



Angiotensin I RIA KIT

REF IM3518

TABLE OF CONTENTS

English	2	Magyar (HU)	35
Français (FR)	5	Polski (PL)	38
Deutsch (DE)	9	Čeština (CZ)	41
Italiano (IT)	13	Slovenčina (SK)	44
Español (ES)	16	한국어 (KO)	47
Português Portugal (PT-PT)	19	Türkçe (TR)	50
Dansk (DA)	22	Русский (RU)	53
Ελληνικά (EL)	25	Србија (SR)	57
中文 (ZH-CN)	29	APPENDIX	60
Lietuviškai (LT)	32		

Immunotech s.r.o. (贝克曼库尔特公司分公司)
代为 Beckman Coulter, Inc. 生产
Radiova 1
102 27 Prague 10
The Czech Republic
电话 : + 420 272 017 444

Beckman Coulter do Brasil Com. e Imp. de Prod. de Lab. Ltda
Alameda Rio Negro, 500, 15º andar, Torre B Alphaville Industrial
CEP 06.454-00 Barueri, São Paulo, Brasil
CNPJ: 42.160.812/0001-44 Telefone: 0800-771-8818

ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com



IMMUNOTECH s.r.o., Radiova 1, 102 27 Prague 10, Czech Republic

Angiotensin I RIA KIT

REF IM3518

RADIOIMMUNOASSAY OF ANGIOTENSIN I FOR THE IN VITRO DETERMINATION OF PLASMA RENIN ACTIVITY (PRA) IN HUMAN PLASMA For *in vitro* diagnostic use.

PRINCIPLE

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.

WARNING AND PRECAUTIONS

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 standard curve must be established with each assay.
- It is recommended to perform the immunoassay in duplicate.
- Each tube must be used only once.

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.
- Radioactive materials should be stored in the container provided in a designated area.
- 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.





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.

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.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Tracer	WARNING		
	H317		May cause an allergic skin reaction.
	H412		Harmful to aquatic life with long lasting effects.
	P273		Avoid release to the environment.
	P280		Wear protective gloves, protective clothing and eye/face protection.
	P333+P313		If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.
	P362+P364		Take off contaminated clothing and wash it before use. reaction mass of: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC# 247-500-7] and 2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC# 220-239-6](3:1) < 0.05%
Inhibitor	DANGER	 	
	H317		May cause an allergic skin reaction.
	H360		May damage fertility or the unborn child.
	P201		Obtain special instructions before use.
	P280		Wear protective gloves, protective clothing and eye/face protection.
	P308+P313		IF exposed or concerned: Get medical advice/attention.
	P333+P313		If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.
	P362+P364		Take off contaminated clothing and wash it before use. 8-Hydroxyquinoline 0.1 - 0.2%
Wash Solution (20X)	DANGER		
	H360		May damage fertility or the unborn child.
	P201		Obtain special instructions before use.
	P280		Wear protective gloves, protective clothing and eye/face protection.
	P308+P313		IF exposed or concerned: Get medical advice/attention. Boric Acid 0.1 - 0.3% Sodium Borate Decahydrate 0.1 - 0.3%

SDS

Safety Data Sheet is available at techdocs.beckmancoulter.com

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.

MATERIALS 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 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 I 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 and a dye.

Calibrators: six 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%). 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%). The expected value is in the concentration range indicated in a supplement.

Enzymatic inhibitor: one vial (lyophilized)

It also contains sodium azide (<0.1%).

Wash solution (20x): one 50 mL vial

Concentrated solution has to be diluted before use.

MATERIALS 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

PROCEDURE

Preparation and storage of reagents

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.

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.

Enzymatic step – generation of angiotensin I

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.

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.

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 2 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».

RESULTS

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

Standard curve

The results in the quality control department were calculated using *weighted cubic regression* curve fit with B/T or B/B_0 on the logit vertical axis and analyte concentration of the calibrators on the log 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/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

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

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.

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:

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

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

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

Detail information about expected values for children (sorted according to age) can be found in the data sheet "APPENDIX".

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 the same way as the assay samples, and it is recommended to analyze 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: imunochem@beckman.com

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

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

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

Sensitivity

Analytical sensitivity: 0.07 ng/mL

Functional sensitivity: 0.20 ng/mL

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.

Precision

Intra-assay

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

Inter-assay

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

Accuracy

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.

Dilution test

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

Recovery test

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

Measurement range (from analytical sensitivity to highest calibrator): 0.07 to approximately 30 ng/mL.

LIMITATIONS

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.

Angiotensin I RIA KIT

REF IM3518

TROUSSE RADIOIMMUNOLOGIQUE ANGIOTENSINE I POUR LE DOSAGE IN VITRO DE L'ACTIVITE RENINE PLASMATIQUE (ARP) DANS LE PLASMA HUMAIN Utilisation comme test de diagnostic *in vitro*.

PRINCIPE

Le trousses radioimmunologique Angiotensine I permet le dosage quantitatif de l'activité rénine plasmatique (ARP) par l'intermédiaire du dosage radioimmunologique, de l'angiotensine I, formé *in vitro*.

L'angiotensine I, produit du clivage enzymatique de la rénine (substrat du ARP), est dosé dans des échantillons plasmatiques en présence d'un inhibiteur enzymatique, l'ACE (Angiotensine Convertase Enzyme) qui bloque la conversion de l'angiotensine I en angiotensine II.

Le dosage radioimmunologique de l'angiotensine I est un dosage par compétition. Les échantillons à doser, les calibrateurs et les contrôles sont incubés dans des tubes recouverts d'anticorps polyclonaux avec un traceur angiotensine I marqué à l'iode ¹²⁵. Après incubation, le contenu du tube est vidé par aspiration, puis la radioactivité liée est mesurée. Une courbe d'étalonnage est établie. Les valeurs inconnues sont déterminées par interpolation à l'aide de cette courbe.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Précautions générales

- Les flacons de calibrateurs, de contrôles, l'inhibiteur enzymatique et les échantillons à analyser doivent être refroidis à 2-8 °C avant pipetage.
- Les flacons de calibrateurs et de contrôles doivent être ouverts des temps aussi courts que possible afin d'éviter une évaporation trop importante.
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents.
- Effectuer simultanément la courbe standard et le dosage des échantillons.
- Il est recommandé de réaliser les dosages en double.
- Chaque tube ne doit être utilisé qu'une seule fois.

Les règles de bases de la radio protection

L'achat, la possession, l'utilisation et l'échange de matières radioactives sont soumis aux réglementations en vigueur dans le pays de l'utilisateur. L'application des règles de base de protection contre les rayonnements ionisants assure une protection adéquate. Certaines d'entre elles sont rappelées ci-après :

- Ne pas manger, ni boire, ni fumer, ni appliquer de cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés.
- Ne pas pipeter des solutions radioactives avec la bouche.
- Eviter le contact direct avec tout produit radioactif en utilisant des blouses et des gants de protection.
- Toute manipulation de matières radioactives se fera dans un local approprié, éloigné de tout passage.
- Les produits radioactifs seront stockés dans leur conditionnement d'origine dans un local approprié.
- Un cahier de réception et de stockage de produits radioactifs sera tenu à jour.
- Le matériel de laboratoire et la verrerie qui ont été contaminés doivent être éliminés au fur et à mesure afin d'éviter une contamination croisée de plusieurs isotopes.
- Chaque cas de contamination ou perte de substance radioactive devra être résolu selon les procédures établies.
- Toute mise aux déchets de matière radioactive se fera en accord avec les règlements en vigueur.

Azide de sodium

Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium comme agent conservateur. L'azide de sodium peut réagir avec le plomb, le cuivre et le laiton, et former des azides métalliques explosifs. Lors du rejet de telles solutions à l'évier, laisser couler un volume important d'eau dans les canalisations.

Les produits d'origine humaine

Tous les échantillons de sang doivent être manipulés comme étant susceptibles de contenir les virus de l'hépatite ou du SIDA et les déchets doivent éliminés selon les réglementations nationales en vigueur.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Tracer

ATTENTION



H317

Peut provoquer une allergie cutanée.

H412

Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

P273

Éviter le rejet dans l'environnement.

P280

Porter des gants de protection, des vêtements de protection et un équipement de protection des yeux/du visage.

P333+P313

En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : demander un avis médical/consulter un médecin.

P362+P364

Enlever les vêtements contaminés et les laver avant utilisation.

masse de réaction de:
5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one [no CE 247-500-7] et
2-méthyl-4-isothiazolin-3-one [no CE 220-239-6] (3:1) < 0,05 %

Inhibitor

DANGER



H317

Peut provoquer une allergie cutanée.

H360

Peut nuire à la fertilité ou au fœtus.

P201

Se procurer les instructions avant utilisation.

P280

Porter des gants de protection, des vêtements de protection et un équipement de protection des yeux/du visage.

P308+P313

EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : demander un avis médical/consulter un médecin.

P333+P313

En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : demander un avis médical/consulter un médecin.

P362+P364

Enlever les vêtements contaminés et les laver avant utilisation.

8-Hydroxyquinoléine 0,1 - 0,2 %

Wash Solution (20X)

DANGER



H360	Peut nuire à la fertilité ou au fœtus.
P201	Se procurer les instructions avant utilisation.
P280	Porter des gants de protection, des vêtements de protection et un équipement de protection des yeux/du visage.
P308+P313	EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : demander un avis médical/consulter un médecin. Acide borique 0,1 - 0,3 % Borate de sodium décahydraté 0,1 - 0,3 %

SDS La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse techdocs.beckmancoulter.com

PRELEVEMENT, PREPARATION, CONSERVATION ET DILUTION DES ECHANTILLONS

- Recueillir le sang dans des tubes contenant de l'EDTA.
- Séparer le plasma des cellules par centrifugation à 2-8 °C.
- Les échantillons plasmatiques doivent être conservés congelés (<-20 °C, 1 an maximum) si le dosage n'est pas réalisé immédiatement, et de préférence aliquotés, afin d'éviter les congélations et décongélations successives.

NB : Les échantillons plasmatiques doivent être maintenus à 2-8 °C tout au long du dosage. Eviter de nombreuses manipulations afin de prévenir la formation ou la dégradation d'angiotensine I

MATÉRIEL FOURNI

Tous les réactifs de la trousse conservés à 2-8 °C sont stables jusqu'à la date de péremption mentionnée sur la trousse. Les conditions de conservation des réactifs après reconstitution ou dilution, sont indiquées dans le paragraphe Procédure. Les dates d'expiration imprimées sur les étiquettes des flacons concernent uniquement le stockage à long terme des réactifs par le fabricant. Ne pas en tenir compte.

Tubes revêtus d'anticorps polyclonaux anti-angiotensine I : 2 x 50 tubes (prêts à l'emploi)

Traceur angiotensine I marqué à l'iode ¹²⁵ : 1 flacon de 11 mL (prêt à l'emploi)

Le flacon contient, en début de lot, 260 kBq d'angiotensine I marquée à l'iode ¹²⁵ dans un tampon contenant de l'albumine sérique bovine et un colorant.

Calibrateurs : 6 flacons de 1 mL (prêts à l'emploi)

Les flacons de calibrateur contiennent entre 0 à environ 30 ng/mL d'angiotensine I dans un tampon contenant de l'albumine sérique bovine et de l'azide de sodium (<0,1 %). La concentration exacte est indiquée sur chaque flacon. Les calibrateurs ont été calibrés par rapport au standard international RP 86/536.

Sérum de contrôle : 1 flacon de 1 mL (prêt à l'emploi)

Le flacon contient de l'angiotensine I un tampon contenant de l'albumine sérique bovine et de l'azide de sodium (<0,1 %). Les valeurs attendues sont comprises dans la fourchette de concentrations indiquée sur « le supplément ».

Inhibiteur enzymatique: 1 flacon (lyophilisé)

Le flacon contient un inhibiteur enzymatique lyophilisé dans un tampon contenant de l'azide de sodium (<0,1 %).

Solution de lavage (20x) : un flacon de 50 mL

Solution concentrée, à diluer avant usage.

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

En plus de l'équipement de laboratoire usuel, il est nécessaire d'utiliser le matériel suivant :

- micropipette de précision (75 µL; 100 µL).
- pipette semi-automatique (200 µL; 300 µL; 2 mL).
- Bain thermostaté.
- Bain de glace.
- mélangeur de type vortex.
- agitateur à mouvement de va et vient horizontal ou à plateau oscillant.
- système d'aspiration.
- compteur gamma calibré pour l'iode 125.

PROCÉDURE

Préparation et conservation des réactifs

Préparation de la solution contenant l'inhibiteur enzymatique

Prendre par le volume d'eau distillée, froide (4 °C), indiqué sur les étiquettes des flacons et agiter. Le réactif reconstitué peut être conservé à 2-8 °C jusqu'à la date de péremption mentionnée sur la trousse.

Préparation de la solution de lavage

Verser le contenu du flacon dans 950 mL d'eau distillée. Homogénéiser. La solution diluée peut être conservée à 2-8 °C jusqu'à la date de péremption de la trousse.

Etape enzymatique – formation d'angiotensine I

Remarques et recommandations

- L'inhibiteur enzymatique doit être refroidi à 4 °C avant sa répartition dans les échantillons biologiques.
- Les températures d'incubations (4 °C et 37 °C) doivent être strictement respectées, de faibles variations pouvant entraîner d'importantes erreurs dans le dosage.
- Les temps d'incubation, de la réaction enzymatique, doivent être rigoureusement respectés et être identiques pour toute la série de tube à doser.
- Le temps nécessaire à l'augmentation ou au refroidissement de la température lors de la réaction enzymatique, respectivement de 4 °C à 37 °C et de 37 °C à 4 °C, est une étape critique. L'utilisation d'un bain thermostaté est recommandé pour les étapes de réchauffement. Pour le refroidissement des échantillons, il est recommandé d'utiliser un bain de glace.
- La rapidité de réchauffement ou de refroidissement peut être améliorée en utilisant des tubes ayants une bonne conductivité thermique (verre).
- Pour des échantillons plasmatiques où une faible activité rénine plasmatique est attendue, le temps d'incubation enzymatique peut être prolongé plus de trois heures.

Etape enzymatique – mode opératoire

Attention : Les calibrateurs et les contrôles ne doivent pas être traités.

- Répartir 200 µL de l'inhibiteur enzymatique, préalablement refroidi, dans 200 µL de chaque échantillon plasmatique à doser et agiter.
- Diviser chaque échantillon en deux fractions de 200 µL.
- Placer la première fraction dans un bain de glace et mettre l'ensemble dans un réfrigérateur (dosage de la concentration basale d'angiotensine I à 4 °C).
- Placer la seconde fraction dans un bain chauffant à 37 °C (dosage de la concentration d'angiotensine I formé in vitro à 37 °C).
- Incuber chaque fraction pendant une heure.
- Après l'incubation, les fractions sont refroidies rapidement de 37 °C à 4 °C en utilisant un bain de glace.

Mode opératoire de l'immunodosage

Étape 1 Répartition*	Étape 2 Incubation	Étape 3 Comptage
Dans les tubes recouverts d'anticorps, distribuer successivement : 75 µL de calibrateurs, de contrôle ou d'échantillon après l'incubation enzymatique à 37 et 4 °C et 100 µL de traceur.**	Incuber 2 heures à 18-25 °C sous agitation (> 280 rpm).	Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube (sauf les 2 tubes «cpm totaux»). Laver avec 2 mL de solution de lavage. Aspirer 2 fois.
Agiter.		Compter les cpm liés (B) et les cpm totaux (T) pendant 1 min.

*Les calibrateurs, les contrôles et les échantillons doivent être refroidis à 4 °C avant d'être pipeté. Agiter doucement les échantillons avant leur répartition.

**Ajouter 100 µL de traceur dans 2 tubes supplémentaires pour obtenir les «cpm totaux».

RÉSULTATS

Les résultats sont déduits de la courbe standard par interpolation. La courbe sert à déterminer les taux d'angiotensine I de tous les échantillons mesurés en même temps que les calibrateurs.

Courbe standard

Les résultats dans le département de contrôle de la qualité ont été calculés *régression cubique pondérée avec B/T ou B/B₀* sur l'axe logit vertical et la concentration en analyte des calibrateurs sur l'axe logarithmique horizontal (ng/mL).

L'utilisation d'un autre mode de calcul peut conduire à des résultats légèrement différents.

Activité totale : 68 511 cpm				
Calibrateurs	Angiotensine 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

(Exemple de courbe standard, ne pas utiliser pour les calculs)

Echantillons

Pour chaque échantillon incubé à 37 °C ou à 4 °C, repérer le rapport B/T ou B/B₀ sur l'axe vertical, puis le point correspondant de la courbe standard et en déduire par lecture sur l'axe horizontal la concentration en angiotensine I de l'échantillon.

Calcul de l'activité rénine plasmatique

Le dosage de l'activité rénine plasmatique est réalisé par l'intermédiaire du dosage de la formation in vitro de l'angiotensine I (A-I) par heure. La concentration basale en A-I, dosé sur des échantillons plasmatiques incubés à 4 °C est soustraite de la quantité d'angiotensine I formé dans les échantillons incubés à 37 °C. L'activité rénine plasmatique est alors déterminé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{ARP A-I ng/mL/hr} = \frac{[A-I (37\text{ °C}) - A-I (4\text{ °C})] \times 2}{\text{Temps d'incubation enzymatique (heures)}}$$

où

A-I (37 °C) : concentration d'angiotensine I (ng/mL) des échantillons incubés à 37 °C

A-I (4 °C) : concentration d'angiotensine I (ng/mL) des échantillons incubés à 4 °C

VALEURS ATTENDUES

Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs normales. Les valeurs suivantes déterminées chez des sujets sains sont données à titre indicatif.

N	Adulte sain	2.5 - 97.5 percentile (ng/mL/hr)	Median (ng/mL/hr)	Min-Max (ng/mL/hr)
38	Tôt matin, allongé	0,32-1,84	0,79	0,30-1,90
41	Debout, 2 heures	0,60-4,18	2,20	0,48-4,88

Les renseignements détail de valeur attendue pour les enfants (diviser par l'âge) est dans la feuille « APPENDIX ».

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les bonnes pratiques de laboratoire impliquent que des échantillons de contrôle soient utilisés dans chaque série de dosage pour s'assurer de la qualité des résultats obtenus. Ces échantillons devront être traités de la même façon que les prélèvements à doser et il est recommandé d'en analyser les résultats à l'aide de méthodes statistiques appropriées.

En cas de détérioration de l'emballage ou si les résultats obtenus montrent une perte de performance du produit, veuillez contacter notre service Support Technique. E-mail : imunochem@beckman.com

PERFORMANCES DU DOSAGE

(Voir la feuille "APPENDIX" pour plus de détails)

Les données représentatives ne sont fournies qu'à titre d'illustration. Les performances obtenues dans les laboratoires individuels peuvent varier.

Sensibilité

Sensibilité analytique : 0,07 ng/mL

Sensibilité fonctionnelle : 0,20 ng/mL

Spécificité

L'anticorps utilisé dans ce dosage est hautement spécifique de l'angiotensine I. Des réactivités croisées extrêmement basses ont été obtenues vis à vis de l'angiotensine II.

De plus, les possibles interférences sur le dosage de l'ARP sont éliminées en soustrayant l'activité basale de l'ARP (déterminée à 4 °C).

Précision

Intra-essai

Des échantillons ont été dosés 25 fois en doublet dans une même série. Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 11,3 %.

Inter-essais

Des échantillons ont été dosés en doublet dans 10 séries différentes. Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 20,9 %.

Exactitude

Influence du temps d'incubation de l'étape enzymatique sur le dosage

Des échantillons plasmatiques ont été incubés avec l'inhibiteur enzymatique pendant 60, 120 et 180 minutes. Aucun effet significatif sur le dosage de l'ARP n'a été observée.

Epreuve de dilutions

Des échantillons de concentration élevée ont été dilués dans le calibrateur zéro de la trousse. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 78 % et 99 %.

Epreuve de surcharge

Des quantités connues d'angiotensine I ont été ajoutées à des échantillons plasmatiques. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 104 % et 123 %.

Plage de mesure (de la sensibilité analytique au calibrateur le plus élevé) : 0,07 à environ 30 ng/mL.

LIMITES

Le non-respect des recommandations indiquées dans cette notice peut avoir un impact significatif sur les résultats.

Les résultats doivent être interprétés à la lumière du dossier clinique complet du patient, incluant l'historique clinique et les données de tests additionnels et toute autre information appropriée.

Ne pas utiliser de spécimens hémolysés, ictériques ou lipémiques.

Pour les tests employant des anticorps, il existe la possibilité d'une interférence par des anticorps hétérophiles présents dans l'échantillon du patient. Les patients qui ont été régulièrement exposés à des animaux ou qui ont reçu une immunothérapie ou qui ont subi des procédures diagnostiques utilisant des immunoglobulines ou des fragments d'immunoglobulines peuvent produire des anticorps, par exemple des anticorps HAMA (anticorps humains anti-souris), qui interfèrent avec les tests immunologiques.

Ces anticorps qui interfèrent peuvent être la cause de résultats erronés.
Evaluer avec précaution les résultats de patients suspectés de posséder
ces anticorps.

Angiotensin I RIA KIT

REF IM3518

RADIOIMMUNOASSAY FÜR DIE IN-VITRO BESTIMMUNG DER PLASMA RENIN AKTIVITÄT (PRA) IN HUMANEM PLASMA

In-vitro-Diagnostikum.

PRINZIP

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 Menge der gebundene Radioaktivität wird in einem Gamma-Counter gemessen. Unbekannte Probenwerte werden mittels Interpolation aus der Standardkurve bestimmt.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

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.

Grundregeln der Handhabung von Radioaktivität

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 Kreuzkontamination von verschiedenen Radioisotopen zu verhindern.
- Kontaminationen des Arbeitsplatzes müssen unverzüglich sorgfältig nach den üblichen Verfahren entfernt werden.
- Radioaktiver Abfall muss entsprechend den Richtlinien jedes Einsatzortes entsorgt werden.

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.

Bestandteile menschlichen Ursprungs

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

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Tracer

ACHTUNG



H317

Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

H412

Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.

P273

Freisetzung in die Umwelt vermeiden.

P280

Schutzhandschuhe, Schutzkleidung und Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

P333+P313

Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

P362+P364

Kontaminierten Kleidungsstücke ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.

Reaktionsmasse aus 5-Chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-on [EG-Nr. 247-500-7] und 2-Methyl-4-isothiazolin-3-on [EG-Nr. 220-239-6] (3:1) < 0,05 %

Inhibitor

GEFAHR



H317

Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

H360

Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen.

P201

Vor dem Gebrauch besondere Anweisungen einholen.

P280

Schutzhandschuhe, Schutzkleidung und Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

P308+P313

BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

P333+P313

Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

P362+P364

Kontaminierten Kleidungsstücke ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.

8-Hydroxychinolin 0,1 - 0,2 %

Wash Solution (20X)

GEFAHR



H360	Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen.
P201	Vor dem Gebrauch besondere Anweisungen einholen.
P280	Schutzhandschuhe, Schutzkleidung und Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
P308+P313	BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Borsäure 0,1 - 0,3 % di-Natriumtetraborat-Decahydrat 0,1 - 0,3 %

- 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

DURCHFÜHRUNG

Präparation der Reagenzien

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.

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.

Enzymatisches Schritt – Bildung des Angiotensins I

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 Röhrchen 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.

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.



Das Sicherheitsdatenblatt ist auf techdocs.beckmancoulter.com verfügbar.

PROBENENTNAHME, -BEHANDLUNG, -LAGERUNG UND VERDÜNNUNG

- Sammeln Sie die Plasmaproben in kalten EDTA Röhrchen.
- 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. Vermieden Sie weitere Manipulationen um beide Bildung und Fragmentierung des Angiotensins I zu vermeiden.

MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Die Reagenzien sind verwendbar bis zum Verfallsdatum, wenn sie bei 2-8 °C gelagert werden. Lagerungskonditionen der Reagenzien nach der Wiederherstellung oder Verdünnung werden im Abschnitt „Durchführung“ angegeben. Auf die Fläschchen gedruckte Verfallsdaten betreffen nur die Langzeitlagerung beim Hersteller, vor der Zusammensetzung des Kits. Bitte nicht beachten.

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

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 und einem Farbstoff.

Kalibrators: sechs Flaschen je 1 mL (gebrauchsfertig)

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

Kontrollprobe: ein 1 mL Fläschchen (gebrauchsfertig)

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

Enzyminhibitor: ein Fläschchen (lyophilisiert)

Das Fläschchen enthält Natriumazid (<0,1 %).

Waschlösung (20x): eine Flasche 50 mL

Die konzentrierte Lösung muss vor Gebrauch verdünnt werden.

ERFORDERLICHE, JEDOCH NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Zusätzlich zu der Standardlaborausstattung, werden die folgenden Materialien benötigt:

Testdurchführung

Schritt 1 Zugabe*	Schritt 2 Inkubation	Schritt 3 Messung
Den beschichteten Röhrrchen in dieser Reihenfolge zugeben. 75 µL Kalibrator, Kontrolle oder Probe nach der enzymatischen Inkubation bei 37 °C und bei 4 °C und jeweils 100 µL Tracer.** Mischen.	2 Stunden bei 18-25 °C mit Schütteln (>280 rpm).	Vorsichtig den Inhalt der Röhrrchen absaugen (außer den zwei Röhrrchen für Totalaktivität). Mit 2 mL Waschlösung waschen und zweimal absaugen. Aktivität (cpm) bestimmen (1min).

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

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

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.

Standardkurve

Die Ergebnisse in der Qualitätskontrolle wurden berechnet *gewichtete kubische regression*-Kurvenanpassung mit *B/T* oder *B/B₀* auf der logit vertikalen Achse und der Analytkonzentration der Kalibratoren auf der logarithmischen horizontalen Achse (ng/mL) berechnet.

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)

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.

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:

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

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.

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

Detaillierte Information über die erwarteten Kinderwerte (aufgeschlüsselt nach Alter) sind im Datenblatt "APPENDIX" aufgeführt.

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: imunochem@beckman.com

SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

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

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

Empfindlichkeit

Analytische Sensitivität: 0,07 ng/mL

Funktionelle Sensitivität: 0,20 ng/mL

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.

Präzision

Intra-Assay

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

Inter-assay

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

Genauigkeit

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.

Verdünnungstest

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

Wiederfindungstest

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

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

EINSCHRÄNKUNGEN

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.

Angiotensin I RIA KIT

REF IM3518

KIT RADIOIMMUNOLOGICO ANGIOTENSINA I PER LA DETERMINAZIONE IN VITRO DELL'ATTIVITA' RENINICA PLASMATICA (PRA) IN PLASMA UMANO

Per uso diagnostico *in vitro*.

PRINCIPIO

Il kit radioimmunologico angiotensina I serve al dosaggio quantitativo dell'attività reninica plasmatica (PRA) per mezzo del dosaggio radioimmunologico dell'angiotensina I formata *in vitro*.

L'angiotensina I, che risulta dalla scissione enzimatica della renina (substrato del PRA), viene dosata in campioni di plasma insieme ad un inibitore enzimatico, l'ACE (Angiotensine Convertase Enzyme). L'ACE blocca la conversione dell'angiotensina I in angiotensina II.

Il dosaggio dell'angiotensina I è un metodo radioimmunologico competitivo. Campioni, calibratori e controlli vengono incubati in provette sensibilizzate con un anticorpo policlonale in presenza dell'angiotensina I marcata-¹²⁵I. Dopo l'incubazione, le provette vengono aspirate e contate con un contatore gamma. Si traccia una curva di taratura e si calcolano per interpolazione sulla curva le concentrazioni dei campioni.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Considerazioni generali:

- Prima d'essere pipettati per l'analisi, calibratori, controlli, inibitore enzimatico e campioni devono essere raffreddati tra i 2-8 °C.
- Aprire i flaconi dei calibratori e controlli nel più breve tempo possibile per evitarne l'eccessiva evaporazione.
- Non utilizzare reattivi di lotti diversi.
- Inserire la curva standard in ogni esperimento.
- Eseguire il dosaggio in duplicato.
- Le provette sono monouso.

Norme di radioprotezione

L'acquisto, la detenzione, l'utilizzo e il trasporto di materiale radioattivo sono soggetti a regolamentazione locale. Lo scrupoloso rispetto delle norme per l'uso di sostanze radioattive fornisce una protezione adeguata agli utilizzatori.

- Nei luoghi dove si usano sostanze radioattive non è consentito consumare cibi o bevande, fumare o usare cosmetici.
- Non pipettare materiale radioattivo con pipette a bocca.
- Usare sempre guanti e camici da laboratorio quando si manipola materiale radioattivo.
- Tutte le manipolazioni di sostanze radioattive devono essere fatte in posti appropriati, lontano da corridoi ed altri posti affollati.
- Le sostanze radioattive devono essere conservate in propri contenitori in appositi locali che devono essere interdetti alle persone non autorizzate.
- Deve essere tenuto un registro di carico e scarico del materiale radioattivo.
- Il materiale di laboratorio e la vetreria deve essere dedicato all'uso di isotopi specifici per evitare cross-contaminazioni.
- In caso di contaminazione o dispersione di materiale radioattivo, fare riferimento alle norme locali di radioprotezione.
- I rifiuti radioattivi devono essere smaltiti secondo le norme locali di radioprotezione.

Sodio azide

Alcuni reattivi contengono sodio azide come conservante, che può reagire con piombo, rame o ottone presenti nelle tubature di scarico per formare metallo-azidi esplosivi. Smaltire questi reattivi facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi.

Materiale di origine umana

Manipolare tutti i campioni di sangue come potenziali fonti di infezioni. (Ad es. epatite o AIDS). I rifiuti devono essere smaltiti secondo le disposizioni legislative e la regolamentazione vigente in ciascun Paese.

CLASSIFICAZIONE PERICOLI GHS

Tracer

ATTENZIONE



H317

Può provocare una reazione allergica cutanea.

H412

Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

P273

Non disperdere nell'ambiente.

P280

Indossare guanti/indumenti protettivi e proteggere gli occhi/il viso.

P333+P313

In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.

P362+P364

Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.
miscela di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazol-3-one [n. CE 247-500-7]; 2-metil-4-isotiazol-3-one [n. CE 220-239-6] (3:1) < 0,05%

Inhibitor

PERICOLO



H317

Può provocare una reazione allergica cutanea.

H360

Può nuocere alla fertilità o al feto.

P201

Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.

P280

Indossare guanti/indumenti protettivi e proteggere gli occhi/il viso.

P308+P313

IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico.

P333+P313

In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.

P362+P364

Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

8-Idrossichinolina 0,1 - 0,2%

Wash Solution (20X)

PERICOLO



H360

Può nuocere alla fertilità o al feto.

P201

Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.

P280

Indossare guanti/indumenti protettivi e proteggere gli occhi/il viso.

P308+P313

IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico.

Acido borico 0,1 - 0,3%
Decaidrato borato di sodio 0,1 - 0,3%

SDS

La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile su techdocs.beckmancoulter.com

RACCOLTA, MANIPOLAZIONE, DILUIZIONE E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

- Raccogliere i campioni in provette con EDTA.
- Separare per centrifugazione il plasma dalla parte corpuscolata a 2-8 °C.
- Se il dosaggio non viene realizzato subito, i campioni di plasma devono essere conservati a -20 °C o a temperature inferiori (fino ad un anno), suddivisi in aliquote. Evitare ripetuti cicli di congelamento / scongelamento dei campioni.

NB: Il dosaggio dei campioni di plasma deve essere realizzato a 2-8 °C. Evitare numerose manipolazioni per prevenire la formazione o la degradazione dell'angiotensina I.

MATERIALI FORNITI

I reattivi, conservati a 2-8 °C, sono stabili fino alla data di scadenza riportata sul kit. Le modalità di conservazione dei reattivi sono riportate nel paragrafo "Procedura". Le date di scadenza riportate sulle etichette di ciascun flacone si riferiscono alla conservazione dei reattivi stabilita in produzione, prima del loro inserimento nei kit.

Provette sensibilizzate con anticorpo policlonale anti-angiotensina I: 2x 50 provette (pronte per l'uso)

Angiotensina I -¹²⁵I: Un flacone 11 mL (pronto per l'uso)

Il flacone contiene 260 kBq (alla data di marcatura) di angiotensina I - ¹²⁵I in un tampone con BSA e un colorante inerte.

Calibratori: Sei flaconi 1 mL (pronti per l'uso)

I flaconi contengono calibratori a concentrazioni d'angiotensina I comprese tra 0 e circa 30 ng/mL in un tampone con BSA e sodio azide (<0,1%). L'esatta concentrazione dei calibratori è riportata sull'etichetta di ciascun flacone. Gli calibratori sono calibrati contro lo standard internazionale RP 86/536.

Siero di controllo: Un flacone 1 mL (pronto per l'uso)

Il flacone contiene angiotensina I in tampone con BSA e sodio azide (<0,1%). L'intervallo dei valori attesi è indicato sul "supplemento".

Inibitore enzimatico: Un flacone (liofilizzato)

Il flacone contiene un inibitore enzimatico liofilizzato in tampone con sodio azide (<0,1%).

Soluzione di lavaggio (20x): Un flacone 50 mL

Soluzione concentrata da diluire prima dell'uso.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Oltre alla normale attrezzatura da laboratorio, è richiesto il materiale seguente:

- micropipette di precisione (75 µL; 100 µL).
- pipette semi-automatiche (200 µL; 300 µL; 2 mL).
- bagno termostato.
- bagno di ghiaccio.
- agitatore tipo vortex.
- agitatore oscillante per provette.
- sistema di aspirazione.
- contatore gamma programmato per leggere ¹²⁵I.

PROCEDURA

Preparazione e conservazione dei reattivi

Preparazione della soluzione con l'inibitore enzimatico

Ricostituire il contenuto dei flaconi con il volume d'acqua distillata (4 °C) riportato sull'etichetta di ciascun flacone e agitare. Il reattivo ricostituito è stabile a 2-8 °C fino alla data di scadenza del kit.

Preparazione della soluzione di lavaggio

Diluire il contenuto del flacone con 950 mL e agitare con cura. La soluzione diluita è stabile a 2-8 °C fino alla scadenza del kit.

Fase enzimatica – formazione d'angiotensina I

Note e raccomandazioni

- L'inibitore enzimatico deve essere raffreddato a 4 °C prima della dispensazione nei campioni biologici.

- Le temperature d'incubazione (4 °C e 37 °C) devono essere rispettate rigorosamente. Piccole variazioni possono provocare importanti errori nel dosaggio.
- I tempi d'incubazione della reazione enzimatica devono essere rigorosamente rispettati e uguali per la serie di provette da dosare.
- Il tempo necessario per aumentare (da 4 °C a 37 °C) o raffreddare (da 37 °C a 4 °C) la temperatura durante la reazione enzimatica, è una fase critica. L'uso di un bagno termostato è raccomandato per le fasi di riscaldamento. Per le fasi di raffreddamento dei campioni, l'uso di un bagno di ghiaccio è raccomandato.
- La rapidità di riscaldamento o di raffreddamento può essere migliorata con l'uso di provette con una buona conduttività termica (vetro).
- Per i campioni dei quali si aspetta una bassa attività reninica plasmatica, il tempo d'incubazione enzimatica può essere prolungato per più di tre ore.

Fase enzimatica – metodo del dosaggio

Non trattare calibratori e controlli.

- Distribuire 200 µL di inibitore enzimatico, dopo raffreddamento, in 200 µL di ciascun campione da dosare e agitare.
- Dividere ciascun campione in due frazioni di 200 µL.
- Immergere la prima frazione in un bagno di ghiaccio e mettere l'insieme in frigorifero (dosaggio della concentrazione basale di angiotensina I a 4 °C).
- Immergere la seconda frazione in un bagno riscaldante a 37 °C (dosaggio della concentrazione di angiotensina I formata in vitro a 37 °C).
- Incubare ciascuna frazione per un'ora.
- Dopo l'incubazione, le frazioni vengono rapidamente raffreddate da 37 °C a 4 °C con un bagno di ghiaccio.

Metodo dell'immunodosaggio

Fase 1 Dispensazione*	Fase 2 Incubazione	Fase 3 Conteggio
Per sensibilizzare le provette con anticorpo, aggiungere in successione: 75 µL di calibratore, controllo o campione dopo l'incubazione enzimatica a 37 e 4 °C e 100 µL di marcato.** Mescolare.	Incubare 2 ore a 18-25 °C in agitazione, (> 280 rpm).	Aspirare accuratamente il contenuto delle provette (eccetto 2 provette per l'attività totale). Lavare con 2 mL di soluzione di lavaggio. Aspirare 2 volte. Contare la radioattività legata (B) e l'attività totale (T) per 1 min.

*Calibratori, controlli e campioni devono essere raffreddati a 4 °C prima di essere pipettati. Agitare con cura i campioni prima di dispensarli.

**Aggiungere 100 µL di marcato a 2 provette per la determinazione dell'attività totale.

RISULTATI

Le concentrazioni d'angiotensina I in campioni e controlli vengono calcolate per interpolazione sulla curva standard. Campioni e controlli devono essere dosati insieme agli calibratori.

Curva standard

I risultati del reparto di controllo qualità sono stati calcolati utilizzando l'adattamento della curva secondo il metodo *la regressione cubica ponderata* con B/T o B/B_0 sull'asse verticale logit e la concentrazione di analiti nei calibratori sull'asse orizzontale logaritmico (ng/mL).

Altri metodi di interpolazione dati possono dare risultati leggermente differenti.

Attività totale: 68.511 cpm				
Calibratori	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

(Esempio di curva standard. Non usare per calcolare il valore dei propri campioni)

Campioni

Calcolare B/T o B/B₀ per ogni campione incubato a 37 °C o a 4 °C, riportarlo sull'asse delle ordinate e leggere le concentrazioni di angiotensina I corrispondenti sull'asse delle ascisse.

Calcolo/conteggio dell'attività reninica plasmatica

Il dosaggio dell'attività reninica plasmatica viene realizzato per mezzo del dosaggio di angiotensina I (A-I) formata in vitro per ora. La concentrazione basale di A-I dosata su campioni incubati a 4 °C viene sottratta alla quantità di angiotensina I formata nei campioni incubati a 37 °C. L'attività reninica plasmatica viene poi determinata con l'equazione seguente :

$$\text{PRA A-I ng/mL/h} = \frac{[\text{A-I (37 °C)} - \text{A-I (4 °C)}] \times 2}{\text{Tempo di incubazione enzimatica (ore)}}$$

Dove

A-I (37 °C): concentrazione di angiotensina I (ng/mL) dei campioni incubati a 37 °C

A-I (4 °C): concentrazione di angiotensina I (ng/mL) dei campioni incubati a 4 °C

VALORI ATTESI

Ogni laboratorio deve stabilire i propri limiti di riferimento in plasma proveniente da soggetti caratterizzati clinicamente. Si prega di considerare solo come guida i valori sotto riportati.

N	Adulti normali	2.5 - 97.5 percentile (ng/mL/h)	Mediana (ng/mL/h)	Min-Max (ng/mL/h)
38	Primo mattino, pos. supina	0,32-1,84	0,79	0,30-1,90
41	Posizione eretta, 2 ore	0,60-4,18	2,20	0,48-4,88

Informazioni dettagliate sui valori attesi per i bambini (ordinati per età) si possono trovare in "APPENDIX").

CONTROLLO DI QUALITÀ

Si consiglia ad ogni laboratorio di dosare regolarmente campioni di controllo per verificare la qualità dei risultati ottenuti. Questi campioni devono essere manipolati esattamente come i campioni in esame; i risultati devono essere analizzati con metodi statistici appropriati.

In caso il kit fosse danneggiato o i dati ottenuti mostrino un'alterazione della performance, si prega di contattare il distributore locale o di scrivere all'indirizzo e-mail seguente: imunochem@beckman.com

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

(Ulteriori dati sono riportati in "APPENDIX")

Vengono forniti dati rappresentativi a mero scopo illustrativo. I risultati possono variare da laboratorio a laboratorio.

Sensibilità

Sensibilità analitica: 0,07 ng/mL

Sensibilità funzionale: 0,20 ng/mL

Specificità

L'anticorpo utilizzato nel dosaggio è altamente specifico per l'angiotensina I. Cross-reazioni molto ridotte sono state trovate con l'angiotensina II.

Possibili interferenze sul dosaggio del PRA sono eliminate se si sottrae l'attività basale del PRA (determinato a 4 °C).

Precisione

Intra-saggio

Alcuni campioni sono stati analizzati in duplicato 25 volte in uno stesso esperimento. Per i campioni di plasma è stato trovato un coefficiente di variazione del 11,3% o inferiore.

Inter-saggio

Alcuni campioni sono stati analizzati in duplicato in 10 esperimenti differenti. Per i campioni di plasma è stato trovato un coefficiente di variazione del 20,9% o inferiore.

Accuratezza

Influenza del tempo di incubazione della fase enzimatica sul dosaggio

Dei campioni di plasma sono stati incubati con l'inibitore enzimatico per 60, 120 e 180 minuti. Nessun effetto significativo è stato trovato sul dosaggio del PRA.

Test di diluizione

Alcuni campioni ad alta concentrazione d'angiotensina I sono stati diluiti con lo calibratore zero del kit. Il recupero è risultato essere compreso tra 78% e 99%.

Test di recupero

Ad alcuni campioni di plasma umano sono state aggiunte delle quantità conosciute d'angiotensina I. Il recupero è risultato essere compreso tra 104% e 123%.

Campo di misura (è compreso tra la concentrazione della sensibilità analitica alla concentrazione del calibratore più elevato): 0,07 e circa 30 ng/mL.

LIMITAZIONI

Rispettare accuratamente le istruzioni d'uso per evitare risultati aberranti.

I risultati devono essere interpretati in base alla valutazione clinica complessiva della paziente, che comprende la storia clinica, i dati ottenuti con altri test diagnostici o strumentali ed altre informazioni appropriate.

Non usare campioni emolizzati, itterici o lipemici.

Nei test anticorpali, esiste la possibilità di interferenza degli anticorpi eterofili presenti nei campioni dei pazienti. I pazienti regolarmente a contatto con animali o sottoposti a immunoterapia o a procedure diagnostiche a base di immunoglobuline o frammenti di immunoglobuline possono produrre anticorpi, p.e. HAMA, che interferiscono con gli immunodosaggi.

Tali anticorpi interferenti possono portare a risultati errati. Valutare attentamente i risultati di pazienti che potrebbero presentare questi anticorpi.

Angiotensin I RIA KIT

REF IM3518

RADIOINMUNOANÁLISIS DE LA ANGIOTENSINA I PARA LA DETERMINACIÓN CUANTITATIVA IN VITRO DE LA ACTIVIDAD PLASMÁTICA DE LA RENINA (PRA) EN PLASMA HUMANO

Para uso en diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO

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 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.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Precauciones 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 estándar en cada ensayo.
- Es recomendado realizar el ensayo por duplicado.
- Cada tubo debe estar utilizado solamente una vez.

Reglas básicas de seguridad radiológica

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

Azida sódica

Algunos reactivos contienen azida sódica como conservador. La azida sódica 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.

Material de origen humano

Todas las muestras de plasma deben manipularse como si fueran capaces de transmitir hepatitis o SIDA y los desechos deben desecharse de acuerdo con las normas del país.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

Tracer

ATENCIÓN



H317

Puede provocar una reacción cutánea alérgica. Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

H412

P273

No dispersar en el medio ambiente.

P280

Use guantes, ropa y equipo de protección para los ojos y la cara.

P333+P313

En caso de irritación cutánea o sarpullido: consulte a un médico.

P362+P364

Quitar la ropa contaminada y lavarla antes de usarla. masa de reacción de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona [n.o CE 247-500-7] y 2-metil-4-isotiazolin-3-ona [n.o CE 220-239-6] (3:1) < 0,05 %

Inhibidor

PELIGRO



H317

Puede provocar una reacción cutánea alérgica.

H360

Puede perjudicar a la fertilidad o dañar al feto.

P201

Procurarse las instrucciones antes del uso.

P280

Use guantes, ropa y equipo de protección para los ojos y la cara.

P308+P313

EN CASO DE exposición confirmada o supuesta: consultar a un médico.

P333+P313

En caso de irritación cutánea o sarpullido: consulte a un médico.

P362+P364

Quitar la ropa contaminada y lavarla antes de usarla. 8-Hidroxiquinoleína 0,1 - 0,2 %

Wash Solution (20X)

PELIGRO



H360

Puede perjudicar a la fertilidad o dañar al feto.

P201

Procurarse las instrucciones antes del uso.

P280

Use guantes, ropa y equipo de protección para los ojos y la cara.

P308+P313

EN CASO DE exposición confirmada o supuesta: consultar a un médico.

Ácido bórico 0,1 - 0,3 %
Sodio tetraborato decahidrato 0,1 - 0,3 %

RECOLECCIÓN, PROCESAMIENTO, ALMACENAMIENTO Y DILUCIÓN 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 -20 °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.

MATERIALES 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. 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)

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 un colorante.

Calibradores: 6 frascos de 1 mL (listo para su uso)

Los frascos calibradores contienen desde 0 hasta aproximadamente 30 ng/mL de angiotensina I en amortiguador con suero bovino y azida sódica (<math>< 0,1\text{ \%}</math>). La concentración exacta se indica en la etiqueta. Los calibradores se calibraron contra RP 86/536.

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

Los frascos contienen angiotensina I en amortiguador con suero bovino, azida sódica (<math>< 0,1\text{ \%}</math>). La concentración exacta se indica en la hoja suplemento.

Inhibidor enzimático: un frasco (lío-filizado)

También contienen azida sódica (<math>< 0,1\text{ \%}</math>).

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

La solución concentrada debe diluirse antes de su uso.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS

Además del equipo normal de laboratorio se requiere lo siguiente:

- Micropipetas de precisión (75 μL ; 100 μL).
- Dispensador ajustable (200 μL ; 300 μL ; 2 mL).
- Baño de agua.
- Baño de hielo.
- mezclador tipo vórtex.
- Agitador horizontal u orbital.
- sistema de aspiración.
- Contador gamma calibrado para I^{125} .

PROCEDIMIENTO

Preparación de los reactivos

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.

Preparación de la solución de lavado

Verter el contenido de un frasco en 950 mL de agua destilada y homogeneizar. La solución diluida se puede almacenar entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad del equipo.

Paso enzimático – generación de la angiotensina I

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.

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).

Procedimiento del inmunoanálisis

Paso 1 Adiciones*	Paso 2 Incubación	Paso 3 Contaje
Adicionar sucesivamente a los tubos con anticuerpos: 75 μL de calibradores, controles o muestras Después de la incubación enzimática a 37 °C y a 4 °C respectivamente y 100 μL del trazador.** Mezclar.	Incubar 2 hrs. de 18-25 °C con agitación (>280 rpm).	Aspirar cuidadosamente el contenido de los tubos (excepto el de los dos tubos "cpm total"). Lavar con 2 mL de la solución de lavado. Aspirar dos veces. Determinar la actividad (cpm) por 1 min.

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

**Agregue 100 μL de trazador a 2 tubos adicionales para obtener las cpm totales. (T)

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.

Curva estándar

Los resultados en el departamento de control de calidad fueron calculados usando el ajuste de curva *regresión cúbica ponderada* con B/T o B/B_0 en el eje logit vertical y la concentración de analitos de los calibradores en el eje logarítmico horizontal (ng/mL).

Otros métodos de reducción de datos 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 estándar, no utilizar para los cálculos)

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.

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:

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

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

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

Información detallada acerca de los valores esperados para niños clasificada de acuerdo a la edad) puede ser encontrada en la hoja de datos "APPENDICES".

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 empaque 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: imunochem@beckman.com

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

(Ver la hoja "APPENDIX" para más detalles)

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

Sensibilidad

Sensibilidad Analítica: 0,07 ng/mL

Sensibilidad Funcional: 0,20 ng/mL

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.

Precisión

Intra- ensayo

Las muestras se evaluaron 25 duplicados en las mismas series. Los coeficientes de variación fueron iguales o por debajo de 11,3 %.

Inter-análisis

Las muestras se evaluaron en duplicado en 10 series diferentes. Los coeficientes de variación fueron iguales o por debajo de 20,9 %.

Precisión

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.

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 %.

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 %.

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

LIMITACIONES

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

Los resultados deberán ser interpretados como una ayuda dentro de la situación clínica del paciente, incluyendo la historia clínica, así como los datos provenientes de otras testas adicionales.

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.

Angiotensin I RIA KIT

REF IM3518

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

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 aspirados. 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.

AVISOS E PRECAUÇÕES

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.

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 registro 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.

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.

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.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO GHS

Tracer

ATENÇÃO



H317

Pode provocar uma reacção alérgica cutânea.

H412

Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.

P273

Evitar a libertação para o ambiente.

P280

Use luvas de protecção, vestuário de protecção e protecção ocular/protecção facial.

P333+P313

Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.

P362+P364

Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a usar. mistura reacional de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona [n.o CE 247-500-7] e 2-metil-4-isotiazolin-3-ona [n.o CE 220-239-6] (3:1) < 0,05%

Inibidor

PERIGO



H317

Pode provocar uma reacção alérgica cutânea.

H360

Pode afetar a fertilidade ou o nascituro.

P201

Pedir instruções específicas antes da utilização.

P280

Use luvas de protecção, vestuário de protecção e protecção ocular/protecção facial.

P308+P313

EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico.

P333+P313

Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.

P362+P364

Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a usar. 8-Hidroxiquinolina 0,1 - 0,2%

Wash Solution (20X)

PERIGO



H360

Pode afetar a fertilidade ou o nascituro.

P201

Pedir instruções específicas antes da utilização.

P280

Use luvas de protecção, vestuário de protecção e protecção ocular/protecção facial.

P308+P313

EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico.

Ácido bórico 0,1 - 0,3%
Borato de sódio decahidratado 0,1 - 0,3%

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.

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)

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.

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.

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.

Inibidor Enzimático: um frasco (lyophilizado)

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

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

Solução concentrada, deve ser diluída antes do uso.

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.

PROCEDIMENTO

Preparação e armazenamento dos reagentes

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.

Preparação de solução de lavagem

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

Passo enzimático – geração da angiotensin I

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 de incubação do passo enzimático pode ser prolongado até 3 horas.

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.

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»

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.

Curva Padrão

Os resultados no departamento de controle de qualidade foram calculados utilizando um ajuste de curva de *regressão cúbica ponderada* com B/T ou B/B_0 no eixo vertical da função logit e concentração de analito dos calibradores no eixo horizontal logarítmico (ng/mL).

Outros métodos de redução de dados podem dar resultados ligeiramente diferentes.

Actividade 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

(Exemplo de curva padrão, não utilize para cálculo)

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.

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:

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

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

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

Pode encontrar informação detalhada sobre os valores esperados nas crianças (de acordo com idade) no "APPENDIX".

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: imunochem@beckman.com.

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.

Sensibilidade

Sensibilidade analítica: 0,07 ng/mL

Sensibilidade funcional: 0,20 ng/mL

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 PRA é eliminado por subtração do valor de fundo.

Precisão

Intra-ensaio

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

Inter-ensaio

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

Exactidão

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.

Teste de Diluição

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

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%.

Gama de medição (da sensibilidade analítica ao calibrador mais alto): 0.07 a aproximadamente 30 ng/mL.

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 apropriadas.

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.

Angiotensin I RIA KIT

REF IM3518

RADIOIMMUNANALYSE AF ANGIOTENSIN I TIL IN VITRO-BESTEMMELSE AF PLASMARENINAKTIVITET (PRA) I HUMANT PLASMA

Til *in vitro*-diagnostisk brug.

PRINCIP

Angiotensin I RIA tjener til kvantitativ bestemmelse af plasmareninaktivitet (PRA) ved hjælp af radioimmunanalyse af reaktionsproduktet angiotensin I.

Dannelsen af angiotensin I er et resultat af den enzymatiske spaltning af reninsubstratet angiotensinogen i plasma prøver i tilstedeværelse af en ACE-hæmmer (ACE - Angiotensinkonverterende enzym), en enzymatisk hæmmer, som blokerer omdannelsen af angiotensin I til angiotensin II.

Angiotensin I-immunanalysen er en kompetitiv radioimmunologisk analyse. Ukendte prøver, kontroller og kalibratorer inkuberes i prøverør, der er belagt med polyklonalt antistof med ¹²⁵I-mærket angiotensin I som tracer. Efter inkubering aspireres indholdet af prøverørene. Den bundne radioaktivitet bestemmes derefter med en gammatæller. Der etableres en standardkurve, og ukendte værdier bestemmes ved interpolation ud fra standardkurven.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

Generelle bemærkninger:

- Enzymatisk inhibitoropløsning, kalibratorer, kontrolprøver og analyserede prøver skal nedkøles til 2-8 °C før pipettering.
- Flaskerne med kalibratorer og controller bør være åbne så kort tid som muligt for at undgå overdreven fordampning.
- Reagenser fra kit fra forskellige lot må ikke blandes.
- Der skal fastsættes en standardkurve for hver analyse.
- Det anbefales at udføre immunanalysen i duplikat.
- Hvert glas må kun anvendes én gang.

Grundlæggende regler for strålingssikkerhed

Køb, besiddelse, anvendelse og overførsel af radioaktive materialer er underlagt lovgivningen i bruglandet. Overholdelse af de grundlæggende regler for strålingssikkerhed bør give en tilstrækkelig beskyttelse:

- Der må hverken spises, drikkes, ryges eller bruges kosmetik på steder, hvor der findes radioaktive materialer.
- Radioaktive stoffer må ikke pipetteres med munden.
- Undgå enhver kontakt med radioaktive materialer ved at bruge handsker og heldækkende laboratoriekittel.
- Enhver manipulation af radioaktive stoffer skal ske på et dertil egnet sted og på afstand af gangområder og andre travle steder.
- Radioaktive materialer skal opbevares i den medfølgende beholder på et dertil egnet sted.
- Der skal føres register over modtagelse og opbevaring af alle radioaktive produkter, og registret skal holdes opdateret.
- Laboratorieudstyr og glasartikler, der udsættes for kontamination, skal holdes adskilt fra hinanden for at undgå krydskontaminering af forskellige radioisotoper.
- Ethvert tilfælde af radioaktiv kontamination eller tab af radioaktivt materiale skal løses i overensstemmelse med de etablerede procedurer.
- Radioaktivt affald skal håndteres i overensstemmelse med de i bruglandet gældende regler.

Natriumazid

Visse af reagenserne indeholder natriumazid som konserveringsmiddel. Natriumazid kan reagere med bly-, kobber- eller messing, så der dannes eksplosive metalazider. Reagenserne skal bortskaffes ved at skylle dem ud i a øbet med rigelige mængder vand.

Materialer af human oprindelse

Samtlige plasma prøver skal håndteres, som om de var i stand til at overføre hepatitis eller AIDS, og affald skal bortskaffes i overensstemmelse med de i bruglandet gældende regler.

GHS FAREKLASSIFIKATION

Tracer

ADVARSEL



H317

Kan forårsage allergisk hudreaktion.

H412

Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger.

P273

P280

Undgå udledning til miljøet. Bær beskyttelseshandsker, beskyttelsestøj og øjen-/ansigtsbeskyttelse.

P333+P313

Ved hudirritation eller udslet: Søg lægehjælp.

P362+P364

Alt tilsmudset tøj tages af og vaskes inden anvendelse. en blanding af: 5-chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-on [EF nr. 247-500-7] og 2-methyl-2H-isothiazol-3-on [EF nr. 220-239-6] (3:1) < 0,05%

Inhibitor

FARE



H317

Kan forårsage allergisk hudreaktion.

H360

Kan skade forplantningsevnen eller det ufødte barn.

P201

Indhent særlige anvisninger før brug.

P280

Bær beskyttelseshandsker, beskyttelsestøj og øjen-/ansigtsbeskyttelse.

P308+P313

VED eksponering eller mistanke om eksponering: Søg lægehjælp.

P333+P313

Ved hudirritation eller udslet: Søg lægehjælp.

P362+P364

Alt tilsmudset tøj tages af og vaskes inden anvendelse. 8-Hydroxyquinolin 0,1 - 0,2%

Wash Solution (20X)

FARE



H360

Kan skade forplantningsevnen eller det ufødte barn.

P201

Indhent særlige anvisninger før brug.

P280

Bær beskyttelseshandsker, beskyttelsestøj og øjen-/ansigtsbeskyttelse.

P308+P313

VED eksponering eller mistanke om eksponering: Søg lægehjælp. Borsyre 0,1 - 0,3% Natriumboratdecahydrat 0,1 - 0,3%

SDS

Sikkerhedsdatablad fås på techdocs.beckmancoulter.com

INDSAMLING, BEHANDLING, OPBEVARING OG FORTYNDING AF PRØVER

- Plasmaprøverne skal indsamles i kolde EDTA-rør.
- Plasma separeres fra cellerne ved centrifugering ved 2-8 °C.
- Med henblik på at undgå gentagen nedfrysning og optøning skal plasmaprøverne opbevares nedfrosset (<-20 °C, 1 år maks.) efter fordeling i aliquotter, hvis bestemmelsen ikke udføres med det samme.

Bemærk: Temperaturen på plasmaprøverne skal holdes inden for 2-8 °C under hele prøvetagningsforløbet. Undgå yderligere manipulation både for at undgå dannelse og nedbrydning af angiotensin I.

LEVEREDE MATERIALER

Alle reagenserne i kittet er stabile indtil udløbsdatoen, der er angivet på mærkaten på kittet, hvis de opbevares ved 2-8 °C. Opbevaringsbetingelser for reagenser efter rekonstitution er angivet i afsnittet Procedure. De udløbsdatoer, som er trykt på mærkaterne på hætteglassene, gælder kun for langtidsopbevaring af komponenter hos producenten forud for sammensætning af kittene. Disse værdier må ikke anvendes.

Prøverør, som er belagt med anti-angiotensin I polyklonalt antistof: 2 x 50 rør (klar til brug)

¹²⁵I-mærket angiotensin I: ét 11 mL hætteglas (klar til brug)

På datoen for fremstillingen indeholder hætteglasset 260 kBq ¹²⁵I-mærket angiotensin I i buffer med bovint serumalbumin og et farvestof.

Kalibratore: seks 1 mL hætteglas (klar til brug)

Kalibratorhætteglassene indeholder fra 0 til cirka 30 ng/mL angiotensin I i buffer med bovint serumalbumin og natriumazid (<0,1 %). Den nøjagtige koncentration er angivet på etiketten på det enkelte hætteglas. Kalibratorerne er kalibreret imod til RP 86/536.

Kontrolprøve: ét 1 mL hætteglas (klar til brug)

Hætteglasset indeholder angiotensin I i buffer med bovint serumalbumin og natriumazid (<0,1 %). Den forventede værdi ligger i koncentrationsintervallet angivet i tillægget.

Enzymatisk inhibitor: et hætteglas (lyofiliseret)

Det indeholder også natriumazid (<0,1 %).

Vaskeopløsning (20x): ét 50 mL hætteglas

Koncentrerede opløsninger skal fortyndes før brug.

MATERIALER PÅKRÆVET, MEN IKKE LEVERET

Ud over almindeligt laboratoriestyr skal følgende bruges:

- Præcisionsmikropipetter (75 µL, 100 µL).
- justerbare dispensere (200 µL, 300 µL, 2 mL).
- vandbad.
- isbad.
- vortexblander.
- horisontal eller orbitalryster.
- aspireringssystem.
- Gammataæller indstillet til ¹²⁵I

PROCEDURE

Klargøring og opbevaring af reagenser

Klargøring af enzymatisk inhibitoropløsning

Indholdet af hætteglassene rekonstitueres med den mængde koldt (4 °C), destilleret vand, som er anført på etiketten, og blandes. Den rekonstituerede enzymatiske inhibitor kan opbevares ved 2-8 °C indtil kittets udløbsdato.

Klargøring af vaskeopløsning

Indholdet i hætteglasset hældes over i 950 mL destilleret vand og homogeniseres. Den fortyndede opløsning kan opbevares ved 2-8 °C indtil kittets udløbsdato.

Enzymatisk trin – dannelse af angiotensin I

Bemærkninger og anbefalinger

- Den enzymatiske inhibitor skal nedkøles til 4 °C, før den tilsættes til prøven.

- Begge inkubationstemperaturerne (4 °C og 37 °C) skal overholdes nøje da selv små variationer kan føre til alvorlige fejl i bestemmelserne.
- Varigheden af den enzymatiske inkubering ved 37 °C skal bestemmes så præcist som muligt og holdes inden for snævre grænser for hele sættet af prøverør.
- Hurtigheden, hvormed temperaturen hæves fra 4 °C til 37 °C og det efterfølgende temperaturfald, er kritisk. Et vandbad med cirkulation er velegnet til opvarmning, og til afkøling anbefales det at bruge et isafkølet vandbad.
- Hastigheden, hvormed temperaturen stiger og falder, kan forbedres ved at anvende prøverør, der er lavet af materialer med gode varmeledende egenskaber (glas).
- Hvis der forventes en lav plasmareninaktivitet i prøven, kan varigheden af det enzymatiske inkubationstrin øges til op til 3 timer.

Enzymatisk trin - procedure

OBS: Hverken kalibratore eller kontrolprøve må behandles.

- Tilsæt 200 µL på forhånd afkølet enzymatisk inhibitor til 200 µL af hver af plasmaprøverne, og bland.
- Hver af prøverne opdeles i to 200 µL aliquotter.
- Placer den første aliquot i en isafkølet vandbad i et køleskab (beregnet til bestemmelse af baggrundsangiotensin I ved 4 °C).
- Placer det andet i vandbadet, der er indstillet til 37 °C (med henblik på bestemmelse af dannet angiotensin I ved 37 °C).
- In kuber alle aliquotter i 1 time.
- Efter inkuberingen skal prøverne hurtigt køles ned fra 37 °C til 4 °C ved hjælp af et isbad.

Immunanalyseprocedure

Trin 1 Tilsætninger*	Trin 2 inkubation	Trin 3 Måling
Tilsæt følgende til antistofbelagte prøverør i den nævnte rækkefølge: 75 µL kalibrator, kontrol eller prøver efter enzymatisk inkubering ved henholdsvis 37 °C og 4 °C og 100 µL tracer.** Bland.	Inkuberes i 2 timer ved 18-25 °C med omrystning (> 280 omdr/min).	Opsug forsigtigt indholdet af prøverørene eller (bortset fra de 2 prøverør for "total cpm"). Vask med 2 mL vaskeopløsning. Aspirer to gange. Aktivitetsbestemmelse (cpm) i 1 minut.

*Kalibratore, kontrolprøver og analyserede prøver skal nedkøles til 4 °C før pipettering. Prøverne skal blandes forsigtigt før tilsætning.

**Tilsæt 100 µL tracer til 2 yderligere prøverør til bestemmelse af «total cpm».

RESULTATER

Resultaterne opnås ved interpolation ud fra en standardkurve. Kurven tjener til bestemmelse af angiotensin I-koncentrationer i prøver, der analyseres samtidig med kalibratorerne.

Standardkurve

Resultaterne i kvalitetskontrolafdelingen blev beregnet ved hjælp af vægtes kubisk regression-kurvetilpasning med B/T eller B/B_0 på den logit-vertikale akse og analytkoncentrationen for kalibratorerne på den logaritmiske horisontale akse (ng/mL).

Andre datareduktionsmetoder kan give lidt anderledes resultater.

Total aktivitet: 68 511 cpm				
Kalibratore	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

(Eksempel på standardkurve; må ikke bruges til beregning)

Prøver

For kontrollen og prøverne, der er blevet inkuberet ved 4 °C, eller ved 37 °C, ndes forholdet B/T eller B/B0 på den lodrette akse, og den tilsvarende angiotensin I-koncentration i ng/mL aflæses på den vandrette akse.

Beregning af plasmareninaktivitet

Bestemmelsen af plasmareninaktivitet udføres indirekte ved at måle in vitro-dannelsen af angiotensin I (A.I) pr. time. Baggrunds A-I, bestemt ved hjælp af plasmaprøver inkuberet ved 4 °C, trækkes fra værdien for A-I dannet ved 37 °C med henblik på beregning af PRA ved hjælp af følgende ligning:

$$\text{PRA ng A-I /mL/t} = \frac{[\text{A-I (37 °C)} - \text{A-I (4 °C)}] \times 2}{\text{Enzymatisk inkubationstid (t)}}$$

Hvor

A-I (37 °C): angiotensinkoncentration i ng/mL prøve inkuberet ved 37 °C

A-I (4 °C): angiotensinkoncentration i ng/mL prøve inkuberet ved 4 °C

FORVENTEDE VÆRDIER

Det anbefales, at hvert laboratorium fastlægger sine egne normalværdier. De angivne PRA-værdier er kun medtaget som reference.

N	Normal voksen	2,5. - 97,5. percentil (ng/mL/t)	Gennemsnit (ng/mL/t)	Min-Maks. (ng/mL/t)
38	Tidlig morgen, liggende	0,32-1,84	0,79	0,30-1,90
41	Stående, 2 timer	0,60-4,18	2,20	0,48-4,88

Detaljerede oplysninger om forventede værdier for børn (sorteret efter alder) kan findes i databladet "TILLÆG".

KVALITETSKONTROL

God laboratoriepraksis indebærer regelmæssig anvendelse af kontrolprøver for at sikre kvaliteten af de opnåede resultater. Disse prøver skal behandles på nøjagtig samme måde som analyseprøverne, og det anbefales, at analysere resultaterne ved hjælp af passende statistiske metoder.

Hvis emballagen ikke er intakt, eller hvis de opnåede data viser tegn på en ændring i ydeevnen, kontaktes den lokale distributør, eller brug følgende e-mailadresse: imunochem@beckman.com

PRÆSTATIONSCHARAKTERISTIKA

(Der henvises til dataarket i "TILLÆGET" for yderligere oplysninger)

Repræsentative data er udelukkende til illustrationsmæssige formål. Præstationsresultater kan variere afhængig af de individuelle laboratorier.

Sensitivitet

Analytisk sensitivitet: 0,07 ng/mL

Funktionel sensitivitet: 0,20 ng/mL

Specificitet

Det antistof, der anvendes i immunanalysen, er særdeles specifikt over for angiotensin I. Der er opnået en ekstremt lav krydsreaktivitet over for angiotensin II.

Hertil kommer, at påvirkningen af potentiel interferens på PRA-resultatet er blevet elimineret ved fratækning af baggrunden.

Præcision

Inden for samme analyse

Prøverne blev analyseret i 25 replikater i de samme serier. Variationskoefficienterne fandtes at være under eller lig med 11,3 %.

Mellem analyser

Prøverne blev analyseret i duplikat i 10 forskellige serier. Variationskoefficienterne fandtes at være under eller lig med 20,9 %.

Nøjagtighed

Den enzymatiske inkuberings afhængighed af tid

Prøverne blev inkuberet med enzymatisk inhibitor i 60, 120 og 180 minutter. Der sås ingen signifikant effekt på PRA-resultaterne.

Fortyndingstest

Plasmaprøverne blev fortyndet serielt med nulkalibrator. De opnåede genfindingsprocenter lå mellem 78 % og 99 %.

Genfindingstest

Plasmaprøverne blev tilsat kendte mængder angiotensin I. De opnåede genfindingsprocenter lå mellem 104 % og 123 %.

Måleinterval (fra analytisk sensitivitet til den højeste kalibrator): 0,07 til cirka 30 ng/mL.

BEGRÆNSNINGER

Manglende overholdelse af vejledningerne i denne indlægsseddel kan påvirke resultaterne væsentligt.

Resultaterne skal fortolkes under hensyntagen til det samlede kliniske billede af patienten, herunder klinisk historie, data fra yderligere test og andre relevante oplysninger.

Brug ikke hæmolyserede, ikteriske eller lipæmiske prøver.

I assays, der benytter antistoffer, er der mulighed for interferens fra heterofile antistoffer i patientprøven. Patienter, som regelmæssigt har været eksponeret for dyr eller har fået immunterapi eller gennemgået diagnostiske procedurer, som benytter immunglobuliner eller immunglobulinfragmenter, kan producere antistoffer, f.eks. HAMA, som interfererer med immunoassays.

Sådanne interferensantistoffer kan give fejlagtige resultater. Resultater for patienter, som er mistænkte for at have disse antistoffer, skal undersøges omhyggeligt.

Angiotensin I RIA KIT

REF IM3518

ΡΑΔΙΟΑΝΟΣΟΕΞΕΤΑΣΗ ΤΗΣ ΑΓΓΕΙΟΤΕΝΣΙΝΗΣ I ΓΙΑ ΤΟΝ IN VITRO ΠΟΣΟΤΙΚΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΡΕΝΙΝΗΣ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ (PRA) ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΠΛΑΣΜΑ

Για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Το kit Αγγειοτενσίνη I RIA χρησιμοποιείται για τον ποσοτικό προσδιορισμό της ενεργότητας ρενίνης πλάσματος (PRA), μέσω της ραδιοανοσοεξέτασης του προϊόντος της αντίδρασης, της αγγειοτενσίνης I.

Η παραγωγή της αγγειοτενσίνης I είναι το αποτέλεσμα της ενζυματικής διάσπασης του υποστρώματος ρενίνης, του αγγειοτενσινογόνου, σε δείγματα πλάσματος, υπό την παρουσία του αναστολέα ACE (Ένζυμο Μετατροπείας Αγγειοτενσίνης), ενός ενζυματικού αναστολέα που μπλοκάρει τη μετατροπή της αγγειοτενσίνης I σε αγγειοτενσίνη II.

Η ανοσοεξέταση της αγγειοτενσίνης I είναι ραδιοανοσολογική εξέταση ανταγωνισμού. Τα άγνωστα δείγματα, το δείγμα ελέγχου και τα βαθμονομητές επωάζονται σε σωληνάρια επιστρωμένα με πολυκλωνικό αντίσωμα, μαζί με αγγειοτενσίνη I επισημασμένη με Ιώδιο ¹²⁵ ως ίχνηθήτη. Μετά την επώαση αποχύνονται τα υγρά περιεχόμενα των σωληναρίων και τα σωληνάρια ξεπλένονται. Στη συνέχεια η δεσμευμένη ραδιενέργεια μετράται σε gamma counter. Κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη και οι άγνωστες τιμές προσδιορίζονται με παρεμβολή στη καμπύλη αυτή.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Γενικές παρατηρήσεις:

- Το διάλυμα του ενζυματικού αναστολέα, τα βαθμονομητές, το δείγμα ελέγχου και τα δείγματα που αναλύονται πρέπει να ψυχθούν στους 2-8 °C πριν το πιπετάρισμα.
- Τα φιαλίδια των ορών βαθμονόμησης και των ορών ελέγχου πρέπει να ανοίγονται όσο το δυνατόν λιγότερο, προς αποφυγήν εξάτμισης του περιεχομένου.
- Μην ανακατεύετε αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες.
- Κάνετε ταυτόχρονα την πρότυπη καμπύλη και τον ποσοτικό προσδιορισμό των δειγμάτων.
- Σας συστήνεται να πραγματοποιείτε δύο φορές τον κάθε προσδιορισμό.
- Κάθε σωληνάριο πρέπει να χρησιμοποιηθεί μόνο μια φορά.

Προστασία από την ιονίζουσα ακτινοβολία

Η αγορά, η κατοχή, η χρήση και η μεταφορά του ραδιενεργού υλικού υπόκεινται στους κανονισμούς της χώρας στην οποία το υλικό αυτό χρησιμοποιείται. Η συμμόρφωση με τους βασικούς κανόνες ασφάλειας από την ακτινοβολία παρέχει επαρκή προστασία.

- Υπό την παρουσία ραδιενεργών υλικών, μην καταναλώνετε τρόφιμα ή ποτά, μην καπνίζετε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά.
- Μη χρησιμοποιείτε το στόμα για να πιπετάρετε τα ραδιενεργά υλικά.
- Αποφύγετε κάθε άμεση επαφή με τα ραδιενεργά υλικά, και χρησιμοποιείτε γάντια και εργαστηριακή ποδιά.
- Κάθε χειρισμός ραδιενεργού υλικού πρέπει να γίνεται σε κατάλληλο χώρο, μακριά από διαδρόμους και άλλα πολυσύχναστα μέρη.
- Το αρχείο παραλαβής και αποθήκευσης ραδιενεργών υλικών πρέπει να είναι πάντα ενημερωμένο.
- Το αρχείο παραλαβής και αποθήκευσης ραδιενεργών υλικών πρέπει να είναι πάντα ενημερωμένο.
- Ο εργαστηριακός εξοπλισμός ή τα γυάλινα σκεύη που έχουν μολυνθεί από ραδιενεργά υλικά πρέπει να απομονώνονται, προκειμένου να αποφευχθεί μόλυνση από διαφορετικά ραδιοϊσότοπα.
- Κάθε περίπτωση ραδιενεργής μόλυνσης ή απώλειας ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να επιλύεται με βάση τις ισχύουσες διαδικασίες.
- Ο χειρισμός των ραδιενεργών αποβλήτων πρέπει να ακολουθεί τους κανονισμούς της χώρας στην οποία χρησιμοποιείται το ραδιενεργό υλικό.

Αζίδιο του Νατρίου

Κάποια αντιδραστήρια περιέχουν αζίδιο του Νατρίου ως συντηρητικό. Το αζίδιο του Νατρίου μπορεί να αντιδράσει με το χαλκό ή το μόλυβδο

PI-IM3518-09

προς το σχηματισμό εκρηκτικών αζιδίων των μετάλλων. Η απόρριψη των αντιδραστηρίων πρέπει να γίνεται μέσα από το υδραυλικό σύστημα, χρησιμοποιώντας μεγάλες ποσότητες νερού.

Υλικό ανθρώπινης προέλευσης

Όλα τα δείγματα πλάσματος πρέπει να τα χειρίζεστε ως ικανά να μεταδώσουν ηπατίτιδα ή AIDS. Δημιουργημένο απόρριμμα να εκκαθαρισθεί σύμφωνα με ισχύω κανονισμό.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ ΠΕΣ

Tracer

ΠΡΟΣΟΧΗ



H317

Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση.

H412

Επιβλαβές για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις.

P273

Να αποφεύγεται η απελευθέρωση στο περιβάλλον.

P280

Να φοράτε προστατευτικά γάντια, προστατευτικά ενδύματα και μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/το πρόσωπο.

P333+P313

Εάν παρατηρηθεί ερεθισμός του δέρματος ή εμφανιστεί εξάνθημα: Συμβουλευθείτε/επισκεφθείτε γιατρό.

P362+P364

Βγάλτε τα μολυσμένα ρούχα και πλύντε τα πριν τα χρησιμοποιήσετε.

μάζα αντίδρασης από: 5-χλωρο-2-μεθυλο-4-ισοθειαζολιν-3-όνη [αριθ. ΕΚ 247-500-7] και 2-μεθυλ-4-ισοθειαζολ-3-όνη [αριθ. ΕΚ 220-239-6] (3:1) < 0,05%

Inhibitor

Κ'ΙΝΔΥΝΟΣ



H317

Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση.

H360

Μπορεί να βλάψει τη γονιμότητα ή το έμβρυο.

P201

Εφοδιαστείτε με τις ειδικές οδηγίες πριν από τη χρήση.

P280

Να φοράτε προστατευτικά γάντια, προστατευτικά ενδύματα και μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/το πρόσωπο.

P308+P313

Σε περίπτωση έκθεσης ή πιθανότητας έκθεσης: συμβουλευθείτε/επισκεφθείτε γιατρό.

P333+P313

Εάν παρατηρηθεί ερεθισμός του δέρματος ή εμφανιστεί εξάνθημα: Συμβουλευθείτε/επισκεφθείτε γιατρό.

P362+P364

Βγάλτε τα μολυσμένα ρούχα και πλύντε τα πριν τα χρησιμοποιήσετε.

8-Υδροξυκινολίνη 0,1 - 0,2%

Wash Solution (20X)

Κ'ΙΝΔΥΝΟΣ



H360	Μπορεί να βλάψει τη γονιμότητα ή το έμβρυο.
P201	Εφοδιαστείτε με τις ειδικές οδηγίες πριν από τη χρήση.
P280	Να φοράτε προστατευτικά γάντια, προστατευτικά ενδύματα και μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/το πρόσωπο.
P308+P313	Σε περίπτωση έκθεσης ή πιθανότητας έκθεσης: συμβουλευθείτε/επισκεφθείτε γιατρό. Βορικό οξύ 0,1 - 0,3% Δεκαένυδρο βορικό νάτριο 0,1 - 0,3%

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Ο απαιτούμενος εργαστηριακός εξοπλισμός, επιπλέον του συνήθους, είναι ο εξής:

- μικροπιπέτες ακριβείας (75 µL, 100 µL).
- ρυθμιζόμενοι διανομείς (200 µL, 300 µL; 2 mL).
- υδατόλουτρο.
- λουτρό πάγου.
- Μίξερ τύπου vortex.
- Shaker με οριζόντια πλατφόρμα παλινδρόμησης ή με πλατφόρμα ταλάντωσης.
- Σύστημα απόχυσης.
- gamma counter σετ για Ιώδιο 125

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Προετοιμασία και αποθήκευση των αντιδραστηρίων

Προετοιμασία του διαλύματος του ενζυματικού αναστολέα

Το περιεχόμενο του φιαλιδίου ανασυστάται προσθέτοντας τον όγκο κρύου απεσταγμένου νερού (4 °C) που αναγράφεται στην ετικέτα και ανακατεύοντας στο vortex. Ο ανασυσταμένος ενζυματικός αναστολέας διατηρείται στους 2-8 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης του kit.

Προετοιμασία του διάλυμα πλύσης

Προσθέστε το περιεχόμενο του φιαλιδίου σε 950 mL απεσταγμένου νερού και ομογενοποιήστε. Το αραιωμένο διάλυμα μπορεί να αποθηκευθεί στους 2-8 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης του kit.

Ενζυματικό βήμα – παραγωγή της αγγειοτενσίνης I

Παρατηρήσεις και συστάσεις

- Ο ενζυματικός αναστολέας πρέπει να ψυχθεί στους 4 °C πριν προστεθεί στο δείγμα.
- Και οι δύο θερμοκρασίες επώασης (4 °C και 37 °C) πρέπει να τηρηθούν αυστηρά • ακόμα και μικρές διακυμάνσεις μπορούν να προκαλέσουν σοβαρά σφάλματα στον προσδιορισμό.
- Ο χρόνος της ενζυματικής επώασης πριν την κυρίως επώαση (στους 37 °C) πρέπει να καθοριστεί όσο το δυνατόν ακριβέστερα και να κρατηθεί σε στενά όρια για το σύνολο σωληναρίων.
- Η ταχύτητα αύξησης της θερμοκρασίας από τους 4 °C στους 37 °C και η ακόλουθη αντίστροφη πτώση είναι κρίσιμες. Ένα υδατόλουτρο κυκλοφορούντος νερού είναι κατάλληλο για τη θέρμανση, και η χρήση ενός λουτρού παγωμένου-ψυχρού νερού ενδείκνυται για την ψύξη.
- Η ταχύτητα αύξησης και πτώσης της θερμοκρασίας μπορεί να βελτιωθεί με τη χρήση σωληναρίων που είναι κατασκευασμένα από υλικό με καλή θερμική αγωγιμότητα (γυαλί).
- Εάν αναμένεται χαμηλή ενεργότητα ρενίνης πλάσματος στο δείγμα, ο χρόνος επώασης του ενζυματικού βήματος μπορεί να παραταθεί μέχρι 3 ώρες.

Ενζυματικό βήμα – διαδικασία

Προσοχή : Τα βαθμονομητές και το δείγμα ελέγχου δεν πρέπει να υποστούν καμιά επεξεργασία.

- Προσθέστε 200 µL προ-ψυγμένου ενζυματικού αναστολέα σε 200 µL κάθε δείγματος πλάσματος και ανακατέψτε στο vortex.
- Χωρίστε κάθε δείγμα σε δύο ίσα μέρη των 200 µL.
- Τοποθετήστε το πρώτο από τα δύο ίσα μέρη σε λουτρό πάγου στο ψυγείο (προορίζεται για τον προσδιορισμό της αγγειοτενσίνης I υπόβαθρου στους 4 °C).
- Τοποθετήστε το δεύτερο για μία ώρα σε υδατόλουτρο στους 37 °C (προορίζεται για τον προσδιορισμό της παραγόμενης αγγειοτενσίνης I στους 37 °C).
- Επώαστε και τα δύο δείγματα για 1 ώρα.
- Μετά την επώαση, ψύξτε γρήγορα τα δείγματα από τους 37 °C στους 4 °C χρησιμοποιώντας λουτρό νερού -πάγου.



Το Δελτίο δεδομένων ασφάλειας είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση techdocs.beckmancoulter.com

ΣΥΛΛΟΓΗ, ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ, ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΑΡΑΙΩΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- Τα δείγματα πλάσματος πρέπει να συλλεχθούν σε κρύα σωληνάκια με EDTA.
- Διαχωρίστε το πλάσμα από τα κύτταρα με φυγοκέντρηση στους 2-8 °C.
- Διατηρήστε τα δείγματα πλάσματος κατεψυγμένα (<-20 °C, για 1 χρόνο το πολύ), αν η εξέταση δεν πρόκειται να γίνει αμέσως, και κατά προτίμηση χωρισμένα σε μικρότερες ποσότητες, ώστε να αποφεύγεται η επαναλαμβανόμενη κατάψυξη και απόψυξη.

Σημείωση: Η θερμοκρασία του πλάσματος πρέπει να διατηρείται στους 2-8 °C κατά τη διάρκεια της δειγματοληψίας. Αποφύγετε τον περαιτέρω χειρισμό για να αποτρέψετε και το σχηματισμό και την αποσύνθεση της αγγειοτενσίνης I.

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

Όλα τα αντιδραστήρια είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του kit, όταν αποθηκεύονται σε θερμοκρασία 2-8 °C. Οι συνθήκες αποθήκευσης των αντιδραστηρίων μετά από ανασύσταση ή αραιώση αναφέρονται στην παράγραφο Διαδικασία Εξέτασης. Οι ημερομηνίες λήξης που αναγράφονται στις ετικέτες των φιαλιδίων αφορούν αποκλειστικά στη μακροπρόθεσμη αποθήκευση των αντιδραστηρίων από τον κατασκευαστή, πριν από τη συναρμολόγηση του kit. Να μη λαμβάνονται υπόψη.

Σωληνάκια επιστρωμένα με πολυκλωνικό αντίσωμα κατά της αγγειοτενσίνης I: 2 x 50 σωληνάκια (έτοιμα προς χρήση)

Αγγειοτενσίνη I επισημασμένη με ¹²⁵I: 1 φιαλίδιο των 11 mL (έτοιμο προς χρήση)

Το φιαλίδιο περιέχει, την ημέρα που παρασκευάζεται, 260 kBq επισημασμένης με Ιώδιο ¹²⁵ αγγειοτενσίνης I σε ρυθμιστικό με αλμπουμίνη βοδινού ορού και μια χρωστική.

Βαθμονομητές: 6 φιαλίδια του 1 mL (έτοιμα προς χρήση)

Τα βαθμονομητές φιαλίδια περιέχουν αγγειοτενσίνη I σε συγκεντρώσεις από 0 μέχρι κατά προσέγγιση 30 ng/mL, σε ρυθμιστικό με αλμπουμίνη βοδινού ορού και αζίδιο του Νατρίου (<0,1%). Η ακριβής συγκέντρωση αναγράφεται στην ετικέτα κάθε φιαλιδίου. Τα βαθμονομητές είναι βαθμονομημένα με βάση το RP 86/536.

Δείγμα ελέγχου: 1 φιαλίδιο του 1 mL (έτοιμο προς χρήση)

Το φιαλίδιο περιέχει αγγειοτενσίνη I σε ρυθμιστικό με αλμπουμίνη βοδινού ορού και αζίδιο του Νατρίου (<0,1%). Η αναμενόμενη τιμή κυμαίνεται μεταξύ των συγκεντρώσεων που αναγράφονται σε επιπλέον φυλλάδιο.

Ενζυματικός αναστολέας: 1 φιαλίδιο (λυοφιλημένο)

Περιέχει επίσης αζίδιο του Νατρίου (<0,1%).

Διάλυμα πλύσης (20x): ένα φιαλίδιο των 50 mL

Το συμπυκνωμένο διάλυμα πρέπει να αραιωθεί πριν από τη χρήση.

Διαδικασία ανοσοεξέτασης

Βήμα 1 Προσθήκες*	Βήμα 2 Επώαση	Βήμα 3 Μέτρηση
Στα επιστρωμένα με αντίσωμα σωληνάρια προσθέστε διαδοχικά: 75 μL βαθμονομητής, δείγματος ελέγχου ή δείγματος μετά από ενζυματική επώαση σε 37 °C και 4 °C αντίστοιχα και 100 μL ιχνηθέτη.** Ανακατέψτε.	Επώαστε 2 ώρες στους 18-25 °C με ανάδευση (> 280 rpm).	Αποχύστε προσεκτικά τα περιεχόμενα των σωληναρίων (εκτός από τα 2 σωληνάρια «ολικές κρούσεις»). Πλύντε με 2 mL διαλύματος πλύσης. Αποχύστε 2 φορές. Μετρήστε τη ραδιενέργεια (cpm) για 1 λεπτό.

*Τα βαθμονομητής, το δείγμα ελέγχου και τα δείγματα που αναλύονται πρέπει να ψυχθούν στους 4 °C πριν το πιπετάρισμα. Ανακατέψτε ελαφρά στο vortex τα δείγματα πριν τα προσθέσετε.

**Προσθέστε 100 μL ιχνηθέτη σε 2 επιπλέον σωληνάρια για να έχετε το «ολικό cpm».

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα των δειγμάτων υπολογίζονται με παρεμβολή στην πρότυπη καμπύλη. Η καμπύλη χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων αγγειοτενσίνης I σε δείγματα που μετρώνται ταυτόχρονα με τα βαθμονομητής.

Πρότυπη καμπύλη

Τα αποτελέσματα στο τμήμα ποιοτικού ελέγχου υπολογίστηκαν «σταθμισμένη κυβική παλινδρόμηση», με τον λόγο B/T ή B/B₀ στον logit κάθετο άξονα και τις συγκεντρώσεις της αναλυόμενης ουσίας των βαθμονομητών στο, λογαριθμικό οριζόντιο άξονα (ng/mL).

Άλλες μέθοδοι αναγωγής των δεδομένων μπορεί να δώσουν ελαφρώς διαφορετικά αποτελέσματα.

Ολική ραδιενέργεια: 68.511 cpm				
Βαθμονομητές	Αγγειοτενσίνη 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

(Παράδειγμα πρότυπης καμπύλης, να μη χρησιμοποιηθεί σε υπολογισμούς)

Δείγματα

Για το δείγμα ελέγχου και τα δείγματα που επωάζονται στους 4 °C ή στους 37 °C, σημειώστε την τιμή B/T ή το B/B₀ στον κάθετο άξονα, έπειτα το αντίστοιχο σημείο στην καμπύλη και διαβάστε στον οριζόντιο άξονα την αντίστοιχη συγκέντρωση αγγειοτενσίνης I σε ng/mL.

Υπολογισμός της ενεργότητας ρενίνης πλάσματος

Ο προσδιορισμός της ενεργότητας ρενίνης πλάσματος γίνεται έμμεσα, μέσω της μέτρησης της in vitro παραγωγής της αγγειοτενσίνης I (A-I) ανά ώρα. Για τον υπολογισμό της PRA, η A-I υπόβαθρου, που προσδιορίζεται στα δείγματα πλάσματος τα οποία επωάζονται στους 4 °C, αφαιρείται από την A-I που παράγεται στους 37 °C, με τη χρήση της παρακάτω εξίσωσης:

$$[A-I (37 \text{ }^\circ\text{C}) - A-I (4 \text{ }^\circ\text{C})] \times 2$$

PRA ng A-I /mL/hr =

Χρόνος ενζυματικής επώασης (ώρες)

Όπου

A-I (37 °C): συγκέντρωση αγγειοτενσίνης σε ng/mL στο δείγμα που επωάζεται στους 37 °C

A-I (4 °C): συγκέντρωση αγγειοτενσίνης σε ng/mL στο δείγμα που επωάζεται στους 4 °C

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Προτείνουμε το κάθε εργαστήριο να καθιερώσει τις δικές του τιμές αναφοράς. Οι τιμές της PRA που παρουσιάζονται παρακάτω είναι απλώς ενδεικτικές.

N	ΥΓΙΕΙΣ ΕΝΗΛΙΚΕΣ	2.5 - 97.5 ποσοστό (ng/mL/ώ)	Mediana (ng/mL/ώ)	Min-Max (ng/mL/ώ)
38	Νωρίς πρωί, Ύπνια θέση	0,32-1,84	0,79	0,30-1,90
41	Όρθια θέση	0,60-4,18	2,20	0,48-4,88

Λεπτομερής περιγραφή πληροφοριών σχετικά με τις αναμενόμενες τιμές για παιδιά (ανά ηλικία), παραθέτονται στο φύλλο "APPENDIX".

ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Η σωστή εργαστηριακή πρακτική προϋποθέτει την τακτική χρήση δειγμάτων ελέγχου, προκειμένου να διασφαλίζεται η ποιότητα των αποτελεσμάτων. Η επεξεργασία των δειγμάτων αυτών πρέπει να γίνεται με τον ίδιο τρόπο με τον οποίο γίνεται η επεξεργασία των άγνωστων δειγμάτων. Επιπλέον, συστήνεται η ανάλυση των αποτελεσμάτων τους να γίνεται με τη βοήθεια των κατάλληλων στατιστικών μεθόδων.

Σε περίπτωση επιδείνωσης συσκευασίας ή εάν τα αποτελέσματα που προέκυψαν έχουν τροποποίηση απόδοσης, παρακαλώ ελάτε σε επαφή με τον τοπικό διανομέα σας ή χρησιμοποιήστε την ακόλουθη διεύθυνση ηλεκτρονικού ταχυδρομείου: imunochem@beckman.com

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

(βλέπε τη σελίδα "APPENDIX" για περισσότερες λεπτομέρειες)

Τα αντιπροσωπευτικά δεδομένα παρέχονται μόνο ως παράδειγμα. Η απόδοση που επιτυγχάνεται σε κάθε εργαστήριο μπορεί να διαφέρει.

Ευαισθησία

Αναλυτική ευαισθησία: 0,07 ng/mL

Λειτουργική ευαισθησία: 0,20 ng/mL

Εξειδίκευση

Το αντίσωμα που χρησιμοποιείται στην ανοσοεξέταση είναι υψηλά εξειδικευμένο για την αγγειοτενσίνη I. Εξαιρετική χαμηλή διασταυρωτή αντιδραστικότητα παρατηρήθηκε με την αγγειοτενσίνη II.

Επιπλέον, η επιρροή πιθανών παρεμβολών στο αποτέλεσμα της PRA εξαλείφεται με την αφαίρεση του υπόβαθρου.

Ακρίβεια

Εντός της δοκιμής

Δείγματα εξετάστηκαν 25 φορές στην ίδια σειρά. Οι συντελεστές απόκλισης που προέκυψαν ήταν μικρότεροι ή ίσοι με 11,3%.

Εκτός της δοκιμής

Δείγματα εξετάστηκαν δύο φορές το καθένα σε 10 διαφορετικές σειρές. Οι συντελεστές απόκλισης που προέκυψαν ήταν μικρότεροι ή ίσοι με 20,9%.

Ακρίβεια

Εξάρτηση της ενζυματικής επώασης από τον χρόνο

Τα δείγματα επωάστηκαν με τον ενζυματικό αναστολέα για 60, 120 και 180 λεπτά. Δεν βρέθηκε καμία σημαντική επίδραση στα αποτελέσματα της PRA

Δοκιμή αραιώσης

Δείγματα πλάσματος αραιώθηκαν διαδοχικά στο μηδενικό βαθμονομητο του kit. Τα ποσοστά ανάκτησης κυμαίνονταν μεταξύ 78% και 99%.

Δοκιμή ανάκτησης

Γνωστά ποσοτήτες αγγειοτενσίνης I προστέθηκαν σε δείγματα πλάσματος. Τα ποσοστά ανάκτησης κυμαίνονταν μεταξύ 104% και 123%.

Εύρος μέτρησης (από αναλυτική ευαισθησία έως τον υψηλότερο βαθμονομητή): από 0.07 μέχρι κατά προσέγγιση 30 ng/mL.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Η μη τήρηση των οδηγιών που περιέχονται στο έντυπο μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τα αποτελέσματα.

Τα αποτελέσματα πρέπει να ερμηνευθούν λαμβάνοντας υπόψη τη συνολική κλινική παρουσίαση της ασθενούς, συμπεριλαμβανομένων της κλινικής ιστορίας, των δεδομένων από συμπληρωματικές εξετάσεις και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Αποφύγετε τη χρήση βαριά αιμόλυση, ικτερική ή λιπαιμικά δείγματα.

Για προσδιορισμούς που χρησιμοποιούν αντισώματα, υπάρχει πιθανότητα παρεμβολής από ετερόφιλα αντισώματα στο δείγμα του ασθενούς. Οι ασθενείς που ήρθαν σε συχνή επαφή με ζώα ή έκαναν ανοσοθεραπεία ή διαγνωστικές επεμβάσεις με τη βοήθεια ανοσοσφαιρινών ή τμήματα ανοσοσφαιρίνης πιθανόν να παράγουν αντισώματα, π.χ. HAMA, που παρεμβάλλουν στους ανοσοπροσδιορισμούς.

Τα εν λόγω παρεμβάλλοντα αντισώματα πιθανόν να προκαλέσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Να αξιολογείτε προσεκτικά τα αποτελέσματα ασθενών που υποπτεύεστε ότι φέρουν αυτά τα αντισώματα.

Angiotensin I RIA KIT

REF IM3518

人体血浆内血浆肾素活性 (PRA) 的体外测定的血管紧张素I的放射性免疫分析 用于体外诊断

检验原理

血管紧张素I放射免疫分析, 是通过反应产物血管紧张素I的放射免疫分析, 用于血浆肾素活性 (PRA) 的定量测定。

血管紧张素I是由内含血管紧张素转化酶抑制剂的血浆试样里的肾素底物和血管紧张素原的酶法分析产物形成, 酶抑制剂是抑制血管紧张素I向血管紧张素II的转变。

血管紧张素I的免疫测定法是一种放射免疫分析的竞争分析法。未知的试样、控制试样和校准试样都要在多克隆抗体覆盖管内进行培育, 并采用¹²⁵I标记的血管紧张素I作为示踪剂。培育完成后, 用吸管将管内溶液吸出, 冲洗试管。然后用伽玛计数器来测定其结合放射性。设定标准曲线, 未知值通过标准曲线的内插法取得。

警告和注意事项

总论:

- 酶抑制剂溶液、校准试样、控制试样以及分析试样在抽取程序之前都必须冷却至2-8°C。
- 每瓶的校正液和对照液应儘快打开以免过度挥发。
- 不能将不同批次的试剂盒内的试剂混合在一起。
- 每次测定分析时都要建立标准曲线。
- 建议做两次免疫测定。
- 每支试管仅用一次。

放射性安全的基本规则

对放射性物质的购买、拥有、使用和转移要依照使用国家的规定。辐射安全基本规则应提供足够的保障:

- 在放射性物质的使用区域中, 不可吃东西、喝饮料、抽烟或使用化妆品
- 不要用嘴吸取放射性溶液。
- 当与放射性物质接触时, 要使用手套和实验室工作服。
- 所有针对放射性物质的操作都应当在适当的场所进行, 要远离走廊和其它人多的地方。
- 放射性物质应贮存在指定的容器里, 并指定地方存放。
- 放射性产品的接收和储存记录应随时更新。
- 有可能受到污染的实验室设备及玻璃器皿应加以分开, 避免造成不同放射性同位素间的交叉污染。
- 所有放射性污染或放射性物质遗失案例均应按照既定程序来处理。
- 放射性废弃物应遵照使用地所在国家/地区的既定法规进行处置。

叠氮化钠

有些试剂中含有作为防腐剂的叠氮化钠。叠氮化钠可与铅、铜或黄铜反应产生爆炸性金属叠氮化物。对试剂的清除处理要通过卫生管道系统使用大量的水冲洗。

人源材料

所有血浆试样应加以处理以防止肝炎或艾滋病的传播, 而且废弃的试样也要按照国家的规定做好处理。

GHS 危险等级分类

Tracer

警告



H317
H412

可能导致皮肤过敏反应。
对水生生物有害并具有长期持续影响。

P273
P280

避免释放到环境中。
戴防护手套、穿防护服、戴防护眼罩/面具。

P333+P313

如发生皮肤刺激或皮疹: 求医/就诊。

P362+P364

脱掉沾染的衣服, 清洗后方可使用。

反应物质: 5-氟-2-甲基-4-异噻唑啉-3-酮 [EC# 247-500-7] 和 2-甲基-4-异噻唑啉-3-酮 [EC# 220-239-6](3:1) < 0.05%

Inhibitor

危险



H317
H360

可能导致皮肤过敏反应。
可能对生殖能力或胎儿造成伤害。

P201
P280

使用前取得专用说明。
戴防护手套、穿防护服、戴防护眼罩/面具。

P308+P313

如接触到或有疑虑: 求医/就诊。

P333+P313

如发生皮肤刺激或皮疹: 求医/就诊。

P362+P364

脱掉沾染的衣服, 清洗后方可使用。

8-羟基喹啉 0.1 - 0.2%

Wash Solution (20X)

危险



H360

可能对生殖能力或胎儿造成伤害。

P201
P280

使用前取得专用说明。
戴防护手套、穿防护服、戴防护眼罩/面具。

P308+P313

如接触到或有疑虑: 求医/就诊。

硼酸 0.1 - 0.3%

十水合四硼酸钠 0.1 - 0.3%

SDS

化学品安全技术说明书见 techdocs.beckmancoulter.com

样本采集、处理、存放和稀释

- 血浆试样必须采集存放在低温乙二胺四醋酸 (EDTA) 试管内。
- 通过离心法在2-8°C的温度范围内将血浆从细胞中分离出来。
- 取样后, 如果不是立即使用, 为了避免反复冻融, 血浆试样应冷冻贮存 (温度<-20°C, 最长1年)。

注意: 采样过程中的血浆温度必须保持在2-8°C。不要对采集好的血浆做进一步处理, 以防止血管紧张素I的形成和变质。

提供的材料

该试剂盒的所有试剂, 如果是在2-8°C温度范围贮存, 在试剂盒标签上的有效期限到期之前, 其性能都是稳定的。复原或稀释后的试剂的贮存条件在“测定程序”里有相关说明。试剂盒内小瓶上的有效期仅适用于制造商在装配试剂盒前对原料的长期储存, 用户请不要采纳。

抗血管紧张素I多克隆抗体涂层试管: 2支, 每支50毫升 (备用)

标记¹²⁵I的血管紧张素I: 1小瓶, 每瓶11毫升 (备用)

该试剂瓶子在生产的时候, 在其缓存区就存有260千贝克¹²⁵I标记的血管紧张素I, 且内含牛血清清蛋白和一种染料。

校准试样: 6小瓶, 每瓶1毫升 (备用)

该校准试样的缓存区装有0到大概30纳克/毫升的血管紧张素I, 且内含牛血清清蛋白和叠氮化钠 (<0.1%)。每个瓶子标签上都标明其精确浓度。按照RP86/536使用校准试样。

控制试样: 1小瓶, 1毫升 (备用)

试剂瓶的缓存区装有血管紧张素I (<0.1%)。期望值在补充说明注明的浓度范围内。

酶抑制剂：1小瓶（冻干型）

也含有叠氮化钠（<0.1%）。

洗涤液（20x）：1小瓶，每瓶50毫升

浓溶液在使用前必须稀释。

所需但未提供的材料

除了标准的实验室设备外，以下物品是必须的：

- 精密的微量吸管（75 微升；100 微升）
- 可调分液器（200微升；300微升；2毫升）
- 水浴槽
- 冰浴槽
- 震荡行混合器。
- 横向或定轨振荡器
- 抽吸方法
- 适用¹²⁵I的伽玛计数器

方法

试剂的准备工作

酶抑制剂溶液的制备

根据标签上的注明，使用一定量的冷蒸馏水（4°C）复原稀释试剂瓶里的溶液。重新制备的酶抑制剂，在试剂盒的有效期到期之前，可在2-8°C的温度范围内贮存。

洗涤液的制备

向试剂瓶的溶液里倒入950毫升的蒸馏水并使其混合均匀。在试剂盒的有效期到期之前，此稀释溶液可在2-8°C的温度范围内贮存。

酶作用环节-血管紧张素I的形成

意见和建议

- 酶抑制剂在加入试样之前应冷却至4°C。
- 必须达到两种培育温度（4°C和37°C），如果在温度上略有偏差将可能导致严重的测定错误。
- 应尽可能精确地测定37°C酶的培育时间，对于整套试管来说，这样的测定时间范围应当偏小。
- 温度从4°C上升到37°C的转变以及随后的温度反向下下降都是关键的。使用循环式水浴槽便于加温，使用冰冻冷却水槽方便冷却。
- 温度上升和下降的转变，可以通过使用具有良好导热性能的材料制成的试管（玻璃的）来改进。
- 如果试样的低血浆肾素活性达到期望值，酶作用环节的培育时间可能会延长达3小时。

酶作用环节-程序

注意：此操作不涉及校准试样和控制试样。

- 向每200微升的血浆试样中添加200微升的预冷酶抑制剂并充分混合。
- 将每个混合后试样分成200微升的两等份。
- 将第一份放入冷藏室的冰冷水浴槽中（为了在4°C下测定基底血管紧张素I）。
- 将第二份放入37°C的水浴槽中，水浴1小时（为了在37°C下测定生成的血管紧张素I）。
- 所有等分试样需要培育1小时。
- 培育完毕后，迅速使用冰块将试样的温度从37°C冷却到4°C。

免疫测定程序

第一步： 添加*	第二步： 培育	第三步： 计算
向抗体涂层的试管内先后加入 75微升的校准试样、控制试样或测定试样，后是100微升的示踪剂。** 充分混合。	18-25°C的温度下培育2小时，同时保持振动（每分钟计数大于280）	小心抽吸试管内溶液（除了2支试管“每分钟总计数”） 用2毫升洗涤液冲洗。抽吸两次。 测定（每分钟计数）1分钟

*校准试样、控制试样和分析试样在抽吸前必须冷却至4°C。这些试样在添加前要轻轻混合。

**将100微升示踪剂添加到2支另外的试管内，以获取每分钟总计数。

结果

通过插值标准曲线获取测定结果。试样中血管紧张素I浓度的测定所用到的曲线分析与校准试样同时进行。

标准曲线

计算了质量控制部门的结果B/T 或 B/B₀ 拟合的加权三次回归曲线以及对数横轴上校准品的分析物浓度 (ng/mL) 计算得出。

利用其他资料缩减的统计方法所得到的结果可能会稍微不同。

总放射性：每分钟计数68,511 cpm				
校准品	血管紧张素I (纳克/毫升)	cpm (3次)	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

(标准曲线示例, 不要用于直接计算)

试样

因为控制试样和测定试样的培育都是在4°C或37°C的温度下进行，在纵轴上读取B/T 值或B/B₀ 值，并从横轴上读出相应的血管紧张素I浓度值：纳克/毫升。

血浆肾素活性的计算

血浆肾素活性的计算通过每小时对体外产生的血管紧张素I (A-I) 的测量间接进行。从37°C下产生的血管紧张素I浓度减去4°C下用于血浆试样培育的基底血管紧张素I浓度，这样用于计算血浆肾素活性，以下是计算方程式：

$$[A-I(37^{\circ}\text{C})-A-I(4^{\circ}\text{C})] \times 2$$

血浆肾素活性 毫微克A-I/毫升/小时=

$$\frac{\text{酶作用培育时间 (小时)}}{\text{酶作用培育时间 (小时)}}$$

其中：

A-I (37°C)表示：37°C的温度下培育试样的血管紧张素浓度，纳克/毫升

A-I (4°C)表示：4°C的温度下培育试样的血管紧张素浓度，纳克/毫升

预计值

建议各个实验室确立自己的标准数值。以下是血浆肾素活性值，仅具有代表性：

N	正常成人	2.5 - 97.5 percentil (毫微克/毫升/小时)	中位数 (毫微克/毫升/小时)	Min-Max (毫微克/毫升/小时)
38	仰卧	0.32-1.84	0.79	0.30-1.90
41	直立,2小时	0.60-4.18	2.20	0.48-4.88

儿童预期值的详细信息（按年龄性分类）可以从“附录”的数据表中查到。

质量控制

最佳实验室管理规范暗示控制试样必须定期使用，以确保获取良好质量结果。这些试样的操作程序要与测定试样完全一致，建议运用合适的统计方法对其结果进行分析。

如果包装损坏了或获取的数据显示其性能上存在变化，请与当地经销商联系或通过邮件imunochem@beckman.com联系。

性能特征

(更多详情, 参见“附录”一览表)

典型的数据结果仅作为一个例证提供给大家。各个实验室测得的性能表现可能会有所不同。

灵敏度

分析灵敏度: 0.07纳克/毫升

功能灵敏度: 0.20纳克/毫升

特异性

血管紧张素I的免疫测定中使用抗体, 相比血管紧张素II来说, 这样几乎不会带来交叉反应。

而且, 基底试剂的消减, 可能对血浆肾素活性结果产生干扰的情况得到消除。

精确性

各次分析内

对相同系列的试样, 至少要进行25种相同试样的测定。将发现变异系数低于或等于11.3%。

各次分析间

对10种不同系列的试样, 同种试样要进行两次测定。发现变异系数低于或等于20.9%。

准确性

依据酶培育时间

使用酶抑制剂培育试样, 当培育时间达60分钟、120分钟和180分钟时, 分别定时观测, 都没有发现对血浆肾素活性结果产生重大影响。

稀释试验

血浆试样用零度校准试样进行连续稀释。取得的回收率百分比在78%到99%之间。

回收试验

向血浆试样中添加固定量血管紧张素I取得的回收率百分比在104%到123%之间。

测定范围 (从分析灵敏度到最高的校准试样): 0.07到大概 30纳克/毫升。

限制

如果不按照此包装说明书里的说明进行, 这将可能对结果产生重大影响。

在解读测验结果时, 应当全面地考虑患者的临床表现, 包括他的病史, 别的项目的检测报告或其它适当的信息。

不要使用发生溶血和浑浊的样本。

因测定时使用抗体, 病人样体里可能会存在异嗜性抗体干扰。病人过去经常接触动物或接受过疫苗或诊疗, 而这些疫苗或诊疗用上了可能产生抗体的免疫球蛋白或免疫球蛋白碎片 (像: 抗小鼠抗体), 这将会给免疫测定带来干扰。

此类具有干扰性的抗体可能会引起结果的错误。需对被怀疑带有此类抗体病人的结果进行仔细的核查。



Angiotensin I RIA KIT

REF IM3518

RINKINYS RADIOIMUNINIAM ANGIOTENZINO I, VERTINANT PLAZMOS RENINO AKTYVUMĄ (PRA), NUSTATYMU I IN VITRO ŽMOGAUS KRAUJO PLAZMOJE Diagnostikai *in vitro*.

PRINCIPAS

Radioimuninis tyrimas žmogaus plazmos renino aktyvumui (PRA) nustatyti yra grindžiamas susidariusio fermentinės reakcijos metu produkto – angiotenzino I kiekio matavimu.

Renino substrato angiotenzinogeno fermentinio susiskaidymo rezultatas – angiotenzino I susidarymas kraujo plazmoje vyksta dalyvaujant inhibitoriui, kuris blokuoja angiotenzino I virsmą angiotenzinu II.

Radioimuninis angiotenzino I nustatymas yra vienas iš konkurencinio pobūdžio tyrimų. Tyrimo pavyzdžiai, kontroliniai ir kalibruoti mėginiai inkubuojami su ¹²⁵I pažymėtu ant-angiotenzino I polikloniniais antikūnais padenguose mėgintuvėliuose. Inkubavimui pasibaigus mėgintuvėliuose esantis skystis nukošiamas, mėgintuvėliai praplaunami ir matuojamas 125 I surištas aktyvumas. Angiotenzino I koncentracija nustatoma interpoliacijos metodu pagal kalibravimo kreivę.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

Bendros pastabos:

- Prieš pilant į mėgintuvėlius fermento inhibitoriaus tirpalas, kalibruoti, kontroliniai ir tiriami mėginiai turi būti 2-8 °C temperatūros.
- Buteliukus su kalibravimo ir kontroliniais mėginiais laikyti atidarytus minimalų laiko tarpą, kad neišgaruotų skystis.
- Nemaišyk skirtingų rinkinių partijų reagentus.
- Standartinė kreivė turi būti nustatyta kiekvienam tyrimui.
- Tyrimą siūloma atlikti naudojant dublikatus.
- Kiekvienas mėgintuvėlis turi būti panaudotas tik vieną kartą.

Pagrindinės radiacinės saugos taisyklės

Įsigyjant, naudojant ir gabenant radioaktyvias medžiagas būtina laikytis toje šalyje nustatytų radiacinio saugumo normų ir darbo su radioaktyviomis medžiagomis sanitarinių taisyklių. Laboratorijose draudžiama valgyti, gerti, rūkyti, naudoti kosmetiką.

- Šalia radioaktyviųjų medžiagų negalima valgyti, gerti, rūkyti ar taikyti kosmetikos priemonės
- Negalima pipetuoti radioaktyviųjų tirpalų burna.
- Venkite bet kokio kontakto su radioaktyviomis medžiagomis, mūvėdami pirštinėmis ir vilkėdami laboratorinius chalatus.
- Visos manipulacijos su radioaktyviomis medžiagomis turi būti vykdomos tinkamoje vietoje, toli nuo koridorių ir kitų judrių vietų.
- Radioaktyvios medžiagos turi būti saugomos konteineryje tam skirtoje vietoje.
- Turi būti vedama savalaikė visų radioaktyviųjų produktų gavimo ir saugojimo registracija.
- Laboratorinė įranga ir stikliniai indai, kurie gali būti užteršti, turėtų būti atskirti, siekiant išvengti kryžminio užteršimo skirtingais radioizotopais.
- Kiekvienas radioaktyvaus užteršimo ar radioaktyvios medžiagos praradimo atvejis turi būti tvarkomas pagal nustatytas procedūras.
- Radioaktyvios atliekos turi būti tvarkomos pagal šalyje nustatytas taisykles.

Natrio azidas

Kai kuriuose rinkinio komponentuose yra natrio azido, atliekančio konservanto vaidmenį. Reaguodamas su švinu, variu arba žalvariu, natrio azidas sudaro sprogstamus metalų azidus. Apdorotus reagentus reikia atskiesti dideliu vandentiekio vandens kiekiu, po to juos galima nupilti į kanalizaciją.

Žmogaus kilmės medžiagos

Su tiriamais žmogaus plazmą mėginiais būtina elgtis kaip su potencialiais infekcijos nešiotojais, galinčiais užkrėsti AIDS ir hepatito virusais. Atliekų utilizavimas turi būti atliekamas pagal įstatymus.

VISUOTINAI SUDERINTOS SISTEMOS (GHS) PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Tracer

ATSARGIAI



H317

Gali sukelti alerginę odos reakciją.

H412

Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus.

P273

Saugoti, kad nepatektų į aplinką.

P280

Mūvėti apsaugines pirštines, vilkėti apsauginę aprangą ir naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P333+P313

Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją.

P362+P364

Nusivilkite visus užterštus drabužius ir išskalbtį prieš vėl apsivelkant.

mišinys:
5-chlor-2-metil-4-izotiazolin-3-ono [EB Nr. 247-500-7] ir 2-metil-4-izotiazolin-3-ono [EB Nr. 202-239-6] (3:1) < 0,05 %

Inhibitor

PAVOJINGA



H317

Gali sukelti alerginę odos reakciją.

H360

Gali pakenkti vaisingumui arba negimusiam vaikui.

P201

Prieš naudojimą gauti specialias instrukcijas.

P280

Mūvėti apsaugines pirštines, vilkėti apsauginę aprangą ir naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P308+P313

ESANT sąlyčiui arba jeigu numanomas sąlytis: kreiptis į gydytoją.

P333+P313

Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją.

P362+P364

Nusivilkite visus užterštus drabužius ir išskalbtį prieš vėl apsivelkant.

8-Hidroksichinolininas 0,1 - 0,2 %

Wash Solution (20X)

PAVOJINGA



H360

Gali pakenkti vaisingumui arba negimusiam vaikui.

P201

Prieš naudojimą gauti specialias instrukcijas.

P280

Mūvėti apsaugines pirštines, vilkėti apsauginę aprangą ir naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P308+P313

ESANT sąlyčiui arba jeigu numanomas sąlytis: kreiptis į gydytoją.

Boro rūgštis 0,1 - 0,3 %
Natrio borato dekahidratas 0,1 - 0,3 %

MĖGINIŲ ĖMIMAS, PARUOŠIMAS, LAIKYMAS IR PRASKIEDIMAS

- Kraujas surenkamas į atšaldytus mėgintuvėlius su EDTA.
- Centrifuguojant atskirti kraujo plazmą 2-8 °C temperatūroje.
- Jeigu tyrimas nebus atliekamas iš karto, plazmos mėginius reikia suskirstyti atskiromis dalimis ir užšaldyti <-20 °C temperatūroje (iki 1 metų). Vengti pakartotino mėginių užšaldymo ir atšildymo.

Dėmesio: imant ir apdorojant mėginius būtina palaikyti 2-8 °C plazmos temperatūrą. Tiksliai laikantis siūlytinių sąlygų

PATEIKIAMOS MEDŽIAGOS

Visi reagentai yra patvarūs laikant juos 2-8 °C temperatūroje, kol pasibaigs rinkinio galiojimo terminas. Reagentų laikymo sąlygos jiems ištirpus arba juos praskiedus nurodytos skyriuje „Procedūra“. Buteliukų su reagentais etiketėse nurodyta galiojimo terminas galioja tik laikant reagentus gamybinėmis sąlygomis iki pat rinkinio komplektavimo ir netaikytina vartotojo gautai produkcijai.

Mėgintuvėliai, padengti anti- angiotenzino I polikloniniais antikūnais: 2x50 vnt. (paruošti naudoti).

Žymiklis, ¹²⁵I angiotenzinas: 1 buteliukas, 11 ml (paruoštas naudoti).

Pagaminimo dieną buteliuke yra 260 kBk ¹²⁵I angiotenzino I buferyje su jaučio serumo albuminu.

Kalibruoti mėginiai: 6 buteliukai po 1 ml (paruošti naudoti.)

Kalibruotuose mėginiuose yra angiotenzino I kiekiai, kurių koncentracijos žmogaus kraujo serume diapazonas yra nuo 0 iki maždaug 30 ng/ml buferyje su jaučio serumo albuminu ir natrio azidu (<0,1 %). Tikslios koncentracijos, kalibruotos vadovaujantis RP 86/536 tarptautiniu standartu žmogaus kraujo serume, nurodytos buteliukų etiketėse.

Kontrolinis serumas: 1 buteliukas, 1 ml (paruoštas naudoti).

Buteliuke yra žmogaus kraujo serumas su tam tikru angiotenzino I kiekiu buferyje su jaučio serumo albuminu ir natrio azidu (<0, 1 %). Tikėtinas koncentracijos diapazonas nurodytas pridėtame lapelyje.

Fermento inhibitorius: 1 buteliukas (liofilizuotas preparatas).

Preparate yra natrio azido (<0, 1 %).

Praplovimo tirpalas (20x): 1 buteliukas, 50 ml.

Koncentruotą tirpalą prieš naudojimą reikia praskiesti.

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS MEDŽIAGOS

Be standartinės laboratorinės įrangos, reikalingi:

- mikropipetė (75 µl, 100 µl);
- pusiau automatinė pipetė (200 µl, 300 µl; 2 ml);
- vandens vonelė;
- ledo vonelė;
- Vortex tipo sukurinis maišytuvas
- horizontalus arba orbitinis kratiklis;
- čiurkšlinis siurblys;
- gama skaičiuotuvas ¹²⁵I aktyvumui skaičiuoti.

PROCEDŪRA

Reagentų paruošimas ir laikymas

Fermentinio inhibitoriaus tirpalo paruošimas.

Buteliuko turinį ištirpdyti atšaldytu ligi 4 °C distiliuotu vandeniu, kurio kiekis nurodytas buteliuko etiketėje. Kruopščiai sumaišyti. Paruoštą darbui inhibitoriaus tirpalą laikyti 2-8 °C temperatūroje, kol pasibaigs rinkinio galiojimo terminas.

Praplaunamojo tirpalo paruošimas

Supilkite buteliuko turinį į 950 ml distiliuoto vandens ir išmaišykite. Praskiestą tirpalą galima sugoti 2-8 °C temperatūroje, kol nesibaigs rinkinio galiojimo laikas.

Fermentacijos etapas - angiotenzino I susidarymas.

Pastabos ir rekomendacijos

- Prieš įlašinant į tiriamus mėginius fermentinio inhibitoriaus tirpalą reikia atšaldyti ligi 4 °C distiliuotu vandeniu.
- Būtina griežtai laikytis inkubacijos šildant ir šaldant (4 °C ir 37 °C) temperatūros sąlygų, kadangi net nedideli nuokrypiai nuo siūlytino režimo gali sukelti rimtų tyrimo rezultatų iškraipymų.
- Enziminės stadijos trukmės (inkubacija 37 °C temperatūroje) turi būti laikomasi kuo tiksliau, praktiškai j turi būti vienoda visiems mėgintuvėliams.
- Mėgintuvėlio sušildymo iki 37 °C ir vėlesnio jo atšaldymo greičio reikšmė yra principinė. Šildant rekomenduojama naudotis vandens vonelė su vandens cirkuliacija, o šaldant – ledo vonelė.
- Siekiant pagreikinti šildymo ir šaldymo procesų rekomenduojama naudotis mėgintuvėliais iš laidžios šilumai medžiagos (stiklo).
- Mėginių su tikėtina žemu plazminio renino aktyvumu inkubacijos šildant trukmę galima prailginti iki 3 valandų.

Enziminis etapas:

Dėmesio: nerekomenduojama apdoroti kalibruotų ir kontrolinių mėginių.

- Į mėgintuvėlius įlašinti 200 µl tiriamos plazmos mėginių ir papildyti juos po 200 µl atšaldyto inhibitoriaus tirpalo. Kruopščiai sumaišyti.
- Kiekvieno mėgintuvėlio turinį suskirstyti į dvi dalis po 200 µl.
- Vienos dalies mėgintuvėlius panardinti į ledo vonelę ir įdėti į šaldytuvą. Ši mėgintuvėlių grupė skirta angiotenzino I baziniam lygmeniui nustatyti 4 °C temperatūroje.
- Antrąją mėgintuvėlių grupę, iš kurių bus vertinama angiotenzino I susidarymo greitis, panardinti į vandens vonelę 37 °C temperatūroje.
- Visus mėginius inkubuoti 1 valandą.
- Inkubacijai pasibaigus 37 °C temperatūroje greitai atšaldyti mėginius iki 4 °C ledo vonelėje.

Radioimuninis tyrimas

I žingsnis Užpildymas komponentais*	II žingsnis Inkubacija	III žingsnis Rezultatų matavimas
Į antikūnais padengtus mėgintuvėlius nuosekliai įpilti: 75 µl kalibruotų, kontrolinių ir tiriamųjų mėginių po enziminio etapo 37 °C ir 4 °C temperatūroje ir 100 µl žymiklio.**	Inkubuoti 2 valandas 18-25 °C temperatūroje nuolat kratant. (>280 osc./min.)	Kruopščiai pašalinti mėgintuvėlių turinį (išskyrus „T“ mėginius). Praplauti mėgintuvėlius 2 ml praplovimo tirpalu. Pašalinti skystį. Pakartoti aspiracijos procedūrą. Visuose mėgintuvėliuose išmatuoti 125I aktyvumą (skč./min.) per 1 minutę.
Sumaišyk.		

*Prieš įnešant į mėgintuvėlius kalibruoti, kontroliniai ir tiriami mėginiai turi būti atšaldyti iki 4 °C temperatūros ir kruopščiai sumaišyti.

**Siekiant nustatyti 125I bendrąjį aktyvumą (T), skč./min. į du papildomus mėgintuvėlius įpilti po 100 µl žymiklio tirpalo.

REZULTATAI

Rezultatai apskaičiuojami interpoliacijos metodu iš kalibravimo kreivės, nubraižytos tuo pat metu, kai atliekamas nežinomų pavyzdžių tyrimas.

Kalibravimo kreivė

Apskaičiuoti kokybės kontrolės skyriaus rezultatai *svartinė kubinė regresija* kreivės pritaikymą, logit vertikaliojoje ašyje nurodant B/T arba B/B_0 , o logaritiminėje horizontaliojoje ašyje – kalibratorių analitės koncentraciją (ng/ml).

Naudojant kitus duomenų redukcijos metodus, rezultatai gali šiek tiek skirtis.

Bendras skaičius: 68 511 skč./min.				
Kalibratoriai	Angiotenzinas I (ng/ml)	skč./min. (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

(Standartinės kalibravimo kreivės pavyzdys. Nesinaudoti skaičiuojant rezultatus.)

Ėminiai

Kiekvienam kontroliniam ir tiriamam mėginiui, inkubuotam 4 °C ir 37 °C temperatūroje, vertikalioje kalibravimo kreivės ašyje reikia rasti B/T arba B/B₀ reikšmę, o horizontalioje ašyje – atitinkamą angiotenzino I (ng/ml) koncentraciją.

Plazmos renino aktyvumo skaičiavimas

Plazmos renino aktyvumas skaičiuojamas netiesioginiu metodu iš angiotenzino I (A-I) kiekio, susidariusio in vitro per vieną valandą. Bazinis A-I lygmuo,

$$\text{PRA [(ng A-I/ml)/h]} = \frac{[\text{A-I (37 °C)} - \text{A-I (4 °C)}] \times 2}{\text{inkubavimo laikas (h)}}$$

kurioje:

A-I (37 °C) - antiogenzino koncentracija po mėginio inkubavimo 37 °C temperatūroje (ng/ml).

A-I (4 °C) - antiogenzino koncentracija po mėginio inkubavimo 4 °C temperatūroje (ng/ml).

TIKĖTINOS VERTĖS

Kiekvienai laboratorijai patartina nustatyti savo standartinius PRA lygmenis, atitinkančius normatyvus. Žemiau pateikti rezultatai yra orientaciniai:

N	Sveikiems suaugusiems	2,5 – 97,5 percentil (ng/ml/val.)	Mediana (ng/ml/val.)	Min-Max (ng/ml/val.)
38	Anksti ryte, gulėti	0,32-1,84	0,79	0,30-1,90
41	Stovi 2 valandas	0,60-4,18	2,20	0,48-4,88

Detali informacija apie numatomų verčių vaikams (surūšiuotas pagal amžių) galima rasti duomenų lapo priede " APPENDIX "

KOKYBĖS KONTROLĖ

Vadovaujantis „Good laboratory practices“ (geri laboratoriniai įgūdžiai) metodais atliekamų tyrimų kokybei patikrinti, būtina reguliariai naudotis kontroliniais pavyzdžiais, kurių tyrimo etapai tokie patys kaip ir tiriamųjų mėginių. Kokybės tikrinimo rezultatus patartina apdoroti taikant specialius statistinius metodus.

Tuo atveju, kai pakuotė rimtai pažeista arba gauti rezultatai nesutampa su tyrimų charakteristikomis, prašome kreiptis į mūsų specialistus: Elektroninis paštas: imunochem@beckman.com

ANALITINĖS CHARAKTERISTIKOS

(detalesnė informacija pateikiama skyriuje „APPENDIX“)

Tipingi duomenys pateikiami tik kaip iliustracija. Atskirose laboratorijose gauti efektyvumo duomenys gali skirtis.

Jautris

Analitinis jautrumas: 0,07 ng/ml

Funkcionis jautrumas: 0,20 ng/ml

Specifiškumas

Šiame rinkinyje panaudoti antikūnai pasižymi aukštu specifiskumu prieš angiotenziną I. Kryžminė reakcija su angiotenzinu II labai maža.

Be to, bazinio angiotenzino I lygmens skaičiavimas eliminuoja šalutinių faktorių įtaką PRA.

Preciziškumas

Analizės metu

Mėginiai tirti atlikus 25 pakartojimų tarp vieno žymėjimo serijos. Lygmenų variacijų koeficientas neviršijo 11,3 %.

Tarp analizių

Dubliuotų mėginių tyrimas atliktas su 10 skirtingų žymėjimų serijomis. Lygmenų variacijų koeficientas neviršijo 20,9 %.

Tikslumas

Priklausomybė nuo enziminės stadijos trukmės

Plazmos mėginiai buvo inkubuoti su fermento inhibitoriumi per 60, 120, 180 minučių. Jokios įtakos PRA tyrimo vertinimo rezultatams nepastebėta.

Praskiedimo testas

Serijiniai plazmos mėginiai buvo skiedžiami „nuliniu“ kalibruotu mėginiu. Išeigos dydis sudarė nuo 78 iki 99 %.

„Atsidarymo“ testas

Plazmos mėginiai buvo papildyti tam tikrais angiotenzino I kiekiais. Išeigos dydis sudarė nuo 104 iki 123 %.

Nustatymo ribos (nuo analitinio jautrumo iki aukščiausios kalibravimo mėginio reikšmės): 0,07 iki maždaug 30 ng/ml.

RIBOJIMAI

Tyrimo metodikos nepaisymas gali iškraipyti tyrimo rezultatus.

Tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami bendrame paciento klinikinio vaizdo kontekste, įskaitant anamnezę, kitų testų duomenis ir kitokią tinkamą informaciją.

Nenaudokite lipeminių, ūminių ar hemolizuotų bandinių.

Tyrimams, kuriuose naudojami antikūnai, gali trukdyti paciento mėginyje esantys heterofiliniai antikūnai. Pacientai, nuolat kontaktuojantys su gyvūnais arba tie, kuriems taikyta imunoterapija arba diagnostinės procedūros naudojant imunoglobulinus ar imunoglobulinų fragmentus, gali sintetinti antikūnus, pvz., HAMA, trukdančius atlikti imuninius tyrimus.

Tokie trukdantys antikūnai gali lemti klaidingus rezultatus. Pacientų, kurie įtariami turintys šių antikūnų, rezultatus reikia vertinti atsargiai.

Angiotensin I RIA KIT

REF IM3518

RADIOIMMUNASSAY ANGIOTENZIN-I A PLAZMA RENIN-AKTIVITÁSÁNAK IN VITRO MEGHATÁROZÁSÁHOZ (PRA) HUMAN PLAZMÁBAN *In vitro* diagnosztikai használatra.

MŰKÖDÉSI ELV

Az Angiotenzin-I RIA a plazma renin aktivitásának meghatározásához használatos (PRA) radioimmunassay, mely az angiotenzin-I reakció termékét méri.

Az angiotenzin-I az angiotenzinogén renin általi enzimatisz hasításával keletkezik az ACE (Angiotenzinogén-konvertáló enzim) inhibitor tartalmú plazma mintákban. Ez az inhibitor az angiotenzin-I angiotenzin-II-vé való átalakulását gátolja meg.

Az angiotenzin-I immunassay egy radioimmunológiai kompetitív assay. A mintákat, kalibrátorokat vagy kontrolokat poliklonális ellenanyaggal fedett csövekben inkubáljuk ¹²⁵I-jelölt angiotenzin-I-vel, mint tracerrel együtt. A kötött radioaktivitást ezután gamma számlálóval mérjük. Felvesszük a standard görbét és az ismeretlen minták értékét interpolálással állapítjuk meg.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

Általános megjegyzések:

- Az enzim-inhibitor, standardokat, kontrol mintákat és az analizálandó mintákat használat előtt hűtsük 2-8 °C-ra.
- A kalibrátorokat és kontrolokat tartalmazó üvegeket a lehető legrövidebb ideig tartsák nyitva a nagymértékű párolgás elkerülése érdekében.
- Ne keverjen össze különböző gyártási számú reagenseket.
- Minden vizsgálathoz készítsen standardgörbét.
- Ajánlatos két-két párhuzamossal dolgoznunk a mérések során.
- Minden csövet csak egyszer használjunk.

Alapvető sugárzásbiztonsági szabályok

Radioaktív anyagok beszerzését, felhasználását és szállítását külön jogszabályok írják elő. Az alábbi alapvető szabályok betartása megfelelő védelmet biztosíthat:

- Radioaktív anyagok jelenlétében ne fogyasszon ételt, italt, ne dohányozzon és ne használjon kozmetikumokat.
- Ne pipettázzon szájjal radioaktív oldatokat.
- Kerülje a radioaktív anyagokkal történő érintkezést: munka közben viseljen egyszer használatos kesztyűt és laboratóriumi köpenyt.
- Minden radioaktív anyaggal végzett műveletet egy erre megfelelő, folyosóktól és más forgalmas részekről távol eső helyen kell elvégezni.
- A radioaktív reagenseket egy erre kijelölt helyen tartott edényben kell tárolni.
- A laboratóriumba érkezett radioaktív anyagok átvételéről és tárolásáról vezessen jegyzőkönyvet.
- Azokat a laboratóriumi eszközöket és üvegedényeket, amelyek radioaktív anyaggal szennyeződhetnek, különítse el, hogy elkerülje a különböző radioizotópokkal történő keresztszennyeződést.
- Sugárszennyeződés vagy radioaktív anyag kiömlése esetén tartsa be az erre vonatkozó előírásokat.
- A radioaktív hulladékot kezelje az adott országban érvényes szabályoknak megfelelően.

Nátrium azid

Néhány reagens tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaz. A nátrium azid reakciója ólommal, rézzel, vagy sárgarézzel robbanékony fémazidokat eredményezhet. Ezért a nátrium azid tartalmú reagenseket a lefolyóba történő kiöntés után nagy mennyiségű folyó vízzel öblítsük le.

Emberi eredetű anyagot

Minden plazma mintát úgy kezeljünk, mint hepatitis és AIDS fertőzésre alkalmas anyagokat és a hulladékot az adott országban érvényes szabályok szerint kell megsemmisíteni.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Tracer

FIGYELEM!



H317

Allergiás bőrreakciót válthat ki.

H412

Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.

P273

Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását.

P280

Védőkesztyű, védőruha és szemvédő/arcvédő használata kötelező.

P333+P313

Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni.

P362+P364

Az szennyezett ruhadarabokat le kell vetni és használat előtt ki kell mosni. keveréke; 5-klór-2-metil-4-izotiazolin-3-on [EK-szám: 247-500-7] és 2-metil-4-izotiazolin-3-on [EK-szám: 220-239-6] (3:1) keveréke < 0,05%

Inhibitor

VESZÉLY!



H317

Allergiás bőrreakciót válthat ki.

H360

Károsíthatja a termékenységet és a születendő gyermeket.

P201

Használat előtt ismerje meg a vizsgálatra vonatkozó különleges utasításokat.

P280

Védőkesztyű, védőruha és szemvédő/arcvédő használata kötelező.

P308+P313

Expozíció vagy annak gyanúja esetén: orvosi ellátást kell kérni.

P333+P313

Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni.

P362+P364

Az szennyezett ruhadarabokat le kell vetni és használat előtt ki kell mosni. 8-hidroxikinolin 0,1 - 0,2%

Wash Solution (20X)

VESZÉLY!



H360

Károsíthatja a termékenységet és a születendő gyermeket.

P201

Használat előtt ismerje meg a vizsgálatra vonatkozó különleges utasításokat.

P280

Védőkesztyű, védőruha és szemvédő/arcvédő használata kötelező.

P308+P313

Expozíció vagy annak gyanúja esetén: orvosi ellátást kell kérni.

Bórsav 0,1 - 0,3%
Nátrium-borát dekahidrát 0,1
- 0,3%



A biztonsági adatlap megtalálható a következő internetes helyen: techdocs.beckmancoulter.com

MINTAVÉTEL, FELDOLGOZÁS, TÁROLÁS ÉS HIGÍTÁS

- A plazma mintákat hideg, EDTA-t tartalmazó csövekbe vegyük le.
- A szérumot, vagy plazmát centrifugálással különítsük el a sejtektől 2-8 °C-on.
- Ha azonnal nem történik meg a mérés a plazma mintákból, – aliquotokra történő szétosztást követően – a mintákat <-20 °C-on tároljuk (maximum 1 évig). Kerüljük a minták felolvasztását-lefagyasztását.

Megjegyzés: A minták szétosztása során tartsuk azokat 2-8 °C-on. A továbbiakban – az angiotenzin-I bomlását vagy keletkezését megakadályozandó – kerüljük a mintákkal való manipulálást.

SZÁLLÍTOTT ANYAGOK

A reagensek a címkén található lejárati időig megőrzik stabilitásukat 2-8 °C között történő tároláskor. A reagensek hígítás utáni tárolási körülményeit lásd az Eljárás fejezetben. A csövek címkéjén jelzett lejárati idők a gyártó részére szolgáltatóknak információt az adott komponens hosszú távú eltarthatóságával kapcsolatban. Kérjük ezt az adatot ne vegyék figyelembe!

Anti-angiotenzin-I poliklonális ellenanyaggal fedett csövek: 2 x 50 cső (használatra készen)

¹²⁵I-jelölt angiotenzin-I: 1x 11 mL (használatra készen)

A cső 260 kBq ¹²⁵I-jelölt angiotenzin-I-et tartalmaz a gyártás napján BSA-t és festéket tartalmazó pufferben.

Kalibrátorok: 6 x 1 mL (használatra készen)

A kalibrátor csövek 0 – kb. 30 ng/mL angiotenzin-I-et tartalmaznak BSA-t és nátrium-azidot tartalmazó (<0,1%) pufferben. A pontos koncentrációt minden üvegen feltüntettük. A kalibrátorokat az RP 86/536 nemzetközi standardjával szemben kalibráltuk.

Kontrol szérum: 1 x 1mL (használatra készen)

A cső angiotenzin-I-et tartalmaz BSA-t és nátrium-azidot tartalmazó pufferben (<0,1%). A pontos koncentrációk a mellékletben szerepelnek.

Enzim-inhibitor: 1 ampulla (líofozálta)

Ez is nátrium-azidot tartalmaz (<0,1%).

Mosó oldat (20x): 1 x 50 mL-es cső

Koncentrált oldat, melyet használat előtt hígítani kell.

SZÜKSÉGES, DE NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK

A standard laboratóriumi felszerelésen kívül az alábbiak szükségesek:

- precíziós mikropipetta (75 µL, 100 µL).
- állítható diszpenzerek (200 µL, 300 µL; 2 mL).
- vízfürdő
- jeges fürdő
- Vortex keverő
- horizontális vagy orbitális rázó.
- leszívó rendszer.
- ¹²⁵I mérésére alkalmas gamma számláló

ELJÁRÁS

A reagensek előkészítése

Az enzim-inhibitor oldat elkészítése

A csöveken lévő mennyiségű 4 °C-os desztillált vízzel oldjuk fel a mintákat. Ezután 2-8 °C-on tároljuk azokat a kit lejárati idejéig.

A mosóoldat elkészítése

Öntsük az üveg tartalmát 950 mL desztillált vízbe és jól keverjük össze. A hígított oldat 2-8 °C-on tartva a kit lejárati idejéig használható.

Enzimmatikus lépés – az angiotenzin-I előállítás

Megjegyzések és javaslatok

- Az enzimgátlót hűtsük le 4 °C-ra használat előtt.
- Szigorúan tartsuk be az inkubálási hőmérsékleteket (4 °C és 37 °C). Kis eltérések is komoly mérési hibákat eredményezhetnek.
- Amilyen pontosan csak lehet, állapítsuk meg a 37 °C-os enzimmatikus inkubálás idejét, és a továbbiakban szorosan tartsuk azt be.
- A 4 °C-ról 37 °C-ra való melegítés és a visszahűtés ideje kritikus. Melegítéshez keverő vízfürdőt, hűtéshez jeges vízfürdőt használjunk.
- A jó hővezetésű anyagok gyorsíthatják a melegítés és hűtés sebességét (pl. üveg).
- Ha a plazmában alacsony renin aktivitást várunk, az enzimmatikus lépés inkubálási idejét megnövelhetjük 3 óráig is.

Enzimmatikus lépés menete

Figyelem : Ne kezeljük a kalibrátorokat vagy a kontrol mintákat.

- Adjunk 200 µL elő-hűtött enzim inhibitor 200 µL plazma mintához és keverjük össze.
- Minden mintát osszunk két 200 µL-es egységre.
- Helyezzük az első hűtőszekrényben lévő jéghideg vízfürdőbe (a háttér angiotenzin-I tartalom meghatározásához).
- Helyezzük a második 37 °C-os vízfürdőbe (a keletkező angiotenzin-I meghatározásához).
- 1 óráig inkubáljuk a mintákat.
- Ezután gyorsan hűtsük le a mintákat 4 °C-ra jeges vízfürdővel.

A vizsgálat menete

1. lépés Bemérés*	2. lépés Inkubáció	3. lépés Aktivitásmérés
Adjunk az ellenanyag-fedett csövekhez 75 µL kalibrátort, kontrollt vagy mintát a 37 °C-os enzimmatikus inkubálás és a 4 °C-os inkubálás után és 100 µL tracet.**	Inkubáljuk 2 órán át 18-25 °C-on rázatás mellett (>280 rpm).	Szívjuk le óvatosan a csövek tartalmát (kivéve a totál esemény/perc-hez tartozó csöveket). Mosunk 2 mL mosóoldattal őket, majd ezt is távolítsuk el. Szívjuk kétszer. Számláljuk 1 órán át az aktivitás (esemény/perc) meghatározásához.
Keverje össze.		

*A kalibrátorokat, kontrolok és analizálandó mintákat hűtsük 4 °C-ra pipettázás előtt. Gyengéden keverjük össze azokat pipettázás előtt.

**Adjon 100 µL tracet a 2 következő csőhöz a «total esemény/perc» méréséhez.

EREDMÉNYEK

Az eredményeket a standard görbe interpolálásával kapjuk meg. A standard görbe segítségével határozhatjuk meg a mintákban lévő angiotenzin-I koncentrációját egyazon mérésen belül használva azokat.

Standard görbe

A minőségellenőrzési osztály eredményeit kiszámították *súlyozott harmadfokú regressziós* görbe mentén történt, ahol a *B/T* vagy a *B/B₀* logit értéke a függőleges tengelyen, a kalibrátorok analitikoncentrációjának (ng/mL) logaritmus pedig a vízszintes tengelyen található.

Más adat redukciós eljárások kissé eltérő eredményeket adhatnak.

Total aktivitás 68 511 esemény/perc				
Kalibrátorok	angiotenzin-I (ng/mL)	esemény/perc (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

(A standard görbe csak minta, számíthatóhoz nem használható)

Minták

Minden 4 °C-on vagy 37 °C-on inkubált mintához vagy kontrolhoz rögzítsük a B/T vagy B/B0 arányt. a függőleges tengelyen, és olvassuk le a hozzá tartozó angiotenzin-I koncentráció-értéket a vízszintes tengelyen (ng/mL).

A plazma renin aktivitásának számítása

A plazma renin aktivitásának számításához az egy óra alatt in vitro keletkezett angiotenzin-I (A-I) mérésével jutunk indirekt módon. A 4 °C-on inkubált mintákból meghatározott háttér A-I értékét levonjuk a 37 °C-on inkubált mintákban keletkezett A-I értékből. A PRA meghatározásához a következő egyenletet használjuk:

$$\text{PRA (ng A-I/mL/óra)} = \frac{[A-I(37\text{ °C}) - A-I(4\text{ °C})] * 2}{\text{enzimes inkubálás ideje (óra)}}$$

Ahol:

A-I(37 °C) = az angiotenzin-I koncentrációja ng/mL-ben a 37 °C-on inkubált mintáknál;

A-I(4 °C) = az angiotenzin-I koncentrációja ng/mL-ben a 4 °C-on inkubált mintáknál.

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

Javasoljuk minden labornak, hogy határozzák meg saját normál értéküket. A következő PRA értékek csak példák:

N	Egészséges felnőttek	2.5 - 97.5 percentil (ng/mL/óra)	Középső (ng/mL/óra)	Min-Max (ng/mL/óra)
38	Fekvő testhelyzetben	0,32-1,84	0,79	0,30-1,90
41	Álló testhelyzetben	0,60-4,18	2,20	0,48-4,88

A gyermekkori (életkor és nem szeribnti) várt értékekre vonatkozó részletes információ a metodikai leírás „APPENDIX” fejezetében található.

MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

A megfelelő laboratóriumi eljárásokat (GLP) szabályozó követelmények szerint időről időre kontrol mintákkal kell ellenőrizni, hogy az eredmények megfelelőek-e. A kontrol mintákat pontosan a vizsgálati mintáknak megfelelő módon kell előkészíteni és lemérni. Ajánlatos az eredményeket megfelelő statisztikai módszerekkel kiértékelni.

Amennyiben a csomagolás sérült, vagy az adatok a kit teljesítőképességének romlására utalnak, kérjük, hogy lépjen kapcsolatba országának Immunotech képviselőjével, vagy írjon a következő e-mail címre: imunochem@beckman.com

MINŐSÉGI JELLEMZŐK

(További részletek a Mellékletben)

A reprezentatív adatok kizárólag szemléltető jellegűek. A különálló laboratóriumok eredményei ettől eltérhetnek.

Érzékenység

Analitikai érzékenység: 0,07 ng/mL

Funkcionai érzékenység: 0,20 ng/mL

Specifitás

A kitben használt ellenanyag nagymértékben specifikus az angiotenzin-I-re. Nagyon kicsi kereszt-reaktivitás volt megfigyelhető az angiotenzin-II-vel.

Ezen felül a PRA eredményekre gyakorolt hatása a háttér kivonásával eliminálódott.

Pontosság

Intra-assay

A mintákat 25-szer mértük le egy szérián belül. A variációs koefficiens kisebb vagy egyenlő volt 11,3%-kal.

Inter-assay

A mintákat két-két párhuzamosan mértük meg 10 különböző szériából. A variációs koefficiens kisebb vagy egyenlő volt 20,9%-kal.

Valósság

Az enzimatikus inkubálás idejének hatása

A mintákat enzim-inhibitorokkal inkubáltuk 60, 120 és 180 percig. Nme volt szignifikáns hatása a PRA eredményekre.

Hígítási teszt

A plazma mintákat sorozatban kihígítottuk a zéró kalibrátordal. A visszanyerési százalék értékek 78% és 99% között ingadoztak.

Visszanyerési teszt

A plazma mintákhoz adtunk ismert mennyiségű angiotenzin-I-et. A visszanyerési százalék értékek 104% és 123% között ingadoztak.

Mérési tartomány (az analitikai érzékenység értékétől a legmagasabb kalibrátorig): 0,07 – kb. 30 ng/mL.

KORLÁTOZÁSOK

A jelen leírásban foglalt előírások be nem tartása jelentős mértékben befolyásolhatja az eredményeket.

Az eredmények a beteg teljes klinikai képének (klinikai anamnézis, egyéb vizsgálatok eredményei, más releváns információk) tükrében értelmezhetők.

Hemolizált, icterusos vagy lipémiás mintát ne használjanak.

Antitesteket tartalmazó tesztek esetén fennáll a páciens mintában esetleg meglévő heterofil antitestek interferenciájának lehetősége. Azok a páciensek, akik rendszeresen állatokkal érintkeznek vagy kezelés vagy diagnosztikus eljárás során immunglobulinokat vagy immunglobulin fragmenteket kaptak, antitestek (pl. HAMA) termeléssel reagálhatnak, melyek az immunoassay-vel interferálnak.

Ezek okozhatnak hibás eredményeket. Fokozott körültekintéssel értékelje az olyan páciensektől származó mintákat, akiknél valószínűsíthető, hogy ilyen antitestek vannak jelen.

Angiotensin I RIA KIT

REF IM3518

RADIOIMMUNOLOGICZNA METODA DO OZNACZANIA IN VITRO ANGIOTENSYNY I W LUDZKIM OSOCZU W CELU WYZNACZENIA OSOCZOWEJ AKTYWNOŚCI RENINOWEJ (ARO)

Do użytku diagnostycznego *in vitro*.

ZASADA

Angiotensyna I RIA służy do ilościowego oznaczenia aktywności reninowej osocza (ARO) z zastosowaniem metody radioimmunologicznej do oznaczenia produktu reakcji: angiotensyny I.

Wytwarzanie angiotensyny I jest rezultatem enzymatycznego rozszczepienia przez reninę substratu, którym jest angiotensynogen, w obecności inhibitora ACE (ACE – Enzym Konwertaza Angiotensyny) w próbkach osocza. Ten inhibitor blokuje konwersję angiotensyny I w angiotensynę II.

Immunologiczne oznaczanie angiotensyny I jest przeprowadzane przy zastosowaniu kompetycyjnego oznaczenia radioimmunologicznego. Nieznane próbki, kontrola i kalibratory są inkubowane w probówkach pokrytych poliklonalnym przeciwciałem z angiotensyną I znakowaną ¹²⁵J, jako znacznikiem. Po inkubacji płynna zawartość próbek jest odciągana, a próbki są przepłukiwane. Związana radioaktywność jest mierzona w liczniku gamma. Ustalona i nieznaną zawartość angiotensyny I odczytywana jest z krzywej standardowej.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Uwagi ogólne:

- Roztwór enzymatycznego inhibitora, kalibratory, próba kontrolna i analizowane próbki muszą być ochłodzone przed pipetowaniem do 2-8°C.
- Fiolki z kalibratorami i kontrolami nie powinny pozostawać otwarte przez czas dłuższy niż jest to konieczne aby uniknąć nadmiernego odparowania zawartości fiołki.
- Nie należy mieszać odczynników z różnych serii produkcyjnych.
- Krzywa standardowa musi być wykonana podczas każdego oznaczenia.
- Zalecane jest wykonywanie oznaczeń w duplikatach.
- Każda próbka może być użyta tylko raz.

Podstawowe zasady bezpieczeństwa podczas postępowania z promieniowaniem

Wejście w posiadanie, używanie, utylizacja i transfer materiałów radioaktywnych powinno być zgodne z prawem obowiązującym w danym kraju. Przestrzeganie podstawowych zasad bezpieczeństwa przy stosowaniu materiałów radioaktywnych powinno zapewnić odpowiednią ochronę:

- Nie jeść, nie pić, nie palić wyrobów tytoniowych, nie aplikować kosmetyków w obecności materiałów radioaktywnych.
- Nie pipetować radioaktywnych roztworów przy użyciu ust.
- Unikać wszelkiego kontaktu z materiałami radioaktywnymi poprzez stosowanie rękawic i ubrań ochronnych.
- Wszystkie czynności przy użyciu materiałów radioaktywnych powinny być wykonywane w przeznaczonym do tego celu miejscu, znajdującym się w odpowiedniej odległości od korytarzy i innych pomieszczeń.
- Materiały radioaktywne powinny być przechowywane w zabezpieczonym pojemniku.
- Należy zapisać datę przyjęcia radioaktywnych produktów, a czas ich przechowywania powinien być zgodny z odpowiednim terminem.
- Sprzęt laboratoryjny i naczynia, które uległy kontaminacji powinny być oddzielone od pozostałych, aby nie spowodować kontaminacji krzyżowej różnymi radioizotopami
- W sytuacji zanieczyszczenia radioizotopami i/lub zgubieniu radioaktywnego materiału powinno być powzięte postępowanie zgodne z prawem obowiązującym w kraju użytkownika.
- Radioaktywne odpady powinny być przechowywane zgodnie z przepisami obowiązującymi w kraju użytkownika.




Azydek sodu


Niektóre odczynniki zawierają azydek sodu jako środek konserwujący. Azydek sodu wchodzi w reakcje z ołowiem, miedzią lub mosiądzem, tworząc związki wybuchowe. W związku z tym odczynniki zawierające azydek sodu powinny być rozcieńczane dużą ilością wody przed wylaniem ich do kanalizacji.

Materiały pochodzące od człowieka

Wszystkie osocza należy tak traktować jakby były materiałem do zakażenia hepatitis lub AIDS, a niszczenie odpadów powinno być przeprowadzone zgodnie z przepisami obowiązującymi w kraju użytkownika.

KLASYFIKACJA ZAGROZEŃ WG GHS

Tracer	UWAGA	
		
H317		Może powodować reakcję alergiczną skóry.
H412		Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.
P273		Unikać uwolnienia do środowiska.
P280		Stosować rękawice ochronne, odzież ochronną i ochronę oczu/ochronę twarzy.
P333+P313		W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
P362+P364		Zdjąć zanieczyszczoną odzież i wyprać przed ponownym użyciem. masa poreakcyjna: 5-chloro-2-metylo-4-izotiazolin-3-onu [nr WE 247-500-7] i 2-metylo-4-izotiazolin-3-onu [nr WE 220-239-6] (3:1) < 0,05%
Inhibitor	NIEBEZPIECZEŃSTWO	
		
		
H317		Może powodować reakcję alergiczną skóry.
H360		Może działać szkodliwie na płodność lub na dziecko w łonie matki.
P201		Przed użyciem zapoznać się ze specjalnymi środkami ostrożności.
P280		Stosować rękawice ochronne, odzież ochronną i ochronę oczu/ochronę twarzy.
P308+P313		W przypadku narażenia lub styczenia: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
P333+P313		W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
P362+P364		Zdjąć zanieczyszczoną odzież i wyprać przed ponownym użyciem.

		8-hydroksychinolina 0,1 - 0,2%
Wash Solution (20X)	NIEBEZPIECZEŃSTWO	
		
H360		Może działać szkodliwie na płodność lub na dziecko w łonie matki.
P201		Przed użyciem zapoznać się ze specjalnymi środkami ostrożności.
P280		Stosować rękawice ochronne, odzież ochronną i ochronę oczu/ochronę twarzy.
P308+P313		W przypadku narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. Kwas borowy 0,1 - 0,3% Dziesięciowodny boran sodu 0,1 - 0,3%

SDS Karta charakterystyki jest dostępna w witrynie techdocs.beckmancoulter.com

ZBIERANIE PRÓB, PRZYGOTOWYWANIE, ROZCIĘCZANIE I PRZECHOWYWANIE

- Osocze musi być zbierane do zimnych probówek z EDTA.
- Oddzielić osocze od komórek poprzez wirowanie w 2-8°C.
- Jeżeli oznaczanie będzie przeprowadzone później próbki osocza odpowiednio rozdozowane, powinny być zamrożone (<-20°C, najdłużej 1 rok), aby nie powtarzać rozmrażania i zamrażania tej samej próbki.

Uwaga: Podczas pobierania próbek temperatura osocza musi być utrzymywana w zakresie 2-8°C, w celu uniknięcia zmian w strukturze angiotensyny I.

MATERIAŁY DOSTARCZONE

Wszystkie odczynniki zestawu są stabilne zgodnie z datą ich ważności umieszczoną na opakowaniu, pod warunkiem przechowywania ich w temperaturze 2-8°C. Warunki do przechowywania odczynników po odtworzeniu lub rozcieńczeniu są podane w paragrafie Procedura. Daty ważności są wydrukowane tylko na etykietach fiolek z przedłużonym okresem przechowywania składników przez producenta. Nie należy brać ich pod uwagę.

Probówki pokryte przeciwciałem poliklonalnym przeciw angiotensynie I: 2 x 50 probówek (gotowy do użycia)

Angiotensyna I znakowana ¹²⁵J: jedna fiołka 11 mL (gotowy do użycia)

Fiołka zawiera mniej niż 260 kBq, w dniu produkcji, angiotensyny I znakowanej ¹²⁵J w buforze zawierającym albuminę bydlęcej surowicy i barwnik.

Kalibratory: sześć 1 mL fiolek (gotowy do użycia)

Fiolki ze kalibratorami zawierają od 0 do około 30 ng/mL angiotensyny I w buforze zawierającym albuminę bydlęcej surowicy i azydek sodu (<0,1%). Właściwe stężenia są podane na etykietce znajdującej się na każdej fiołce. Kalibratory były wykalibrowane w stosunku do RP 86/536.

Surowica kontrolna: jedna 1 mL fiołka (gotowy do użycia)

Fiolki zawierają angiotensynę I w buforze zawierającym albuminę bydlęcej surowicy i azydek sodu (<0,1%). Oczekiwany zakres stężeń podano w dodatku.

Enzymatyczny inhibitor: jedna fiołka (лиофилizat)

On też zawiera azydek sodu (<0,1%).

Płyn do płukania (20x): jedna 50 mL fiołka

Koncentrat musi być rozcieńczony przed użyciem.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZANE

Poza standardowym wyposażeniem laboratorium wymagane są następujące urządzenia:

- Dokładna mikropipeta (75 µL, 100 µL).
- Nastawny dozownik (200 µL, 300 µL; 2 mL)
- Łaźnia wodna (37°C)
- Łaźnia lodowa
- Mieszadło wirowe („vortex“).
- Pozioma lub orbitalna wyrząsarka.
- System odciągający.
- Licznik gamma do ¹²⁵J.

PROCEDURA

Przygotowanie i przechowywanie odczynników

Przygotowanie roztworu inhibitora enzymatycznego

Zawartość probówki odtwórz w objętości zimnej wody destylowanej (4°C) podanej na etykietce i zamieszaj. Odtworzony enzymatyczny inhibitor może być przechowywany w 2-8°C zgodnie z datą ważności zestawu.

Przygotowanie roztworu do płukania

Umieścić zawartość fiołki w 950 mL wody destylowanej i zamieszać. Płyn może być przechowywany w 2-8°C, zgodnie z datą ważności zestawu.

Etap enzymatyczny – tworzenie angiotensyny I

Uwagi i zalecenia

- Enzymatyczny inhibitor musi być schłodzony do 4°C przed dodaniem do próby.
- Obie temperatury inkubacji (4°C i 37°C) muszą być dokładnie przestrzegane, ponieważ nawet minimalne odchylenie może spowodować poważne błędy w oznaczaniu.
- Czas enzymatycznej inkubacji w 37°C powinien być ustawiony tak precyzyjnie, jak tylko jest to możliwe i utrzymywany dla wszystkich probówek zestawu.
- Ograniczenia wzrostu temperatur z 4°C do 37°C i następstwa tego odwrócenia są elementem krytycznym. Łaźnia z cyrkulującą wodą jest odpowiednia do ogrzania, a użycie wodnej łaźni chłodzonej lodem jest wskazane do chłodzenia.
- Ograniczenie wzrostu i spadku temperatury może być lepsze przy zastosowaniu probówek z materiału dobrze przewodzącego (szkło).
- Jeżeli oczekiwana jest niska aktywność reninowa próbek, to czas inkubacji z enzymem może być przedłużony do 3 godzin.

Enzymatyczny etap – oznaczenie

Uwaga: Nie stosuj kalibratorów i prób kontrolnych

- Dodać 200 µL ochłodzonego enzymatycznego inhibitora do 200 µL każdej próbki osocza i zamieszać.
- Rozdzielić każdą próbkę na dwie porcje po 200 µL.
- Umieścić pierwszą porcję w łaźni lodowej w lodówce (w celu oznaczenia tła angiotensyny I w 4°C).
- Umieścić drugą porcję w łaźni wodnej na 37°C (w celu oznaczenia powstawania angiotensyny I w 37°C).
- Inkubuj wszystkie próby 1 godzinę.
- Po inkubacji ozięb próby z 37°C szybko w wodnej łaźni lodowej.

Procedura oznaczane immunologicznego

Etap 1 Dodawanie*	Etap 2 Inkubacja	Etap 3 Zliczanie
Do próbek pokrytych przeciwciałem dodaj kolejno: 75 µL kalibrator, kontrola, próbka po inkubacji enzymatycznej w 37°C i w 4°C odpowiednio i 100 µL znacznika.** Zamieszać.	Inkubować 2 godziny w 18-25°C z wytrząsaniem (>280 rpm).	Odciągnąć ostrożnie zawartość próbek (z wyjątkiem 2 próbek „całkowite cpm”). Przeplukać 2 mL roztworu do płukania i odessać dwukrotnie. Zliczać aktywność (cpm) przez 1 min.

*Kalibratory, kontrola i analizowane próbki muszą być ochłodzone do 4°C przed pipetowaniem. Zamieszać próbki delikatnie przed dodaniem.

**Dodać 100 µL znacznika do 2 dodatkowych próbek żeby uzyskać «całkowite cpm».

WYNIKI

Wyniki należy odczytać z krzywej standardowej. Krzywa standardowa służy do oznaczania stężenia angiotensyny I w próbkach mierzonych w tym samym czasie co kalibratory.

Krzywa standardowa

Wyniki w dziale kontroli jakości zostały obliczone przy użyciu krzywej *ważona reguła szesnastkowa* dopasowania z *B/T* lub *B/B₀* na logit osi pionowej i stężeniem analitu kalibratorów na logarytmicznej osi poziomej (ng/mL).

Zastosowanie innych metod do opracowania danych może dać nieco inne wyniki.

Całkowita aktywność: 68 511 cpm				
Kalibratory	Angiotensyna 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

(Przykładowe wartości do krzywej wzorcowej, nie do zastosowania)

Próbki

Dla kontroli i próbek inkubowanych w 4°C lub 37°C odnajdź B/T lub B/B₀ na osi pionowej i odczytaj odpowiadające tej wartości stężenie angiotensyny I w ng/mL znajdujące się na osi poziomej.

. Obliczanie aktywności reninowej osocza

Oznaczanie aktywności reninowej osocza jest mierzone pośrednio poprzez wytwarzanie in vitro angiotensyny I (A-I) w ciągu godziny. W celu obliczenia ARO tło A-I oznaczane w próbkach osocza inkubowanych w 4°C jest odejmowane od zawartości A-I wytwarzanej w próbkach inkubowanych w 37°C. Użyj następującego równania:

$$[A-I (37^\circ C) - A-I (4^\circ C)] \times 2$$

$$PRA [(ng A-I/mL)/hod] =$$

$$\frac{\text{Czas enzymatycznej inkubacji (godz.)}}{\text{Czas enzymatycznej inkubacji (godz.)}}$$

Gdzie

A-I (37°C): stężenie angiotensyny w ng/mL w próbce inkubowanej w 37°C

A-I (4°C): stężenie angiotensyny w ng/mL w próbce inkubowanej w 4°C

OCZEKIWANE WARTOŚCI

Doradzamy w każdym laboratorium ustalić własną wartość normalną. Wartości ARO przedstawione poniżej są jedynie wskazówką.

N	Przeciętna osoba dorosła	2.5 ty - 97.5 ty percentyl (ng/mL/g)	Median (ng/mL/g)	Min-Max (ng/mL/g)
38	Wczesne rano, pozycja leżąca	0,32-1,84	0,79	0,30-1,90
41	Pozycja stojąca, po 2 godz	0,60-4,18	2,20	0,48-4,88

Szczegółowe informacje dotyczące oczekiwanych wartości u dzieci (wg wieku) można znaleźć w dodatku z danymi "APPENDIX".

KONTROLA JAKOŚCI

Dobrze funkcjonujące laboratorium dla swej wiarygodności stosuje regularnie wewnętrzną kontrolę jakości otrzymanych wyników. Te próbki muszą być przygotowywane i oznaczane zgodnie z procedurą. Ich przydatność do oceny każdego zestawu będzie właściwa przy zastosowaniu odpowiedniej analizy statystycznej.

W przypadku uszkodzenia paczki lub jeżeli opracowanie otrzymanych wyników sprawia trudności proszę się kontaktować z miejscowym dystrybutorem lub pod adresem E-mail: imunochem@beckman.com

CHARAKTERYSTYKA TESTU

(Po więcej wiadomości zajrzyj do zestawu danych w "DODATKU")

Reprezentatywne dane są przedstawiane tylko do celów ilustracyjnych. Uzyskiwane parametry mogą się różnić w zależności od laboratoriów.

Czułość

Analalityczna czułość: 0,07 ng/mL

Funkcjonalna czułość: 0,20 ng/mL

Specyficzność

Przeciwciała użyte w zestawie ma wysoką specyficzność w stosunku do angiotensyny I. Niezwykle niską reaktywność krzyżową otrzymano w stosunku do angiotensyny II.

Co więcej wyeliminowano możliwość otrzymania zaburzonych wyników ARO poprzez odjęcie tła.

Precyzja

Wewnątrz zestawu

Próbki z tej samej serii były oznaczane 25 razy. Współczynniki wariancji były poniżej lub równały się wartości do 11,3% dla próbek surowicy.

Między oznaczeniami

Próbki były oznaczane w duplikatach w 10 różnych seriach. Współczynniki wariancji były poniżej lub równały się wartości do 20,9%.

Kontrola dokładności

Zależność od czasu inkubacji

Próby były inkubowane z enzymatycznym inhibitorem przez 60, 120 i 180 minut. Nie znaleziono znaczącego wpływu na wyniki oznaczeń ARO.

Test rozcieńczania

Próbki osocza były seryjnie rozcieńczane kalibratorem zero. Otrzymany procent odzysku był między 78% a 99%.

Test odzysku

Próbki o niskim stężeniu były dodawane do próbek o znanej zawartości angiotensyny I. Otrzymany procent odzysku był między 104% a 123%.

Zakres pomiarowy (od czułości analitycznej testu do stężenia najwyższego kalibratora): 0.07 do około 30 ng/mL.

OGRANICZENIA

Niestosowanie się do instrukcji załączonej do zestawu może znacznie wpływać na wyniki.

Wyniki powinny być interpretowane w świetle całkowitego obrazu klinicznego pacjenta, włączając historię choroby, dane z innych testów i inne stosowne informacje.

Nie używać zhemolizowanych, żółtaczkowych i lipemicznych próbek.

W przypadku oznaczeń z wykorzystaniem przeciwciał istnieje możliwość zakłóceń spowodowanych przez obce przeciwciała w próbce pacjenta. Pacjenci, którzy byli regularnie wystawieni na kontakt ze zwierzętami lub byli poddawani immunoterapii lub zabiegom diagnostycznym z użyciem immunoglobulin lub fragmentów immunoglobulin, mogą wytworzyć przeciwciała (np. HAMA) zakłócające wyniki oznaczeń immunologicznych.

Takie przeciwciała zakłócające mogą prowadzić do uzyskania błędnych wyników. Należy starannie przeanalizować wyniki u pacjentów z podejrzeniem obecności tych przeciwciał.

Angiotensin I RIA KIT

REF IM3518

IN VITRO STANOVENÍ PLAZMATICKÉ RENINOVÉ AKTIVITY (PRA) PROSTŘEDNICTVÍM RADIOIMUNOANALYTICKÉHO STANOVENÍ ANGIOTENSINU I V LIDSKÉ PLAZMĚ Pro diagnostické účely *in vitro*.

PRINCIP

Souprava Angiotensin I RIA je určena pro stanovení plazmatické reninové aktivity (PRA) - s pomocí radioimunoanalytického stanovení produktu této reakce – angiotensinu I.

Angiotensin I se tvoří ve vzorcích plazmy enzymatickým štěpením angiotensinogenu, katalyzovaným reninem, a to za přítomnosti inhibitoru ACE (angiotensin-konvertujícího enzymu), blokujícího konverzi angiotensinu I na angiotensin II.

Radioimunoanalytické stanovení angiotensinu I je kompetitivní stanovení. Neznámé vzorky, kontrolní vzorky a kalibrátory se spolu s ¹²⁵I-značeným angiotensinem I inkubují ve zkumavkách potažených polyklonálními protilátkami proti angiotensinu I. Po inkubaci se obsah zkumavek odsaje, promyje a navázaná aktivita se změní gama-čítačem. Sestrojí se kalibrační křivka a z ní se odečtou koncentrace angiotensinu I v neznámých vzorcích.

VAROVÁNÍ A OPATŘENÍ

Obecné poznámky:

- Roztok inhibitoru enzymu, kalibrátory, kontrolní vzorek a analyzované vzorky musí být před pipetací vychlazené na teplotu 2-8 °C.
- Lahvičky s kalibrátory a kontrolními vzorky by měly být otevřené co nejkratší dobu, aby nedošlo k nežádoucímu odpaření roztoku.
- Nemíchejte substance ze souprav různých šarží.
- Pro každou novou sérii analýz je nutné provést novou kalibraci.
- Doporučuje se imunoanalytické stanovení provádět v duplikátech.
- Každá zkumavka může být použita jen jednou.

Základní pravidla radiační bezpečnosti

Tento radioaktivní materiál mohou přijímat, skladovat a používat pouze pracoviště, která splňují platné zákonné předpisy upravující podmínky pro bezpečné nakládání s otevřenými radionuklidovými zařízeními. Při práci s radioaktivními látkami dodržujte následující pravidla:

- Všechny radioaktivní látky musí být skladovány v původním balení a jen na místech k tomu určených.
- Příjem a spotřeba radioaktivních látek musí být evidována.
- Práce s radioaktivními látkami musí být prováděny pouze ve vyhrazených prostorách.
- Pipetování nesmí být prováděno ústy.
- V laboratořích určených k práci s radioaktivními látkami je zakázáno jíst, pít, kouřit, líčit se a pod.
- Obalový materiál, který není kontaminován, je možno odložit do běžného odpadu pouze po odstranění varovných nápisů a značek.
- Povrch pracovních stolů, který by mohl být kontaminován, je třeba pravidelně kontrolovat. Všechno laboratorní sklo, které bylo použito pro práci s radioaktivními látkami, musí být řádně dekontaminováno a proměřeno před dalším použitím.
- V případě kontaminace nebo úniku radioaktivního materiálu postupujte podle stanovených předpisů.
- Radioaktivní odpad likvidujte v souladu s platnými zákony a předpisy.

Azid sodný

Některé substance jsou konzervovány azidem sodným. Azid sodný může reagovat s olovem, mědí nebo mosazí za vzniku příslušných výbušných azidů. Proto likvidované reagentie splachujte velkým množstvím vody.

Materiál lidského původu

Se všemi vzorky plazmy musí být manipulováno jako s potenciálně infekčními (hepatitis, nebo AIDS). Veškerý vzniklý odpad je třeba likvidovat podle platných předpisů.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Tracer

VAROVÁNÍ



H317

Může vyvolat alergickou kožní reakci.

H412

Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky.

P273

Zabraňte uvolnění do životního prostředí.

P280

Používejte ochranné rukavice, ochranný oděv a ochranné brýle/obličejový štít.

P333+P313

Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

P362+P364

Kontaminované části oděvu svlékněte a před použitím vyperte.

reakční směs:
5-chlor-2-methylisothiazol-3(2H)-on [číslo ES 247-500-7] a 2-methylisothiazol-3(2H)-on [číslo ES 220-239-6] (3:1) < 0,05 %

Inhibitor

NEBEZPEČÍ



H317

Může vyvolat alergickou kožní reakci.

H360

Může poškodit reprodukční schopnost nebo plod v těle matky.

P201

Před použitím si obstarejte speciální instrukce.

P280

Používejte ochranné rukavice, ochranný oděv a ochranné brýle/obličejový štít.

P308+P313

PŘI expozici nebo podezření na ni: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

P333+P313

Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

P362+P364

Kontaminované části oděvu svlékněte a před použitím vyperte.

8-hydroxychinolin 0,1 - 0,2 %

Wash Solution (20X)

NEBEZPEČÍ



H360

Může poškodit reprodukční schopnost nebo plod v těle matky.

P201

Před použitím si obstarejte speciální instrukce.

P280

Používejte ochranné rukavice, ochranný oděv a ochranné brýle/obličejový štít.

P308+P313

PŘI expozici nebo podezření na ni: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

Kyselina boritá 0,1 - 0,3 %
Boritan sodný, dekahydrát
0,1 - 0,3 %



Bezpečnostní list je k dispozici na adrese
techdocs.beckmancoulter.com

SBĚR A PŘÍPRAVA, SKLADOVÁNÍ A ŘEDĚNÍ VZORKŮ

- Odběry krve musí být prováděny do vychlazených zkumavek obsahujících EDTA.
- Centrifugací při 2-8 °C oddělte od buněk frakci plazmy.
- Pokud není stanovení provedeno ihned, je nutno uchovávat vzorky plazmy zmrazené (při <-20 °C, maximálně 1 rok), nejlépe v alikvotech. Je třeba se vyvarovat opakovaného zmrazování vzorků.

Poznámka: Po odběru a během dalších manipulací se vzorky nesmí teplota stoupnout nad 2-8 °C, aby se zabránilo veškerým enzymatickým pochodům ovlivňujícím genuzi i degradaci angiotensinu I.

POSKYTNUTÉ MATERIÁLY

Všechny reagenty v soupravě jsou stabilní do data expirace, uvedeného na štítku krabice, jestliže jsou skladovány při 2-8 °C. Skladovací podmínky pro reagenty po rekonstituci nebo ředění jsou uvedeny v kapitole Postup. Data expirací uvedená na štítcích jednotlivých složek se vztahují pouze k dlouhodobému skladování u výrobce před kompletací souprav. Neberte na ně tedy, prosím, ohled.

Zkumavky potažené polyklonální protilátkou proti angiotensinu I: 2 x 50 zkumavek (připraveny k použití)

Angiotensin I, značený ¹²⁵I: 1 lahvička (11 ml); připravena k použití.

Lahvička obsahuje ke dni výroby 260 kBq ¹²⁵I značeného angiotensinu I v tlumivém roztoku s hovězím sérovým albuminem a barvivem.

Kalibrátory: 6 lahviček po 1 ml (připraveny k použití)

Lahvičky obsahují angiotensin I v tlumivém roztoku s hovězím sérovým albuminem a azidem sodným (<0,1 %), koncentrační rozmezí je od 0 do přibližně 30 ng/ml. Přesné hodnoty koncentrací jsou uvedeny na štítcích lahviček. Kalibrátory jsou kalibrovány na RP 86/536.

Kontrolní vzorek: 1 lahvička (1 ml); připravená k použití.

Lahvička obsahuje Angiotensin I v tlumivém roztoku s hovězím sérovým albuminem a azidem sodným (<0,1 %). Koncentrační rozmezí očekávaných hodnot je uvedeno v příloze návodu.

Inhibitor enzymu: 1 lahvička; lyofilizát.

Obsahuje azid sodný (<0,1 %).

Promývací roztok 20x: 1 lahvička 50 ml

Koncentrovaný roztok musí být před použitím zředěn.

VYŽADOVANÉ, ALE NEPOSKYTNUTÉ MATERIÁLY

Kromě obvyklého laboratorního zařízení je pro analýzu potřebné následující vybavení:

- přesná mikropipeta (75 µl a 100 µl),
- nastavitelný opakovací dávkovač (200 µl, 300 µl; 2 ml),
- vodní lázeň,
- ledová lázeň,
- vibrační míchadlo
- horizontální nebo orbitální třepačka
- vývěva
- gama-čítač, kalibrován na ¹²⁵I

POSTUP

Příprava a skladování reagentů

Příprava roztoku inhibitoru enzymu

Obsah lahvičky se rozpustí v destilované vodě, vychlazené na (4 °C), potřebný objem je uveden na štítku lahvičky. Rozpuštěný inhibitor enzymu může být skladován při teplotě 2-8 °C do data expirace soupravy.

Příprava promývacího roztoku

Obsah lahvičky přidejte k 950 ml destilované vody a promíchejte. Zředěný roztok může být skladován při 2-8 °C do data expirace soupravy.

Enzymatický krok – tvorba angiotensinu I

Poznámky a doporučení

- Je bezpodmínečně nutné, aby roztok inhibitoru enzymu byl vychlazen na 4 °C před přidáním k analyzovanému vzorku.
- Teploty ledové lázně (4 °C) i vodní lázně (37 °C) musí být přesně dodrženy. Odchyly od nich mohou způsobovat značné chyby stanovení.
- Stanovení doby, po kterou je vzorek udržován na teplotě 37 °C, musí být co nejpřesnější a pro jednotlivé zkumavky by se tato doba měla lišit co nejméně.
- Rozhodujícím krokem je zahřátí vzorku na 37 °C, resp. jeho ochlazení zpět na 4 °C, které musí být co nejrychlejší. K tomuto účelu je pro ohřívání nevhodnější vířivá vodní lázeň, pro ochlazování ledová lázeň.
- Rychlost prohřátí a ochlazení vlastního vzorku může být zvýšena použitím zkumavek zhotovených z materiálu s dobrou tepelnou vodivostí (sklo).
- Při předpokládaných nízkých hodnotách plazmatické reninové aktivity je možné dobu inkubace enzymatického kroku prodloužit až na 3 hodiny.

Enzymatický krok – postup

Upozornění: Kalibrátory a kontrolní vzorek neobsahují renin, v enzymatickém kroku se proto nepoužijí.

- K 200 µl analyzované plazmy přidejte 200 µl vychlazeného inhibitoru enzymu a promíchejte.
- Každý vzorek rozdělte do dvou alikvotů po 200 µl.
- Jeden alikvot umístěte do ledové lázně a ledničky (pro stanovení pozadí angiotensinu I při 4 °C),
- druhý umístěte do vodní lázně nastavené na 37 °C (pro stanovení generovaného angiotensinu při 37 °C).
- Inkubujte alikvoty po dobu jedné hodiny
- Po inkubaci vzorky ohřáté na 37 °C okamžitě ochlaďte na teplotu 4 °C. Ochlazení musí být co nejrychlejší (nejlépe ponořením do ledové lázně).

Schéma postupu imunoanalytického stanovení

Krok 1 Pipetace*	Krok 2 Inkubace	Krok 3 Měření
Do potažených zkumavek postupně přidejte: 75 µl kalibrátoru, kontrolního nebo neznámého vzorku (preinkubovaného při 37 °C a při 4 °C) a 100 µl radioindikátoru.** Promíchejte.	Inkubujte 2 hodiny při 18-25 °C za stálého třepání (>280 kmitů/min).	Odsajte pečlivě obsah zkumavek (s výjimkou 2 zkumavek pro stanovení celkové aktivity T). Promyjte 2 ml promývacího roztoku a dvakrát odsajte. Měřte četnosti (cpm) ve všech zkumavkách po dobu 1 minuty.

*Kalibrátory, kontrolní vzorek a analyzované vzorky musí být před pipetací vychlazené na teplotu 4 °C. Vzorky před pipetací lehce protřepajte.

**Napipetujte po 100 µl radioindikátoru do 2 zkumavek pro zjištění celkové aktivity (T).

VÝSLEDKY

Výsledky se získají interpolací z kalibrační křivky, která slouží pouze pro analýzu těch vzorků, které byly inkubovány společně s kalibrátory.

Kalibrační křivka

Výsledky v oddělení kontroly kvality byly vypočteny za použití křivky *vážené kubické regrese* s parametrem B/T nebo B/B_0 na svislé logit ose a koncentraci analytu kalibrátorů na vodorovné logaritmické ose (ng/ml).

Jiné metody zpracování mohou dávat mírně rozdílné výsledky.

Celková aktivita: 68 511 cpm				
Kalibrátory	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

(Příklad typického stanovení, nepoužívejte pro výpočet.)

Vzorky

Najděte pro každý kontrolní vzorek nebo neznámý vzorek, inkubovaný při enzymatickém kroku při 37 °C nebo 4 °C, hodnoty B/T nebo B/B₀ na ose y a odečtěte odpovídající koncentraci angiotensinu I na ose x.

Výpočet plazmatické reninové aktivity

Stanovení PRA se provádí nepřímo stanovením množství "in vitro" generovaného angiotensinu I (A-I) za hodinu. Plazmatická reninová aktivita se vypočítá podle následující rovnice, v níž se od generovaného angiotensinu při 37° odečítá se vypočítá hodnota pozadí, stanovená z alikvoty inkubovaného při 4 °C.

$$\text{PRA [(ng A-I/ml)/hod]} = \frac{[A-I (37\text{ }^{\circ}\text{C}) - A-I (4\text{ }^{\circ}\text{C})] \times 2}{\text{doba inkubace v enzymatickém kroku (hod)}}$$

Kde

A-I (37 °C) - koncentrace angiotensinu ve vzorku po preinkubaci při 37 °C (ng/ml)

A-I (4 °C) - koncentrace angiotensinu ve vzorku po preinkubaci při 4 °C (ng/ml)

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Každá laboratoř by si měla stanovit své vlastní normální hodnoty. Uvedené hodnoty jsou pouze orientační:

N	Normální dospělí	2,5 – 97,5 percentil (ng/ml/h)	Median (ng/ml/h)	Min-Max (ng/ml/h)
38	Časně ráno, ležící	0,32-1,84	0,79	0,30-1,90
41	Stojící, 2 hodiny	0,60-4,18	2,20	0,48-4,88

Detailní informace o očekávaných hodnotách dětských vzorků (seřazených podle věku) jsou uvedeny v příloze "APPENDIX"

KONTROLA KVALITY

Správná laboratorní praxe předpokládá řádné a pravidelné používání kontrolních vzorků, aby mohla být zajištěna kontrola kvality stanovených výsledků. Kontrolní vzorky musí být stanoveny naprosto stejným způsobem jako neznámé vzorky a k vyhodnocení výsledků se mají použít vhodné statistické metody.

V případě závažného poškození obalu, nebo jestliže získané výsledky nejsou ve shodě s analytickými parametry stanovení, kontaktujte prosím naše odborné pracovníky. E-mail: imunochem@beckman.com

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

(Podrobnosti jsou uvedeny v příloze "APPENDIX")

Vzorová data slouží pouze k ilustrativním účelům. Výsledky získané v jednotlivých laboratořích se mohou lišit.

Citlivost

Analytická citlivost: 0,07 ng/ml

Funkční citlivost: 0,20 ng/ml

Specifita

Použitá protilátka je specifická pro angiotensin I. S angiotensinem II byla nalezena extrémně nízká zkřížená reakce.

Většina případných interferencí ve vzorku je navíc eliminována tím, že se při výpočtu PRA odečítají hodnoty pozadí.

Přesnost

Intra-assay

Vzorky byly analyzovány 25x v jednom stanovení. Nalezené hodnoty variačních koeficientů nepřesáhly 11,3 %.

Inter-assay

Vzorky byly stanoveny v duplikátech v 10 různých stanoveních. Nalezené hodnoty variačních koeficientů nepřesáhly 20,9 %.

Správnost

Závislost na délce enzymatické inkubace

Byla zjišťována závislost PRA na době tvorby angiotensinu I, která byla 60, 120 a 180 minut. Zjištěné výsledky PRA se nijak významně nelišily.

Test ředění

Vzorky plazmy byly postupně ředěny nulovým kalibrátorem. Procento recovery se pohybovalo mezi 78 % a 99 %.

Test „recovery“

Různá známá množství angiotensinu I byla přidávána ke vzorkům plazmy, vzorky pak byly analyzovány. Procento recovery se pohybovalo mezi 104 % a 123 %.

Rozsah stanovení (od analytické citlivosti do nejvyššího kalibrátoru): 0,07 do přibližně 30 ng/ml.

OMEZENÍ

Nedodržení instrukcí uvedených v tomto návodu může vést k nesprávným výsledkům.

Výsledky stanovení by měly být interpretovány ve světle celkového klinického obrazu pacienta včetně anamnézy, údajů z dalších testů a jiných vhodných informací.

Nepoužívejte hemolyzované, ikterické ani lipemické vzorky.

U stanovení využívajících protilátky existuje možnost interference heterofilních protilátek přítomných v patientském vzorku. Pacienti, kteří byli pravidelně ve styku se zvířaty nebo podstoupili imunoterapii nebo diagnostické procedury využívající imunoglobuliny nebo fragmenty imunoglobulinů, mohou produkovat protilátky jako například HAMA (Human Anti-Mouse Antibodies - lidské protilátky proti myším proteinům), které interferují při imunologických stanoveních.

Takové interferující protilátky mohou vést k chybným výsledkům. Výsledky pacientů, u nichž existuje podezření na přítomnost takovýchto protilátek, posuzujte s opatrností.

Angiotensin I RIA KIT

REF IM3518

IN VITRO STANOVENIE PLAZMATICKEJ RENÍNOVEJ AKTIVITY (PRA) CEZ RÁDIOIMUNOANALYTICKÉ STANOVENIE ANGIOTENZÍNU I V ĽUDSKEJ PLAZME Na *in vitro* diagnostické použitie.

PRINCÍP

Súprava Angiotensin I RIA je určená na stanovenie plazmatickej renínovej aktivity (PRA) pomocou rádioimunoanalytického stanovenia produktu tejto reakcie – angiotenzínu I.

Angiotenzín I sa vytvára vo vzorkách plazmy enzymatickým štiepením angiotenzinogénu katalyzovaným renínom za prítomnosti inhibítora ACE (angiotenzín-konvertujúceho enzýmu), ktorý blokuje konverziu angiotenzínu I na angiotenzín II.

Rádioimunoanalytické stanovenie angiotenzínu I je kompetitívne stanovenie. Neznáme vzorky, kontrolné vzorky a kalibrátory sa spolu s ¹²⁵I-označeným angiotenzínom I inkubujú v skúmavkách potiahnutých polyklonálnymi protilátkami proti angiotenzínu I. Po inkubácii sa obsah skúmaviek odsaje, premyje a naviazaná aktivita sa zmeria gama-meračom. Zostrojí sa kalibračná krivka a z nej sa odčítajú koncentrácie angiotenzínu I v neznámych vzorkách.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

Obecné poznámky:

- Roztok inhibítora enzýmu, štandardy, kontrolná vzorka a analyzované vzorky sa musia pred pipetovaním vychladiť na teplotu 2-8 °C.
- Fľaštičky s kalibrátormi a kontrolnými vzorkami môžu byť otvorené čo najkratšiu dobu, aby nedošlo k nežiaducemu odpareniu roztoku.
- Nemiešajte substancie zo súprav rôznych šarží.
- Ku každému radu stanovení je treba vždy stanoviť novú kalibračnú závislosť.
- Doporučuje sa robiť imunoanalytické stanovenie v duplikátoch.
- Skúmavky sú iba na jedno použitie.

Základné pravidlá radiačnej bezpečnosti

Táto súprava obsahuje rádioaktívny materiál, ktorý môžu prijímať, skladovať a používať iba pracovníci, ktorí spĺňajú platné zákonné predpisy upravujúce podmienky pre bezpečné nakladanie s otvorenými rádionuklidovými žiaričmi. Pri práci s rádioaktívnymi látkami dodržujte nasledujúce pravidlá:

- Všetky rádioaktívne látky sa musia skladovať v pôvodnom balení a iba na miestach k tomu určených.
- Nesmie sa pipetovať ústami.
- Príjem a spotreba rádioaktívnych látok musia byť evidované.
- Práce s rádioaktívnymi látkami sa musia robiť iba vo vyhradených priestoroch.
- V laboratóriách určených na prácu s rádioaktívnymi látkami je zakázané jesť, piť, fajčiť, líčiť sa a pod.
- Obalový materiál, ktorý nie je kontaminovaný, možno odložiť do bežného odpadu až po odstránení výstražných nápisov a značiek.
- Povrch pracovných stolov, ktorý by mohol byť kontaminovaný, treba pravidelne kontrolovať.
- V prípade kontaminácie alebo úniku rádioaktívneho materiálu postupujte podľa stanovených predpisov.
- Rádioaktívny odpad likvidujte v súlade s platnými zákonmi a predpismi.

Azid sodný

Niektoré substancie sú konzervované azidom sodným. Azid sodný môže reagovať s olovom, meďou alebo mosadzou za vzniku príslušných výbušných azidov. Preto likvidované reagentie splachujte veľkým množstvom vody.

Materiál ľudského pôvodu

So všetkými vzorkami plazmy sa musí manipulovať ako s potenciálne infekčnými (hepatitis alebo AIDS). Všetok vzniknutý odpad treba likvidovať podľa platných predpisov.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Tracer

POZOR



H317

Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu.

H412

Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami.

P273

Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia.

P280

Noste ochranné rukavice, ochranný odev a ochranné okuliare/ochranu tváre.

P333+P313

Ak sa objaví podráždenie kože alebo vyrážky: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

P362+P364

Všetky kontaminované časti odevu vyzlečte a pred použitím vyperte.

reakčná zmes
zložená z týchto látok:
5-chlór-2-metyl-4-izotiazolín-3-ón
[ES č. 247-500-7] a
2-metyl-4-izotiazolín-3-ón
[ES č. 220-239-6] (3:1)
< 0,05 %

Inhibitor

NEBEZPEČENSTVO



H317

Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu.

H360

Môže poškodiť plodnosť alebo nenarodené dieťa.

P201

Pred použitím sa oboznáňte s osobitnými pokynmi.

P280

Noste ochranné rukavice, ochranný odev a ochranné okuliare/ochranu tváre.

P308+P313

Po expozícii alebo podozrení z nej: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

P333+P313

Ak sa objaví podráždenie kože alebo vyrážky: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

P362+P364

Všetky kontaminované časti odevu vyzlečte a pred použitím vyperte.

8-hydroxychinolín 0,1 - 0,2 %

Wash Solution (20X)

NEBEZPEČENSTVO



H360

Môže poškodiť plodnosť alebo nenarodené dieťa.

P201

Pred použitím sa oboznáňte s osobitnými pokynmi.

P280

Noste ochranné rukavice, ochranný odev a ochranné okuliare/ochranu tváre.

P308+P313

Po expozícii alebo podozrení z nej: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

Kyselina boritá 0,1 - 0,3 %
Dekahydrát boritanu sodného 0,1 - 0,3 %

ZBER A PRÍPRAVA, SKLADOVANIE A RIEDENIE VZORIEK

- Odbery krvi sa musia robiť do vychladených skúmaviek obsahujúcich EDTA.
- Centrifugáciou pri 2-8 °C oddelíte od buniek frakciu plazmy.
- Ak sa stanovenie neurobí ihneď, vzorky plazmy treba uchovávať zmrazené (pri <-20 °C, maximálne 1 rok), najlepšie v alikvótoch. Treba sa vyhnúť opakovanému zmrazovaniu vzoriek.

Poznámka: Po odbere a počas ďalších manipulácií so vzorkami nesmie teplota stúpnuť nad 2-8 °C, aby sa zabránilo všetkým enzymatickým pochodom, ktoré ovplyvňujú genézu a degradáciu angiotenzínu I.

POSKYTOVANÝ MATERIÁL

Všetky reagenty v súprave sú stabilné do dátumu expirácie uvedeného na štítku krabice, ak sú skladované pri 2-8 °C. Skladovacie podmienky pre reagenty po rekonštitúcii alebo riedení sú uvedené v kapitole Postup. Dátumy expirácií uvedené na štítkoch jednotlivých zložiek sa vzťahujú iba na dlhodobé skladovanie u výrobcu pred kompletizáciou súprav. Neberte na ne, prosím, ohľad.

Skúmavky potiahnuté polyklónálnou protilátkou proti angiotenzínu I: 2 x 50 skúmaviek (pripravené na použitie)

Angiotenzín I, označený ¹²⁵I: 1 fľaštička (11 ml); pripravená na použitie.

Fľaštička obsahuje ku dňu výroby 260 kBq ¹²⁵I označeného angiotenzínu I v tmivom roztoku s hovädzím sérovým albumínom a farbivom.

Kalibrátory: 6 fľaštičiek (po 1 ml); pripravené na použitie.

Fľaštičky obsahujú angiotenzín I v tmivom roztoku s hovädzím sérovým albumínom a azidom sodným (<0,1 %), koncentračný rozsah je od 0 do približne 30 ng/ml. Presné hodnoty koncentrácií sú uvedené na štítkoch fľaštičiek. Kalibrátory sú kalibrované na RP 86/536.

Kontrolná vzorka: 1 fľaštička (1 ml); pripravená na použitie.

Fľaštička obsahuje Angiotenzín I v tmivom roztoku s hovädzím sérovým albumínom a azidom sodným (<0,1 %). Koncentračný rozsah očakávaných hodnôt je uvedený v prílohe Návod.

Inhibitor enzýmu: 1 fľaštička; lyofilizát.

Obsahuje azid sodný (<0,1 %).

Premývací roztok (20x): 1 fľaštička (50 ml).

Koncentrovaný roztok sa musí pred použitím zriediť.

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ SA NEPOSKYTUJE

Okrem obvyklého laboratórneho zariadenia je pre analýzu potrebné nasledujúce vybavenie:

- presná mikropipeta (75 µl a 100 µl),
- nastaviteľný opakovací dávkovač (200 µl, 300 µl; 2 ml),
- vodný kúpeľ,
- ľadový kúpeľ,
- vibračné miešadlo
- horizontálna alebo orbitálna trepačka
- výveva
- gama-merač kalibrovaný na ¹²⁵I

POSTUP

Príprava a skladovanie reagentí

Príprava roztoku inhibítora enzýmu

Obsah fľaštičky sa rozpustí v destilovanej vode vychladenej na 4 °C, potrebný objem je uvedený na štítku fľaštičky. Rozpustený inhibítora enzýmu sa môže skladovať pri teplote 2-8 °C do dátumu expirácie súpravy.

Príprava premývacieho roztoku

Obsah fľaštičky pridajte k 950 ml destilovanej vody a premiešajte. Zriedený roztok sa môže skladovať pri 2-8 °C do dátumu expirácie súpravy.

Enzymatický krok – tvorba angiotenzínu I

Poznámky a doporučenia

- Je bezpodmienečne nutné, aby bol roztok inhibítora enzýmu vychladený na 4 °C pred pridaním k analyzovanej vzorke.
- Teploty ľadového kúpeľa (4 °C) i vodného kúpeľa (37 °C) sa musia presne dodržať. Odchýlky od nich môžu spôsobovať značné chyby stanovenia.
- Stanovenie doby, počas ktorej sa vzorka udržiava pri teplote 37 °C, musí byť čo najpresnejšie a pre jednotlivé skúmavky by sa mala líšiť čo najmenej.
- Rozhodujúcim krokom je zahriatie vzorky na 37 °C, resp. jej ochladenie späť na 4 °C, ktoré musí byť čo najrýchlejšie. Na tento účel je pre zahrievanie najvhodnejší vírivý vodný kúpeľ a pre ochladzovanie ľadový kúpeľ.
- Rýchlosť zahriatia a ochladenia vlastnej vzorky sa môže zvýšiť použitím skúmaviek zhotovených z materiálu s dobrou tepelnou vodivosťou (sklo).
- Pri predpokladaných nízkych hodnotách plazmatickej renínovej aktivity je možné dobu inkubácie enzymatického kroku predĺžiť až na 3 hodiny.

Enzymatický krok – postup

Upozornenie: Kalibrátory a kontrolná vzorka neobsahujú renín, v enzymatickom kroku sa preto nepoužívajú.

- K 200 µl analyzovanej plazmy pridajte 200 µl vychladeného inhibítora enzýmu a premiešajte.
- Každú vzorku rozdeľte do dvoch alikvótov po 200 µl.
- Jeden alikvót dajte do ľadového kúpeľa a chladničky (na stanovenie pozadia angiotenzínu I pri 4 °C),
- druhý dajte do vodného kúpeľa nastaveného na 37 °C (na stanovenie generovaného angiotenzínu pri 37 °C).
- Inkubujte alikvóty jednu hodinu.
- Po inkubácii vzorky zohriate na 37 °C okamžite ochladte na teplotu 4 °C. Ochladenie musí byť čo najrýchlejšie (najlepšie ponorením do ľadového kúpeľa).

Schéma postupu imunoanalytického stanovenia

Krok 1 Pipetácia*	Krok 2 Inkubácia	Krok 3 Meranie
Do potiahnutých skúmaviek postupne pridajte: 75 µl kalibrátora, kontrolnej alebo neznámej vzorky (preinkubovanej pri 37 °C a pri 4 °C) a 100 µl rádioindikátora.** Premiešajte.	Inkubujte 2 hodiny pri 18-25 °C za stáleho trepania (>280 kmitov/min).	Odsajte pozorne obsah skúmaviek (s výnimkou 2 skúmaviek na stanovenie celkovej aktivity T). Premeňte 2 ml premývacieho roztoku a dvakrát odsajte. Merajte početnosti (cpm) vo všetkých skúmavkách po dobu 1 minúty.

*Štandardy, kontrolná vzorka a analyzované vzorky musia byť pred pipetovaním vychladené na teplotu 4 °C. Vzorky pred pipetovaním ľahko pretrepte.

**Napietajte po 100 µl rádioindikátora do 2 skúmaviek pre zistenie celkovej aktivity (T).

VÝSLEDKY

Výsledky sa získajú interpoláciou z kalibračnej krivky, ktorá slúži iba pre analýzu tých vzoriek, ktoré boli inkubované spoločne s kalibrátormi.

Kalibračná krivka

Výsledky v oddelení kontroly kvality boli vypočítané preložením krivky metódou *vážennej kubickéj regresii*. Na logit vertikálnu os sa vynesli hodnoty *B/T alebo B/B₀* a na logaritmicú horizontálnu os koncentrácie analytu v kalibrátoroch (ng/ml).

Iné metódy spracovania môžu dávať mierne rozdielne výsledky.

Celková aktivita: 68 511 cpm				
Kalibrátory	Angiotenzín 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

(Príklad typického stanovenia, nepoužívajte pre výpočet.)

Vzorky

Najdite pre každú kontrolnú vzorku alebo neznámu vzorku, inkubovanú pri enzymatickom kroku pri 37 °C alebo 4 °C, hodnoty B/T alebo B/B₀ na osi y a odčítajte odpovedajúce koncentrácie angiotenzínu I na osi x.

Výpočet plazmatickej renínovej aktivity

Stanovenie PRA sa robí nepriamo stanovením množstva "in vitro" generovaného angiotenzínu I (A-I) za hodinu. Plazmatická renínová aktivita sa vypočíta podľa nasledujúcej rovnice, v ktorej sa od hodnoty generovaného angiotenzínu pri 37° odpočíta hodnota pozadia, stanovená z alikvótu inkubovaného pri 4 °C.

$$\text{PRA [(ng A-I/ml)/hod]} = \frac{[\text{A-I (37 °C)} - \text{A-I (4 °C)}] \times 2}{\text{doba inkubácie v enzymatickom kroku (hod)}}$$

kde:

A-I (37 °C) - koncentrácia angiotenzínu vo vzorke po preinkubácii pri 37 °C (ng/ml)

A-I (4 °C) - koncentrácia angiotenzínu vo vzorke po preinkubácii pri 4 °C (ng/ml)

OČAKÁVANÉ HODNOTY

Každé laboratórium by si malo stanoviť svoje vlastné normálne hodnoty. Uvedené hodnoty sú iba orientačné:

N	Normální dospelí	2,5 – 97,5 percentil (ng/ml/h)	Medián (ng/ml/h)	Min-Max (ng/ml/h)
38	Časne ráno, ležiaci	0,32-1,84	0,79	0,30-1,90
41	Stojací, 2 hodiny	0,60-4,18	2,20	0,48-4,88

Detailné informácie o očakávaných hodnotách detských vzoriek (zorađených podľa veku) sú uvedené v prílohe "APPENDIX"

KONTROLA KVALITY

Správna laboratórna prax predpokladá riadne a pravidelné používanie kontrolných vzoriek, aby mohla byť zaistená kontrola kvality stanovených výsledkov. Kontrolné vzorky sa musia stanovovať úplne rovnakým spôsobom ako neznáme vzorky a na vyhodnotenie výsledkov sa majú použiť vhodné štatistické metódy.

V prípade závažného poškodenia obalu, alebo ak získané výsledky nie sú v zhode s analytickými parametrami stanovenia, kontaktujte prosím našich odborných pracovníkov. E-mail: imunochem@beckman.com

VÝKONNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

(podrobnosti sú uvedené v prílohe "APPENDIX")

Vzorové dáta slúžia iba k informačným účelom. Výsledky získané v jednotlivých laboratóriách sa môžu líšiť.

Citlivosť

Analytická citlivosť: 0,07 ng/ml

Funkčná citlivosť: 0,20 ng/ml

Špecifita

Použitá protilátka je špecifická pre angiotenzín I. S angiotenzínom II sa našla extrémne nízka skrížená reakcia.

Väčšina prípadných interferencií vo vzorke je navyiac liminovaná tým, že sa pri výpočte PRA odpočítavajú hodnoty pozadia.

Presnosť

Intra-assay

Vzorky boli analyzované 25x v jednom stanovení. Nájdené hodnoty variačných koeficientov nepresiahli 11,3 %.

Inter-assay

Vzorky boli stanovené v duplikátoch v 10 rôznych stanoveniach. Nájdené hodnoty variačných koeficientov nepresiahli 20,9 %.

Správnosť

Závislosť na dĺžke enzymatickej inkubácie

Zisťovala sa závislosť PRA na dobe tvorby angiotenzínu I, ktorá bola 60, 120 a 180 minút. Zistené výsledky PRA sa nijako významne nelíšili.

Test riedenia

Vzorky plazmy sa postupne riedili nulovým kalibrátorom. Percento recovery sa pohybovalo medzi 78 % a 99 %.

Test „recovery“

Rôzne známe množstvá angiotenzínu I sa pridávali k vzorkám plazmy, vzorky sa potom analyzovali. Percento recovery sa pohybovalo medzi 104 % a 123 %.

Rozsah merania (od analytickej citlivosti po najvyšší kalibrátor): 0,07 do približne 30 ng/ml.

OBMEDZENIA

Nedodržanie inštrukcií uvedených v tomto návode môže viesť k nesprávnym výsledkom.

Výsledky stanovení by mali byť interpretované v súlade s celkovým klinickým obrazom pacienta vrátane anamnézy, údajov z ďalších testov a iných vhodných informácií.

Nepoužívajte hemolyzované, ikterické ani lipemické vzorky.

Pri stanoveniach využívajúcich protilátky existuje možnosť interferencie heterofilných protilátok prítomných v patientskej vzorke. Pacienti, ktorí pravidelne prichádzali do kontaktu so zvieratami alebo užívali imunoterapiu, prípadne podstúpili diagnostické procedúry využívajúce imunoglobulíny alebo fragmenty imunoglobulínov, môžu produkovať protilátky, napríklad ľudské protilátky proti myším proteínom (HAMA), ktoré interferujú pri imunologických stanoveniach.

Také interferujúce protilátky môžu mať za následok chybné výsledky. Výsledky pacientov, u ktorých existuje podozrenie na prítomnosť takýchto protilátok, posudzujte s opatrnosťou.

Angiotensin I RIA KIT

REF IM3518

사람 혈청과의 PLASMA RENIN ACTIVITY(PRA)의 시험관 내 측정을 위한 방사선 면역 측정법 체의 진단용으로 사용됩니다.

원리

Angiotensin I RIA는 방사면역측정법을 통해 plasma rennin activity(PRA)의 정량을 측정한다.

Angiotensin I세대는 ACE 억제자(ACE-Angiotensin-Converting Enzyme) 존재하에 혈청검체의 레닌물질, angiotensinogen의 효소적 분해의 산물이다.

Angiotensin I의 면역 측정법은 경쟁적 결합 측정법이다. 미지의 검체, 정도 관리용액, 표준용액은 ¹²⁵I표지 Angiotensin 1의 다클론성 항체로 피복된 코티드 튜브 내에서 배양된다. 배양 후, 튜브내의 내용물은 조심스럽게 흡입되고 튜브는 세척된다. 그런 후 결합 방사능이 감마 카운터로 측정된다. 표준 곡선이 작성되어 표준곡선으로부터의 내삽에 의해 미지값이 측정되어진다.

경고 및 주의 사항

일반적인 주의

- 효소 억제 용액, 표준액, 정도관리 용액과 분석용 용액은 분주 전 2-8°C에 냉장보관 되어야 한다.
- 표준액과 정도관리용액은 증발을 막기 위해 가능한 짧게 개봉해야 한다.
- 상이한 lot의 kit들을 서로 섞지 않는다.
- 각 측정마다 새로운 표준 곡선이 필요하다.
- 2번의 반복 측정이 권장된다.
- 각 튜브는 반드시 한번씩만 사용해야 한다.

방사선 안전에 대한 기본 규칙

방사성 물질의 구입, 소유와 양도는 사용되는 국가의 규제에 따른다. 기본 규칙에 대한 업수는 충분한 보호를 제공한다.

- 방사성 물질이 있는 장소에서는 취식, 음주, 흡연과 화장을 하지 않도록 한다.
- 방사성 용액을 입으로 pipetting 하지 않도록 한다.
- 장갑과 실험복을 착용하여 방사성 물질에 대한 모든 접촉을 피하여라.
- 방사성 물질의 모든 조작은 복도와 다른 바쁜 장소에서 적절한 장소, 거리에서 수행되어야 한다.
- 방사성 물질은 지정된 장소 내에서 제공되는 용기에 보관되어야만 한다.
- 모든 방사성 제품의 수령과 저장에 대한 기록은 최신정보로 갱신하여야 한다.
- 오염이 되기 쉬운 실험실 장비와 유리제품은 다른 종류의 방사성 동위원소와의 교차오염의 예방을 위해 분리 보관되어야 한다.
- 모든 경우의 방사성 오염이나 방사성 물질의 분실은 규정된 절차에 의해 해결되어야만 한다
- 방사성 폐기물은 사용되는 국가에서 규정한 규제에 따라 처리되어야만 한다.


아지드화 나트륨

어떤 시약은 방부제로서 아지드화 나트륨을 포함하고 있다. 아지드화 나트륨은 납, 구리, 황동과 폭발성 요오드화 금속의 형태를 띠는 반응을 일으킬 수 있다. 시약은 많은 양의 물로 씻어내어 배관계통을 통해 처분하라.




사람 기원 물질

모든 혈액 검체는 간염이나 AIDS를 전염시키는 것으로 취급하고 폐기물은 국가 규정에 따라 폐기한다.

GHS 유해물질 등급

Tracer	경고	
		
H317	알레르기 피부 반응을 일으킬 수 있음.	
H412	장기적인 효과에 의해 수생생물에게 유해함.	

P273	환경으로 배출하지 마십시오.
P280	보호용 장갑, 보호용 의류 및 눈/안면 보호장구를 착용하십시오.
P333+P313	피부 자극 또는 홍반이 발생한 경우: 의학적 조언/관리를 받으십시오.
P362+P364	오염된 의복을 벗고 사용 전에 세탁하십시오. 반응 질량: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC# 247-500-7] 및 2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC# 220-239-6](3:1) < 0.05 %

Inhibitor	위험		
			
H317	알레르기 피부 반응을 일으킬 수 있음.		
H360	생식능력이나 태아에 손상을 일으킬 수 있음.		
P201	사용 전 취급 설명서를 확보하십시오.		
P280	보호용 장갑, 보호용 의류 및 눈/안면 보호장구를 착용하십시오.		
P308+P313	노출되었거나 노출이 우려되는 경우: 의학적인 조언/주의를 받으십시오.		
P333+P313	피부 자극 또는 홍반이 발생한 경우: 의학적 조언/관리를 받으십시오.		
P362+P364	오염된 의복을 벗고 사용 전에 세탁하십시오. 8-하이드록시퀴놀린 0.1 - 0.2 %		
Wash Solution (20X)	위험		
H360	생식능력이나 태아에 손상을 일으킬 수 있음.		
P201	사용 전 취급 설명서를 확보하십시오.		
P280	보호용 장갑, 보호용 의류 및 눈/안면 보호장구를 착용하십시오.		
P308+P313	노출되었거나 노출이 우려되는 경우: 의학적인 조언/주의를 받으십시오. 붕산 0.1 - 0.3 % 붕산 나트륨 10수화물 0.1 - 0.3 %		

SDS 안전보건자료는 techdocs.beckmancoulter.com에서 확인할 수 있습니다

표본 채집, 처리, 보관 및 회석

- 혈장검체는 차가운 EDTA시험관에 수집한다.
 - 2~8°C에서 원심 침전법에 의해 세포에서 혈장을 분리한다.
 - 측정이 즉시 이루어지지 않는다면 혈장검체를 냉해동의 반복을 피하기 위해 분배해서 -20°C (최대 1년) 에서 냉동 보관시킨다.
- 주의: 혈장을 추출할때는 2~8°C가 유지되어야한다. Angiotensin I 이 생성되거나 분해되는 것을 막기위해 더 많은 조작은 삼가한다.

제공되는 품목

Kit 내의 모든 시약은 2~8°C에 저장하면 Kit label에 표기된 유효기간까지 안정하다. 재구성 후 희석 후의 시약 저장 조건은 검사 절차에 명시되어 있다. 구성 바이알에 표기된 온도와 유효기간은 제조사를 위한 표기이니, 참고하지 마십시오.

항 Angiotensin 1 다중클론 항체로 피복된 시험관 : 2x 50 tubes (즉시사용 가능)

¹²⁵I 표지 Angiotensin I : vial(11mL) 1개(즉시사용가능)

제조당시 한 개의 vial 내에는 소혈청 알부민 과 염색제를 포함한 완충액 내에 ¹²⁵I 표지 Angiotensin I 260kBq을 담고 있다.

표준액: vial(1mL) 6개 (즉시사용가능)

Vial은 소 혈청 알부민과 아지드화 나트륨(<0.1%) 과 함께 0에서 대략 30ng/mL의 Angiotensin I을 포함하고 있다. 정확한 농도는 각각의 vial에 표기되어 있다. 표준액은 RP86/536에 의해 교정됐다.

정도관리용액: vial(1mL) 1개(즉시사용가능)

Vial은 소혈청 알부민, 아지드화 나트륨(<0.1%)을 포함한 완충액 내에 ¹²⁵I 표지 Angiotensin 1을 포함하고 있다. 기댓값은 보충자료에 표시된 농도 범위 안에 있다.

효소 억제제: 1 vial (동결건조된 상태)

아지드화 나트륨 (<0.1%)을 함유하고 있다.

세척 용액(20x): 50Ml vial 1개

농축되어 있는 용액은 사용하기 전에 희석해야 한다.

필요하지만 제공되지 않는 품목

표준적인 실험실 기기에 부가하여 아래의 항목들이 요구된다.

- 정밀 micropipet (75 µL; 100 µL)
- 조절가능한 dispensers (200 µL; 300 µL; 2 mL)
- water bath
- ice bath
- Vortex형 믹서
- 수평 케도형 shaker
- 흡입용 system
- ¹²⁵I를 위한 gamma counter

절차

시약의 준비

효소 억제용액 준비

vial의 내용물은 vial label에 표기된 양만큼 차가운 증류수로 재구성 한다. 재구성한 용액은 2-8°C에서 유효기간까지 보관한다.

세척액 준비

vial을 950Ml의 증류수와 혼합하고 균질화 한다. 이 용액은 유효기간까지 2-8°C에 저장한다.

효소적 단계 - angiotensin 1 세대

주의 및 추천

- 효소 억제제는 검체에 첨가하기 전에 4°C에서 보관해야 한다.
- 4°C와 37°C의 반응 온도는 엄격하게 지켜야 한다. 작은 변화도 측정 결과에 많은 영향을 끼치게 된다.
- 37°C의 효소 반응 온도는 최대한 정확히 유지되어야 하며 시험관 전체
- 4°C에서 37°C로의 즉시 기온상승과 반대로의 기온하강은 매우 중요하다. 순환 water bath는 따뜻하게 하는데 편리하며 iced cooled water bath는 차갑게 하는 데에 적합하다.
- 온도의 즉시 상승과 하강은 전도력이 좋은 물질로 만든 시험관(유리)을 쓰면 개선된다.
- 만약 검체의 혈장 레닌 활동성이 낮길 바란다면 효소 단계의 반응 시간을 3시간까지 연장한다.

효소 단계 - 과정

주의: 표준액과 정도관리용액은 사용하지 않는다.

- 미리 냉장해놓은 효소 억제제 200µl와 각 혈장 검체 200µl를 혼합한다.
- 각 검체를 200µl씩 분리한다.
- 첫 번째 분리한 것은 ice-cold water bath에 넣고 냉장고에 보관한다.(4°C에서 숨어있는 angiotensin을 측정하기 위함)

- 두 번째 분리한 것은 37°C에 맞게 water bath에 한 시간 동안 놓아둔다.(37°C에서 생성된 angiotensin I을 측정하기 위함)
- 둘 다 1시간동안 반응시킨다.
- 반응 후, ice water bath를 사용하여 37°C의 검체를 4°C로 급속히 식힌다.

측정순서

1단계 첨가*	2단계 배양	3단계 계수
항체 피복시험관에 차례로 첨가: 75µL의 표준액, 정도관리용액, 37°C와 4°C에서 번갈아 효소 반응을 마친 검체 100µL tracer** 혼합한다.	18~25°C에서 2시간, 280rpm으로 shaking하며 incubation한다.	각 시험관의 내용물을 조심스럽게 흡입한다.(총cpm시험관 제외) 2mL의 세척액으로 세척한다. 1분동안 cpm 측정한다.

*표준액, 정도관리용액과 처리된 검체는 피펫팅 하기전에 4°C로 되야한다. 첨가되기전에 부드럽게 검체를 혼합한다.

**총 cpm을 얻기 위한 2개의 시험관에 tracer 100µl를 첨가한다.

결과

결과값은 내삽(interpolation)에 의한 표준곡선으로부터 구해진다. 곡선은 표준용액과 동시에 측정된 검체 내 Angiotensin 1 농도의 결정에 이용된다.

표준곡선

정도관리 부서의 결과는 대수 세로 축에 B/T 또는 B/B₀이 있고 대수 가로 축에 고정물질의 분석물 농도(ng/mL)가 있는 **가중 일방 회귀** 곡선 맞춤을 사용하여 산출되었습니다.

다른 데이터의 공제 방법은 다른 결과값을 보여줄 수 있다.

Total activity : 68,511 cpm				
표준용액	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

(표준곡선의 예, 결과값에는 적용하지 마십시오.)

검체

4°C나 37°C 배양한 정도관리용액과 검체를 위해서 표준곡선의 수직축상에 B/T나 B/B₀를 위치시키고, ng/mL로 나타낸 수평축상에서 검체의 Angiotensin 1 농도를 읽어낸다.

혈장 레닌 활동성(PRA) 계산법

혈장 레닌 활동성(PRA) 측정은 Angiotensin 1의 시간당 체내 세대에 의해 직접적으로 이루어진다. 4°C에서 배양한 혈장 검체를 측정된 background A-1은 다음과 같은 공식을 사용해서 PRA 계산을 위해 37°C의 A-1 세대를 추출한다.

$$[A-I (37°C) - A-I (4°C)] \times 2$$

PRA ng of A-I / mL/hr =

$$\frac{\text{Enzymatic incubation time (hrs)}}{\text{Enzymatic incubation time (hrs)}}$$

여기서

A-I (37°C): 37°C에서 배양한 검체의 ng/mL의 angiotensin 농도

A-I (4°C): 4°C에서 배양한 검체의 ng/mL의 angiotensin 농도

기대값

각 검사실마다 각자의 참고값을 설정하기를 권장한다. PRA 수치는 다음과 같다.

N	정상 성인	2.5 - 97.5 percentil (ng/mL/hr)	중앙 분리대 (ng/mL/hr)	Min-Max (ng/mL/hr)
38	거짓말, 이른 아침에	0.32-1.84	0.79	0.30-1.90
41	2 시간 서	0.60-4.18	2.20	0.48-4.88

소아의 기대 값에 대한 상세 정보(연령에 따라 분류됨)는 데이터 시트 "부록"에 나와 있습니다.

정도관리

좋은 실험 실습은 control 검체가 결과값의 질을 향상시켜주는데 이용되는 것을 내포한다. 검체들은 측정 검체와 같은 방법으로 처리되어야 하며 적절한 통계방법에 의해서 분석되어진 결과값이 권장된다.

면역포장에 이상이 있거나 결과값에 문제가 있으면, 공급업체나 다음의 메일로 연락주시기 바랍니다. imunochem@beckman.com

성능 특성

(더 자세한 사항은 "APPENDIX" 를 참고하세요.)

제시된 자료는 예시 참고용입니다. 각 실험실의 결과들은 다를 수 있습니다.

민감도

분석적 민감도: 0.07 ng/mL

기능적 민감도: 0.20 ng/mL

특이도

면역측정에 사용된 항체들은 Angiotensin 1에 매우 높은 특이성을 갖고 있다. Angiotensin II 의 교차반응은 매우 낮았다. 게다가, PRA 결과에 대한 방해 가능성의 영향은 background의 추출에 의해 제거된다.

정밀성

측정내

검체들은 같은 종류로 25번 측정된다. 변이계수는 11.3 %나 그 이하에서 보여진다.

측정간

검체들은 10가지의 다른 종류로 2번 반복 측정된다. 변이계수는 20.9 %나 그 이하에서 보여진다.

정확성

효소적 독립 배양 시간

검체들은 효소 억제제로 각 30분, 60분, 120분, 180분 동안 배양되었다. RPA 에는 어떠한 영향도 발견되지 않았다.

희석 검사

혈장 검체들은 zero standard로 연속적으로 희석되었다. 회수율 비율은 78~99 % 사이였다.

회수율 검사

혈장 검체들은 정량의 Angiotensin 1을 첨가하였다. 회수율 비율은 104~123 % 사이였다.

측정범위 (분석적 민감도부터 최고 표준농도까지) 0.07 에서 대략 30 ng/mL.

한계

이 사용설명서를 준수하지 아니하면 결과에 크게 영향을 미칠 것이다.

결과는 환자의 임상학적 가족력과 추가되는 실험이나 적절한 정보 등 모든 임상학적 자료를 통해 해석해야 한다.

응혈된 검체나 고지혈증, 황달이 있는 검체의 사용은 피한다.

본 검사에 사용되는 항체는 환자 검체의 헤테로필릭 항체의 간섭을 받을 수 있다. 정기적으로 동물에 노출되거나 면역치료 또는 항체를 생산할 수 있는 면역글로블린 (예: HAMMA)을 이용하는 진단 검사를 받은 환자는 면역검사에 간섭을 받을 수 있다.

이와 같이 간섭을 일으키는 항체는 잘못된 결과를 가져올 수 있습니다. 이러한 항체를 보유한 것으로 의심되는 환자의 결과를 주의해서 평가하십시오.



Angiotensin I RIA KIT

REF IM3518

İNSAN PLAZMASINDA PLAZMA RENİN AKTİVİTESİNİN (PRA) TESPİTİ İÇİN İN VİTRO RADIOİMMUNOASSAY TESTTİR

In vitro diagnostik kullanım içindir.

PRENSİP

Angiotensin I RIA, plazma renin aktivitesinin, anjiotensin I reaksiyon ürününün radyoaktivitesinin ölçümü yoluyla kantitatif tespitini sağlar.

Anjiotensin I'in oluşumu, plazma numunelerinde anjiotensin I'i anjiotensin II'ye dönüşümü bloke eden bir enzimatik inhibitör olan ACE inhibitör (ACE-Anjiotensin Konverting Enzim) varlığında renin substratı olan anjiotensinojenin bir enzimatik moleküler ayrılma sonucudur.

Anjiotensin I testi, radioimmünojenik bir deneydir. Bilinmeyen numuneler, kontrol ve kalibratörler, traser olarak 125I-işaretlenmiş anjiotensin I ile poliklonal antikor kaplanmış tüplerde inkübe edilirler. Inkübasyon sonrasında, tüp içeriği aspire edilir ve tüpler yıkanır. Daha sonra, bağlanmış radyoaktivite gamma sayacında okunur. Bir standard eğrisi oluşturulur ve bilinmeyen değerler, standard eğrisinden interpolasyon yoluyla elde edilir.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

Genel yorumlar:

- Pipetlemeden önce enzimatik inhibitör solüsyon, kalibratörler, kontrol numuneleri ve analiz edilecek numuneler 2-8°C'ye soğutulmalıdır.
- Kalibratör ve kontrol şişeleri, buharlaşmayı önlemek amacıyla mümkün olduğunca kısa süreli açık kalmalıdır.
- Farklı lotlardan kit reaktiflerini karıştırmayınız.
- Her deney için bir standard eğrisi dahil edilmelidir.
- Testi duplike olarak çalışmak önerilmektedir.
- Her tüp sadece bir kez kullanılmalıdır.

Radyasyon güvenliği için temel kurallar

Satınalma, sahip olma, kullanma ve radyoaktif materyalin taşınması, kullanılan ülkenin yönetmeliğine tabidir. Radyasyon güvenliğinin temel kurallarına bağlı kalınması, yeterli korumayı sağlayacaktır.

- Radyoaktif materyallerin bulunduğu ortamda yeme, içme, sigara içme, kozmetik uygulaması gibi faaliyetler gerçekleştirilmemelidir.
- Radyoaktif materyallerin pipetlemesi ağızla yapılmamalıdır.
- Eldiven ve laboratuvar kıyafetleri giyerek, radyoaktif materyallerle teması önleyiniz.
- Radyoaktif malzemelerle ilgili bütün işlemler, kalabalık ortamlar ve koridorlardan uzakta uygun bir ortamda gerçekleştirilmelidir.
- Radyoaktif materyaller, bu malzemeler için ayrılmış bir bölümde ve kapalı bir dolapta saklanmalıdır.
- Radyoaktif ürünlerin girişi ve saklanması ile ilgili bir kayıt güncel olarak tutulmalıdır.
- Kontaminasyona uğramış laboratuvar ekipmanları ve tüpler, farklı radyoizotopların çapraz kontaminasyonunu önlemek için ayrı tutulmalıdır.
- Her bir radyoaktif kontaminasyon veya radyoaktif malzeme kayıp vakası, belirlenen prosedürler izlenerek çözümlenmelidir.
- Radyoaktif atıklar, ülkenin kurallarına uyularak ele alınmalı ve yok edilmelidir.

Sodyum asit

Bazı reaktifler koruyucu olarak sodyum asit içermektedir. Sodyum asit, kurşun, bakır veya pirinç ile reaksiyona girebilir ve patlayıcı metal asitler oluşturabilir. Reaktiflerin, lavabo ve boru sisteminden bol su akıtılarak giderilmesi gerekmektedir.

İnsan kaynaklı materyal

Bütün plazma numuneleri, hepatitler ve AIDS'i geçirebilecek gibi işlem yapılmalıdır. Atıklar, ülkenin kurallarına göre yok edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tracer

UYARI



H317

Alerjik cilt reaksiyonlarına yol açabilir.

H412

Sucul ortamda uzun süre kalıcı, zararlı etki.

P273

Çevreye verilmesinden kaçının.

P280

Koruyucu eldiven, koruyucu kıyafet ve göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.

P333+P313

Cilt tahrişi veya kızarıklık oluşması halinde: Tıbbi yardım/müdahale alın.

P362+P364

Kirlenmiş giysinizi çıkarın ve kullanmadan önce su yıkayın.

reaksiyon kütleleri:
5-kloro-2-metil-4-izotiazolin-3-one [EC# 247-500-7] ve
2-metil-4-izotiazolin-3-one [EC# 220-239-6] (3:1) < %0,05

Inhibitor

TEHLİKE



H317

Alerjik cilt reaksiyonlarına yol açabilir.

H360

Doğmamış çocukta hasara yol açabilir veya üremeye zarar verebilir.

P201

Kullanmadan önce özel talimatları okuyun.

P280

Koruyucu eldiven, koruyucu kıyafet ve göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.

P308+P313

Maruz kalma veya bu durumdan endişe edilmesi HALİNDE: Tıbbi yardım/bakım alın.

P333+P313

Cilt tahrişi veya kızarıklık oluşması halinde: Tıbbi yardım/müdahale alın.

P362+P364

Kirlenmiş giysinizi çıkarın ve kullanmadan önce su yıkayın.

8-Hidroksikinolin 0,1 - %0,2

Wash Solution (20X)

TEHLİKE



H360

Doğmamış çocukta hasara yol açabilir veya üremeye zarar verebilir.

P201

Kullanmadan önce özel talimatları okuyun.

P280

Koruyucu eldiven, koruyucu kıyafet ve göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.

P308+P313

Maruz kalma veya bu durumdan endişe edilmesi HALİNDE: Tıbbi yardım/bakım alın.

Borik Asit 0,1 - %0,3

Sodyum Borat Dekahidrat 0,1 - %0,3

Enzimatik aşama – angiotensin I'in oluşturulması**Öneriler ve yorumlar**

- Numuneye eklenmeden önce enzimatik inhibitör 4°C'ye soğutulmalıdır.
- Her iki inkübasyon derecelerine katı bir şekilde uyulmalıdır (4°C and 37°C) çok az bir fark bile sonuçlarda çok büyük hataya neden olabilir.
- 37°C'deki enzimatik inkübasyon süresi çok hassas bir şekilde ayarlanmalı, verilen sınırlar içinde kalınmalıdır.
- 4°C 'den 37°C 'ye ani yükseliş ve ani düşüş çok önemlidir. Isıtma için akışlı sıcak su banyosu ve soğutma için buz banyosu kullanılması önerilir.
- Ani sıcaklık artışı ve düşüşünün daha iyi gerçekleştirilmesi için ısı geçirgenliği yüksek olan tüpler (cam) kullanılabilir.
- Eğer numunede düşük plazma renin aktivitesi bekleniyorsa, enzimatik safhanın inkübasyon süresi 3 saate kadar uzatılabilir.

Enzimatik safha – prosedür**Dikkat: Kalibratör ve kontrollere işlem uygulamayınız.**

- Herbir 200 µL plazma örneğine, 200 µL önceden soğutulmuş enzimatik inhibitör ekleyiniz ve karıştırınız.
- Herbir numuneyi 200 µL 'lik iki ayrı tüpe ayırınız.
- Ayrılan ilk tüpü buz banyosu içinde, buzdolabında bekletiniz (4°C'de background anjiotensin I seviyesinin tespiti için kullanılmak üzere)
- İkinci tüpü 37°C su banyosuna koyunuz (37°C'de ortaya çıkarılan anjiotensin I'nın tespiti için kullanılmak üzere).
- Bütün tüpleri 1 saat inkübe ediniz.
- Inkübasyon sonrasında, numuneleri 37°C'den 4°C 'ye buz banyosu kullanılarak hızla soğutunuz.

Immunoassay prosedürü

Aşama 1 Eklemler*	Aşama 2 İnkübasyon	Aşama 3 Sayım
Antikor kaplanmış tüplere dikkatli bir şekilde ekleyiniz: 37°C ve 4°C'de inkübasyon sonrasında sıra ile 75 µL kalibratör, kontrol veya numune ve 100 µL tracer.** Karıştırınız.	18-25°C'de (> 280 rpm) shakerda 2 saat inkübe ediniz.	Tüplerin içeriğini dikkatli bir şekilde aspire ediniz (2 "total sayım/dak" tüpü hariç). 2 mL yıkama solüsyonu ile yıkayınız. İki kez aspire ediniz. Aktiviteyi (sayım/dak) 1 dakika süresince tespit ediniz.

*Pipetlemeden önce Kalibratörler, kontrol numuneleri ve analiz edilen numuneler 4°C'ye soğutulmalıdır. Eklenmeden önce numuneleri karıştırınız.
**«Total sayım/dak»'yi elde etmek için 2 ek tüpe 100 µL tracer ekleyiniz.

SONUÇLAR

Sonuçlar, standard eğrisinden interpolasyon yoluyla alınır. Eğri, kalibratörlerle aynı anda ölçülen numunedeki anjiotensin I konsantrasyonunu belirlemede hizmet eder.

Standard eğrisi

Kalite kontrol departmanındaki sonuçlar hesaplandı sonuçlar logit dikey ekseninde B/T (%) *ağırlıklı kübik regresyon* eğri uydurma ve logaritmik yatay ekseninde (ng/mL) kalibratörlerin analit konsantrasyonu kullanılarak hesaplanmıştır.

Diğer veri indirgeme metodları biraz farklı sonuçlar verebilir.

Total aktivite: 68 511 sayım/dak				
Kalibratörler	Angiotensin I (ng/mL)	sayım/dak (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

(Standard eğrisi örneği, hesaplamada kullanmayınız)

NUMUNE TOPLANMASI, SAKLANMASI VE DİLÜSYONU

- Plazma numuneleri soğuk EDTA tüplerine alınmalıdır.
- Pazmayı hücrelerden santrifüjle ayırınız.
- Eğer test hemen gerçekleştirilmeyecekse, plazma numunelerini (<-20°C'de, maksimum 1 yıl) dondurunuz, tekrar çözüp dondurma işlemi için bölünüz.

Not: Numune çalışması sırasında, plazma sıcaklığı 2-8°C'de tutulmalıdır. Anjiotensin I'in yapısının bozulmasını, şekil değişimini önlemek için daha fazla manipülasyonu engelleyiniz..

SAĞLANAN MALZEMELER

2-8°C'de saklandığında bütün reaktifler, kit etiketindeki son kullanma tarihine kadar stabildir. Dilüsyon sonrasındaki reaktif saklama koşulları Prosedürü paragrafında verilmiştir. Şişe üzerindeki son kullanma tarihleri sadece üretici tarafından içeriklerin uzun süreli saklanmaları durumunda geçerlidir.

Anti-anjiotensin I poliklonal antikor-kaplanmış tüpler: 2 x 50 tüp (kullanıma hazır)

¹²⁵I-ışaretlenmiş monoklonal anti-anjiotensin I antikor: 11 mL bir şişe (kullanıma hazır)

Şişe üretim tarihinde, bovin serum albumin ve boya içeren bir tampon içindeki ¹²⁵I-ışaretlenmiş anjiotensin I'den, 260 kBq içerir.

Kalibratörler: 1 mL altı şişe (kullanıma hazır)

Kalibratör flakonları 0 ila yaklaşık 30 ng/mL'lik tamponda anjiotensin I ile sığır serum albumin ve sodyum asit (<%0,1) içerir. Kesin konsantrasyon her bir şişe etiketinde belirtilmiştir. Kalibratörler RP 86/536 standardı uyarınca kalibre edilmiştir.

Kontrol serumu: 1 mL bir şişe (kullanıma hazır)

Şişeler, bovin serum albumin ve sodyum asit (<% 0.1) içeren bir tampon içindeki anjiotensin I içerir. Beklenen değerler, ektaki konsantrasyon aralıklarında belirtilmiştir.

Enzimatik inhibitör: bir şişe (liyoofilize)

Aynı zamanda sodyum asit (<% 0.1) içerir.

Yıkama solüsyonu (20x): 50 mL bir şişe

Konsantre solüsyon kullanmadan önce dilüe edilmelidir.

GEREKLİ OLAN ANCAK SAĞLANMAYAN MALZEMELER

Standard laboratuvar ekipmanlarına ek olarak aşağıdaki malzemeler gerekmektedir:

- Hassas mikropipet (75 µL, 100 µL).
- Yarı-otomatik pipet (200 µL, 300 µL; 2 mL).
- Su banyosu
- Buz banyosu
- Vorteks tipi mikser.
- Horizontal veya orbital shaker.
- Aspirasyon sistemi.
- 125 iyot için gamma counter seti.

PROSEDÜR**Numunelerin hazırlanması ve saklanması****Enzimatik inhibitörün hazırlanması**

Şişe içerikleri, etikette belirtilen miktarda soğuk (4°C) distile su ile sulandırılır ve karıştırılır. Hazırlanan enzimatik inhibitör son kullanma tarihine kadar 2-8°C'de saklanabilir.

Yıkama solüsyonunun hazırlanması

Şişe içeriğini 950 mL distile su içine boşaltınız ve homojenize ediniz. Dilüe edilmiş solüsyon, 2-8°C'de etiket üzerindeki son kullanma tarihine kadar stabildir.

Numuneler

4°C veya 37°C'de inkübe edilmiş her bir numune ve kontrol için, dikey ekseninde B/T veya B/B0 yerini belirleyiniz ve yatay ekseninde ona karşılık gelen anjiotensin I konsantrasyonunu ng/mL olarak okuyunuz.

Plazma renin aktivitesinin hesaplanması

Plazma renin aktivitesinin tespiti, anjiotensin I (A-I)'nin in vitro olarak saatte oluşturulması ve ölçülmesi yoluyla, dolaylı olarak yapılır. 4°C'de inkübe edilen plazma numunelerinin background A-I değeri, 37°C'de oluşturulan A-I'dan aşağıdaki eşitlik yöntemi kullanılarak PRA hesaplaması ile belirlenmektedir:

$$A-I \text{ /mL/saat'nin PRA ng'si} = \frac{[A-I (37^\circ\text{C}) - A-I (4^\circ\text{C})] \times 2}{\text{Enzimatik inkübasyon süresi (saat)}}$$

Burada:

A-I (37°C): 37°C'de inkübe edilen numunenin ng/mL olarak anjiotensin konsantrasyonu

A-I (4°C) : 4°C'de inkübe edilen numunenin ng/mL olarak anjiotensin konsantrasyonu

BEKLENEN DEĞERLER

Her laboratuvarın kendi referans değerlerini seçtikleri. Aşağıda verilen PRA değerleri sadece belirleyicidir.

N	Normal yetişkin	2,5 – 97,5 percentile (ng/mL/saat)	Median (ng/mL/saat)	Min-Max (ng/mL/saat)
38	Yatarak	0,32-1,84	0,79	0,30-1,90
41	Ayakta	0,60-4,18	2,20	0,48-4,88

Çocuklar için beklenen değerler (yaş göre belirlenmiş), kullanma kılavuzunun "APPENDIX-EK" bölümünde bulunabilir.

KALİTE KONTROL

İyi laboratuvar uygulamaları, alınan sonuçların kalitesini garanti altına almak için kontrol numunelerinin düzenli olarak kullanılmasını gerektirir. Bu numuneler, aynen test numuneleri gibi kullanılmalıdır ve sonuçlarının uygun istatistiksel metodlarla analiz edilmesi önerilmektedir.

Paketteki bozulma veya alınan verilerde değişiklik olduğu durumlarda lütfen yerel distribütörünüzü arayınız veya aşağıdaki e-mail adresini kullanınız. imunochem@beckman.com

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

(daha fazla bilgi için ekteki "APPENDIX-EK" veri formuna bakınız)

Temsili veriler yalnızca örnek olarak verilmiştir. Her bir laboratuvarında elde edilen performans farklılık gösterebilir.

Duyarlılık

Analitik duyarlılık: 0,07 ng/mL

Fonksiyonel duyarlılık: 0,20 ng/mL

Özgüllük

Bu kitte kullanılan antikor, anjiotensin I'e yüksek spesifiktir. Anjiotensin II'ye çok çok az bir çapraz reaksiyon alınmıştır.

Bunun yanında, PRA sonuçlarında olası etkileşimler, background substraksiyonu ile bertaraf edilmektedir.

Kesinlik

Deney-içi

Numuneler, aynı seri içinde 25 replike testle denenmiştir. Değişim katsayısı % 11.3'a eşit veya altında bulunmuştur.

Testler arası

Numuneler 10 farklı seride duplike olarak çalışılmıştır. Değişim katsayısı % 20.9'a eşit veya altında bulunmuştur.

Doğruluk

Enzimatik inkübasyon zamanına bağımlılık

Plazma numuneleri, enzimatik inhibitör ile 60, 120, 180 dakika inkübe edilmiştir. PRA sonucunda kayda değer bir etki bulunmamıştır.

Dilüsyon testi

Plazma numuneleri, sıfır kalibratörleri içinde seri olarak dilüe edildi. Alınan düzelme oranı % 78 ve % 99 arasında idi.

Düzelme testi

Düşük konsantrasyolu numuneler bilinen miktarda anjiotensin I ile karıştırıldı. Düzelme oranı % 104 ve % 123 arasında idi.

Ölçüm sınırları (analitik duyarlılıktan en yüksek kalibratöre kadar): 0.07 ile yaklaşık 30 ng/mL.

SINIRLAMALAR

Bu kullanım kılavuzuna uyulmaması, sonuçları belirgin olarak etkileyebilir.

Sonuçlar, klinik hikaye, ek testlerden alınan veriler ve diğer bilgilerin de yer aldığı hastanın toplam klinik durumu ışığında değerlendirilmelidir.

Çok hemolizli, sararmış ve lipemik numuneleri kullanmayınız.

Antikor içeren testlerde, hasta serumu içindeki heterofil antikorlar tarafından interferans olasılığı bulunmaktadır. Hayvanlarla sürekli etkileşimde bulunan hastalar veya immünoterapi gören veya ör. HAMA gibi immünoassay ile etkileşim gösteren immunoglobulinler veya immunoglobulin fragmanlarının kullanıldığı tedavi gören hastalarda antikor oluşturabilir.

Etkileşime giren bu tür antikorlar hatalı sonuçlar üretebilir. Bu antikorlara sahip olduğundan şüphe duyulan hastaların sonuçlarını dikkatle değerlendirin.

Angiotensin I RIA KIT

REF IM3518

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

Для диагностики *in vitro*.

ПРИНЦИП

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.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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 исследуемых проб должен проводиться одновременно.
- Анализ рекомендуется проводить в дубликатах.
- Пробирки только для одноразового применения.

Основные правила радиационной безопасности

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.

Азид натрия




Некоторые компоненты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Вступая в реакцию со свинцом, медью и латунию, азид


натрия образует взрывоопасные азиды металлов. Отработанные реагенты следует разбавлять большим количеством водопроводной воды, после чего их можно сливать в канализацию.

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.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Tracer	ОСТОРОЖНО!
	
H317	Может вызывать аллергическую кожную реакцию.
H412	Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями.
P273	Не допускать попадания в окружающую среду.
P280	Надевать защитные перчатки, защитную одежду, средства защиты органов зрения / лица.
P333+P313	При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться к врачу.
P362+P364	Снять загрязненную одежду и промыть ее перед повторным использованием. реакционная смесь из 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин -3-он [EC № 247-500-7] и 2-метил-4-изотиазолин -3-он [EC № 220-239-6](3:1) < 0,05%
Inhibitor	ОПАСНО!
	
	
H317	Может вызывать аллергическую кожную реакцию.
H360	Может привести к нарушению репродуктивной функции или нанести вред ребенку в утробе матери.
P201	Перед использованием получить специальные инструкции.
P280	Надевать защитные перчатки, защитную одежду, средства защиты органов зрения / лица.
P308+P313	ПРИ воздействии или подозрении на воздействие: обратиться за медицинской помощью.
P333+P313	При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться к врачу.

P362+P364	Снять загрязненную одежду и промыть ее перед повторным использованием. 8-гидроксихинолин 0,1 - 0,2%
Wash Solution (20X)	ОПАСНО!
	
H360	Может привести к нарушению репродуктивной функции или нанести вред ребенку в утробе матери.
P201	Перед использованием получить специальные инструкции.
P280	Надевать защитные перчатки, защитную одежду, средства защиты органов зрения / лица.
P308+P313	ПРИ воздействии или подозрении на воздействие: обратиться за медицинской помощью. Борная кислота 0,1 - 0,3% Натрия борат, декагидрат 0,1 - 0,3%

Ингибитор фермента: 1 флакон (лиофилизированный препарат)

Препарат содержит азид натрия (<0,1%).

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

Концентрированный раствор должен быть разведен перед использованием.

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

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

ПРОЦЕДУРА

Подготовка и хранение реагентов

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.

Приготовление промывочного раствора

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

Ферментативная стадия – образование ангиотензина I


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.

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.

 Паспорт безопасности доступен на сайте techdocs.beckmancoulter.com

ПОЛУЧЕНИЕ, ОБРАБОТКА, ХРАНЕНИЕ И РАЗВЕДЕНИЕ 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.

ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Все реагенты стабильны при 2-8°C до окончания срока годности набора. Условия хранения после растворения и разбавления реагентов указаны в разделе "Процедура". 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)

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 и красителем.

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%). Точные концентрации, калиброванные по международному стандарту RP 86/536, указаны на этикетках флаконов.

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%). Ожидаемые диапазоны концентраций указаны на дополнительном листке-вкладыше.

- 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.

Радиоиммунологический анализ

Стадия 1 Внесение компонентов*	Стадия 2 Инкубация	Стадия 3 Измерение результатов
В покрытые антителами пробирки последовательно внести: 75 мкл калибровочных, контрольных и анализируемых проб, прошедших энзиматическую стадию при 37°C и 4°C, а также 100 мкл метки.** Перемешать.	Инкубировать 2 часа при 18-25°C и постоянном встряхивании (> 280 осц./мин.).	Тщательно удалить содержимое пробирок (кроме проб «Т») Промыть пробирки 2 мл промывочного раствора. Удалить жидкость. Дважды повторить процедуру аспирации. Во всех пробирках измерить активность 125I (имп./мин.) в течение 1 минуты.

*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 (пробы «Т»).

РЕЗУЛЬТАТЫ

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

Калибровочная кривая

Результаты в отделе контроля качества были рассчитаны с использованием подбора кривой *взвешенной кубической регрессией* с V/T или V/V_0 по логит вертикальной оси и концентрацией анализатора на логарифмической горизонтальной оси (нг/мл).

Другие методы обсчета могут давать несколько отличающиеся результаты.

Общий счет: 68 511 имп./мин.				
Калибраторы	Ангиотензин I (нг/мл)	Имп./мин. (n=3)	V/T (%)	V/V 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.)

Образцы

Для каждого контрольного и анализируемого образца, прошедшего инкубацию при 4°C и 37°C, найти на вертикальной оси калибровочного графика значение V/T или V/V_0 , а на горизонтальной оси - соответствующую концентрацию ангиотензина I в нг/мл.

. Расчет активности плазматического ренина

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

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

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.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

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

N	Взрослые	2,5-й – 97,5-й перцентиль (пг/мл/ч)	Медиана (нг/мл/ч)	Min-Max (нг/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

Подробная информация о ожидаемых значениях педиатрических образцов (отсортированных по возрасту) приведены в разделе APPENDIX.

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 обратитесь, пожалуйста, к нашим специалистам. E-mail: imunochem@beckman.com или beckman.ru@beckman.com

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

(Более подробная информация приведена в разделе "APPENDIX")

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

Чувствительность

Аналитическая чувствительность: 0,07 нг/мл

Функциональная чувствительность: 0,20 нг/мл

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.

Воспроизводимость

Внутри анализа

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

Между анализами

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

Точность

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.

Тест на разведение

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

Тест на открытие стандартной добавки

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

Диапазон определений (от аналитической чувствительности до значения наивысшей калибровочной пробы): 0,07 до приблизительно 30 нг/мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ

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 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.

Интерференция со стороны этих антител может привести к получению ошибочных результатов. Тщательно проверяйте результаты анализов пациентов с подозрением на наличие этих антител.

Angiotensin I RIA KIT

REF IM3518

RADIOIMUNOTEST ZA KVANTITATIVNO ODREĐIVANJE ANGIOTENZIN I ZA IN VITRO ODREĐIVANJE PLAZMA RENINSKA AKTIVNOST (PRA) U HUMANOJ PLAZMI Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.

PRINCIP

Angiotenzin I RIA test služi za kvantitativno određivanje plazma reninske aktivnosti (PRA) određivanjem proizvoda reakcije, angiotenzin I radioimunotestom.

Stvaranje angiotenzina I je rezultat enzimskog cepanja reninskog substrata, angiotenzinogena, u uzorcima plazme u prisustvu ACE inhibitora (ACE – Angiotenzin konvertujući enzim), enzimskog inhibitora koji blokira konverziju angiotenzina I u angiotenzin II.

Imunotest za određivanje angiotenzina I je radioimunološki kompetitivni test. Nepoznati uzorci, kontrole i kalibratori se inkubiraju u epruvetama obloženim poliklonalnim antitelima sa ¹²⁵I obeleženim angiotenzinom I kao obeleživačem. Nakon inkubacije, sadržaj epruveta se aspirira. Vezana radioaktivnost se onda određuje u gama brojaču. Konstruiše se standardna kriva i nepoznata koncentracija se dobija interpolacijom sa standardne krive.

UPOZORENJE I MERE OPREZA

Opšte napomene:

- Rastvor enzimskog inhibitora, kalibratori, kontrolni uzorci i uzorci za analizu moraju biti ohlađeni 2-8°C pre pipetiranja.
- Bočice sa kalibratorima i kontrolama treba da budu otvorene što je kraće moguće da bi se izbeglo prekomerno isparavanje.
- Ne mešati reagense iz kitova različitih lotova.
- Standardna kriva mora biti obuhvaćena sa svakim testom.
- Preporučeno je da se imunotest izvodi u duplikatu.
- Svaka epruveta mora da se upotrebi samo jedanput.

Osnovna pravila bezbednosti od radijacije

Kupovina, posedovanje, upotreba i prenos radioaktivnog materijala je predmet regulative zemlje korisnika. Pridržavanje osnovnih pravila bezbednosti od radijacije treba da obezbedi adekvatnu zaštitu:

- Ne treba jesti, piti, pušiti ili nanositi kozmetiku u prisustvu radioaktivnih materijala.
- Ne pipetirati radioaktivni rastvor ustima.
- Izbegavati svaki kontakt sa radioaktivnim materijalom upotrebom rukavica i laboratorijskog kombinezona.
- Sva manipulacija radioaktivnim supstancama treba da se obavi u odgovarajućem prostoru, udaljenom od hodnika i drugih prometnih mesta.
- Radioaktivni materijali treba da se čuvaju u kontejnerima koji su obezbeđeni u označenom prostoru.
- Zapis o prijemu i skladištenju svih radioaktivnih proizvoda treba da se vodi ažurno.
- Laboratorijska oprema i stakleno posuđe koje je podložno kontaminaciji treba da budu razdvojeni da bi se izbegla unakrsna kontaminacija različitim radioizotopima.
- Svaki slučaj radioaktivne kontaminacije ili gubitka radioaktivnog materijala treba da bude rešen u skladu sa ustanovljenim procedurama.
- Postupanje sa radioaktivnim otpadom treba da bude u skladu sa pravilima utvrđenim u zemlji korisnika.

Natrijum azid

Neki reagensi sadrže natrijum azid kao konzervans. Natrijum azid može da reaguje sa olovom, bakrom ili mesingom i da formira eksplozivne metalne azide. Odbacivati reagense ispiranjem sa velikom količinom vode kroz odvodni sistem.

Materijali humanog porekla

Sa svim uzorcima plazme treba postupati kao da su sposobni za prenos hepatitisa ili AIDS-a, a otpad treba odlagati u skladu s propisima države.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Tracer

UPOZORENJE



H317

Može da izazove alergijske reakcije na koži.

H412

Štetno za živi svet u vodi s dugotrajnim posledicama.

P273

Izbegavati ispuštanje/oslobađanje u životnu sredinu.

P280

Nositi zaštitne rukavice, zaštitnu odeću i zaštitna sredstva za oči/lice.

P333+P313

Ako dođe do iritacije kože ili osipa: Potražiti medicinski savet/mišljenje.

P362+P364

Kontaminiranu odeću skinuti i oprati pre korišćenja.
reakciona masa:
5-hloro-2-metil-4-izotiazolin-3-on [EC br. 247-500-7]
i 2-metil-4-izotiazolin-3-on [EC br. 220-239-6](3:1) < 0,05%

Inhibitor

OPASNOST



H317

Može da izazove alergijske reakcije na koži.

H360

Može da ošteti plodnost ili nerođeno dete.

P201

Potrebna su posebna uputstva pre upotrebe.

P280

Nositi zaštitne rukavice, zaštitnu odeću i zaštitna sredstva za oči/lice.

P308+P313

AKO ste izloženi ili zabrinuti: Potražite medicinski savet/mišljenje.

P333+P313

Ako dođe do iritacije kože ili osipa: Potražiti medicinski savet/mišljenje.

P362+P364

Kontaminiranu odeću skinuti i oprati pre korišćenja.

8-hidroksikvinolin 0,1 - 0,2%

Wash Solution (20X)

OPASNOST



H360

Može da ošteti plodnost ili nerođeno dete.

P201

Potrebna su posebna uputstva pre upotrebe.

P280

Nositi zaštitne rukavice, zaštitnu odeću i zaštitna sredstva za oči/lice.

P308+P313

AKO ste izloženi ili zabrinuti: Potražite medicinski savet/mišljenje.

Borna kiselina 0,1 - 0,3%
Natrijum-borat dekahidrat 0,1 - 0,3%

SDS

Bezbednosni list je dostupan na internet adresi techdocs.beckmancoulter.com

PRIKUPLJANJE UZORAKA, OBRADA, SKLADIŠTENJE I RAZBLAŽIVANJE

- Uzorci plazme se moraju prikupiti u hladnu EDTA epruvetu.
- Odvojiti plazmu od ćelija centrifugiranjem na 2-8°C.
- Čuvati uzorke plazme zamrznute (<-20°C, najduže 1 godinu) ukoliko se određivanje neće odmah izvršiti, nakon alikvotiranja kako bi se izbeglo ponovljeno zamrzavanje i otapanje.

Napomena: Temperatura uzoraka plazme se mora održavati na 2-8°C tokom celog uzorkovanja. Izbegavati dalju manipulaciju kako bi se sprečilo i formiranje i razlaganje angiotenzina I.

ISPORUČENI MATERIJALI

Svi neotvoreni reagensi u pakovanju su stabilni do isteka roka označenog na etiketi, pod uslovom da se čuvaju na 2-8°C. Uslovi čuvanja za reagense nakon rekonstitucije ili razblaživanja naznačeni su u delu Postupak. Rokovi odštampani na etiketama bočica važe za dugoročno skladištenje komponenti samo od strane proizvođača, pre sastavljanja pakovanja. Ne uzimati u obzir.

Epruvete obložene Anti- angiotenzin I poliklonskim antitelima: 2 x 50 epruveta (spremnih za upotrebu)

¹²⁵I obeležen angiotenzin I: jedna 11 mL bočica (spremna za upotrebu)

Bočica sadrži 260 kBq, u trenutku proizvodnje ¹²⁵I-obeležene angiotenzina I u puferu sa goveđim serumskim albuminom i bojom.

Kalibratori: šest bočica 1 ml (spremnih za upotrebu)

Bočice kalibratora sadrže od 0 do približno 30 ng/mL angiotenzin I u puferu sa goveđim serumskim albuminom i natrijum azidom (<0,1%). Tačna koncentracija je navedena na svakoj etiketi bočice. Kalibratori su kalibrisani prema RP 86/536.

Kontrolni uzorak: jedna bočica od 1 mL (spremne za upotrebu)

Bočica sadrži angiotenzin I u puferu sa goveđim serumskim albuminom i natrijum azidom (<0,1%). Očekivani opseg vrednosti se nalazi na dodatku u pakovanju.

Inhibitor enzima: jedna bočica (liofilizovan)

Takođe sadrži natrijum azid (<0,1%).

Rastvor za pranje (20x): jedna bočica od 50 ml

Koncentrovani rastvor mora da se razblaži pre upotrebe.

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU OBEZBEĐENI

Pored standardne laboratorijske opreme, potrebne su sledeće stavke:

- precizna mikropipeta (75 µL; 100 µL).
- podesivi dispenzeri (200 µL; 300 µL; 2 mL).
- vodeno kupatilo.
- ledeno kupatilo.
- Vorteks tip miksera.
- Horizontalna ili orbitalni šejker.
- Aspiracioni sistem.
- Gama brojač za ¹²⁵I

POSTUPAK

Priprema reagenasa

Pripremanje rastvora enzimskog inhibitora

Sadržaj bočice se rekonstituiše sa zapreminom hladne vode (4°C) naznačenoj na nalepnici i promeša se. Rekonstituisani enzimski inhibitor se može čuvati na 2-8°C do isteka roka pakovanja.

Priprema rastvora za pranje

Sipati sadržaj bočice u 950 ml destilovane vode i homogenizirajte ga. Razblažen rastvor se može čuvati na 2-8°C do isteka roka upotrebe.

Enzimski korak – dobijanje angiotenzina I

Primedbe i preporuke

- Enzimski inhibitor mora biti ohlađen na 4°C pre dodavanja u uzorak.
- Obe inkubacione temperature (4°C i 37°C) se moraju strogo poštovati, čak i najmanje varijacije mogu dovesti do velikih grešaka u određivanju.

- Vreme enzimske inkubacije na 37°C bi trebalo odrediti što preciznije moguće i održavati ga u uskim granicama za ceo set epruveta.
- Brzina povećanja temperature sa 4°C na 37°C i naknadno spuštanje je kritično. Cirkulišuće vodeno kupatilo je pogodno za zagrevanje i korišćenje ledeno hladnog kupatila je preporučljivo za hlađenje.
- Brzina porasta i pada temperature se može poboljšati korišćenjem epruveta napravljenih od materijala sa dobrom termičkom provodljivošću (staklo).
- Ukoliko se očekuje niska plazma reninska aktivnost, inkubaciono vreme enzimskog koraga se može produžiti do 3 sata.

Enzimski korak – postupak

Pažnja: Ne tretirati kalibratore i kontrolni uzorak

- Dodati 200 µL prethodno ohlađenog enzimskog inhibitora u 200 µL svakog uzorka i promešati.
- Podeliti svaki uzorak u dva alikvota od 200 µL.
- Staviti prvi alikvor u ledeno hladno vodeno kupatilo u frižider (za određivanje osnovnog angiotenzin I na 4°C).
- Staviti drugu u vodeno kupatilo i podesiti na 37°C (za određivanje nastalog angiotenzin I na 37°C).
- Inkubirati sve alikvote 1 sat.
- Nakon inkubacije brzo ohladiti uzorke sa 37°C na 4°C koristeći ledeno vodeno kupatilo.

Procedura imunotesta

Korak 1 Dodaci [†]	Korak 2 Inkubacija	Korak 3 Brojanje
Obloženim epruvetama, sukcesivno dodavati: 75 µL kalibratora, kontrole ili uzorka nakon enzimske inkubacije na 37°C i na 4°C odnosno i 100 µl obeleživača.** Promešati.	Inkubirajte 120 minuta na 18-25°C uz mešanje (>280 rpm).	Aspirirati pažljivo sadržaj epruveta (osim 2 epruvete za "ukupni cpm"). Isprati sa 2 mL rastvora za pranje. Aspirirati dva puta. Određiti aktivnost (cpm) u 1 minutu.

*Kalibratori, kontrolni uzorak i uzorci za analizu moraju biti ohlađeni na 4°C pre pipetiranja. Promešati pažljivo uzorke pre nego što budu dodati.

**Dodati 100 µl obeleživača u dve dodatne epruvete da bi se dobilo «ukupni cpm».

REZULTATI

Rezultati su dobijeni interpolacijom sa standardne krive. Kriva služi za određivanje koncentracije angiotenzin I u uzorcima izmerene u isto vreme kad i kalibratori.

Standardna kriva

Izračunali su rezultati u odeljenju za kontrolu kvaliteta su upotrebom krive *ponderisane kubne regresije* (eng. *weighted cubic regression*) koja ima vrednosti *B/T* ili *B/B₀* na logit vertikalnoj osi i koncentraciju analita kalibratora na logaritamskoj horizontalnoj osi (ng/ml).

Druge metode redukcije podataka mogu dati neznatno različite rezultate.

Ukupna aktivnost: 68.511 cpm				
Kalibratori	Angiotenzin 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

(Primer standardne krive, ne koristiti za proračun)

Uzorci

Za kontrolu i uzorke inkubirane na 4°C, ili na 37°C, locirati odnos B/T ili B/B₀ na verikalnoj osi standardne krive i očitati odgovarajuću koncentraciju angiotenzin I u ng/mL na horizontalnoj osi.

Izračunavanje plazma reninske aktivnosti

Određivanje plazma reninske aktivnosti se vrši indirektno merenjem in vitro nastajanja angiotenzin I (A-I) na sat. Osnovni A-I, određen u uzorcima plazme inkubiranim na 4°C, se oduzima od A-I dobijen na 37°C za izračunavanje PRA koristeći sledeću jednačinu:

$$\text{PRA ng A-I / mL/h} = \frac{[\text{A-I (37°C)} - \text{A-I (4°C)}] \times 2}{\text{Vreme inkubacije enzima (h)}}$$

Gde

A-I (37°C): koncentracija angiotenzina u ng/mL u uzorku inkubiranom na 37°C

A-I (4°C): koncentracija angiotenzina u ng/mL u uzorku inkubiranom na 4°C

OČEKIVANE VREDNOSTI

Preporučeno je da svaka laboratorija uspostavi svoje vlastite referentne vrednosti. Sledeće PRA vrednosti su samo indikativne.

N	Normalna odrasla osoba	2,5 – 97,5 percentil (ng/ml/hr)	Mediana (ng/ml/hr)	Min-Max (ng/ml/hr)
38	Rano jutarnji ležeći	0,32-1,84	0,79	0,30-1,90
41	Stojeći, 2 sata	0,60-4,18	2,20	0,48-4,88

Detaljne informacije u vezi očekivanih vrednosti kod dece (sortirane prema uzrastu) se mogu naći u odeljku "DODATAK".

KONTROLA KVALITETA

Dobra laboratorijska praksa nalaže da se kontrolni uzorci moraju redovno koristiti da bi se osigurao kvalitet dobijenih rezultata. Ti uzorci se moraju obraditi na potpuno isti način kao i testirani uzorci, i preporučeno je da se njihovi rezultati analiziraju upotrebom odgovarajućih statističkih metoda.

U slučaju oštećenja pakovanja ili ako dobijeni podaci pokazuju neku promenu performansi, molimo da kontaktirate vašeg lokalnog distributera ili upotrebite sledeću e-mail adresu: imunochem@beckman.com

KARAKTERISTIKE PERFORMANSI

(za više detalja, videti "DODATAK")

Reprezentativni podaci su obezbeđeni u svrhu ilustracije. Performanse dobijene u pojedinačnim laboratorijama mogu da variraju.

Osetljivost

Analiitička osetljivost: 0,07 ng/mL

Funkcionalna osetljivost: 0,20 ng/mL

Specifičnost

Antitela korišćena u imunotestu su visoko specifična za angiotenzin I. Izuzetno niske vrednosti ukrštene reakcije su dobijene za angiotenzin II.

Osim toga, uticaj mogućih interference na PRA rezultat je eliminisan oduzimanjem osnovnog angiotenzin I.

Preciznost

Unutar serije

Uzorci seruma su testirani 25 puta u istoj seriji. Koeficijent varijacije je bio manji ili jednak 11,3%.

Između serija

Uzorci seruma su testirani u duplikatu u 10 različitim serija. Koeficijent varijacije je manji ili jednak 20,9%.

Tačnost

Zavisnost od vremena enzimske inkubacije

Uzorci su bili inkubirani sa enzimskim inhibitorom 60, 120 i 180 minuta. Nije pronađena značajan uticaj na rezultate PRA.

Test razblaživanja

Uzorci su serijski razblaženi u nultom kalibratoru. Dobijeni recovery procenti su bili između 78% i 99%.

Recovery test

U uzorke plazme su dodate poznate količine angiotenzina I. Dobijeni recovery procenti su bili između 104% i 123%.

Opseg merenja (od analitičke osetljivosti do najvišeg kalibratora): 0,07 do približno 30 ng/mL.

OGRANIČENJA

Ne pridržavanje instrukcija u ovom uputstvu pakovanja može značajno da utiče na rezultate.

Rezultate treba interpretirati u skladu sa celokupnom kliničkom slikom pacijenta, uključujući i kliničku istoriju, podatke iz dodatnih testova i drugim odgovarajućim informacijama.

Ne koriste se hemolizovani, ikterični ili lipemični uzorci.

Za testove koji upotrebljavaju antitela, postoji mogućnost mešanja od strane heterofilnih antitela u uzorku pacijenta. Pacijenti koji su bili redovno izloženi životinjama ili su primili imunoterapiju ili dijagnostičke procedure koje koriste imunoglobuline ili imunoglobulinske fragmente mogu proizvesti antitela, npr. HAMA, koji utiču na imunotestove.

Takva interferirajuća antitela mogu uzrokovati pogrešne rezultate. Pažljivo procenite rezultate pacijenata za koje se sumnja da imaju ova antitela.

APPENDIX

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

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

Accuracy

Dependence on time of enzymatic incubation

No dependence of PRA on time was observed.

Time, minutes		60	120	180
PRA ng/mL/hour	Sample A	0.30	0.32	0.33
	Sample B	0.56	0.48	0.53
	Sample C	1.04	1.15	1.19
	Sample D	1.64	1.56	1.65
	Sample E	5.12	5.19	4.93

Dilution test

Three plasma samples were diluted with the zero calibrator and assayed according to the procedure of the kit.

Sample	Dilution	Theoretical conc. (ng/mL)	Observed conc. (ng/mL)	Recovery (%)
A	undiluted	-	2.45	-
	1/2	1.23	1.21	98.8
	1/4	0.61	0.56	91.4
	1/8	0.31	0.27	88.2
B	undiluted	-	3.05	-
	1/2	1.53	1.46	95.7
	1/4	0.76	0.64	83.9
	1/8	0.38	0.34	89.2
C	undiluted	-	9.21	-
	1/2	4.61	4.30	93.4
	1/4	2.30	1.82	79.0
	1/8	1.15	0.90	78.2
	1/16	0.58	0.45	78.2

Recovery test

Plasma samples were spiked with known quantities of angiotensin I and assayed according to the procedure of the kit.

Initial conc. (ng/mL)	Added angiotensin (ng/mL)	Observed conc. (ng/mL)	Observed addition (ng/mL)	Recovery (%)
0.88	1.01	1.89	2.09	111
	1.30	2.18	2.68	123
	1.93	2.81	3.20	114
1.39	1.01	2.40	2.64	110
	1.30	2.69	2.98	111
	1.93	3.32	3.59	108
1.54	1.01	2.54	2.84	112
	1.30	2.84	3.31	117
	1.93	3.46	4.03	116
2.60	1.01	2.54	2.84	112
	1.30	2.84	3.31	117
	1.93	3.46	4.03	116
2.62	1.01	3.62	3.75	104
	1.30	3.92	4.19	107
	1.93	4.55	4.82	106

Precision

Intra-assay

Samples	1	2
Number of determinations	25	25
PRA, ng/mL/hour	1.49	2.94
CV (%)	11.25	11.25

Inter-assay

After generation of Angiotensin I, samples were determined in duplicates in 10 different series according to the procedure of the kit. Plasma renin activity was obtained and used for the calculation of inter-assay precision.

Samples	A	B	C	D	E
Number of determinations	10	10	10	10	10
PRA, ng/mL/hour	0.69	3.37	7.08	15.1	24.2
CV (%)	20.9	9.57	8.72	9.74	11.8

Specificity

	Cross reactivity (%)
Angiotensin I	100
Angiotensin II	ND
Angiotensin III	ND
Tetradecapeptide	ND
Angiotensinogen	ND

Expected data for children

Results are sorted according to age.

Children Upright	N	Angiotensin (ng/mL.hr)				
		Min	Max	Median	2.5 th percentile	97.5 th percentile
2-9 years	27	0.60	7.38	3.20	0.76	6.64
10-15 years	16	0.58	3.98	1.52	0.64	3.93

125I Characteristics

T_{1/2} (125I) = 1443 h = 60.14 d

Symbols Key

REF Product Reference / Référence du produit / Produktreferenz / Riferimento prodotto / Número de referencia del producto / Referência do produto / Produktreferenz / Κωδικός αναφοράς προϊόντος / 产品参考 / Gaminio nuoroda / Termékszám / Dane referencyjne produktu / Reference k produktu / Referenčné označenie výrobku / 제품 참조 자료 / Úrün Referansı / Ссылка на продукт / Референция за продукт / 產品參考

IVD In Vitro Diagnostic / Diagnostic in vitro / In-vitro-Diagnostikum / Diagnostica in vitro / Para diagnóstico in vitro / Diagnóstico in vitro / InVitro-diagnostik / Για διάγνωση in vitro / 体外诊断 / In vitro diagnostika / In vitro diagnosztikai felhasználásra / Diagnostyka in vitro / Diagnostika in vitro / 체외 진단 / In Vitro Diagnostik / Diagnostika in vitro / За ин витро диагностика / 體外診斷

CONTENTS Contents / Contenu / Inhalt / Contenuto / Contenido / Conteúdo / Περιεχόμενο / 組成 / Rinkinio sudėtis / Tartalom / Zawartość / Obsah / Obsah / 내용물 / İçindekiler / Содержание / Съдържание / 目錄

Manufactured by / Fabriqué par / Hergestellt von / Prodotto da / Fabricado por / Tillverkas av / Κατασκευαστής / 製造商 / Gamintojas / Gyártó: / Producent / Výrobce / Výrobca / 제조 / Üretici / Изготовлено / Произведено от / 製造商

Σ Contains sufficient for <n> tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenido suficiente para <n> ensayos / Conteúdo suficiente para "n" ensaios / Räcker till "n" antal tester / Περιεχόμενο επαρκές για "n" εξετάσεις / 含量足够 <n> 次测试 / Turinio pakanka <n> tyrim / <n> teszthez elegendő mennyiséget tartalmaz / Zawartość wystarcza na <n> testów / Lze použít pro <n> testů / Obsah vystačí na <n> testov / <n> 테스트에 대해 충분한 양 포함 / <n> sayida test için yeterlidir / Содержит достаточно для количества тестов: <n> / Съдържа достатъчно за <n> теста / 內容物足夠執行 <n> 次測試

CE CE Mark / Marquage CE / CE-Kennzeichnung / Marchio CE / Mercado CE / Marcação CE / CE-märkning / Σήμανση CE / CE 标志 / CE ženklas / CE jelzés / Znak CE / Značka CE / Označenie CE / CE 표시 / CE İşareti / Маркировка CE / CE маркировка / CE 標識

SDS Safety Data Sheet / Fiche technique santé-sécurité / Sicherheitsdatenblatt / Scheda dati di sicurezza / Hoja de datos de seguridad / Ficha de Dados de Segurança / Säkerhetsdatablad / Φύλλο Δεδομένων Ασφάλειας / 安全数据单 / Saugos duomenų lapas / Biztonsági adatlap / Karta Charakterystyki Bezpieczeństwa / Bezpečnostní list / Bezpečnostný list / 안전보건자료 / Güvenlik Bilgi Formu / Паспорт безопасности / Информационен Лист За Безопасност / 安全性資料表

i Consult Instructions for Use / Consultez le mode d'emploi / Siehe Gebrauchsanweisung / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte las Instrucciones de uso / Instruções de utilização / Konsultera bruksanvisning / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / 请参阅使用说明 / Skaitykite naudojimo instrukciją / Olvassa el a használati utasítást / Zapoznać się z instrukcją użycia / Postupujte podle návodu k použití / Prečítajte si návod na použitie / 사용 안내 문 / Kullanma Talimatına Başvurun / Обратитесь к инструкциям / Вижте Инструкциите за употреба / 請參閱使用說明

Temperature range(s) / Plage(s) de température / Temperaturbereich(e) / Intervallo/i di temperatura / Intervalo(s) de temperatura / Intervalo(s) de temperatura / Temperaturintervall / Εύρος(-η) θερμοκρασίας / 溫度範圍 / Temperatūros diapazonas (-ai) / Hőmérséklet-tartomány(ok) / Zakres(y) temperatury / Rozsahy teplot / Rozsah(y) teploty / 온도 범위 / Sıcaklık aralıkları / Диапазон(-ы) температуры / Температурен(ни) диапазон(и) / 溫度範圍

Caution / Précaution / Achtung / Attenzione / Precaución / Atenção / Försiktighet / Προσοχή / 注意事项 / Įspėjimas / Figyelem / Uwaga / Upozornění / Upozornenie / 주의 / Dikkat / Внимание / 注意

Expiration Date / Date D'expiration / Verfallsdatum, Verw. bis: / Data Di Scadenza / Fecha De Caducidad / Data de validade / Utgångsdatum / Ημερομηνία λήξης / 失效日期 / Galiojimo data / Lejárati idő / Data ważności / Datum expirace / Datum expiração / 만료 날짜 / Son Kulanma Tarihi / Срок годности / Срок на годност / 到期日

LOT Lot Number / Numéro de lot / Chargennummer / Numero di lotto / Lote número / Número de lote / Satsnummer / Αριθ. παρτίδας / 批次号 / partijos numeris / Tételszám / Numer serii / Číslo sarže / 로트 번호 / Lot Numarasi / Номер партии / Номер на партида / 批號

MW Date of Manufacture / Date de Fabrication / Herstellungsdatum / Data di Fabbricazione / Fecha de Fabricación / Data de Fabrico / Produktionsdatum / Ημερομηνία Παραγωγής / 生产日期 / Pagaminimo Data / Gyártás Dátuma / Data Produkcji / Datum Výroby / Datum Výroby / 제조 일자 / Üretim Tarihi / Дата Производства / Дата на Производство / 製造日期



Biohazard / Risque biologique / Biogefährdung / Rischio biologico / Riesgo biológico / Risco biológico / Biologisk fara / Βιολογικός κίνδυνος / 生物危害 / Biologisk fara / Veszélyes biológiai anyag / Zagrożenie biologiczne / Biologické riziko / Biologické riziko / 생물학적 위험 / Biyolojik tehlike / Биологическая опасность / Биологична опасност / 生物危害



Radioactive / Radioactif / Radioaktiv / Radioattivo / Radiactivo / Radioactivo / Radioaktiv / Ραδιενεργό / 放射性 / Radioaktivyvioj medžiaga / Radioaktiv / Radioaktivny / Radioaktivní / Rádioaktívny / 방사성 / Radyoaktif / Радиоактивный / Радиоактивен / 具放射性

DANGER

DANGER / DANGER / GEFAHR / PERICOLO / PELIGRO / PERIGO / FARA / ΚΙΝΔΥΝΟΣ / 危險 / PAVOJUS / VESZÉLY / NIEBEZPIECZENSTWO / NEBEZPEČÍ / NEBEZPEČENSTVO / 위험 / TEHLÍKE / ОПАСНО / ОПАСНОСТ / 危險

Ag ^{125I}

Ab ^{125I}

Tracer / Traceur / Tracer / Marcato / Trazador / Marcador / Tracer / Ανιχνευτής / 追踪剂 / Atsekamoji medžiaga / Nyomjelző / Znacznik / Radioindikator / Indikator (tracer) / 트레이서 / Tracer'lar / метка / Индикатор / 追蹤劑

CAL

CAL 0

Calibrator / Calibrateur / Kalibrator / Calibratore / Calibrador / Calibrador / Kalibrator / Βαθμονομητής / 校准品 / Kalibravimo medžiaga / Kalibrátor / Kalibrator / kalibrator / Kalibrátor / 보정 물질 / Kalibratör / Калибратор / Калибратор / 校正液

CTRL

Control / Contrôle / Kontrolle / Controllo / Control / Controllo / Kontrolle / Μάρτυρας / 质控品 / Kontrolliné / Kontroll / Kontrola / Kontrola / Kontrola / 정도관리 / Kontrol / Контроль / Контролна / 質控品

TUBE

Tubes / tubes / Röhrchen / provette / tubos / Tubos de amostra / Provrör / σωληνάρια / 试管 / Mégintüveliai / Csövek / Probówki / Zkumavky / Skúmavky / 튜브 / Tüpler / пробирки / Bulgarian / 試管

IFU

Instruction for Use / Mode d'emploi / Gebrauchsanweisung / Istruzioni per l'uso / Instrucciones de uso / Instruções de utilização / Bruksanvisning / Οδηγίες χρήσης / 使用说明 / Naudojimo instrukcija / Használati utasítás / Instrukcja użycia / Návod k použití / Návod na použitie / 사용 안내 / Kullanma Talimatı / Инструкции / Инструкции за употреба / 使用說明

SOLN WASH 20x

Wash Solution Concentrate 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Waschlösungskonzentrat 20X / Concentrato di soluzione di lavaggio 20X / Solución de lavado concentrada 20X / Concentrado de solução de lavagem 20X / Tvättlösingskoncentrat 20X / Συμπυκνωμένο διάλυμα πλύσης 20X / 浓缩清洗液 20X / Plovimo tirpalu koncentratas 20X / 20X mosóoldat-koncentrátum / Koncentrat 20X roztworu płuczacego / Koncentrát mycího roztoku 20X / Koncentrát premývacieho roztoku 20X / 농축 세척액(20배) / Yıkama Çözeltisi Konsantresi 20X / Концентрат промывочного раствора 20X / Концентрат на разтвор за промиване 20X / 清洗溶液濃縮 20X

INH

Inhibitor / Inhibiteur / Ihibitore / Inhibidor / Inibidor / Hämmare / Αναστολέας / 抑制剂 / Inhibitorius / Inhibitor / 억제인자 / Inhibitor / ингибитор / Инхибитор / 抑制劑