАВИЛА ХРАНЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

2010

УТВЕРЖДАЮ  
Эко-мед-с  
Генеральный директор  
ООО «Эко-мед-с М»  
  
Ворошилов Н.А.  
«01» февраля 2010 г

## ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

### Наборы in-vitro для исследования гемостаза Латекс

1. НАЗНАЧЕНИЕ
2. ОСНОВНЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
3. ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ
4. ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ ИЗДЕЛИЯ
5. ПОРЯДОК РАБОТЫ ИЗДЕЛИЯ
6. ПРАВИЛА ХРАНЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

2010

## Дейд Димертест латексный тест.

Для качественного и полуколичественного определения производных поперечно-связанного фибрина (содержащего D-димер домен) в плазме

### Область применения

Dimerest<sup>®</sup> Латексный Анализ предназначен для быстрого качественного или полуколичественного определения циркулирующих производных поперечно-связанного фибрина (XDP) в человеческой плазме.

### Конспект и пояснения

Сгусток фибрина формируется при расщеплении растворимого фибриногена, катализируемым тромбином, с образованием мономеров фибрина. Мономеры фибрина собираются в неупорядоченную сополимерную структуру в форме цепей фибрина, которые со временем загустевают, образуя комки фибрина. На этом этапе полимеризации фибрина, тромбин активизирует фактор XIII в состояние активного фермента - фактора XIIIa. Затем фактор XIIIa переводит растворимый фибрин в нерастворимый сгусток фибрина, образуя поперечные связи с соседними молекулами фибрина в области D-домена.

В местах свертывания крови образуется плазмин. Плазмин это главный фермент, растворяющий тромбы, обладающий способностью расщеплять и фибриноген и фибрин до различных продуктов распада. В отличие от продуктов распада фибриногена (FDP), плазмин расщепляет фибрин, поперечно-связанный фактором XIIIa, на производные (XDP), которые содержат поперечно-связанный D-Домен (D-димер). Поэтому, наличие производных фибрина, содержащих D-димер, в плазме - это специфичный признак фибринолиза.

Латексный анализ Dimerest<sup>®</sup> предназначен для быстрого качественного или полуколичественного определения циркулирующих производных поперечно-связанного фибрина (XDP) в человеческой плазме. Весьма специфичное к D-димеру моноклональное антитело прикрепляется к частицам латекса. Видимая агглютинация данных частиц в присутствии D-димера является положительным признаком фибринолиза. Порог выявления для Латексного анализа Dade<sup>®</sup> Dimerest<sup>®</sup> установлен с использованием того же моноклонального антитела в иммуноферментном анализе для очищенного фрагмента D-димера человека. Он дает положительную агглютинацию при концентрации производных поперечно-связанного фибрина, содержащих D-димеры, приблизительно 0,20 мкг/мл.

### Реактивы

#### Состав

1. Частицы латекса Dimerest<sup>®</sup>: 0,83% суспензия частиц латекса, покрытых мышиным моноклональным антителом, специфичным к человеческому D-димеру производных поперечно-связанного фибрина, содержащая стабилизаторы и 0,1% азид натрия в качестве консерванта.
2. Положительный контроль Dimerest<sup>®</sup>: раствор, содержащий очищенный фрагмент человеческого D-димера, стабилизаторы и 0,1% азид натрия в качестве консерванта. Раствор дает положительную реакцию агглютинации с частицами латекса Dimerest<sup>®</sup>.
3. Отрицательный контроль Dimerest<sup>®</sup>: раствор буфера и 0,1% азид натрия в качестве консерванта. Раствор не агглютинирует с частицами латекса Dimerest<sup>®</sup>.
4. Буфер Dimerest<sup>®</sup>: 10 мм фосфатный буферный раствор и 0,1% азид натрия в качестве консерванта.

#### Предупреждения и Меры предосторожности

1. Для *in vitro* диагностики.
  2. С реагентами, содержащими азид натрия необходимо обращаться с должной осторожностью. Не протыкайте и не допускайте контакта с кожей или слизистыми! Азид натрия может образовывать взрывоопасные азиды при контакте с тяжелыми металлами, такими как медь или свинец.
  3. Предупреждение: Обращаться с материалами как с потенциально инфекционными. Dade<sup>®</sup> Dimerest<sup>®</sup> Латексный Анализ содержит компоненты человеческого происхождения. Каждый образец донорской крови, использованный для получения этих компонентов тестировался на антитела к гепатиту B, анти-HCV, анти-HIV1 и анти-HIV2 методами, утвержденными Управлением по контролю за продуктами и лекарствами (США). Используются только образцы с отрицательными результатами. Тем не менее, пока отсутствие возбудителей инфекции не будет подтверждено, со всеми анализами, взятыми у человека, стоит обращаться с должной осторожностью, соблюдая рекомендации для работы с биологическими опасными веществами<sup>2</sup>.
- Признак порчи: неудачная реакция агглютинации частиц латекса и положительного контроля, агглютинация с отрицательным контролем или очевидное бактериальное заражение.

#### Хранение и стабильность

Если компоненты Латексного анализа Dimerest<sup>®</sup> не используются, их следует хранить при температуре от +2 до +8° C. Не замораживайте реактивы.

### Сбор и подготовка образцов

#### Плазма

Для Латексного анализа Dimerest<sup>®</sup> подходят свежая или свежемороженая (не более чем за 2 недели) плазма, собранная в любой цитрат, этилендиаминтетрауксусную кислоту или гепарин. Цитрат является предпочтительным антикоагулянтом. Использование этилендиаминтетрауксусной кислоты или гепарина приведет к увеличению вероятности наступления ошибочной положительной реакции. После отделения плазмы центрифугированием, образцы могут быть сразу протестированы на наличие XDP. Дефибрирование плазмы не обязательно, не рекомендуется.

\* Патент США 4 758 524

### Методика

#### Предоставляемые материалы

| Шифр      | Продукт                                                  | Упаковка  |
|-----------|----------------------------------------------------------|-----------|
| B4233-60  | Латексный анализ Dade <sup>®</sup> Dimerest <sup>®</sup> | 60 тестов |
| B4233-61L | Частицы латекса Dimerest <sup>®</sup>                    | 2,0 мл    |

Тест-набор, Код B4233-60

1. Частицы латекса Dimerest<sup>®</sup>
2. Положительный контроль Dimerest<sup>®</sup>
3. Буфер Dimerest<sup>®</sup>
4. Отрицательный контроль Dimerest<sup>®</sup>
5. Контрольное предметное стекло с 8 реакционными зонами.
6. Пластиковые мешалки: для перемешивания и распределения плазмы.

Необходимые дополнительные материалы, не входящие в комплект

1. Пипетки и наконечники дозировкой 20 и 100 мкл
- Примечание: Для надежного выполнения анализа необходимы высокоточные пипетки.

2. Одноразовые пластиковые пробирки (12 x 75 мм)
3. Стойка для пробирок
4. Механический ротатор для предметного стекла (необязательно)

#### Контроль Качества

Рекомендуется применять и положительный и отрицательный контроль в каждой партии испытаний, чтобы удостовериться в исправности системы. Следуйте инструкциям для качественного скрининг-теста (отборочного испытания) при оценочном контроле. Положительный результат (агглютинация) может быть получен заменой Положительного контроля Dimerest<sup>®</sup> на плазму на шагах с 4 по 6; и наоборот, отрицательный результат (отсутствие агглютинации) может быть получен заменой Dimerest<sup>®</sup> Отрицательного контроля на плазму на шагах с 4 по 6. Когда выполняется процедура полуколичественного анализа, рекомендуется проведение испытаний последовательных разведений Положительного контроля. Положительный контроль Dimerest<sup>®</sup> состоит из раствора человеческого D-димера на уровне около 0,8 мкг/мл.

### Процедура

Примечание: Компоненты Латексного анализа Dimerest<sup>®</sup> должны быть доведены до комнатной температуры (оптимальная температура от +20 до +25° C; относительная влажность >20%) перед использованием, а частицы латекса должны быть перемешаны перемешиванием пробирки несколько раз непосредственно перед использованием.

#### A. Качественный скрининг-тест

1. Доведите реактивы Латексного анализа Dimerest<sup>®</sup> и образцы до комнатной температуры.
2. Отметьте (или сделайте заметки) схемы расположения образцов на контрольном предметном стекле и, если необходимо, для положительного и отрицательного контроля.
3. Держите каплепипетку с частицами латекса вертикально и добавляйте по одной капле частиц к каждой контрольной зоне.
4. Распределите 20 мкл неразбавленной плазмы или 1 каплю контрольного раствора рядом с латексом. Сразу перемешайте суспензию кончиком пластиковой мешалки покрывающей реакционную зону. После работы с каждым образцом мешалку следует выбрасывать.
5. Вручную, или используя механический ротатор, осторожно вращайте предметное стекло в течение 3 минут.
6. Строго через 3 минуты после смешивания, проверьте на агглютинацию под мощным источником света.

Примечание: Результат должен быть считан через 3 минуты инкубации при условиях описанных выше. Если считывание результата откладывается более чем на 3 минуты, латексная суспензия может высохнуть и дать ложную структуру агглютинации. Если на это есть подозрение, образец необходимо протестировать заново.

#### B. Полуколичественный анализ

Положительная агглютинация будет наблюдаться у образцов, содержащих более чем 0,20 мкг/мл XDP в плазме. Оценка повышенного уровня XDP в образце может быть получена путем серийного разведения плазмы в буфере Dimerest<sup>®</sup>, при исследовании разбавленных образцов как описано выше. Наивысшая степень разбавления, при которой наблюдается видимая агглютинация, это титр. Пример: Если неразбавленный образец плазмы агглютинирует, разбавьте часть образца (минимум 100 мкл) с равным объемом буфера (раствор 1:2). Смешайте подходящий объем этого разбавленного образца с равным объемом буфера для получения раствора 1:4. Повторяйте эту процедуру, что бы продолжить серию разведений по желанию.

### Результаты

#### A. Качественный анализ

Для протокола качественного анализа характерны следующие результаты:

| Неразбавленная плазма | XDP концентрация      |
|-----------------------|-----------------------|
| Отрицательный         | Менее чем 0,20 мкг/мл |
| Положительный         | Более чем 0,20 мкг/мл |

Примечание: Все значения в мкг/мл даны приблизительно.

#### B. Полуколичественный анализ

Приблизительный уровень XDP, содержащих D-димер домен, для разбавленных образцов приведен в Таблица 1. Как и со всеми полуколичественными тестами, следует ожидать определенное непостоянство в соотношении доза-реакция.

Таблица 1

| Приблизительный интервал D-димер (XDP) (мг/мл) | Разбавленный Образец |     |     |     |
|------------------------------------------------|----------------------|-----|-----|-----|
|                                                | Неразбавленный       | 1:2 | 1:4 | 1:8 |
| < 0,20                                         | -                    | -   | -   | -   |
| 0,20 - 0,40                                    | +                    | -   | -   | -   |
| 0,40 - 0,80                                    | +                    | +   | -   | -   |
| 0,80 - 1,60                                    | +                    | +   | +   | -   |
| 1,60 - 3,20 *                                  | +                    | +   | +   | +   |

("+" = агглютинация, "-" = нет агглютинации)

\* Уровень XDP выше чем 3,2 мкг/мл может быть оценен дальнейшим разбавлением более чем 1:8.

#### Интерпретация Результатов:

Нормальная концентрация продуктов полураспада поперечно-связанного фибрина (XDP, включающего D-димер домен) в плазме обычно менее 0,20 мкг/мл, поэтому предполагается что образцы, взятые у обычных людей, дадут отрицательный результат при данном испытании. Концентрация приблизительно 0,20 мкг/мл XDP или выше вызовет реакцию агглютинации с Латексным анализом Dimerest<sup>®</sup>. Скрининг-тест плазмы для установления диагностического значения XDP при диссеминированном внутрисосудистом свертывании (ДВС) и острых сосудистых заболеваниях, включая эмболию сосудов легких (PE) и глубокий венозный тромбоз (ГВТ), состояние которых трудно установить диспансеризацией. Концентрация XDP в плазме (выраженная в мкг/мл) может быть проанализирована полуколичественным анализом путем определения наивысшего титра разбавления, который остается положительным для частного образца (Таблица 1). Количество XDP, обнаруженных в образце, будет

зависеть от различных взаимосвязанных факторов *in vivo*, таких как серьезность тромботического случая, величина образования поперечно-связанного фибрина и время, прошедшее после тромботического случая до момента забора кров у пациента. Как и со всеми лабораторными тестами, выявление повышенных уровней поперечно-связанного фибрина в образцах при постановке диагноза, должно использоваться совместно с другой клинической информацией. Повышенный уровень поперечно-связанного фибрина, продукта распада включающего D-димер домен, проявляется у пациентов при сочетании иммунопреципитации и гель-электрофорез метода.<sup>3,7</sup> Моноклональные Антитела (МА)<sup>8</sup> сейчас позволяют специфично определять D-димер домены, и используются во вспомогательной диагностике эмболии сосудов легких, глубокого венозного тромбоза, артериального тромбоза и диссеминированного внутрисосудистого свертывания.<sup>9</sup> Dimertest® Латексный Анализ не реагирует перекрестно с фибриногеном, фактор XIIIa поперечно-связанный фибриноген,<sup>10</sup> иначе, фибриноген продукт распада.<sup>9</sup>

#### Ограничения анализа

Ревматоидный Фактор: При изучении образцов взятых у пациентов с ревматоидным артритом, 17 образцов агглютинировали с Латексным анализом Dimertest®. Во всех 17 образцах, агглютинация могла быть подавлена добавлением D-димера особого моноклонального антитела DD3B6/22, но не вместе с неспецифичным моноклональным антителом той же подгруппы, IgG3k.

Это предполагает что Латексный анализ Dimertest® невосприимчив к нарушениям ревматоидных факторов.

Вмешательство других циркулярных факторов вероятно, но о них пока не сообщалось. Однако, образцы пациентов с серповидно-клеточной болезнью, перенесшие кризис окклюзии сосудов покажут положительную реакцию агглютинации с Латексным анализом Dimertest®.

#### Особые рабочие характеристики

Плазма ста семидесяти (170) практически здоровых доноров крови была проверена с помощью Латексного анализа Dimertest®. Отрицательный результат был получен для ста шестидесяти двух (162) образцов. Это приравнивается к специфичности в 95,3 % (162/170).

Сто сорок пять (145) образцов плазмы состоящих из образцов, взятых у пациентов страдающих от подтвержденного диагноза или с высокой вероятностью тромботического случая, были протестированы при помощи Латексного анализа, а также другим эталонным методом агглютинации. Корреляция составила  $r = 0,94$  и уравнение регрессии:  $y = 1,19x$ . Внутри анализа повторяемость была определена для 10 повторных испытаний 3 образцов плазмы с различным уровнем XDP. Повторные измерения дали тот же результат.

Между анализами воспроизводимость была установлена с использованием 10 образцов плазмы с XDP титрами от 1 до 16. В серии из 10 опытов, повторное испытание этих образцов не выявило отклонение более чем на один титр.

Билирубин (0,2 мг/мл), липемия (30 мг/мл триглицерида), гемоглобин (5,0 мг/мл) и белок (0,06 г/мл гамма глобулина) не оказывают воздействия на Латексный анализ Dimertest®, что и было проверено в максимальной концентрации.

При изучении 50 антикоагулянтов сравнили цитратные, EDTA и гепариновые образцы плазмы, корреляция между титрами полученными Латексным анализом Dimertest® и вероятными титрами (полученными на основании Иммуноферментного твердофазного анализа значений XDP) составила  $r = 0,91$  для образцов цитратной плазмы,  $r = 0,73$  для образцов EDTA-плазмы и  $r = 0,78$  для образцов гепариновой плазмы. Цитрат является предпочтительным антикоагулянтом.

#### Список литературы

1. Pepper, D.S.; Preston, F.E.; Mibashan, R.S. Seminars in Hematology 15: 73-92; 1978.
2. U.S. Department of Health and Human Services CDC, Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, HHS Publication (CDC) 93-8395; 1999; Section II; 8-16
3. Gaffney, P.J. Clin. Chim. Acta 65: 109-115; 1975.
4. Lane, D.A.; Preston, F.E.; van Ross, M.E.; Kakkar, V.V. Brit. J. Haematol. 40: 609-615; 1978.
5. Whitaker, A.N.; Rowe, E.A.; Masci, P.P.; Gaffney, P.J. Thromb. Res. 18: 453-459; 1980.
6. Graef, H.; Hafter, R. Sem. Thromb. Haemostas, 8: 57-68; 1982.
7. Yoshioka, K.; Mizuno, S.; Myata, H.; Maki, S. Eur. Pediatrics. 138: 46-48; 1982.
8. Rylatt, D.B.; Blake, A.S.; Cottis, L.E.; Massingham, D.A.; Fletcher, W.A.; Masci, P.P.; Whitaker, A.N.; Elms, M.; Bunce, I.; Webber, A.J.; Wyatt, D.; Bundesen, P.G. Thromb. Res. 31: 767-778; 1983.
9. Elms, M.J.; Bunce, I.H.; Bundesen, P.G. Rylatt, D.B.; Webber, A.J.; Masci, P.P.; Whitaker, A.N. Am. J. Clin. Path. 85: 360-364; 1986.
10. Greenberg, C.S.; Devine, D.V.; McCrea, K.M. Am. J. Clin. Path. 87: 94-100; 1986.
11. Whitaker, A.N.; Elms, M.J.; Masci, P.P.; Bundesen, P.G.; Rylatt, D.B.; Webber, A.J.; Bunce, I.H. J. Clin. Pathol. 37: 882-887; 1984.

**Для точного нанесения капли ...**



**... вытрите насухо наконечник  
перед использованием.**

## N Латекс HCY [NHCU]

### Область применения

При *in-vitro* диагностике для количественного определения общего гомоцистина (HCY) в сыворотке, гепаринизированной и EDTA плазме человека с помощью нефелометрического иммуноанализа на системах BN<sup>®</sup> II и BN ProSpec<sup>®</sup>. Устройство помогает диагностировать и назначать лечение пациентам с подозрением на гипергомоцистеинемию или гомоцистеинурию.

### Конспект и пояснения

Гомоцистин – это аминокислота, получаемая из метионина, с добавлением фолиевой кислоты, витамина B6 и B12 для дальнейшего метаболизма. Гомоцистин существует в свободном виде, но, как правило, связан с белком. Мутации в генетическом коде ферментов, вовлеченных в метаболизм, таких как MTHFR (редуктаза 5,10-метилентетрагидролат), приводят к гипергомоцистеинемии<sup>1,2</sup>. Фолиевая кислота, витамин B6 и B12 являются необходимыми факторами для разрушения связей гомоцистина. Нехватка этих витаминов вызывает повышение уровня гомоцистина в плазме<sup>1,4</sup>. Гомозиготные мутации гена CBS (цистадина β-синтаза) вызывают тяжелую форму гипергомоцистеинемии, а также гомоцистеинурию.

Гипергомоцистеинемия, как правило, связана с повышенным риском ишемической болезни сердца, ее приступов, болезни периферических артерий и тромбоза глубоких вен<sup>1,5</sup>, наравне с повреждением почечных клубочков и преэклампсией во время беременности<sup>3,4</sup>. Высокая концентрация гомоцистина в крови вызывает эндотелиальную дисфункцию и играет значительную роль при сосудистых заболеваниях<sup>2,4</sup>. Гипергомоцистеинемия чаще встречается у пожилых людей, курильщиков, пациентов с почечными болезнями, диабетом или при жестком соблюдении вегетарианской диеты<sup>1</sup>.

Некоторые лекарства, такие как противосудорожные, антифолатные, а также анестезия с применением окиси азота и антагонисты витамина B6, повышают уровень концентрации гомоцистина в крови человека. При анализе образцов, взятых у пациентов, проходящих лечение с использованием 5-аденозил-метионина, существует возможность получить завышенные результаты по гомоцистину.

### Основы методики

#### Сравнительный анализ

Связанный гомоцистин в образце высвобождается под воздействием дитиотрейтола, после чего, при помощи фермента, превращается в S-аденозил-гомоцистин (SAH). Конъюгированный S-аденозилгомоцистин (SAC), добавляемый на следующем шаге, связывает антитела к SAH и частицы полистирола. При наличии SAH в образце, агрегируя частицы, полистирола либо отсутствует, либо наблюдается в незначительном количестве. В случае отсутствия SAH в образце, частицы полистирола агрегируются с конъюгированным SAC. Чем выше концентрация SAH в реакционной смеси, тем меньше рассеивается пучок света. Оценка выполняется путем сравнения со стандартом заданной концентрации.

### Реагенты

#### Предоставляемые материалы

- [NHCU] код OPAX
- 3 x 1,7 мл [NHCU] (REAGENT), N HCY реагент
- 3 x 2,2 мл [NHCU] RA
- 3 x 0,8 мл [NHCU] SR A
- 3 x 1,1 мл [NHCU] SR B

#### Состав

N HCY Реагент состоит из суспензии частиц полистирола, покрытых моноклональными антителами к S-аденозил-гомоцистину (SAH, мышь) (<0,1 г/л).

N HCY RA состоит из буферного стабилизированного раствора с редуцирующим агентом (дитиотрейтол, <0,5 г/л) и аденозина (<20 мг/л).

N HCY SR A состоит из буферного стабилизированного раствора с ферментом S-аденозил-L-гомоцистином гидролазы (рекомбинант) (<100 кЕД/л).

N HCY SR B состоит из буферного стабилизированного раствора конъюгата SAC со свинным тиреоглобулином (PTG-SAC) (<0,1 г/л).

#### Консерванты

N HCY Реагент: гентамицин 6,25 мг/л, амфотерицин 0,625 мг/л.

N HCY SR после смешивания с N HCY SR A и N HCY SR B: азид натрия <0,1%.

#### Предупреждения и меры предосторожности

1. Только для *in-vitro* диагностики.
2. Содержит азид натрия (<0,1 %) в качестве консерванта. Азид натрия может вступать в реакцию с медными или свинцовыми трубами холодной системы и образовывать взрывоопасные соединения. Утилизация должна проводиться в соответствии с региональными нормами и стандартами.

Каждый донор или донорский орган был протестирован и получен отрицательный результат по анализу на наличие вируса иммунодефицита (HIV) 1 и 2, вируса гепатита В (HBV) и вируса гепатита С (HCV) либо при помощи методов, соответствующих директиве по *in-vitro* диагностике для Евросоюза, либо методами, утвержденными Управлением по контролю за продуктами и лекарствами (США). Так как ни один из известных тестов не может дать 100 % гарантии отсутствия инфекционных агентов, со всеми анализами, взятыми у человека, следует обращаться с должной осторожностью.

#### Подготовка реагентов

N HCY Реагент и N HCY RA поставляются готовыми к использованию. N HCY Реагент необходимо аккуратно перемешать перед использованием.

N HCY SR: при помощи пипетки поместите все содержимое пробирки с N HCY SR A в пробирку с N HCY SR B и аккуратно перемешайте.

#### Хранение и устойчивость

Храните реагенты вдали от солнечного света!

Устойчивость от +2 до +8 °C: срок годности указан на этикетке.

#### Устойчивость после открытия

Две недели (N HCY Реагент, N HCY RA и N HCY SR смесь), если плотно закрыть сразу после использования в целях предотвращения загрязнения (например, микроорганизмами) и хранить при температуре от +2 до +8 °C.

#### Не замораживайте реагенты.

#### Устойчивость в приборе

N HCY Реагент, N HCY RA и N HCY SR смесь – не менее трех дней (по 8 часов в день) или сопоставимый промежуток времени.

Примечание: Устойчивость в приборе зависит от используемой системы BN<sup>®</sup>, а также лабораторных условий. Для получения более подробной информации см. руководство по эксплуатации систем BN<sup>®</sup> II и BN ProSpec<sup>®</sup>.

Необходимые дополнительные материалы, не входящие в комплект поставки Системы BN<sup>®</sup> II или BN ProSpec<sup>®</sup>

N Белковый стандарт (Protein Standard) SL, код OQIM

NT Белковый контроль (Protein Standard) SL/L, код OQIN

NT Белковый контроль (Protein Standard) SL/M, код OQIO

NT Белковый контроль (Protein Standard) SL/H, код OQIP

N Разбавитель (Diluent), код OQMT

BN<sup>®</sup> II Антииспарительная пробка (доп.), код OVLE

Доступные материалы и оборудование, описанные в руководстве по системам BN<sup>®</sup>.

### Пробы

Чтобы максимально уменьшить синтез HCY в эритроцитах после забора образцов, настоятельно рекомендуется их готовить следующим образом:

- Помещать все образцы крови (сыворотку и плазму) на лед сразу после забора.
- Не оставлять образцы при комнатной температуре перед центрифугированием.

Для исследования используйте наиболее свежие (находящиеся на хранении максимум 7 дней при температуре от +2 до +8 °C) или замороженные пробы человеческой сыворотки, а также гепаринизированные и EDTA (этилендиаминтетрауксусная кислота) образцы плазмы. Образцы сыворотки и плазмы могут храниться до трех месяцев при температуре ниже -20 °C, в случае, если они были заморожены в течение 24 часов после сбора и при хранении отсутствовала повторная заморозка. Сыворотка должна быть полностью свернувшейся и не содержать каких-либо частиц или следов фибрина после центрифугирования. Липемические или замороженные образцы, мутные после оттаивания, должны быть очищены центрифугированием (10 минут приблизительно на 15 000 x g) до анализа. Для мониторинга пациента не рекомендуется использовать различные типы образцов.

### Процедура

#### Применения

1. Обращайтесь к соответствующему руководству по системам BN<sup>®</sup> для подробных инструкций.
2. Реагенты и образцы, хранящиеся при температуре от +2 до +8 °C, могут быть сразу использованы для анализа в системах BN<sup>®</sup> II и BN ProSpec<sup>®</sup>.

#### Протокол испытания для систем BN<sup>®</sup>

Протокол испытания для сыворотки крови и плазмы включен в руководство, так же как и Программное обеспечение для соответствующего оборудования. Все действия выполняются системой автоматически.

#### Расчет референсной кривой

Референсные кривые строятся при мультиточечной калибровке. Серийные разбавления N Белкового стандарта SL производятся прибором автоматически при помощи N Разбавителя. Стандартные растворы должны быть использованы в течение 4 часов. Референсную кривую можно использовать в течение 2 недель или дольше, при контроле точности, например, если NT Белковые контроли SL/L, M и H остаются в пределах соответствующих интервалов доверия. При каждой замене партии реагентов необходимо строить новую референсную кривую. Точный диапазон измерений зависит от концентрации анализа в каждой партии N Белкового стандарта SL.

#### Исследование образцов

Образцы автоматически разбавляются в соотношении 1:5 N Разбавителем. Растворы должны быть исследованы в течение 4 часов. Для результатов, находящихся вне диапазона измерений, исследование можно повторить разбавив образец как 1:20. Повторные исследования с дальнейшим разбавлением проб описаны в руководстве по системам BN<sup>®</sup>.

#### Внутренний контроль качества

Анализ NT Белковых контролей SL/L, M и H должен проводиться после каждого расчета референсной кривой, после первого использования колбы с реагентом, а так же для каждого измерения образцов. Контрольные растворы исследуются и оцениваются так же, как и тестируемые образцы. Привозное значение и доверительный интервал для контролей даны в соответствующей Таблице приписанных значений. Для ввода приписанных значений в систему BN ProSpec<sup>®</sup> можно воспользоваться информационным компакт-диск (код OVLP).

Если результаты контрольных измерений лежат за пределами интервала доверия, анализ необходимо повторить. Если отклонение подтверждается повторным измерением, должна быть вычислена новая референсная кривая. Результаты пациента не должны быть отпущены, пока причина отклонений не установлена и не устранена.

#### Результаты

Оценка выполняется автоматически в микрол/л или производной единице, определяемой производителем системы BN<sup>®</sup>.

### Ограничения анализа

Мутные пробы и содержащиеся в них частицы могут повлиять на результаты анализа. Пробы, содержащие осадок, должны быть центрифугированы перед анализом. Липемические пробы, которые не очищаются центрифугированием (10 минут приблизительно 15 000 x g), должны быть исключены из анализа. Следующие вещества не оказывают значительного эффекта (± 20%) в методе HCY при добавлении в указанных концентрациях: билирубин до 600 мг/л, триглицерид до 4,21 ммоль, общий белок до 88 г/л. Некоторые лекарства, такие как противосудорожные, антифолатные, а также анестезия с применением окиси азота и антагонисты витамина B6, повышают уровень концентрации гомоцистина в крови человека. Образцы пациентов могут содержать реактоидные и гетерофильные антитела, что может повлиять ошибочно завышенные или заниженные результаты иммуноанализа. Данный анализ разработан в целях минимизации влияния реактоидных и гетерофильных антител на результат исследования. Однако, полностью исключить их влияние не представляется возможным.

Компания Siemens Healthcare Diagnostics провела тестирование на использование данных реагентов с различными анализаторами в целях оптимизации производительности и соответствия требованиям, предъявляемых к продукции. Компания Siemens не поддерживает пользовательские изменения, так как они могут повлиять на производительность системы и результаты анализа. За использование рекомендаций, относящихся от приведенных здесь, или реагентов, не входящих в список заявки Siemens Application Sheets, вместо оригинальных, ответственность ложится на пользователя. Полученные результаты анализов всегда должны интерпретироваться совместно с историей болезни, клинической картиной пациента, а так же с результатами других медицинских обследований.

Из-за матричных эффектов, отличающиеся результаты для контроля и лабораторные опытные результаты исследования образцов могут означать их соответствие от выбранного метода исследования. Поэтому может понадобиться оценка данных результатов в отношении целевых значений, характерных для метода.

Сравнительные исследования сыворотки и плазмы методом N Латекс HCY для сыворотки показали результаты более чем на 10% выше, чем для аналогичного анализа EDTA-плазмы. Поэтому не рекомендуется производить анализы для одного и того же пациента попеременно по EDTA плазме или по сыворотке. Между концентрацией гомоцистина в EDTA и гепаринизированной плазме значительных различий выявлено не было.

### Референсный интервал

Концентрация гомоцистина в плазме или сыворотке крови здоровых людей может изменяться в зависимости от возраста, пола, географического расположения, состояния питания и генетических факторов. Эталонные интервалы в научной литературе для взрослых мужчин и женщин составляют от 5 до 15 микрол/л. При исследовании 800 практически здоровых людей, 95 перцентили составили 15,7 микрол/л гомоцистина<sup>1</sup>. При исследовании 193 образцов EDTA плазмы крови здоровых людей из центральной Европы были получены значения от 4,9 до 15,0 микрол/л (2,5 - 95 перцентили) при помощи N Латекс HCY. Тем не менее, каждая лаборатория определяет свой собственный эталонный интервал, с учетом многих переменных, которые могут отличаться для каждой изученной группы жителей.

### Особые рабочие характеристики

#### Аналитическая чувствительность

Чувствительность теста определяется по нижней границе референсной кривой и поэтому зависит от концентрации анализа в N Белковом Стандарте SL. Аналитическая чувствительность рассчитывается при помощи среднего, стандартного отклонения и коэффициент вариации (CV) в 20 прогнозе с N Разбавителем и N Белковым стандартом SL – 1:160 (нижняя точка референсной кривой) проанализированных при помощи системы BN<sup>®</sup>. Стандартная чувствительность для гомоцистина составляет 2 микрол/л.

Стандартные диапазоны измерений даны в руководстве по эксплуатации системы BN<sup>®</sup>. Стандартный диапазон измерений для образцов, разведенных в соотношении 1:5, составляет от 2 до 64 мкмоль/л.

#### Специфичность

Перекрестные реакции среди используемых антител не выявлены. При помощи системы BN<sup>®</sup> II были исследованы образцы плазмы, стимулированные различными концентрациями аденозина (до 1 мМ), S-аденозил-L-метионина (до 0,5 мМ), L-цистатиона (до 2 мМ), L-цистина (до 5 мМ), L-метионина (до 0,4 мМ), гомоцистин-тиолактона (до 0,1 мМ) и глутатиона (до 50 мМ), и было получено отклонение результатов в сравнении с аналогичными не стимулированными образцами с содержанием L-цистина <5,0% и <1,0%, и <10,0% глутатиона.

#### Точность

Следующие коэффициенты вариации (CV) были получены с использованием N Латекс HCY (n = 40) на системе BN<sup>®</sup>.

| Образец                | Среднее значение (мкмоль/л) | Внутри анализа CV (%) | Между анализами CV (%) | Общий CV (%) |
|------------------------|-----------------------------|-----------------------|------------------------|--------------|
| N/T Белк. контроль SLI | 6,7                         | 4,5                   | 7,3                    | 8,5          |
| N/T Белк. контроль SLM | 11,0                        | 3,4                   | 5,6                    | 6,8          |
| N/T Белк. контроль SLH | 22,3                        | 4,6                   | 3,7                    | 5,9          |
| Пул EDTA плазмы 1      | 11,8                        | 4,2                   | 6,1                    | 7,4          |
| Пул EDTA плазмы 2      | 32,9                        | 2,7                   | 3,7                    | 4,8          |

Результаты были оценены при помощи дисперсионного анализа.

#### Сопоставление методов

Было проведено исследование 87 образцов плазмы с концентрацией гомоцистина от 4,83 до 60,13 мкмоль/л при помощи N Латекс HCY (y). Для сравнения, эти образцы были также исследованы методом иммуноанализа (x) представленным на рынке. Регрессионный анализ результатов выявил следующую зависимость:  $y = 0,97x + 0,01$  мкмоль/л ( $r = 0,99$ ).

#### Примечание

Значения, относящиеся к особым рабочим характеристикам анализа, являются стандартными и не должны приниматься за спецификации N Латекс HCY.

#### Список литературы

1. Stanger O, Hermann W, Pietzlik K et al. DACH-LIGA Homocysteine (German, Austrian and Swiss Homocysteine Society): Consensus paper on the rational clinical use of homocysteine, folic acid and B-vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases: guidelines and recommendations. Clin Chem Lab Med 2003; 41: 1392-1403.
2. The Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke. JAMA 2002; 288:2015-22.
3. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, et al. Facts and Recommendations about Total Homocysteine Determinations: An Expert Opinion. Clin Chem 2004; 50: 3-32.
4. Chambers JC, Seddon MDI, Shah S, Kooner JS. Homocysteine - a novel risk factor for vascular disease. J R Soc Med 2001; 94: 10-3.
5. Hermann W. The importance of hyperhomocysteinemia as a risk factor for diseases: an overview. Clin Chem Lab Med 2001; 39: 668-74.
6. Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. BMJ 2002; 325: 1202-8.
7. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. JAMA 1997; 277: 1775-81.

BN ProSpec является торговой маркой Siemens Healthcare Diagnostics.

\* BN является торговой маркой Siemens Healthcare Diagnostics.

Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH

Emil-von-Behring-Str. 76  
35041 Marburg/Германия  
[www.siemens.com/diagnostics](http://www.siemens.com/diagnostics)



| Список обозначений                                                                |                                                       |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
|  | Не использовать повторно.                             |
|  | Использовать до                                       |
|  | Партия                                                |
|  | Код номер                                             |
|  | Внимание, см. соответствующие документы               |
|  | Производитель                                         |
|  | Уполномоченный представитель в европейском сообществе |
|  | Содержимого достаточно для «n» тестов                 |
|  | Медицинский прибор для <i>In Vitro</i> диагностики    |
|  | Температурный режим                                   |
|  | См. Инструкции по эксплуатации                        |
|  | Не стерильно                                          |
|  | Знак CE                                               |
|  | Содержимое                                            |
|  | Объем восстановления                                  |
|  | Концентрация                                          |

© 2008 Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH.  
Все права защищены.

## Набор N Латекс RF [NRF]

### Область применения

Количественное определение ревматоидных факторов (РФ) в человеческой сыворотке, плазме с добавлением гепарина лития и EDTA-плазме при помощи систем BN<sup>®</sup> II и BN ProSpec<sup>®</sup> в помощь при диагностике ревматоидного артрита.

### Конспект и пояснения

РФ являются аутоиммунными антителами к Fc фрагменту человеческого IgG с измененной третичной структурой. Данные аутоиммунные антитела также взаимодействуют с IgG животных. РФ преимущественно принадлежат к классу IgM, однако также встречаются и во всех других классах иммуноглобулинов<sup>1,2</sup>.

Выявление РФ является одним из критериев, используемых Американской Ассоциацией по лечению ревматизма (ARA), при диагностике ревматоидного артрита (РА)<sup>3</sup>, так как у 70–90% пациентов с РА обнаруживаются ревматоидные факторы. РФ играют важную роль в дифференциальном диагностировании РА и его отделении от прочих ревматических заболеваний<sup>4</sup>. Кроме того они позволяют делать прогнозы в отношении РА<sup>5</sup>. Высокое содержание РФ часто указывает на более тяжелое течение болезни. Однако, также существуют саркоидотипичные типы РА, при которых РФ не выявляется, а может быть связан с другими ревматическими заболеваниями, такими как гелатит, эндокардит и паразитными или вирусными инфекциями или иными аутоиммунными заболеваниями. В процессе старения также увеличивается процент положительных результатов на РФ при отсутствии соответствующих признаков заболеваний<sup>6</sup>. Таким образом, тест на выявление только РФ не может использоваться в качестве диагностики, а должен интерпретироваться совместно с результатами дальнейших клинических исследований.

РФ был впервые обнаружен при агглютиновании эритроцитов овцы антителами крови кролика (тест Вассера-Розе (Wassermann-Rose)), но затем предпочтение было отдано методу агглютинования частиц полистирола, покрытых человеческим IgG (латексный тест)<sup>7</sup>. Последний метод легко может быть автоматизирован и обеспечивает стандартизованные количественные результаты. Набор N Латекс RF сочетает в себе элементы обеих процедур обнаружения, в которых частицы полистирола покрыты иммунным комплексом IgG человека и животного.

### Основа методики

Совокупность частиц полистирола, покрытых иммунным комплексом, содержащим человеческий иммуноглобулин и антитела овцы к IgG человека, при смешивании с образцом, содержащим РФ, агрегируются. При облучении светом агрегат рассеивает световой лучок. Интенсивность рассеивания света зависит от концентрации соответствующего белка в образце. Оценка выполняется путем сравнения со стандартом заданной концентрации.

### Реагенты

#### Предоставляемые материалы

Набор N Латекс RF, код OPCE 03, содержащий

3 x 2 мл (N RF) [REAGENT], N RF реагент

3 x 2,4 мл (N RF) [SUPPLEMENT], N RF присадка

Набор N Латекс RF, код OPCE 05, содержащий

4 x 4 мл (N RF) [REAGENT], N RF реагент

4 x 4,8 мл (N RF) [SUPPLEMENT], N RF присадка

#### Состав

N RF Реагент состоит из частиц полистирола, покрытых иммунным комплексом, содержащим человеческий  $\gamma$ -глобулин и анти- $\gamma$ -глобулин овцы, то есть комбинацию человеческого и животного  $\gamma$ -глобулина.

N RF Присадка состоит из водного раствора полиэтилен гликоля (макс. 70 г/л) с детергентом.

#### Консерванты

N RF Реагент: гентамицин сульфат 6,96 мг/л, амфотерцин В 0,696 мг/л

N RF Присадка: азид натрия < 0,1 %

#### Предупреждения и меры предосторожности

1. Только для *in vitro* диагностики.
2. Содержит азид натрия (< 0,1 %) в качестве консерванта. Азид натрия может вступать в реакцию с медными или серебряными трубами сливной системы и образовывать взрывоопасные соединения. Утилизация должна проводиться в соответствии с региональными нормами и стандартами.
3. Содержит человеческий материал.

Каждый донор или донорный орган был протестирован и получен отрицательный результат по анализу на наличие вируса иммунодефицита (HIV) 1 и 2, вируса гепатита В (HBV) и вируса гепатита С (HCV) либо при помощи методов, соответствующих директиве по *in vitro* диагностике для Евросоюза, либо методами, утвержденными Управлением по контролю за продуктами и лекарствами (FDA). Так как ни один из известных тестов не может дать 100 % гарантии отсутствия инфекционных агентов, со всеми анализами, взятыми у человека, следует обращаться с должной осторожностью.

#### Подготовка реагентов

N RF Реагент находится в жидком состоянии и готов к использованию. Перед использованием его необходимо аккуратно перемешать, избегая энергичных взбалтываний и образования пены.

N RF Присадка: раствор готов к использованию.

#### Хранение и устойчивость

Устойчивость от +2 до +8 °C.

Срок годности указан на этикетке.

Устойчивость после открытия.

Четыре недели (N RF Реагент и N RF Присадка), если плотно закрыть сразу после использования в целях предотвращения загрязнения (например, микроорганизмами) и хранить при температуре от +2 до +8 °C. Не замораживайте реагенты.

Во время хранения при температуре от +2 до +8 °C возможна кристаллизация N RF Присадки, однако раствор снова перейдет в жидкое состояние при комнатной температуре (от +15 до +25 °C). На рабочие характеристики кристаллизация воздействия не оказывает.

#### Устойчивость в приборе

Устойчивость в приборе зависит от используемой системы BN<sup>®</sup>, а также лабораторных условий. Не следует оставлять емкость с реагентами для системы BN<sup>®</sup> II открытой, вместо чего рекомендуется закрыть емкость сразу после использования и хранить при температуре от +2 до +8 °C. Для получения более подробной информации см. руководство по эксплуатации систем BN<sup>®</sup> II и BN ProSpec<sup>®</sup>.

Необходимые дополнительные материалы, не входящие в комплект поставки

Система BN<sup>®</sup> II или BN ProSpec<sup>®</sup>

N Ревматологический стандарт (Rheumatology Control) SL, код OOKZ

N/T Ревматологический контроль (Rheumatology Control) SL1 и SL2, код OQDB и OQDC

N Растворитель (Diluent), код OUMT

BN<sup>®</sup> II Антииспарительная пробка (доп.), код OVLE

Дополнительные материалы и оборудование, описанные в руководстве по системам BN<sup>®</sup>.

### Образцы

Подходящими являются образцы человеческой сыворотки, плазмы, обработанной гепарином лития, или EDTA-плазмы, либо свежие (хранение не более 8 дней при температуре от +2 до +8 °C), либо в замороженном виде. Образцы сыворотки и плазмы могут храниться до трех месяцев при температуре -20 °C, в случае, если они были заморожены в течение 24 часов после сбора и при хранении отсутствовала повторная заморозка. Сыворотка должна быть полностью свернувшейся и не содержать каких-либо

Мутные образцы должны быть очищены центрифугированием (10 минут приблизительно на 15 000 x g) до анализа.

### Процедура

#### Примечания

1. Обращайтесь к соответствующему руководству по системам BN<sup>®</sup> для подробных инструкций.

2. Разрешается использовать совместно только компоненты из наборов с одинаковым номером партии.

3. N RF Реагент и N RF Присадка должны заменяться в системах BN<sup>®</sup> одновременно.

#### Протокол испытания для систем BN<sup>®</sup>

Протокол испытания для сыворотки крови и плазмы включен в руководство, так же как и Программное обеспечение для соответствующего оборудования. Все действия выполняются системой автоматически.

#### Расчет референсной кривой

Референсные кривые строятся при мультиточечной калибровке. Серийные разбавления N Белкового стандарта SL производятся прибором автоматически при помощи N Разбавителя. Стандартные растворы должны быть использованы в течение 4 часов.

Референсную кривую можно использовать в течение 4 недель или дольше, при контроле точности, например, если N/T Ревматологические контроли SL1 и SL2 остаются в пределах соответствующих интервалов доверия. При каждой замене партии реагентов необходимо строить новую референсную кривую. Точный диапазон измерений зависит от концентрации аналита в каждой партии N Ревматологического стандарта SL. Стандартные диапазоны измерений указаны в соответствующем руководстве по эксплуатации системы BN<sup>®</sup>.

#### Исследование образцов

Образцы сыворотки и плазмы автоматически разбавляются в соотношении 1:20 при помощи N Разбавителя. Разбавленные образцы должны быть исследованы в течение 4 часов.

#### Внутренний контроль качества

Анализ N/T Ревматологического контроля SL1 и SL2 должен проводиться после каждого расчета референсной кривой, после первого использования колбы с реагентом, а так же для каждого измерения образцов. Контрольные растворы исследуются и оцениваются так же, как и тестируемые образцы. Заданное значение и доверительный интервал для контроля даны в соответствующей Таблице приписанных значений. Для ввода приписанных значений в систему BN ProSpec<sup>®</sup> можно воспользоваться информационным компакт-диск (код OVLP).

Если результат контрольных измерений лежит за пределами интервала доверия, анализ необходимо повторить. Если отклонение подтверждается повторным измерением, должна быть выключена новая референсная кривая. Результаты пациента не должны быть ослеплены, пока причина отклонений не установлена и не устранена.

Результаты

Оценка выполняется автоматически в ME/мл на системе BN<sup>®</sup>. Для результатов, находящихся вне диапазона измерений, исследование можно повторить с более высокой степенью разбавления образцов. Повторные исследования с дальнейшим разбавлением образцов описаны в руководстве по системам BN<sup>®</sup>.

### Ограничения анализа

Концентрация билирубина до 0,6 г/л и свободного гемоглобина до 10 г/л не оказывают воздействия на измерения сыворотки.

Мутные образцы и содержащиеся в них частицы могут повлиять на результаты анализа. Поэтому образцы, содержащие осадок, должны быть центрифугированы перед анализом. Липемические образцы, которые не осаждаются центрифугированием (10 минут приблизительно 15 000 x g) и образцы, интактные нагретым, должны быть исключены из испытаний.

Компания Siemens HealthCare Diagnostics провела тестирование на использование данных реагентов с различными анализаторами в целях оптимизации производительности и соответствия требованиям, предъявляемых к продукции. Компания Siemens не поддерживает пользовательские изменения, так как они могут повлиять на производительность системы и результаты анализа. За использование рекомендаций, отличающихся от приведенных здесь, или реагентов, не входящих в список записи Siemens Application Sheets, вместо оригинальных, ответственность ложится на пользователя.

Из-за матричных эффектов, отличающиеся результаты для контроля и лабораторные результаты исследования образцов могут означать их зависимость от выбранного метода исследования. Поэтому может понадобиться оценка данных результатов в отношении целевых значений, характерных для метода.

### Эталонный интервал

При исследовании сыворотки крови 253 доноров из центральной Европы при помощи набора N Латекс RF, 87,5 процентиля составили: 15,9 ME/мл.

В нормальной популяции РФ, как правило, ниже диапазона измерения данного метода. Однако, у здоровых асимптоматичных людей, РФ может показывать в том числе и низкий титр. Частота появления ложноположительного результата растет с возрастом и схожа для мужчин и женщин. Тем не менее, каждая лаборатория определяет свой собственный эталонный интервал, с учетом многих переменных, которые могут отличаться для каждой изученной группы жителей. Полученные результаты анализа всегда должны интерпретироваться совместно с историей болезни, клинической картиной пациента, а так же с результатами других медицинских обследований.

### Особые рабочие характеристики

#### Диапазон анализа

Базовый диапазон измерений для набора N Латекс RF составляет от 10 до 640 ME/мл. Чувствительность теста определяется по нижней границе референсной кривой и поэтому зависит от концентрации аналита в N Ревматологическом стандарте SL.

#### Специфичность

Агглютинация, возбуждаемая частицами, чаще всего выявляет РФ в иммуноглобулине класса M (IgM)<sup>1</sup>.

#### Точность

Тестирование точности прибора проведено в соответствии с директивой CLSI EP5-A2<sup>1</sup> с двумя контрольными проблемами и 4 путями сыворотки с различным содержанием РФ. При помощи дисперсионного анализа (n = 80) результатов для системы BN<sup>®</sup> были получены следующие значения коэффициента вариации (CV).

| Образец                 | Среднее значение (ME/мл) | Воспроизв. CV (%) | Между анализами CV (%) | Внутри анализа CV (%) |
|-------------------------|--------------------------|-------------------|------------------------|-----------------------|
| Контроль 1              | 69,3                     | 2,2               | 6,2                    | 5,7                   |
| Контроль 2              | 170,2                    | 2,2               | 3,1                    | 3,8                   |
| Пул сыворотки низкий 1  | 27,9                     | 2,7               | 5,4                    | 7,9                   |
| Пул сыворотки низкий 2  | 81,3                     | 2,2               | 4,8                    | 5,3                   |
| Пул сыворотки высокий 1 | 582,7                    | 5,1               | 4,8                    | 7,7                   |
| Пул сыворотки высокий 2 | 600,8                    | 5,3               | 5,8                    | 8,1                   |

#### Сопоставление методов

90 образцов сыворотки (с содержанием РФ от 15,8 МЕ/мл до 589,8 МЕ/мл) были проанализированы при помощи N Латакс RF (x) и набора N Латакс RF (y) на системе BN\*. Корреляция результатов выявила следующую зависимость:  $y = 1,098 x - 12,94$  МЕ/мл,  $r = 0,98$ .

#### Примечание

Значения, соответствующие не особые рабочие характеристики анализа, являются стандартными значениями и не должны приниматься за спецификации набора N Латакс RF.

#### Список литературы

1. Mierau R, Genli E. Autoantibodies in rheumatoid arthritis. In: Thomas L ed. Clinical Laboratory Diagnostics. TH-Books, Frankfurt/Main 1998;810-3.
2. Dorner RW, Alexander RL, Moore TL. Rheumatoid factors. Clin Chim Acta 1987;167:1-21.
3. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1988;31:315-24.
4. Scott DL. Prognostic factors in early rheumatoid arthritis. Rheumatol 2000;39 Suppl 1:24-9.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline - Second Edition. CLSI document EP5-A2 (ISBN 1-56238-542-9). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898, USA, 2004.

\* BN является торговой маркой Siemens Healthcare Diagnostics.

BN ProSpec является торговой маркой Siemens Healthcare Diagnostics.

Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH

Emil-von-Behring-Str. 78 35041

Marburg/Германия

[www.siemens.com/diagnostics](http://www.siemens.com/diagnostics)



# Список обозначений

|  |                                                       |
|--|-------------------------------------------------------|
|  | Не использовать повторно.                             |
|  | Использовать до                                       |
|  | Партия                                                |
|  | Код номер                                             |
|  | Внимание, см. соответствующие документы               |
|  | Производитель                                         |
|  | Уполномоченный представитель в европейском сообществе |
|  | Содержимого достаточно для $\langle n \rangle$ тестов |
|  | Медицинский прибор для <i>In Vitro</i> диагностики    |
|  | Температурный режим                                   |
|  | См. Инструкции по эксплуатации                        |
|  | Не стерильно                                          |
|  | Знак CE                                               |
|  | Содержимое                                            |
|  | Объем восстановления                                  |
|  | Концентрация                                          |

© 2008 Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH.  
Все права защищены.

## Набор N Латекс CDT

### Область применения

При  $\text{HbV}$ -диагностике для количественного определения углеводно-дефицитного трансферрина (CDT) в сыворотке крови человека с помощью нефелометрического иммуноанализа на системах BN<sup>®</sup> II и BN ProSpec<sup>®</sup> для выявления хронически повышенного потребления алкоголя.

### Конспект и пояснения

Главным компонентом трансферрина сыворотки крови является гликопротеин с молекулярной массой около 80 кД, содержащий две полисахаридных боковых цепи. На каждой боковой цепи есть по 2 окончания сиаловой кислоты. Однако, трансферрин сыворотки крови человека также может встречаться в различных изоформах с различной степенью гликозилирования.

Тетрасахаридная с двумя углеводными боковыми цепями, на каждой из которых есть по два окончания сиаловой кислоты, преобладает у 90% здоровых людей<sup>1</sup>. Молекулы трансферрина с одной боковой углеводной цепью (дисахаротрансферрин) или без боковых цепей (асиалотрансферрин) встречаются в большом количестве у людей, регулярно употребляющих алкоголь<sup>2</sup>. Эти и другие структурно измененные изоформы трансферрина вызываются чрезмерным употреблением алкоголя и более известны как CDT (карбогидрат-дефицитный трансферрин).

Как правило, ежедневное употребление 50 – 60 г этилового спирта в течение двух недель приводит к повышению концентрации CDT. Повышенная концентрация CDT может позднее нормализоваться в случае воздержания от употребления алкоголя от двух до четырех недель, в зависимости содержания CDT<sup>3,4</sup>. Определение уровня CDT позволяет упростить выявление хронической алкогольной зависимости у пациентов, осуществлять мониторинг изменений в потреблении алкоголя и воздержания от дальнейшего употребления. Различные исследования показали, что уровень CDT является одним из явных признаков, указывающих на продолжительное употребление алкоголя<sup>4,5,6</sup>.

Такие некоторые болезни, не вызываемые алкоголем, могут повышать уровень CDT, например, хронический активный гепатит, билиарный цирроз печени, отказ в работе печени и, крайне редко, уровень может повышаться из-за CDG (карбогидрат-дефицитный гликопротеин)<sup>7</sup>.

Подсчет процентного содержания CDT в растворах CDT и трансферрина позволяет минимизировать влияние концентрации трансферрина, железа и дисфункции печени от липок до форм средней тяжести на результат анализа CDT. Такая точность диагностирования возможно увеличить используя комбинацию CDT и  $\gamma\text{GT}$  (Г-глуконилтрансфераза)<sup>8,9</sup>.

### Основы методики

#### Сравнительный анализ

CDT в образце борется с частицами полистирола, покрытыми CDT, за точки крепления к монохлоральным антителам, специфичным к человеческому CDT. При наличии CDT в образце, агрегация отсутствует или наблюдается незначительная агрегация частиц полистирола. В случае отсутствия CDT в образце частицы полистирола агрегируются. Чем выше концентрация CDT в образце, тем меньше рассеивается луч света. Оценка выполняется путем сравнения со стандартом заданной концентрации.

### Реагенты

#### Предоставляемые материалы

[N CDT], код OPSC

3 x 0,9 мл [N CDT] [REAGENT]1], N CDT Реагент 1

3 x 0,9 мл [N CDT] [REAGENT]2], N CDT Реагент 2

3 x 2 мл [N CDT] [SUPPLEMENT], N CDT Дополнительный реагент

3 x 1 мл [N CDT] [STANDARD], N CDT Стандарт SL

3 x 1 мл [N CDT] [CONTROL]1], N CDT Контроль SL1

3 x 1 мл [N CDT] [CONTROL]2], N CDT Контроль SL2

#### Состав и стандартизация

N CDT Реагент 1 состоит из суспензии частиц полистирола, покрытых карбогидрат-дефицитным трансферрином ( $< 0,017 \text{ г/л}$ ).

N CDT Реагент 2 состоит из суспензии частиц полистирола, покрытых монохлоральными антителами к CDT (мышь) ( $< 0,009 \text{ г/л}$ ).

N CDT Дополнительный реагент состоит из буферного фосфатного физиологического раствора с добавлением поливинил гликоль сорбит монолаурата (5 г/л) и EDTA ( $< 0,2 \text{ ммоль/л}$ ).

N CDT Стандарт SL состоит из матрицы стабилизированной сыворотки крови человека и карбогидрат-дефицитного трансферрина. Концентрация CDT задана относительно значения CDT. Приписанное значение дано во вложенной таблице.

N CDT Контроль SL1 и N CDT Контроль SL2 состоит из матрицы стабилизированной сыворотки крови человека и карбогидрат-дефицитного трансферрина. Концентрация CDT задана относительно N CDT Стандарта SL. Приписанное значение и интервал доверия для N CDT Контроль SL1 и SL2 приведены в таблице ниже. Также в них приведены концентрация трансферрина и % CDT для N CDT Контроля SL1 и SL2. Концентрация трансферрина для данных растворов откалибрована в соответствии с N Белковым стандартом SL, а % CDT рассчитан с учетом соответствующих концентраций CDT и трансферрина.

#### Консерванты

N CDT Реагент 1 и N CDT Реагент 2: Гентамицин 6,25 мг/л, амфотерицин 0,625 мг/л

N CDT Дополнительная присадка, N CDT Стандарт SL, N CDT Контроль SL1 и N CDT

Контроль SL2:

Азид натрия  $< 0,1 \text{ %}$ .

#### Предупреждения и меры предосторожности

1. Только для  $\text{in vitro}$  диагностики.

2. Содержит азид натрия ( $< 0,1 \text{ %}$ ) в качестве консерванта. Азид натрия может вступать в реакцию с медными или свинцовыми трубами сливной системы и образовывать взрывоопасные соединения. Утилизация должна проводиться в соответствии с национальными нормами и стандартами.

3. Каждый донор или донорный орган был протестирован и получен отрицательный результат по анализу на наличие вируса иммунодефицита человека (HIV) 1 и 2, вируса гепатита В (HBV) и вируса гепатита С (HCV) либо при помощи методов, соответствующих директиве по  $\text{in vitro}$  диагностике для Евросоюза, либо методами, утвержденными Управлением по контролю за продуктами и лекарствами (США). Так как ни один из известных тестов не может дать 100 % гарантии отсутствия инфекционных агентов, со всеми анализами, взятыми у человека, следует обращаться с должной осторожностью.

#### Подготовка реагентов

Реагенты, стандарт и контроль готовы к использованию и не требуют предварительной подготовки. Перед первым использованием необходимо аккуратно перемешать.

#### Хранение и устойчивость

Храните реагенты вдали от солнечного света!

Устойчивость от  $+2$  до  $+8 \text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Срок годности указан на этикетке.

#### Устойчивость после открытия

Для недели для всех реагентов, стандартов и контролей, если плотно закрыть сразу после использования и хранить при температуре от  $+2$  до  $+8 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Не замораживать реагенты.

#### Устойчивость в системах BN<sup>®</sup> II и BN ProSpec<sup>®</sup>

Не менее трех дней (по 8 часов в день) или сопоставимый промежуток времени. Для систем BN<sup>®</sup> II и BN ProSpec<sup>®</sup> – в течение 30 дней. Для систем BN<sup>®</sup>, а также информации см. руководство по эксплуатации.

эксплуатации систем BN<sup>®</sup> II и BN ProSpec<sup>®</sup>. Устойчивость в системе BN<sup>®</sup> ProSpec<sup>®</sup> N CDT Контроль SL1 и SL2 указаны в руководстве по эксплуатации системы.

Необходимые дополнительные материалы, не входящие в комплект поставки

Система BN<sup>®</sup> II или BN ProSpec<sup>®</sup>

N Дополнительный реагент (Supplementary Reagent) L, код OQTD

N Разбавитель (Diluent), код OUMT

BN<sup>®</sup> II Антистабилизирующая пробка (доп.), код OVLE

Дополнительно, для выявления трансферрина:

N Иммуная сыворотка для человеческого трансферрина (Antiserum to Human Transferrin), код OSAX

N Белковый стандарт (Protein Standard) SL, код OQIM

N Белковый контроль (Protein Control) SL1, M, H, коды OQIN, OQIO, OQIP (для подтверждения точности обнаружения трансферрина)

N Буфер реакции (N Reaction Buffer), код OUMS

Дополнительные материалы и оборудование, описанные в руководстве по системам BN<sup>®</sup>.

### Пробы

Подходят образцы человеческой сыворотки либо сывязи (хранение не более 7 дней при температуре от  $+2$  до  $+8 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ), либо в замороженном виде. Образцы могут храниться до трех месяцев при температуре  $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , в случае, если они были заморожены в течение 24 часов после сбора и при хранении удалось избежать повторной заморозки. Сыворотка должна быть полностью свернувшейся и не содержать каких-либо частиц или следов фибрина после центрифугирования. Липемические или замороженные образцы, мутные после оттаивания, должны быть очищены центрифугированием (10 минут приблизительно на 15 000 x g) до анализа.

### Процедура

#### Примечания

- Обращаться к соответствующему руководству по системам BN<sup>®</sup> для подробных инструкций.
- Реагенты и образцы, хранящиеся при температуре от  $+2$  до  $+8 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , могут быть сразу использованы для анализа в системах BN<sup>®</sup> II и BN ProSpec<sup>®</sup>.
- Чтобы получить процентное содержание CDT в образце на системе BN<sup>®</sup> II или в BN ProSpec<sup>®</sup>, помимо концентрации CDT, необходимо указать концентрацию трансферрина, что может быть реализовано при помощи анализа трансферрина на системах BN<sup>®</sup>.
- Ввод содержания трансферрина для N CDT Контроля SL1 и SL2 упрощает вычисление процентного содержания CDT для индивидуальных контрольных измерений. Но не подходит для контроля качества анализа трансферрина, произведенного системами BN<sup>®</sup>.

#### Протокол испытания для систем BN<sup>®</sup>

Протокол испытания для сыворотки крови включен в руководство, так же как и программное обеспечение для соответствующего оборудования.

Все действия выполняются системой автоматически.

#### Расчет референсной кривой

Референсные кривые строятся при мультиточечной калибровке. Серийные разбавления N CDT Стандарта SL производятся автоматически при помощи N Разбавителя. Стандартные растворы должны быть использованы в течение 4 часов. Приписанное значение дано во вложенной таблице. Для ввода приписанных значений в систему BN ProSpec<sup>®</sup> можно воспользоваться информационным компакт-диск (код OVLP). Референсная кривая может использоваться в течение 2 недель. Референсную кривую можно использовать сверх указанного срока, если контролируется точность, например, если N CDT Контроль SL1 и SL2 остаются в пределах соответствующего интервала доверия. При каждой замене партии реагентов необходимо строить новую референсную кривую. Точный диапазон измерений зависит от концентрации белка в каждой партии N CDT Стандарта SL. Стандартные диапазоны измерений даны в руководстве по эксплуатации системы BN.

#### Исследование образцов

Образцы автоматически разбавляются в соотношении 1:5 N Разбавителем. Растворы должны быть исследованы в течение 4 часов. Ввод вручную коэффициента разбавления образцов, отличного от 1:5 недопустим.

#### Внутренний контроль качества

Анализ N CDT Контроля SL1 и SL2 должен проводиться после каждого расчета референсной кривой, после первого использования проб с реагентом, а так же для каждого измерения образцов сыворотки или плазмы. Контрольные растворы исследуются и оцениваются так же, как и тестируемые образцы. Приписанное значение и интервал доверия указаны во вложенной таблице. Для ввода приписанных значений в систему BN ProSpec<sup>®</sup> можно воспользоваться информационным компакт-диск (код OVLP). Указанные приписанные значения предназначены для использования в лаборатории в качестве контроля при оценке точности и референсных кривых. При использовании в целях контроля точности, пользователь должен ввести конкретную концентрацию и интервал доверия во время предварительной настройки. Если результат контрольных измерений лежит за пределами интервала доверия, анализ необходимо повторить. Если отклонение подтверждается повторным измерением, следует рассчитать новую референсную кривую. Результаты пациента не должны быть оплачены, пока причина отклонений не установлена и не устранена.

#### Результаты

Оценка выполняется автоматически в мг/л или в любых единицах, определяемых пользователем системы BN<sup>®</sup>.

Также, вычисление процентного содержания CDT было встроено в программное обеспечение, поставляемое с системами BN<sup>®</sup>. В случае одновременного выявления CDT и трансферрина из одного и того же образца, можно получить данные по процентному содержанию CDT.

### Ограничения анализа

Мутные пробы и содержащиеся в них частицы могут повлиять на результаты анализа. Поэтому образцы, содержащие частицы, должны быть центрифугированы перед анализом. Липемические образцы или образцы, содержащие частицы, которые не оседают центрифугированием (10 минут приблизительно на 15 000 x g) должны быть исключены из испытаний.

Концентрация триглицеридов до 18,2 г/л, билирубина до 0,6 мг/л, свободного гемоглобина до 10 г/л и ремутоидных факторов до 3390 МЕ/мл не оказывают воздействия на измерение. Воздействие со стороны широко распространенных лекарств не выявлено. Образцы могут содержать гетерофильные антитела, которые оказывают влияние на иммунологический анализ и могут привести к завышению или занижению результатов. Данный тест был разработан с целью минимизировать воздействие со стороны гетерофильных антител. Тем не менее, полное исключение подобного влияния из образцов всех пациентов не гарантируется.

Диагностическую помощь по процентному содержанию CDT, полученную при помощи N Латекс CDT, следует использовать только для образцов с очень низкой концентрацией трансферрина ( $< 1,2 \text{ г/л}$  трансферрина).

Компания Siemens Healthcare Diagnostics провела тестирование на использование данных реагентов с различными анализаторами в целях оптимизации производительности и соответствия требованиям, предъявляемых к продукции. Компания Siemens не поддерживает пользовательские изменения, так как они могут повлиять на производительность системы и результаты анализа. За использование рекомендаций, отличающихся от приведенных здесь, или реагентов, не входящих в список заявки Siemens Application Sheets, вместо оригинальных, ответственность ложится на пользователя.

Полученные результаты анализа всегда должны интерпретироваться совместно с историей болезни, клинической картиной пациента, а так же с результатами других медицинских обследований.

Из-за матричных эффектов, отличающиеся результаты для контроля и лабораторные результаты исследования образцов могут означать их зависимость от выбранного метода исследования. Поэтому может понадобиться оценка данных результатов в отношении целевых значений, характерных для метода.

### Референсный интервал

При исследовании 561 образца сыворотки, взятого у здоровых взрослых людей из центральной Европы, исключая результаты с повышенным уровнем потребления алкоголя, были получены значения: от 28,1 до 76,0 мг/л CDT (1 – 99 перцентиль). Исследования были проведены с использованием реагента N Латекс CDT. Процентное содержание CDT, учитывая результаты, полученные при помощи N Иммуноной сыворотки к человеческому трансферрину, для данной популяции составило 1,19 – 2,47% (1 – 99 перцентиль).

Кроме того, каждая лаборатория определяет свой собственный эталонный интервал, с учетом многих переменных, которые могут отличаться для каждой изученной группы жителей.

### Особые рабочие характеристики

#### Чувствительность

Аналитическая чувствительность теста определяется по нижней границе референсной кривой и поэтому зависит от концентрации аналита в N CDT Стандарте SL. Стандартная чувствительность для CDT составляет 20 мг/л.

#### Специфичность

Перекрестная реакция среди используемых антител не выявлена.

#### Точность

Точность измерения N Латекс CDT была вычислена при помощи измерения контрольного раствора и двух пулов сыворотки с различными концентрациями CDT и просчета коэффициентов вариации (CV).

| Точность (n = 40)  |                            |                       |                        |              |
|--------------------|----------------------------|-----------------------|------------------------|--------------|
| Образец            | Среднее значение CV (мг/л) | Внутри анализа CV (%) | Между анализами CV (%) | Общий CV (%) |
| N CDT Контроль SL1 | 81,1                       | 4,2                   | 1,6                    | 4,2          |
| N CDT Контроль SL2 | 166,2                      | 2,8                   | 1,5                    | 3,0          |
| Пул сыворотки 1    | 49,4                       | 4,9                   | 7,6                    | 8,9          |
| Пул сыворотки 2    | 213,9                      | 3,5                   | 2,4                    | 4,0          |

Коэффициент вариации процентного содержания CDT в данных образцах был рассчитан на основе результатов, полученных при помощи N Иммуноной сыворотки к человеческому трансферрину с применением системы BN\*. Диапазон для CV составил от 2,7% до 8,8%.

#### Сопоставление методов

Процентное содержание CDT в образцах сыворотки, взятых у 200 доноров, было измерено двумя различными способами: при помощи высокопроизводительной жидкостной хроматографии (HPLC) и при помощи системы BN\*. Если установлено предельное значение в 2,5% содержания CDT, то результаты, полученные при помощи HPLC, будут составлять 97% по точности и 93% по чувствительности от результатов, полученных при помощи системы BN\*.

#### Примечание

Значения, ссылающиеся на особые рабочие характеристики анализа, являются стандартными значениями и не должны приниматься за спецификации реагента N Латекс CDT.

### Список литературы

1. Golke K, Wiese A. Carbohydrate-deficient transferrin (CDT) - a biomarker for long-term alcohol consumption. J Toxicol Environ Health B 2004;7:319-37.
2. Peter J, Unverzagt C, Engel WD, et al. Identification of carbohydrate deficient transferrin forms by MALDI-TOF mass spectrometry and lectin ELISA. Biochim Biophys Acta 1998; 1380: 93-101.
3. Helander A. Biological markers in alcoholism. J Neural Transm 2003; 66 (Suppl): 15-32.
4. Allen JP. Use of biomarkers of heavy drinking in health care practice. Mil Med 2003; 168: 384-7.
5. Anttila P, Järvi K, Latvala J, et al. A new modified  $\gamma$ -CDT method improves the detection of problem drinking: studies in alcoholics with or without liver disease. Clin Chim Acta 2003; 336: 45-51.
6. Schwan R, Albusson E, Malet L, et al. The use of biological laboratory markers in the diagnosis of alcohol misuse: an evidence-based approach. Drug Alcohol Depend 2004; 74: 273-9.
7. Chen J, Conigrave KM, Macaskill P, et al. Combining carbohydrate-deficient transferrin and gammaglutamyltransferase to increase diagnostic accuracy for problem drinking. Alcohol Alcoholism 2003; 38: 574-82.
8. Delanghe JR, Helander A, Wielders JPM, et al. Development and multicenter evaluation of the N Latex CDT direct immunonephelometric assay for serum carbohydrate-deficient transferrin. Clin Chem 2007;53:1115-21.

\* BN является торговой маркой Siemens Healthcare Diagnostics.

BN ProSpec является торговой маркой Siemens Healthcare Diagnostics.

Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH

Emil-von-Behring-Str. 76 35041

Marburg/Германия

www.siemens.com/diagnostics



# Список обозначений

|  |                                                       |
|--|-------------------------------------------------------|
|  | Не использовать повторно.                             |
|  | Использовать до                                       |
|  | Партия                                                |
|  | Код номер                                             |
|  | Внимание, см. соответствующие документы               |
|  | Производитель                                         |
|  | Уполномоченный представитель в европейском сообществе |
|  | Содержимого достаточно для <n> тестов                 |
|  | Медицинский прибор для in Vivo диагностики            |
|  | Температурный режим                                   |
|  | См. Инструкции по эксплуатации                        |
|  | Не стерильно                                          |
|  | Знак CE                                               |
|  | Содержимое                                            |
|  | Объем восстановления                                  |
|  | Концентрация                                          |

© 2008 Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH.  
Все права защищены.

## Реагенты N Латекс IgA (N Latex IgA Reagents)/ N Латекс IgM (N Latex IgM Reagents)

### Предполагаемое использование и применение

Реагенты для *in vitro* диагностики для количественного определения иммуноглобулина IgA/IgM в спинномозговой жидкости (СМЖ) и сыворотки при помощи нефелометрического иммуноанализа с частицами полистирола, обработанными антителами к IgA/IgM человека. Измерение IgA/IgM помогает при диагностике аномального метаболизма белков и способности организма сопротивляться инфекционным агентам.

### Конспект и пояснения

Концентрация сывороточных белков в МЖ показывает установленное состояние, где самыми важными параметрами являются диффузия между кровью и СМЖ (проницаемость) и поток самой СМЖ. Также результат зависит от возрастной группы и пола. Помимо данных физиологических переменных, воспалительные процессы вызывают увеличение количества белков сыворотки в СМЖ. Кроме того, в СМЖ может выделяться иммуноглобулин, как следствие процесса синтеза антител в рамках центральной нервной системы (ЦНС) (1, 2). Чтобы получить надежные результаты при тестах белков СМЖ необходимо использовать методы, обеспечивающие дифференциацию в рамках пробы белков СМЖ, полученной из сыворотки, и пробы, полученной при внутриоболочечном синтезе. Здесь помощь при диагностике обеспечивается подсчетом подходящих коэффициентов концентрации (3). При оценке альбумина используется в качестве эталонного белка для проверки барьерной функции крови/СМЖ, так как он синтезируется исключительно в печени. Даже в случае патологий альбумин СМЖ производится исключительно в крови. Это означает, что при помощи соотношения альбумина СМЖ/сыворотки можно измерять индивидуальную барьерную функцию как при нормальном состоянии, так и в патологическом. Используя схему частей Рейбера (Reiber) и Фельгенхаузера (Felgenhauer) для IgG, IgA и IgM (4), можно диагностировать нарушения барьерной функции и/или наличие внутриоболочечного синтеза иммуноглобулина при помощи отношения альбумина СМЖ/сыворотки. Сбор образцов СМЖ и сыворотки следует производить параллельно и рассматривать в рамках одного анализа, чтобы исключить неточности между анализами и методологические различия, которые могут исказить соотношение концентраций. Доминантный синтез IgA наблюдается в основном при бактериальных инфекциях и была выявлена его полезность при диагностировании туберкулезного менингита или фокального лимфоцитарного энцефалита (1).

### Основа методики

Частицы полистирола, покрытые антителами, специфичными к человеческому IgA при смешении с пробой, содержащими человеческий IgA, агглютинируют. Интенсивность рассеивания света в нефелометре зависит от содержания IgA в образце и, следовательно, концентрацию IgA можно определить при помощи стандартов известной концентрации.

### Реагенты

#### Предоставляемые материалы:

|                                                                |                   |
|----------------------------------------------------------------|-------------------|
| N Latex IgA, набор для анализа                                 | 3 x 35 (код OQAI) |
| N IgA Реагент (N IgA Reagent)                                  | 3 x 2 мл          |
| N IgA Стандарт (N IgA Standard) (челов.)                       | 3 x 1 мл          |
| N IgA Дополнительный реагент A (N IgA Supplementary Reagent A) | 3 x 1 мл          |
| N IgA Дополнительный реагент B (N IgA Supplementary Reagent B) | 1 x 0,5 мл        |
| N IgA Контроль (N IgA Control) (челов.)                        | 3 x 1 мл          |

#### Состав

N IgA Реагент состоит из замороженных суших частиц полистирола, покрытых антителами (кролика) к IgA. При условии восстановления реагента в соответствии с данными инструкциями, концентрация суспензии частиц полистирола будет оптимальной для измерения агглютинации при помощи нефелометра Behring. N IgA Стандарт (челов.) состоит из смеси сывороток человеческой крови. После восстановления, концентрация IgA в стандарте соответствует указанной на этикетке.

N IgA Дополнительный реагент A состоит из физиологического раствора пирролидона (мех. 100 г/л) и Твин (Tween) 20 (мех. 10 г/л).

N IgA Дополнительный реагент B состоит из раствора животных и человеческих белков с добавлением пирролидона (ок. 50 г/л).

Совместное использование обоих дополнительных реагентов используется для исключения воздействия со стороны рвематических факторов.

N IgA Контроль (челов.) состоит из смеси сывороток человеческой крови. После восстановления, концентрация IgA в контроле соответствует указанной на этикетке. Консервант во всех реагентах: азид натрия (< 1 г/л).

#### Предупреждения и меры предосторожности

1. Только для *in vitro* диагностики.
2. С реагентами, содержащими азид натрия, необходимо обращаться с осторожностью: не вдыхать и не допускать контакта с кожей или слизистыми оболочками. Азид натрия может образовывать взрывчатые азиды, если содержит тяжелые металлы, такие как медь или свинец.
3. Каждый образец донорской крови, используемый в качестве исходного материала для стандарта и контроля N IgA (челов.), проверяется на поверхностный антиген гепатита В, анти-HCV, анти-HIV1 и анти-HIV2 методами, утвержденными Управлением по контролю за продуктами и лекарствами (США). Только образцы с отрицательными результатами используются для производства. Тем не менее, пока отсутствие возбудителей инфекции не будет подтверждено, со всеми анализами, взятыми у человека, следует обращаться с должной осторожностью, соблюдая рекомендации для работы с биологически опасными веществами (5).

#### Подготовка реагентов

N IgA Реагент: смешайте лиофилизированное содержимое пробирки с 2 мл дистиллированной воды и оставьте на 15 минут перед использованием. Ежедневно перед использованием суспензию следует аккуратно потрясти.

N IgA Стандарт (челов.): Растворите лиофилизированное содержимое пробирки в 1 мл дистиллированной воды. Аккуратно перемешайте. Стандарт готов к использованию через 15 минут после восстановления.

N IgA Дополнительный реагент: при помощи пипетки перенесите 25 мл N IgA Дополнительного реагента B (N IgA Supplementary Reagent B) в одну пробирку с N IgA Дополнительным реагентом A (N IgA Supplementary Reagent A) и аккуратно перемешайте.

N IgA Контроль (челов.): Растворите лиофилизированное содержимое пробирки в 1 мл дистиллированной воды. Аккуратно перемешайте. Контроль готов к использованию через 15 минут после восстановления.

#### Хранение и устойчивость

При условии хранения при температуре от +2 до +8 °C, все компоненты набора можно использовать до дат, указанных на этикетках. Восстановленные N IgA Реагент, N IgA Стандарт (челов.) и N IgA Контроль (челов.) можно использовать не более 1 недели при условии хранения в плотно закрытом контейнере при температуре от +2 до +8 °C. N IgA Дополнительные реагенты можно использовать в течение 1 недели после смешивания компонентов A и B. Не замораживать повторно. Помутневшие стандартные и/или контрольные сыворотки использовать запрещается. Необходимые дополнительные материалы, не входящие в комплект поставки Нефелометра Behring

### N Разбавитель (N Diluent), код OUMT

### Пробы

Допускается и необходимо использовать самые свежие образцы СМЖ и сыворотки (хранение не более 8 дней при +2...+8 °C). Сыворотка должна быть полностью свернувшейся и не содержать каких-либо частиц или следов фибрина после центрифугирования. Образцы СМЖ, содержащие частицы и/или клетки, и высоко липемические образцы следует очистить перед анализом путем центрифугирования (10 минут приблизительно при 15 000 x g).

### Методика

#### Примечания по процедуре:

1. Более подробная информация дана в соответствующем руководстве по нефелометру Behring.
2. Не используйте реагенты с истекшим сроком годности.
3. Совместно разрешается использовать только компоненты из тестовых наборов с одинаковым номером партии (кодом).
4. Лиофилизированные реагенты запрещается использовать до полного восстановления (не менее 15 минут после добавления дистиллированной воды).
5. Перед использованием подождите пока образцы сыворотки и реактивы достигнут комнатной температуры (от +15 до +25 °C).
6. Образцы следует анализировать приблизительно при температуре окружающей среды (максимальное отклонение 3°C), так как результаты измерений используются для создания референсной кривой.

#### Протокол испытания для нефелометра Behring (test № 62)

Подробная информация по порядку анализа приведена в приложении к руководству по эксплуатации соответствующего Нефелометра Behring (test № 62).

Анализ следует проводить при комнатной температуре (от +15 до +25 °C).

#### Расчет референсной кривой

Концентрация IgA в N IgA Стандарте (челов.) приведена на этикетке.

Нефелометр Behring при помощи N Разбавителя (N Diluent) автоматически подготавливает следующие разбавления N IgA Стандарта (челов.): 1:10; 1:20; 1:40; 1:80; 1:160; 1:320. Растворы должны быть использованы в течение 4 часов.

Референсная кривая может использоваться в течение одного дня. Допустимо использовать ее в течение большего времени, пока результат для N IgA Контроля (челов.) лежит в пределах интервала доверия (присвоенное значение  $\pm 20\%$ ). Если необходимо обработать достаточно большое количество образцов, рекомендуем подготовить пути необходимых для анализа реагентов и для них рассчитать референсную кривую. Если используется новая партия реагента, необходимо построить новую референсную кривую.

#### Анализ образцов

Необходимо разбавить образцы СМЖ 1:5 и сыворотки 1:2000 при помощи N Разбавителя, после чего в течение 4 часов произвести измерения.

#### Примечания:

Некоторые образцы СМЖ и сыворотки могут содержать достаточно низкую или высокую концентрацию IgA, которая приводит к появлению результата за пределами референсной кривой. Если необходима дальнейшая количественная оценка, повторите выявление с большим или меньшим разбавлением (по необходимости) образцов.

#### Внутренний контроль качества

Контроль качества точности количественного анализа IgA на нефелометрах Behring следует проводить включая N IgA Контроль (челов.) в каждую серию образцов. В анализе разбавление N IgA Контроля (челов.) должно быть 1:5. Присвоенное значение для контроля напечатано на этикетке пробирки. Интервал доверия для присвоенных значений составляет  $\pm 20\%$ .

#### Вычисление результатов анализа

Результаты анализируются автоматически при помощи логистически-потариформской (логит-лог) функции.

#### Отклонения и интерференция

Мутные пробы и содержащиеся в них частицы влияют на результаты анализа. Поэтому частицы, образовавшиеся в не полностью свернувшейся сыворотке, или из-за денатурации белков, необходимо удалить центрифугированием перед началом анализа. Высоко липемические образцы или образцы, содержащие частицы, которые не удается удалить центрифугированием (10 минут приблизительно 15 000 x g) должны быть исключены из испытаний. В случае, если лабораторные результаты или клиническая картина указывают на наличие моноклонального IgA у пациента, следует произвести проверку иммуноэлектрофорезом или иммунофигурацией. Если перед проведением анализа СМЖ проводились тесты образцов с высоким уровнем IgA, результаты, полученные для IgA в СМЖ могут быть завышены из-за условий проведения (например, грязные кофеты). Таким образом, параллельно выявление IgA в СМЖ проводить перед анализом сыворотки.

#### Интерпретация лабораторных результатов

При оценке нарушений в СМЖ необходимо определить их природу – первичные воспалительные процессы или метаболизм. При интерпретации результатов необходимо тщательное сопоставление клинических и лабораторных результатов.

### Эталонный интервал

Верхний предел эталонного интервала для IgA в СМЖ составляет 6 мг/л (2) или 5 мг/л (IFCC) (6). Полученное значение дано только в качестве ориентировочного. Референсные значения в строгом смысле существуют только для отношений СМЖ/сыворотки (3, 4).

Для вычисления соотношения IgA в СМЖ/сыворотке количественную оценку IgA в сыворотке также следует проводить при помощи нефелометрии. Также для определения IgA можно использовать набор для исследования N Иммуноной сыворотки IgA (N Antisera IgA test kit) (test № 2).

### Особые рабочие характеристики

#### Чувствительность и диапазон измерений

Набор N Латекс IgA разработан для измерения концентрации IgA в диапазоне приблизительно от 1,25 до 41,5 мг/л (IFCC) (6) для образцов СМЖ с коэффициентом разбавления 1:5, и в диапазоне приблизительно от 498 до 16 600 мг/л (IFCC) (6) для образцов сыворотки, разведенных в отношении 1:2 000.

Чувствительность теста определяется по нижней границе референсной кривой и поэтому зависит от концентрации IgA в стандарте. Стандартная граница выявления IgA в СМЖ составляет 1,25 мг/л (IFCC) (6). В случае, если необходимо исследовать образцы СМЖ с концентрацией IgA ниже 1,25 мг/л (IFCC), данные образцы следует обрабатывать в отношении 1:1 (5x разбавление). Что позволит сместить нижнюю границу выявления IgA в СМЖ до 0,25 мг/л (IFCC) (6).

#### Специфичность

Тест специфичен для иммуноглобулина класса A (IgA).

#### Точность и воспроизводимость результатов

Точность внутри анализа была определена при измерении различных концентраций IgA в сыворотке и СМЖ (n=10), с использованием набора N Латекс IgA, и были вычислены следующие коэффициенты вариации (CV). Точность между анализами была определена при измерении различных концентраций IgA в сыворотке и СМЖ (в течение 8 дней, n=8), с использованием набора N Латекс IgA, и были вычислены следующие коэффициенты вариации (CV).

|                                 | Точность                |           |
|---------------------------------|-------------------------|-----------|
|                                 | Спинномозговая жидкость | Сыворотка |
| Внутри анализа:<br>n=10/уровень |                         |           |
| Среднее значение (мг/л IFCC)    | 4,2      10,5           | 1729      |
| % CV                            | 6,6      3,3            | 1,8       |
| Между анализами:<br>n=8/уровень |                         |           |
| Среднее значение (мг/л IFCC)    | 2,8      30,3           | 1924      |
| % CV                            | 10,1      3,5           | 4,4       |

#### Сопоставление методов

В сравнительном исследовании 54 образцов сыворотки, проведенном при помощи набора N Латекс IgA и коммерческого анализа на IgA, был получен коэффициент корреляции 0,98, пересечение с осью Y 0,05 и уклон 0,97.

В сравнительном исследовании 67 образцов СМЖ, проведенном при помощи набора N Латекс IgA и коммерческого анализа на IgA, был получен коэффициент корреляции 0,98, пересечение с осью Y -0,27 и уклон 1,13. Также, при помощи набора N Латекс IgA (x) и ферментного иммуноанализа (y)\*, был произведен сравнительный анализ 26 парных образцов СМЖ/сыворотки. Сопоставительный анализ линейной регрессии отношений СМЖ/сыворотки, полученных при помощи обоих методов, выявил следующее

соотношение  $y = 0,94 \times x + 0,22$ , в коэффициент корреляции  $r = 0,89$ .

#### Примечание:

Значения, относящиеся к особым рабочим характеристикам анализа, представляют стандартные значения и не должны приниматься за спецификации набора N Латекс IgA.

#### Список литературы

- 1) H. Reiber, Liquorprotein-diagnostik, in: L. Thomas et al., Protein-diagnostik, Behringwerke AG, 1991, 140 - 167
- 2) H. Reiber: Aktuelle Methoden der Liquoranalytik. Lab. med. 12, 1988, 101-109
- 3) H. Reiber: The discrimination between different blood - CSF barrier dysfunctions and inflammatory reactions of the CNS by a recent evaluation graph for the protein profile of cerebrospinal fluid. J. Neurol. 224, 1980, 69 - 99
- 4) H. Reiber, K. Felgenhauer: Protein transfer at the blood cerebrospinal fluid barrier and the quantitation of the humoral immune response within the central nervous system. Clinica Chimica Acta 163, 1987, 319 - 328
- 5) Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, U.S. Department of Health and Human Services, Washington 1993 (HHS Publication No. (CDC) 93-8395)
- 6) Report EUR 15243 EN: The Certification of a Matrix Reference Material for Immunochemical Measurement of 14 Human Serum Proteins - CRM 470 from BCR = Community Bureau of Reference of the European Communities, Rue Montoyer 75, Brussels (1993)

Производитель: Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH  
Emil-von-Behring-Str. 76 35041  
Marburg/Германия  
[www.siemens.com/diagnostics](http://www.siemens.com/diagnostics)

# SIEMENS

## N Дополнительный реагент (N Supplementary Reagent L)

### Предполагаемое использование и применение

Дополнительный реагент для иммунонефелометрического анализа иммуноглобулина класса E (IgE),  $\gamma_2$ -микроглобулина ( $\gamma_2$  M) и растворимого рецептора трансферрина (sTfR) при помощи реагентов N Latex IgE люпо, N Latex  $\gamma_2$ -Microglobulin и N Latex sTfR на системе BN™.

Смесь обоих дополнительных реагентов используется для подавления интерференции со стороны ремутоидных факторов и антител человека к антителам мыши (HAMA).

### Реактивы

#### Предоставляемые материалы

N Дополнительный реагент L (N Supplementary Reagent L), код OQTD

6 x 0,5 мл N Дополнительного реагента L/A (N Supplementary Reagent L/A)

2 x 8 мл N Дополнительного реагента L/B (N Supplementary Reagent L/B)

#### Состав

N Дополнительный реагент L/A содержит иммуноглобулин мыши в буферном растворе.

N Дополнительный реагент L/B содержит детергент в буферном солевом растворе.

Консервант в обоих реагентах: азид натрия (< 1 г/л).

Предупреждения и меры предосторожности

1. Только для in vitro диагностики.

2. С реагентами, содержащими азид натрия, необходимо обращаться с осторожностью: не вдыхать и не допускать контакта с кожей или слизистыми оболочками. В случае утилизации через канализацию, в целях предотвращения образования азидов, необходимо смывать большим количеством воды. Азид натрия может образовывать взрывчатые азиды, если содержит тяжелые металлы, такие как медь или свинец.

#### Подготовка реактивов

При помощи пипетки поместите 2,0 мл N Дополнительного реагента L/B в пробирку с N Дополнительным реагентом L/A и аккуратно встряхните, чтобы перемешать.

#### Хранение и устойчивость

N Дополнительный реагент L/A и L/B следует хранить при +2...+8 °C и использовать до даты, указанной на этикетке. Смесь двух данных реагентов следует использовать в течение 4 недель, если после использования раствор хранится в герметичном контейнере при +2...+8 °C или остается в системе BN ProSpec\*. После открывания, N Дополнительный реагент L/B следует использовать в течение 12 недель, если после приготовления раствор хранится в герметичном контейнере при +2...+8 °C. Замораживание растворов может привести к потере реакционной способности, и этого следует избегать.

### Методика

#### Процедура

Подробное описание процедуры тестирования приведено на листах-вкладышах к соответствующим реагентам, а протокол анализа и руководство по эксплуатации прилагается к системе BN™.

BN™ является торговой маркой Siemens GmbH в США.

\* BN ProSpec зарегистрированная торговая марка Siemens GmbH в Германии и других странах.

Производитель: Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH

Emil-von-Behring-Str. 76 35041

Марбург/Германия

[www.siemens.com/diagnostics](http://www.siemens.com/diagnostics)

Сшито и заверено по листу 15  
(методом) 6 лп  
Ворошилов Н.А.

