



Angiotensin I RIA

KIPB3518



History

Summary of change :

Previous Version :	Current Version :
150226/5	200224/1
	Addition of the following sentence at the end of the English IFU: "Other translations of this Instructions for Use can be downloaded from our website: https://www.diasource-diagnostics.com/ "
No IVD symbol	IVD symbol added
LOT :150226/5	Version: 200224/1
PI number	No PI number
No manufacturer symbol	Manufacturer symbol added



Angiotensin I RIA

en

Radioimmunoassay of Angiotensin I for the *in vitro* determination of Plasma Renin Activity (PRA) in human plasma

KIPB3518

IN VITRO DIAGNOSTIC

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium - Tel: +32 10 84 99 11 - Fax : +32 10 84 99 90

1. PRINCIPLE OF THE ASSAY

The Angiotensin I RIA serves for the quantitative determination of plasma renin activity (PRA) by the radioimmunoassay of the product of the reaction, angiotensin I.

The generation of angiotensin I is the result of the enzymatic cleavage of the renin substrate, angiotensinogen, in plasma samples in the presence of ACE inhibitor (ACE - Angiotensin-Converting Enzyme), an enzymatic inhibitor that blocks the conversion of angiotensin I to angiotensin II.

The immunoassay of angiotensin I is a radioimmunological competition assay. Unknown samples, control, and calibrators are incubated in polyclonal antibody-coated tubes with ¹²⁵I-labeled angiotensin I as tracer. After incubation, the contents of the tubes are aspirated. The bound radioactivity is then determined in a gamma counter. A standard curve is established and unknown values are determined by interpolation from the standard curve.

2. REAGENTS PROVIDED

All reagents of the kit are stable until the expiry date indicated on the kit label, if stored at 2-8°C. Storage conditions for reagents after reconstitution or dilution are indicated in paragraph Assay Procedure. Expiry dates printed on component vial labels apply to the long-term storage by manufacturer only, prior to assembling of the kit. Do not take into account.



Anti-angiotensin polyclonal antibody-coated tubes:
2 x 50 tubes (ready-to-use)

¹²⁵I-labeled angiotensin I: one 11 ml vial (ready-to use)

The vial contains 260 kBq, at the date of manufacture, of ¹²⁵I-labeled angiotensin I in buffer with bovine serum albumin, Pro Clin 300 (<0.06%; see Precautions) and a dye.

Calibrators: six x 1 ml vials (ready-to-use)

The calibrator vials contain from 0 to approximately 30 ng/mL of angiotensin I in buffer with bovine serum albumin and sodium azide (<0.1%; see § Precautions). The exact concentration is indicated on each vial label. The calibrators were calibrated against RP 86/536.

Control sample: one 1 ml vial (ready-to-use)

The vial contains angiotensin I in buffer with bovine serum albumin and sodium azide (<0.1%; see § Precautions). The expected value is in the concentration range indicated in a supplement.

Enzymatic inhibitor; one vial (lyophilized)

It also contains sodium azide (<0.1%, see § Precautions)

Wash Solution (20x): one 50 ml vial

Concentrated solution has to be diluted before use

Ag	125I
----	------

CAL	N
-----	---

CONTROL

NEUTR	SOLN
-------	------

WASH	SOLN	CONC
------	------	------

3. MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

In addition to standard laboratory equipment, the following items are required:

- precision micropipets (75 µL; 100 µL).
- adjustable dispensers (200 µL; 300 µL; 2 mL).
- water bath.
- ice bath.
- vortex-type mixer.
- horizontal or orbital shaker.
- aspiration system.
- gamma counter set for ¹²⁵I.

4. PRECAUTIONS

4.1 General remarks:

- Enzymatic inhibitor solution, calibrators, control sample and analyzed samples must be cooled to 2-8°C before pipeting.
- The vials with calibrators and controls should be opened as shortly as possible to avoid excessive evaporation.
- Do not mix the reagents from kits of different lots.
- A calibration curve must be established with each assay.
- It is recommended to perform the immunoassay in duplicate.
- Each tube must be used only once

4.2 Basic rules of radiation safety

The purchase, possession, utilization, and transfer of radioactive material is subject to the regulations of the country of use.

Adherence to the basic rules of radiation safety should provide adequate protection:

- No eating, drinking, smoking or application of cosmetics should be carried out in the presence of radioactive materials.
- No pipeting of radioactive solutions by mouth.
- Avoid all contact with radioactive materials by using gloves and laboratory overalls.
- All manipulation of radioactive substances should be done in an appropriate place, distant from corridors and other busy places.
- A record of receipt and storage of all radioactive products should be kept up to date.
- Laboratory equipment and glassware which are subject to contamination should be segregated to prevent cross-contamination of different radioisotopes.
- Each case of radioactive contamination or loss of radioactive material should be resolved according to established procedures.
- Radioactive waste should be handled according to the rules established in the country of use.
- This kit contains ¹²⁵I (half-life: 60 days), emitting ionizing X (28 keV) and γ (35.5 keV) radiations.

4.3 Sodium azide

Some reagents contain sodium azide as a preservative. Sodium azide may react with lead, copper or brass to form explosive metal azides. Dispose of the reagents by flushing with large amounts of water through the plumbing system.

4.4 ProClin 300

R43 may cause sensitisation by skin contact

4.5 Materials of human origin

All plasma samples should be handled as if capable of transmitting hepatitis or AIDS and waste should be discarded according to the country rules.

5. SPECIMEN COLLECTION, PROCESSING, STORAGE AND DILUTION

Plasma samples have to be collected into cold EDTA tubes

- Separate plasma from cells by centrifugation at 2-8°C.
- Keep plasma samples frozen (<-20°C, 1 year maximum) if determination is not to be performed immediately, after aliquoting in order to avoid repeated freezing and thawing.

Note: The temperature of plasma samples must be kept at 2-8°C in the course of sampling. Avoid further manipulation to prevent both formation and decomposition of angiotensin I.

6. ASSAY PROCEDURE

6.1 Preparation and storage of reagents

6.1.1 Preparation of enzymatic inhibitor solution

The content of the vials is reconstituted with the volume of cold distilled water (4°C) indicated on the label and mixed. The reconstituted enzymatic inhibitor may be stored at 2-8°C until the expiry date of the kit.

6.1.2. Preparation of wash solution

Pour the content of the vial into 950 mL of distilled water and homogenize. The diluted solution may be stored at 2-8°C until the expiry date of the kit.

6.2 Enzymatic step – generation of Angiotensin I

6.2.1 Remarks and recommendations

- The enzymatic inhibitor has to be cooled to 4°C before addition to the sample.
- Both incubation temperatures (4°C and 37°C) must be adhered to strictly, even slight variations may cause severe errors in determination.
- The enzymatic incubation time at 37°C should be determined as precisely as possible and kept within narrow limits for the whole set of tubes.
- The promptness of the temperature increase from 4°C to 37°C and the following reverse drop are critical. A circulating water bath is convenient for warming and, the use of an iced-cooled water bath is advisable for cooling.
- The promptness of the temperature increase and drop may be improved by using tubes made of material with good thermal conductivity (glass).
- If low plasma renin activity of the sample is expected, the incubation time of the enzymatic step may be prolonged for up to 3 hours.

6.2.2 Enzymatic step – procedure

Attention: Do not treat the calibrators and the control sample.

- Add 200 µL of pre-cooled enzymatic inhibitor to 200 µL of each plasma sample and mix.
- Split each sample into two 200 µL aliquots.
- Place the first aliquot into an ice-cold water bath in a refrigerator (intended for the determination of background angiotensin I at 4°C).
- Place the second one into the water bath set for 37°C (intended for the determination of generated angiotensin I at 37°C).
- Incubate all aliquots for 1 hour.
- After incubation, cool samples from 37°C to 4°C rapidly using ice water bath

6.3 Immunoassay procedure

Step 1 Additions *	Step 2 Incubation	Step 3 Counting
To antibody coated tubes, add successively: - 75 µL of calibrator, control or sample after enzymatic incubation at 37°C and at 4°C respectively and - 100 µL of tracer.** Mix.	Incubate 2 hours at 18-25°C with shaking (> 280 rpm).	Aspirate carefully the contents of tubes (except the 2 tubes "total cpm"). Wash with 2 mL of wash solution. Aspirate twice. Determine activity (cpm) for 1 min.

* Calibrators, control sample and analyzed samples have to be cooled to 4°C before pipeting. Mix samples gently before they are added.

** Add 100 µL of tracer to 2 additional tubes to obtain total cpm.

7. RESULTS

Results are obtained from the calibration curve by interpolation. The curve serves for the determination of angiotensin I concentrations in samples measured at the same time as the calibrators.

7.1 Calibration curve

The results in the package insert were calculated using a logit-log curve fit (weighted cubic regression) with B/T (%) or B/B0 (%) on vertical axis and the angiotensin I concentrations of calibrators on the horizontal axis (ng/mL). Other data reduction methods may give slightly different results.

Total activity : 68 511 cpm				
Calibrators	Angiotensin I (ng/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B0 (%)
0	0.00	17 444	25.5	100
1	0.30	13 732	20.0	78.7
2	1.00	9 390	13.7	53.8
3	3.00	5 431	7.93	31.1
4	10.0	2 746	4.01	15.7
5	30.0	1 243	1.81	7.13

(Example of calibration curve, do not use for calculation)

7.2 Samples

For the control and samples incubated at 4°C, or at 37°C, locate the B/T (%) or the B/B0 (%) value on the vertical axis and read off the corresponding angiotensin I concentration in ng/mL on the horizontal axis.

7.3 Calculation of plasma renin activity

The determination of plasma renin activity is performed indirectly by the measurement of the in vitro generation of angiotensin I (A-I) per hour. Background A-I, determined on plasma samples incubated at 4°C, is subtracted from the A-I generated at 37°C for the calculation of PRA using the following equation:

$$\text{PRA ng of A-I /mL/hr} = \frac{[A-I(37^\circ\text{C}) - A-I(4^\circ\text{C})] \times 2}{\text{Enzymatic incubation time (hrs)}}$$

Where

A-I (37°C): angiotensin concentration in ng/mL of sample incubated at 37°C
A-I (4°C): angiotensin concentration in ng/mL of sample incubated at 4°C

8. QUALITY CONTROL

Good laboratory practices imply that control samples must be used regularly to ensure the quality of the results obtained. These samples must be processed exactly in the same way as the assay samples, and it is recommended to analyse their results using appropriate statistical methods.

In case of packaging deterioration or if data obtained show some performance alteration, please contact your local distributor or use the following e-mail address:

tech.support@diasource.be

9. EXPECTED VALUES

It is suggested that each laboratory establishes its own normal values. The PRA values presented below are indicative only.

N	Normal adult	2.5th - 97.5th percentile (ng/mL/hr)	Median (ng/mL/hr)	Min-Max (ng/mL/hr)
38	Early Morning, Supine	0.32-1.84	0.79	0.30-1.90
41	Upright, 2 Hours	0.60-4.18	2.20	0.48-4.88

10. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

(For more details, see the data sheet "APPENDIX")

Representative data are provided for illustration only. Performance obtained in individual laboratories may vary

10.1 Sensitivity

10.1.1 Analytical sensitivity: 0.07 ng/mL

10.1.2 Functional sensitivity: 0.20ng/mL

10.2 Specificity

The antibody used in the immunoassay is highly specific for angiotensin I. Extremely low cross reactivity was obtained against angiotensin II.

Moreover, the influence of possible interferences on PRA result is eliminated by subtraction of background.

10.3 Precision

10.3.1 Intra-assay

Samples were assayed in at least 25 replicates in the same series. The coefficients of variation were found below or equal to 11.3%.

10.3.2 Inter-assay

Samples were assayed in duplicate in 10 different series. Coefficients of variation were found below or equal to 20.9%.

10.4 Accuracy

10.4.1 Dependence on time of enzymatic incubation

The samples were incubated with enzymatic inhibitor for 60, 120, and 180 minutes. No significant effect on PRA results was found.

10.4.2 Dilution test

Plasma samples were serially diluted in the zero calibrator. The recovery percentages were obtained between 78% and 99%.

10.4.3 Recovery test

Plasma samples were spiked with known quantities of angiotensin I. The recovery percentages were obtained between 104% and 123%.

10.5 Measurement range (from analytical sensitivity to highest calibrator):

0.07 to approximately 30 ng/mL.

11. LIMITATIONS OF THE METHOD

The non-respect of the instructions in this package insert may affect results significantly.

Results should be interpreted in the light of the total clinical presentation of the patient, including clinical history, data from additional tests and other appropriate information.

Do not use hemolyzed, lipemic or icteric samples.

For assays employing antibodies, the possibility exists for interference by heterophile antibodies in the patient sample. Patients who have been regularly exposed to animals or have received immunotherapy or diagnostic procedures utilizing immunoglobulins or immunoglobulin fragments may produce antibodies, e.g. HAMA, that interfere with immunoassays.

Such interfering antibodies may cause erroneous results. Carefully evaluate the results of patients suspected of having these antibodies.

Revision date : 2020-02-24

Other translations of this instructions for use can be downloaded from our website: <https://www.diasource-diagnostics.com/>



Radioimmunoassay für die in-vitro bestimmung der plasma renin aktivität (PRA) in humanem plasma

KIPB3518

IN VITRO DIAGNOSTIC

DIASource ImmunoAssays SA - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium - Tel: +32 10 84 99 11 - Fax : +32 10 84 99 90

1. TESTPRINZIP

Der Angiotensin RIA wird für die Bestimmung der Plasma Renin Aktivität anhand des Reaktionsprodukts, Angiotensin I, benutzt.

Angiotensin I ist das Produkt der enzymatischen Fragmentierung des Renin Substrats, Angiotensinogen, in Plasma Proben, in Anwesenheit eines ACE Inhibitors (ACE-Angiotensin-Konvertierungsenzym). Dieser Enzyminhibitor inhibiert die Umwandlung des Angiotensin I in Angiotensin II.

Der Assay für die Bestimmung von Angiotensin I ist ein radioimmunologischer, kompetitiver Assay. Proben und Kalibratoren werden in mit Antikörpern beschichteten Röhrchen mit einem 125I-markierten Angiotensin I -Tracer inkubiert. Nach der Inkubation wird die Flüssigkeit abgesaugt und ungebundene markierte Antikörper werden durch Waschen entfernt. Die Mende der gebundene Radioaktivität wird in einem Gamma-Counter gemessen. Unbekannte Probenwerte werden mittels Interpolation aus der Standardkurve bestimmt.

2. REAGENZIEN

Die Reagenzien sind verwendbar bis zum Verfallsdatum, wenn sie bei 2-8°C gelagert werden. Auf die Fläschchen gedruckte Verfallsdaten betreffen nur die Langzeitlagerung beim Hersteller, vor der Zusam-mensetzung des Kits. Bitte nicht beachten.



Röhrchen mit anti- Angiotensin I poliklonalen Antikörpern beschichtet : 2x 50 Röhrchen (gebrauchsfertig)

Ag	125I
----	------

125I-markierte Anti- Angiotensin I -Antikörper Lösung: eine 11 mL Flasche (gebrauchsfertig)

Die Flasche enthält 260 kBq (am Tag der Herstellung) des 125I-markierten Anti- Angiotensin I in Puffer mit Bovinem Serum Albumin, ProClin 300 (<0,06%, siehe § Warn- und Sicherheitshinweise) und einem Farbstoff.

CAL	N
-----	---

Kalibratoren: sechs 1mL Fläschchen (gebrauchsfertig)

Die Kalibratorflaschen enthalten zwischen 0 bis ungefähr 30 ng/mL Anti- Angiotensin I in Puffer mit bovinem Serum mit Natriumazid (<0,1%; siehe § Warn- und Sicherheitshinweise). Die genauen Konzentrationen sind auf jedem Fläschchen angegeben. Die Kalibratoren wurden gegen RP 86/536 kalibriert.

CONTROL

Kontrollprobe: ein 1mL Fläschchen (gebrauchsfertig)

Das Fläschchen enthält Anti- Angiotensin I in Puffer mit Bovinem Serum Albumin und Natriumazid (<0,1%; siehe § Warn- und Sicherheitshinweise). Der Konzentrationsbereich ist auf dem Etikett angegeben.

NEUTR	SOLN
-------	------

Enzyminhibitor: ein Fläschchen (lyophilisiert)

Das Fläschchen enthält Natriumazid (<0,1%; siehe § Warn- und Sicherheitshinweise).

WASH	SOLN	CONC
------	------	------

Waschlösung (20x): eine 50 mL Flasche

Die konzentrierte Lösung muss vor Gebrauch verdünnt werden.

3. ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTER GERÄTE

Zusätzlich zu der Standardlaborausstattung, werden die folgenden Materialien benötigt:

- Präzisionspipette (75 µL, 100 µL).
- halbautomatische Pipetten (200 µL; 300 µL; 2 mL).
- Wasserbad.
- Eisbad.
- Vortex-Mixer.
- Horizontal-, oder Orbitalschüttler.
- Absaugsystem.
- Gamma-Counter für 125I.

4. WARN- UND SICHERHEITSHINWEISE

4.1 Allgemeinhinweise:

- Enzymatischer Inhibitor, Proben, Kontrollprobe und Kalibratoren sollten vor dem Pipettieren abgekühlt werden (4°C).
- Die Kalibrator- und Kontrollfläschchen sollten so kurz wie möglich geöffnet werden, um eine übermäßige Verdunstung zu vermeiden.
- Reagenzien aus Kits von verschiedenen Produktionsserien sollten nicht miteinander vermischt werden.
- Eine Standardkurve ist für jeden Assay notwendig.
- Der Assay sollte in Doppelbestimmung durchgeführt werden.
- Jedes Röhrchen darf nur einmal verwendet werden.

4.2 Schutz vor radioaktiver Strahlung

Annahme, Besitz und Verwendung, Lagerung, Transport und Beseitigung unterliegen den Vorschriften der Atomenergie- bzw. der jeweiligen staatlichen Behörde. Die Einhaltung der Grundregeln beim Umgang mit Radioaktivität sollte eine ausreichende Sicherheit gewährleisten:

- In Räumen, in denen mit radioaktiven Materialien gearbeitet wird, sollte Essen, Trinken, Rauchen und das Auftragen von Kosmetika vermieden werden.
- Keine Mundpipette verwenden.
- Direkter Kontakt mit radioaktiven Materialien sollte durch Tragen entsprechender Schutzkleidung (Laborkittel, Handschuhe) vermieden werden.
- Das Arbeiten mit radioaktiven Stoffen muß in dafür speziell gekennzeichneten Bereichen, die vom normalen Laborbetrieb abgetrennt sind, erfolgen.
- Radioaktive Materialien sollten in einem speziell gekennzeichneten Bereich gelagert werden.
- Ein Register der Eingänge und Lagerung aller radioaktiven Produkte sollte ständig aktualisiert werden.
- Kontaminierte Labor und Glasgeräte sollten isoliert werden, um eine Kreuz-Kontamination von verschiedenen Radioisotopen zu verhindern.
- Kontaminationen des Arbeitsplatzes müssen unverzüglich sorgfältig nach den üblichen Verfahren entfernt werden.
- Radioaktiver Abfall muß entsprechend der Richtlinien jedes Einsatzortes entsorgt werden.
- Dieser Kit enthält 125I (Halbwertszeit: 60 Tagen) , das ionisierende X (28 keV) und γ (35,5 keV) Strahlungen emittiert.

4.3 Natriumazid

Zur Vermeidung mikrobieller Kontamination enthalten einige Reagenzien Natriumazid. Natriumazid kann mit Blei, Kupfer oder Messing zu explosiven Metallaziden reagieren. Um dies zu vermeiden, sollte bei einer Entsorgung über Rohrleitungen mit viel Wasser nachgespült werden.

4.4 ProClin 300

R43: Sensibilisierung durch Hautkontakt möglich.

4.5 Material humanen Ursprungs

Alle Plasmaproben sollten als potentielle Überträger von Hepatitis und AIDS behandelt und Abfälle entsprechend den jeweiligen Länderbestimmungen entsorgt werden.

5. PROBENENTNAHME, -BEHANDLUNG UND LAGERUNG

- Sammeln Sie die Plasmaproben in kalten EDTA Röhrrchen.
- Trennen Sie die Zellen vom Plasma durch Zentrifugation bei 2-8°C.
- Wenn die Bestimmung verschoben werden muss, sollten die Proben eingefroren werden (bei <-20°C, maximum 1 Jahr) und aliquotiert um wiederholtes Auftauen und Einfrieren zu vermeiden.

Anmerkung: Plasmatemperatur sollte während Sammeln bei 2-8°C gehalten werden. Vermeiden Sie weitere Manipulationen um beide Bildung und Fragmentierung des Angiotensins I zu vermeiden.

6. TESTDURCHFÜHRUNG

6.1 Präparation und Lagerung der Reagenzien

6.1.1 Präparation des Enzyminhibitors

Den Inhalt der Flasche wird mit einem auf dem Etikett angegebenen Volumen kalten (4°C) destillierten Wassers wiederaufgenommen und homogenisiert. Die rekonstituierte Lösung sollte bei 2-8°C gelagert werden bis zum Verfallsdatum.

6.1.2. Präparation der Waschlösung

Den Inhalt der Flasche in 950 mL destilliertes Wasser schütten und homogenisieren. Die verdünnte Lösung ist bei 2-8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.

6.2 Enzymatisches Schritt –Bildung des Angiotensins I

6.2.1 Anmerkungen und Empfehlungen

- Vor dem Zusatz zu den Proben sollte der Enzyminhibitor auf 4°C abgekühlt werden.
- Beide Inkubationstemperaturen (4°C und 37°C) sollten strikt eingehalten werden, da sogar geringe Abweichungen leicht zu falschen Ergebnissen führen können.
- Die Vorinkubation zur enzymatischen Inkubationszeit bei 37°C sollte so genau wie möglich bestimmt werden und so strikt wie möglich für alle Röhrrchen eingehalten werden.
- Die Geschwindigkeit des Temperaturanstieges von 4°C zu 37°C und der folgenden Abkühlung ist kritisch. Die Verwendung eines Wasserbades mit Wasserzirkulation für den Temperaturanstieg und eines eisgekühlten Wasserbades für die Abkühlung wird empfohlen.
- Die Geschwindigkeit für Temperaturanstieg und Abkühlung kann durch die Verwendung von Materialien mit hoher Wärmeleitung (Glass) verbessert werden.
- Wenn eine geringe Reninaktivität in den Plasmaproben vermutet wird, kann die Inkubationszeit des enzymatischen Schritts bis 3 Stunden verlängert werden.

6.2.2 Enzymatisches Schritt –Durchführung

Warnung: Kalibratoren und Kontrollprobe müssen nicht behandelt werden

- Geben Sie 200 µL des abgekühlten Enzyminhibitors in 200 µL jeder Plasmaprobe und mischen.
- Teilen Sie jede Probe in zwei 200 µL Aliquots.
- Stellen Sie das erste Aliquot in ein eisgekühltes Wasserbad im Kühlschrank (für die Bestimmung des Angiotensins I im Hintergrund, bei 4°C)
- Stellen Sie das zweite Aliquot eine Stunde in ein 37°C Wasserbad (für die Bestimmung des erzeugten Angiotensins I bei 37°C)
- Inkubieren Sie alle Aliquots für eine Stunde.
- Nach der Inkubation, kühlen Sie die Proben schnell von 37°C zu 4°C in einem Eiswasserbad.

6.3 Testdurchführung

Schritt 1 Zugabe *	Schritt 2 Inkubation	Schritt 3 Messen
<p>Zu den beschichteten Röhrrchen, geben Sie, in dieser Reihenfolge:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 75 µL Kalibrator, Kontrolle oder Probe nach der enzymatischen Inkubation bei 37°C und bei 4°C und jeweils - 100 µL Tracer. Mischen. 	<p>2 Stunden bei 18-25°C mit Schütteln (>280 rpm).</p>	<p>Vorsichtig den Inhalt der Röhrrchen absaugen (außer den zwei Röhrrchen für Totalaktivität).</p> <p>Mit 2 mL Waschlösung waschen und zweimal absaugen.</p> <p>Aktivität (cpm) bestimmen (1min).</p>

* Kalibratoren, Kontrolle und Proben müssen vor dem Pipetieren bei 4°C abgekühlt werden. Mischen Sie die Proben vorsichtig vor der Zugabe.

** Fügen Sie 100 µL Tracer in 2 zusätzliche Röhrrchen hinzu, um die Totalaktivität zu erhalten.

7. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse werden aus der Standardkurve mittels Interpolation ermittelt. Die Kurve kann für die Bestimmung der Angiotensin I-Konzentration in den Proben dienen, die zur gleichen Zeit wie die Standardkurve gemessen wurden.

7.1 Standardkurve

Die Ergebnisse in der Packungsbeilage wurden errechnet mittels einer logit-log Kurvenanpassung mit (cubic gewichtete Regression) B/T (%) oder B/B₀ (%) auf der y-Achse und den Angiotensin I-Konzentrationen der Kalibratoren auf der x-Achse (ng/mL). Andere Datenreduktions-Methoden können zu leicht abweichenden Ergebnissen führen.

Totalaktivität : 68 511 cpm				
Kalibratoren	Angiotensin I (ng/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0,00	17 444	25,5	100
1	0,30	13 732	20,0	78,7
2	1,00	9 390	13,7	53,8
3	3,00	5 431	7,93	31,1
4	10,0	2 746	4,01	15,7
5	30,0	1 243	1,81	7,13

(Beispiel einer Standardkurve, nicht zur Berechnung benutzen)

7.2 Proben

Für Kontrolle oder die Proben nach 4°C oder 37°C Inkubation wird der B/T oder B/B₀-Wert auf der y-Achse bestimmt und die entsprechende Angiotensin I-Konzentration (in ng/mL) auf der x-Achse abgelesen. 7.3

Bestimmung der Plasma Renin Aktivität (PRA)

Die Plasma Renin Aktivität (PRA) wird indirekt bestimmt durch das Messen des in vitro erzeugtes Angiotensin I (A-I) in einer Stunde. Angiotensin I im Hintergrund wird in den bei 4°C inkubierten Proben bestimmt und von dem bei 37°C erzeugten Angiotensin I abgezogen. Die PRA wird dann wie folgt ermittelt:

$$\text{PRA ng of A-I /mL/hr} = \frac{[\text{A-I} (37^\circ\text{C}) - \text{A-I} (4^\circ\text{C})] \times 2}{\text{Enzymatische Inkubationszeit (hrs)}}$$

mit:

A-I (37°C): Angiotensinkonzentration in ng/mL in den bei 37°C inkubierten Proben,
A-I (4°C): Angiotensinkonzentration in ng/mL in den bei 4°C inkubierten Proben.

8. QUALITÄTSKONTROLLE

Zur Einhaltung der Laborgrundregeln sollten regelmäßig Kontrollproben benutzt werden, um die Qualität der Ergebnisse zu sichern. Diese Proben müssen in genau derselben Weise wie die Assay Proben getestet werden, und die Analyse der Ergebnisse sollte mit angebrachten statistischen Methoden stattfinden.

Im Falle von Verpackungsschäden oder einer Leistungsbeeinträchtigung des Produkts, kontaktieren Sie bitte Ihren lokalen Vertreter oder benutzen Sie die folgende e-mail: tech.support@diasource.be

9. ERWARTETE WERTE

Jedes Labor sollte jedoch seinen eigenen Normalbereich in Gruppen von gesunden Testpersonen festlegen. Die hier angegebenen Werte dienen nur als Richtlinie.

N	Normaler Erwachsener	2,5 – 97,5 percentil (ng/mL/hr)	Median (ng/mL/hr)	Min-Max (ng/mL/hr)
38	Frühmorgens, liegend	0,32-1,84	0,79	0,30-1,90
41	2 Stunden aufrecht	0,60-4,18	2,20	0,48-4,88

10. SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

(Für mehr Details, siehe die Beilage "APPENDIX")

Repräsentative Daten dienen nur der Veranschaulichung. Die in einzelnen Labors erzielten Leistungen können anders ausfallen.

10.1 Sensitivität

10.1.1 Analytische Sensitivität: 0.07 ng/mL

10.1.2 Funktionelle Sensitivität: 0.20 ng/mL

10.2 Spezifität

Der in diesem Immunoassay verwendete Antikörper ist höchst spezifisch für Angiotensin I. Eine extrem niedrige Kreuzreaktion wurde mit Angiotensin II festgestellt. Außerdem werden mögliche Störfaktoren für die PRA Ergebnisse durch die Subtraktion des Hintergrundes vermieden.

10.3 Präzision

10.3.1 Intra-assay

Proben aus derselben Serie wurden 25 mal getestet. Der Variationskoeffizient war jeweils weniger oder gleich 11,3 %.

10.3.2 Inter-assay

Proben aus 10 verschiedenen Serien wurden als Doppelbestimmungen getestet. Der Variationskoeffizient war jeweils weniger oder gleich 20,9 %.

10.4 Genauigkeit

10.4.1 Abhängigkeit von der enzymatischen Inkubationszeit

Die Proben wurden zusammen mit dem Enzyminhibitor 60, 120 und 180 Minuten inkubiert. Es wurde kein Effekt auf die PRA-Ergebnisse gefunden.

10.4.2 Verdünnungstest

Hoch konzentrierte Proben wurden mit Nullkalibrator verdünnt. Die erhaltene Wiederfindung lag zwischen 78 % und 99 %.

10.4.3 Wiederfindungstest

Plasma Proben wurden mit definierten Angiotensin I-Mengen vermischt. Die erhaltene Wiederfindung lag zwischen 104 % und 123 %.

10.5 **Meßbereich** (von der analytischen Sensitivität bis zum höchsten Kalibrator): 0,07 bis ungefähr 30 ng/mL.

11. GRENZEN DES VERFAHRENS

Die Nichtbeachtung der Anweisungen in dieser Packungsbeilage kann die Ergebnisse signifikant beeinflussen.

Die erhaltenen Ergebnisse sind vor dem Hintergrund der gesamten klinischen Situation des Patienten unter Berücksichtigung seiner klinischen Vorgeschichte, den Ergebnissen anderer Testergebnisse sowie weiteren vorliegenden Informationen zu interpretieren.

Es dürfen keine hämolytischen, ikterischen oder lipämischen Proben verwendet werden.

Bei Assays, die Antikörper nutzen, besteht die Möglichkeit einer Störung durch in der Patientenprobe enthaltene heterophile Antikörper. Patienten, die regelmäßig mit Tieren in Kontakt kommen oder sich immuntherapeutischen oder -diagnostischen Verfahren unter Einsatz von Immunglobulinen oder Immunglobulin-Fragmenten unterzogen haben, können Antikörper bilden (wie bspw. HAMA), welche die Immunoassays stören. Derartige störende Antikörper können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Die Ergebnisse von Patienten, bei denen das Vorliegen derartiger Antikörper zu vermuten ist, sind sorgfältig zu untersuchen.

Revision date : 2020-02-24



Angiotensin I RIA

es

Radioinmunoanálisis de la angiotensina I para la determinación cuantitativa in vitro de la actividad plasmática de la renina (pra) en plasma humano

KIPB3518

DIAGNÓSTICO IN VITRO

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium - Tel: +32 10 84 99 11 - Fax : +32 10 84 99 90

1. PRINCIPIO DEL ENSAYO

La Angiotensina I RIA sirve para la determinación cuantitativa de la actividad plasmática de la renina (PARA) por medio de un radioinmunoanálisis del producto de reacción, la angiotensina I.

La generación de la angiotensina I es el resultado del corte enzimático del sustrato de renina, en plasma humano en presencia del inhibidor ACE (ECE enzima convertidora de la angiotensina I); un inhibidor enzimático que bloquea la conversión de angiotensina I en angiotensina II.

El radioinmunoanálisis de la angiotensina I es de tipo competitivo. Las muestras desconocidas, controles y calibradores se incuban con angiotensina I marcada con I^{125} , como trazador, en tubos recubiertos con un anticuerpo policlonal. Después de la incubación, se aspira el contenido de los tubos y se determina la radioactividad enlazada. Los valores desconocidos se determinan mediante interpolación con la curva estándar.

2. REACTIVOS PROPORCIONADOS

Todos los reactivos son estables entre 2 y 8°C hasta la fecha de caducidad del equipo, la cual se indica en la etiqueta de éste. Las condiciones de almacenamiento de los reactivos después de la reconstitución o dilución se indican en el inciso procedimiento del análisis. La fecha de caducidad impresa en las etiquetas de los reactivos son válidas, solo para el fabricante, durante su almacenamiento a largo plazo hasta antes de ser ensamblados como componentes del kit. No tomar en cuenta.



Tubos recubiertos con anticuerpo policlonal anti-angiotensina I: 2 x 50 tubos (listos para su uso)

Ag	1251
----	------

Angiotensina I marcada con I^{125} : un frasco de 11 mL (listo para su uso)

El frasco contiene 260 kBq de angiotensina I marcada con I^{125} , en la fecha de fabricación, en amortiguador con suero bovino, ProClin 300 (< 0.06%, véase inciso sobre precauciones) y un colorante.

CAL	N
-----	---

Calibradores: seis frascos 1 mL (listos para su uso)

Los frascos calibradores contienen desde 0 hasta aproximadamente 30 ng/mL de angiotensina I en amortiguador con suero bovino, azida de sodio (< 0.1%, véase inciso sobre precauciones). La concentración exacta se indica en la etiqueta. Los calibradores se calibraron contra RP 86/536.

CONTROL

Muestra control testigo: un frasco de 1 mL (listo para su uso)

Los frascos contienen angiotensina I en amortiguador con suero bovino, azida de sodio (< 0.1%, véase inciso sobre precauciones). La concentración exacta se indica en la hoja suplemento.

NEUTR	SOLN
-------	------

Inhibidor enzimático: un frasco (liofilizado)

También contienen azida de sodio (< 0.1%, véase inciso sobre precauciones).

WASH	SOLN	CONC
------	------	------

Solución de lavado (20x): un frasco de 50 mL

Diluir la solución concentrada antes de su uso.

3. MATERIAL REQUERIDO PERO NO PROPORCIONADO

Además del equipo normal de laboratorio se requiere lo siguiente:

- Micropipetas de precisión (75 μ L; 100 μ L).
- Dispensador ajustable (200 μ L; 300 μ L; 2 mL).
- Baño de agua.
- Baño de hielo.

- Mezclador tipo vórtex.
- Agitador horizontal u oscilatorio.
- Sistema de aspiración.
- Contador gamma calibrado para I^{125} .

4. PRECAUCIONES

4.1 Generales

- La solución del inhibidor enzimático, los calibradores y los controles deben enfriarse a 2-8°C antes de utilizarse.
- Los viales de los calibradores y controles deben ser abiertos durante el menor tiempo posible, para así evitar evaporaciones excesivas.
- No mezclar los reactivos de lotes diferentes.
- Incluir una curva de calibración en cada ensayo.
- Es recomendado realizar el ensayo por duplicado.
- Cada tubo debe estar utilizado solamente una vez.

4.2 Seguridad radiológica

La compra, posesión, uso y transferencia de material radiactivo están sujetas a las disposiciones legales del país en el que se utiliza. El cumplimiento de las normas básicas de seguridad radiológica proporciona protección adecuada.

- No se debe comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en presencia de materiales radiactivos.
- No pipetear las soluciones radiactivas con la boca.
- Evitar cualquier contacto con materiales radiactivos mediante el uso de guantes y bata de laboratorio.
- Toda manipulación de material radiactivo debe realizarse en el lugar adecuado, alejado de corredores y espacios ocupados.
- Los materiales radiactivos deben almacenarse en el contenedor aprobado en una zona especializada.
- Se debe llevar y conservar actualizado un registro de las entradas y almacenamiento de todos los productos radiactivos.
- El equipo y la vidriería de laboratorio que son objeto de contaminación se deben separar para evitar la contaminación con otros radioisótopos.
- Cada caso de contaminación radiactiva, o de pérdida de materiales radiactivos se debe resolver de acuerdo con los procedimientos establecidos.
- El desecho radiactivo debe manipularse de acuerdo a las reglas establecidas por el país donde se utiliza.
- Este kit contiene ^{125}I (vida media: 60 días), emitiendo ionizante x (28 keV) y (35.5 keV) radiaciones

4.3 Azida de sodio

Algunos reactivos contienen azida de sodio como conservador. La azida de sodio puede reaccionar con el plomo, el cobre y el bronce para formar azidas metálicas explosivas. Deseche los reactivos a través del sistema de drenaje mediante lavado con grandes cantidades de agua.

4.4 ProClin 300

R43: Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.

4.5 Material de origen humano

Los reactivos de este equipo deben manejarse como si fueran capaces de transmitir hepatitis o SIDA. Los desperdicios deben eliminarse según los reglamentos nacionales actuales.

5. COLECCIÓN, PROCESAMIENTO Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

- Colectar la sangre en tubos fríos con EDTA.
- Separar el plasma de las células mediante centrifugación a 2-8°C.
- Guardar las muestras a $\leq -20^\circ C$ (1 año máximo), si la determinación no se realizara inmediatamente, preparar alícuotas para evitar repetidas descongelaciones y congelaciones.

Nota: La temperatura del plasma debe permanecer a 2-8°C en el curso de su utilización. Evitar posteriores manipulaciones para evitar la formación y descomposición de la angiotensina I.

6. PROCEDIMIENTO DEL ANÁLISIS

6.1 Preparación y almacenamiento de los reactivos

6.1.1 Preparación, solución del inhibidor enzimático

Reconstituir el contenido de los frascos con el volumen de agua destilada (4°C) señalado en la etiqueta. El inhibidor enzimático reconstituido debe almacenarse entre 2 y 8°C hasta la fecha de caducidad del equipo.

6.1.2 Preparación de la solución de lavado

Diluir el contenido del frasco con 950 mL de agua destilada y homogenizar. El reactivo es estable entre 2 y 8°C hasta la fecha de caducidad del equipo.

6.2 Paso enzimático.– generación de la angiotensina I

6.2.1 Notas y recomendaciones

- El inhibidor enzimático debe enfriarse a 4°C antes de añadir la muestra.
- Deben respetarse estrictamente las temperaturas de incubación (4°C y 37°C). Aun las variaciones muy ligeras causan enormes errores en la determinación.
- El tiempo de pre-incubación enzimática a 37°C debe determinarse precisamente como sea posible y debe mantenerse dentro de un límite muy estrecho para la incubación de todos los tubos.
- La verificación del incremento en la temperatura de 4°C a 37°C y la disminución de las mismas son muy importantes. Para entibiar el agua es recomendable utilizar un baño de agua circulante. Para enfriar el agua se recomienda el uso de un baño de agua con regulador de temperatura o enfriador.
- Se recomienda utilizar tubos hechos de un material conductor (vidrio) para optimizar el aumento y la disminución de la temperatura.
- Si se espera una actividad baja de la renina en las muestras, se deben aumentar hasta tres horas el tiempo de incubación en el paso enzimático.

6.2.2 Paso enzimático – procedimiento

Cuidado : No realizarlo con los calibradores o muestras controles

- Adicionar 200 µL del inhibidor enzimático, previamente enfriado, a 200 µL de cada muestra de plasma y mezclar.
- Dividir cada muestra en dos alícuotas de 200 µL.
- Pasar una alícuota del baño de agua fría en hielo a un refrigerador (Para la determinación de la angiotensina I basal a 4°C).
- Poner la segunda alícuota en un baño de agua 37°C (Para la determinación de la angiotensina I generada a 37°C).
- Incubar todas las alícuota durante 1 hora.
- Después de la incubación, enfriar las muestras de 37°C a 4°C inmediatamente con la ayuda del baño de agua helada (con hielo).

6.3 Procedimiento del inmunoanálisis

PASO 1 Adiciones*	PASO 2 Incubación	PASO 3 Conteo
<p>A los tubos recubiertos de anticuerpo agregar sucesivamente:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 75 µL de calibradores, controles o muestras <p>Después de la incubación enzimática a 37°C y a 4°C respectivamente y</p> <ul style="list-style-type: none"> - 100 µL del trazador.** <p>Mezclar.</p>	<p>Incubar 2 hrs. de 18-25°C con agitación (>280 rpm).</p>	<p>Aspirar cuidadosamente el contenido de los tubos (excepto el de los dos tubos "cpm total").</p> <p>Lavar con 2 mL de la solución de lavado.</p> <p>Aspirar dos veces.</p> <p>Determinar la actividad (cpm) por 1 min.</p>

* Antes de utilizar enfriar a 4°C los calibradores, las muestras controles y las muestras a analizar.

** Agregar 100 µL de trazador a 2 tubos adicionales para obtener las cpm totales.

7. RESULTADOS

Los resultados se obtienen por interpolación con la curva estándar. La curva sirve para determinar la concentración de la angiotensina I en las muestras medidas al mismo tiempo que los calibradores.

7.1 Curva de calibración

Los resultados presentados en este folleto han sido calculados usando una curva logit-log (regresión cubica de peso) donde B/T (%) o B/B₀ (%) han sido marcadas sobre el eje vertical y las concentraciones de la angiotensina I de los calibradores (ng/mL) sobre el eje horizontal. La utilización de otros métodos de cálculo pueden dar resultados ligeramente diferentes.

Actividad total: 68 511 cpm				
Calibradores	Angiotensina I (ng/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0.00	17 444	25.5	100
1	0.30	13 732	20.0	78.7
2	1.00	9 390	13.7	53.8
3	3.00	5 431	7.93	31.1
4	10.0	2 746	4.01	15.7
5	30.0	1 243	1.81	7.13

(Ejemplo de curva de calibración, no utilizar como modelo para realizar los cálculos)

7.2 Muestras

Para cada muestra o control incubados a 4°C, o a 37°C, localiza los valores B/T (%) o B/B₀ (%) sobre el eje vertical y leer la correspondiente concentración de la angiotensina I en ng/mL sobre el eje horizontal.

7.3 Cálculos de la actividad de la renina plasmática.

La determinación de la actividad de la renina de plasma se lleva a cabo indirectamente midiendo la generación de la angiotensina I (A-I) por hora. Para calcular la PRA, la A-I basal, determinada en las muestras de plasma incubadas a 4°C, se sustrae de la A-I generada a 37°C utilizando la fórmula que se muestra a continuación:

$$\text{PRA ng of A-I /mL/hr} = \frac{[A-I (37^\circ\text{C}) - A-I (4^\circ\text{C})] \times 2}{\text{Tiempo de incubacion enzimática (hrs)}}$$

Donde:

A-I (37°C): concentración de la angiotensina I en ng/mL de la muestra incubada a 37°C

A-I (4°C): concentración de la angiotensina I en ng/mL de la muestra incubada a 4°C

8. CONTROL DE CALIDAD

La obtención de óptimos resultados implica que las muestras testigo sean usadas en cada serie de experimentos para asegurar la calidad de los resultados obtenidos. Dichas muestras testigo deben ser procesadas de la misma manera que las muestras a analizar. Es recomendado que los resultados sean analizados utilizando los métodos estadísticos apropiados.

En caso de detectar un deterioro en el empaquetado del producto ó que los resultados expresen una alteración en las características del mismo, contactar con el Distribuidor local ó notificar a la dirección de e-mail: tech.support@diasource.be

9. VALORES ESPERADOS

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia. Los valores que se proporcionan a continuación son solo indicativos.

N	Adulto normal	2.5 - 97.5 percentile (ng/mL/h)	Mediana (ng/mL/h)	Min-Max (ng/mL/h)
38	Mañana, supino	0.32-1.84	0.79	0.30-1.90
41	Posición erguida, 2 horas	0.60-4.18	2.20	0.48-4.88

10. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ANÁLISIS

(Para mayores detalles ver la página de "APENDICES")

Se facilitan datos representativos solo a modo de ejemplo. El rendimiento obtenido en los distintos laboratorios puede variar.

10.1 Sensibilidad

10.1.1 Sensibilidad Analítica: 0.07 ng/mL

10.1.2 Sensibilidad Funcional: 0.20 ng/mL

10.2 Especificidad

El anticuerpo usado en el inmunoanálisis es altamente específico para la angiotensina I. Este presentó niveles extremadamente bajos de reacción cruzada contra la angiotensina II.

Sin embargo, la influencia de posibles interferencias que pueden resultar en la PRA, se elimina por la sustracción de su nivel basal.

10.3 Reproducibilidad

10.3.1 Intra-análisis

Las muestras se evaluaron 25 duplicados en las mismas series. Los coeficientes de variación fueron iguales o por debajo de 11.3 %.

10.3.2 Inter-análisis

Las muestras se evaluaron en duplicado en 10 series diferentes. Los coeficientes de variación fueron iguales o por debajo de 20.9 %.

10.4 Precisión

10.4.1 Efecto del tiempo de incubación en la actividad enzimática.

Las muestras fueron incubadas en presencia del inhibidor enzimático por 60, 120, y 180 minutos. No se observó algún efecto significativo en los resultados de PRA.

10.4.2 Prueba de dilución

Las muestras presentes en concentraciones altas se diluyeron serialmente con el calibrador Cero. Los porcentajes de recuperación obtenidos fueron entre 78 % y 99 %.

10.4.3 Prueba de recuperación

Las muestras de plasma de baja concentración se regularon con cantidades conocidas de angiotensina I. Los porcentajes de recuperación obtenidos fueron entre 104 % y 123 %.

10.5 Rango de medida (a partir de la sensibilidad analítica del calibrador más alto): desde 0.07 hasta aproximadamente 30 ng/mL.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El no respetar las instrucciones de uso puede afectar significativamente a los resultados.

Los resultados deben ser interpretados con la luz de la presentación clínica total del paciente, incluyendo su historia clínica, los datos de pruebas adicionales y las otras informaciones apropiadas.

No utilice muestras hemolizadas, ictericas o lipémicas.

En los ensayos en los que se utilizan anticuerpos existe la posibilidad de que se produzcan interferencias debido a la presencia de anticuerpos heterófilos en la muestra del paciente. Los pacientes que hayan estado en contacto regularmente con animales o hayan recibido inmunoterapia o procedimientos diagnósticos con inmunoglobulinas o fragmentos de inmunoglobulinas pueden producir anticuerpos, p.ej. HAMA, que interfieren con los inmunoensayos.

Esos anticuerpos que crean interferencias pueden causar resultados erróneos. Evaluar cuidadosamente los resultados de los pacientes que se sospeche que puedan tener esos anticuerpos.

Revision date : 2020-02-24



RADIO IMUNOENSAIO da angiotensina I para a determinação in vitro da Atividade Plasmática da Renina (APR) em plasma humano

KIPB3518

Para utilização em diagnóstico in vitro

DIASource ImmunoAssays SA - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium - Tel: +32 10 84 99 11 - Fax : +32 10 84 99 90

1. PRINCÍPIO

A angiotensina I RIA é utilizado para a determinação quantitativa da actividade da renina no plasma (APR) por radioimunoensaio do produto da reacção, a angiotensina I.

A geração de angiotensina I é o resultado da clivagem enzimática do substrato de renina, angiotensinogéneo, em amostras de plasma na presença de inibidor de ECA (Enzima de Conversão da Angiotensina), um inibidor enzimático, que bloqueia a conversão de angiotensina I em angiotensina II.

O imunoensaio da angiotensina I é um ensaio radioimunológico competitivo. As amostras desconhecidas, controlo e calibradores são incubados em tubos revestidos com anticorpos policlonais, angiotensina I marcado com ¹²⁵I. Após a incubação, o conteúdo dos tubos é aspirado. A quantidade de reactividade da ligação é medida num contador gama. Uma curva padrão é estabelecida e os valores desconhecidos são determinados por interpolação a partir da curva padrão.

2. MATERIAIS FORNECIDOS

Todos os reagentes do kit são estáveis até a data de validade indicada no rótulo do kit, se armazenado a 2-8 °C. Condições de armazenamento para reagentes após a reconstituição ou diluição são indicados no parágrafo Procedimento. As datas de validade impressas em etiquetas dos frascos dos componentes aplicam-se ao armazenamento de longo prazo pelo fabricante apenas, antes da montagem do kit, não ter em conta.



Tubos revestidos com anticorpos policlonais Anti-angiotensina I: 2 x 50 tubos (pronto a usar)

Ag	125I
----	------

Marcador de ¹²⁵I angiotensina I: um frasco de 11 mL (pronto a usar)

O frasco contém, à data de fabrico, 260 kBq, de angiotensina-I marcado com ¹²⁵I em tampão com albumina de soro bovino e um corante.

CAL	N
-----	---

Calibradores: seis frascos de 1 mL (prontos a usar)

Os frascos de calibradores contêm de 0 a cerca de 30 ng/mL de angiotensina I em tampão com albumina de soro bovino e azida de sódio (<0,1%). A concentração exacta é indicada em cada rótulo do frasco. Os calibradores foram calibrados contra RP 86/536.

CONTROL

Controlo: um frasco de 1 mL (pronto a usar)

O frasco contém angiotensina I em tampão com albumina de soro bovino e azida de sódio (<0,1%). O valor esperado de concentração está indicado num suplemento.

NEUTR	SOLN
-------	------

Inibidor Enzimático: um frasco (lyophilizado)

O frasco contém azida de sódio (<0,1%).

WASH	SOLN	CONC
------	------	------

Solução de Lavagem (20x): um frasco de 50 mL

Solução concentrada, deve ser diluída antes do uso.

3. MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Em adição ao material usual de laboratório, é ainda necessário:

- Micropipetas de precisão (75 µL; 100 µL).
- Pipetas ajustáveis (200 µL; 300 µL; 2 mL).
- Banho de água.
- Banho de gelo.
- agitador tipo vortex
- agitador orbital ou horizontal.

- sistema de aspiração.

- Contador gama ajustado para ¹²⁵I.

4. AVISOS E PRECAUÇÕES

4.1 Orientações Gerais:

- A solução inibidora enzimática, calibradores, controlo e amostras devem ser arrefecidos a 2-8 °C antes da pipetagem.
- Os frascos dos calibradores e controlos devem estar abertos durante o menor tempo possível, de forma a evitar evaporação excessiva.
- Não misture os reagentes de kits de diferentes lotes.
- Deve ser estabelecida uma curva padrão em cada ensaio.
- Recomenda-se a realizar o imunoensaio em duplicado.
- Cada tubo deve ser utilizado uma vez.

4.2 Regras básicas de segurança para radiação

A compra, uso e transferência de material radioactivo estão sujeitos à regulamentação de cada país. A adesão às regras básicas de segurança para a radiação fornecem a protecção adequada:

- Não comer, beber, fumar ou aplicar cosméticos na presença de materiais radioactivos.
- Não pipetar o material radioactivo com a boca.
- Evite qualquer contacto com o material radioactivo utilizando-se luvas e EPI's de laboratório.
- Toda a manipulação de material radioactivo deve ser feita em local apropriado, distante de corredores e locais muito utilizados.
- Materiais radioactivos devem ser armazenados no frasco fornecido e em área designada.
- O registo de recepção e armazenamento de produtos radioactivos devem ser mantidos atualizados.
- Equipamentos laboratoriais e vidrarias que estão sujeitas à contaminação devem ser separados para prevenir a contaminação cruzada de radioisótopos diferentes.
- Cada caso de contaminação ou perda de material radioactivo deve ser efetuada de acordo com os procedimentos estabelecidos.
- Descarte dos reagentes e materiais deve ser de acordo com a regulamentação aplicável.
- Este kit contém 125I (meia-vida: 60 dias), emitindo radiações X (28 keV) e γ (35.5 keV) ionizantes.

4.3 Azida Sódica

Alguns dos reagentes contêm azida sódica como conservante. Azida Sódica reage com chumbo, cobre e mistura de metais formando material de azida explosivo. Descarte os reagentes com uma grande quantidade de água no sistema sanitário.

4.4 Soro Humano

Todas as amostras de plasma devem ser tratadas como se fossem capazes de transmitir hepatite ou AIDS e os resíduos devem ser descartados de acordo com as normas do país.

5. COLHEITA, PROCESSAMENTO, ARMAZENAMENTO, E DILUIÇÃO DAS AMOSTRAS

- As amostras de plasma têm de ser recolhidas em tubos EDTA frios.
- Separar o plasma das células por centrifugação a 2-8 °C.
- Mantenha as amostras de plasma congelado (<-20 °C, um ano no máximo), se a determinação não é para ser executada imediatamente, depois de alíquotar, a fim de evitar o congelamento e descongelamento repetido.

Nota: A temperatura de amostras de plasma devem ser mantidos a 2-8 °C no decurso do ensaio. Evitar manipulação adicional para evitar, tanto a formação como a decomposição da angiotensina I.

6. PROCEDIMENTO

6.1 Preparação e armazenamento dos reagentes

6.1.1 Preparação da solução de inibidor enzimático

O conteúdo dos frascos é reconstituído com o volume de água destilada fria (4 °C), indicada no rótulo. O inibidor enzimático reconstituído pode ser armazenado a 2 - 8 °C até a data de validade do kit.

6.1.2. Preparação de solução de lavagem

Misture o conteúdo do frasco em 950 mL de água destilada e homogenize. A solução diluída deve ser armazenada entre 2-8 °C até a data validade do kit.

6.2 Passo enzimático – geração da angiotensin I

6.2.1 Observações e recomendações

- O inibidor enzimático tem de ser arrefecido até 4 °C antes da adição à amostra.
- Ambas as temperaturas de incubação (4 °C e 37 °C) devem ser respeitadas rigorosamente, mesmo pequenas variações podem causar erros graves na determinação.
- O tempo de incubação enzimática a 37 °C deve ser determinada de forma tão precisa quanto possível e mantido dentro de limites estreitos para todo o conjunto de tubos.
- A rapidez do aumento da temperatura de 4 °C a 37 °C e a seguinte queda inversa são críticas. Um banho de água circulante é conveniente para o aquecimento e, a utilização de um banho de água gelada é aconselhável para o arrefecimento.
- A rapidez do aumento de temperatura e diminuição pode ser melhorada com a utilização de tubos feitos de material com boa condutividade térmica (vidro).
- Se for esperado baixa actividade da renina plasmática da amostra, o tempo

6.2.2 Passo enzimático - Procedimento

Atenção: Não tratar os calibradores e o controlo.

- Adicionar 200 µL de inibidor enzimático pré-arrefecido para 200 µL a cada amostra de plasma e misturar.
- Divida cada amostra em duas alíquotas de 200 µL.
- Colocar a primeira alíquota num banho de água gelada no frigorífico (destinada à determinação de fundo angiotensina I, a 4 °C).
- Colocar a segunda num banho de água regulada para 37 °C (destinada à determinação da angiotensina I gerada a 37 °C).
- Incubar todas as alíquotas durante 1 hora.
- Após incubação, arrefeça as amostras de 37 °C a 4 °C rapidamente usando banho de água gelada.

6.3 Procedimento do Imunoensaio

Passo 1 Pipetagem*	Passo 2 Incubação	Passo 3 Contagem
Nos tubos revestidos, adicione sucessivamente: 75 µL de calibrador, controlo ou amostra após a incubação enzimática a 37 °C e a 4 °C respectivamente 100 L de marcador.** Homogeneize.	Incubar 2 horas a 18-25 °C com agitação (> 280 rpm).	Aspirar o conteúdo dos tubos com cuidado (excepto os 2 tubos "total cpm") Lavar com 2 mL de solução de lavagem. Aspirar 2 vezes. Determinar a actividade (cpm) em todos os tubos durante 1 minuto.

*Amostras, calibradores e controlo têm de ser arrefecidos a 4 °C antes da pipetagem. Misture delicadamente as amostras antes de serem adicionados.

**Adicione 100 µL do traçador a 2 tubos adicionais para obter o «total cpm»

7. RESULTADOS

Os resultados são obtidos a partir da curva padrão por interpolação. A curva serve para a determinação das concentrações de angiotensina I em amostras ensaiadas ao mesmo tempo que os calibradores.

7.1 Curva Padrão

Os resultados na bula foram calculados usando uma curva de ajuste logit-log (regressão ponderada cúbica) com B/T (%) ou B/B0 (%) no eixo vertical e a

concentração dos calibradores no eixo horizontal (ng/mL). Outros métodos de redução de dados podem gerar resultados ligeiramente diferentes.

Actividade total : 68 511 cpm				
Calibradores	Angiotensina I (ng/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B0 (%)
0	0.00	17 444	25.5	100
1	0.30	13 732	20.0	78.7
2	1.00	9 390	13.7	53.8
3	3.00	5 431	7.93	31.1
4	10.0	2 746	4.01	15.7
5	30.0	1 243	1.81	7.13

(Exemplo de curva padrão, não utilize para cálculo)

7.2 Amostras

Para o controlo e as amostras incubadas a 4 °C, ou a 37 °C, localizar a B/T (%) ou B/B0 (%) valor no eixo vertical e a leitura da concentração de angiotensina I correspondente em ng/mL no eixo horizontal.

7.3 Cálculo da actividade da renina no plasma

A determinação da actividade da renina no plasma é efectuada indirectamente pela medição da geração in vitro de angiotensina I (A-I) por hora. Os valores de AI, determinados com amostras de plasma incubadas a 4 °C, são subtraídos a partir do AI gerado a 37 °C para o cálculo da APR utilizando a seguinte equação:

$$\text{APR ng de A-I / mL/hr} = \frac{[A-I(37^\circ\text{C}) - A-I(4^\circ\text{C})] \times 2}{\text{Tempo da Incubação Enzimática (hrs)}}$$

Onde

A-I (37 °C): concentração de angiotensina em ng/mL na amostra incubada a 37 °C

A-I (4 °C): concentração de angiotensina em ng/mL na amostra incubada a 4 °C.

8. CONTROLO DE QUALIDADE

As boas práticas de laboratório recomendam que os controlos sejam feitos regularmente para assegurar a qualidade dos resultados obtidos. As amostras devem ser processadas em simultâneo com os controlos, e os resultados analisados com métodos estatísticos apropriados. Em caso de deterioração da embalagem ou se o dado obtido mostrar alguma alteração de performance, por favor contacte o distribuidor local ou utilize o seguinte endereço de e-mail: tech.support@diasource.be

9. VALORES ESPERADOS

Sugere-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores normais.

Os valores APR apresentados a seguir são apenas indicativos.

N	Adultos saudáveis	2.5 - 97.5 percentile (ng/mL/hr)	Mediana (ng/mL/hr)	Min-Max (ng/mL/hr)
38	Manhã, pos. Decúbito	0.32-1.84	0.79	0.30-1.90
41	Pos. orotestática, 2 Horas	0.60-4.18	2.20	0.48-4.88

10. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

(Para mais detalhes, veja a data sheet "APPENDIX")

São fornecidos dados representativos apenas para fins ilustrativos. O desempenho pode variar de um laboratório para outro.

10.1 Sensibilidade

10.1.1 Sensibilidade analítica: 0,07 ng/mL

10.1.2 Sensibilidade funcional: 0,20 ng/mL

10.2 Especificidade

O anticorpo utilizado no imunoensaio é altamente específico para a angiotensina I. Extremamente baixa reactividade cruzada foi obtida com a angiotensina II. Além disso, a influência de possíveis interferências nos resultados na PARA é eliminado por subtração do valor de fundo.

10.3 Precisão

10.3.1 Intra-ensaio

As amostras foram doseadas em pelo menos 25 repetições da mesma série. Os coeficientes de variação encontrados foram inferiores ou igual a 11,3%.

10.3.2 Inter-ensaio

As amostras foram analisadas em duplicado, em 10 séries diferentes. Os coeficientes de variação encontrados foram inferiores ou igual a 20,9%.

10.4 Exactidão

10.4.1 Dependência do tempo de incubação enzimática

As amostras foram incubadas com um inibidor enzimático durante 60, 120, e 180 minutos. Nenhum efeito significativo nos resultados PRA foi encontrado.

10.4.2 Teste de Diluição

As amostras de plasma foram diluídas em série com calibrador zero. As percentagens de recuperação foram obtidas entre 78% e 99%

10.4.3 Teste de Recuperação

As amostras de plasma foram incrementadas com quantidades conhecidas de angiotensina I. As percentagens de recuperação foram obtidos entre 104% e 123%.

10.5 Gama de medição (da sensibilidade analítica ao calibrador mais alto):

0.07 a aproximadamente 30 ng/mL.

11. LIMITAÇÕES

O não cumprimento das instruções deste protocolo pode afectar, significativamente, os resultados. Os resultados devem ser interpretados conjuntamente com a clínica do doente, incluindo história clínica, dados de testes adicionais e outras informações próprias. Não use amostras intensamente lipêmicas, ictericas ou hemolizadas. Em ensaios que usam anticorpos, há possibilidade de interferência por anticorpos heterófilos nas amostras de doentes. Os doentes expostos regularmente a animais, que receberam imunoterapia ou procedimentos diagnósticos utilizando imunoglobulinas ou fragmentos de imunoglobulinas podem produzir anticorpos, ex. HAMA, que interferem com os imunoensaios. Tais anticorpos interferentes podem produzir resultados errados. Os resultados de doentes suspeitos de ter estes anticorpos devem ser avaliados com cuidado.

Revision date : 2020-02-24



РАДИОИММУНОЛОГИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНГИОТЕНЗИНА I ДЛЯ ОЦЕНКИ АКТИВНОСТИ ПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕНИНА (АПР) IN VITRO В ПЛАЗМЕ

KIPB3518

IN VITRO ДИАГНОСТИКИ

DIASource ImmunoAssays SA - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium - Tel: +32 10 84 99 11 - Fax : +32 10 84 99 90

1. ПРИНЦИП МЕТОДА

Радиоиммунологический метод оценки активности плазматического ренина (АПР) основан на измерении количества образовавшегося продукта ферментативной реакции - ангиотензина I.

Образование ангиотензина I в образцах плазмы крови, являющееся результатом ферментативного расщепления субстрата ренина – ангиотензиногена, проводится в присутствии ингибитора, блокирующего превращение ангиотензина I в ангиотензин II.

Радиоиммунологическое определение ангиотензина I относится к конкурентным видам анализа. Исследуемые образцы, контрольные и калибровочные пробы инкубируют со ¹²⁵I-ангиотензином I в пробирках, покрытых поликлональными антителами. Затем удаляют содержимое пробирок, промывают их и измеряют связанную активность ¹²⁵I. Концентрацию ангиотензина I определяют методом интерполяции по калибровочной кривой.

2. РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

Все реагенты стабильны при 2-8°C до окончания срока годности набора. Условия хранения после растворения и разбавления реагентов указаны в разделе "Процедура анализа". Сроки годности, указанные на этикетках флаконов с реагентами, относятся только к их хранению в производственных условиях вплоть до момента комплектации набора и не распространяются на полученную заказчиком продукцию.



Пробирки, покрытые поликлональными антителами к ангиотензину I: 2 x 50 шт (готовы к использованию)

Ag	125I
----	------

Метка, ¹²⁵I-ангиотензин I: 1 флакон, 11 мл (готова к использованию)

На дату изготовления флакон содержит 260 кБк ¹²⁵I-ангиотензина I в буфере с бычьим сывороточным альбумином, с Pro-Clin 300 (<0,06 %; см. п. Меры предосторожности) и красителем.

CAL	N
-----	---

Калибровочные пробы: 6 флаконов по 1 мл (готовы к использованию)

Калибровочные пробы содержат ангиотензин I в диапазоне концентраций от 0 до приблизительно 30 нг/мл в буфере с бычьим сывороточным альбумином и азидом натрия (<0,1 %; см.п. Меры предосторожности). Точные концентрации, калиброванные по международному стандарту RP 86/536, указаны на этикетках флаконов.

CONTROL

Контрольная сыворотка: 1 флакон, 1 мл (готова к использованию)

Флакон содержит известное количество ангиотензина I в буфере с бычьим сывороточным альбумином и азидом натрия (<0,1 %; см.п. Меры предосторожности). Ожидаемые диапазоны концентраций указаны на дополнительном листке-вкладыше.

NEUTR	SOLN
-------	------

Ингибитор фермента: 1 флакон (лиофилизированный препарат)

Препарат содержит азид натрия (<0,1 %; см.п. Меры предосторожности).

WASH	SOLN	CONC
------	------	------

Промывочный раствор (20x): 1 флакон, 50 мл

Концентрированный раствор должен быть перед использованием разведен.

3. ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Помимо стандартного лабораторного оборудования необходимо иметь следующее:

- микропипетки (75 мкл; 100 мкл)
- полуавтоматические пипетки (200 мкл, 300 мкл; 2 мл)
- водяная баня
- ледяная баня
- вихревой смеситель типа Vortex
- горизонтальный или орбитальный встряхиватель
- водоструйный насос
- гамма-счетчик для измерения активности ¹²⁵I.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1 Общие замечания:

- Перед внесением в пробирки раствор ингибитора фермента, калибровочные, контрольные и анализируемые образцы должны иметь температуру 2-8°C.
- Флаконы с калибраторами и контролями следует открывать непосредственно перед использованием, во избежание чрезмерного испарения.
- Не смешивать реагенты из наборов разных серий.
- Анализ калибровочных и неизвестных проб должен проводиться одновременно.
- Анализ рекомендуется проводить в дубликатах.
- Пробирки предназначены для однократного использования.

4.2 Основные правила обращения с радиоактивными веществами

- Получение, использование и транспортировка радиоактивных материалов должны происходить в соответствии с принятыми в данной стране нормами радиационной безопасности и санитарными правилами работы с радиоактивными веществами.
- В лабораториях запрещается принимать пищу, курить, пользоваться косметикой.
 - Не пипетировать растворы радиоактивных веществ ртом.
 - Для ограничения контакта с радиоактивными материалами рекомендуется использовать разовые перчатки и лабораторную спецодежду.
 - Все манипуляции с радиоактивными веществами следует проводить в специально оборудованных для этого помещениях, удаленных от мест постоянного пребывания людей.
 - Радиоактивные вещества следует хранить с использованием контейнеров в специально отведенных для этого местах.
 - Необходимо регистрировать поступление и расход радиоактивных материалов.
 - Лабораторное оборудование и посуду следует хранить отдельно, чтобы предотвратить их загрязнение радиоактивными изотопами.
 - Любой случай радиоактивного загрязнения или исчезновения радиоактивного материала должен рассматриваться в соответствии с законодательством.
 - Утилизация радиоактивных отходов должна осуществляться в соответствии с законодательством.

4.3 Азид натрия

Некоторые компоненты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Вступая в реакцию со свинцом, медью и латуной, азид натрия образует взрывоопасные азиды металлов. Отработанные реагенты следует разбавлять большим количеством водопроводной воды, после чего их можно сливать в канализацию.

4.4 ProClin 300

R43: Может вызвать сенсibilизацию путем контакта с кожей.

4.5 Материал человеческого происхождения

С исследуемыми образцами плазмы крови следует обращаться как с потенциально инфекционным материалом, могущим содержать вирусы СПИД и гепатита. Утилизация отходов должна осуществляться в соответствии с законодательством.

5. ПОЛУЧЕНИЕ, ОБРАБОТКА И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

- Собрать кровь в охлажденные пробирки с ЭДТА.
 - Отделить плазму центрифугированием при 2-8°C.
 - Если анализ не будет проводиться немедленно, образцы плазмы следует разделить на аликвоты и заморозить при температуре <-20°C, (до 1 года). Избегать повторного замораживания-оттаивания образцов.
- Внимание: В процессе получения и обработки образцов температура плазмы должна поддерживаться на уровне 2-8°C. Строгое соблюдение рекомендуемых условий позволяет предотвратить как образование, так и расщепление ангиотензина I.

6. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

6.1 Подготовка и хранение реагентов

6.1.1 Подготовка раствора ингибитора фермента

Растворить содержимое флакона охлажденной до 4°C дистиллированной водой в объеме, указанном на этикетке. Тщательно перемешать. Подготовленный к работе раствор ингибитора можно хранить при 2-8°C до окончания срока годности набора.

6.1.2. Приготовление промывочного раствора

Тщательно смешать содержимое флакона с концентратом промывочного раствора и 950 мл дистиллированной воды. Подготовленный к работе промывочный раствор можно хранить при 2-8°C до окончания срока годности набора.

6.2 Ферментативная стадия – образование ангиотензина I

6.2.1 Замечания и рекомендации

- Раствор ингибитора фермента должен быть охлажден до 4°C перед внесением в анализируемые образцы.
- Температурные условия тепловой и холодной инкубаций (4°C и 37°C) должны строго соблюдаться, так как даже небольшие отклонения от рекомендуемого режима могут привести к серьезным искажениям результатов анализа.
- Продолжительность энзиматической стадии (инкубация при 37°C) должна соблюдаться как можно более тщательно и быть практически одинаковой для всех пробирок.
- Скорость нагреви пробирок до 37°C и последующего их охлаждения имеет принципиальное значение. Для нагрева рекомендуется использовать водяную баню с циркуляцией воды, а для охлаждения – ледяную баню.
- Для ускорения процессов нагрева и охлаждения рекомендуется использовать пробирки из материала, обладающего хорошей теплопроводностью (стекло).
- Продолжительность тепловой инкубации в образцах с предполагаемой низкой активностью плазматического ренина можно увеличить до 3 часов.

6.2.2 Энзиматическая стадия

Внимание: Не обрабатывать калибровочные и контрольные пробы.

- В пробирки внести 200 мкл анализируемых образцов плазмы и добавить к ним по 200 мкл охлажденного раствора ингибитора. Тщательно перемешать.
- Разделить содержимое каждой пробирки на две аликвоты по 200 мкл.
- Поставить пробирки с первой группой аликвот на ледяную баню и поместить ее в холодильник. Данная группа пробирок предназначена для определения базового уровня ангиотензина I при 4°C.
- Вторую группу пробирок, в которых будет оцениваться скорость образования ангиотензина I, поместить на водяную баню при температуре 37°C.
- Инкубировать все пробы в течение 1 часа.
- После окончания инкубации при 37°C быстро охладить пробы до 4°C на ледяной бане.

6.3 Радиоиммунологический анализ

Стадия 1	Стадия 2	Стадия 3
Внесение реагентов *	Инкубация	Измерение результатов
<p><i>В покрытые антителиами пробирки последовательно внести:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - 75 мкл калибровочных, контрольных и анализируемых проб, ** прошедших энзиматическую стадию при 37°C и 4°C, а также - 100 мкл метки. ** <p>Перемешать.</p>	<p>Инкубировать 2 часа при 18-25°C и постоянном встряхивании (> 280 осц./мин.).</p>	<p>Тщательно удалить содержимое пробирок (кроме проб «Т»)</p> <p>Промыть пробирки 2 мл промывочного раствора.</p> <p>Удалить жидкость. Дважды повторить процедуру аспирации.</p> <p>Во всех пробирках измерить активность ¹²⁵I (имп./мин.) в течение 1 минуты.</p>

* Перед внесением в пробирки калибровочные, контрольные и анализируемые пробы должны быть охлаждены до температуры 4°C и аккуратно перемешаны.

** В две дополнительные пробирки внести по 100 мкл метки для оценки общей активности ¹²⁵I (Т), имп./мин.

7. РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты рассчитывают методом интерполяции по калибровочной кривой, полученной одновременно с анализом неизвестных образцов.

7.1 Калибровочная кривая

Результаты контроля качества набора, указанные на отдельном листке-вкладыше, получены при построении калибровочной кривой в координатах logit-log (взвешенная кубическая регрессия) с соотношением В/Т (%) или В/В₀ (%) по вертикальной оси и концентрацией ангиотензина I (нг/мл) по горизонтальной оси калибровочного графика. Другие методы обсчета могут давать несколько отличающиеся результаты.

Общий счет : 68 511 имп./мин.				
Калибровочные пробы	Ангиотензин I (нг/мл)	Имп./мин. (n=3)	В/Т (%)	В/В ₀ (%)
0	0,00	17 444	25,5	100
1	0,30	13 732	20,0	78,7
2	1,00	9 390	13,7	53,8
3	3,00	5 431	7,93	31,1
4	10,0	2 746	4,01	15,7
5	30,0	1 243	1,81	7,13

(Пример типичной калибровочной кривой. Не использовать для обсчета результатов.)

7.2 Образцы

Для каждого контрольного и анализируемого образца, прошедшего инкубацию при 4°C и 37°C, найти на вертикальной оси калибровочного графика значение В/Т (%) или В/В₀ (%), а на горизонтальной оси - соответствующую концентрацию ангиотензина I в нг/мл.

7.3 Расчет активности плазматического ренина

Определение активности плазматического ренина проводится непрямым методом по количеству ангиотензина I (А-I), образовавшегося in vitro в течение часа. Базовый уровень А-I в пробах, прошедших инкубацию при 4°C, вычитается из уровня А-I, образовавшегося при 37°C, а расчет активности плазматического ренина проводится по формуле:

$$\text{АПР (нг А-I /мл/час)} = \frac{[A-I(37^\circ\text{C}) - A-I(4^\circ\text{C})] \times 2}{\text{Длительность энзиматической стадии (час)}}$$

Где:

A-I (37°C): концентрация ангиотензина (нг/мл) после инкубации при 37°C
A-I (4°C): концентрация ангиотензина (нг/мл) после инкубации при 4°C.

8. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

В соответствии с требованиями Good laboratory practices для контроля качества проводимых исследований следует регулярно использовать контрольные образцы, которые должны проходить те же стадии анализа, что и анализируемые пробы. Результаты контроля качества рекомендуется обрабатывать с помощью специальных статистических методов.

В случае серьезного повреждения упаковки, или в случае несоответствия полученных результатов аналитическим характеристикам (см.п.10) обратитесь, пожалуйста, к вашему дистрибьютору или к нашим специалистам: e-mail: tech.support@diasource.be

9. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В каждой лаборатории следует установить собственные референсные уровни АПР, соответствующие нормальным. Приведенные ниже значения являются ориентировочными.

N	Взрослые	2,5 ^{-я} – 97,5 ^{-я} перцентиль (пг/мл/ч)	Медиана (пг/мл/ч)	Min-Max (пг/мл/ч)
38	Ранним утром, в положении лежа	0,32-1,84	0,79	0,30-1,90
41	В положении стоя, 2 часа	0,60-4,18	2,20	0,48-4,88

10. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

(Более подробная информация приведена в разделе "APPENDIX")

Репрезентативные данные предоставлены исключительно для пояснений. Показатели, полученные в конкретной лаборатории, могут отличаться.

10.1 Чувствительность

10.1.1 Аналитическая чувствительность: 0,07 нг/мл

10.1.2 Функциональная чувствительность: 0,20 нг/мл

10.2 Специфичность

Антитела, используемые в данном наборе, обладают высокой специфичностью к ангиотензину I. Перекрестная реакция с ангиотензином II чрезвычайно мала.

Кроме того, вычитание базового уровня ангиотензина I исключает влияние посторонних факторов на оценку АПР.

10.3 Воспроизводимость

10.3.1 Внутри анализа

Анализ образцов проводили в 25 репликатах в пределах одной серии определений. Коэффициент вариации не превышал 11,3 %.

10.3.2 Между анализами

Анализ образцов в дубликатах проводили в 10 различных сериях определений. Коэффициент вариации не превышал 20,9 %.

10.4 Точность

10.4.1 Зависимость от продолжительности энзиматической стадии

Образцы плазмы инкубировали в присутствии ингибитора фермента в течение 60, 120 и 180 минут. Никакого влияния на результаты анализа по оценке АПР не выявлено.

10.4.2 Тест на разведение

Образцы плазмы серийно разводили «нулевой» калибровочной пробой. Величина «открытия» составляла от 78 % до 99 %.

10.4.3 Тест на «открытие» стандартной добавки

В образцы плазмы вносили известные количества ангиотензина I. Величина «открытия» составила от 104 % до 123 %.

10.5 Диапазон определений (от аналитической чувствительности до значения наивысшей калибровочной пробы):

0,07 до приблизительно 30 нг/мл.

11. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Нарушение методики проведения анализа может привести к искажению результатов исследования.

Результаты определения должны быть интерпретированы в свете общей клинической картины пациента, включая анамнез, данные других тестов и подходящую иную информацию

Не используйте сильно гемолизированные, желтушные или липемические образцы.

При выполнении анализов с использованием антител возможна интерференция гетерофильными антителами в пробе пациента. У пациентов, имеющих постоянный контакт с животными или проходивших иммунотерапию или диагностические процедуры с использованием иммуноглобулинов или их

фрагментов, могут вырабатываться антитела (т.е. НАМА), которые влияют на результаты иммунного анализа.

Влияние этих антител может привести к получению ошибочных результатов.

Тщательно проверяйте результаты анализов пациентов с подозрением на наличие этих антител.

Revision date : 2020-02-24