



DiaSorin Inc
1951 Northwestern Ave – Stillwater, MN 55082 – USA
Tel. 1.651.439.9710 – Fax 1.651.351.5669



LIAISON® Aldosterone (310450)

Альдостерон

1. НАЗНАЧЕНИЕ

LIAISON® Aldosterone - это хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA) для количественного определения альдостерона в человеческой сыворотке, плазме с ЭДТА и обработанных пробах мочи с помощью анализаторов линейки LIAISON®. Измерение альдостерона проводят для диагностики и лечения первичного альдостеронизма (заболевания, вызванного чрезмерной секрецией альдостерона надпочечниками), гипертонии, вызванной первичным альдостеронизмом, селективного гипоальдостеронизма, отечных состояний и других случаев дисбаланса электролитов. Тест проводится на анализаторах линейки LIAISON®.

2. ВВЕДЕНИЕ

Альдостерон – стероидный гормон молекулярной массой 360,4 Да, основной минералокортикоид, который выделяет кора надпочечников. Роль альдостерона заключается в управлении метаболизмом натрия и калия и, следовательно, в регуляции объема жидкости в организме. Альдостерон снижает экскрецию натрия и увеличивает экскрецию калия почками, потовыми и слюнными железами. Альдостерон также реабсорбирует натрий в толстой кишке. В каждом из этих органов альдостерон действует через связывание с минералокортикоидными рецепторами, и, в первую очередь, с теми, что находятся в кортикальных собирающих протоках почек. Регулирование баланса натрия и калия достигается с помощью целого комплекса гормонов, взаимодействующих с помощью системы обратных связей. Ренин-ангиотензиновая система (РАС) представляет собой наиболее важную отрицательную обратную связь для регулирования объема жидкости в организме. РАС действует как через длинную петлю обратной связи (связанную с изменениями объема жидкости), так и через короткую петлю (с прямым торможением секреции ренина с помощью ангиотензина II). Другая петля обратной связи, действуя одновременно, контролирует уровень калия в сыворотке. В ответ на внешние раздражители различные контуры обратной связи, действуя согласованно, регулируют концентрацию альдостерона с целью поддержания гомеостаза объема жидкости в организме, кровяного давления и уровня калия.

Альдостерон действует на кортикальные собирающие протоки, увеличивая абсорбцию натрия и уменьшая абсорбцию калия. В результате объем жидкости в организме и кровяное давление увеличиваются, и на это реагируют ренин-секретирующие юкстагломерулярные клетки, снижая синтез ренина. Уменьшение секреции ренина приводит к меньшему образованию ангиотензина I, в результате чего снижается уровень ангиотензина II. Снижение уровней кратковременных стимуляторов секреции альдостерона приводит к снижению синтеза и секреции этого гормона. Влияние альдостерона на гомеостаз калия также регулируется – прежде всего, с помощью механизма отрицательной обратной связи. Повышение уровня калия стимулирует синтез альдостерона (альдостерон уменьшает реабсорбцию калия, тем самым увеличивая его экскрецию). Последующее за этим снижение уровня плазматического калия приводит к меньшей стимуляции калием клеток клубочковой зоны надпочечников, что снижает синтез и секрецию альдостерона.

Измерение уровня ренина и альдостерона проводят при исследовании пациентов с подозрением на следующие заболевания:

- **Первичный гиперальдостеронизм** (ПГА, синдром Конна) представляет собой заболевание, вызванное чрезмерной секрецией альдостерона в надпочечниках, когда высокие уровни циркулирующего альдостерона наблюдаются при низкой концентрации ренина или низком уровне его активности в плазме. Такая чрезмерно высокая секреция альдостерона (не подавляемая при повышении уровня натрия) приводит к нарушению работы сердечно-сосудистой системы, ингибированию активности ренина в плазме, артериальной гипертонии, задержке в организме натрия и калия. Если заболевание протекает в тяжелой форме и в течение долгого времени, это может привести к гипокалиемии. Основными причинами развития ПГА (>90% случаев) являются аденома надпочечников и односторонняя или двусторонняя гиперплазия коры надпочечников. Редкие случаи связаны с наследственным глюкокортикоид-корригируемым альдостеронизмом.

- **Вторичный гиперальдостеронизм** вызывается нарушениями активации связи ренин-ангиотензин-альдостерон, что приводит к избыточной продукции альдостерона (при почечно-сосудистых заболеваниях, избыточном выведении хлорида натрия из организма, калиевой нагрузке, сердечной недостаточности, осложненной асцитом, беременности, синдроме Барттера).

- **Гипоальдостеронизм** – редкое состояние, часто вызываемое первичной надпочечниковой недостаточностью, при котором низкие концентрации альдостерона сопровождаются высокими концентрациями ренина в плазме. При гипоальдостеронизме, вызванном низкой секрецией ренина, низкий уровень ренина в плазме наблюдается при низком уровне плазматического альдостерона.

На секрецию ренина и альдостерона влияет множество факторов (возраст, положение в пространстве, баланс натрия и калия, время суток, стадия менструального цикла и т.д.), поэтому оценку уровня этих гормонов следует проводить в строго контролируемых условиях.

Определение альдостерона можно выполнять в пробах сыворотки, плазмы с ЭДТА и суточной мочи. Для верной клинической оценки результатов следует помнить, что определение 18-оксо-производного альдостерона в суточной моче является суммарным показателем дневной секреции альдостерона, в то время как плазматические концентрации могут отражать только сиюминутное состояние. Поскольку плазматическая концентрация альдостерона демонстрирует характерные пики, соответствующие циркадному ритму, не рекомендуется делать выводы по результатам однократного измерения. Измерение альдостерона в плазме используется для срочных исследований (таких как исследования циркадных ритмов, изменений в зависимости от положения тела, немедленного действия лекарственных препаратов), тогда как анализ суточной мочи помогает определить взаимосвязь между экскрецией натрия и уровнем альдостерона, а также может быть использован, чтобы исключить высокую секрецию альдостерона из списка возможных причин других патологических состояний.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод количественного определения альдостерона представляет собой 2-ступенчатый прямой конкурентный хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA) с применением овечьих моноклональных антител для связывания молекул альдостерона.

Принципиальными составляющими тест-системы являются магнитные частицы (твердая фаза), покрытые антителами, специфичными к овечьим моноклональным антителам к альдостерону. Альдостерон, меченный производным изолюминола, конкурирует с альдостероном, содержащимся в калибраторах, контрольных образцах и пробах пациентов.

На первом этапе образец инкубируют со специфичными моноклональными антителами к альдостерону. Затем добавляют меченый конъюгат альдостерона, который конкурирует с альдостероном в течение еще некоторого времени. После второй инкубации несвязавшиеся молекулы удаляют с помощью цикла промывки. Затем к реакционной смеси добавляются реактивы для активации, индуцирующие хемилюминесцентную реакцию. Интенсивность люминесценции, измеряемая с помощью фотоумножителя в относительных единицах интенсивности, обратно пропорциональна концентрации альдостерона в калибраторах, контролях и пробах пациентов.

4. СОСТАВ НАБОРА

Магнитные частицы (2,4 мл)	SORB	Магнитные частицы, покрытые антителами, специфичными к овечьим антителам, овечьи антитела к альдостерону в буферной среде, содержащей фосфатный буфер/БСА; <0,1% азид натрия.
Конъюгат (4,5 мл)	CONJ	Полимер собственного производства, связанный с альдостероном и производным изолюминола, БСА, фосфатный буфер/Даназол, с ProClin® 300 и гентамицина-сульфатом в качестве консервантов.
Буфер (28,0 мл)	BUF AS	Фосфатный буфер, ЭДТА, ослиная и овечья сыворотка с ProClin® 300 и гентамицина-сульфатом в качестве консерванта и инертный желтый краситель.
Количество определений		100

ProClin® является зарегистрированным товарным знаком компании Dow и ее аффилиатов.

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

Набор также содержит калибраторы

Калибратор 1 2 × 3,0 мл	CAL 1	Человеческая, не содержащая гормонов, сыворотка, с низким уровнем альдостерона, фосфатный буфер с добавлением ProClin® 300 и гентамицина-сульфата в качестве консервантов.
Калибратор 2 2 × 3,0 мл	CAL 2	Человеческая, не содержащая гормонов, сыворотка, с высоким уровнем альдостерона, фосфатный буфер с добавлением ProClin® 300 и гентамицина-сульфата в качестве консервантов.

Необходимые материалы, не входящие в набор (в зависимости от анализатора)

Анализатор LIAISON® XL	Анализатор LIAISON®
Системная/промывочная жидкость LIAISON® (каталожный номер 319100)	Системная/промывочная жидкость LIAISON® (каталожный номер 319100)
Мешки для твердых отходов LIAISON® XL (каталожный номер X0025)	Мешки для твердых отходов LIAISON® (каталожный номер 450003)
Реакционные кюветы LIAISON® XL (каталожный номер X0016)	Реакционные модули LIAISON® (каталожный номер 319130)

Набор запускающих реактивов LIAISON® XL (каталожный номер 319200)	Набор запускающих реактивов LIAISON® (каталожный номер 319102)
Одноразовые наконечники LIAISON® XL (каталожный номер X0015)	или Набор запускающих реактивов LIAISON® XL (каталожный номер 319200)
	Набор растворов для обслуживания LIAISON® (каталожный номер 310990)
	Реактив для ежедневной проверки анализатора LIAISON® (каталожный номер 319150)

Необходимые материалы, не входящие в набор

LIAISON® Контроль альдостерона (каталожный номер 310451)
--

Дополнительные материалы, рекомендованные для работы

0,2 N раствор HCl
0,9% раствор NaCl
LIAISON® Нейтрализующий буфер для альдостерона мочи (каталожный номер 310452)
LIAISON® Раствор для разведения эндокринологических проб (каталожный номер 319133)

5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

ТОЛЬКО ДЛЯ *IN VITRO* ДИАГНОСТИКИ – Не предназначен для внутреннего или наружного применения человеком или животными.

Общие правила безопасности:

- Все образцы, биологические реагенты и материалы, используемые в тест-системе, должны рассматриваться как потенциально способные к переносу инфекционных агентов. Следует избегать их контакта с кожей, глазами или слизистыми оболочками. Соблюдайте правила профессиональной гигиены во время проведения исследований.
- Запрещается есть, пить, курить и пользоваться косметическими средствами в лаборатории.
- Запрещается пипетировать растворы ртом.
- Избегайте прямого контакта с потенциально инфекционными материалами; используйте защитную одежду, защитные очки и одноразовые перчатки.
- Тщательно мойте руки после проведения каждого теста.
- Избегайте разбрызгивания растворов или образования аэрозолей при обращении, разбавлении или переносе проб или реагентов. Любой разлитый реагент должен быть нейтрализован с помощью 10% раствора отбеливателя (содержащего 0,5% гипохлорита натрия) и утилизирован в том же порядке, что и потенциально инфицированные материалы.
- Отходы необходимо утилизировать в соответствии с местными требованиями санитарно-эпидемиологического контроля и экологического контроля.
- Не используйте наборы или отдельные компоненты по истечении срока годности, указанного на этикетке.

Химическая опасность и информация о безопасности: Реагенты в этом наборе классифицированы в соответствии со Стандартом информирования об опасных веществах (США, Администрация безопасности труда и здравоохранения); законами штатов США о праве на информацию; нормативными актами Канадского центра по профессиональной гигиене и безопасности труда и применимым директивам Европейского союза (см. Паспорт безопасности для дополнительной информации).

Реагенты, содержащие материалы человеческого происхождения:

Предупреждение: обращаться как с потенциально инфицированным материалом.

Каждый образец сыворотки/плазмы, полученный у доноров и использованный при производстве данного продукта, был протестирован с помощью методов, одобренных Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств (FDA) США, и каждый из них был признан отрицательно реагирующим на наличие антител к вирусу иммунодефицита человека 1 и 2 (ВИЧ-1/2), поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) и антител к вирусу гепатита С (HCV). Несмотря на то, что эти методы обладают высокой точностью, их использование не может гарантировать обнаружения всех инфицированных образцов. Эти образцы также могут содержать возбудителей других заболеваний человеческого происхождения, для которых не существует одобренных тестов. Поскольку ни один метод тестирования не может дать полной гарантии отсутствия ВИЧ-инфекции, гепатита В и С или других инфекционных агентов, все продукты, содержащие компоненты человеческого происхождения, должны подвергаться обработке в соответствии с универсальными мерами предосторожности, а в случае необходимости – в соответствии со стандартами GLP, как описано в действующем руководстве Центров по контролю и профилактике заболеваний США и Национального института здравоохранения «Биобезопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях» (BMBL), или в действующей редакции Руководства по биологической безопасности в лаборатории, выпущенного Всемирной организацией здравоохранения.

GHS/CLP:	ProClin®	Азид натрия
Кат №	55965-84-9	26628-22-8
Реагенты	Конъюгат Калибратор 1 Калибратор 2 Буфер	Магнитные частицы
КЛАССИФИКАЦИЯ ВЕЩЕСТВА:	Кожная сенсибилизация, категория 1	Не требуется
СИГНАЛЬНОЕ СЛОВО:	Внимание!	Не требуется
ПИКТОГРАММЫ:	GHS07 – восклицательный знак 	Не требуется
УКАЗАНИЕ НА ОПАСНОСТЬ:	H317 - Может вызывать аллергическую реакцию кожи.	Не требуется
ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ:	P261 – Избегать вдыхания взвесей и аэрозолей вещества. P272 – Загрязненную веществом рабочую одежду не следует выносить с рабочего места. P280 – Надевать защитные перчатки и одежду, и использовать защиту для глаз	Не требуется

Реагенты, содержащие азид натрия: азид натрия может реагировать со свинцом или медью с образованием взрывоопасных азидов металлов. При удалении этих реагентов промывайте все большим количеством воды, чтобы предотвратить накопление азидов. Для получения дополнительной информации обратитесь к инструкции "Обеззараживание стоков лаборатории для удаления солей азидов", в Руководстве по безопасной эксплуатации, номер CDC-22, изданном Центром по контролю и профилактике заболеваний, Атланта, Джорджия, 1976.

6. ПОДГОТОВКА ИНТЕГРАЛЬНОГО КАРТРИДЖА РЕАКТИВОВ

Пожалуйста, обратите внимание на следующие важные меры предосторожности при работе с реагентами:

6.1. Ресуспендирование магнитных частиц

Магнитные частицы должны быть полностью ресуспендированы до того, как интеграл будет помещен в прибор.

Чтобы обеспечить полное ресуспендирование частиц, выполните следующие действия:

- Перед удалением алюминиевых мембран с флаконов, проверните колесо флакона с магнитными частицами, пока цвет суспензии не станет равномерно коричневым. Аккуратно перемешайте их содержимое, держа интеграл горизонтально, чтобы избежать пенообразования. Осмотрите нижнюю часть флакона, чтобы убедиться, что все магнитные частицы были ресуспендированы.
- При необходимости повторите процедуру до полного ресуспендирования магнитных частиц.
- После удаления алюминиевой мембраны тщательно протрите поверхность каждого флакона для удаления остатков жидкости, если необходимо.

6.2. Вспенивание реагентов

Чтобы обеспечить оптимальные рабочие характеристики интеграла, следует избегать пенообразования реагентов.

Придерживайтесь приведенных ниже рекомендаций по предотвращению вспенивания:

- Перед использованием интеграла осмотрите реагенты, чтобы убедиться в отсутствии пены. Если после ресуспендирования магнитных частиц пена появилась, поместите интеграл в анализатор и подождите, пока пена исчезнет. Интеграл готов к использованию только тогда, когда пена исчезла, а интеграл с ресуспендированными частицами находится на борту.

6.3. Установка интеграла в область

загрузки реактивов Анализатор

LIAISON®

- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 30 минут. Анализатор автоматически перемешает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

Анализатор LIAISON® XL

- Анализатор LIAISON® XL оснащен встроенным твердотельным магнитным устройством, которое помогает ресуспендировать микрочастицы до размещения интеграла с реагентами в области загрузки реактивов анализатора. Для уточнения деталей обратитесь к руководству по эксплуатации анализатора.
 - а. Вставьте интеграл с реагентами в специальный разъем.
 - б. Оставьте интеграл с реагентами в твердотельном магнитном устройстве, по крайней мере, на 30 секунд (допускается до нескольких минут). Повторите по мере необходимости.

- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 15 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

7. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ ИНТЕГРАЛЬНОГО КАРТРИДЖА РЕАКТИВОВ

Интегралы должны храниться в вертикальном положении, чтобы облегчить последующее ресуспендирование магнитных частиц. См. инструкцию по ресуспендированию магнитных частиц в разделе «Подготовка интегрального картриджа реактивов». Невскрытые реактивы стабильны до окончания срока годности при условии их хранения в вертикальном положении при температуре 2-8°C. Запрещается замораживать реактивы, входящие в состав картриджа. Запрещается использовать интеграл после окончания срока годности, указанного на этикетке интеграла. После вскрытия интеграла его содержимое стабильно в течение 6 недель при условии хранения при температуре 2-8°C в холодильнике или на борту анализатора LIAISON®.

8. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Для проведения анализа можно использовать человеческую сыворотку, плазму с ЭДТА или суточную мочу.

Сыворотка и плазма с ЭДТА

Пробы крови должны быть асептически отобраны венепункцией, при этом требуется зафиксировать время забора крови и положение пациента при этом (лежащее или стоящее). Кровь должна свернуться, после чего необходимо как можно скорее отделить сыворотку. Пробы плазмы с ЭДТА должны быть центрифугированы без охлаждения, плазму необходимо отделить от клеток сразу же после центрифугирования.

Пробы, содержащие твердые частицы или фрагменты эритроцитов, а также мутные или липемичные пробы перед исследованием могут потребовать дополнительной очистки путем фильтрации или центрифугирования. Сильно гемолизированные, иктеричные или липемичные пробы, а также пробы, содержащие твердые частицы или имеющие очевидные признаки микробного заражения, не рекомендуются для анализа.

Перед началом анализа убедитесь в отсутствии пузырьков воздуха. **Если исследование будет проведено в течение 5 дней после взятия пробы, образцы могут храниться при температуре 2-8°C, в противном случае аликвоты необходимо заморозить (-20°C или ниже).** Если пробы хранились в замороженном виде, перед тестированием их следует тщательно перемешать. Образцы не должны подвергаться многократным циклам замораживания-оттаивания. Морозильники с функцией саморазморозки не рекомендуются для хранения проб.

Пробы мочи

Соберите суточную мочу, все время храня ее при охлаждении, измерьте и запишите объем. Добавьте 1 г борной кислоты на 100 мл мочи. Тщательно перемешайте перед тем, как отобрать аликвоту для исследования. Пробы мочи, стабилизированные боратом, могут храниться в течение 5 дней при температуре 2-8°C или в течение 4 недель при температуре -20°C.

Гидролиз мочи

Уровень альдостерона может быть определен в пробах мочи после кислотного гидролиза 18-глюкуронида альдостерона.

- Промаркируйте стеклянные или полипропиленовые пробирки для каждой исследуемой пробы мочи.
- Смешайте 1 часть мочи и 2 части 0,2 н HCl (не входит в набор). Тщательно перемешайте с помощью вихревой мешалки (вортекса) или встряхивателя.

Пример (100 мкл мочи и 200 мкл 0,2 н HCl).

- Закройте пробирки и инкубируйте в течение ночи (18 часов) при температуре 30°C.

Нейтрализация мочи

Перед тестированием с помощью набора LIAISON® Альдостерон гидролизованные пробы мочи должны быть нейтрализованы.

- Промаркируйте стеклянные или полипропиленовые пробирки для каждой исследуемой пробы.
- Добавьте 1 часть гидролизованной мочи и 4 части LIAISON® Нейтрализующего буфера для альдостерона мочи, тщательно перемешайте.

Пример (100 мкл гидролизованной мочи и 400 мкл LIAISON® Нейтрализующего буфера для альдостерона мочи).

Убедитесь в отсутствии или, при необходимости, удалите пузырьки воздуха перед анализом. Гидролизованные и нейтрализованные пробы мочи стабильны в течение 8 недель при температуре 2-8°C или -20°C. Если пробы хранятся в замороженном виде, перед тестированием их следует тщательно перемешать. Образцы нельзя подвергать многократным циклам замораживания-оттаивания. Морозильники с функцией саморазморозки не рекомендуются для хранения проб.

Минимальный объем пробы, необходимый как в случае проб сыворотки, так и в случае нейтрализованных проб мочи для исследования в анализаторе LIAISON® составляет 250 мкл [100 мкл пробы для тестирования + 150 мкл мертвого объема (объем, оставляемый на дне пробирки с аликвотой, который прибор не может отобрать)].

9. КАЛИБРАТОРЫ УРОВНИ 1 И 2

Калибраторы альдостерона LIAISON® поставляются в жидком виде и готовы к использованию. На флаконы калибраторов нанесены штрих-коды. Калибраторы должны быть нагреты до комнатной температуры и тщательно перемешаны путем аккуратных переворачиваний. Процедура калибровки описана в руководстве по эксплуатации. После вскрытия калибраторы можно хранить при температуре 2-8°C в течение 6 недель.

Анализатор LIAISON®:

Поместите флаконы в штатив “L” анализатора LIAISON® и загрузите его в анализатор LIAISON®.

Анализатор LIAISON® XL:

Поместите флаконы в штатив “L” анализатора LIAISON® XL и загрузите его в анализатор LIAISON® XL.

Номера лотов калибраторов и интегральных картриджей реактивов специфичны. Запрещается проводить калибровку интеграла с использованием калибраторов с другим номером лота.

10. КАЛИБРОВКА

Анализ калибраторов, входящих в состав набора, позволяет перекалибровать мастер-кривую, хранящуюся в памяти анализатора, с использованием значений концентраций калибраторов, зашифрованных в штрих-коде на этикетке калибраторов. Измерение калибраторов, специфичных для каждого теста, позволяет получить значения в относительных световых единицах (RLU) для коррекции присвоенной тесту мастер-кривой. Каждый калибровочный раствор рассчитан на проведение 6 калибровок.

Калибровка должна быть проведена в трех повторах в следующих случаях:

- Используется новая серия набора реактивов или набора запускающих реактивов.
- Прошло более 14 дней с момента последней калибровки.
- Было проведено обслуживание анализатора.
- Результаты исследования контрольных сывороток выходят за пределы допустимого диапазона.

Обратитесь к Руководству по эксплуатации анализатора LIAISON® или к Краткому Руководству по эксплуатации анализатора LIAISON® за инструкциями по калибровке.

Измеряемый диапазон: Тест-система LIAISON® Альдостерон позволяет измерять концентрации альдостерона в диапазоне от 0,97 до 100 нг/дл. Минимальная определяемая концентрация – 0,97 нг/дл. Значения ниже 0,97 нг/дл следует представлять в виде <0,97 нг/дл. Максимальное значение, которое может быть получено без разбавления, составляет 100 нг/дл.

Пробы сыворотки или плазмы крови с ЭДТА с концентрацией альдостерона выше указанного диапазона могут быть разбавлены с помощью раствора для разведения эндокринологических проб LIAISON® (каталожный номер 319133) и подвергнуты повторному тестированию.

Рекомендуемое разбавление: 1 часть пробы и 9 частей раствора для разведения эндокринологических проб.

Пробы мочи, для которых получен результат выше указанного диапазона, могут быть разбавлены деионизированной водой или 0,9% физиологическим раствором и подвергнуты повторному тестированию.

Рекомендуемое разбавление: 1 часть пробы гидролизованной/нейтрализованной мочи и 9 частей деионизированной воды или 0,9% физиологического раствора.

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Для обеспечения надлежащего выполнения теста строго придерживайтесь инструкции по эксплуатации анализатора LIAISON®.

Анализатор LIAISON®: Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в штрих-коде этикетки интеграла. В случае неполадок сканера штрих-кодов картридж не может быть использован и должен быть утилизирован.

Анализатор LIAISON® XL: Для идентификации каждой методики используется информация, закодированная в радиочастотной метке (RFID) на интегральном картридже реактивов. В случае неполадок RFID-метки, картридж не может быть использован и должен быть утилизирован. Для получения дополнительной информации обратитесь к Руководству по эксплуатации анализатора.

Процедура анализа, выполняемого анализатором, состоит из следующих стадий:
Анализаторы LIAISON® и LIAISON® XL

1. Раскапывание калибраторов, контролей или проб в кюветы реакционного модуля.
2. Добавление магнитных частиц.
3. Добавление буфера.
4. Инкубация.
5. Внесение конъюгата в кюветы реакционного модуля.
6. Инкубация.
7. Промывка системной/промывочной жидкостью.
8. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности флуоресценции.

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества осуществляется один раз в день выполнения теста или в соответствии с местными,

государственными и/или федеральными правилами или требованиями аккредитации, или же процедурами контроля качества в Вашей лаборатории. Рекомендуется обратиться к стандартам CLSI C24-A2 и 42 CFR 493.1256 для получения руководства по надлежащей практике управления качеством.

Контроли для LIAISON® должны быть нагреты до комнатной температуры и тщательно перемешаны перед использованием – либо путем вращения флаконов, либо с помощью аккуратного переворачивания.

Для контроля рабочих характеристик тест-системы необходимо выполнять однократный анализ контрольных сывороток LIAISON®. Если результаты измерения контрольных сывороток лежат внутри диапазона, указанного в сертификате анализа контролей, то результаты теста достоверны. Если же они выходят за допустимые пределы, то результаты теста недостоверны и их нельзя сообщать пациентам. Необходимо повторно провести калибровку методики и измерение контрольных материалов

Перед использованием других контрольных материалов необходимо оценить возможность их использования с данным набором реактивов, после чего необходимо установить подходящие пределы допустимых значений.

Диапазон допустимых концентраций каждого контроля приведен в сертификате анализа и отражает пределы, установленные компанией DiaSorin для контрольных значений, которые могут быть получены при надлежащем функционировании тест-системы.

13. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализатор LIAISON® автоматически рассчитывает концентрацию альдостерона в пробах сыворотки. Полученная концентрация выражается в нг/дл.

Для перевода результатов в пг/мл: 1 нг/дл = 10 пг/мл.

Для перевода результатов в нмоль/л: 1 нг/дл = 0,0277 нмоль/л.

Для проб мочи: результаты, рассчитанные на основании калибровочной кривой и приводимые в отчетах анализатора в нг/дл, должны быть умножены на поправочный коэффициент 15 для учета разбавления при гидролизе и нейтрализации мочи.

Кроме того, пользователи должны записать общий объем образца мочи за 24 часа, чтобы сообщить об общей массе альдостерона в мкг / в суточной моче.

Для расчета альдостерона в моче в мкг / 24 часа пользователь должен использовать следующую формулу: скорректированная концентрация альдостерона (результат анализа в нг / дл x 15) x 24 ч объема мочи (в мл) x 10⁻⁵.

14. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

1. Результаты анализа должны быть интерпретированы в сочетании с другими клиническими и лабораторными данными, чтобы помочь врачу в принятии решения по стратегии лечения каждого отдельного пациента.
2. Для получения достоверных результатов необходимо квалифицированное выполнение теста и строгое соблюдение инструкций.
3. Не рекомендуется тестировать сильно гемолизированные, иктеричные или липемичные пробы, а также пробы, содержащие твердые частицы или имеющие очевидные признаки микробного заражения.
4. Бактериальная контаминация проб или неоднократное повторение циклов замораживания-оттаивания могут повлиять на результаты теста.
5. Не нагревайте сыворотку, плазму с ЭДТА или мочу, так как это может привести к инактивации пробы

Запрещается обменивать интегралы между анализаторами LIAISON® и LIAISON® XL. Интеграл, однажды установленный на анализатор определенного типа, должен использоваться на этом анализаторе до самого конца. Запрещается оценивать динамику концентрации альдостерона по результатам, полученным на разных типах анализаторов. Такие измерения должны быть выполнены на одном конкретном типе анализатора (либо LIAISON®, либо LIAISON® XL).

15. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В соответствии с общепринятой лабораторной практикой каждая лаборатория должна установить собственные референсные значения, отражающие их типовую популяцию.

Для оценки ожидаемого референсного диапазона значений было проведено исследование 126 проб сыворотки и плазмы с ЭДТА (126 участника). Пробы были отобраны натощак у практически здоровых мужчин и женщин – доноров крови, которые удовлетворяли следующим критериям включения: взрослые в возрасте 21-65 лет, с нормальным артериальным давлением и нормальным уровнем глюкозы натощак.

Критериями исключения были следующие: возраст моложе 21 года, необходимость приема лекарств или следования предписанной диете, беременность, грудное вскармливание, прием пероральных контрацептивов.

Пробы крови были получены натощак между 7 и 10 часами утра в лежачем и стоячем положении.

Пробы в стоячем положении были получены у пациентов после не менее 30 минут стояния.

Пробы в лежачем положении были получены у пациентов после не менее 30 минут лежания.

С использованием 95% доверительного интервала в соответствии со стандартом CLSI C28-A3 были установлены следующие значения:

Популяция (126)	Медиана концентрации альдостерона (нг/дл)	Наблюдаемый диапазон от 2,5-й до 97,5-й перцентили
Стоячее положение (сыворотка)	9,8	2,52-39,2
Лежачее положение (сыворотка)	6,76	1,76-23,2
Стоячее положение (плазма с ЭДТА)	8,91	2,21-35,3
Лежачее положение (плазма с ЭДТА)	6,42	1,17-23,6

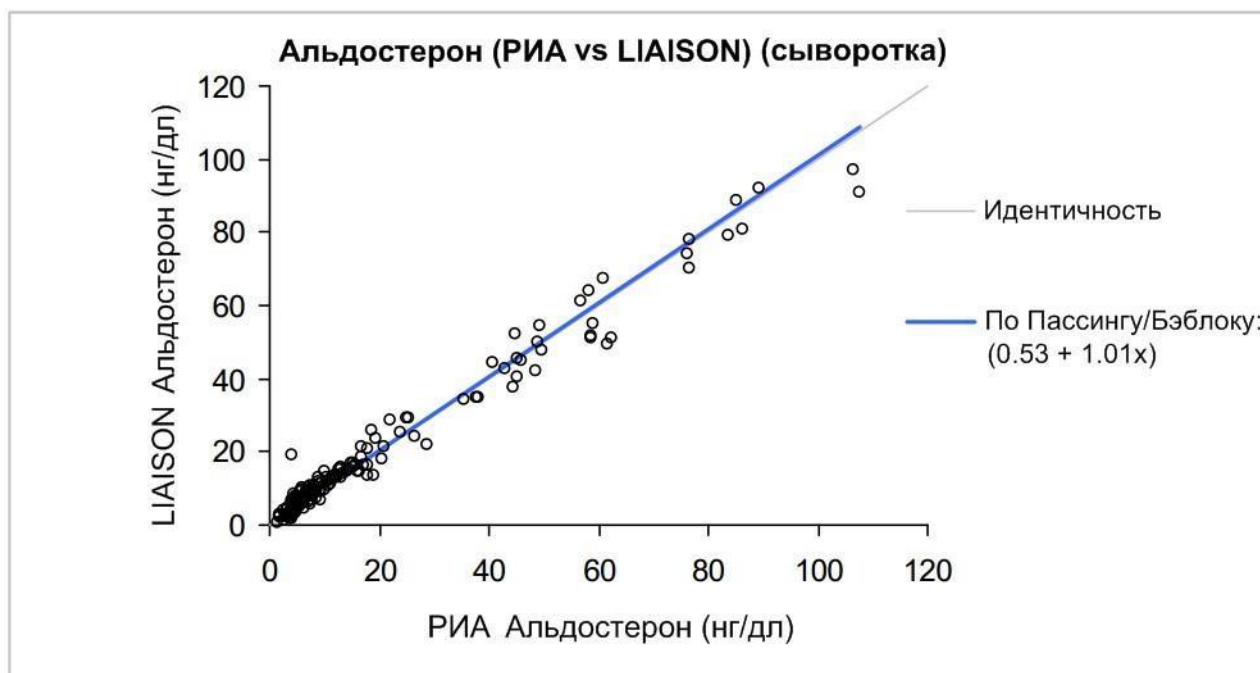
Для оценки ожидаемого диапазона референсных значений альдостерона мочи было проведено исследование 91 проб мочи, собранных за 24 часа от предположительно здоровых людей с нормальным кровяным давлением (диастолия <85 мм рт.ст).

Популяция (91)	Медиана концентрации альдостерона (мкг/24 часа)	Наблюдаемый диапазон (мкг/24 часа) от 2,5-й до 97,5-й перцентили
Моча суточная	5,53	1,19-28,1

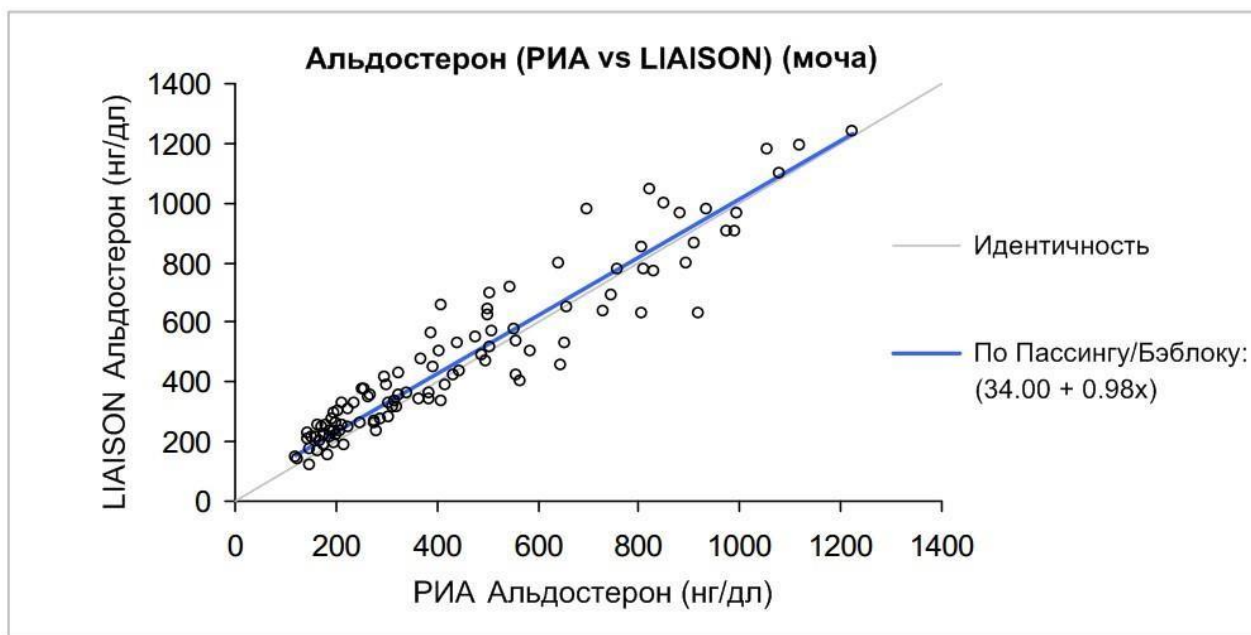
16. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

16.1 Корреляция результатов исследования/Сравнение методов:

С помощью тест-системы LIAISON® Альдостерон и ручной радиоиммунной методики (РИА) в соответствии со стандартом CLSI EP9 в общей сложности было протестировано 155 проб сыворотки или подготовленных проб во всем измеряемом диапазоне концентраций. В результате регрессионного анализа по методу Пассинга-Бэблока было получено следующее уравнение: результат LIAISON® Альдостерон = $1,01 \times$ (результат референсного метода) + 0,53; $R^2 = 0,98$.



С помощью тест-системы LIAISON® Альдостерон и ручной радиоиммунной методики (РИА) в соответствии со стандартом CLSI EP9 в общей сложности было протестировано 104 пробы мочи во всем измеряемом диапазоне концентраций. Результаты анализа проб мочи были скорректированы с учетом разбавления в соответствии с требованиями соответствующих инструкций по применению тест-систем. Референсный метод радиоиммунного анализа: результат $\times 10$. LIAISON® Альдостерон: результат $\times 15$. Итоговое уравнение, полученное с помощью регрессионного анализа методом Пассинга-Бэблока, имело вид: результат LIAISON® Альдостерон = $0,98 \times$ (результат референсного метода) + 34, $R^2 = 0,90$.



16.2 Точность

Два набора контролей, 6 проб сыворотки и 3 пробы мочи, каждая из которых содержала альдостерон в концентрации, входящей в измеряемый диапазон тест-системы, тестировались в двух повторах дважды в день в течение более двадцати рабочих дней с использованием 1 лота реактивов в лаборатории DiaSorin. Тестирование проводилось в соответствии со стандартом CLSI EP5-A2.

ИН пробы	Среднее значение (нг/дл)	Сходимость внутри серии		Воспроизводимость между сериями	
		Стандартное отклонение (СКО)	Коэффициент вариации (%КВ)	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации (%КВ)
Набор контролей уровень 1	6,8	0,24	3,5%	0,65	9,5%
Набор контролей уровень 2	28,8	0,53	1,8%	1,61	5,6%
Проба сыворотки 1	5,9	0,25	4,2%	0,62	10,5%
Проба сыворотки 2	8,8	0,27	3,1 %	0,79	9,0%
Проба сыворотки 3	18,5	0,42	2,3%	1,27	6,9%
Проба сыворотки 4	29,8	0,78	2,6%	2,05	6,9%
Проба сыворотки 5	50,4	1,16	2,3%	2,92	5,8%
Проба сыворотки 6	82,6	1,76	2,1%	5,21	6,3%
Проба мочи 1	7,4	0,26	3,6%	0,72	9,8%
Проба мочи 2	44,1	1,24	2,8%	3,87	8,8%
Проба мочи 3	76,3	1,91	2,5%	6,58	8,6%

16.3 LoD (предел обнаружения, Limit of detection)

В соответствии со стандартом CLSI EP17-A2, предел обнаружения альдостерона в сыворотке тест-системой LIAISON® Альдостерон составляет 1,45 нг / дл.

Предел обнаружения альдостерона в моче тест-системой LIAISON® Альдостерон составляет 2,0 нг/дл ($2,0 \cdot 15 = 30$ нг/дл).

16.4 LoB (предел холостой пробы, Limit of Blank)

В соответствии со стандартом CLSI EP17-A предел холостой пробы сыворотки тест-системы LIAISON® Альдостерон составляет $\leq 0,97$ нг/дл.

Предел холостой пробы мочи тест-системы LIAISON® Альдостерон составляет $\leq 1,26$ нг/дл ($1,26 \cdot 15 = 18,9$ нг/дл).

* Предел холостой пробы, или наивысшее значение, которое можно получить при измерении пробы, не содержащей аналита, заменяет термин "аналитическая чувствительность".

16.5 LoQ (предел количественного определения)

В соответствии со стандартом CLSI EP17-A, предел количественного определения альдостерона в сыворотке тест-системой LIAISON® Альдостерон составляет 1,91 нг/дл.

Предел количественного определения альдостерона в моче тест-системой LIAISON® Альдостерон составляет 2,8 нг/дл ($2,8 \times 15 = 42$ нг/дл).

16.6 Тест на достоверность разведения (линейность)

Одна проба сыворотки, одна проба плазмы с ЭДТА и одна проба мочи были разбавлены и проанализированы с помощью тест-системы LIAISON® Альдостерон в соответствии со стандартом CLSI EP6-A. Полученные результаты были проанализированы с помощью линейной регрессии для сравнения измеренных и ожидаемых концентраций альдостерона.

В результате уравнение для сыворотки имело следующий вид: Измеренное значение тест-системой LIAISON® Альдостерон = $0,994 \times (\text{ожидаемое значение}) + 0,71$, $R^2 = 0,99$.

Уравнение для плазмы с ЭДТА: Измеренное значение тест-системы LIAISON® Альдостерон = $1,01 \times (\text{ожидаемое значение}) + 1,43$, $R^2 = 0,99$.

Уравнение для мочи: Измеренное значение LIAISON® Альдостерон = $0,996 \times (\text{ожидаемое значение}) + 0,69$, $R^2 = 0,99$.

16.7 Восстановление разбавления

Пять (5) проб сыворотки крови и мочи с высокими концентрациями альдостерона и 5 проб сыворотки крови и мочи с низкими концентрациями были проанализированы, как есть. Восстановленные пробы получали путем смешивания проб с высокими и низкими концентрациями в определенном соотношении и тестировали в 5 повторах. Средние значения 5 повторных измерений представлены в таблице ниже.

Образцы сыворотки	Определенная концентрация, нг/дл	Ожидаемая концентрация, нг/дл	Измеренная концентрация, нг/дл	% восстановления
Проба с высокой концентрацией 1 (BK1) 2 BK1 : 1 НК1 1 BK1 : 1 НК1 1 BK1 : 2 НК1	58,0	40,9 32,1 23,3	37,9 29,2 21,1	93% 91% 91%
Проба с низкой концентрацией 1 (НК1)	6,1			
Проба с высокой концентрацией 2 (BK2) 2 BK2 : 1 НК2 1 BK2 : 1 НК2 1 BK2 : 2 НК2	69,6	49,3 38,9 28,4	48,6 39,1 28,3	99% 101% 100%
Проба с низкой концентрацией 2 (НК2)	8,1			
Проба с высокой концентрацией 3 (BK3) 2 BK3 : 1 НК3 1 BK3 : 1 НК3 1 BK3 : 2 НК3	89,1	62,8 49,2 35,7	63,5 50,0 37,2	101,1% 102% 104%
Проба с низкой концентрацией 3 (НК3)	9,3			
Проба с высокой концентрацией 4 (BK4) 2 BK4 : 1 НК4 1 BK4 : 1 НК4 1 BK4 : 2 НК4	91,9	64,0 49,6 35,2	63,0 52,2 35,6	98% 105% 101%
Проба с низкой концентрацией 4 (НК4)	7,3			
Проба с высокой концентрацией 5 (BK5) 2 BK5 : 1 НК5 1 BK5 : 1 НК5 1 BK5 : 2 НК5	86,6	60,2 46,6 33,0	61,7 47,5 33,7	103% 102% 102%
Проба с низкой концентрацией 5 (НК5)	6,5			
Среднее восстановление				99,5%

Образцы сыворотки	Определенная концентрация, нг/дл	Ожидаемая концентрация, нг/дл	Измеренная концентрация, нг/дл	% восстановления
Проба с высокой концентрацией 1 (BK1) 2 BK1 : 1 НК1 1 BK1 : 1 НК1 1 BK1 : 2 НК1	97,4	66,7 50,9 35,1	62,9 48,2 36,7	94% 95% 105%
Проба с низкой концентрацией 1 (НК1)	4,4			

Проба с высокой концентрацией 2 (BK2) 2 BK2 : 1 НК2 1 BK2 : 1 НК2 1 BK2 : 2 НК2 Проба с низкой концентрацией 2 (НК2)	87,9 4,0	60,2 46,0 31,7	57,4 43,8 32,4	95% 95% 102%
Проба с высокой концентрацией 1 (BK3) 2 BK3 : 1 НК3 1 BK3 : 1 НК3 1 BK3 : 2 НК3 Проба с низкой концентрацией 3 (НК3)	77,8 5,8	54,0 41,8 29,6	51,6 41,4 28,7	95% 99% 97%
Проба с высокой концентрацией 4 (BK4) 2 BK4 : 1 НК4 1 BK4 : 1 НК4 1 BK4 : 2 НК4 Проба с низкой концентрацией 4 (НК4)	70,8 5,8	49,4 38,3 27,3	46,3 37,6 27,2	94% 98% 100%
Проба с высокой концентрацией 5 (BK5) 2 BK5 : 1 НК5 1 BK5 : 1 НК5 1 BK5 : 2 НК5 Проба с низкой концентрацией 5 (НК5)	72,9 5,1	50,5 39,0 27,5	49,6 38,8 27,5	98% 99% 100%
Среднее восстановление				97,8%

16.8 Интерферирующие вещества.

Контролируемые исследования потенциально интерферирующих веществ в сыворотке и моче с двумя разными уровнями альдостерона (сыворотка 15 и 30 нг/дл, моча 6 и 15 нг/дл) не продемонстрировали влияния перечисленных ниже веществ на результат измерения тест-системой LIAISON® Альдостерон при соответствующих наивысших концентрациях каждого из них. Тестирование проводилось в соответствии со стандартом CLSI-EP7-A2.

Вещество/ препарат	Исследованная концентрация		Вещество/ препарат	Исследованная концентрация	
	Сыворотка	Моча		Сыворотка	Моча
Билирубин (связанный)	40 мг/дл	40 мг/дл	Пропранолола гидрохлорид	2,3 мкг/дл	2,3 мкг/дл
Билирубин (несвязанный)	40 мг/дл	Нет данных	Метопролол и тартратная соль	12,8 мкг/дл	12,8 мкг/дл
Гемоглобин	600 мг/дл	600 мг/дл	Триамтерен	8,86 мкг/дл	8,86 мкг/дл
Триглицериды	3000 мг/дл	3000 мг/дл	Спиронолактон	0,6 мкг/дл	0,6 мкг/дл
Общий белок	12 г/дл	12 г/дл	Тетрациклин	15,1 мкг/дл	15,1 мкг/дл
Холестерол	500 мг/дл	500 мг/дл	Амлодипина безилат	13,9 мкг/дл	13,9 мкг/дл
Креатинин	5 мг/дл	500 мг/дл	Нифедипин	40 мкг/дл	439 мкг/дл
Глюкоза	1 г/дл	1 г/дл	Верапамила гидрохлорид	216 мкг/дл	2,37 мг/дл
Аскорбиновая кислота	6 мг/дл	200 мг/дл	Фуросемид	59,9 мкг/дл	59,9 мкг/дл
Мочевина	Нет данных	4 г/дл	Эплеренон	19,9 мкг/дл	19,9 мкг/дл
Борная кислота	Нет данных	2 г/дл	Эналаприла малеат	42,4 мкг/дл	466 мкг/дл
50% уксусной кислоты	Нет данных	40 мкл/дл	Лизиноприл	32,7 мкг/дл	32,7 мкг/дл

Парацетамол	20 мг/дл	20 мг/дл	Лозартан калия	2,25 мкг/дл	2,47 мкг/дл
Ацетилсалициловая кислота	65,2 мг/дл	65,2 мг/дл	Валсартан	11 мкг/дл	11 мкг/дл
Салициловая кислота	59,9 мг/дл	59,9 мг/дл	Гидрохлортиазид	6,0 мкг/дл	6,0 мкг/дл
Вальпроевая кислота	57,6 мг/дл	57,6 мг/дл	Мочевая кислота	N/A	100 мг/дл
Винная кислота	N/A	1 г/дл			

16.9 Перекрестная реактивность

Контролируемые исследования веществ, присутствующих в сыворотке крови и моче и потенциально обладающих перекрестной реактивностью, были выполнены с помощью тест-системы LIAISON® Альдостерон при концентрациях, указанных ниже. Все субстанции показали < 0,02% кросс-реактивности. Тестирование проводилось в соответствии со стандартом CLSI-EP7-A2.

Вещество/препарат	Исследованная концентрация	
	Сыворотка	Моча
Андростендион	100 нг/мл	1000 нг/мл
Андростерон	1000 нг/мл	10000 нг/мл
Кортикостерон	1000 нг/мл	1000 нг/мл
18-ОН-кортикостерон	1000 нг/мл	1000 нг/мл
Кортизол	1000 нг/мл	2000 нг/мл
Кортизон	2000 нг/мл	2000 нг/мл
11-дезоксикортикостерон	1000 нг/мл	1000 нг/мл
11-дезоксикортизол	1000 нг/мл	1000 нг/мл
Дексаметазон	2000 нг/мл	2000 нг/мл
ДГЭА	1000 нг/мл	10000 нг/мл
Эстрадиол	1000 нг/мл	1000 нг/мл
Эстриол	100 нг/мл	1000 нг/мл
Эстрон	100 нг/мл	1000 нг/мл
Флудрокортизон	2000 нг/мл	2000 нг/мл
Празосина гидрохлорид	12000 нг/мл	12000 нг/мл
Преднизон	1000 нг/мл	1000 нг/мл
Преднизолон	1000 нг/мл	1000 нг/мл
Прегненолон	1000 нг/мл	1000 нг/мл
Прогестерон	1000 нг/мл	1000 нг/мл
17α-гидроксипрогестерон	1000 нг/мл	1000 нг/мл
Тестостерон	1000 нг/мл	2000 нг/мл
Спиринолактон	1000 нг/мл	1000 нг/мл

16.10 Эффект высокой дозы

Эффект высокой дозы не наблюдался при содержании альдостерона в сыворотке крови и моче до 1000 нг/дл.



DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue
P.O. Box 285
Stillwater, MN 55082-0285



DiaSorin S.p.A.,
13040 Saluggia (VC) Italy