

ZenTech



RIAZENco Aldosterone





DEUTSCH	(de)
ENGLISH	(en)
ESPAÑOL	(es)
ΕΛΛΗΝΙΚΑ	(el)
FRANÇAIS	(fr)
ITALIANO	(it)
NEDERLANDS	(nl)
POLSKI	(pl)
PORTUGES	(pt)
БЪЛГАРСКИ	(bg)



ZenTech s.a.

Liège Science Park,
Avenue du Pré-Ailly 10,
4031 ANGLEUR, Belgium
Tel. : + 32-(0)4-361.42.32
Fax : + 32-(0)4-367.00.63

info@zentech.be

www.zentech.be

ISO15223	SYMBOLS FÜR MEDIZINPRODUKTE	MEDICAL DEVICES SYMBOL	SÍMBOLOS PARA APARATOS DE USO EN MEDICINA	ΣΥΜΒΟΛΟ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΣΥΣΚΕΥΩΝ ΚΑΤΑ	SYMBOLS APPLIQUES AUX DISPOSITIFS MEDICAUX	SIMBOLI DISPOSITIVI MEDICI	SYMBOL CONFORM MEDISCHE HULPMIDDELEN	SYMBOL URZĄDZENIA MEDYCZNEGO	SÍMBOLOS DE DISPOSITIVO MÉDICO	СИМВОЛИ НА МЕДИЦИНСКАТА АПАРАТУРА
	LIMITIERUNG DER LAGERTEMPORATUR	STORAGE TEMPERATURE LIMITATION	LIMITES DE TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO	ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΦΥΛΑΞΗΣ	LIMITES DE TEMPERATURES	Conservare a	TEMPERATUURLIMIET	OGRANICZENIA TEMPERATURY PRZECHOWYWANIA	LIMITE DA TEMPERATURA DE ARMAZENAGEM	ОГΡΑΝΙΧΑΒΑΝΕ ΤΕΜΠΕΡΑΤУРАТА НА СЪХΡΑΝЕНИЕ
LOT	CHARGENCODE	BATCH CODE	CÓDIGO DE LOTE	ΚΟΔΙΚΟΣ ΠΑΡΤΙΔΑΣ	NUMERO DE LOT	Lotto	LOT NUMMER	KOD SERII	LOTE	ΠΑΡΤΙΔΕΝ ΝΟΜΕΡ
	VERWENDBAR BIS	USE BY	CONSUMIR ANTES DE	ΗΜΕΡΟΜ. ΛΗΞΗΣ	DATE D'EXPIRATION	Data di scadenza	HOUBAAR TOT	ZUŻYC PRZED	UTILIZADO POR	СРОК НА ГОДНОСТ
	DAS HANDBUCH ZU RATE ZIEHEN	CONSULT OPERATING INSTRUCTIONS	CONSULTAR LAS INSTRUCCIONES DE MANEJO O FUNCIONAMIENTO	ΑΝΑΤΡΕΨΤΕ ΣΤΙΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ	LIRE LES INSTRUCTIONS	Consulti l'istruzione per l'uso	RAADPLEEG DE GEBRUIKSAANWIJZING	ZAPOZNAĆ SIĘ Z INSTRUKCJĄ	CONSULTE O MANUAL DE OPERAÇÕES	ΒΙЖΤΕ ΙΝΣΤΡУКЦИЈИТЕ ЗА ЕКСПΛΟΑΤΑЦИЈА
IVD	FÜR IN-VITRO-DIAGNOSTISCHE ANWENDUNG	IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE	DISPOSITIVO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO	ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΥΣΚΕΥΗ IN VITRO	IN VITRO DIAGNOSTIC	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	IN VITRO DIAGNOSTISCH PRODUCT	URZĄDZENIE DO DIAGNOSTYKI IN VITRO	DISPOSITIVO DE DIAGNOSTICO IN VITRO	УРЕД ЗА IN VITRO ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ
	HERGESTELLT VON	MANUFACTURED BY	FABRICADO POR	ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΖΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ	FABRIQUE PAR	Prodotto da	FABRIKANT	PRODUCENT	FABRICADO POR	ΠΡΟΙΖΒΕΔΕΝΟ ΟΤ
REF	KATALOG NR.	CATALOGUE NUMBER	NÚMERO DE CATÁLOGO	ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΑΤΑΛΟΓΟΥ	REFERENCE	Numero di catalogo	CATALOGUS NUMMER	NUMER KATALOGOWY	NÚMERO DO CATALOGO	ΚΑΤΑΛΟЖΕΝ ΝΟΜΕΡ

	SYMBOLS (EMPFOLHEN VON DER EDMA)	SYMBOLS (EDMA RECOMMENDATIONS)	SÍMBOLOS (RECOMENDACIONES DE LA EDMA)	ΣΥΜΒΟΛΑ (Συστάσεις EDMA)	SYMBOLS (recommandations EDMA)	SIMBOLI (raccomandazioni EDMA)	SYMBOLS (EDMA-AANBEVELINGEN)	SYMBOLS (ZALECANE PRZEZ EDMA)	SÍMBOLOS (RECOMENDAÇÕES EDMA)	СИМВОЛИ (ΠΡΕΠΟΡЪΚИ НА EDMA)
	Anzahl der Bestimmungen	Number of determinations	Número de determinaciones	Αριθμός προσδιορισμών	Nombre de déterminations (Σ)	Numero di determinazioni	Inhoud voldoende voor "n" tests	liczba oznaczeń	Número de determinações	БРОЙ ИЗΜΕΡΒΑΝΙΑ
CAL	Kalibratoren	Calibrators	Calibradores	Βαθμονομητές	Calibrateurs	Calibratore	Kalibratoren	Kalibrator	Calibrador	ΚΑΛΙΒΡΑΤΟΡΙ
CONTROL	Kontrolle	Control	Control	Ορός ελέγχου	Contrôle	Controllo	Controle	Kontrola	Controle	ΚΟΝΤΡΟΛΑ
SORB CT	Beschichtete Röhrchen	Coated tubes	Tubos recubiertos	Επιστρωμένα σωληνάκια	Tubes coatés	Tubi cotati	Gecoate buisjes	Probówki z warstwą przeciwiścial	Tubos adsorvidos	ΠΟΚΡΙΤΙ ΕΠΡΥΒΕΤΚΙ
ALDO ^{125I}	Radioactiver Tracer	Radioactive tracer	Trazador radiactivo	Ραδιενεργός ιχνηθέτης	Traceur radioactif	Tracciante radioattivo	Radioactieve tracer	znacznik radioaktywny	Marcador radioativo	ΡΑΔΙΟΑΚΤΙΒΕΝ ΤΡΕΙΣЪР
RCNS x ml H ₂ O	Wiederherstellen mit x ml destilliertem Wasser	Reconstitute with x ml distilled water	Reconstituir con x ml de agua destilada	Ανασύσταση με x ml απεσταγμένου νερού	Reconstitué avec x ml d'eau distillée	Ricostituite con x ml di acqua distillata	Reconstitueer met x ml gedestilleerd water	Rozpuścić w x ml wody destylowanej	Reconstitua com x ml água destilada	ΡΕΚΟΝΣΤΙΤΥΡΑΙΤΕ С Χ ΜL ΔΕΣΤΙΛΙΡΑΝΑ ΒΟΔΑ
	RADIOAKTIVES MATERIAL	RADIOACTIVE MATERIAL	MATERIAL RADIOACTIVO	ΡΑΔΙΕΝΕΡΓΟ ΥΛΙΚΟ	MATERIAL RADIOACTIF	MATERIALE RADIOATTIVO	RADIOACTIEF MATERIAAL	MATERIAL PROMIENIOTWORCZY	MATERIAL RADIOACTIVO	ΡΑΔΙΟΑΚΤΙΒΕΝ ΜΑΤΕΡΙΑΛ

DEUTSCH

RADIOIMMUNOASSAY ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DES ALDOSTERON IN HUMANEM SERUM UND URIN

R-CW-100 - 100 Determinations

DIESER KIT IST NUR FÜR DIE IN - VITRO – DIAGNOSTIK BESTIMMT

1. KLINISCHE ANWENDUNGEN

Aldosteron ist ein steroides Hormon mit einem Molekulargewicht von 360, das in der Zona glomerulosa der Nebennierenrinde gebildet wird. Der Aldosteron-Test ist besonders wichtig für die Diagnose des primären.

Hyperaldosteronismus (Conn-Syndrom), der sogenannten essentiellen Hypertonie, bei Schwankungen des Blutdrucks, hervorgerufen durch die Gabe unnormaler Mengen bestimmter Lebensmittel (Stüßholz) oder Substanzen (Kalium/Natrium), bei Nierenerkrankungen etc.

Die Höhe der Werte des Aldosterons im Blut unterliegen dem Tagesrhythmus und sind unbedingt von Ruhe- und Aktivitätsphasen abhängig, deshalb ist es notwendig, die Aldosteronlevel des Bluts durch Stimulanz- oder Suppressionsmittel dynamisch zu testen.

2. TESTPRINZIP

Die vorliegende Methode basiert auf einem kompetitiven Radioimmunoassay (RIA). Während der Inkubation konkurrieren die Proben/Kalibratoren des Aldosteron mit denen des mit ¹²⁵I markierten Aldosteron (Tracer) um die spezifischen Bindungsstellen des Antiserums, mit dem die Röhren beschichtet sind. Die Trennung basiert auf der Nutzung, der mit Antikörper beschichteten Röhren, an denen das Anti-Aldosteron Antiserum an den Wänden fixiert ist. Nach dem Absaugen wird die Radioaktivität in den Röhren mit einem Gamma-Zähler gemessen. Der Grad der Bindung ist umgekehrt proportional zu der Hormonkonzentration der Probe/Kalibrator.

3. MITGELIEFERTES MATERIAL

- Die Reagenzien sind ausreichend für 100 Bestimmungen.
- Lagern Sie den Kit und die Reagenzien bei 2 – 8° C .
- Das Verfallsdatum jedes Reagenz ist auf dem Etikett angegeben.

1. **Radioactiver Tracer:** 1 Fläschchen (50 ml) mit ¹²⁵I-Aldosteron in Phosphatpuffer. Radioaktivität: 85 KBq. Konservierungsmittel: NaN₃ (<0,1%).
2. **Kalibratoren:** 8 Fläschchen mit Aldosteron in humanem Serum. Konservierungsmittel: NaN₃(<0,1%). Lyophilisiert. Stellen Sie den Nullkalibrator mit der Zugabe von 3 ml destilliertem Wasser und die Kalibratoren 1-6 mit 2 ml destilliertem Wasser wieder her. Nach der Wiederherstellung können unbenutzte Kalibratoren und Kontrolle aliquotiert und bei –20°C eingefroren werden. Die genauen Werte entnehmen Sie dem Qualitätskontroll-Datenblatt.
3. **Kontrolle:** 1 Fläschchen mit Aldosteron in humanem Serum. Konservierungsmittel: NaN₃ (<0,1%). Lyophilisiert. Wiederherstellung mit 2ml destilliertem Wasser. Nach der Wiederherstellung kann die unbenutzte Kontrolle aliquotiert und bei –20°C eingefroren werden. Die genauen Werte entnehmen Sie dem Qualitätskontroll-Datenblatt.
4. **Beschichtete Röhren:** 100 mit Anti-Aldosteron Antikörpern beschichtete Röhren. Unbenutzte Röhren müssen bei 2-8°C, geschützt vor Feuchtigkeit, gelagert werden.

4. ERFORDERLICHES, JEDOCH NICHT MITGELIEFERTES, MATERIAL

- Teströhren aus Plastik
- Racks für die Teströhren
- einstellbare, automatische Mikropipetten mit Einmalspitzen
- Vortexmixer
- Graduierter Zylinder

- Absaugpumpe oder automatische Waschanlage
- Szintillations-Gamma-Counter
- destilliertes Wasser
- Orbitalschüttler, einstellbar auf 150 rpm
- Salzsäure

5. WARNHINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN FÜR ANWENDER

Nur bestimmt zum *in vitro* Gebrauch.

Dieser Test sollte nur von erfahrenem Laborpersonal, in Übereinstimmung mit den Richtlinien der GLP, benutzt werden.

Radioaktives Material - Nicht zur innerlichen oder äußerlichen Anwendung bei Menschen und Tieren bestimmt.

Dieses radioaktive Material darf nur von Ärzten, klinischen Laboratorien oder Krankenhäusern in Empfang genommen, erworben, besessen oder benutzt werden. Der Gebrauch ist ausschließlich für klinische oder Labor *in vitro* Tests vorgesehen. Er schließt nicht die interne oder externe Verabreichung des Materials oder die Bestrahlung von Menschen oder Tieren ein. Der Erhalt, Erwerb, Besitz, Gebrauch und Transport unterliegt den gesetzlichen Regelungen jedes einzelnen Staates.

Die physikalischen Charakteristika von ¹²⁵I befinden sich am Ende der Gebrauchsanleitung

1. **SICHERHEITSMASSNAHMEN:** die folgenden Vorsichtsmaßnahmen sollten beim Umgang mit radioaktivem Material beachtet werden:
 - Lagern Sie radioaktives Material nur in den dafür vorgesehenen Bereichen.
 - Vermeiden Sie Essen, Trinken, Rauchen oder Schminken an Orten, wo mit radioaktiven Materialien gearbeitet wird.
 - Pipettieren Sie nicht mit dem Mund.
 - Tragen Sie Handschuhe beim Umgang mit radioaktivem Material und waschen Sie anschließend Ihre Hände sorgfältig.
 - Bedecken Sie die Arbeitsfläche mit saugfähigem Papier und entsorgen Sie es nach dem Test.
 - Wischen Sie Verschüttetes sofort und sorgfältig auf und entsorgen Sie das kontaminierte Material als radioaktiven Abfall.
 - Die Entsorgung von radioaktivem Abfall über das sanitäre Abwassersystem ist per Gesetz verboten.

2. **CHEMISCHES RISIKO NATRIUMAZID (NaN₃) WARNUNG:** einige Reagenzien dieses Kits enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel. Für alle diese Reagenzien beträgt die Konzentration von Natriumazid <0,1 Gewichtsprozent. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferrohren explosive Metallazidverbindungen bilden. Spülen Sie bei der Entsorgung aller nichtradioaktiven Reagenzien über das Leitungssystem mit großen Wassermengen nach.

Risikosatzes

R21/22 Gesundheitsschädlich bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken.

Sicherheitsatzes

S-26 Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.

S-28.1 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser

S-46 Bei Verschlucken sofort ärztlichen Rat einholen und Verpackung oder Etikett vorzeigen.

3. **WARNUNG VOR POTENTIELLEM BIOLOGISCHEN RISIKOMATERIAL:** Dieser Kit kann einige Reagenzien enthalten, die mit menschlichem Serum oder Plasma gewonnen wurden. Das verwendete Serum oder Plasma wurde mit einer FDA-zugelassenen Methode als nichtreaktiv gegen HIV-1/2 Antikörper, HCV und HbsAg getestet. Da keine Methode eine vollständige Sicherheit für die Abwesenheit von HIV -1/2, HCV, HbsAg oder anderen infektiösen Wirkstoffen garantieren kann, sollten die Reagenzien als biologisches Risikomaterial der Stufe 2 behandelt werden, wie es für alle potentiell infektiösen menschlichen Serum- oder Blutproben in dem Handbuch der nationalen Gesundheitsbehörden „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“, 3.Edition 1993 vorgeschrieben ist.

6. SAMMLUNG VON EINZELPROBEN

Der Test kann mit Serum oder Urinproben durchgeführt werden. Da das Aldosteron vom Tagesrhythmus abhängig ist, schlagen wir vor, die

Zeit der Probensammlung zu notieren. Hoch lipämische oder hämolytische Proben müssen verworfen werden. Die Proben können bei 2-8°C für 1-2 Tage aufbewahrt werden; bei längeren Zeiträumen ist es ratsam die Proben bei -20°C einzufrieren. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben sollte vermieden werden.

Urinproben

Urinsammlung

24 h-Sammelurin und Borsäure (10 g/l) als Konservierungsmittel hinzugeben. Volumen messen und bei 2-8°C für 1-2 Tage lagern; für längere Zeiträume bei -20°C einfrieren.

Urinhydrolyse

1. Bereiten Sie für jede Urinprobe ein unbeschichtetes Röhrchen vor.
2. Pipettieren Sie 100 µl der Urinprobe.
3. Geben Sie 1 ml von 0,1 M Salzsäure in jedes Röhrchen.
4. Inkubieren Sie 15-20 Stunden bei 30°C.
5. Benutzen Sie 50 µl dieser Lösung für den Test.

7. TESTVERLAUF

- Vor Gebrauch müssen alle Reagenzien und Proben auf Raumtemperatur gebracht werden.
- Vor Gebrauch müssen die Proben durch Schwenken gemischt werden.
- Für alle Kalibratoren wird eine doppelte Messung empfohlen.

1. Bereiten Sie leere Röhrchen für die Totalaktivität (T) und die nicht spezifische Bindung (NSB) und beschichtete Röhrchen für den Nullkalibrator (Bo), die Kalibratoren (1-6), die Kontrolle und die Proben vor.
2. Pipettieren Sie **200 µl** jedes Kalibrators, Kontrolle und Probe in jedes Röhrchen.
- 2a. Urinproben. Pipettieren Sie **50 µl** der hydrolysierten Probe in jedes Röhrchen und geben Sie **150 µl** des Nullkalibrators zu.
3. Pipettieren Sie **200 µl** des Nullkalibrators in die Röhrchen für die nicht spezifische Bindung (NSB).
4. Geben Sie **500 µl** des radioaktiven Tracers in alle Röhrchen.
5. Mischen Sie die Röhrchen im Ständer manuell. Benutzen Sie nicht den Vortexmixer.
6. Inkubieren:
Methode A: 18-24 Stunden bei Raumtemperatur; oder
Methode B: 3 Stunden bei Raumtemperatur mit einem Orbitalschüttler Set bei 150 rpm.
7. Saugen Sie sorgfältig die inkubierte Mischung aus allen Röhrchen, ausser denen für die Totalaktivität. Benutzen Sie eine Absaugpumpe oder dekantieren Sie, indem Sie die Ränder der Röhrchen mit Saugpapier abtrocknen.
8. Zählen Sie die an die Röhrchen gebundene Radioaktivität 1 Minute lang in einem Gamma- Zähler. Wir schlagen vor, den Hintergrund des Instruments vor dem Zählen zu messen. Um Abweichungen in der Sensitivität des Systems zu vermeiden, muß der Hintergrund auf ein Minimum reduziert oder angepasst werden.

VERSUCHSSCHEMA

Röhrchen	Total Aktivität	NSB	Kalibratoren	Kontrollen	Proben	Urinproben
Reagenz						
Nullkalibrator	----	200 µl	----	----	----	150 µl
Kalibratoren	----	----	200 µl	----	----	----
Kontrollen	----	----	----	200 µl	----	----
Proben	----	----	----	----	200 µl	50 µl
Tracer	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl
- Inkubieren: 18-24 Stunden bei R.T. oder 3 Stunden bei R.T. schütteln (150rpm) - Absaugen - Zählen						

8. KALKULATION DER RESULTATE

Zeichnen Sie die Eichkurve auf logarithmisches oder halblogarithmisches Papier mit den Kalibratorkonzentrationen auf der x-Achse und den entsprechenden B/Bo % auf der y-Achse. Kalkulieren Sie den Wert von B/Bo für jede Probe und lesen Sie die Konzentration durch Interpolation an der Eichkurve ab, um die Aldosteronkonzentration in den getesteten Proben, ausgedrückt in pg/ml, zu erhalten.

Urinproben

Die auf der Eichkurve abgelesene Konzentration muss mit dem Faktor 44 multipliziert werden, um die Aldosteronkonzentration in pg/ml auszudrücken. Um die Aldosteronkonzentration in µl/24h zu erhalten, wird folgende Gleichung angewandt:

$$\mu\text{g}/24\text{h} = \frac{\text{Konzentration (pg/ml)} \times 44 \times \text{ausgeschiedener Urin (Liter)}}{1000}$$

KALKULATIONSBEISPIEL

Die unten aufgeführten Werte müssen als Beispiel gesehen werden und sollten nicht an Stelle experimentell gewonnener Daten verwendet werden.

Beschreibung	Mittelwert cpm	B/BO (%)	Aldosteron (pg/ml)
Totalaktivität (T)	41999	-	-
NSB	154	-	-
CAL 0	19213	100	0
CAL 1	16439	85,4	25
CAL 2	14667	76,1	50
CAL 3	12268	63,6	100
CAL 4	8184	42,1	300
CAL 5	5844	29,9	600
CAL 6	3669	18,4	1500
CONTROL	11263	58,3	133
P1	14905	77,4	45,5
P2	9869	51,0	191
P3	7934	40,8	323

9. REFERENZWERTE

Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Referenzintervalle bestimmt. Die unten aufgeführten Werte sind lediglich indikativ.

Aldosteron in Serum	
- Ruhephase:	10 - 160 pg/ml
- Aktivitätsphase	35 - 300 pg/ml
Aldosteron in Urin	
	2.8 - 30 µg/24h.

10. VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

SPEZIFITÄT

Die vorliegende Methode hat folgende Kreuzreaktionen gezeigt: 100% mit Aldosteron, 17,2% mit 3β,5α Tetrahydroaldosteron, 0,12% mit 3α,5β Tetrahydroaldosteron, weniger als 0,017% mit Prednisolon, weniger als 0,003% mit Cortisol, Corticosteron, Cortison, 11-Deoxycortisol, 11- Deoxycorticosteron, 17- Hydroxyprogesteron, Progesteron, und weniger als 0,0017% mit Prednison, Testosteron und Androstenedion.

Der Prozentsatz der Kreuzreaktionsfähigkeit wurde unter Anwendung der Abraham-Formel wie folgt kalkuliert: X/Y x 100, wobei X und Y jeweils das Gewicht der Substanz, die getestet wird und das Gewicht der interferierenden Substanz darstellt. Beide sind in der Lage die Bindungskapazität um 50% zu senken.

SENSITIVITÄT

Analytische Sensitivität

Die Sensitivität war basierend auf der Eichkurve kalkuliert und so ausgedrückt, dass kleinste Dosierungen einen signifikanten Unterschied zum Nullkalibrator ergeben (Mittelwert - 2fache Standardabweichung).

Diese Dosierung ist 1,4 pg/ml.

Funktionale Sensitivität

Die funktionale Sensitivität ist der niedrigste Wert, der mit einer Präzision von maximal 20% Inter-Assay Varianz gemessen wird. Für den RIAZENco Aldosteron ist dieser Wert 25 pg/ml.

PRÄZISION

Die Präzision wurde evaluiert nach Intra-Assay und Inter-Assay Variabilität, bei verschiedenen Konzentrationen der Analyten.

Intra-assay

Serum	durchschnittliche (pg/ml)	±	S.D.	V.K. (%)	N
1	42,3	±	5,8	13,7	20
2	177	±	6,7	3,8	20
3	278	±	14,8	5,3	20

Inter-assay

Serum	durchschnittliche (pg/ml)	±	S.D.	V.K. (%)	N
1	38,2	±	7,1	18,6	9
2	169	±	12,6	7,5	9
3	284	±	17,7	6,2	9

GENAUIGKEIT

Die Genauigkeit der Methode wurde durch Wiederfindungs- und Paralleltests evaluiert.

Wiederfindungs - Test

Proben, vermischt mit den gleichen Volumina jedes Kalibrators, werden getestet.

	erwartete Werte (pg/ml)	gemessene Werte (pg/ml)	Wiederfindung (%)
S1	-	97,2	-
S1 + CAL 0	48,6	41,6	85,6
S1 + CAL 1	61,1	69,4	113,6
S1 + CAL 2	73,6	88,8	120,7
S1 + CAL 3	98,6	121	122,7
S1 + CAL 4	199	249	125,1
S1 + CAL 5	349	455	130,4
S1 + CAL 6	799	933	116,8
S2	-	142	-
S2 + CAL 0	71,0	68,4	96,3
S2 + CAL 1	83,5	83,4	99,9
S2 + CAL 2	96,0	96,9	100,9
S2 + CAL 3	121	137	113,2
S2 + CAL 4	221	244	110,4
S2 + CAL 5	371	431	116,2
S2 + CAL 6	821	952	116,0

Parallel - Test

Seren mit hohen, analytischen Konzentrationen werden mit unterschiedlichen Verdünnungen mit dem Nullkalibrator getestet.

Verdünnung	erwartete Werte (pg/ml)	gemessene Werte (pg/ml)	Wiederfindung
S1 unverdünnt	-	128	-
1/2	64,1	61,6	96,1
1/4	32,1	30,9	96,3
1/8	16,0	14,9	78,4
S2 unverdünnt	-	351	-
1/2	176	161	91,5
1/4	87,8	75	85,4
1/8	43,9	36,3	82,7
1/16	22,0	25	113,6

Diese Produktinformation ist unter www.zentech.be verfügbar.

ENGLISH

RADIOIMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF ALDOSTERONE IN HUMAN SERUM AND URINE

R-CW-100 - 100 Determinations

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

1. CLINICAL APPLICATIONS

Aldosterone is a steroid hormone with molecular weight of 360 produced by the zona glomerulosa of the adrenal cortex.

The aldosterone assay is extremely important in the diagnosis of primary hyperaldosteronism (Conn's disease), in the so-called essential hypertension, in arterial pressure changes induced by the administration of abnormal amounts of certain types of food (licorice) or drugs (potassium/sodium), in nephrosis syndromes etc.

Blood levels of aldosterone follow also a circadian rhythm and are strictly related to states of rest or exercise, it is necessary to study blood aldosterone levels by means of stimulation and/or suppression dynamic tests.

2. PRINCIPLE OF THE ASSAY

The present method is based on a competitive radioimmunoassay (RIA). During the incubation, the sample/calibrator aldosterone competes with the aldosterone labeled with Iodine 125 (tracer) for the specific sites of the antiserum coated on the tubes. Separation is based on the use of antibody coated tubes, where the anti-aldosterone antiserum is fixed on the tube walls. After aspiration, the radioactivity in the tubes is measured in a gamma counter. The degree of binding will be inversely proportional to the sample/calibrator hormone concentration.

3. REAGENTS PROVIDED WITH THE KIT

- The reagents are sufficient for 100 determinations.
- Store the kit and reagents at 2-8°C.
- The expiration date of each reagent is shown on the label.

1 Radioactive Tracer: 1 vial (50 ml) of ¹²⁵I-Aldosterone in phosphate buffer. Radioactivity contents: 85 KBq. Preservative: NaN₃ (<0.1%).

2 Calibrators: 8 vials of Aldosterone in human serum. Preservative: NaN₃ (<0.1%). Lyophilized. Reconstitute the Zero Calibrator with 3 ml of distilled water and the Calibrators 1-6 with 2 ml of distilled water. After reconstitution, aliquot and freeze unused calibrators and control at -20°C. For the exact value, refer to the Quality Control data sheet.

3 Control: 1 vial of Aldosterone in human serum. Preservative: NaN₃ (<0.1%). Lyophilized. Reconstitute with 2 ml of distilled water. After reconstitution, aliquot and freeze unused control at -20°C. For the exact value, refer to the Quality Control data sheet.

4 Coated Tubes: 100 tubes coated with anti-Aldosterone antibody. Unused tubes must be stored at 2-8°C, protected from moisture.

4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Plastic test tubes
- Test tube racks.
- Adjustable, automatic micropipettes with disposable tips.
- Vortex mixer.
- Graduated cylinder.
- Aspiration pump or automated washing device.
- Scintillation gamma counter.
- Distilled water.
- Orbital shaker adjustable at 150 rpm.
- Hydrochloric acid.

5. WARNINGS AND PRECAUTIONS FOR USERS

For *in vitro* diagnostic use.

Only experienced laboratory personnel should use this test and handling should be in agreement with GLP.

Radioactive Material - Not for Internal or External Use in Humans or Animals.

This radioactive material may be received, acquired, possessed, and used only by physicians, clinical laboratories or hospitals and only for *in vitro* clinical or laboratory tests not involving internal or external administration of the material, or the radiation there from to human beings or animals. Its receipt, acquisition, possession, use and transfer are subject to the regulations of each country. Physical characteristics of ¹²⁵I: see end of instructions

- Safety Precautions:** The following precautions should be observed in handling radioactive material:
 - o Store radioactive materials in a designated area.
 - o Do not eat, drink, smoke or apply cosmetics where radioactive materials are being handled.
 - o Do not pipette by mouth.
 - o Wear gloves when handling radioactive materials and wash hands thoroughly afterwards.
 - o Cover working area with disposable absorbent paper.
 - o Wipe up all spills immediately and thoroughly and dispose of the contaminated materials as radioactive waste.
 - o Dispose of the liquid radioactive waste into the sanitary sewage system if permitted by the local regulations.
- CHEMICAL HAZARD Sodium Azide (NaN₃) Warning:** Some of the reagents in this kit contain sodium azide as a preservative. For all such reagents, the concentration of sodium azide is <0.1% w/w. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form explosive metal azides. Dispose of all non radioactive reagents by flushing with large amounts of water through the plumbing system.

Risk Phrases
R 21/22 Harmful in contact with skin and if swallowed.
Safety Phrases
S-26 In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.
S-28.1 After contact with skin, wash immediately with plenty of water.
S-46 If swallowed seek medical advice immediately and show the container or label.
- POTENTIAL BIOHAZARDOUS MATERIAL Warning:** This kit may contain some reagents made with human serum or plasma. The serum or plasma used has been tested by an FDA-approved method and found to be non-reactive for HIV-1/2 Antibodies, HCV and HBsAg. Because no method can offer complete assurance that HIV-1/2, HCV, HBsAg or other infectious agents are absent, these reagents should be handled at the Biosafety Level 2 as recommended for any potentially infectious human serum or blood specimen in the Centers for Disease Control/National Institutes of Health manual "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories," 3rd Edition 1993.

6. SPECIMEN COLLECTION

The assay can be performed in serum or urine samples. Since Aldosterone shows a circadian rhythm we suggest to note down the sample collecting time. Highly lipemic or hemolyzed samples must be discarded. Keep samples at 2-8°C for 1-2 days; for longer periods it is advisable to freeze samples at -20°C. Repeated free zing and thawing of samples should be avoided.

Urine Samples

Urine collection.

Collect 24-hour urine by adding boric acid (10 g/l) as preservative. Record the volume and store at 2-8°C for 1-2 days; freeze at -20°C for longer time periods.

Urine Hydrolysis:

- 1 - Prepare uncoated tubes, one for each urine sample.
- 2 - Pipette 100 µl of urine sample.
- 3 - Add 1 ml of 0.1 M hydrochloric acid into each tube.
- 4 - Incubate for 15-20 hours at 30°C.
- 5 - Use 50 µl of this solution for the test.

7. ASSAY PROCEDURE

- Bring all reagents and samples to room temperature prior to use.
- Before use, mix the samples by inversion.
- For all calibrators, a duplicated measure is recommended.

- 1 - Prepare plain tubes for Total Activity (T) and Non-specific Binding (NSB) as well as coated tubes for Zero Calibrator (Bo), Calibrators (1-6), Control and Samples.

- 2 - Pipette 200 µl of each Calibrator, Control and Sample into each tube.
- 2a - **Urine Samples.** Pipette 50 µl of Hydrolyzed sample into each tube and add 150 µl of the Zero Calibrator.
- 3 - Pipette 200 µl of Zero Calibrator into the Non-specific Binding (NSB) tubes.
- 4 - Add 500 µl of Radioactive Tracer into all tubes.
- 5 - Mix test-tube rack manually. Do not use vortex.
- 6 - Incubate: **Procedure A:** 18-24 hours at room temperature; or **Procedure B:** 3 hours at room temperature with an orbital shaker set at 150 rpm.
- 7 - Carefully aspirate the incubation mixture from all tubes, except those for total activity, with an aspiration pump or decant by drying the edges of the tubes with blot-paper.
- 8 - Count the radioactivity in the tubes for 1 minute by using a gamma counter. We suggest to check the background of the instrument before counting the assay. In order to avoid variations in the sensitivity of the system, the background should be reduced to a minimum or adjusted properly.

ASSAY SCHEME

Tubes Reagent	Total Activity	NSB	Cali-brators	Control	Samples	Urine samples
Calibrator 0	----	200 µl	----	----	----	150 µl
Calibrators	----	----	200 µl	----	----	----
Controls	----	----	----	200 µl	----	----
Samples	----	----	----	----	200 µl	50 µl
Tracer	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl

- Incubate: 18 – 24 h R.T. or 3 h R.T. shaking (150 rpm)
 - Aspirate
 - Count

8. CALCULATION OF RESULTS

Draw the calibration curve on logit-log or semi-log paper, with the calibration concentrations on the x-axis and the respective B/Bo % on the y-axis.

Calculate the B/Bo% for each sample and read the concentration by interpolating on the calibration curve to obtain the Aldosterone concentration in the tested samples, expressed in pg/ml.

Urine Samples.

The concentration read on the calibration curve must be multiplied by factor 44 to obtain the Aldosterone concentration in pg/ml. In order to express Aldosterone concentration in µg/24h:

$$\mu\text{g}/24\text{h} = \frac{\text{Concentration (pg/ml)} \times 44 \times \text{Urine excreted (liters)}}{1000}$$

EXAMPLE OF CALCULATION

The values reported below must be considered as an example and may not be used in place of experimental data.

Description	Average cpm	B/BO (%)	Aldosterone (pg/ml)
Total activity (T)	41999	-	-
NSB	154	-	-
CAL 0	19213	100	0
CAL 1	16439	85.4	25
CAL 2	14667	76.1	50
CAL 3	12268	63.6	100
CAL 4	8184	42.1	300
CAL 5	5844	29.9	600
CAL 6	3669	18.4	1500
CONTROL	11263	58.3	133
P1	14905	77.4	45.5
P2	9869	51.0	191
P3	7934	40.8	323

9. REFERENCE VALUES

It is recommended that each laboratory determines its own reference interval. Values reported below are only indicative.

Serum Aldosterone:	
- At rest:	10 - 160 pg/ml
- In motion:	35 - 300 pg/ml
Urinary Aldosterone:	2.8 - 30 µg/24h.

10. PERFORMANCES OF THE ASSAY

SPECIFICITY

The present method has shown the following cross-reactions: 100% with Aldosterone, 17.2% with 3β,5α Tetrahydroaldosterone, 0.12% with 3α,5β Tetrahydroaldosterone, less than 0.017% with Prednisolone, less than 0.003% with Cortisol, Corticosterone, Cortisone, 11-Deoxycortisol, 11-Deoxycorticosterone, 17-Hydroxyprogesterone, Progesterone and less than 0.0017% with Prednisone, Testosterone and Androstenedione.

The percentage of cross-reactivity is calculated by using the Abraham formula: $X/Y \times 100$, X and Y being the weight of the substance to be assayed and the weight of the interfering substance, both able to reduce the binding capacity by 50%.

SENSITIVITY

Analytical sensitivity

The sensitivity was calculated based upon the calibration curve and expressed as the minimal dose showing a significant difference from the Zero Calibrator (mean value - 2 S.D.). This dose is 1.4 pg/ml.

Functional sensitivity

The functional assay sensitivity is the lowest value which is measured with a precision of maximum 20% inter-assay variance. For the RIAZENco Aldosterone, this value is 25 pg/ml.

PRECISION

Precision was evaluated upon intra- and inter-assay variability at different analyte concentrations.

Intra-assay

Serum	Mean	±	S.D.	C.V.	N
	(pg/ml)	(pg/ml)	(pg/ml)	(%)	
1	42.3	±	5.8	13.7	20
2	177	±	6.7	3.8	20
3	278	±	14.8	5.3	20

Inter-assay

Serum	Mean	±	S.D.	C.V.	N
	(pg/ml)	(pg/ml)	(pg/ml)	(%)	
1	38.2	±	7.1	18.6	9
2	169	±	12.6	7.5	9
3	284	±	17.7	6.2	9

ACCURACY

Accuracy of the method has been checked by the recovery and parallelism tests.

Recovery Test

Samples, mixed with equal volumes of each calibrator, were tested.

Added	Expected (pg/ml)	Measured (pg/ml)	Recovery (%)
S1	-	97.2	-
S1 + CAL 0	48.6	41.6	85.6
S1 + CAL 1	61.1	69.4	113.6
S1 + CAL 2	73.6	88.8	120.7
S1 + CAL 3	98.6	121	122.7
S1 + CAL 4	199	249	125.1
S1 + CAL 5	349	455	130.4
S1 + CAL 6	799	933	116.8
S2	-	142	-
S2 + CAL 0	71.0	68.4	96.3
S2 + CAL 1	83.5	83.4	99.9
S2 + CAL 2	96.0	96.9	100.9
S2 + CAL 3	121	137	113.2
S2 + CAL 4	221	244	110.4
S2 + CAL 5	371	431	116.2
S2 + CAL 6	821	952	116.0

Parallelism Test

Serums with high analyte concentration was tested at different dilutions with the Zero Calibrator.

Dilution	Expected (pg/ml)	Measured (pg/ml)	Recovery (%)
S1 undiluted	-	128	-
1/2	64.1	61.6	96.1
1/4	32.1	30.9	96.3
1/8	16.0	14.9	78.4
S2 undiluted	-	351	-
1/2	176	161	91.5
1/4	87.8	75	85.4
1/8	43.9	36.3	82.7
1/16	22.0	25	113.6

This package insert is downloadable at www.zentech.be.

ESPAÑOL

RADIOINMUNOANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE ALDOSTERONA EN SUERO HUMANO Y ORINA R-CW-100 - 100 determinaciones

SÓLO PARA USO EN DIAGNÓSTICOS IN VITRO

1. APLICACIONES CLÍNICAS

La aldosterona es una hormona esteroidea con un peso molecular de 360 kda producida glomerular de la corteza suprarrenal.

El análisis de la aldosterona tiene una gran importancia en el diagnóstico del hiperaldosteronismo primario (síndrome de Conn), en la denominada hipertensión esencial, en los cambios de presión arterial inducidos por la administración de cantidades anómalas de determinados tipos de alimentos (regaliz) o medicamentos (potasio/sodio), en nefrosis, etc.

Los niveles de aldosterona en sangre siguen un ritmo circadiano y están estrictamente relacionados con los estados de reposo o ejercicio. Siendo necesario estudiar los niveles de aldosterona en la sangre mediante pruebas dinámicas de estimulación y supresión.

2. PRINCIPIO DEL ANÁLISIS

El presente método está basado en un radioinmunoanálisis (RIA) competitivo. Durante la incubación, la aldosterona de la muestra/calibrador compete con la aldosterona marcada con el yodo 125 (trazador) por los lugares de unión específicos del antisuero que recubre los tubos. La separación se basa en el uso de tubos recubiertos con anticuerpos, un las paredes de los tubos se encuentran recubiertas de antisuero antialdosterona. Tras la aspiración, se mide la radiactividad de los tubos con un contador de centelleo gamma. El grado de unión será inversamente proporcional a la concentración hormonal de muestra/calibrador.

3. MATERIAL SUMINISTRADO

- Reactivos suficientes para 100 determinaciones.
 - Almacene el kit y los reactivos a 2-8°C.
 - La fecha de caducidad de cada reactivo se muestra en la etiqueta.
- 1. Trazador radiactivo:** 1 vial (50 ml) de ¹²⁵I-Aldosterona en tampón fosfato. Contenido de radiactividad: 85 KBq. Conservante: NaN₃ (<0,1%).
 - 2. Calibradores:** 8 viales de aldosterona en suero humano. Conservante: NaN₃ (<0,1%). Liofilizado. Reconstituya el calibrador cero con 3 ml de agua destilada y los calibradores 1-6 con 2 ml de agua destilada. Una vez reconstituido, congele el control y los calibradores no usados en alícuotas a -20°C. Para conocer el valor exacto, consulte la hoja de datos de control de calidad.
 - 3. Control:** 1 vial de aldosterona en suero humano. Conservante: NaN₃ (<0,1%). Liofilizado. Reconstituir con 2 ml de agua destilada. Una vez reconstituido, congele el control no usado en alícuotas a -20°C. Para conocer el valor exacto, consulte la hoja de datos de control de calidad.
 - 4. Tubos recubiertos:** 100 tubos recubiertos con anticuerpo antialdosterona. Los tubos que no se usen deberán almacenarse a 2-8°C protegidos de la humedad.

4. MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

- Tubos de ensayo de plástico
- Gradillas de tubos de ensayo.
- Micropipetas automáticas ajustables con puntas desechables.
- Mezclador vórtex.
- Cilindro graduado.
- Bomba de aspiración o aparato de lavado automático.
- Contador de centelleo gamma.
- Agua destilada.
- Agitador orbital ajustable a 150 rpm.
- Ácido clorhídrico.

5. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES PARA EL USUARIO

Para uso diagnóstico in vitro. Material radioactivo.

Esta prueba sólo debe realizarla personal de laboratorio con experiencia y de acuerdo con GLP.

Material radioactivo. Se recomienda evitar su administración por vía interna o externa a seres humanos o animales.

La compra, solicitud, posesión y uso de este material radioactivo sólo se autoriza a médicos, laboratorios clínicos u hospitales con el propósito exclusivo de realizar pruebas clínicas y de laboratorio *in vitro* que no conlleven la administración del material por vía interna o externa, ni la exposición de seres humanos o animales a sus radiaciones. Su compra, solicitud, posesión, uso y transferencia están sujetos a las normativas de cada país.

Características físicas ¹²⁵I: se encuentran al final

- 1. Medidas de seguridad:** Al manipular material radioactivo es conveniente aplicar las siguientes medidas:
 - o Guarde el material radioactivo en las zonas destinadas a este fin.
 - o No coma, beba, fume ni se maquille en zonas en las que se manipulen materiales radioactivos.
 - o No utilice la pipeta con la boca.
 - o Utilice guantes para manipular materiales radioactivos y lávese las manos cuando termine.
 - o Cubra el área de trabajo con papel secante desechable.
 - o Limpie bien el líquido derramado de inmediato y deseche los materiales contaminados de la misma forma que los residuos radioactivos.
 - o Si las normativas locales lo permiten, puede eliminar los residuos radioactivos líquidos a través del sistema municipal de alcantarillado.
- 2. RIESGOS QUÍMICOS de la azida sódica (NaN₃):** Algunos de los reactivos incluidos en este kit contienen una concentración de azida sódica al <0,1% como conservante. Dado que la azida sódica puede dar lugar a la formación de azidas explosivas de cobre o plomo en las tuberías, se recomienda eliminar los reactivos no radioactivos a través del desagüe mediante abundantes descargas de agua.
Frases de Riesgo
R 21/22 Nocivo en contacto con la piel y por ingestión
Frases de Seguridad
S-26 En caso de contacto con los ojos, lávese inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico.
S-28.1 En caso de contacto con la piel, lávese inmediata y abundantemente con agua.
S-46 En caso de ingestión, acuda inmediatamente al médico y muéstrela la etiqueta o el envase.
- 3. MATERIAL CON POSIBLE RIESGO BIOLÓGICO:** Este kit puede contener algunos reactivos elaborados con suero o plasma humano. El resultado obtenido con el método de prueba aceptado por la FDA (Organismo para el control de Alimentos y Medicamentos de EE.UU.) demuestra que el plasma o suero utilizado no es reactivo para anticuerpos HIV-1/2, HCV y HBsAg. Dado que no existe ningún método que garantice la total ausencia de anticuerpos HIV-1/2, HCV y HbsAg, u otros agentes infecciosos, es preciso aplicar el nivel de seguridad biológica 2 al manipular estos reactivos, de conformidad con las recomendaciones relacionadas con las muestras de suero o sangre humana potencialmente infecciosas del manual "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" (Seguridad biológica en laboratorios microbiológicos y biomédicos), 3ª Edición, 1993, publicado por los Centros de Control de Enfermedades y el Instituto Nacional de la Salud.

6. RECOGIDA DE MUESTRAS

El análisis puede realizarse en muestras de suero o de orina. Dado que la aldosterona muestra un ritmo circadiano, se recomienda anotar la hora de recogida de las muestras. Deben descartarse las muestras de alto contenido lipico o hemolizadas. Mantenga las muestras a 2-8°C durante 1-2 días; para periodos más largos se recomienda congelar las muestras a -20°C. Debe evitarse la congelación y descongelación repetida de las muestras.

Muestras de orina

Recogida muestras.

A una muestra de orina de 24 horas se le añade ácido bórico (10 g/l) como conservante. Registrar el volumen de recogida de muestra y almacenar la 2-8°C durante 1-2 días; para períodos más prolongados congelar a -20°C.

Hidrólisis de orina:

1. Prepare tubos no recubiertos, uno para cada muestra de orina.
2. Pipetee 100 µl de muestra de orina.
3. Añada 1 ml de ácido clorhídrico 0,1 M en cada tubo.
4. Incube durante 15-20 horas a 30°C.
5. Use 50 µl de esta solución para el análisis.

7. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

- Asegúrese de que todas las muestras y los reactivos se encuentran a temperatura ambiente antes de utilizarlos.
- Antes de su uso, mezcle las muestras por inversión.
- Se recomienda medir todos los calibradores por duplicado.

1. Prepare tubos normales para la actividad total (T) y la unión inespecífica (NSB), así como tubos con recubrimiento para el calibrador cero (Bo), los calibradores (1-6), el control y las muestras.
2. Pipetee **200 µl** de cada calibrador, control y muestra en cada tubo.
- 2.a. **Muestras de orina.** Pipetee **50 µl** de muestra hidrolizada en cada tubo y añada **150 µl** de calibrador cero.
3. Pipetee **200 µl** de calibrador cero en los tubos de unión inespecífica (NSB).
4. Añada **500 µl** de trazador radiactivo en todos los tubos.
5. Mezcle manualmente los tubos de ensayo utilizando la gradilla. No utilice vórtex.
6. Incubar :
Procedimiento A: 18-24 horas a temperatura ambiente; o bien
Procedimiento B: 3 horas a temperatura ambiente agitando mediante agitador orbital reglado a 150 rpm.
7. Aspirar con cuidado la mezcla de incubación de todos los tubos, exceptuando los de actividad total, mediante una bomba de aspiración, o decantar secando los bordes de los tubos con papel secante.
8. Mida la radiactividad de los tubos durante 1 minuto con un contador gamma. Es recomendable controlar el ruido de fondo del instrumento antes de realizar la determinación. Para evitar variaciones en la sensibilidad del sistema, el ruido de fondo debe reducirse al mínimo o ajustarse debidamente.

ESQUEMA DEL ANÁLISIS

Tubos	Acti- -dad total	NSB	Calibra- -dores	Con- -trol	Mues- -tras	Mues- -tras de orina
Reactivo						
Calibrador 0	----	200 µl	----	----	----	150 µl
Calibradores	----	----	200 µl	----	----	----
Controles	----	----	----	200 µl	----	----
Muestras	----	----	----	----	200 µl	50 µl
Trazador	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl

- Llevar a cabo la incubación: 18 – 24 h T° ambiente o 3 h T° ambiente en agitación (150 rpm)
- Aspirar
- Recuento

8. CÁLCULO DE RESULTADOS

Trace la curva de calibración sobre papel logit-log o semi-log, con las concentraciones de calibración en el eje x y el % de B/Bo respectivo en el eje y.

Calcule el valor de B/Bo% de cada muestra y lea la concentración por interpolación con la curva de calibración para obtener la concentración de aldosterona en las muestras analizadas, expresada en µg/ml.

Muestras de orina.

La concentración leída en la curva de calibración debe multiplicarse por un factor 44 para obtener la concentración de aldosterona en µg/ml. Para expresar la concentración de aldosterona en µg/24h:

$$\mu\text{g}/24\text{h} = \frac{\text{Concentración (pg/ml)} \times 44 \times \text{Orina excretada (litros)}}{1000}$$

EJEMPLO DE CÁLCULO

Los valores que se indican a continuación son simplemente ilustrativos y no deben emplearse en lugar de los datos experimentales.

Descripción	Promedio cpm	B/Bo (%)	Aldosterona (pg/ml)
Actividad total (T)	41999	-	-
NSB	154	-	-
CAL 0	19213	100	0
CAL 1	16439	85,4	25
CAL 2	14667	76,1	50
CAL 3	12268	63,6	100
CAL 4	8184	42,1	300
CAL 5	5844	29,9	600
CAL 6	3669	18,4	1500
CONTROL	11263	58,3	133
P1	14905	77,4	45,5
P2	9869	51,0	191
P3	7934	40,8	323

9. VALORES DE REFERENCIA

Es recomendable que cada laboratorio determine su propio intervalo de referencia. Los valores que se indican a continuación son meramente indicativos.

Aldosterona en suero:

- En reposo: 10 - 160 pg/ml
- En movimiento: 35 - 300 pg/ml

Aldosterona en orina:

2.8 - 30 µg/24h.

10. RENDIMIENTO DEL ANÁLISIS

ESPECIFICIDAD

Con el presente método se han mostrado las siguientes reacciones cruzadas: 100% con aldosterona, 17,2% con 3β,5α tetrahydroaldosterona, 0,12% con 3α,5β tetrahydroaldosterona, menos del 0,017% con prednisolona, menos del 0,003% con cortisol, corticosterona, cortisona, 11-desoxicortisol, 11-desoxicorticosterona, 17-hidroxiprogesterona, progesterona y menos del 0,0017% con prednisona, testosterona y androstenediona.

El porcentaje de reactividad cruzada se calcula mediante la fórmula de Abraham: $X/Y \times 100$, donde X e Y son el peso de la sustancia que se somete a análisis y el peso de la sustancia interferente, ambas capaces de reducir la capacidad de unión en un 50%.

SENSIBILIDAD

Sensibilidad analítica

La sensibilidad se calculó a partir de la curva de calibración y se expresó como dosis mínima con una diferencia significativa con respecto al calibrador cero (valor promedio - 2 D. E.). Esta dosis es de 1,4 pg/ml.

Sensibilidad funcional

La sensibilidad funcional del análisis es el valor inferior que se mide con una precisión de varianza máxima de un 20% entre análisis. Para la RIAZENco Aldosterone, este valor es de 25 pg/ml.

PRECISIÓN

La precisión se evaluó sobre la variabilidad intra-análisis y inter-análisis, con concentraciones de analito distintas.

Intra-ensayo

Suero	Media	±	D.E.	C.V.	N
	(pg/ml)			(%)	
1	42,3	±	5,8	13,7	20
2	177	±	6,7	3,8	20
3	278	±	14,8	5,3	20

Inter-ensayo

Suero	Media	±	D.E.	C.V.	N
	(pg/ml)			(%)	
1	38,2	±	7,1	18,6	9
2	169	±	12,6	7,5	9
3	284	±	17,7	6,2	9

Exactitud

La precisión del método ha sido comprobada mediante pruebas de recuperación y paralelismo.

Prueba de recuperación

Se analizaron muestras mezcladas con volúmenes iguales de cada calibrador.

Adición	Previsto (pg/ml)	Medido (pg/ml)	Recuperación (%)
S1	-	97,2	-
S1 + CAL 0	48,6	41,6	85,6
S1 + CAL 1	61,1	69,4	113,6
S1 + CAL 2	73,6	88,8	120,7
S1 + CAL 3	98,6	121	122,7
S1 + CAL 4	199	249	125,1
S1 + CAL 5	349	455	130,4
S1 + CAL 6	799	933	116,8
S2	-	142	-
S2 + CAL 0	71,0	68,4	96,3
S2 + CAL 1	83,5	83,4	99,9
S2 + CAL 2	96,0	96,9	100,9
S2 + CAL 3	121	137	113,2
S2 + CAL 4	221	244	110,4
S2 + CAL 5	371	431	116,2
S2 + CAL 6	821	952	116,0

Prueba de paralelismo

Los sueros con una elevada concentración de analito fueron analizados a distintas diluciones con el calibrador cero.

Dilución	Previsto (pg/ml)	Medido (pg/ml)	Recuperación (%)
S1 sin diluir	-	128	-
1/2	64,1	61,6	96,1
1/4	32,1	30,9	96,3
1/8	16,0	14,9	78,4
S2 sin diluir	-	351	-
1/2	176	161	91,5
1/4	87,8	75	85,4
1/8	43,9	36,3	82,7
1/16	22,0	25	113,6

Información disponible en la página web: www.zentech.be.

ΕΛΛΗΝΙΚΑ

ΡΑΔΙΟΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΟΣΟΤΙΚΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ ΑΛΔΟΣΤΕΡΟΝΗΣ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΟ ΚΑΙ ΟΥΡΑ R-CW-100 - 100 προσδιορισμοί

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*

1. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Η αλδοστερόνη είναι μια στεροειδής ορμόνη με μοριακό βάρος 360, η οποία παράγεται από την σπειροειδή ζώνη του φλοιού των επινεφριδίων.

Ο προσδιορισμός αλδοστερόνης είναι εξαιρετικά σημαντικός για τη διάγνωση του πρωτοπαθούς υπεραλδοστερονισμού (νόσος Conn), στην αποκαλούμενη ιδιοπαθή υπέρταση, σε αλλαγές της αρτηριακής πίεσης που προκαλούνται από τη χορήγηση μη φυσιολογικών ποσοτήτων συγκεκριμένων τύπων τροφών (γλυκόριζα) ή φαρμάκων (κάλιο/νάτριο), σε σύνδρομα νέφρωσης κ.λπ.

Τα επίπεδα της αλδοστερόνης στο αίμα ακολουθούν επίσης κίρκαδιανό ρυθμό και σχετίζονται αυστηρά με καταστάσεις ανάπαυσης ή άσκησης, είναι επομένως απαραίτητο να μελετώνται τα επίπεδα της αλδοστερόνης στο αίμα μέσω δυναμικών εξετάσεων διέγερσης ή/και καταστολής.

2. ΒΑΣΙΚΗ ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Ο παρών προσδιορισμός βασίζεται σε μία ανταγωνιστική ραδιοανοσολογική μέθοδο (RIA). Κατά τη διάρκεια της επώασης, η αλδοστερόνη του δείγματος/βαθμονομητή ανταγωνίζεται την αλδοστερόνη που είναι σημασμένη με ¹²⁵I (ιχνηθέτης) για τις ειδικές θέσεις του αντιορού που είναι επιστρωμένοι στα σωληνάκια. Ο διαχωρισμός βασίζεται στη χρήση σωληναρίων επιστρωμένων με αντισώματα, όπου ο αντιορός αντι-αλδοστερόνης προσηλώνεται στα τοιχώματα των σωληναρίων. Μετά την αναρρόφηση, η ραδιενέργεια στα σωληνάκια μετράται σε μετρητή γ ακτινοβολίας. Ο βαθμός δέσμευσης θα είναι αντιστρόφως ανάλογος προς τη συγκέντρωση της ορμόνης στο δείγμα/βαθμονομητή.

3. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

- Τα αντιδραστήρια επαρκούν για 100 προσδιορισμούς.
 - Φυλάσσετε το kit και τα αντιδραστήρια στους 2-8°C.
 - Η ημερομηνία λήξης κάθε αντιδραστηρίου αναγράφεται στην ετικέτα.
1. **Ραδιενεργός ιχνηθέτης:** 1 φιαλίδιο (50 ml) αλδοστερόνης σημασμένης με ¹²⁵I σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών. Περιεχόμενα ραδιενέργειας: 85 kBq. Συντηρητικό: NaN₃ (< 0,1%).
 2. **Βαθμονομητής:** 8 φιαλίδια αλδοστερόνης σε ανθρώπινο ορό. Συντηρητικό: NaN₃ (< 0,1%). Λυοφιλοποιημένο. Ανασυστήστε το μηδενικό βαθμονομητή με 3 ml απεσταγμένου νερού και τους βαθμονομητές 1-6 με 2 ml απεσταγμένου νερού. Μετά την ανασύσταση, χωρίστε σε κλάσματα και καταψύξτε μη χρησιμοποιημένους βαθμονομητές και ορό ελέγχου στους -20°C. Για την ακριβή τιμή, ανατρέξτε στις τιμές που αναφέρονται στο φύλλο δεδομένων Ποιοτικού Ελέγχου.
 3. **Ορός ελέγχου:** 1 φιαλίδιο αλδοστερόνης σε ανθρώπινο ορό. Συντηρητικό: NaN₃ (< 0,1%). Λυοφιλοποιημένο. Ανασυστήστε με 2 ml απεσταγμένου νερού. Μετά την ανασύσταση, χωρίστε σε κλάσματα και καταψύξτε το μη χρησιμοποιημένο ορό ελέγχου σε θερμοκρασία -20°C. Για την ακριβή τιμή, ανατρέξτε στις τιμές που αναφέρονται στο φύλλο δεδομένων Ποιοτικού Ελέγχου.
 4. **Επιστρωμένα σωληνάκια:** 100 σωληνάκια επιστρωμένα με αντισώματα αντι-αλδοστερόνης. Τα μη χρησιμοποιημένα σωληνάκια πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2-8°C, προστατευμένα από την υγρασία.

4. ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

- Πλαστικά δοκιμαστικά σωληνάρια
- Βάσεις δοκιμαστικών σωληναρίων.
- Ρυθμιζόμενες, αυτόματες μικροπιπέτες με αναλώσιμα ρύγχη.
- Αναμείκτης στροβιλισμού (τύπου vortex)
- Διαβαθμισμένος κύλινδρος.
- Αντλία αναρρόφησης ή αυτοματοποιημένη συσκευή πλήσης.
- Μετρητής σπινθηρισμών γ ακτινοβολίας.
- Απεσταγμένο νερό.
- Αναδευτήρας τροχιακής κίνησης ρυθμιζόμενος σε 150 rpm.
- Υδροχλωρικό οξύ.

5. ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΧΡΗΣΤΕΣ

Για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

Μόνον έμπειρο προσωπικό εργαστηρίων θα πρέπει να χρησιμοποιεί αυτήν την εξέταση και ο χειρισμός θα πρέπει να είναι σε συμφωνία με την Ορθή Εργαστηριακή Πρακτική (GLP).

Ραδιενεργό υλικό – Όχι για εσωτερική ή εξωτερική χρήση σε ανθρώπους ή ζώα.

Αυτό το ραδιενεργό υλικό μπορεί να παραλαμβάνεται, να αποκτάται, να κατέχεται και να χρησιμοποιείται μόνον από ιατρούς, κλινικά εργαστήρια ή νοσοκομεία και μόνο για *in vitro* κλινικές ή εργαστηριακές εξετάσεις, οι οποίες δεν περιλαμβάνουν εσωτερική ή εξωτερική χορήγηση του υλικού ή της ακτινοβολίας του σε ανθρώπους ή ζώα. Η παραλαβή, λήψη, κατοχή, χρήση και μεταβίβαση του υπόκεινται στους κανονισμούς κάθε χώρας.

Φυσικά χαρακτηριστικά του ¹²⁵I: βλ. τέλος των οδηγιών

- 1. Προφυλάξεις για την ασφάλεια:** Οι ακόλουθες προφυλάξεις θα πρέπει να τηρούνται κατά το χειρισμό ραδιενεργού υλικού:
 - ο Να φυλάσσετε τα ραδιενεργά υλικά σε καθορισμένο χώρο.
 - ο Μην τρώτε, μην πίνετε, μην καπνίζετε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά στο χώρο όπου γίνεται χειρισμός ραδιενεργών υλικών.
 - ο Μη διανέμετε με πιπέτα χρησιμοποιώντας το στόμα σας.
 - ο Να φοράτε γάντια όταν χειρίζεστε ραδιενεργά υλικά και να πλένετε καλά τα χέρια σας στη συνέχεια.
 - ο Να καλύπτετε την περιοχή εργασίας με απορροφητικό χαρτί μίας χρήσης.
 - ο Να σκουπίζετε αμέσως και καλά όλα τα χυμένα υλικά και να απορρίπτετε τα μολυσμένα υλικά ως ραδιενεργά απόβλητα.
 - ο Να απορρίπτετε τα υγρά ραδιενεργά απόβλητα στο υγειονομικό σύστημα αποχέτευσης, αν αυτό επιτρέπεται από τους τοπικούς κανονισμούς.
- 2. ΧΗΜΙΚΟΣ ΚΙΝΔΥΝΟΣ Αζίδιο του νατρίου (NaN₃) Προειδοποίηση:** Μερικά από τα αντιδραστήρια που περιλαμβάνονται στο kit αυτό περιέχουν αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό. Για όλα τα εν λόγω αντιδραστήρια, η συγκέντρωση του αζιδίου του νατρίου είναι <0,1% w/w. Το αζίδιο του νατρίου ενδέχεται να αντιδράσει με το μόλυβδο και το χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων με αποτέλεσμα το σχηματισμό αζιδίων μετάλλων. Απορρίψτε όλα τα μη ραδιενεργά αντιδραστήρια ξεπλένοντας με άφθονο νερό μέσω του συστήματος της αποχέτευσης.
Φράσεις που αφορούν κινδύνους
R 21/22 Επιβλαβές σε επαφή με το δέρμα και σε περίπτωση καταπόσεως.
Φράσεις που αφορούν την ασφάλεια
S-26 Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, πλύνετε τα αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή.
S-28.1 Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα, πλυθείτε αμέσως με άφθονο νερό.
S-46 Σε περίπτωση κατάποσης ζητήστε αμέσως ιατρική συμβουλή και δείξτε αυτό το δοχείο ή την ετικέτα.
- 3. ΠΙΘΑΝΩΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟ ΥΛΙΚΟ Προειδοποίηση:** Το kit αυτό μπορεί να περιέχει μερικά αντιδραστήρια παρασκευασμένα με ανθρώπινο ορό ή πλάσμα. Ο ορός ή το πλάσμα που χρησιμοποιήθηκε έχει ελεγχθεί με μέθοδο εγκεκριμένη από τον FDA και έχει βρεθεί ότι δεν είναι δραστικός για αντισώματα έναντι HIV-1/2, HCV και HBsAg. Επειδή καμία μέθοδος δεν μπορεί να προσφέρει πλήρη διασφάλιση ότι δεν υπάρχουν οι ιοί HIV-1/2, HCV, HBsAg ή άλλοι μολυσματικοί παράγοντες, ο χειρισμός αυτών των αντιδραστηρίων θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με το

Επίπεδο Βιολογικής Ασφάλειας 2 όπως συνιστάται για οποιοδήποτε ενδεχομένως μολυσματικό ανθρώπινο ορό ή δείγμα αίματος στο εγχειρίδιο των Κέντρων Ελέγχου Νόσων/Εθνικών Ινστιτούτων Υγείας με τίτλο "Βιολογική ασφάλεια σε μικροβιολογικά και βιοχημικά εργαστήρια" (Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories), 3^η έκδοση 1993.

6. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Ο προσδιορισμός μπορεί να εκτελεστεί σε δείγματα ορού ή ούρων. Επειδή η αλδοστερόνη παρουσιάζει κίρκαδιανό ρυθμό, προτείνουμε να σημειώνετε το χρόνο συλλογής του δείγματος. Υψηλά λιπαιμικά ή αιμολυμένα δείγματα πρέπει να απορρίπτονται. Διατηρήστε τα δείγματα στους 2-8°C για 1-2 ημέρες.

Για μεγαλύτερες περιόδους, συνιστούμε να καταψύχετε τα δείγματα σε θερμοκρασία -20°C. Η επανειλημμένη κατάψυξη και απόψυξη των δειγμάτων θα πρέπει να αποφεύγεται.

Δείγματα ούρων

Συλλογή ούρων.

Συλλέξτε ούρα 24 ωρών προσθέτοντας βορικό οξύ (10 g/l) ως συντηρητικό. Καταγράψτε τον όγκο και φυλάξτε σε θερμοκρασία 2-8°C για 1-2 ημέρες. Καταψύξτε στους -20°C για μεγαλύτερες χρονικές περιόδους.

Υδρόλυση ούρων:

1. Προετοιμάστε μη επιστρωμένα σωληνάρια, ένα για κάθε δείγμα ούρων.
2. Διανείμετε με πιπέτα 100 μl δείγματος ούρων.
3. Προσθέστε σε κάθε σωληνάριο 1 ml υδροχλωρικού οξέος 0.1 M.
4. Επώαστε για 15-20 ώρες στους 30°C.
5. Χρησιμοποιήστε 50 μl από αυτό το διάλυμα για τον προσδιορισμό.

7. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΘΟΔΟΥ

- Φέρετε όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση.
 - Πριν από τη χρήση, αναμείξτε τα δείγματα με αναστροφή.
 - Για όλους τους βαθμονομητές, συνιστάται διπλή μέτρηση.
1. Προετοιμάστε απλά σωληνάρια για τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I (T) και τη μέτρηση της μη ειδικής δέσμησης (NSB) και επιστρωμένα σωληνάρια για το μηδενικό βαθμονομητή (Bo), τους βαθμονομητές (1-6), τον ορό ελέγχου και τα δείγματα.
 2. Διανείμετε με πιπέτα **200 μl** από κάθε βαθμονομητή, ορό ελέγχου και δείγμα σε κάθε σωληνάριο.
 - 2α- Δείγματα ούρων.** Διανείμετε με πιπέτα **50 μl** υδρολυμένου δείγματος σε κάθε σωληνάριο και προσθέστε **150 μl** από το μηδενικό βαθμονομητή.
 3. Διανείμετε με πιπέτα **200 μl** από το μηδενικό βαθμονομητή στα σωληνάρια για τη μη ειδική δέσμηση (NSB).
 4. Προσθέστε **500 μl** ραδιενεργού ιχνηθέτη σε όλα τα σωληνάρια.
 5. Εκτελέστε μη αυτόματη ανάμειξη στη βάση με τα δοκιμαστικά σωληνάρια. Μη χρησιμοποιείτε vortex.
 6. Επώαστε:
Διαδικασία A: 18-24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου ή
Διαδικασία B: 3 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου με αναδευτήρα τροχιακής κίνησης ρυθμισμένο στις 150 rpm.
 7. Αναρροφήστε προσεκτικά το μείγμα της επώασης από όλα τα σωληνάρια, εκτός από εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("total"), με μια αντλία αναρρόφησης ή μεταγγίστε στεγνώνοντας τα άκρα των σωληναρίων με στυπόχαρτο.
 8. Μετρήστε τη ραδιενέργεια στα σωληνάρια επί 1 λεπτό σε μετρητή γ ακτινοβολίας. Προτείνουμε να ελέγξετε το υπόβαθρο του οργάνου πριν μετρήσετε τον προσδιορισμό. Προκειμένου να αποφύγετε αποκλίσεις στην ευαισθησία του συστήματος, το υπόβαθρο πρέπει να μειωθεί στο ελάχιστο ή να ρυθμιστεί κατάλληλα.

ΣΧΗΜΑ ΜΕΘΟΔΟΥ

Σωληνάρι α	Μέτρηση Ιχνηθέτη ¹²⁵ I (total)	NSB	Βαθμονο μητές	Ορός ελέγχο υ	Δείγματ α	Δείγματα ούρων
Αντιδραστή ριο						
Βαθμονομη τής 0	----	200 μl	----	----	----	150 μl
Βαθμονομη τές	----	----	200 μl	----	----	----
Οροί ελέγχου	----	----	----	200 μl	----	----
Δείγματα Ιχνηθέτης	500 μl	500 μl	500 μl	500 μl	200 μl 500 μl	50 μl 500 μl

- Επώαστε: 18 - 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου ή 3 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου, ανάδευση (150 rpm)
- Αναροφήστε
- Μετρήστε

8. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Σχεδιάστε την καμπύλη βαθμονόμησης σε ένα χαρτί γραφημάτων log-log ή ημιλογαριθμικό, με τις συγκεντρώσεις της βαθμονόμησης στον άξονα των x και το αντίστοιχο B/Bo% στον άξονα των y.

Υπολογίστε το B/Bo% για κάθε δείγμα και διαβάστε τη συγκέντρωση με αναγωγή στην καμπύλη βαθμονόμησης για να λάβετε τη συγκέντρωση της αλδοστερόνης που υπάρχει στα δείγματα που υποβλήθηκαν σε προσδιορισμό, εκφρασμένη σε pg/ml.

Δείγματα ούρων.

Η συγκέντρωση που διαβάζεται στην καμπύλη βαθμονόμησης πρέπει να πολλαπλασιαστεί με το συντελεστή 44 για να ληφθεί η συγκέντρωση της αλδοστερόνης σε pg/ml. προκειμένου να εκφραστεί η συγκέντρωση της αλδοστερόνης σε μg/24 ώρες:

$$\frac{\text{Συγκέντρωση (pg/ml)} \times 44 \times \text{Απέκκριση ούρων (λίτρα)} \text{ μg/24 ώρες} =}{1000}$$

ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΥ

Οι τιμές που αναφέρονται πιο κάτω πρέπει να θεωρηθούν ως παράδειγμα και δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν αντί πειραματικών δεδομένων

Περιγραφή	Μέση τιμή cpm	B/Bo (%)	Αλδοστερόνη (pg/ml)
Μέτρηση Ιχνηθέτη ¹²⁵ I (T)	41999	-	-
NSB	154	-	-
CAL 0	19213	100	0
CAL 1	16439	85,4	25
CAL 2	14667	76,1	50
CAL 3	12268	63,6	100
CAL 4	8184	42,1	300
CAL 5	5844	29,9	600
CAL 6	3669	18,4	1500
ΟΡΟΣ ΕΛΕΓΧΟΥ	11263	58,3	133
P1	14905	77,4	45,5
P2	9869	51,0	191
P3	7934	40,8	323

9. ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Συνιστάται κάθε εργαστήριο να προσδιορίσει το δικό του πεδίο τιμών αναφοράς. Οι τιμές που αναφέρονται πιο κάτω είναι απλώς ενδεικτικές.

Αλδοστερόνη ορού:	
- Κατά την ανάπαυση:	10 - 160 pg/ml
- Εν κινήσει:	35 - 300 pg/ml
Αλδοστερόνη στα ούρα:	2.8 - 30 μg/24h.

10. ΑΠΟΔΟΣΕΙΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Η παρούσα μέθοδος έχει δείξει τις ακόλουθες διασταυρούμενες αντιδράσεις: 100% με την αλδοστερόνη, 17,2% με την 3β,5α τετραυδροαλδοστερόνη, 0,12% με την 3α,5β τετραυδροαλδοστερόνη, λιγότερο από 0,017% με την πρεδνιζολόνη, λιγότερο από 0,003% με την κορτιζόλη, κορτικοστερόνη, κορτιζόνη, 11-δεοξυκορτιζόλη, 11-δεοξυπρογεστερόνη, 17-υδροξυπρογεστερόνη, προγεστερόνη και λιγότερο από 0,0017% με την πρεδνιζόνη, τεστοστερόνη και ανδροστενεδιόνη.

Το επί τοις εκατό ποσοστό της διασταυρούμενης αντιδραστικότητας υπολογίζεται χρησιμοποιώντας τον τύπο Abraham: X/Y x 100, όπου X και Y είναι το βάρος της ουσίας που πρόκειται να υποβληθεί σε προσδιορισμό και το βάρος της παρεμβαλλόμενης ουσίας, που σε συνδυασμό μπορεί να μειώσουν την ικανότητα δέσμευσης κατά 50%.

ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ

Αναλυτική ευαισθησία

Η ευαισθησία υπολογίστηκε με βάση την καμπύλη βαθμονόμησης και εκφράστηκε ως η ελάχιστη δόση που δείχνει σημαντική διαφορά από το μηδενικό βαθμονομητή (μέση τιμή + 2 T.A.) Η δόση αυτή είναι 1,4 pg/ml.

Λειτουργική ευαισθησία

Η λειτουργική ευαισθησία του προσδιορισμού είναι η χαμηλότερη τιμή που μετράται με ακρίβεια μέγιστης διακύμανσης 20% μεταξύ διαφορετικών προσδιορισμών. Για τον προσδιορισμό RIAZENco Aldosterone, η τιμή αυτή είναι 25 pg/ml.

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Η ακρίβεια αξιολογήθηκε με βάση τη μεταβλητότητα για τον ίδιο προσδιορισμό και μεταξύ διαφορετικών προσδιορισμών, σε διαφορετικές συγκεντρώσεις αναλυόμενης ουσίας.

Για τον ίδιο προσδιορισμό

Ορός	Μέση τιμή (pg/ml)	±	Τυπ. απόκλιση	Σ.Δ. (%)	N
1	42,3	±	5,8	13,7	20
2	177	±	6,7	3,8	20
3	278	±	14,8	5,3	20

Μεταξύ διαφορετικών προσδιορισμών

Ορός	Μέση τιμή (pg/ml)	±	Τυπ. απόκλιση	Σ.Δ. (%)	N
1	38,2	±	7,1	18,6	9
2	169	±	12,6	7,5	9
3	284	±	17,7	6,2	9

ΟΡΘΟΤΗΤΑ

Η ορθότητα της μεθόδου έχει ελεγχθεί με δοκιμασίες ανάκτησης και παραλληλισμού.

Δοκιμασία ανάκτησης

Υποβλήθηκαν σε δοκιμασία δείγματα αναμειγμένα με ίσους όγκους από κάθε βαθμονομητή.

Προσθεθέν	Αναμενόμενη συγκέντρωση (pg/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (pg/ml)	Ανάκτηση (%)
S1	-	97,2	-
S1 + CAL 0	48,6	41,6	85,6
S1 + CAL 1	61,1	69,4	113,6
S1 + CAL 2	73,6	88,8	120,7
S1 + CAL 3	98,6	121	122,7
S1 + CAL 4	199	249	125,1
S1 + CAL 5	349	455	130,4
S1 + CAL 6	799	933	116,8
S2	-	142	-
S2 + CAL 0	71,0	68,4	96,3
S2 + CAL 1	83,5	83,4	99,9
S2 + CAL 2	96,0	96,9	100,9
S2 + CAL 3	121	137	113,2
S2 + CAL 4	221	244	110,4
S2 + CAL 5	371	431	116,2
S2 + CAL 6	821	952	116,0

Δοκιμασία παραλληλισμού

Οροί με υψηλή συγκέντρωση αναλυόμενης ουσίας εξετάστηκαν σε διαφορετικές αραιώσεις με το μηδενικό βαθμονομητή.

Αραίωση	Αναμενόμενη συγκέντρωση (pg/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (pg/ml)	Ανάκτηση (%)
S1 αραιωμένο μη	-	128	-
1/2	64,1	61,6	96,1
1/4	32,1	30,9	96,3
1/8	16,0	14,9	78,4
S2 αραιωμένο μη	-	351	-
1/2	176	161	91,5
1/4	87,8	75	85,4
1/8	43,9	36,3	82,7
1/16	22,0	25	113,6

Μπορείτε να κατεβάσετε το παρόν ένθετο φυλλάδιο οδηγιών χρήσης μέσω του διαδικτύου από την ιστοσελίδα www.zentech.be

FRANCAIS

DOSAGE RADIO-IMMUNOMETRIQUE POUR LA DETERMINATION QUANTITATIVE DE L'ALDOSTERONE DANS LE SERUM HUMAIN ET DANS L'URINE R-CW-100 – 100 Déterminations

UNIQUEMENT A USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO

1. APPLICATIONS CLINIQUES

L'Aldosterone est une hormone stéroïde d'un poids moléculaire de 360 produite par la zone glomérulée du cortex des glandes surrénales.

Le dosage de l'Aldosterone est extrêmement important dans le diagnostic de l'hyperaldostéronisme primaire (maladie de Conn's), dans l'hypertension essentielle, dans des changements de pression artérielle induits par l'administration de quantités anormales de certains types de nourriture (réglysse) ou de drogues (potassium/sodium), dans des syndromes néphrétiques.

Le taux d'Aldosterone sanguin suit un rythme circadien directement proportionnel à l'état de repos ou de mouvement, il est donc nécessaire d'étudier le taux d'Aldosterone sanguin au repos ou en mouvement.

2. PRINCIPE DE L'ANALYSE

La présente méthode est basée sur un dosage radio-immunométrique par compétition (RIA). Pendant l'incubation, l'échantillon/calibrateur d'aldosterone entre en compétition avec l'aldostérone marquée à l'iode 125 (traceur) pour les sites spécifiques de l'antiserum coaté sur les tubes. La séparation est basée sur l'utilisation des tubes coatés, où l'antisérum anti-aldostérone est fixé sur la paroi du tube. Après aspiration, la radioactivité dans les tubes est mesurée par un compteur gamma. Le degré de liaison sera inversement proportionnel à la concentration d'hormone de l'échantillon/calibrateur.

3. REACTIFS FOURNIS AVEC LA TROUSSE

- Les réactifs sont suffisants pour 100 déterminations.
- Stocker les kits et les réactifs à 2-8°C.
- La date d'expiration de chaque réactif est inscrite sur l'étiquette.

- Traceur radioactif:** 1 flacon (50ml) d'Aldosterone I¹²⁵ dans du tampon phosphate.
Radioactivité : 85 KBq. Conservateur: NaN₃ (<0.1%).
- Calibrateurs:** 8 flacons d'Aldosterone en serum humain. Conservateur: NaN₃ (<0.1%). Lyophilisés. Reconstituer le Calibrateur Zero avec 3 ml d'eau distillée et les Calibrateurs 1-6 avec 2 ml d'eau distillée. Après reconstitution, aliquoter et congeler les calibrateurs et le contrôle non utilisés à -20°C. Pour la valeur exacte, se référer à la fiche technique du contrôle de qualité.
- Contrôle:** 1 flacon d'Aldosterone en serum humain. Conservateur: NaN₃ (<0.1%). Lyophilisé. Reconstituer avec 2 ml d'eau distillée. Après reconstitution, aliquoter et congeler le contrôle non utilisé à -20°C. Pour la valeur exacte, se référer à la fiche technique du contrôle de qualité.
- Tubes coatés:** 100 tubes coatés avec un anticorps anti-Aldosterone. Les tubes non utilisés doivent être conservés à 2-8°C, protégés de l'humidité.

4. MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNIS

- Tubes à essai en plastique.
- Portoir pour tubes à essai
- Micropipettes automatiques réglables avec pointes jetables.
- Vortex
- Pipettes graduées.
- Pompe d'aspiration ou dispositif de lavage automatique.
- Compteur de rayons gamma.
- Eau distillée.
- Agitateur orbital réglable à 150 rpm
- Acide chlorhydrique

5. AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS D'EMPLOI

Ce matériel doit exclusivement être utilisé à des fins de diagnostic *in vitro*.

Le kit est réservé à une utilisation professionnelle. Il doit donc être utilisé exclusivement par du personnel de laboratoire expert, conformément aux normes GLP.

Caractéristiques physique de ¹²⁵I: voir fin de la notice

1. Précautions: Matériel radioactif - Ne pas administrer par voie interne ou externe à des êtres humains ou à des animaux.

Le matériel radioactif ne peut être acheté, commandé et détenu que par du personnel médical, des laboratoires d'analyse, des hôpitaux et uniquement à des fins de diagnostic IN VITRO. Il ne doit en aucun cas être administré par voie interne ou externe à des être humains ou des animaux. La réception, l'achat, la possession, l'utilisation et le transfert de ce matériel sont soumis à des réglementations qui peuvent être différentes dans chaque pays.

Mesures de précaution pour l'utilisation de matériel radioactif :

- Conserver le matériel radioactif dans un endroit prévu à cet effet.
- Ne pas manger, boire, fumer ou appliquer de cosmétiques dans les zones destinées à l'utilisation de matériaux radioactifs.
- Ne pas pipeter la solution radioactive avec la bouche.
- Porter des gants pour manipuler du matériel radioactif et se laver soigneusement les mains après son utilisation.
- Couvrir la zone de travail à l'aide de papier absorbant jetable.
- Toute perte accidentelle de produit radioactif doit être traitée selon les procédures établies.
- Tous les matériaux radioactifs doivent être éliminés selon des systèmes d'élimination conformes aux dispositions prévues par les organismes de contrôle ayant juridiction sur le laboratoire.

2. Risque chimique - Nitrure de sodium (NaN₃): Le nitrure de sodium est utilisé dans les réactifs du kit à une concentration finale ne dépassant pas 0,1%. Le nitrure de sodium peut réagir avec les tuyaux d'évacuation en plomb et cuivre en formant des azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination du produit, rincer abondamment à l'eau pour éviter l'accumulation d'azides.

Phrases de risque

R-21/22 Dangereux si le produit entre en contact avec la peau ou s'il est ingéré

Phrases de sécurité

S-26 En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement avec une grande quantité d'eau et consulter un médecin.

S-28.1 Après le contact avec les yeux, rincer immédiatement avec une grande quantité d'eau.

S-46 En cas d'ingestion, consulter immédiatement un médecin et lui montrer le récipient ou l'étiquette.

3. Risque biologique - Sérum humain: Le kit contient des réactifs préparés à l'aide de sérum ou de plasma humain. Le sérum et le plasma employés ont été testés selon une méthode approuvée par la FDA. Ils sont négatifs à la présence d'anticorps HIV-1/2, HCV et HbsAg. Toutefois, aucune méthode ne permet d'établir avec certitude que le HIV-1/2, HCV, HbsAg ou d'autres agents infectieux sont absents. Ces réactifs devraient donc être considérés comme potentiellement infectieux et manipulés avec les précautions appliquées pour les échantillons de sérum ou de plasma au Biosafety Level 2 et selon les dispositions du manuel sanitaire CDC (Centers for Disease Control/National Institutes of Health), «Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories», 3^{ème} Edition, 1993.

6. ECHANTILLONS A TESTER

Les analyses peuvent être réalisées avec des échantillons de sérums ou d'urine. Puisque l'Aldosterone montre un rythme circadien nous suggérons de noter le moment du prélèvement. Les échantillons hyperlipémiques ou hémolysés doivent être écartés. Conserver les échantillons à 2-8°C pour 1-2 jours; pour une plus longue période il est conseillé de congeler les échantillons à -20°C. La congélation et la décongélation des échantillons devraient être évitées.

Echantillons urinaires

Collecte des urines:

Prélever l'urine de 24 heures en ajoutant de l'acide borique (10 g/l) comme conservateur. Enregistrer le volume et stocker à 2-8°C pour 1-2 jours ; congeler à -20°C pour une plus longue période.

Hydrolyse de l'urine:

1. Préparer les tubes non-coatés, un pour chaque échantillon d'urine.
2. Pipetter 100 µl d'échantillon d'urine.
3. Ajouter 1 ml d'acide chlorhydrique 0,1 M dans chaque tube.
4. Incuber pendant 15-20 heures à 30°C.
5. Utiliser 50 µl de cette solution pour le test.

7. REALISATION DU DOSAGE

- Ramener tous les réactifs et les échantillons à température ambiante avant l'utilisation.
- Avant l'utilisation, mélanger les échantillons par inversion
- Pour tous les calibrateurs, un dosage en double est recommandé.

1. Préparer des tubes non coatés pour l'Activité Totale (T) et l'Activité Non Spécifique(NSB) ainsi que des tubes coatés pour le Calibrateur Zéro (Bo), les Calibrateurs (1-6), le Contrôle et les échantillons.

2. Pipeter 200 µl de chaque Calibrateur, Contrôle et Echantillon dans chaque tube.

2a. Echantillons d'urine. Pipeter 50 µl de l'échantillon hydrolysé dans chaque tube et ajouter 150 µl du Calibrateur Zéro.

3. Pipeter 200 µl du Calibrateur Zéro dans les tubes de l'Activité Non Spécifique.(NSB).

4. Ajouter 500 µl du Traceur Radioactif dans tous les tubes.

5. Mélanger manuellement le rack de tubes. Ne pas utiliser le vortex.

6. Incuber:

Procédure A: 18-24 heures à température ambiante; ou

Procédure B: 3 heures à température ambiante sur un agitateur orbital à 150 rpm.

7. Aspirer délicatement le mélange incubé de chaque tube, sauf ceux pour l'Activité Totale, avec une pompe aspirante ou décanter en séchant les bords des tubes avec du papier absorbant.

8. Compter la radioactivité dans les tubes pendant 1 minute en utilisant un compteur gamma. Nous suggérons de vérifier le bruit de fond de l'instrument avant de réaliser l'analyse. Afin d'éviter des variations de la sensibilité du système, le bruit de fond devrait être réduit à un minimum ou être ajusté correctement.

SCHEMA DU DOSAGE

Tubes Réactif	Activité Totale	NSB	Calibrateurs	Contrôle	Echant.	Echant. d'urine
Calibrateur 0	----	200 µl	----	----	----	150 µl
Calibrateur	----	----	200 µl	----	----	----
Contrôles	----	----	----	200 µl	----	----
Echantillons	----	----	----	----	200 µl	50 µl
Tracer	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl

- Incubation: 18 – 24 h R.T. ou 3 h à R.T. sous agitation (150 rpm)
- Aspiration
- Comptage

8. CALCUL DES RESULTATS

Tracer la courbe de calibration sur du papier logit-log ou semi-log en plaçant les B/B0 (%) obtenus pour chaque calibrateur (axe Y) en fonction de la concentration correspondante (axe X).

Calculer le B/Bo% pour chaque échantillon et lire la concentration par interpolation de la courbe d'étalonnage pour obtenir la concentration d'Aldosterone dans les échantillons testés, exprimée en pg/ml.

Echantillons d'urine.

La concentration lue dans la courbe de calibration doit être multipliée par le facteur 44 pour obtenir la concentration d'Aldosterone en pg/ml. Afin d'exprimer la concentration d'Aldosterone en µg/24h:

$$\mu\text{g}/24\text{h} = \frac{\text{Concentration (pg/ml)} \times 44 \times \text{Urine excrété (litres)}}{1000}$$

EXEMPLE DE CALCUL

Les valeurs rapportées ci-dessous doivent être considérées comme un exemple et ne peuvent être utilisées à la place des données expérimentales.

Description	Moyenne cpm	B/B0 (%)	Aldosterone (pg/ml)
Activité Totale (T)	41999	-	-
NSB	154	-	-
CAL 0	19213	100	0
CAL 1	16439	85.4	25
CAL 2	14667	76.1	50
CAL 3	12268	63.6	100
CAL 4	8184	42.1	300
CAL 5	5844	29.9	600
CAL 6	3669	18.4	1500
CONTROLE	11263	58.3	133
P1	14905	77.4	45.5
P2	9869	51.0	191
P3	7934	40.8	323

9. VALEURS DE REFERENCE

Il est recommandé que chaque laboratoire détermine ces propres intervalles de référence. Les valeurs rapportées ci-dessous le sont seulement à titre indicatif.

Aldosterone Sérique:	
- Au repos:	10 - 160 pg/ml
- En mouvement:	35 - 300 pg/ml
Aldosterone urinaire:	2.8 - 30 µg/24h.

10. PERFORMANCE DU DOSAGE

SPECIFICITE

La présente méthode a montré les réactions croisées suivantes : 100% avec Aldosterone, 17,2% avec 3β,5α Tetrahydroaldosterone, 0.12% avec 3α,5β Tetrahydroaldosterone, moins de 0.017% avec Prednisolone, moins de 0.003% avec Cortisol, Corticosterone, Cortisone, 11-Deoxycortisol, 11-Deoxycorticosterone, 17-Hydroxyprogesterone, Progesterone and moins de 0.0017% avec Prednisone, Testosterone et Androstenedione.

Le pourcentage de cross-activité est calculé en utilisant la formule d'Abraham: $X/Y \times 100$, X et Y étant le poids de la substance à analyser et le poids de la substance d'intervention, les deux capables de réduire la capacité de liaison de 50%.

SENSIBILITE

Sensibilité analytique

La sensibilité a été calculée sur base de la courbe d'étalonnage et exprimée comme dose minimale montrant une différence significative du Calibreur Zéro (valeur moyenne - 2 S.D.). Cette dose est 1.4 pg/ml.

Sensibilité fonctionnelle

La sensibilité fonctionnelle d'analyse est la valeur la plus basse qui est mesurée avec une précision de maximum 20% de variation inter-analyse. Pour le RIAZENco Aldosterone cette valeur est 25 pg/ml.

PRECISION

La précision a été évaluée sur la variabilité intra et inter-analyse à différentes concentrations de l'analyte.

Intra-analyse

Serum	Moyenne (pg/ml)	±	S.D.	C.V. (%)	N
1	42.3	±	5.8	13.7	20
2	177	±	6.7	3.8	20
3	278	±	14.8	5.3	20

Inter-analyse

Serum	Moyenne (pg/ml)	±	S.D.	C.V. (%)	N
1	38.2	±	7.1	18.6	9
2	169	±	12.6	7.5	9
3	284	±	17.7	6.2	9

EXACTITUDE

L'exactitude de la méthode a été vérifiée par les tests de récupération et de parallélisme.

Test de récupération

Les échantillons, mélangés avec les volumes égaux de chaque calibreur, ont été testés.

Ajouté	Prévu (pg/ml)	Mesuré (pg/ml)	Récupération (%)
S1	-	97.2	-
S1 + CAL 0	48.6	41.6	85.6
S1 + CAL 1	61.1	69.4	113.6
S1 + CAL 2	73.6	88.8	120.7
S1 + CAL 3	98.6	121	122.7
S1 + CAL 4	199	249	125.1
S1 + CAL 5	349	455	130.4
S1 + CAL 6	799	933	116.8
S2	-	142	-
S2 + CAL 0	71.0	68.4	96.3
S2 + CAL 1	83.5	83.4	99.9
S2 + CAL 2	96.0	96.9	100.9
S2 + CAL 3	121	137	113.2
S2 + CAL 4	221	244	110.4
S2 + CAL 5	371	431	116.2
S2 + CAL 6	821	952	116.0

Test de parallélisme.

Les sérums de concentration élevée en analyte ont été testés à différentes dilutions avec le Calibreur Zéro.

Dilution	Prévu (pg/ml)	Mesuré (pg/ml)	Récupération (%)
S1 non dilué	-	128	-
1/2	64.1	61.6	96.1
1/4	32.1	30.9	96.3
1/8	16.0	14.9	78.4
S2 non dilué	-	351	-
1/2	176	161	91.5
1/4	87.8	75	85.4
1/8	43.9	36.3	82.7
1/16	22.0	25	113.6

Ce mode opératoire peut être téléchargé sur notre site www.zentech.be

ITALIANO

DOSAGGIO RADIOIMMUNOLOGICO PER LA DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DELL'ALDOSTERONE NEL SIERO E NELLE URINE UMANE R-CW-100 – 100 Determinazioni.

PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

1. APPLICAZIONI CLINICHE

L' Aldosterone è un ormone steroideo di peso molecolare pari a 360, prodotto dalla zona glomerulare della corteccia surrenale.

Il dosaggio dell' Aldosterone è estremamente importante nella diagnosi dell'iperaldosteronismo primario (o sindrome di Conn), nella cosiddetta ipertensione essenziale, nelle alterazioni della pressione arteriosa indotte dalla somministrazione di quantità abnormi di alcuni tipi di alimenti (liquirizia) o farmaci (potassio/sodio), nelle sindromi nefrosiche, ecc.

I livelli ematici di Aldosterone seguono il ritmo circadiano e sono strettamente correlati agli stati di riposo o esercizio fisico, occorre pertanto studiare i livelli ematici di Aldosterone mediante test dinamici di stimolazione e/o soppressione.

2. PRINCIPIO DEL METODO

Il presente dosaggio si basa su un metodo radioimmunologico competitivo (RIA). Durante il periodo di incubazione, l' Aldosterone presente nel campione e nel calibratore compete con l' Aldosterone marcato con Iodio 125 (coniugato) per i siti specifici dell'antisiero con cui sono state sensibilizzate le provette. La separazione si basa sull'utilizzo di provette le cui pareti sono state sensibilizzate con l'anticorpo presente nell' antisiero anti-Aldosterone. Al termine del lavaggio (dopo l' aspirazione) la radioattività presente nelle provette viene misurata attraverso l'uso di un contatore gamma. La radioattività residua (espressa come percentuale di legame) è inversamente proporzionale alla concentrazione dell'ormone nel campione e nel calibratore.

3. REAGENTI FORNITI CON IL KIT

- I reagenti sono sufficienti per 100 determinazioni.
- Il kit deve essere conservato a 2-8°C.
- La data di scadenza di ciascun reagente è indicata sulla rispettiva etichetta.

- 1. Coniugato Radioattivo:** 1 flacone contenente 50 ml di ¹²⁵I-Aldosterone in tampone fosfato. Contenuto di radioattività: 85 KBq. Conservante: NaN₃ (<0.1%).
- 2. Calibratori:** 8 flaconi di Aldosterone in siero umano. Conservante: NaN₃ (<0.1%). Liofilizzati. Ricostituire il Calibratore Zero con 3 ml di acqua distillata e i Calibratori da 1 a 6 con 2 ml di acqua distillata. Dopo la ricostituzione, aliquotare e congelare i calibratori non utilizzati ad una temperatura di -20°C. Per la concentrazione esatta far riferimento al valore riportato sulla scheda dati del Controllo Qualità.
- 3. Siero di Controllo:** 1 flacone di Aldosterone in siero umano. Conservante: NaN₃ (<0.1%). Liofilizzato. Ricostituire con 2 ml di acqua distillata. Dopo la ricostituzione, aliquotare e congelare i controlli non utilizzati ad una temperatura di -20°C. Per gli esatti valori di concentrazione fare riferimento al Certificato di Controllo Qualità.
- 4. Provette Sensibilizzate:** 100 provette sensibilizzate con anticorpo anti-Aldosterone. Le provette non utilizzate devono essere conservate a 2-8°C, al riparo dall'umidità.

4. MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

- Provette di plastica
- Portaprovette
- Micropipette automatiche e regolabili a puntali intercambiabili
- Vortex
- Cilindro graduato
- Pompa d'aspirazione o dispositivo di lavaggio automatico
- Contatore gamma a scintillazione

- Acqua distillata
- Agitatore orbitale regolabile a 150 rpm
- Acido cloridrico

5. AVVERTENZE E PRECAUZIONI D'USO

Questo materiale è solo per uso diagnostico *In Vitro*.

Il kit è per solo uso professionale, deve quindi essere esclusivamente utilizzato da personale esperto di laboratorio, in conformità alle norme GLP.

Caratteristica fisica¹²⁵I: vedere alla fine della metodica

- 1. Precauzioni: Materiale Radioattivo- Non per somministrazione interna od esterna ad esseri umani o animali:** Il materiale radioattivo può essere acquistato, ordinato e detenuto solo da personale medico, laboratori di analisi, ospedali ed unicamente per uso diagnostico IN VITRO, non per somministrazione interna od esterna in esseri umani o animali. Il ricevimento, l'acquisto, il possesso, l'uso e il trasferimento di tale materiale è soggetto a regolamentazioni che possono differire da Nazione a Nazione. Misure precauzionali nell'utilizzo di materiale radioattivo:
 - o Conservare il materiale radioattivo in apposite aree.
 - o Non mangiare, bere, fumare o applicare cosmetici nelle aree destinate all'uso di materiali radioattivi.
 - o Non pipettare la soluzione radioattiva con la bocca.
 - o Indossare guanti durante l'utilizzo di materiale radioattivo e lavare accuratamente le mani dopo l'impiego di tale materiale.
 - o Coprire l'area di lavoro con carta assorbente a perdere.
 - o Ogni perdita accidentale di radioattivo deve essere trattata in accordo con le procedure stabilite.
 - o Tutti i materiali radioattivi vanno eliminati in appositi sistemi di smaltimento secondo le disposizioni emesse dagli organi di controllo con giurisdizione sul laboratorio.

- 2. Rischio Chimico - Sodio Azide (NaN₃):** La Sodio Azide è impiegata nei reagenti del kit ad una concentrazione finale non superiore a 0.1% p/p. La Sodio azide può reagire con tubature di scarico in piombo e rame formando azidi metalliche altamente esplosive. Quando si procede all'eliminazione del prodotto sciacquare abbondantemente con acqua per evitare l'accumulo di azidi. La Sodio azide è un veleno che può essere fatale se ingerito. Non pipettare il materiale contenente Sodio azide con la bocca. Maneggiare con cura evitando il contatto con la pelle e lavare le mani dopo aver lavorato con materiale contenente Sodio azide.

Fraasi di rischio

R-21/22 Dannoso a contatto con la pelle e se ingerito

Fraasi di sicurezza

S-26 In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con tanta acqua e consultare un medico.

S-28.1 Dopo il contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con tanta acqua.

S-46 Se ingerito consultare subito un medico, mostrandogli il contenitore o l'etichetta.

- 3. Rischio Biologico - Siero Umano:** Il kit contiene alcuni reagenti preparati con siero o plasma umano. Il siero e il plasma impiegati sono stati testati con un metodo approvato dalla FDA e sono risultati negativi per la presenza di anticorpi HIV-1/2, HCV e HBsAg. In ogni caso, poiché nessun metodo offre completa assicurazione che HIV-1/2, HCV, HBsAg o altri agenti infettivi siano assenti, questi reagenti dovrebbero essere considerati potenzialmente infettivi e maneggiati con le stesse precauzioni adottate per altri campioni di siero o di plasma al Biosafety Level 2 e secondo le disposizioni del manuale sanitario CDC (Centers for Disease Control/National Institutes of Health), "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 3rd Edizione, 1993.

6. RACCOLTA DEI CAMPIONI

Il dosaggio può essere effettuato su campioni di siero o urine. Poiché l'Aldosterone è soggetto ad un ritmo circadiano, si raccomanda di annotare l'orario del prelievo. I campioni altamente lipemici o emolitici devono essere scartati. Conservare i campioni a 2-8°C per 1-2 giorni; per periodi più lunghi si consiglia di congelare i campioni a -20°C. Evitare ripetuti cicli di congelamento e scongelamento dei campioni.

Trattamento del campione

Campioni urinari

Raccolta dell'urina

Raccogliere l'urina delle 24 ore aggiungendo acido borico (10 g/l) come conservante. Prendere nota del volume di campione raccolto e conservare a 2-8°C per 1-2 giorni; per periodi di tempo più lunghi congelare a -20°C.

Idrolisi dell'urina:

- 1 - Preparare le provette non sensibilizzate, una per ciascun campione urinario.
- 2 - Dispensare 100 µl di campione urinario.
- 3 - Aggiungere 1 ml di acido cloridrico (0.1 M) in ciascuna provetta.
- 4 - Incubare per 15-20 ore a 30°C.
- 5 - Utilizzare 50 µl di questa soluzione per l'esecuzione del test.

7. PROCEDURA OPERATIVA

- Attendere che i reagenti ed i campioni raggiungano la temperatura ambiente prima dell'uso.
- Agitare i campioni per inversione prima dell'uso.
- Per tutti i calibratori si raccomanda un dosaggio in duplicato.

- 1- Preparare le provette non sensibilizzate per l'Attività Totale (T), per il Legame Aspecifico (NSB) e le provette sensibilizzate per il Calibratore Zero (Bo), i Calibratori (da 1 a 6), il Siero di Controllo e i Campioni.
- 2- Dispensare **200 µl** di ciascun Calibratore, Siero di Controllo e Campione in ciascuna provetta.
- 2a- **Campioni urinari.** Dispensare **50 µl** di campione idrolizzato in ciascuna provetta ed aggiungere **150 µl** di Calibratore Zero.
- 3- Dispensare 200 µl di Calibratore Zero nelle provette del legame aspecifico (NSB).
- 4 - Aggiungere 500 µl di Coniugato Radioattivo in tutte le provette.
- 5 - Agitare manualmente il portaprovette. Non utilizzare il Vortex.
- 6 - Incubare:
Procedura A: 18-24 ore a temperatura ambiente, oppure
Procedura B: 3 ore a temperatura ambiente su agitatore orbitale impostato a 150 rpm.
- 7 - Aspirare accuratamente la miscela d'incubazione da ogni provetta, ad eccezione di quelle dell'attività totale, utilizzando una pompa aspirante oppure decantare il contenuto di tutte le provette asciugando il bordo delle provette su carta assorbente.
- 8 - Misurare per 1 minuto la radioattività presente in ogni provetta usando un Contatore Gamma. Si raccomanda di controllare il background dello strumento prima di effettuare la misura delle Contate Totali. Al fine di evitare variazioni della sensibilità del sistema il background dovrà essere ridotto al minimo o regolato correttamente.

SCHEMA DEL DOSAGGIO

Provette Reagente	Attività Totale	NSB	Calibratori	Siero di controllo	Campioni	Campioni urinari
Cal. 0	----	200 µl	----	----	----	150 µl
Cal.	----	----	200 µl	----	----	----
Siero	----	----	----	200 µl	----	----
Campioni	----	----	----	----	200 µl	50 µl
Tracciante	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl

- Incubare: 18 - 24 ore a T.A. o 3 ore a T.A. in agitazione (150 rpm)
- Aspirare
- Contare la radioattività delle provette per un minuto con un contatore gamma.

8. CALCOLO DEI RISULTATI

Disegnare la curva di calibrazione su scala logit/log o semi-log riportando sull'asse delle ordinate (asse y) il valore B/Bo (%) verso la relativa concentrazione ottenuta per ogni calibratore presente sull'asse delle ascisse (asse x).
Calcolare il rapporto B/Bo (%) per ciascun campione e leggere la concentrazione di Aldosterone, espressa in pg/ml, mediante interpolazione sulla curva di calibrazione.

Campioni urinari

Il valore di concentrazione estrapolato dalla curva di calibrazione deve essere moltiplicato per un fattore pari a 44 in modo da ottenere la concentrazione di Aldosterone espressa in pg/ml. Per esprimere la concentrazione di Aldosterone in µg/24h, procedere come di seguito riportato:

$$\mu\text{g}/24\text{h} = \frac{\text{Conc. Aldosterone (pg/ml)} \times 44 \times \text{urina escreta (litri)}}{1000}$$

ESEMPIO DI CALCOLO

I valori riportati nella tabella sottostante devono essere considerati solo un esempio e non possono essere utilizzati al posto dei dati sperimentali.

Descrizione	CPM Medio	B/Bo (%)	Aldosterone (pg/ml)
Attività totale (T)	41999	-	-
NSB	154	-	-
CAL 0	19213	100	0
CAL 1	16439	85.4	25
CAL 2	14667	76.1	50
CAL 3	12268	63.6	100
CAL 4	8184	42.1	300
CAL 5	5844	29.9	600
CAL 6	3669	18.4	1500
CONTROLLO	11263	58.3	133
P1	14905	77.4	45.5
P2	9869	51.0	191
P3	7934	40.8	323

9. VALORI DI RIFERIMENTO

Si raccomanda ad ogni laboratorio di calcolare il proprio intervallo di riferimento. I valori sotto riportati sono solo indicativi

Aldosterone nel siero:	
- Soggetto a riposo:	10 - 160 pg/ml
- Soggetto in movimento:	35 - 300 pg/ml
Aldosterone urinario:	2,8 - 30 µg/24h

10. CARATTERISTICHE METODOLOGICHE

SPECIFICITÀ

Il presente metodo ha mostrato le seguenti reazioni crociate: 100% con Aldosterone, 17.2% con 3β, 5α Tetraidroaldosterone, 0.12% con 3β, 5α Tetraidroaldosterone, meno di 0.017% con Prednisolone, meno di 0.003% con Cortisolo, Corticosterone, Cortisone, 11-Deossicortisolo, 11-Deossicorticosterone, 17-Idrossiprogesterone, Progesterone e meno di 0.0017% con Prednisone, Testosterone e Androstenedione. La percentuale di cross-reattività viene calcolata per mezzo della formula di Abraham: $X/Y \times 100$, dove X e Y rappresentano rispettivamente il peso della sostanza da dosare e il peso della sostanza interferente, entrambe in grado di ridurre la capacità legante del 50%.

SENSIBILITÀ

Sensibilità analitica

La sensibilità è stata calcolata in base alla curva di calibrazione ed è espressa come la dose minima significativamente distinguibile dalla risposta del Calibratore Zero (valore medio - 2 D.S.). Tale dose è risultata pari a 1.4 pg/ml

Sensibilità funzionale

La sensibilità funzionale del metodo è stata calcolata come la dose minima misurata considerando una precisione al massimo pari al 20% di variazione intra-saggio (CV). Tale dose è risultata pari a 25 pg/ml.

PRECISIONE

La precisione è stata valutata in base alla variabilità intra-saggio e inter-saggio, calcolata a differenti concentrazioni analitiche.

Ripetibilità (Intra-saggio)

Siero	Media (pg/ml)	±	D. S.	C.V. (%)	N
1	42.3	±	5.8	13.7	20
2	177	±	6.7	3.8	20
3	278	±	14.8	5.3	20

Riproducibilità (Inter-saggio)

Siero	Media (pg/ml)	±	D. S.	C.V. (%)	N
1	38.2	±	7.1	18.6	9
2	169	±	12.6	7.5	9
3	284	±	17.7	6.2	9

ACCURATEZZA

L'accuratezza del metodo è stata valutata mediante il test del recupero e del parallelismo.

Test di recupero

I campioni sono stati addizionati di quantità uguali di ciascun calibratore e dosati.

Aggiunto (pg/ml)	Atteso (pg/ml)	Misurato (pg/ml)	Recupero (%)
S1	-	97.2	-
S1 + CAL 0	48.6	41.6	85.6
S1 + CAL 1	61.1	69.4	113.6
S1 + CAL 2	73.6	88.8	120.7
S1 + CAL 3	98.6	121	122.7
S1 + CAL 4	199	249	125.1
S1 + CAL 5	349	455	130.4
S1 + CAL 6	799	933	116.8
S2	-	142	-
S2 + CAL 0	71.0	68.4	96.3
S2 + CAL 1	83.5	83.4	99.9
S2 + CAL 2	96.0	96.9	100.9
S2 + CAL 3	121	137	113.2
S2 + CAL 4	221	244	110.4
S2 + CAL 5	371	431	116.2
S2 + CAL 6	821	952	116.0

Test del parallelismo

Campioni ad elevata concentrazione sono stati diluiti a differenti livelli di concentrazione con il Calibratore Zero e testati.

Diluizione	Valore Atteso (pg/ml)	Valore Misurato (pg/ml)	Recupero (%)
S1 non diluito	-	128	-
1/2	64.1	61.6	96.1
1/4	32.1	30.9	96.3
1/8	16.0	14.9	78.4
S2 non diluito	-	351	-
1/2	176	161	91.5
1/4	87.8	75	85.4
1/8	43.9	36.3	82.7
1/16	22.0	25	113.6

È possibile scaricare questo foglietto illustrativo al seguente indirizzo www.zentech.be

NEDERLANDS

RADIO-IMMUNOASSAY VOOR DE KWANTITATIEVE BEPALING VAN ALDOSTERON IN HUMAAN SERUM EN URINE

R-CW-100 - 100 tests

UITSLUITEND VOOR DIAGNOSTISCH GEBRUIK IN VITRO

1. KLINISCHE TOEPASSINGEN

Aldosteron is een steroïdhormoon met een moleculair gewicht van 360 dat door de zona glomerulosa van de bijnierschors wordt geproduceerd.

De aldosteron-assay is uiterst belangrijk bij de diagnose van primair hyperaldosteronisme (syndroom van Conn), bij de zogenaamde essentiële hypertensie, bij wijzigingen van de arteriële druk geïnduceerd door de toediening van abnormale hoeveelheden van een bepaald soort voedsel (zoethout) of geneesmiddelen (kalium/natrium), bij nefrotisch syndroom, enz.

Bovendien volgt de bloedspiegel van aldosteron een circadiaan ritme en houdt die nauwgezet verband met rust- en inspanningsperiodes. Het is noodzakelijk om de bloedspiegel van aldosteron te onderzoeken aan de hand van stimulatie en/of onderdrukking van dynamische tests.

2. PRINCIPE VAN DE ASSAY

Deze methode is gebaseerd op een competitieve radio-immunoassay (RIA). Tijdens de incubatie concurreert het aldosteron van het monster/de kalibrator met het met jood ¹²⁵I gelabelde aldosteron (tracer) voor de specifieke plaatsen van de met antiserum gecoate buisjes. De afscheiding is gebaseerd op het gebruik van met antilichaam gecoate buisjes, waarbij het anti-aldosteron antiserum op de wand van het buisje is gehecht. Na het opzuigen wordt de radioactiviteit in de buisjes in een gammateller gemeten. De mate van binding zal omgekeerd evenredig zijn met de hormoonconcentratie van het monster/de kalibrator.

3. GELEVERDE MATERIALEN

- De reagentia zijn voldoende voor 100 tests.
 - Bewaar de kit en de reagentia bij 2 – 8 °C.
 - De houdbaarheidsdatum van elk reagens staat op het etiket vermeld.
1. **Radioactieve tracer:** 1 flacon (50 ml) met ¹²⁵I-aldosteron in een fosfaatbuffer. Radioactieve inhoud: 85 kBq. Bewaarmiddel: NaN₃ (< 0,1%).
 2. **Kalibratoren:** 8 flacons met aldosteron in humaan serum. Bewaarmiddel: NaN₃ (< 0,1%). Gelyofiliseerd. Reconstitueer de nulkalibrator met 3 ml gedestilleerd water en kalibrator 1 – 6 met 2 ml gedestilleerd water. Verdeel niet-gebruikte kalibratoren en de controle na reconstitutie in aliquots en vries ze in bij –20°C. Raadpleeg het informatieblad van de kwaliteitscontrole voor de exacte waarde.
 3. **Controle:** 1 flacon met aldosteron in humaan serum. Bewaarmiddel: NaN₃ (< 0,1%). Gelyofiliseerd. Reconstitueer met 2 ml gedestilleerd water. Verdeel de niet-gebruikte controle na reconstitutie in aliquots en vries die in bij –20°C. Raadpleeg het informatieblad van de kwaliteitscontrole voor de exacte waarde.
 4. **Gecoate buisjes:** 100 buisjes gecoat met anti-aldosteron antilichaam. Niet-gebruikte buisjes moeten bij 2 – 8 °C en beschermd tegen vocht worden bewaard.

4. VEREISTE MAAR NIET GELEVERDE MATERIALEN

- Plastic proefbuisjes.
- Rek voor proefbuisjes.
- Regelbare, automatische micropipetten met wegwerptippen.
- Vortexmenger.
- Maatcilinder.
- Aspiratiepomp of geautomatiseerd wasapparaat.
- Gamma scintillatieteller.
- Gedestilleerd water.
- Rondschudapparaat, instelbaar op 150 toeren per minuut.
- Zoutzuur

5. WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAAT-REGELN VOOR GEBRUIKERS

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik.

Enkel ervaren laboratoripersoneel mag deze test gebruiken en de handelingen moeten in overeenstemming zijn met GLP.

Radioactief materiaal – Niet voor inwendig of uitwendig gebruik bij mensen of dieren.

Dit radioactief materiaal mag enkel door artsen, klinische laboratoria of ziekenhuizen worden ontvangen, gekocht, gebruikt en enkel zij mogen het in hun bezit hebben en wel uitsluitend voor *in vitro* klinische of laboratoriumtests waarbij het materiaal niet inwendig of uitwendig wordt toegediend en waarbij het ook niet wordt gebruikt voor bestraling bij mensen of dieren. De ontvangst, de aankoop, het bezit, het gebruik en de overdracht ervan zijn onderworpen aan de voorschriften van elk afzonderlijk land.

Fysische eigenschappen van ¹²⁵I: zie achteraan bij de instructies.

- Veiligheidsvoorzorgsmaatregelen:** De volgende voorzorgsmaatregelen dienen in acht te worden genomen bij handelingen met radioactief materiaal:
 - o Radioactieve materialen in een daartoe bestemde ruimte bewaren.
 - o Niet eten, drinken, roken of cosmetica aanbrengen waar handelingen met radioactieve materialen worden uitgevoerd.
 - o Niet met de mond pipetteren.
 - o Handschoenen dragen wanneer er handelingen met radioactieve materialen worden uitgevoerd en daarna de handen zorgvuldig wassen.
 - o Het werkgebied met wegwerpbaar absorberend papier afdekken.
 - o Alle gemorst materiaal onmiddellijk en zorgvuldig afvegen en de gecontamineerde materialen als radioactief afvalmateriaal afvoeren.
 - o Vloeibaar radioactief afvalmateriaal in het sanitaire afvoersysteem afvoeren, indien de lokale voorschriften dit toelaten.
- Waarschuwing CHEMISCH RISICO natriumazide (NaN₃):** Sommige reagentia in deze kit bevatten natriumazide als bewaarmiddel. Voor alle dergelijke reagentia is de concentratie van natriumazide <0,1% w/w. Natriumazide kan met de loden en koperen afvoerbuizen reageren en explosieve metaalaziden vormen. Alle niet-radioactieve reagentia afvoeren door het afvoersysteem met grote hoeveelheden water te spoelen.
Risicozinnen
R21/22 Schadelijk bij aanraking met de huid en bij opname door de mond.
Veiligheidszinnen
S-26 Bij aanraking met de ogen onmiddellijk met overvloedig water afspoelen en deskundig medisch advies inwinnen.
S-28.1 Na aanraking met de huid onmiddellijk wassen met veel water.
S-46 In geval van inslikken onmiddellijk een arts raadplegen en verpakking of etiket tonen.

- Waarschuwing POTENTIEEL BIOLOGISCH GEVAARLIJK MATERIAAL:** Deze kit kan sommige reagentia bevatten die met humaan serum of plasma zijn gemaakt. Het gebruikte serum of plasma is aan de hand van een door de FDA goedgekeurde methode getest en blijkt niet-reactief te zijn voor HIV-1/2 antilichamen, HCV en HBsAg. Geen enkele methode kan echter volledige garantie bieden dat HIV-1/2, HCV, HBsAg of andere infectieuze stoffen afwezig zijn, waardoor deze reagentia op het bioveiligheidsniveau 2 moeten worden behandeld, zoals voor alle potentieel infectieuze humane serum- of bloedspecimens aanbevolen in de 3^{de} editie van de handleiding "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" van 1993 van Centers for Disease Control/National Institutes of Health.

6. MONSTERNAME

De assay kan in serum of in urinemonsters worden uitgevoerd. Aangezien aldosteron een circadiaan ritme vertoont, bevelen wij aan om het tijdstip van monstername te noteren. In hoge mate lipemische of gehemolyseerde monsters moeten worden afgevoerd. Bewaar monsters gedurende 1 à 2 dagen bij 2–8 °C. Indien de monsters gedurende langere tijd worden bewaard, verdient het aanbeveling ze in te vriezen bij –20 °C. De monsters herhaaldelijk in vriezen en ontdooien dient te worden vermeden.

Urinemonsters

Monstername van urine:

Verzamel gedurende 24 uur urine door boorzuur (10 g/l) als bewaarmiddel toe te voegen. Noteer de hoeveelheid en bewaar gedurende 1 à 2 dagen bij 2–8 °C; indien de urine gedurende langere tijd wordt bewaard, moet die bij –20 °C worden ingevroren.

Urinehydrolyse:

2. Bereid niet-gecoate buisjes, één voor elk urinemonster.
3. Pipetteer 100 µl van het urinemonster.
4. Voeg aan elk buisje 1 ml 0,1 M zoutzuur toe.
5. Incubeer gedurende 15–20 uur bij 30 °C.
6. Gebruik 50 µl van deze oplossing voor de test.

7. ASSAYPROCEDURE

- Laat alle reagentia en monsters – vóór gebruik – op kamertemperatuur komen.
 - Meng de monsters – vóór gebruik – door ze om te keren.
 - Voor alle kalibratoren wordt een tweede meting aanbevolen.
1. Bereid onbehandelde buisjes voor de totale activiteit (T) en de niet-specifieke binding (NSB), en ook gecoate buisjes voor de nulkalibrator (Bo), de kalibratoren (1–6), de controle en de monsters.
 2. Pipetteer **200 µl** van elke kalibrator, elke controle en elk monster in elk buisje.
 - 2.a. **Urinemonsters.** Pipetteer **50 µl** gehydrolyseerd monster in elk buisje en voeg **150 µl** nulkalibrator toe.
 3. Pipetteer **200 µl** nulkalibrator in de buisjes voor niet-specifieke binding (NSB).
 4. Voeg aan alle buisjes **500 µl** radioactieve tracer toe.
 5. Meng het rek met de reageerbuisjes handmatig. Geen vortex gebruiken.
 6. Incubeer: **Procedure A:** 18–24 uur bij kamertemperatuur, of
Procedure B: 3 uur bij kamertemperatuur met een rondschildapparaat, ingesteld op 150 toeren per minuut.
 7. Zuig het incubatiemengsel zorgvuldig uit alle buisjes op (met uitzondering van de buisjes voor de totale activiteit) met een aspiratiepomp of giet ze over en maak de rand van de buisjes droog met vloeipapier.
 8. Tel de aan de buisjes gebonden radioactiviteit gedurende 1 minuut in een gammateller. Wij bevelen aan om de achtergrond van het apparaat te controleren alvorens te tellen. Om variaties in de systeemgevoeligheid te voorkomen, moet de achtergrond tot een minimum worden beperkt of op de juiste manier worden aangepast.

SCHEMA VAN DE ASSAY

Buisjes	Totale activiteit	NSB	Kalibratoren	Controle	Monsters	Urinemonsters
Reagens						
Kalibrator 0	----	200 µl	----	----	----	150 µl
Kalibratoren	----	----	200 µl	----	----	----
Controles	----	----	----	200 µl	----	----
Monsters	----	----	----	----	200 µl	50 µl
Tracer	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl

- Incubeer: gedurende 18–24 uur bij kamertemperatuur of gedurende 3 uur bij kamertemperatuur met een rondschildapparaat (150 toeren per minuut).
- Zuig op.
- Tel.

8. BEREKENING VAN DE RESULTATEN

Teken de kalibratiecurve op dubbellogaritmisch of semi-logaritmisch papier met de kalibratieconcentraties op de x-as en het betreffende B/Bo % op de y-as.

Bereken voor elk monster het B/Bo (%) en lees door interpolatie de concentratie op de kalibratiecurve af om de in de onderzochte monsters aldosteronconcentratie, uitgedrukt in pg/ml, te verkrijgen.

Urinemonsters.

De op de kalibratiecurve afgelezen concentratie moet met 44 worden vermenigvuldigd om de aldosteronconcentratie in pg/ml te verkrijgen. Om de aldosteronconcentratie in µg/24 uur te kunnen uitdrukken:

$$\mu\text{g}/24 \text{ uur} = \frac{\text{Concentratie (pg/ml)} \times 44 \times \text{uitgescheiden urine (liters)}}{1000}$$

VOORBEELD VOOR BEREKENING

De hieronder vermelde waarden moeten als voorbeeld worden beschouwd en mogen niet als experimentele gegevens worden gebruikt.

Beschrijving	Gemiddelde cpm	B/B0 (%)	Aldosteron (pg/ml)
Totale activiteit (T)	41999	-	-
NSB	154	-	-
CAL 0	19213	100	0
CAL 1	16439	85,4	25
CAL 2	14667	76,1	50
CAL 3	12268	63,6	100
CAL 4	8184	42,1	300
CAL 5	5844	29,9	600
CAL 6	3669	18,4	1500
CONTROL	11263	58,3	133
P1	14905	77,4	45,5
P2	9869	51,0	191
P3	7934	40,8	323

9. REFERENTIEWAARDEN

Het verdient aanbeveling dat elk laboratorium zijn eigen referentie-interval bepaalt. De hieronder vermelde waarden dienen uitsluitend als richtlijn.

Aldosteron in serum:	
- Bij rustperiode:	10 - 160 pg/ml
- Bij inspanningsperiode:	35 - 300 pg/ml
Aldosteron in urine:	2.8 - 30 µg/24h.

10. EIGENSCHAPPEN VAN DE ASSAY

SPECIFICITEIT

Deze methode vertoonde de volgende kruisreacties: 100% met aldosteron; 17,2% met 3β,5α tetrahydroaldosteron; 0,12% met 3α,5β tetrahydroaldosteron; minder dan 0,017% met prednisolon; minder dan 0,003% met cortisol, corticosteron, cortison, 11-deoxycortisol, 11-deoxycorticosteron, 17-hydroxyprogesteron, progesteron; en minder dan 0,0017% met prednison, testosteron en androstenedion.

Het percentage van kruisreactiviteit wordt berekend aan de hand van de formule van Abraham: $X/Y \times 100$, waarbij X en Y respectievelijk het gewicht van de te testen stof en het gewicht van de interfererende stof vertegenwoordigt. Beide kunnen de bindingscapaciteit met 50% doen verminderen.

GEVOELIGHEID

Analytische gevoeligheid

De gevoeligheid werd berekend op basis van de kalibratiecurve en werd uitgedrukt als de minimumdosis die een significant verschil laat zien ten opzichte van de nulkalibrator (gemiddelde waarde + 2 SD). Deze dosis bedraagt 1,4 pg/ml.

Functionele gevoeligheid

De functionele assaygevoeligheid is de laagste waarde die wordt gemeten met een precisie die een variatie van maximaal 20% tussen de tests toelaat. Voor RIAZENco Aldosterone bedraagt deze waarde 25 pg/ml.

PRECISIE

De precisie werd beoordeeld aan de hand van de variabiliteit binnen een test en tussen tests bij verschillende analytconcentraties.

Binnen een test

Serum	Gemiddelde (pg/ml)	±	SD	VC (%)	N
1	42,3	±	5,8	13,7	20
2	177	±	6,7	3,8	20
3	278	±	14,8	5,3	20

Tussen tests

Serum	Gemiddelde (pg/ml)	±	SD	VC (%)	N
1	38,2	±	7,1	18,6	9
2	169	±	12,6	7,5	9
3	284	±	17,7	6,2	9

NAUWKEURIGHEID

De nauwkeurigheid van de methode werd gecontroleerd aan de hand van de recovery- en parallellismetest.

Recovery-test

Monsters, gemengd met een gelijke hoeveelheid van elke kalibrator, werden getest.

Toegevoegd	Verwacht (pg/ml)	Gemeten (pg/ml)	Recovery (%)
M1	-	97,2	-
M1 + CAL 0	48,6	41,6	85,6
M1 + CAL 1	61,1	69,4	113,6
M1 + CAL 2	73,6	88,8	120,7
M1 + CAL 3	98,6	121	122,7
M1 + CAL 4	199	249	125,1
M1 + CAL 5	349	455	130,4
M1 + CAL 6	799	933	116,8
M2	-	142	-
M2 + CAL 0	71,0	68,4	96,3
M2 + CAL 1	83,5	83,4	99,9
M2 + CAL 2	96,0	96,9	100,9
M2 + CAL 3	121	137	113,2
M2 + CAL 4	221	244	110,4
M2 + CAL 5	371	431	116,2
M2 + CAL 6	821	952	116,0

Parallellismetest

Sera met een hoge analytconcentratie werden bij verschillende verdunningen met de nulkalibrator getest.

Verdunning	Verwacht (pg/ml)	Gemeten (pg/ml)	Recovery (%)
M1 onverdund	-	128	-
1/2	64,1	61,6	96,1
1/4	32,1	30,9	96,3
1/8	16,0	14,9	78,4
M2 onverdund	-	351	-
1/2	176	161	91,5
1/4	87,8	75	85,4
1/8	43,9	36,3	82,7
1/16	22,0	25	113,6

Deze bijsluiter kan op www.zentech.be worden gedownload.

POLSKI

TEST RADIOIMMUNOMETRYCZNY DO ILOŚCIOWEGO OZNACZANIA ALDOSTERONU W LUDZKIEJ SUROWICY I MOCZU R-CW-100 - 100 oznaczeń

WYŁĄCZNIE DO STOSOWANIA W DIAGNOSTYCE IN VITRO

1. ZASTOSOWANIE KLINICZNE

Aldosteron jest to hormon sterydowy o masie cząsteczkowej 360 wytwarzany przez warstwę kłębkowatą kory nadnerczy.

Oznaczenie aldosteronu jest niezwykle istotne w diagnostyce hiperaldosteronizmu pierwotnego (Zespół Conna), przy tak zwanym nadciśnieniu pierwotnym, przy zmianach ciśnienia tętniczego wywołanych przez spożywanie nieprawidłowych ilości pewnych rodzajów pokarmu (lukrecji) lub leków (potas/sód), przy objawach nerczycy itp.

Poziomy aldosteronu we krwi zmieniają się także wraz z rytmem dobowym oraz są ściśle powiązane ze stanami spoczynku lub ruchu. Niezbędne jest badanie poziomów aldosteronu we krwi za pomocą dynamicznych testów stymulacji i/lub supresji.

2. ZASADA DZIAŁANIA TESTU

Niniejsza metoda opiera się na kompetycyjnym teście radioimmunologicznym (RIA). Podczas inkubacji aldosteron zawarty w próbce/kalibratorze konkuruje z aldosteronem znakowanym jodem 125 (znacznik) o swoiste miejsca na surowicy opłaszczającej próbkę. Separacja opiera się na wykorzystaniu próbek opłaszczonych przeciwciałami, gdzie surowica odpornościowa przeciw aldosteronowi przytwierdzona jest do ścianek próbek. Po zassaniu zmierzona zostaje promieniotwórczość w próbkach w liczniku gamma. Stopień wiązania będzie odwrotnie proporcjonalny do stężenia hormonu w próbce/kalibratorze.

3. ODCZYNNIKI DOSTARCZONE W ZESTAWIE

- Ilość odczynników wystarcza na 100 oznaczeń.
- Zestaw i odczynniki przechowywać w temperaturze 2-8°C.
- Data ważności każdego odczynnika podana jest na etykiecie.

- Znacznik izotopowy:** 1 fiolka (50 ml) 125I-aldosteronu w buforze fosforanowym. Poziom radioaktywności: 85 KBq na fiolkę. Środek konserwujący: NaN_3 (<0,1%).
- Kalibratory:** 8 fiolek aldosteronu w surowicy ludzkiej. Środek konserwujący: NaN_3 (<0,1%). Liofilizowany. Rozcieńczyć Kalibrator zerowy za pomocą 3 ml wody destylowanej oraz Kalibratory 1-6 za pomocą 2 ml wody destylowanej. Po rozcieńczeniu sporządzić podwielokrotności, po czym zamrozić niewykorzystane kalibratory oraz próby kontrolne w temp. -20°C. Dla dokładnej wartości należy się odnieść do danych technicznych Kontroli Jakości.
- Kontrola:** 1 fiolka aldosteronu w surowicy ludzkiej. Środek konserwujący: NaN_3 (<0,1%). Liofilizowany. Rozcieńczyć za pomocą 2 ml wody destylowanej. Po rozcieńczeniu sporządzić podwielokrotności, po czym zamrozić niewykorzystane próby kontrolne w temp. -20°C. Dla dokładnej wartości należy się odnieść do danych technicznych Kontroli Jakości.
- Próbki z warstwą przeciwciał:** 100 próbek opłaszczonych przeciwciałami przeciw aldosteronowi. Niewykorzystane próbki należy przechowywać w temperaturze 2-8°C, chronić przed wilgocią.

4. MATERIAŁY KONIECZNE A NIEDOSTARCZONE W ZESTAWIE.

- Plastikowe próbki
- Stojaki do próbek.
- Automatyczne mikropipety z jednorazowymi końcówkami.
- Wytrząsarka typu Vortex.
- Menzurka.
- Myjka lub urządzenie do mycia próbek.

- Licznik scyntylicyjny gamma.
- Woda destylowana.
- Mieszadło z regulacją o 150 obrotów na minutę.
- Kwas chlorowodorowy.

5. OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI DLA UŻYTKOWNIKÓW

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Test ten może być używany wyłącznie przez odpowiednio przeszkolony personel laboratoryjny, zgodnie z zasadami właściwego postępowania w laboratorium (Good Laboratory Practice (GLP)).

Materiał radioaktywny – nie wolno stosować wewnątrz ani zewnętrznie u ludzi i zwierząt.

Ten materiał może być przyjmowany, nabywany, posiadany i wykorzystywany wyłącznie przez lekarzy i personel w laboratoriach klinicznych i szpitalnych, wyłącznie do badań klinicznych i laboratoryjnych metodami *in vitro*, które nie polegają na zewnętrznym lub wewnętrznym zastosowaniu tego materiału, ani promieniowania od niego pochodzącego u osobników ludzkich lub zwierząt. Przyjmowanie, nabywanie, posiadanie, wykorzystywanie oraz transport tego materiału podlega przepisom kraju stosowania.

Charakterystyka fizyczna ¹²⁵I: szczegóły na końcu instrukcji

- Środki ostrożności:** W trakcie posługiwania się materiałem radioaktywnym należy przestrzegać następujących środków ostrożności:
 - o Przechowywać materiały radioaktywne w obszarach odpowiednio oznaczonych.
 - o Nie wolno jeść, pić, palić tytoniu lub stosować kosmetyków w miejscach posługiwania się materiałami radioaktywnymi.
 - o Nie pipetować ustami.
 - o W trakcie posługiwania się materiałami radioaktywnymi należy zakładać rękawiczki. Po zakończeniu czynności należy dokładnie umyć ręce.
 - o Pokryć powierzchnię roboczą jednorazowym papierem absorpcyjnym.
 - o W razie zaplamienia natychmiast dokładnie wytrzeć wszelkie plamy. Wszelkie zanieczyszczone materiały należy utylizować w sposób odpowiedni dla odpadów radioaktywnych.
 - o Jeżeli jest to dopuszczalne przez miejscowe przepisy, za pośrednictwem systemu kanalizacyjnego można utylizować płynne materiały radioaktywne.
- Uwaga: ZAGROŻENIE CHEMICZNE - azydek sodowy (NaN_3):** Niektóre z odczynników w zestawie zawierają azydek sodowy, który pełni rolę środka konserwującego. W przypadku takich odczynników stężenie azydku sodowego wynosi < 0,1%. Azydek sodowy może reagować z rurami ołowianymi i miedzianymi, tworząc potencjalnie wybuchowe azydki metali. Wszystkie nieradioaktywne odczynniki należy utylizować wylewając je do kanalizacji i splukując dużą ilością wody.
Informacje dotyczące ryzyka
R 21/22 Szkodliwy w kontakcie ze skórą oraz w razie połknięcia.
Informacje dotyczące bezpieczeństwa
S-26 W przypadku kontaktu związku z oczami, należy natychmiast spłukać dużą ilością wody i zgłosić się po pomoc lekarską.
S-28.1 W razie kontaktu ze skórą, skażone miejsce należy obficie przemyć wodą.
S-46 W przypadku połknięcia produktu, należy natychmiast udać się po pomoc lekarską, pokazując opakowanie lub etykietę.
- Uwaga: MATERIAŁ POTENCJALNIE SKAŻONY BIOLOGICZNIE:** W zestawie mogą znajdować się niektóre odczynniki, wykonane z surowicy lub osocza pochodzenia ludzkiego. Wykorzystywane surowice lub osocze zostały przebadane metodami dopuszczonymi przez FDA, na obecność przeciwciał HIV1/2, wirusa HCV i HbsAg. Wyniki tych badań były ujemne. Ponieważ żadna metoda nie jest w stanie całkowicie zagwarantować, że HIV1/2, HCV, HbsAg lub inne czynniki zakaźne nie występują w badanym materiale, takie odczynniki powinny być traktowane zgodnie z zasadami bezpieczeństwa biologicznego (poziom 2), według zaleceń podęcznika "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" (Bezpieczeństwo biologiczne w laboratoriach mikrobiologicznych i biomedycznych) Centers for Disease Control/National Institutes of Health (Centrum Kontroli

Chorób/Narodowy Instytut Zdrowia) wydanie trzecie, 1993, dotyczących wszelkich próbek surowicy lub krwi pochodzenia ludzkiego.

6. POBIERANIE PRÓBEK

Oznaczenie może zostać wykonane w próbkach surowicy lub moczu. Ponieważ aldosteron wykazuje rytm dobowy, zalecamy zanotowanie czasu pobrania próbek. Próbkę z wysoką lipemią lub hemolizą należy odrzucić. Próbkę przechowywać w temp. 2-8°C przez 1-2 dni; na dłuższy okres zaleca się zamrożenie próbek w temp. -20°C. Należy unikać wielokrotnego rozmrażania i zamrażania próbek.

Próbki moczu

Pobranie moczu.

Pobrać 24-godzinny mocz, dodając kwas borny (10 g/l) jako konserwant. Zanotować objętość, po czym przechowywać w temp. 2-8°C przez 1-2 dni; na dłuższy okres czasu zamrozić w temp. -20°C.

Hydrolyza moczu:

- 1 - Przygotować nieopłaszczony probiótki – jedną dla każdej próbki moczu.
- 2 - Pobrać pipetą 100 µl próbki moczu.
- 3 - Do każdej próbki dodać 1 ml 0.1 M kwasu chlorowodorowego.
- 4 - Inkubować przez 15-20 godzin w temp. 30°C.
- 5 - Wykorzystać 50 µl takiego roztworu do wykonania testu.

7. PROCEDURY TESTU

- Doprowadzić wszystkie odczynniki i próbki do temperatury pokojowej.
- Przed użyciem mieszać próbki poprzez delikatne wstrząsanie.
- Dla wszystkich kalibratorów zaleca się dwukrotne wykonanie pomiaru.

- 1 - Przygotować zwykłe probiótki oznaczone jako: Aktywność całkowita (T) i Wiązanie niespecyficzne (NSB) oraz probiótki opłaszczony przeciwciałami oznaczone jako: Kalibrator zerowy (Bo), Kalibratory (1-6), Kontroli i Próby badane.
- 2- Do każdej próbki odmierzyć pipetą **200 µl** każdego kalibratora, Kontroli i próby badanej.
- 2a- **Próbki moczu.** Do każdej próbki odmierzyć pipetą **50 µl** hydrolyzowanej próbki, po czym dodać **150 µl** kalibratora zerowego.
- 3- Odmierzyć pipetą **200 µl** kalibratora zerowego do probiótek oznaczonych jako Wiązanie niespecyficzne (NSB).
- 4- Do każdej z probiótek dodać **500 µl** znacznika izotopowego.
- 5- Wymieszać wstrząsając ręcznie stojakiem z probiótkami testowymi. Nie używać wstrząsarki typu vortex.
- 6- Inkubować: **Procedura A:** 18-24 godzin w temperaturze pokojowej; lub
Procedura B: 3 godziny w temperaturze pokojowej na wstrząsarce orbitalnej ustawionej na 150 obr/min.
- 7- Ostrożnie zassać mieszaninę inkubacyjną z każdej próbki, z wyjątkiem tych do oznaczania aktywności całkowitej, za pomocą pompy zasysającej, lub zdekantować poprzez osuszenie brzegów próbki bibułą.
- 8- Zliczyć radioaktywność dla poszczególnych probiótek przez 1 minutę w liczniku gamma. Zaleca się sprawdzenie poziomu tła instrumentu przed zliczaniem testu. Aby uniknąć zmienności czułości systemu, tło należy zredukować do minimum lub brać pod uwagę w obliczeniach.

SCHEMAT TESTU

Probówki Odczynnik	Aktywność całkowita	NSB	Kali- bratory	Kontrola	Próbki	Próbki moczu
Kalibrator 0	----	200 µl	----	----	----	150 µl
Kalibratory	----	----	200 µl	----	----	----
Kontrola	----	----	----	200 µl	----	----
Próbki	----	----	----	----	200 µl	50 µl
Znacznik	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl

- Inkubować: 18 – 24 h temp. pok. lub 3 h temp. pok. Wyrząsanie (150 obr/min)
- Zassać
- Zliczyć

8. OBLICZENIE WYNIKÓW

Na papierze logit-log lub półlogarytmicznym wykreślić krzywą wzorcową ze stężeniami kalibratorów na osi X oraz odpowiednimi wartościami B/Bo % na osi Y.

Obliczyć B/Bo% dla każdej próbki, po czym odczytać stężenie poprzez interpolację na wykres wzorcowy w celu uzyskania wartości stężenia aldosteronu w badanych próbkach wyrażonego w pg/ml.

Próbki moczu.

Stężenie odczytane z krzywej wzorcowej musi zostać pomnożone przez współczynnik 44 w celu uzyskania stężenia aldosteronu w pg/ml. Aby wyrazić stężenie aldosteronu w µg/24h:

$$\mu\text{g}/24\text{h} = \frac{\text{Stężenie (pg/ml)} \times 44 \times \text{Mocz wydany (litry)}}{1000}$$

PRZYKŁAD OBLICZENIA

Wartości podane poniżej należy traktować jako przykładowe i nie należy ich podstawiać zamiast danych eksperymentalnych.

Opis	Średnia ilość zliczeń	B/Bo (%)	Stęż. aldosteronu (pg/ml)
Aktywność całkowita (T)	41999	-	-
NSB	154	-	-
CAL 0	19213	100	0
CAL 1	16439	85,4	25
CAL 2	14667	76,1	50
CAL 3	12268	63,6	100
CAL 4	8184	42,1	300
CAL 5	5844	29,9	600
CAL 6	3669	18,4	1500
Kontrola	11263	58,3	133
P1	14905	77,4	45,5
P2	9869	51,0	191
P3	7934	40,8	323

9. WARTOŚCI REFERENCYJNE

Zaleca się, aby każde laboratorium określiło swój własny przedział referencyjny. Wartości podane poniżej są wyłącznie orientacyjne.

Aldosteron w surowicy:	
- W spoczynku:	10 - 160 pg/ml
- W ruchu:	35 - 300 pg/ml
Aldosteron w moczu:	2.8 - 30 µg/24h.

10. CHARAKTERYSTYKA TESTU

SWOISTOŚĆ

Niniejsza metoda wykazała następujące reakcje krzyżowe: 100% z aldosteronem, 17,2% z 3 β ,5 α tetrahydroaldosteronem, 0,12% z 3 α ,5 β tetrahydroaldosteronem, mniej niż 0,017% z prednizolonem, mniej niż 0,003% z kortyzolem, kortykosteronem, kortyzonem, 11-deoksykortyzolem, 11-deoksykortykosteronem, 17-hydroksyprogesteronem, progesteronem oraz mniej niż 0,0017% z prednizonem, testosteronem i androstenedionem.

Procent reaktywności krzyżowej obliczany jest z wykorzystaniem wzoru Abrahama: $X/Y \times 100$, gdzie X i Y to waga substancji przeznaczony do oznaczania oraz waga substancji przeszkadzającej, obie zdolne do zredukowania zdolności wiązania o 50%.

CZUŁOŚĆ

Czułość analityczna

Czułość obliczono na podstawie krzywej wzorcowej i wyrażono w postaci minimalnej dawki dającej istotną różnicę od kalibratora zero (wartość średnia - 2 S.D.). Dawka ta wynosi 1,4 pg/ml.

Czułość funkcjonalna

Czułość funkcjonalna testu to najniższy poziom który jest mierzony z 20% precyzją zmienności wewnątrztestowej. Dla Aldosteronu RIAZENco wartość ta wynosi 25 pg/ml.

PRECYZJA

Precyzja została wyznaczona ze zmienności wewnątrz- i zmienności międzytestowej przy różnych stężeniach analizowanej substancji.

Wewnątrztestowa

Surowica	Średnia	\pm	S.D.	C.V.	N
	(pg/ml)			(%)	
1	42,3	\pm	5,8	13,7	20
2	177	\pm	6,7	3,8	20
3	278	\pm	14,8	5,3	20

Międzytestowa

Surowica	Średnia	\pm	S.D.	C.V.	N
	(pg/ml)			(%)	
1	38,2	\pm	7,1	18,6	9
2	169	\pm	12,6	7,5	9
3	284	\pm	17,7	6,2	9

DOKŁADNOŚĆ

Dokładność metody została sprawdzona przy pomocy testu odzyskania i równoległości.

Test Odzyskania: Testowano próbki zmieszane z równymi objętościami każdego punktu kalibracyjnego.

	OCZEKIWANA (pg/ml)	MIERZONA (pg/ml)	ODZYSKANIA (%)
S1	-	97,2	-
S1 + CAL 0	48,6	41,6	85,6
S1 + CAL 1	61,1	69,4	113,6
S1 + CAL 2	73,6	88,8	120,7
S1 + CAL 3	98,6	121	122,7
S1 + CAL 4	199	249	125,1
S1 + CAL 5	349	455	130,4
S1 + CAL 6	799	933	116,8
S2	-	142	-
S2 + CAL 0	71,0	68,4	96,3
S2 + CAL 1	83,5	83,4	99,9
S2 + CAL 2	96,0	96,9	100,9
S2 + CAL 3	121	137	113,2
S2 + CAL 4	221	244	110,4
S2 + CAL 5	371	431	116,2
S2 + CAL 6	821	952	116,0

Test równoległości: Testowano próbki o wysokim stężeniu substancji analizowanej przy różnych rozcieńczeniach kalibratorem zero.

ROZCIĘCZENIE	OCZEKIWANA (pg/ml)	MIERZONA (pg/ml)	ODZYSKANIA (%)
S1	-	128	-
nirozcieńczona			
1/2	64,1	61,6	96,1
1/4	32,1	30,9	96,3
1/8	16,0	14,9	78,4
S2	-	351	-
nirozcieńczona			
1/2	176	161	91,5
1/4	87,8	75	85,4
1/8	43,9	36,3	82,7
1/16	22,0	25	113,6

Niniejszą instrukcję można pobrać ze strony www.zentech.be

PORTUGES

RADIOIMUNOENSAIO PARA DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE ALDOSTERONA EM SORO HUMANO E URINA

R-CW-100 - 100 Determinações

SOMENTE PARA USO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

1. APLICAÇÕES CLÍNICAS

A aldosterona é um hormônio esteróide com peso molecular de 360 produzido pela zona glomerulosa do córtex adrenal. O ensaio de aldosterona é extremamente importante no diagnóstico do hiperaldosteronismo primário (síndrome de Conh), na então chamada hipertensão arterial essencial, nas mudanças arteriais da pressão induzidas pela administração de quantidades anormais de determinados tipos de alimento (guloseimas) ou de drogas (potássio/sódio), nas síndromes de nefroses etc... Os níveis de aldosterona no sangue seguem também um ritmo circadiano e são estritamente relacionados aos estados de descanso ou exercício, é necessário estudar níveis de aldosterona no sangue por meio de testes dinâmicos de estimulação e/ou supressão.

2. PRINCÍPIO DO ENSAIO

O método atual é baseado em um radioimunoensaio competitivo (RIA). Durante a incubação, a aldosterona da amostra/calibrador compete com a aldosterona marcada com iodo 125 (marcador) para os sítios específicos do anti-soro adsorvidos nos tubos. A separação é baseada no uso de anticorpos adsorvidos nos tubos, onde o anti-soro anti-aldosterona é fixado nas paredes do tubo. Após a aspiração, a radioatividade nos tubos é medida em um cintilador. O grau de ligação será inversamente proporcional à concentração do hormônio na amostra/calibrador.

3. MATERIAL FORNECIDO

- Os reagentes são suficientes para 100 determinações.
- Armazene o kit e os reagentes entre 2-8°C.
- A data de validade de cada reagente é mostrada na etiqueta.

1. **Marcador Radioativo:** 1 frasco (50 ml) de ¹²⁵I-Aldosterona em tampão fosfato. Índice de radioatividade: 85 KBq. Preservativo: NaN₃ (< 0,1%).
2. **Calibradores:** 8 frascos de aldosterona em soro humano. Preservativo: NaN₃ (< 0,1%). Liofilizado. Reconstituir o calibrador zero com 3 ml da água destilada e dos calibradores 1-6 com 2 ml da água destilada. Após a reconstituição, aliquote e congele à -20°C os calibradores e controles não utilizados. Para o valor exato, consulte a folha de dados do controle da qualidade.
3. **Controle:** 1 frasco de aldosterona no soro humano. Preservativo: NaN₃ (< 0,1%). Liofilizado. Reconstituir com 2 ml de água destilada. Após a reconstituição, aliquote e congele à -20°C os calibradores e controles não utilizados. Para o valor exato, consulte a folha de dados do controle da qualidade.
4. **Tubos Adsorvidos:** 100 tubos adsorvidos com o anticorpo anti-Aldosterona. Os tubos não utilizados devem ser armazenados entre 2-8°C, protegidos da umidade.

4. MATERIAL REQUERIDO MAS NÃO FORNECIDO

- tubos de teste plásticos
- estantes para tubos
- micropipetas ajustáveis, automáticas com ponteiras descartáveis.
- vortex.
- cilindro graduado.
- bomba de aspiração ou dispositivo de lavagem automatizado.
- cintilador
- água destilada.
- Agitador orbital ajustável para 150 rpm
- ácido hidrocloreto

5. AVISOS E PRECAUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Para uso diagnóstico *In Vitro*.

Material radioactivo - Não para administração interna ou externa em seres humanos ou animais.

Este teste apenas deverá ser utilizado por pessoal laboratorial experiente, devendo o manuseamento estar em conformidade com as GLP.

Este material radioactivo só pode ser encomendado, adquirido, possuído e utilizado por pessoal médico, laboratórios de análises ou hospitais e apenas para um uso clínico ou laboratorial *in vitro* que não envolva uma administração interna ou externa do material, ou da radiação resultante, em seres humanos ou animais. A sua recepção, aquisição, posse, utilização e transferência estão sujeitas às regulamentações de cada país.

Características físicas ¹²⁵I: veja o fim da instrução

1. **Precauções de segurança:** Precauções a adoptar aquando do manuseamento de material radioactivo:
 - o Conserve o material radioactivo num local próprio.
 - o Não coma, beba, fume ou aplique cosméticos nas áreas destinadas à utilização de materiais radioactivos.
 - o Não efectue a pipetagem com a boca.
 - o Utilize luvas durante o manuseamento de materiais radioactivos e lave cuidadosamente as mãos após a sua utilização.
 - o Cubra a área de trabalho com papel absorvente descartável.
 - o Limpe imediata e cuidadosamente quaisquer substâncias derramadas e elimine os materiais contaminados como se se tratassem de resíduos radioactivos.
 - o Deite os resíduos líquidos de materiais radioactivos no sistema de canalização, se tal for permitido pelas regulamentações locais.

2. **RISCO QUÍMICO - Azida de sódio (NaN₃):** Alguns dos reagentes deste kit contêm azida de sódio como conservante. Para todos esses reagentes, a concentração de azida de sódio é <0,1% p/p. A azida de sódio pode reagir com o cobre ou chumbo das canalizações e formar uma azida metálica explosiva. Elimine todos os reagentes não radioactivos despejando grandes quantidades de água nas canalizações.

Frases de Perigo

R-21/22 Não deve entrar em contacto com a pele ou ser ingerido

Frases de Segurança

S-26 Em caso de contacto com os olhos, passar imediatamente por água abundante e consultar um médico.

S-28,1 Após contacto com os olhos, passar imediatamente por muita água.

S-46 Se for ingerido, consultar imediatamente um médico e mostrar-lhe a etiqueta da embalagem.

3. **Advertência de RISCO BIOLÓGICO:** Este kit pode conter alguns reagentes preparados com soro ou plasma humano. O soro ou plasma utilizados foram testados com um método aprovado pela FDA e dados como negativos no que concerne à presença de anticorpos HIV-1/2, HCV e HBsAg. Dado que nenhuma metodologia pode assegurar por completo a ausência de HIV-1/2, HCV, HBsAg ou de outros agentes infecciosos, estes reagentes devem ser manuseados com as mesmas precauções habitualmente requeridas para quaisquer amostras de soro ou sangue humano potencialmente infecciosas, de acordo com o Nível de Biossegurança 2 e segundo as disposições do manual sanitário do Centro de Controlo de Doenças/Institutos Nacionais de Saúde dos EUA "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - Biossegurança em Laboratórios Biomédicos e de Microbiologia," 3ª Edição, 1993.

6. COLETA DA AMOSTRA

O ensaio pode ser executado em amostras de soro ou urina. Desde que a aldosterona mostre um ritmo circadiano nós sugerimos anotar abaixo da amostra, o tempo de coleta. Amostras altamente lipemicas ou hemolizadas devem ser rejeitadas. Mantenha as amostras entre 2-8°C por 1-2 dias; para períodos mais longos é aconselhável congelar amostras a -20°C. Congelamento e descongelamento das amostras deve ser evitado.

Amostras de Urina

Coleta de urina.

Colete a urina de 24 horas adicionando o ácido bórico (10 g/l) como preservativo. Grave o volume e armazene-o entre 2-8°C por 1-2 dias; ou congele à -20°C por períodos mais longos.

Hidrólise de Urina:

1. Prepare os tubos não adsorvidos, um para cada amostra de urina.
2. Pipete 100µl da amostra de urina.
3. Adicione 1 ml do ácido hidrocloreídrico 0,1 M em cada tubo.
4. Incube por 15-20 horas em 30°C.
5. Use 50 µl desta solução para o teste

7. PROCEDIMENTO DO ENSAIO

- Coloque todos os reagentes e amostras à temperatura ambiente antes do uso.
- Antes do uso, misture as amostras por inversão.
- Para todos os calibradores, uma medida em duplicata é recomendado.

1. Prepare os tubos lisos para a atividade total (T) e ligações não-específicas (NSB) bem como os tubos adsorvidos para o calibrador zero (Bo), os calibradores (1-6), o controle e as amostras.
2. Pipete **200µl** de cada calibrador, controle e amostra em cada tubo.
- 2a Amostras de Urina. Pipete **50µl** da amostra hidrolizada em cada tubo e adicione **150µl** do calibrador zero.
3. Pipete **200µl** do calibrador zero nos tubos de ligação não específicas (NSB).
4. Adicione **500µl** do marcador radioativo em todos os tubos.
5. Misture a estante de tubo-teste manualmente. Não use o vortex.
6. Incube:

Procedimento A: 18-24 horas em temperatura ambiente ou;

Procedimento B: 3 horas em temperatura ambiente em um agitador orbital ajustado em 150 rpm.

7. Aspire com cuidado a mistura incubada de todos os tubos, a não ser aqueles para a atividade total, com uma bomba de aspiração ou decante secando as bordas dos tubos com papel filtro.
8. Conte a radioatividade limitando 1 minuto por tubo em um cintilador. Nós sugerimos controlar o "background" do instrumento antes de contar o ensaio. A fim evitar variações na sensibilidade do sistema, o "background" deve ser reduzido a um mínimo ou ser ajustado corretamente.

ESQUEMA DO ENSAIO

Tubos Reagente	Atividade Total	NSB	Calibradores	Controle	Amostras	Amostras de Urina
Calibrador 0	----	200 µl	----	----	----	150 µl
Calibradores	----	----	200 µl	----	----	----
Controles	----	----	----	200 µl	----	----
Amostras	----	----	----	----	200 µl	50 µl
Marcador	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl

- Incube : 18 – 24 h T.A ou 3 h T.A sob agitação (150 rpm)
- Aspire
- Conte

8. CÁLCULO DOS RESULTADOS

Desenhe a curva de calibração no gráfico tipo log/lin traçando as concentrações dos calibradores no eixo X e respectivos B/Bo % no eixo Y. Calcule o B/Bo(%) para cada amostra e leia a concentração pela interpolação na curva de calibração para obter a concentração de Aldosterona nas amostras testadas, expressadas em pg/ml.

Amostras de Urina

A concentração lida na curva de calibração deve ser multiplicada pelo fator 44 para obter a concentração de Aldosterona em pg/ml. Para expressar a concentração de Aldosterona em µg/24h:

$$\mu\text{g}/24\text{h} = \frac{\text{Concentração (pg/ml)} \times 44 \times \text{Urina excretada (litros)}}{1000}$$

EXEMPLO DO CÁLCULO

Os valores relatados abaixo devem ser considerados como um exemplo e não podem ser usados no lugar dos dados experimentais

Descrição	Média cpm	B/Bo (%)	Aldosterona (pg/ml)
Atividade Total (T)	41999	-	-
NSB	154	-	-
CAL 0	19213	100	0
CAL 1	16439	85,4	25
CAL 2	14667	76,1	50
CAL 3	12268	63,6	100
CAL 4	8184	42,1	300
CAL 5	5844	29,9	600
CAL 6	3669	18,4	1500
CONTROL	11263	58,3	133
P1	14905	77,4	45,5
P2	9869	51,0	191
P3	7934	40,8	323

9. VALORES DE REFERÊNCIA

É recomendado que cada laboratório determine seu próprio intervalo de referência. Valores relatados abaixo são apenas indicativos.

Aldosterona Sérica	
- No descanso	10 - 160 pg/ml
- Em movimento	35 - 300 pg/ml
Aldosterona Urinária	2.8 - 30 µg/24h.

10. DESEMPENHO DO ENSAIO

ESPECIFICIDADE

O método atual mostrou as seguintes reações cruzadas: 100% com aldosterona, 17,2% com 3β,5α Tetrahydroaldosterona, 0,12% com 3α,5β Tetrahydroaldosterona, menos de 0,017% com Prednisolona, menos de 0,003% com Cortisol, Corticosterona, Cortisona, 11-Deoxicortisol, 11-Deoxicorticosterona, 17-Hidroxiprogesterona, progesterona e menos de 0,0017% com prednisona, testosterona e Androstenediona. A porcentagem de reação cruzada é calculada usando a fórmula de Abraham: $X/Y \times 100$, X e Y começando com o peso da substância ensaiada e o peso da substância de interferência, ambos capazes de reduzir a capacidade obrigatória em 50%.

SENSIBILIDADE

Sensibilidade analítica

A sensibilidade foi calculada baseada na curva de calibração e expressada como a dose mínima que mostra uma diferença significativa do calibrador zero (valor médio -2 S.D.). Esta dose é de 1,4 pg/ml.

Sensibilidade Funcional

O ensaio de sensibilidade funcional e o menor valor que é medido com a precisão máxima de 20% de variação entre ensaios. Para RIAZENco Aldosterona, este valor é de 25pg/ml.

PRECISÃO

A precisão foi avaliada em cima da variabilidade no ensaio e entre ensaios, em diferentes concentrações.

No ensaio

Soro	Média	±	S.D.	C.V. (%)	N
	(pg/ml)				
1	42,3	±	5,8	13,7	20
2	177	±	6,7	3,8	20
3	278	±	14,8	5,3	20

Entre Ensaios

Soro	Média	±	S.D.	C.V. (%)	N
	(pg/ml)				
1	38,2	±	7,1	18,6	9
2	169	±	12,6	7,5	9
3	284	±	17,7	6,2	9

ACURÁCIA

A exatidão do método foi avaliada por testes de recuperação e de paralelismo.

Teste de Recuperação

As amostras do teste de recuperação, misturadas com volumes iguais de cada calibrador foram testadas

Adicionado	Esperado (pg/ml)	Mensurado (pg/ml)	Recuperação (%)
A1	-	97,2	-
A1 + CAL 0	48,6	41,6	85,6
A1 + CAL 1	61,1	69,4	113,6
A1 + CAL 2	73,6	88,8	120,7
A1 + CAL 3	98,6	121	122,7
A1 + CAL 4	199	249	125,1
A1 + CAL 5	349	455	130,4
A1 + CAL 6	799	933	116,8

Adicionado (pg/ml)	Esperado (pg/ml)	Mensurado (pg/ml)	Recuperação (%)
A2	-	142	-
A2 + CAL 0	71,0	68,4	96,3
A2 + CAL 1	83,5	83,4	99,9
A2 + CAL 2	96,0	96,9	100,9
A2 + CAL 3	121	137	113,2
A2 + CAL 4	221	244	110,4
A2 + CAL 5	371	431	116,2
A2 + CAL 6	821	952	116,0

Teste Paralelismo

Soros com alta concentração foram testados em diferentes diluições com o calibrador Zero

Diluição	Esperado (pg/ml)	Mensurado (pg/ml)	Recuperação (%)
A1 sem diluir	-	128	-
1/2	64,1	61,6	96,1
1/4	32,1	30,9	96,3
1/8	16,0	14,9	78,4
A2 sem diluir	-	351	-
1/2	176	161	91,5
1/4	87,8	75	85,4
1/8	43,9	36,3	82,7
1/16	22,0	25	113,6

Esta bula está disponível para download no site www.zentech.be

БЪЛГАРСКИ

РАДИОИМУННО ИЗСЛЕДВАНЕ ЗА КОЛИЧЕСТВЕННО ИЗМЕРВАНЕ НА АЛДОСТЕРОН В ЧОВЕШКИ СЕРУМ И УРИНА

R-CW-100 - 100 Измервания

САМО ЗА IN VITRO ДИАГНОСТИКА

1. КЛИНИЧНИ ПРИЛОЖЕНИЯ

Алдостеронът е стероиден хормон с молекулно тегло 360 Da, произвеждан от зона гломерулоза на кората на надбъбречната жлеза.

Изследването на нивата на алдостерона е изключително важно за диагностиката на първичен хипералдостеронизъм (болест на Кон) при тъй наречената есенциална хипертензия, при изменения в артериалното кръвно налягане, индуцирани при прилагането на аномални количества от определени типове храни (лакрица) или медикаменти (калий/ натрий), при нефритни синдроми и т.н.

Кръвните нива на алдостерона следват определен денонощен биологичен ритъм и са строго свързани със състоянията на покой или физическо натоварване; кръвните нива на алдостерон трябва да се изследват с помощта на динамични тестове на стимулация и/или супресия.

2. ПРИНЦИП НА ИЗСЛЕДВАНЕ

Настоящият метод е базиран на конкурентното радиоимунно изследване (RIA). По време на инкубацията алдостеронът от пробата/ калибратора се конкурира с алдостерона, натоварен с йод 125 (трейсър), за специфични центрове на антисерума, имобилизиран в епруветките. Сепарацията е базирана на използването на покрити с антители епруветки, на чиито стени е имобилизиран анти-алдостерон анти-серум. След аспирация радиоактивността в епруветките се измерва с гама брояч. Степента на свързване е обратно пропорционална на концентрацията на хормона в пробата или калибратора.

3. ВКЛЮЧЕНИ В КИТА РЕАГЕНТИ

- Реагентите са предвидени за 100 измервания.
- Съхранявайте кита и реагентите при температури 2-8°C.
- Срокът на годност на всеки реагент е указан на етикета.

- 1 Радиоактивен трейсър:** 1 флакон (50 ml) с натоварен с ¹²⁵I-алдостерон във фосфатен буфер. Радиоактивност: 85 KBq. Консервант: NaN₃ (<0.1%).
- 2 Калибратори:** 8 флакона алдостерон в човешки серум. Консервант: NaN₃ (<0.1%). Лиофилизиран. Реконституирайте нулевия калибра-тор с 3 ml дестилирана вода, а останалите калибратори 1-6 - с 2 ml дестилирана вода. След реконституирането ги разделете на аликвоти и съхранявайте неизползваните калибратори и контроли при -20°C. За точната стойност вижте Информационния лист за контрол на качеството.
- 3 Контрола:** 1 флакон алдостерон в човешки серум. Консервант: NaN₃ (<0.1%). Лиофилизиран. Реконституирайте с 2 ml дестилирана-на вода. След реконституирането ги разделете на аликвоти и съхранявайте неизползваните калибратори и контроли при -20°C. За точната стойност вижте Информационния лист за контрол на качеството.
- 4 Покрити епруветки:** 100 епруветки, покрити с антители анти-алдостерон. Съхранявайте неизползваните епруветки при 2-8°C, защитени от влага.

4. НЕОБХОДИМ МАТЕРИАЛ, НЕВКЛЮЧЕН В КИТА

- Пластмасови епруветки.
- Стойки за епруветки.
- Регулируеми, автоматични микропипети с накрайници за еднократна употреба.
- Завихрящ смесител.

- Градуиран цилиндър.
- Аспирационна помпа или автоматично измиващо устройство.
- Сцинтилационен гама брояч.
- Дестилирана вода.
- Орбитално клатещо устройство, настроено на 150 об. в минута.
- Хидрохлорна киселина.

5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ ЗА ПОТРЕБИТЕЛЯ

Само за *in vitro* диагностика.

Този тест може да се използва само от квалифициран лабораторен персонал, като боравенето с него трябва да бъде в съответствие с изискванията на Добрата лабораторна практика. Радиоактивен материал - не е предназначен за вътрешна или външна употреба при хора и животни.

Този радиоактивен материал може да бъде получен, придобит, притежаван и използван само от доктори, клинични лаборатории или болници и само за *in vitro* клинични или лабораторни тестове, изключващи вътрешно или външно прилагане на материала или радиацията в него на хора или животни. Неговото получаване, придобиване, притежаване, употреба и прехвърляне трябва да се извършва съгласно законодателството и стандартите в държавата.

Физични характеристики на ¹²⁵I: вижте в края на инструкциите.

- Предпазни мерки:** При боравенето с радиоактивен материал спазвайте стриктно следните инструкции:
 - o Съхранявайте радиоактивните материали в предназначената за целта зона.
 - o Не яжте, не пийте, не пушете и не използвайте козметични средства в близост до места, в които се оперира с радиоактивен материал.
 - o Не пипетирайте с уста.
 - o Носете ръкавици, когато боравите с радиоактивен материал, и измивайте ръцете си с голямо количество вода.
 - o Покрийте работната зона с абсорбираща хартия за еднократна употреба.
 - o Избърсвайте разлетял материал незабавно и напълно и изхвърляйте контаминирани материали като радиоактивен отпадък.
 - o Изхвърляйте течния радиоактивен отпадък в санитарната канализация само ако това е позволено от местните разпоредби.
- ОПАСНИ ХИМИКАЛИ, предупреждение за наличието на натриев азид (NaN₃):** Някои от реагентите в този кит съдържат натриев азид като консервант. При тези реагенти неговата концентрация е <0.1% w/w. Натриевият азид може да реагира с оловните и медни канализационни тръби и да образува експлозивни метални азиди. Изхвърляйте всички нерадиоактивни реагенти, като след това промиете канализационната система с големи количества вода.
Рискови фрази
R 21/22 Вредно при контакт с кожата и при поглъщане.
Защитни фрази
S-26 В случай на контакт с очите промийте незабавно с обилно количество вода и потърсете лекарска помощ.
S-28.1 След контакт с кожата промийте незабавно с обилно количество вода.
S-46 При поглъщане потърсете незабавно лекарска помощ и покажете контейнера или етикета.
- ПОТЕНЦИАЛНО БИОЛОГИЧНО ОПАСЕН МАТЕРИАЛ:** Този кит може да съдържа реагенти, съдържащи човешки серум или плазма. Използваните серум или плазма са били тествани по одобрен от FDA (Американската агенция за храните и лекарствата) метод и е било установено, че не съдържат антитела за HIV-1/2, HCV и HBsAg. Тъй като нисък метод не може да гарантира пълна сигурност, че липсват HIV-1/2, HCV, HBsAg или други инфекциозни агенти, с тези реагенти трябва да се борави на Ниво 2 за биологична защита, както се препоръчва и за всички потенциално заразни човешки серумни или кръвни проби в Наръчника за здравеопазване на Центровете за контрол на заболяванията/ на Националните институти "Биологична защита в микробиологичните и биомедицинските лаборатории," 3-то издание, 1993 година.

6. ВЗИМАНЕ НА ПРОБИТЕ

Изследването може да се извърши със серумни и уринни проби. Тъй като нивата на алдостерон следват определен денонощен ритъм, е препоръчително да се отбелязва времето на взимане на пробата. Изхвърляйте липемичните или хемолизираните проби. Съхранявайте пробите при 2-8°C за 1-2 дена; за по-продължителни периоди е препоръчително да ги замразите при -20°C. Избягвайте повторните цикли на замразяване - размразяване на пробите.

Уринни проби

Взимане на урина

Вземете 24-часова урина, като добавяте борна киселина (10 g/l) като консервант. Запишете обема и съхранете при 2-8°C за 1-2 дена; за по-продължителни периоди на съхранения я замразете и съхранявайте при -20°C.

Хидролиза на урината:

1. Пригответе непокрити епруветки, по една за всяка уринна проба.
2. Накапете с пипета 100 µl уринна проба.
3. Добавете 1 ml хипохлорна киселина 0.1 M във всяка епруветка.
4. Инкубирайте за 15-20 часа при 30°C.
5. Използвайте 50 µl от този разтвор за изследването.

7. ПРОЦЕДУРА ПО ИЗСЛЕДВАНЕТО

- Преди употреба приведете всички проби и калибратори до стайна температура.
 - Преди употреба смесете пробите чрез обръщане.
 - При всички калибратори е препоръчително двойно измерване.
1. Пригответе обикновени епруветки за измерване на общата радиоактивност (Т) и неспецифичното свързване (NSB), както и покрити епруветки за нулевия калибратор (Bo), калибратори (1-6), контроли и проби.
 2. Накапете с пипета **200 µl** от всеки калибратор, контрола и проба във всяка епруветка.
 - 2a. **Уринни проби.** Накапете с пипета **50 µl** хидролизирана проба във всяка епруветка и добавете **150 µl** нулев калибратор.
 3. Накапете с пипета **200 µl** нулев калибратор в епруветките за измерване на неспецифичното свързване (NSB).
 4. Добавете **500 µl** радиоактивен трейсър във всички епруветки.
 5. Смесете ръчно епруветките. Не използвайте завихрящ смесител.
 6. Инкубирайте: **Процедура А:** 18-24 часа на стайна температура или **Процедура В:** 3 часа на стайна температура с орбитално клатещо устройство, настроено на 150 оборота в минута.
 7. Внимателно аспирирайте инкубационната смес от всички епруветки, освен тези за измерване на общата радиоактивност с аспирационна помпа или прелейте чрез изсушаване на ръбовете на епруветките с филтърна хартия.
 8. Измерете радиоактивността в епруветките за 1 минута посредством гама брояч. Препоръчително е да проверите фона на уреда преди да извършите преброяването по теста. За да избегнете вариациите в чувствителността на системата, намалете фона до минимум или го регулирайте, както трябва.

СХЕМА НА ИЗСЛЕДВАНЕТО

Епруветки	Обща радиоактивност	NSB	Калибратори	Контрола	Проби	Уринни проби
Реагент						
Калибратор 0	----	200 µl	----	----	----	150 µl
Калибратори	----	----	200 µl	----	----	----
Контроли	----	----	----	200 µl	----	----
Проби	----	----	----	----	200 µl	50 µl
Трейсър	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl

- Инкубирайте: 18 – 24 часа на стайна температура или 3 часа на стайна температура в клатещо устройство, настроено на 150 оборота в минута.
- Аспирирайте.
- Направете броене.

8. ИЗЧИСЛЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Начертайте калибрационна крива върху logit-log или семи-логаритмична хартия, като калибрационните концентрации нанесете по оста x, а съответния процент В/Во - по оста y.

Изчислете В/Во% за всяка проба и отчетете концентрацията чрез интерполация от калибрационната крива, за да получите концентрацията на алдостерон в тестваните проби, изразена в pg/ml.

Уринни проби.

Концентрацията, отчетена на калибрационната крива, трябва да бъде умножена по коефициент 44, за да се получи концентрацията на алдостерон в pg/ml. За да изразите концентрацията на алдостерон в µg/24ч:

$$\mu\text{g}/24\text{ч} = \frac{\text{Концентрация (pg/ml)} \times 44 \times \text{екскретиранията урина (л.)}}{1000}$$

ПРИМЕРНО ИЗЧИСЛЯВАНЕ

Дадените в долната таблица стойности трябва да се считат като примерни и не трябва да се използват вместо данните от изследването.

Описание	Средно срп	В/В0 (%)	Алдостерон (pg/ml)
Обща радиоактивност (Т)	41999	-	-
Неспецифична свързаност (NSB)	154	-	-
КАЛИБРАТОР 0	19213	100	0
КАЛИБРАТОР 1	16439	85,4	25
КАЛИБРАТОР 2	14667	76,1	50
КАЛИБРАТОР 3	12268	63,6	100
КАЛИБРАТОР 4	8184	42,1	300
КАЛИБРАТОР 5	5844	29,9	600
КАЛИБРАТОР 6	3669	18,4	1500
КОНТРОЛА	11263	58,3	133
P1	14905	77,4	45,5
P2	9869	51,0	191
P3	7934	40,8	323

9. РЕФЕРЕНТНИ СТОЙНОСТИ

Препоръчително е всяка лаборатория да определи свой собствен интервал на референтните стойности. Дадените в долната таблица стойности са само с указателен характер.

Серумен алдостерон	
- В покой:	10 - 160 pg/ml
- При движение:	35 - 300 pg/ml
Уринен алдостерон:	2.8 - 30 µg/24h.

10. ПРОВЕЖДАНЕ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО

СПЕЦИФИЧНОСТ

Настоящият метод показва следните кръстосани реакции: 100% с алдостерон, 17,2% с 3β,5α тетрахидроалдостерон, 0,12% с 3α,5β тетрахидроалдостерон, по-малко от 0,017% с преднизолон, по-малко от 0,003% с кортизол, кортикостерон, кортизон, 11-деоксикортизол, 11-деаоксикортикостерон, 17-хидроксипрогестерон, прогестерон и по-малко от 0,0017% с преднизон, тестостерон и андростендион.

Процентът на кръстосана реактивност се изчислява по формулата на Ейбрахам: X/Y x 100, където X и Y са съответно теглата на изследваното вещество и на веществото с кръстосана реактивност, като и двете могат да намалят свързаната радиоактивност с 50%.

ЧУВСТВИТЕЛНОСТ

Аналитична чувствителност

Чувствителността бе изчислена на базата на калибрационната крива и изразена като минималната доза, показваща значителна разлика от нулевия калибратор (средна стойност - 2 пъти стандартното отклонение). Тази доза е 1,4 pg/ml.

Функционална чувствителност

Функционалната чувствителност на изследването представлява най-ниската стойност, която се измерва с прецизност от максимум 20% вариация в рамките на изследването. За изследването RIAZENco Aldosterone тази стойност е 25 pg/ml.

ПРЕЦИЗНОСТ

Прецизността е определена на базата на променливостта в рамките на теста и между тестовите при различни концентрации на изследваното вещество.

В рамките на теста

Серум	Средно	±	Стандартно отклонение (pg/ml)	Коефициент на вариация (%)	Брой
1	42,3	±	5,8	13,7	20
2	177	±	6,7	3,8	20
3	278	±	14,8	5,3	20

Между тестовите

Серум	Средно	±	Стандартно отклонение (pg/ml)	Коефициент на вариация (%)	Брой
1	38,2	±	7,1	18,6	9
2	169	±	12,6	7,5	9
3	284	±	17,7	6,2	9

ТОЧНОСТ

Точността на метода е проверена чрез възстановителни тестове и тестове на паралелизъм.

Възстановителен тест

Бяха изследвани проби, смесени с еднакви обеми от всеки калибратор.

Добавено	Очаквано (pg/ml)	Измерено (pg/ml)	Възстановяване (%)
S1	-	97,2	-
S1 + КАЛ. 0	48,6	41,6	85,6
S1 + КАЛ. 1	61,1	69,4	113,6
S1 + КАЛ. 2	73,6	88,8	120,7
S1 + КАЛ. 3	98,6	121	122,7
S1 + КАЛ. 4	199	249	125,1
S1 + КАЛ. 5	349	455	130,4
S1 + КАЛ. 6	799	933	116,8
S2	-	142	-
S2 + КАЛ. 0	71,0	68,4	96,3
S2 + КАЛ. 1	83,5	83,4	99,9
S2 + КАЛ. 2	96,0	96,9	100,9
S2 + КАЛ. 3	121	137	113,2
S2 + КАЛ. 4	221	244	110,4
S2 + КАЛ. 5	371	431	116,2
S2 + КАЛ. 6	821	952	116,0

Тест на паралелизъм

Серуми с високи концентрации на изследваното вещество бяха тествани при различно разреждане с нулев калибратор.

Разреждане	Очаквано (pg/ml)	Измерено (pg/ml)	Възстановяване (%)
S1 неразреден	-	128	-
1/2	64,1	61,6	96,1
1/4	32,1	30,9	96,3
1/8	16,0	14,9	78,4
S2 неразреден	-	351	-
1/2	176	161	91,5
1/4	87,8	75	85,4
1/8	43,9	36,3	82,7
1/16	22,0	25	113,6

Това приложение към пакета можете да запишете от сайта www.zentech.be.

**11. BIBLIOGRAPHIE-BIBLIOGRAPHY-BIBLIOΓΡΑΦΙΑ
BIBLIOGRAFIE-BIBLIOGRAFIA-BIBLIOGRAFIA
BIBLIOGRAFÍA-БИБЛИΟΓΡΑΦΙΑ**

- 1 - Bizollon C.A. et al. Solid-phase radioimmunoassay of plasma Aldosterone. Steroids, 1974, 23,809-21.
- 2 - Malvano R. et al. Methodological simplifications in radioimmunoassay of urinary Aldosterone. Clin. Chim. Acta, 1976, 66,331-43.
- 3 - Lijnen P. et al. Direct radioimmunoassay of plasma Aldosterone in normal subjects. Clin. Chim. Acta, 1978, 84, 305-14.
- 4 - Klumpp F. et al. Radioimmunologische Bestimmung von Aldosteron im Plasma. Z. Klin. Chem. Klin. Biochem., 1974, 12, 128-33.
- 5 - Pratt J.J. et al. Special problems in the radioimmunoassay of plasma Aldosterone without prior extraction and purification. Clin. Chim. Acta, 1978, 84, 329-37.
- 6 - St. Cyr M.J. et al. Quantitation of plasma Aldosterone by radioimmunoassay. Clin. Chem.,1972, 18, 1395-1402.
- 7 - Sulon J. et al. Radioimmunoassay for Aldosterone and Deoxycorticosterone in human plasma. Comparison of various antisera and determination of normal values. Clin. Chim. Acta, 1976, 72, 275-84.
- 8 - Young S.C. et al. Hypertensive complications in patients with primary aldosteronism. Current therapeutic Research, 1991, 50, 317-25.

Physikalisches Daten of ¹²⁵I

Physical characteristics of ¹²⁵I

Características físicas ¹²⁵I

φυσικά χαρακτηριστικά του ¹²⁵I

Caractéristiques physique de ¹²⁵I

Caratteristica fisica ¹²⁵I

Fysieke kenmerken van ¹²⁵I

Charakterystyka fizyczna I-¹²⁵

Características físicas ¹²⁵I

Физични характеристики на ¹²⁵I

t_{1/2} = 59.9 Tagen, days, dias, ημέρες, jours, giorni dagen, dni, días,
дена

Wichtigste Emissionen

Main emissions

Emissiones principales

κύριες εκπομπές

Emissions principales

Emissione principale

Hoofduitzendingen

Główne rodzaje promieniowania

Emissões principais

Основни лъчения

	E (MeV)	%
γ	0.035	
X	0.027	114
	0.032	25