



DiaSorin S.p.A.
Via Crescentino snc - 13040 Saluggia (VC) - Italy
www.diasorin.com
Tel. +39.0161.4871



LIAISON® Direct Renin (310470) Прямой ренин

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор Liaison Прямой Ренин использует метод хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) для *in vitro* количественного определения ренина в человеческой плазме с ЭДТА. Измерение Ренина помогает в диагностике и лечении ряд типов гипертоний у людей. Тест необходимо проводить на анализаторах семейства Liaison.

2. ВВЕДЕНИЕ

Протеолитический фермент ренин (молекулярная масса около 42 кД) главным образом синтезируется окологлобулярными клетками почек в виде предшественника проренина и накапливается в гранулах в виде проренина или ренина. Высвобождение ренина из гранул происходит в ответ на такие физиологические стимулы, как уменьшение кровяного давления и объема, а также недостаток натрия. Образование ренина из неактивного предшественника проренина происходит в две стадии. Сначала проренин претерпевает обратимое конформационное изменение, после чего 46 аминокислотных остатков проренина протеолитически отщепляется с образованием активной молекулы гликопротеина длиной в 340 аминокислотных остатка. Часть проренина, избежавшего протеолитического расщепления, высвобождается в кровоток. Активация проренина может происходить различными способами, такими как криоактивация, закисление и частичный протеолиз. Секреция проренина контролируется нестрогим, тогда как секреция ренина находится под строгим контролем. Концентрация проренина в крови примерно в 10 раз превышает концентрацию ренина. Ренин относится к двухдоменным ферментам, так как N- и C-концевые участки молекулы практически идентичны. Каждый домен содержит по одному остатку аспартата, необходимому для проявления каталитической активности.

Ренин катализирует образование декапептида ангиотензина I путем протеолитического расщепления субстрата, называемого ангиотензиногеном, гликопротеина, синтезируемого клетками печени. Ангиотензин I, в свою очередь, превращается в октапептид ангиотензин II под действием ангиотензин-конвертирующего фермента; ангиотензин II индуцирует высвобождение альдостерона, а также ингибирует секрецию ренина по механизму отрицательной обратной связи. Ренин-ангиотензин-альдостероновая система играет первостепенную роль в поддержании водного гомеостаза и электролитного баланса и регуляции артериального давления. Определение плазматического ренина и альдостерона, таким образом, может быть использовано для оценки активности ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. Измерение концентрации общего ренина (активного ренина в совокупности с проренином) или проренина представляет меньший клинический интерес. Теоретически, ангиотензин II мог бы быть лучшим показателем активности системы, но он характеризуется коротким временем полужизни, кроме того, очень сложно диагностически дифференцировать ангиотензин I и ангиотензин II.

Ангиотензиноген, субстрат ренина, является лимитирующим фактором продукции ангиотензина II, его доступность вносит свой вклад в степень стимуляции/ингибирования ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. Ангиотензиноген не накапливается в клетках печени, где синтезируется, в отличие от ренина, накапливающегося в почках. Повышение уровня тиреоидных гормонов (гипертиреоз), эстрогенов (оральные контрацептивы, беременность) и глюкокортикоидов (синдром Кушинга, кортикотерапия) приводит к увеличению концентрации субстрата ренина в крови.

Ангиотензин II участвует в регуляции клубочковой фильтрации и почечного кровотока. Ренин секретируется почками в ответ на снижение перфузии почечной артерии (внутрипочечные барорецепторы), резорбции ионов натрия периферическими трубочками (утечка натрия), гипокалиемию или стимуляцию β-адренергических рецепторов. Кроме того, секреция ренина подавляется (с помощью механизма отрицательной обратной связи) высокими концентрациями плазматического ангиотензина II.

Повышение концентрации ренина наблюдается при:	Понижение концентрации ренина наблюдается при:
Вторичный альдостеронизм (тяжелая форма гипертонии почечной этиологии). Определение прямого ренина в комбинации с измерением концентрации альдостерона помогает в дифференциации первичного и вторичного гиперальдостеронизма	Первичный альдостеронизм (тяжелая форма гипертонии почечной этиологии). Определение прямого ренина в комбинации с измерением концентрации альдостерона помогает в дифференциации первичного и вторичного гиперальдостеронизма
Болезнь Аддисона	Солеудерживающая терапия стероидами
Диета с пониженным потреблением натрия, прием диуретиков, кровотечение	Стеноз почечной артерии
Хроническая почечная недостаточность	Терапия антидиуретическим гормоном (вазопрессином)
Состояние с потерей солей в результате заболеваний желудочно-кишечного тракта	Врожденная гиперплазия надпочечников с дефицитом 17-гидроксилазы
Ренин-продуцирующие опухоли почек	
Первичная гипертония	
Гипокалиемия	
Синдром Барттера (высокая концентрация ренина при отсутствии гипертонии)	
Стеноз почечной артерии.	

Как правило, пациенты со значением систолического кровяного давления выше 160 мм рт. ст. и/или диастолического кровяного давления выше 95-100 мм рт. ст. (гипертония) нуждаются в антигипертензивной терапии. Ежегодно из-за гипертонии умирает около 5 миллионов больных по всему миру.

Можно выделить два основных типа гипертонии:

1. Первичная гипертония (90-95%), причина которой неясна.
2. Вторичная гипертония (5-10%), причина которой может иметь следующее происхождение:
 - почечная недостаточность (2-3% сосудистого происхождения, 2-3% паренхимального происхождения);
 - гормональные нарушения;
 - опухоли эндокринной системы (очень редко);
 - ятрогенная гипертония (например, как результат приема контрацептивов, 1%).

В соответствии с клиническими проявлениями определение ренина должно проводиться в следующих случаях:

- значение диастолического кровяного давления превышает 90 мм рт. ст. (рекомендации Европейского общества гипертонии и Европейского общества кардиологов);
- значение систолического кровяного давления превышает 140 мм рт. ст. (рекомендации Европейского общества гипертонии и Европейского общества кардиологов);
- есть признаки гипокалиемии (для проведения дифференциальной диагностики вторичного гиперальдостеронизма или первичного гиперминералокортицизма);
- недостаточный отклик на текущую антигипертензивную терапию;
- обнаружен функциональный характер стеноза почечной артерии (путем определения ренина в почечных венах во время резкого подавления активности ангиотензин-конвертирующего фермента);
- повышение кровяного давления связано с раковой опухолью (для проведения дифференциальной диагностики эктопической продукции ренина).

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод количественного определения ренина представляет собой 1-ступенчатый хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA) по принципу сэндвича. Специфические мышинные моноклональные антитела к ренину и проренину связаны с магнитными микрочастицами, другие мышинные моноклональные антитела, специфичные только к ренину, мечены производным изолюминола (конъюгат антител с красителем). Во время инкубации молекулы ренина, присутствующие в калибраторах и контролях, так же как и проренин и ренин, присутствующие в пробах, связываются с антителами твердой фазы, после чего антитела, меченные изолюминолом, взаимодействуют с ренином, уже фиксированным на микрочастицах. Сэндвич образуется только при наличии в пробе молекул ренина. После инкубации не связавшиеся молекулы удаляются во время цикла промывки. Затем к реакционной смеси добавляются реактивы для активации, индуцирующие хемилюминесцентную реакцию. Интенсивность люминесценции, измеряемая с помощью фотоумножителя в относительных единицах интенсивности, отражает концентрацию ренина в калибраторах, контролях и пробах пациентов.

Для предотвращения получения завышенных результатов при обращении с пробой необходимо придерживаться мер, препятствующих активации проренина в пробе.

4. СОСТАВ НАБОРА

1. Картридж реактивов

Магнитные частицы (2,3 мл)	Магнитные частицы, покрытые мышинными моноклональными антителами ренину и проренину; БСА; фосфатно-солевой буфер; <0,1% азид натрия.
Конъюгат (13 мл)	Мышинные моноклональные антитела к ренину, меченные производным изолюминола (аминобутилэтилизолюминолом); неспецифические мышинные IgG; БСА; фосфатно-солевой буфер; консерванты.
Количество определений	100

Все реагенты готовы к использованию. Порядок расположения реактивов в таблице отражает их расположение в картридже реактивов.

2. Набор также содержит калибраторы

Калибратор А (5 x 2 мл)	Лиофилизированный порошок, содержащий человеческий рекомбинантный ренин (340-аминокислотная активная протеаза, экспрессированная в эмбриональных клетках почек человека, трансфицированных ренин-кодирующей генно-инженерной конструкцией), БСА, фосфатный буфер, консерванты, инертный краситель (желтый). Концентрация ренина в калибраторе (μМЕ/мл) определена с использованием международного стандарта ВОЗ (NIBSC код 68/356).
Калибратор В (5 x 2 мл)	Лиофилизированный порошок, содержащий человеческий рекомбинантный ренин (340-аминокислотная активная протеаза, экспрессированная в эмбриональных клетках почек человека, трансфицированных ренин-кодирующей генно-инженерной конструкцией), БСА, фосфатный буфер, консерванты, инертный краситель (синий). Концентрация ренина в калибраторе (μМЕ/мл) определена с использованием международного стандарта ВОЗ (NIBSC код 68/356).

5×2 Набор штрих-кодов для калибраторов А и В.

Необходимые материалы, не входящие в набор

<p>Анализатор LIAISON® XL Кюветы (каталожный номер X0016). Одноразовые наконечники (каталожный номер X0015). Набор запускающих реактивов XL (каталожный номер 319200). Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100). Мешки для отходов XL (каталожный номер X0025)</p>	<p>Анализатор LIAISON® Реакционные модули (каталожный номер 319130). Набор запускающих реактивов (каталожный номер 319102) или набор запускающих реактивов XL (каталожный номер 319200). Реактив для ежедневной проверки анализатора (каталожный номер 319150). Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100). Мешки для отходов (каталожный номер 450003). Набор растворов для обслуживания анализатора (каталожный номер 310990).</p>
---	---

Дополнительные материалы, рекомендованные для работы

LIAISON® Контроль прямого ренина (кат.№ 310471)

LIAISON® Дилуент для эндокринологических проб (кат.№319133)

5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Только для *In vitro* диагностики.

6. ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ

Нельзя есть, пить, курить и пользоваться косметикой в лаборатории проведения анализа.

Не набирать пипеткой ртом.


Избегать прямого контакта со всеми потенциальными инфекционными материалами, одевая лабораторные халаты, защитные очки и одноразовые перчатки. Тщательно мыть руки после проведения каждого анализа.

Избегать разбрызгивания или образования аэрозолей. Все капли биологического реагента необходимо удалять раствором гипохлорита натрия с 0,5 % активного хлора, а с использованными средствами необходимо обращаться как с инфицированными отходами.

Все образцы и реагенты, содержащие биологические материалы, используемые для проведения количественного анализа, должны рассматриваться как потенциально способные передавать инфекционные возбудители. Отходы должны обрабатываться с осторожностью и утилизироваться в соответствии с лабораторными инструкциями и нормативными положениями, действующими в каждой стране. Любые материалы для повторного использования должны быть надлежащим образом стерилизованы в соответствии с местными законами и инструкциями. Проверьте эффективность цикла стерилизации / дезактивации.


Нельзя использовать наборы или их компоненты по истечении срока годности, указанного на этикетке.

В соответствии с Постановлением ЕС 1272/2008 (CLP, Классификация, маркировка и упаковка) опасные реагенты классифицируются и маркируются следующим образом:

РЕАГЕНТЫ:	CONJ	CAL A (лиофилизированный), CAL B (лиофилизированный)
КЛАССИФИКАЦИЯ:	Сенсибил. кожи 1 H317	Раздраж. глаз. 2 H319 Раздраж. Кожи 2 H315 Сенсибил. кожи. 2 H317 Хронич. токс. в водной среде. 3H412
СИГНАЛЬНОЕ СЛОВО:	Предупреждение	Предупреждение
СИМВОЛЫ/ ПИКТОГРАММЫ:	 знак GHS07 Восклицательный	 GHS07 - Восклицательный знак
КРАТКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПАСНОСТИ:	H317 Может вызвать аллергическую кожную реакцию.	H315 Вызывает раздражение кожи; H317 Может вызывать аллергическую кожную реакцию; H319 Вызывает серьезное раздражение глаз; H412 Очень токсично для водных организмов, оказывает долгосрочное воздействие.

ПРЕДУПРЕДИТЕЛЬНЫЕ ФРАЗЫ:	P261 Избегать вдыхания пыли / дыма / газа / тумана / паров / аэрозолей. P280 Надевать защитные перчатки / защитную одежду / защиту для глаз / защиту лица. P363 Стирать загрязненную одежду перед повторным использованием.	P261 Избегать вдыхания пыли / дыма / газа / тумана / паров / аэрозолей. P280 Надевать защитные перчатки / защитную одежду / защиту для глаз / защиту лица. P305 +P351+P358 ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: ополоснуть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы при их наличии и если это возможно выполнить. Продолжить ополаскивание водой; P273 Избегать выброса в окружающую среду
СОДЕРЖИТ: (только вещества, предписанные в соответствии со статьей 18 Постановления ЕС 1272/2008).	реакционная масса: 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-она [ЕС № 247-500-7] и 2-метил-2Н-изотиазол-3-она [ЕС № 220-239-6] (3:1) (ProClin® 300).	реакционная масса: 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-она [ЕС № 247-500-7] и 2-метил-2Н-изотиазол-3-она [ЕС № 220-239-6] (3:1) (ProClin® 300). Соль сульфата гентамицина

В соответствии с Постановлением ЕС 1272/2008 (CLP), после восстановления |CAL|A| и |CAL|B| маркируются следующим образом:

РЕАГЕНТЫ:	CAL A (восстановленный), CAL B (восстановленный)
КЛАССИФИКАЦИЯ:	Сенсибил. кожи 1 H317
СИГНАЛЬНОЕ СЛОВО:	Предупреждение
СИМВОЛЫ/ ПИКТОГРАММЫ:	 GHS07 - Восклицательный знак
КРАТКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПАСНОСТИ:	H317 Может вызвать аллергическую кожную реакцию.
ПРЕДУПРЕДИТЕЛЬНЫЕ ФРАЗЫ:	P261 Избегать вдыхания пыли / дыма / газа / тумана / паров / аэрозолей. P280 Надевать защитные перчатки / защитную одежду / защиту для глаз / защиту лица. P363 Стирать загрязненную одежду перед повторным использованием.
СОДЕРЖИТ: (только вещества, предписанные в соответствии со статьей 18 Постановления ЕС 1272/2008).	реакционная масса: 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-она [ЕС № 247-500-7] и 2-метил-2Н-изотиазол-3-она [ЕС № 220-239-6] (3: 1) (ProClin® 300).

В соответствии с Постановлением ЕС 1272/2008 (CLP), **SORB** маркируется как EUN210, а Паспорта безопасности по можно получить по запросу.

Для дополнительной информации см. Паспорт безопасности на сайте www.diasorin.com

7. ПОДГОТОВКА НАБОРА ДЛЯ РЕАГЕНТОВ НАБОР РЕАГЕНТОВ

Пожалуйста, отметьте для себя указанные ниже важные меры предосторожности при работе с реагентами:

Ресуспендирование магнитных частиц

Магнитные частицы должны быть полностью ресуспендированы перед тем, как набор помещают на прибор. Следуйте указанным ниже шагам для обеспечения полного ресуспендирования:

Перед удалением герметичного покрытия вращайте маленькое колесо в отделении с магнитными частицами до тех пор, пока цвет суспензии не изменится на коричневый. Осторожное и тщательное перемешивание путем наклона из стороны в сторону может способствовать образованию суспензии магнитных частиц (необходимо избегать появления пены). Визуально проверьте дно флакона с магнитными частицами для подтверждения того, что все осевшие магнитные частицы ресуспендированы. Повторите при необходимости до полного ресуспендирования магнитных частиц. После удаления герметичного покрытия осторожно протрите поверхность каждой мембраны, чтобы удалить остаточную жидкость при необходимости.

Вспенивание реагентов

Для гарантирования оптимальной работы набора следует избегать вспенивания реагентов. Для

предотвращения этого следуют указанным ниже рекомендациям:

Перед использованием набора визуально обследуйте реагенты для того, чтобы гарантировать, что до начала использования набора вспенивание отсутствует. Если вспенивание имеет место после ресуспендирования магнитных частиц, поместите набор на прибор и оставьте до исчезновения пены. Набор готов к употреблению, если пена исчезла, и набор находится на панели прибора и перемешан.

Помещение набора в область реагентов

Анализатор LIAISON®

- Поместите набор в область реагентов анализатора с этикеткой со штрих-кодом, обращенной влево, и дайте ему постоять 30 минут перед использованием. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы.

- Следуйте руководству по эксплуатации анализатора, чтобы загрузить образцы и начать прогон.

Анализатор LIAISON® XL

- Анализатор LIAISON® XL оборудован встроенным полупроводниковым магнитным устройством, которое способствует получению дисперсии микрочастиц до размещения набора реагентов в область для реагентов анализатора. Для получения подробной информации обратитесь к руководству по эксплуатации анализатора.

a. Вставляют набор реагентов в нужную щель.

b. Дают набору реагентов оставаться в полупроводниковом магнитном устройстве в течение не менее 30 секунд (вплоть до нескольких минут). При необходимости повторяют.

- Перед использованием помещают набор в область реагентов анализатора с этикеткой, направленной влево, и оставляют его на 15 минут. Анализатор автоматически производит размешивание и полностью ресуспендирует магнитные частицы.

- Помещают набор в область для реагентов анализатора с этикеткой, обращенной влево, и дают ему постоять 15 минут перед использованием. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы.

- Следуют руководству по эксплуатации анализатора, чтобы загрузить образцы и начать прогон.

КАЛИБРАТОРЫ

Калибраторы тест-набора для определения ренина LIAISON®Renin поставляются лиофилизированными.

- Восстановить содержимое флакона с 2 мл деионизированной или дистиллированной воды.

- Оставить флаконы постоять в течение 10-15 минут при температуре 18-25° для достижения полного растворения.

- Перемешать тщательно флаконы осторожным вращением: во избежание пенообразования.

- Восстановленный раствор каждого калибратора должен быть помещен в пробирку из полистирола размером 12x75 мм. Прикрепите этикетки с соответствующими штрих-кодами на пробирки калибраторов и загрузите в оборудование. Каждый раствор калибратора позволяет выполнять, как минимум три калибровки.

После восстановления обратитесь к параграфу 8 относительно хранения калибраторов.

Для получения подробной информации относительно калибраторов в оборудовании, обратитесь к соответствующей инструкции по использованию LIAISON®.

Этикетки флаконов относятся только к лиофилизированным калибратором. Сразу после восстановления в соответствии с Постановлением 1272/2008 (CLP), калибраторы классифицируются как вызывающие раздражение кожи 1 H317. Для подробной информации обратитесь к параграфу 6.

КОНТРОЛИ

Обратитесь к инструкции по использованию набора контролей LIAISON®Renin относительно раздела по непосредственному приготовлению и обращению с контролями.

8. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ НАБОРА

НАБОР РЕАГЕНТОВ

- **В герметичном виде:** Стабилен при температуре 2-8°C до истечения срока годности.

- **В открытом виде на панели прибора или при температуре 2-8°C:** Минимальное время стабильности – восемь недель.

По истечении этого периода набор реагентов все еще можно продолжать использовать при условии, что

выяснено, что контроли находятся в ожидаемых пределах значений.

- Использовать всегда один и тот же анализатор для уже открытого набора реагентов.
- Использовать штатив для хранения, предоставляемый с анализатором для вертикального хранения набора реагентов.
- Не замораживать.
- При хранении держать в вертикальном положении для дальнейшего лучшего ресуспендирования магнитных частиц.
- Не подвергать воздействию прямого солнечного света.

КАЛИБРАТОРЫ

- **В лиофилизированном виде:** стабильны в течение 2-8°C до истечения срока годности. После получения калибраторы должны отстояться при температуре 2-8°C в вертикальном положении, чтобы предотвратить прилипание лиофилизованного препарата к крышке флакона.

- **Восстановленные:** Стабилен в течение двух недель при надлежащем хранении при температуре 2-8°C либо в герметичных флаконах либо в пробирках для транспортировки с запорной крышечкой. После восстановления калибраторы должны храниться при температуре 2-8°C в вертикальном положении во избежание прилипания раствора к флакону или колпачку пробирки.

Не оставляйте восстановленные калибраторы при комнатной температуре дольше времени, необходимого для обработки их в анализаторе.

Во время обработки соблюдайте соответствующие меры предосторожности, чтобы избежать бактериального загрязнения калибраторов.

9. ОТБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Когда проренин, неактивный предшественник ренина, криоактивируется в ренин во время работы с образцом, получают ошибочно завышенные результаты. Криоактивация происходит, когда образцы пациента охлаждали до температуры 4°C или ниже в течение продолжительного периода времени, или когда образцы охлаждены, но еще находятся в состоянии жидкости (например, не были заморожены). Криоактивация проренина в ренин случается быстрее в сыворотке крови. Концентрация проренина в крови приблизительно в 10 раз больше, чем концентрация ренина.

Единственный разрешенный материал для использования - это человеческая ЭДТА-плазма. Использование образцов сыворотки, гепаринизированной плазмы и цитратной плазмы давало более низкие значения ренина, и поэтому не рекомендуется.

Настоятельно рекомендуется соблюдать соответствующие стандарты по выполнению процедуры подготовки пациента и условий сбора образцов пациента.

Соберите кровь при комнатной температуре путем венопункции в силицированные стеклянные пробирки, вакуумные контейнеры (с фиолетовым колпачком) или подобные емкости, содержащие ЭДТА в качестве антикоагулянта.

Строго следуйте указаниям производителя по использованию пробирок, когда используете контейнеры для сбора образцов.

Условия центрифугирования находятся в диапазоне от 1,000 до 3,000 г в течение 10 минут. Условия могут значительно варьироваться в зависимости от рекомендаций производителей пробирок. Использование альтернативных условий центрифугирования должно быть согласовано и одобрено лабораторией.

Наличие гемолиза может указывать на неправильное обращение с образцами во время их сбора или обработки.

Взятие образцов, собранных натошак, рекомендуется, но не является обязательным условием. Пометьте время, день и положение пациента во время сбора образца крови (лежа на спине, стоя или сидя). Не подвергайте пробирки для ЭДТА-образца крови предварительному охлаждению и не храните пробирки во льду, а выполняйте процедуру обработки крови при комнатной температуре. Центрифугируйте пробирки в неохлажденной центрифуге, отделите ЭДТА-плазму от клеток сразу же после центрифугирования, затем поделите на аликвоты и немедленно глубоко заморозьте их до температуры -20°C или ниже.

Осторожно разморозьте образцы перед проведением испытания, смешайте оттаявшие образцы и проверьте на пузырьки воздуха и удалите их.

При условии соблюдения ограничений, описанных в этом параграфе, может осуществляться перевозка образцов.

Бесконтрольные транспортные условия (в отношении несоблюдения температуры и времени) могут привести к неточным аналитическим результатам. Перед транспортировкой образцов из образцов плазмы следует удалить свернувшуюся кровь, красные клетки или гелевый сепаратор. Образцы, очищенные от красных клеток, свернувшейся крови или гелевого сепаратора, содержащие твердые частицы, фибрин, мутность, липемию или остатки эритроцитов, или замороженные и размороженные образцы, или образцы, требующие проведение повторного исследования, требуют очищения дополнительным центрифугированием (рекомендуется 10,000 г в течение 10 минут) перед проведением исследования для получения непротиворечивых результатов.

Избегайте повторных циклов замораживания-размораживания.

Местные лаборатории обязаны использовать все доступные рекомендации и/или свои собственные исследования для определения особых критериев стабильности для своей лаборатории.

Рекомендуется проводить испытание образцов сразу же после их загрузки в оборудование.

Минимальный объем, требуемый для одного определения, равен 355 мкл образца (205 мкл образца + 150 мкл «мертвого» объема).

10. КАЛИБРОВАНИЕ

Испытание специфических калибраторов для количественного анализа позволяет выявить значения относительной световой единицы для построения заданной теоретической кривой. Каждый раствор для калибрования позволяет провести три калибрования.

Калибраторы должны использоваться только с той партией набора реагентов, с которой они совместимы. Не используйте калибраторы, подходящие к другим партиям в одном и том же анализе. Для определения правильного соответствия партий, номер партии калибратора указан на этикетке набора реагентов.

Повторное калибрование в трех прогонах является обязательным во всех случаях, если имеет место хотя бы одно из указанных ниже условий:

- Используют новую партию набора реагентов или набора стартеров.
- Предыдущее калибрование проводили более, чем четыре недели назад.
- Каждый раз используется новая партия набора реагентов.
- Анализатор подвергали сервисному обслуживанию.
- Значения контролей находятся вне ожидаемых диапазонов значений.

Анализаторы LIAISON®: Значения калибратора хранятся на этикетке набора в штрих-кодах.

Анализаторы LIAISON® XL: Значения калибратора хранятся на этикетке идентификатора радиочастотного ретранслятора (этикетка RFID).

11. ПРОЦЕДУРА КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА

Строгое соблюдение руководства по эксплуатации анализатора гарантирует соответствующее качество работы набора для количественного анализа.

Анализаторы LIAISON®. Каждый испытуемый параметр идентифицирован через штрих-коды на этикетке набора реагентов. В случае, если этикетка со штрих-кодом не может быть прочитана анализатором, набор нельзя использовать. Не выбрасывайте этот набор реагентов; свяжитесь с вашей местной службой технической поддержки DiaSorin для получения указаний.

Анализаторы LIAISON® XL. Каждый испытуемый параметр идентифицирован через информацию, зашифрованную на этикетке реагента идентификатора радиочастотного ретранслятора (этикетка RFID). В случае, если этикетка RFID не может быть прочитана анализатором, набор нельзя использовать. Не выбрасывайте этот набор реагентов; свяжитесь с вашей местной службой технической поддержки DiaSorin для получения указаний.

В случае, если штрих-код на наружной поверхности калибратора не читается, информация, имеющаяся на наружной поверхности этикеток калибратора (под штрих-кодом) может быть введена вручную в семействе анализаторов LIAISON®. Для подробной информацией обратитесь к инструкции по эксплуатации соответствующего анализатора.

Операции, выполняемые анализатором, следующие:

1. Внести калибраторы, контроли или образцы в реакционный модуль.
2. Внести покрытые магнитные частицы.
3. Внести конъюгат для образца.
4. Инкубировать.
5. Отмывать жидкой системой отмывки.
6. Добавлять стартерный набор и измерять испускаемый свет.

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроли LIAISON® следует прогонять в одной повторности для мониторинга работы набора. Контроль качества необходимо проводить путем прогона контролей тест-набора для определения прямого ренина LIAISON®Direct Renin:

- a) не менее одного раза/день использования,
- b) всегда, когда используют новый набор реагентов,
- c) всегда при калибровании набора,
- d) всегда при использовании новой партии стартерных реагентов,
- e) для оценки адекватности работы открытого набора после истечения восьми недель или в соответствии с руководствами или требованиями местных законодательств или аккредитованных организаций.

Значения контролей должны находиться в пределах ожидаемых диапазонов: во всех случаях, когда один или оба контроля находятся вне ожидаемых диапазонов, калибрование необходимо повторять и повторно проводить испытание контролей. Если значения контролей, полученных после успешного калибрования, постоянно находятся вне предварительно определенных диапазонов, то испытание повторяют с использованием неоткрытого флакона с контролем. Если значения контролей находятся вне ожидаемых диапазонов, результаты для пациента не регистрируют.

Характеристики других контролей должны быть оценены на их совместимость с этим количественным определением до их использования. Затем устанавливают соответствующие диапазоны значений для используемых материалов для проверки контроля качества.

13. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализатор автоматически рассчитывает концентрации ренина для неизвестных образцов, выраженных в мкМЕ/мл, и ранжирует результаты. Для получения подробной информации обратитесь к руководству по эксплуатации анализатора.

Калибраторы и контроли могут давать различные относительные световые единицы или результаты по дозам на анализаторах LIAISON® и LIAISON® XL, но результаты для пациентов являются эквивалентными.

Диапазон значений количественного анализа. Анализатор напрямую рассчитывает концентрации ренина до 500 мкМЕ/мл.

Эталонный стандарт: анализ основан на международном стандарте Всемирной организации здравоохранения, код Национального института биологических стандартов и контроля 68/356. Результаты выражены в мкМЕ/мл.

Ожидаемые значения: каждая лаборатория должна установить свой собственный диапазон ожидаемых значений для рассматриваемой популяции. Для оценки диапазона ожидаемых значений было проведено исследование на 178 образцах ЭДТА-плазмы (89 субъектов). Образцы были собраны натошак у внешне здоровых доноров крови мужского (n=49) и женского пола (n=40) кавказской национальности, а также афроамериканского, латиноамериканского и азиатского происхождения, которые соответствовали следующим критериям включения:

возраст ниже 18 лет, необходимость в назначении лекарств; необходимость в назначении врачом ограничивающей диеты; беременность; грудное вскармливание; прием оральных контрацептивов.

Кровь собирали между 7.00 и 10.00 утра у субъектов, находящихся либо в положении стоя, либо в положении лежа. Взятие образцов от пациентов, находящихся в положении стоя, происходило, когда пациенты сели, но после того, как они в течение 30 минут находились в положении стоя. Образцы от пациентов в лежачем положении были взяты после того, как прошло не менее 30 минут их нахождения в лежачем положении. Полученные результаты (5-^{ый} - 95-^{ый} процентиль) следующие:

4.4-46.1 мкМЕ/мл (образцы, полученные от пациентов в положении стоя) и 2.8-39.9 мкМЕ/мл (образцы, полученные от пациентов в положении лежа).

14. ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

- Реагенты следует использовать только в системе LIAISON®.
- Наборы калибраторов входят в особую партию и не должны заменяться набором реагентов из другой партии.
- Отдельные компоненты набора реагентов нельзя доставать из набора.
- Этот набор нельзя использовать после истечения срока годности, указанного на этикетке упаковки.
- Для получения надежных результатов необходимы профессиональная техника выполнения и строгое соблюдение инструкций.
- Поскольку на уровень анализируемого вещества может влиять условия приготовления образцов и их хранения, рекомендуем соблюдать стандарты по выполнению необходимых лабораторных процедур.
- Бактериальное загрязнение или тепловая инактивация образцов могут повлиять на результаты испытаний.
- Результат в ожидаемом диапазоне не исключает наличия заболевания и должен интерпретироваться совместно с клинической картиной пациента и другими диагностическими процедурами.
- Результаты теста сообщаются количественным образом. Тем не менее, диагноз заболевания не должен быть установлен на основе одного результата тестирования, но должен быть определен в сочетании с клиническими данными и в связи с медицинским заключением. Любое терапевтическое решение также должно приниматься с учетом специфики каждого конкретного случая.
- Анализ для определения прямого ренина LIAISON® Direct Renin был разработан для определения анализируемого вещества в его неповрежденном и неизменном состоянии. Разложение молекулы или криоактивизация проренина может повлиять на конечные результаты.
- Несмотря на то, что добавляются нейтрализующие НАМА агенты, чрезвычайно высокие концентрации НАМА (человеческие антимышьиные антитела) могут иногда влиять на результаты.
- Исследования уровней ренина в детском возрасте не проводились.
- Никаких помех из-за приема лекарств обнаружено не было.
- Образцы с уровнями ренина выше диапазона анализа могут быть предварительно разбавлены эндокринологическим разбавителем LIAISON® (Кат. № 319133).
- Не допускается использование наборов в разных типах анализаторов (LIAISON® и LIAISON® XL). Как только набор загружен в определенный тип анализатора, он должен использоваться в этом анализаторе все время до конца его использования. Из-за проблем прослеживаемости, вытекающих из вышеприведенного утверждения, может оказаться невозможным дать заключения при обследованиях пациентов при использовании различных типов анализаторов. Все исследования должны быть выполнены на одном отдельном типе анализатора (либо LIAISON®, либо LIAISON® XL).
- Образцы от пациентов, получающих терапевтические дозы биотина (витамин Н, В7 или В8), могут давать некорректные результаты в иммуноанализах, основанных на биотинилированных реагентах. В количественном анализе на определение прямого ренина LIAISON® Direct Renin не было обнаружено никаких помех при исследовании концентрации биотина до 3500 нг/мл в сыворотки крови (для подробной информации обратитесь к § 15.1).

15. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

15.1. Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность может определяться, как способность анализа точно обнаруживать определенное анализируемое вещество в присутствии потенциальных помех в матрице образца (например, гемолиз, липемия, билирубинемия).

Помехи

Контролируемые изучения потенциально затрудняющих веществ или состояний показали, что на анализ не влияли концентрации билирубина вплоть до 20 мг/мл, уровни биотина в сыворотке (вплоть до 3500 нг/мл), гемоглобина вплоть до 5000 мг/дл или триглицеридов до 3000 мг/дл.

Перекрестные реакции

Присутствие следующих потенциально перекрестно-реактивных молекул в анализе показало наличие следующих помех, указанных в таблице ниже.

Исследование проводилось в соответствии с рекомендациями Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI, США), документ № EP07-A2.

Состав	Добавленное количество	% перекрестной реактивности
Бета ₂ -микроглобулин	50	- 7.0
Катепсин D	1.5	- 6.9

Трипсин	1.6	- 4.2
Плазмин	100	0.8

В отсутствие обычного препарата проренина перекрестная реакция с проренином оценивалась с использованием двух промышленного препаратов рекомбинантного проренина и рекомбинантного ренина. Были приготовлены два набора с пятью растворами с одинаковой концентрацией двух молекул, и с помощью иммуноанализов на определение прямого ренина, проявивших отсутствие перекрестной реакции с проренином, были протестированы результаты образцов (диапазон: 0.78-12.5 нг/мл). Коэффициент отношения издаваемого сигнала при исследовании каждого раствора проренина к издаваемому сигналу при исследовании соответствующего раствора ренина приведен в таблице ниже.

Иммуноанализ	Исследование прямого ренина методом ИХЛА (иммунохемилюминесцентного анализа)	Исследование прямого ренина методом РИА (радиоиммуноанализа)	Анализ LIASON®Direct Renin на определение прямого ренина
Средний коэффициент отношения проренина к ренину	0.16	0.56	0.26

15.2. Точность анализатора LIAISON®

Различные образцы, содержащие различные концентрации специфических анализируемых веществ, были проверены методом количественного анализа для оценки повторяемости и воспроизводимости метода (то есть, вариативности внутри анализа и между анализами). Результаты относятся к группам исследованных образцов и не являются гарантированными спецификациями, поскольку могут существовать различия между разными лабораториями и местами исследования.

Повторяемость. В одном прогоне исследовали двадцать повторений для оценки внутрилабораторной повторяемости.

Повторяемость	A	B	C	D	Контроль 1	Контроль 2
Количество определений	20	20	20	20	20	20
Среднее значение (мкМЕ/мл)	15.1	33.8	82.2	258.0	27.1	99.0
Стандартное отклонение (мкМЕ/мл)	0.6	0.9	1.7	3.1	1.5	2.3
Коэффициент вариации (%)	3.7	2.8	2.0	1.2	5.6	2.4
Миним. значение (мкМЕ/мл)	13.4	32.4	78.5	252.8	24.1	95.3
Максим. значение (мкМЕ/мл)	15.7	35.9	84.6	264.4	29.9	102.5

Воспроизводимость. Для оценки воспроизводимости двадцать повторений проверяли в разные дни (1 или 2 прогона в день) с 2 различными партиями набора. Испытания проводили на двух площадках, в лаборатории компании (площадка 1) и в независимой лаборатории (площадка 2) при использовании одного и того же оборудования.

Воспроизводимость - Площадка 1	E	A	B	C	D	Контроль 1	Контроль 2
ПАРТИЯ № 02							
Количество определений	20	20	20	20	20	20	20
Среднее значение (мкМЕ/мл)	5.1	13.2	34.1	82.4	260.3	27.2	103.2
Стандартное отклонение (нг/мл)	0.5	1.6	1.9	4.3	12.3	1.9	4.4
Коэффициент вариации (%)	10.0	12.4	5.7	5.2	4.7	6.9	4.2
Минимальное значение (мкМЕ/мл)	4.1	11.4	30.8	74.3	241.6	24.3	93.7
Максимальное значение (мкМЕ/мл)	5.9	17.2	38.4	88.7	278.8	30.4	111.0
ПАРТИЯ № 03							
Количество определений	20	20	20	20	20	20	20
Среднее значение (мкМЕ/мл)	5.3	13.1	34.7	83.5	266.7	27.3	102.9

Стандартное отклонение (мкМЕ/мл)	0.5	1.7	1.8	2.8	7.8	1.8	3.3
Коэффициент вариации (%)	9.5	12.8	5.3	3.4	2.9	6.6	3.2
Минимальное значение (мкМЕ/мл)	4.4	10.9	31.8	77.4	254.9	24.3	93.9
Максимальное значение (мкМЕ/мл)	6.9	17.7	40.3	88.4	282.7	31.7	107.2
Коэффициент вариации между партиями (%)	2.7	0.6	1.2	0.9	1.7	0.4	0.2

Воспроизводимость - Площадка 2	A	B	C	D	Контроль 1	Контроль 2
ПАРТИЯ № 01						
Количество определений	20	20	20	20	20	20
Среднее значение (мкМЕ/мл)	18.8	38.4	79.1	228.6	27.5	97.2
Стандартное отклонение (мкМЕ/мл)	3.1	2.8	5.9	22.4	1.9	9.5
Коэффициент вариации (%)	16.5	7.4	7.5	9.8	7.0	9.8
Минимальное значение (мкМЕ/мл)	15.8	34.2	61.1	188.6	24.2	83.0
Максимальное значение (мкМЕ/мл)	26.4	44.1	88.9	270.0	32.0	116.5
ПАРТИЯ № 03						
Количество определений	20	20	20	20	20	20
Среднее значение (мкМЕ/мл)	15.8	34.8	85.4	260.8	26.8	103.2
Стандартное отклонение (мкМЕ/мл)	2.7	2.1	5.2	26.5	2.8	7.5
Коэффициент вариации (%)	17.1	6.1	6.1	10.2	10.6	7.3
Минимальное значение (мкМЕ/мл)	12.9	32.3	75.2	214.5	22.1	91.0
Максимальное значение (мкМЕ/мл)	22.7	38.4	93.7	306.2	31.7	116.3
Коэффициент вариации между партиями (%)	12.2	7.0	5.4	9.3	1.9	4.2

15.3. Точность анализатора LIAISON® XL

Различные образцы, содержащие различные концентрации специфического анализируемого вещества, были проверены методом количественного анализа для оценки повторяемости и воспроизводимости метода (то есть, вариативности внутри анализа и между анализами). Вариативность, показанная в таблицах ниже, не привела к неправильной классификации образцов.

Повторяемость. В одном прогоне исследовали двадцать повторений для оценки повторяемости.

Повторяемость	1	2	3	4	5	6	7	Контроль 1	Контроль 2
Количество определений	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Среднее значение (мкМЕ/мл)	3.471	11.68	22.35	47.37	93.52	169.1	267.9	29.98	111.0
Стандартное отклонение (мкМЕ/мл)	0.169	0.30	0.82	1.99	2.36	5.41	11.44	0.64	2.64
Коэффициент вариации (%)	4.87	2.58	3.67	4.21	2.52	3.20	4.27	2.12	2.38
Минимальное значение (мкМЕ/мл)	3.156	10.99	20.72	40.65	87.94	160.8	250.4	28.96	105.0
Максимальное значение (мкМЕ/мл)	3.790	12.11	24.09	49.54	98.68	180.0	287.3	31.32	115.5

Воспроизводимость. Для оценки воспроизводимости двадцать повторений проверяли в разные дни (1 или 2 прогона в день).

Воспроизводимость	1	2	3	4	5	6	7	Контроль 1	Контроль 2
Количество определений	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Среднее значение (мкМЕ/мл)	5.779	15.83	21.70	42.09	78.43	158.0	255.9	28.38	107.5
Стандартное отклонение (мкМЕ/мл)	0.753	1.29	1.84	3.66	5.49	11.80	20.02	1.93	7.87
Коэффициент вариации (%)	13.03	8.12	8.49	8.69	7.01	7.47	7.82	6.81	7.32
Минимальное значение (мкМЕ/мл)	4.548	13.34	18.39	35.04	65.44	132.3	204.9	24.72	92.07
Максимальное значение (мкМЕ/мл)	7.121	17.73	24.98	49.98	85.80	172.5	281.2	31.47	120.1

15.4. Линейность с помощью теста на разбавление

Два образца плазмы с высоким уровнем ренина тестировали в таком виде, как они есть, и затем последовательно разбавленные с не содержащей ренин плазмой. Измеренные уровни по отношению к ожидаемым уровням ренина анализировали с помощью линейной регрессии. Коэффициенты корреляции (r)

варьировались от 0.999 до 1.000.

Разбавление	даемая концентрация, (мкМЕ/мл)	ренная концентрация, (мкМЕ/мл)	% восстановления	Разбавление	даемая концентрация, (мкМЕ/мл)	ренная концентрация, (мкМЕ/мл)	% восстановления
неразбавленный	—	333.4	—	неразбавленный	—	> 500.0	—
1:2	166.7	190.5	114.3	1:2	-	396.5	-
1:4	83.4	91.7	110.1	1:4	198.3	200.0	100.9
1:8	41.7	47.3	113.5	1:8	99.1	103.1	104.0
1:16	20.8	24.7	118.6	1:16	49.6	51.3	103.6
1:32	10.4	12.1	116.3	1:32	24.8	26.2	105.8

Два дополнительных образца сыворотки с уровнем ренина выше диапазона анализа тестировали в таком виде, как они есть, и затем последовательно разбавленные с эндокринологомическим разбавителем LIASON®. Измеренные уровни по отношению к ожидаемым уровням ренина анализировали с помощью линейной регрессии. Коэффициенты корреляции (r) были равны 1.000.

Разбавление	даемая концентрация, (мкМЕ/мл)	ренная концентрация, (мкМЕ/мл)	% восстановления	Разбавление	даемая концентрация, (мкМЕ/мл)	ренная концентрация, (мкМЕ/мл)	% восстановления
неразбавленный	-	> 500.0	-	неразбавленный	-	> 500.0	-
1:2	-	365.8	-	1:2	-	> 500.0	-
1:4	182.9	192.9	105.5	1:4	-	397.3	-
1:8	91.5	98.2	107.4	1:8	198.7	209.5	105.5
1:16	45.7	53.6	117.2	1:16	99.3	109.3	110.0
1:32	22.9	25.5	111.5	1:32	49.7	54.9	110.5

15.5. Достоверность анализа с помощью теста на восстановление

Два набора, сформированы из образцов с высоким, низким и нормальным уровнем ренина (образцы X и Y - в наборе 1 и образцы W и Z - в наборе 2) смешивают в соотношениях 1:5, 1 2, 1:1, 2:1 и 5:1 и анализируют. Процент восстановлений определяли по результатам неразбавленных образцов. Измеренные концентрации по отношению к ожидаемым концентрациям ренина анализировали с помощью линейной регрессии. Коэффициенты корреляции (r) варьировались от 0.996 до 1.000.

Набор	Ожидаемое значение (мкМЕ/мл)	Измеряемое значение (мкМЕ/мл)	Восстановление(%)	Набор	Ожидаемое значение (мкМЕ/мл)	Измеряемое значение (мкМЕ/мл)	Восстановление(%)
X неразбавленный	-	5.3	-	W неразбавленный	-	23.9	-
5:1	25.8	24.5	95.0	5:1	65.4	62.3	95.2
2:1	46.3	49.4	106.6	2:1	106.9	103.4	96.7
1:1	66.9	69.3	103.6	1:1	148.4	148.4	100.0
1:2	87.4	92.1	105.4	1:2	189.9	186.6	98.2
1:5	107.9	108.0	110.1	1:5	231.4	230.0	99.4
Y неразбавленный	-	128.4	-	Z неразбавленный	-	272.9	-

15.6. Эффект насыщения высокой дозой

Эффект насыщения высокой дозой определяли путем добавления рекомбинантного ренина в накопитель с человеческой плазмой до максимальной величины 150,000 мкМЕ/мл.

Всегда, когда проводят испытание образцов, содержащих чрезвычайно высокие концентрации анализируемого вещества, эффект насыщения может исказить результат и привести к концентрациям, которые будут ниже, чем реальные. Анализ эффекта насыщения был проведен путем тестирования образца с добавлением к нему высоких концентраций ренина. Все образцы дали значения концентрации выше диапазона анализа, что указывает на отсутствие ошибочной классификации образцов.

15.7. Аналитическая и функциональная чувствительность

Аналитическая чувствительность (предел обнаружения) определяется как минимальная обнаруживаемая доза, которую можно отличить от нуля. Аналитическая чувствительность, рассчитанная в соответствии с руководящими принципами Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI, США), документ №

EP17-A, находится в диапазоне от 0.52 мкМЕ/мл до 0.97 мкМЕ/мл (как определено во время нескольких прогонов тест-набора, разных партий набора и приборов).

Аналитическая чувствительность, определяемая как минимальная обнаруживаемая доза, которую можно отличить от нуля с помощью двух средних отклонений (то есть на два средних отклонения выше нуля), колеблется от 0.13 мкМЕ/мл до 0.53 мкМЕ/мл (как определено во время нескольких прогонов тест-набора, разных партий набора и приборов).

Функциональная чувствительность, определяемая как концентрация, при которой коэффициент вариации между анализами (CV) превышает 20%, находится в диапазоне от 1.60 мкМЕ/мл до 1.96 (как определено во время нескольких прогонов тест-набора, разных партий набора и приборов).

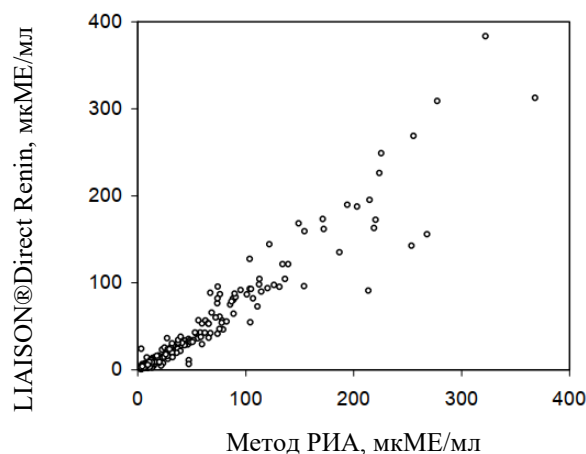
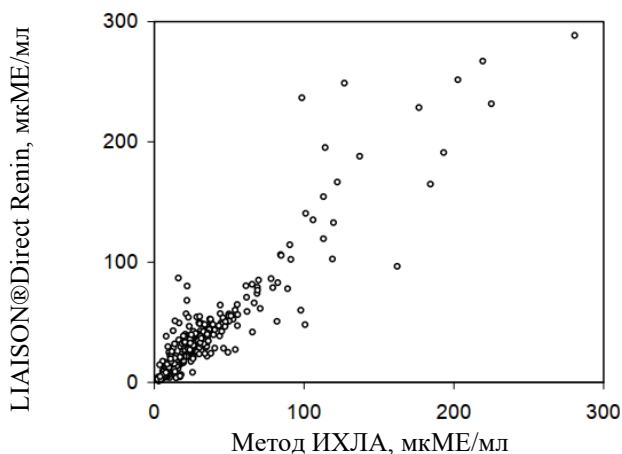
15.8. Сравнение методов

Результаты тест-набора на определение прямого ренина LIAISON®Direct Renin сравнивали с результатами двух эталонных методов (ИХЛА и РИА). С помощью анализа линейной регрессии были получены следующие корреляции:

LIAISON®Direct Renin = 1.097 x эталонный метод ИХЛА +2.765. Коэффициент корреляции $r = 0.927$ ($n = 325$).

LIAISON® Direct Renin = 0.900 x эталонный метод РИА +4.304. Коэффициент корреляции $r = 0.957$ ($n = 212$).

Номинальные значения калибраторов тест-набора на определение прямого ренина LIAISON® Direct Renin предназначены для отображения точных данных.



LIAISON®Direct Renin (Кат. № 310470)
EN – 200/007-906, 09 -2019-06

Перевод соответствует оригиналу. Переводчик: Воднева Ю.

