

# НАБІР РЕАГЕНТІВ АНГІОТЕНЗИН І RIA

## Angiotensin I RIA

Кат. № : EIA-5309  
Кількість : 96

Дата випуску інструкції: 2019/03  
Версія 3.0



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

РАДІОІМУННИЙ АНАЛІЗ АНГІОТЕНЗИНУ І ДЛЯ IN VITRO ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ РЕНІНУ В ПЛАЗМІ (PRA) У ЛЮДСЬКІЙ ПЛАЗМІ  
**Для використання в in vitro діагностиці.**

### 1 ПРИНЦИП

Ангіотензин I RIA служить для кількісного визначення активності реніну в плазмі (PRA) за допомогою радіоімуноаналізу продукту реакції, ангіотензину I.

Генерація ангіотензину I є результатом ферментативного розщеплення субстрату реніну, ангіотензиногену, у зразках плазми в присутності інгібітора ACE (ACE - ензим, що перетворює ангіотензин), ферментативний інгібітор, який блокує перетворення ангіотензину I в ангіотензин II. Імунологічний аналіз ангіотензину I є аналізом радіоімунологічної конкуренції. Невідомі зразки, контролі і калібратори інкубують у поліклональних пробірках покритими з антитілами з <sup>125</sup>I-міченим ангіотензином I в якості трейсера. Після інкубації вміст пробірок аспірується. Потім пов'язану радіоактивність визначають в гамма-лічильнику. Встановлюється стандартна крива і невідомі значення визначаються інтерполяцією зі стандартної кривої.

### 2 ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ПОПЕРЕДЖЕННЯ

#### 2.1 Загальні зауваження

- Розчин ферментативного інгібітора, калібратори, контрольний зразок і аналізовані зразки необхідно охолоджувати до 2 ° C - 8 ° C перед піпетуванням.
- Флакони з калібраторами та контролями повинні бути відкриті якомога менше часу, щоб уникнути надмірного випаровування.
- Не змішуйте реагенти наборів різних лотів.
- Не використовуйте компоненти після закінчення терміну придатності, вказаного на етикетці.
- Стандартну криву потрібно встановити з кожним аналізом.
- Рекомендується проводити аналіз в двох примірниках.
- Кожну пробірку слід використовувати тільки один раз.

#### 2.2 Основні правила радіаційної безпеки

Придбання, володіння, утилізація та передача радіоактивних матеріалів регулюються положеннями країни використання. Дотримання основних правил радіаційної безпеки має забезпечити належний захист:

- Не їсти, не пити, не курити та не користуватися косметикою в присутності радіоактивних матеріалів.
- Не піпетуйте радіоактивні розчини ротом.
- Уникайте будь-якого контакту з радіоактивними матеріалами використовуючи рукавички та лабораторні халати.
- Всі маніпуляції з радіоактивними речовинами слід проводити у відповідному місці, подалі від коридорів та інших зайнятих територій.
- Радіоактивні матеріали потрібно зберігати у контейнері та у визначеному місці.
- Повідомлення про отримання та зберігання всіх радіоактивних продуктів має бути оновлено.
- Лабораторне обладнання та скляний посуд, які підлягають забрудненню, повинні бути відокремлені для запобігання перехресного забруднення різних радіоізотопів.
- Кожен випадок радіоактивного забруднення або втрати радіоактивного матеріалу повинен бути вирішений відповідно до встановлених процедур.
- З радіоактивними відходами слід поводитися відповідно до правил, встановлених у країні використання.

#### 2.3 Азид натрію

Деякі реагенти містять азид натрію в якості консерванту. Азид натрію може вступати в реакцію зі свинцем, міддю або латунню для утворення вибухонебезпечних азидів металів. Утилізуйте реагенти, промиваючи великою кількістю води через систему водопроводу.

Перекладач Романюк Н. П.

#### 2.4 Матеріали людського походження.

Всі зразки плазми повинні оброблятися так, як ніби вони здатні передавати гепатит або СНІД, і відходи повинні бути викинуті відповідно до правил країни.

#### 2.5 Класифікація небезпек GHS

##### Ангіотензин трейсер

УВАГА



- H317 Може викликати алергічну реакцію.  
P280 Використовуйте захисні рукавиці, захисний одяг та захист для очей/обличчя.  
P333+P313 При виникненні подразнення або висипання: отримати медичну консультацію/допомогу.  
P362+P364 Зняти забруднений одяг і випрати перед повторним використанням.  
Реакційна маса:  
5-хлоро-2метил-4-ізотіазолін-3-один [ЕС#247-500-7] та 2 - метил-4-ізотіазолін-3-один [ЕС# 220-239-6] (3:1) <0.05%

##### Інгібітор

НЕБЕЗПЕКА



- H317 Може викликати алергічну реакцію.  
H360 Може зашкодити фертильності та плоду.  
P201 Перед використанням ознайомтеся з інструкцією.  
P280 Використовуйте захисні рукавиці, захисний одяг та захист для очей/обличчя.  
P308+P313 У разі контакту з препаратом або занепокоєння: звернутися по медичну консультацію/допомогу.  
P333+P313 При виникненні подразнення або висипання: отримати медичну консультацію/допомогу.  
P362+P364 Зняти забруднений одяг і випрати перед повторним використанням.  
8-гідроксидіолін 0.1 – 0.2%

##### Противний розчин (20X)

НЕБЕЗПЕКА



- H360 Може зашкодити фертильності та плоду.  
P201 Перед використанням ознайомтеся з інструкцією.  
P280 Використовуйте захисні рукавиці, захисний одяг та захист для очей/обличчя.  
P308+P313 У разі контакту з препаратом або занепокоєння: звернутися по медичну консультацію/допомогу.

Борна кислота 0.1 – 0.3%

Декагідрат борату натрію 0.1 – 0.3%

Паспорт безпеки даних (SDS) доступний за запитом.

#### 3 ЗБІР ЗРАЗКА, ОБРОБКА, ЗБЕРІГАННЯ ТА РОЗВЕДЕННЯ

- o Зразки плазми потрібно збирати у холодні пробірки для ЕДТА.
- o Відокремте плазму від клітин шляхом центрифугування при температурі 2°C-8°C.
- o Зберігайте зразки плазми замороженими (<-20°C, максимум 1 рік) якщо детермінацію не слід проводити негайно, після завершення процедури, щоб уникнути повторного заморожування і розмороження.  
**Примітка:** Температура зразків плазми повинна зберігатися при 2 ° C - 8 ° C під час відбору проб. Уникайте подальших маніпуляцій для запобігання як утворення, так і розкладання ангіотензину I.

#### 4 МАТЕРІАЛИ, ЯКІ ПОСТАЧАЮТЬСЯ

Всі реагенти набору стабільні до закінчення терміну придатності, вказаного на етикетці, якщо зберігати при температурі 2°C - 8°C.

Умови зберігання реагентів після відновлення або розведення вказані в параграфі «Процедура».

Дати закінчення терміну придатності, вказані на етикетках компонентних флаконів, застосовуються для довгострокового зберігання тільки виробником, перед збором набору. Не беріть до уваги.

#### Пробірки покриті поліклональним антитілом до анти-ангіотензину I: 2 x 50 пробірок (готові до використання)

<sup>125</sup>I-позначений ангіотензин I: один 11 мл флакон (готовий до використання)

Флакон містить 260 КБк, на дату виробництва <sup>125</sup>I-міченого ангіотензину I в буфері з бичачим сироватковим альбуміном і барвником.

**Калібратори: шість 1 мл флаконів** (готові до використання)

Флакони з калібратором містять від 0 приблизно до 30 нг/мл ангіотензину I у буфері з бичачим сироватковим альбуміном та азидом натрію (<0.1%). Конкретна концентрація вказана на етикетці кожного флакону. Калібратори були відкалібровані до RP 86/536.

**Контрольний зразок: один флакон 1 мл.** (готовий до використання)  
Флакон містить ангіотензин I у буфері з бичачим сироватковим альбуміном та азидом натрію (<0.1%).  
Очікуване значення знаходиться в діапазоні концентрацій, зазначеного в додатку.

**Ферментний інгібітор: один флакон** (ліофілізований)  
Також містить азид натрію (<0.1%).

**Промивний розчин (20x): один флакон 50 мл**  
Концентрований розчин потрібно розбавити перед використанням.

**5 НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ**  
На додаток до стандартного лабораторного обладнання, необхідні такі елементи:

- Прецизійні мікропіпетки (75 мкл; 100 мкл)
- Регульовані дозатори (200 мкл; 300; 2 мл)
- Водяна ванна
- Льодяна ванна
- Міксер вортексного типу
- Горизонтальний або орбітальний шейкер
- Система аспірування
- Гамма-лічильник, встановлений на <sup>125</sup>I

## 6 РЕЗУЛЬТАТИ

Результати отримані зі стандартної кривої шляхом інтерполяції. Крива служить для визначення концентрацій ангіотензину I в зразках, що аналізуються одночасно з калібраторами.

### 6.1 Стандартна крива

Результати у відділі контролю якості були розраховані з використанням *зваженої кубічної* регресійної кривої з  $V / T$  або  $V / V_0$  на логітній вертикальній осі та концентрації аналіту калібраторів на лог горизонтальній осі (нг / мл).  
Інші методи скорочення даних можуть дати трохи інші результати.

Загальна активність: 68 511 cpm				
Калібратори	Ангіотензин I (нг/мл)	срт (n=3)	V/T (%)	V/V <sub>0</sub> (%)
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

(Приклад стандартної кривої, не використовувати для обчислення)

### 6.2 Зразки

Для контролю та зразків, інкубованих при 4 ° C або при 37 ° C, розміщують значення  $V/T$  або  $V/V_0$  на вертикальній осі і зчитують відповідну концентрацію ангіотензину I в нг / мл на горизонтальній осі.

### Обчислення активності реніну плазми

Визначення активності реніну в плазмі здійснюється опосередковано шляхом вимірювання *in vitro* генерування ангіотензину I (A-I) на годину. Фон A-I, визначений на зразках плазми, інкубований при 4 ° C, віднімають від A-I, генерованого при 37 ° C, для розрахунку PRA за допомогою наступного рівняння:

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

Де

A-I (37°C): концентрація ангіотензину у нг/мл зразка інкубованого при 37°C

A-I(4°C): концентрація ангіотензину у нг/мл зразка інкубованого при 4°C

## 7 ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

Рекомендується, щоб кожна лабораторія встановлювала свій власний нормальний діапазон. Значення PRA представлені нижче є лише індикативними.

N	Normal adult	2.5 <sup>th</sup> - 97.5 <sup>th</sup> percentile (ng/mL/h)	Median (ng/mL/h)	Min - Max (ng/mL/h)
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

**Детальна інформація про очікувані значення для дітей (залежно від віку) можна знайти в «ДОДАТКУ».**

## 8 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Гарна лабораторна практика передбачає, що контрольні зразки повинні використовуватися регулярно для забезпечення якості отриманих результатів. Ці зразки потрібно обробляти точно так само, як і зразки аналізу, тому рекомендується проаналізувати їх результати з використанням відповідних статистичних методів.  
У разі пошкодження упаковки або якщо отримані дані показують певні зміни продуктивності, зверніться до місцевого дистриб'ютора.

## 9 ПРОЦЕДУРА

### 9.1 підготовка та зберігання реагентів

#### Підготовка розчину ферментного інгібітора

Вміст флаконів відновлюється об'ємом холодної дистильованої води (4 ° C), зазначеної на етикетці, і перемішується. Відновлений ензиматичний інгібітор може зберігатися при температурі від 2 ° C - 8 ° C до закінчення терміну придатності набору.

#### Підготовка промивного розчину

Вилийте вміст флакону в 950 мл дистильованої води і гомогенізуйте. Розведений розчин може зберігатися при температурі від 2 ° C - 8 ° C до закінчення терміну придатності набору.

### 9.2 Ферментативний етап - генерація ангіотензину I

#### 9.2.1 Зауваження та рекомендації

- Ферментний інгібітор потрібно охолодити до 4°C перед додаванням до зразка.
- Потрібно строго дотримуватися обидвох температур інкубації (4 ° C та 37 ° C), навіть незначні зміни можуть викликати серйозні помилки у визначенні.
- Час ферментативної інкубації при 37 ° C слід визначати якомога точніше і зберігати у вузьких межах для цілого набору пробірок.
- Швидкість підвищення температури з 4 ° C до 37 ° C і наступне зворотне падіння є критичними. Циркуляційна водяна ванна зручна для нагрівання, і для охолодження рекомендується використовувати водяну баню з льодом.
- Швидкість підвищення і падіння температури може бути покращена за допомогою пробірок з матеріалу з хорошою теплопровідністю (скло).
- Якщо очікується низька активність зразка ренінової плазми час інкубації ферментного етапу можна продовжити до 3 годин.

#### 9.2.2 ферментативний етап - процедура

**Увага: не обробляйте калібратори та контрольний зразок.**

1. Додайте 200 мкл попередньо охолодженого ферментативного інгібітора до 200 мкл кожного зразка плазми та перемішайте.
2. Розділіть кожен зразок на дві аликвоти по 200 мкл.
3. Помістіть першу аликвоту у крижану водяну ванну у холодильник (призначено для визначення фонового ангіотензину I при температурі 4°C).
4. Помістіть другу у водяну ванну 37°C (призначена для визначення генерованого ангіотензину I при 37°C).
5. Інкубувати всі аликвоти протягом 1 години.
6. Після інкубації, охолодіть зразки від 37°C до 4°C швидко використовуючи крижану водяну ванну.

### 9.3 Процедура імуноаналізу

Етап 1	Етап 2	Етап 3
Додатки*	Інкубація	Розрахунок
До пробірок покритих антитілами послідовно додайте:  75 мкл калібратора, контролю або зразка після ферментативного інкубування при температурі 37°C та при температурі 4°C відповідно і 100 мкл трейсера.**	Інкубувати 2 години при температурі 18 ° C - 25°C струшуючи (>280 об/хв)	Обережно аспіруйте вміст пробірок (окрім 2 пробірок "загальний срт").  Промийте 2 мл промивного розчину. Двічі аспіруйте. Визначіть активність (срт) за 1 хв.
Перемішайте		

\*Калібратори, контрольний зразок та аналізовані зразки потрібно охолодити до 4°C перед піпетуванням. Обережно перемішайте зразки перед додаванням.

\*\*додайте 100 мкл трейсера до 2 додаткових пробірок, щоб отримати "загальний срт".

## 10 РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

(Більш докладно див. у інформаційному листі "ДОДАТОК")

Репрезентативні дані наведені тільки для ілюстрації. Продуктивність, отримана в окремих лабораторіях, може змінюватися.

### 10.1 Чутливість

Аналітична чутливість: 0.07 нг/мл  
Функціональна чутливість: 0.20 нг/мл

### 10.2 Специфічність

Антитіло використане для імуноаналізу є високо специфічним для ангіотензину I.

Надзвичайно низька перехресна реактивність була отримана щодо ангіотензину II.

Більше того, вплив можливих перешкод на результат PRA усувається вирахуванням фону.

### 10.3 Точність

#### 10.3.1 В межах аналізу

Зразки були проаналізовані у 25 повторях у тій самій серії. Коефіцієнти варіації виявилися нижчими або дорівнюють 11.3%.

#### 10.3.2 Між аналізами

Зразки були проаналізовані у 10 повторях різних серій. Коефіцієнт варіації виявилися нижчими або такі, що дорівнюють 20.9%.

### 10.4 Правильність

#### 10.4.1 Залежність від часу ферментативної інкубації

Зразки інкубували з ферментативним інгібітором протягом 60, 120 і 180 хвилин. Не було виявлено значного впливу на результати PRA.

#### 10.4.2 Тест розведення

Зразки плазми серійно розводили в нульовому калібраторі. Відсотки відновлення були отримані між 78% і 99%.

### 10.5 Діапазон вимірювання

(від аналітичної чутливості до найвищого калібратора): 0.07 приблизно до 30 нг/мл.

## 11 ОБМЕЖЕННЯ

Недотримання інструкцій може суттєво вплинути на результати.

Результати слід тлумачити з урахуванням загальної клінічної картини пацієнта, включаючи історію хвороби, дані додаткових тестів та іншу відповідну інформацію.

Не використовуйте гемолізовані, ліпемічні або іктеричні зразки.

Для аналізів, що використовують антитіла, існує можливість інтерференції гетерофільними антитілами у зразку пацієнта. Пацієнти, які регулярно піддавалися впливу тварин або отримували імунотерапію або діагностичні процедури з використанням імуноглобулінів або фрагментів імуноглобулінів, можуть виробляти антитіла, наприклад, НАМА, які заважають імуноаналізу.

Такі інтерферуючі антитіла можуть викликати помилкові результати. Ретельно оцінюйте результати пацієнтів, які підозрюються в наявності цих антитіл.



## ВИРОБНИК

DRG Інструментс ГмбХ  
вул. Фраунберг 18, 35039  
м. Марбург, Німеччина  
Тел: +49(0)64 21/170 00  
Факс: +49(0)64 21/170 050  
[www.drg-diagnostics.de](http://www.drg-diagnostics.de)  
e-mail: [drq@drq-diagnostics.de](mailto:drq@drq-diagnostics.de)



## УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»  
вул. Симона Петлюри, 25  
м. Івано-Франківськ, 76014  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)

