

(Distribučováno BECKMAN COULTER, pouze pro použití odborníky, na platformách BECKMAN COULTER (AU400, AU480, AU680, AU580 a DxC 700 AU))



Axis-Shield Diagnostics Ltd.
The Technology Park
Dundee DD2 1XA
United Kingdom
Tel: +44 (0) 1382 422000
Fax: +44 (0) 1382 422088

ČESKY:

URČENÉ POUŽITÍ

Test Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent je určen pro *in vitro* kvantitativní stanovení celkového homocysteinu v lidském séru a plazmě. Toto zařízení může pomoci při diagnóze a léčbě pacientů s podezřením na hyperhomocysteinémii a homocystinurii.

VAROVÁNÍ: Vzorky pacientů podstupujících léčbu léky s obsahem S-adenosyl-metioninu mohou vykazovat falešně zvýšené hladiny homocysteinu. Pacienti užívající metotrexát, karbamazepin, fenytoin, oxid dusný, antikonvulsanty nebo 6-azauridin triacetát mohou mít zvýšené hladiny homocysteinu z důvodu jejich účinku na spojení. Další informace naleznete v tomto příbalovém letáku v části OMEZENÍ POUŽITÍ.

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ TESTU

Homocystein (HCY) je aminokyselina obsahující thiol vznikající mezibuněčnou demetylací metioninu. Homocystein je exportován do plazmy, kde obíhá většinou ve své oxidované formě vázán na plazmové proteiny jako směsný protein-HCY disulfid albumin (protein-SS-HCY).¹⁻⁵ Jsou přítomna i menší množství redukovaného homocysteinu a disulfid homocystein (HCY-SS-HCY). Celkový homocystein (THCY) představuje součet všech druhů HCY, které se nacházejí v séru nebo plazmě (volný a vázaný na protein). Homocystein se metabolizuje buď na cystein nebo metionin. V transsulfurační cestě vitamínu B6 je homocystein ireverzibilně katabolizován na cystein. Převážná část homocysteinu se remetyluje na metionin, hlavně prostřednictvím folát a kobalamin dependentního enzymu methioninsyntázy. Homocystein se akumuluje a vylučuje do krve, když se tyto reakce zhorší.^{3,5} Silně zvýšené koncentrace celkového homocysteinu se objevují u subjektů s homocystinurií, vzácnou genetickou poruchou enzymů podílejícího se na metabolismu homocysteinu. U pacientů s homocystinurií se projevuje mentální retardace, předčasná arterioskleróza a arteriální a venózní tromboembolismus.^{2,6} Byly prokázány i další méně závažné genetické poruchy, které vedly k mírnému zvýšení hladin celkového homocysteinu.⁷⁻⁹

Epidemiologické studie zkoumaly vztah mezi zvýšenými hladinami homocysteinu a kardiovaskulárním onemocněním (CVD). Metaanalýza 27 těchto studií zahrnujících více než 4000 pacientů odhadla, že zvýšení celkového homocysteinu o 5 $\mu\text{mol/l}$ bylo spojeno s pravděpodobností výskytu onemocnění koronárních artérií (CAD) 1,6 (95% interval spolehlivosti [CI], 1,4 až 1,7 pro muže a 1,8 (95% CI 1,3 až 1,9) pro ženy; pravděpodobnost cerebrovaskulárního onemocnění byla 1,5 (95% CI 1,3 až 1,9). Riziko spojené se zvýšením celkového homocysteinu o 5 $\mu\text{mol/l}$ bylo stejné jako riziko spojené se zvýšením cholesterolu o 0,5 mmol/l (20 mg/dl). Rovněž se projevila silná souvislost s onemocněním periferních artérií.¹⁰

Hyperhomocysteinémie, zvýšené hladiny homocysteinu, lze dávat do souvislosti se zvýšeným rizikem CVD. Existuje rovněž veliký počet publikovaných zpráv o prospektivních studiích zkoumajících stav mezi hyperhomocysteinémií a rizikem CVD u mužů a žen, kteří byli zpočátku zdraví. Konečné výsledky byly založeny na kardiovaskulární příhodě, jako například infarkt myokardu, mrtvice, CAD nebo úmrtí. Výsledky jedenácti z těchto vnořených případových kontrolních studií, které prováděl Cattaneo¹¹ byly dvojnásobné, kde pět studií souvislost s rizikem potvrzovalo a šest nikoliv. Později byly hladiny homocysteinu stanovovány v prospektivní studii postmenopauzálních žen, které se účastnily studie o ženském zdraví. Na homocystein byly testovány vzorky od 122 žen, u nichž následně došlo ke vzniku kardiovaskulárních příhod, a porovnávány s kontrolní skupinou 244 žen, které jim byly postaveny naroveň z hlediska věku a kouření. Ženy v kontrolní skupině během tříletého sledovacího období nebyly onemocněním postiženy. Výsledky prokázaly, že u postmenopauzálních žen, u nichž došlo ke kardiovaskulárním příhodám, byly signifikantně vyšší výchozí hladiny homocysteinu. Ženám s hladinami v nejvyšší kvartilu hrozilo dvojnásobné zvýšení rizika jakékoliv kardiovaskulární příhody. Zvýšené výchozí hladiny homocysteinu se ukázaly jako nezávislý rizikový faktor.¹² Hladiny homocysteinu byly rovněž stanovovány u 1933 starších mužů a žen pro kohortu ve Framinghamově srdeční studii a prokázalo se, že zvýšené hladiny homocysteinu jsou nezávisle spojeny se zvýšenými mírami všeobecné úmrtnosti a úmrtnosti vyvolané CVD.¹³

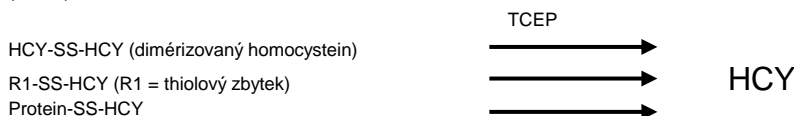
U pacientů s chronickým onemocněním ledvin se projevovává nadměrná morbidita a mortalita způsobená arteriosklerotickou CVD. U těchto pacientů se často objevují nálezy zvýšené koncentrace homocysteinu v krvi. Ačkoliv těmto pacientům chybí vitamíny podílející se na metabolismu homocysteinu, zvýšené hladiny HCY jsou hlavně způsobeny zhoršeným odbouráváním HCY ledvinami z krve.^{14, 15}

Metabolismus HCY mohou narušovat léčiva jako metotrexát, karbamazepin, fenytoin, oxid dusný a 6-azauridin triacetát a mohou zvyšovat hladiny HCY.¹⁶

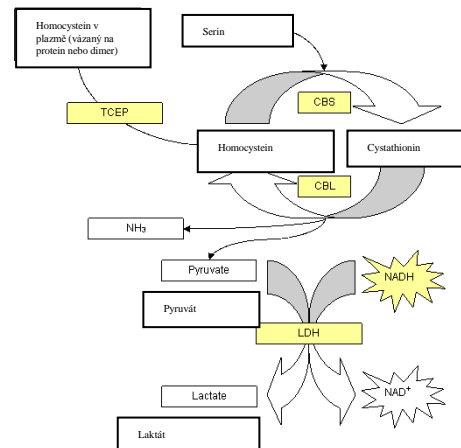
PRINCIPY METODY

Vázaný homocystein nebo ve formě diméru (oxidovaná forma) se redukuje na volný homocystein, který poté reaguje se serinem za katalýzy cystathionin beta-synthasou (CBS) za vzniku cystathionin. Cystathionin je postupně rozkládán na homocystein cystathionin betalýsou (CBL), kdy při tomto procesu vzniká i pyruvát a čpavek. Pyruvát se poté konvertuje pomocí laktát dehydrogenázy (LDH) na laktát s nikotinamid adenin dinukleotidem (NADH) jakožto koenzymem. Rychlost konverze NADH na NAD^+ je přímo úměrná koncentraci homocysteinu (D A340 nm).

Redukce: Dimérováný homocystein, směsný disulfid a formy HCY vázané na protein ve vzorku se redukují za vzniku volného HCY pomocí tris [2-karboxyethyl] fosfinu (TCEP).



Enzymatická konverze: Volný HCY se převede na cystathionin pomocí cystathionin betasyntázy a nadbytečného serinu. Cystathionin se poté rozkládá na homocystein, pyruvát a čpavek. Pyruvát se konvertuje pomocí laktát dehydrogenázy na NADH jakožto koenzymem. Rychlost konverze NADH na NAD^+ (Δ A340 nm) je přímo úměrná koncentraci homocysteinu.



DALŠÍ INFORMACE



Protože společnost Beckman Coulter není výrobcem činidla, ani neprováděla kontrolu kvality nebo jiné testy jednotlivých šarží, nemůže tedy společnost Beckman Coulter odpovídat za kvalitu získaných údajů, která je výsledkem účinnosti činidla, rozdílu mezi šaržemi, změnami v protokolech provedených výrobcem.

TECHNICKÁ PODPORA

- Potřebujete-li technickou pomoc, kontaktujte zástupce společnosti Beckman Coulter.
- Poškození při přepravě – jestliže tento výrobek obdržíte poškozený, kontaktujte středisko klinické podpory společnosti Beckman Coulter.
- Návod k použití (včetně cizojazyčných překladů a parametry zabránění křížové kontaminace) naleznete na internetové stránce – www.homocysteine.org.uk/BCI

INFORMACE K OBJEDNÁNÍ A SOUČÁSTI SADY

K dalšímu objednání materiálu od vašeho místního zástupce společnosti Beckman Coulter můžete použít následující kódy Representative:

Kód výrobku	Popis	Složení	Rizika
B08176	REAG 1 - 1 x 30 ml Bezbarvá kapalina bez zápachu	NADH (0,47 mM), LDH (38 KU/L), Serín (0,76 mM), Trizma Base 1–10 %, Trizma hydrochlorid 1–10 %, Azid sodný <1 %. Redukční činidlo (TCEP: 2,9 mM) Připraveno k okamžitému použití.	
	REAG 2 - 1 x 5 ml Světle žlutá kapalina bez zápachu	Cyklické enzymy CBS (0,748 KU/l) a CBL (16,4 KU/l) Azid sodný <1 %. Připraveno k okamžitému použití.	
	CAL 0µM - 1 x 3,0 ml, (Modré víčko), bezbarvá kapalina bez zápachu	Vodný roztok bez homocysteinu (0 µmol/l). Připraveno k okamžitému použití.	
	CAL 28µM - 1 x 3,0 ml, (Červené víčko), bezbarvá kapalina bez zápachu	Vodný roztok homocysteinu (28 µmol/l). Připraveno k okamžitému použití.	

Kalibrátory se připravují gravimetricky a jsou výsledovatelné podle NIST SRM 1955, což se potvrzuje určeným postupem měření (vysokotlaká kapalinová chromatografie). Přiřazené hodnoty jsou vytištěny na štítcích (0 µmol/l a 28 µmol/l).

Pro použití s testem Liquid Stable (LS) 2-part Homocysteine Reagent je k dispozici také Homocysteine Control Kit (kód výrobku - B08177) Beckman Coulter obsahující nízké, střední a vysoké úrovně kontroly.

UCHOVÁVÁNÍ A PŘEPRAVA ČINIDEL



1. Komponenty sady uchovávejte při 2–8 °C a spotřebujte do data použitelnosti na etiketě. Činidla s prošlým datem použitelnosti nepoužívejte.
2. Jestliže tento výrobek obdržíte poškozený, kontaktujte středisko technické podpory společnosti Beckman Coulter.
3. Činidla je možné používat opakovaně až do data jejich použitelnosti uvedeném na štítku. Po použití se činidla **musí** opětovně uchovávat při teplotě 2–8 °C.
4. Nesměšujte činidla ze sad s různými čísly šarží.
5. **ČINIDLA CHRAŇTE PŘED MRAZEM.**
6. Činidla chraňte před světlem.
7. Činidla chraňte před znečištěním. Pro každé činidlo nebo vzorek použijte vždy novou jednorázovou špičku pipety.
8. Uchovávání po vložení do přístroje. Činidla se mohou uchovávat vložené do všech platform AU (AU400, AU480, AU680, AU5800 a Dx C 700 AU), po dobu 30 dnů.
9. Činidla nesmí obsahovat materiál z částic. Jestliže se objeví zakalení, je nutné je zlikvidovat.

VÝSTRAHY A UPOZORNĚNÍ

Pouze pro diagnostické použití in vitro

1. Držte se striktně pokynů v této příručce, zejména v části manipulace a podmínky uchovávání.
2. Činidlo 1 a činidlo 2 obsahují azid sodný, který může reagovat s olovem nebo mědí v potrubí za vzniku výbušných azidů kovů. Při likvidaci proplachujte velkými objemy vody, aby se zabránilo tvorbě azidů.
3. Bezpečnostní materiálůvé listy pro všechny nebezpečné komponenty obsažené v této sadě jsou k dispozici na vyžádání u výrobce produktu Axis-Shield Diagnostics.

REAG 1	EUH032 -	Uvolňuje vysoce toxický plyn při styku s kyselinami.
REAG 2		

Upozornění: Prodej tohoto přípravku je, na základě Federálního zákona, možný pouze lékařem nebo na lékařský předpis.

ODBĚR VZORKŮ A ZACHÁZENÍ S NIMI

- K měření homocysteinu lze použít sérum (odebrané do sérových zkumavek nebo zkumavek na oddělení séra) a plazmu (odebraná do zkumavek s draselnou solí EDTA nebo lithium heparinem).
Nedoporučuje se však používat výsledky jednotlivých pacientů střídavě ze séra, heparinované plazmy a plazmy EDTA.²⁶ Byly hlášeny rozdíly pojiva mezi sérovými zkumavkami, zkumavkami na oddělení séra a zkumavkami s EDTA.¹⁸
Pro minimalizaci nárůstu koncentrace homocysteinu ze syntézy červenými krvinkami zpracovávají vzorky následujícím způsobem:
 - Po odběru a před zpracováním uložte všechny vzorky (sérum a plazma) na led. Sérum se může srážet pomaleji a objem se může snížit.¹⁶
 - Před separací odstředováním lze všechny vzorky uchovávat na ledu až po 6 hodin.¹⁶
 - Oddělte červené krvinky od séra či plazmy centrifugací a převedte do šálku na vzorky nebo do jiné nádoby.**Poznámka:** Vzorky, které nebudou okamžitě uloženy na led, mohou vykazovat zvýšení koncentrace homocysteinu o 10–20 %.¹⁷
- Jestliže se rozbor bude provádět v průběhu 2 týdnů po odběru, vzorky je nutné uchovávat při 2–8 °C. Jestliže se testování opozdí o více než 2 týdny, vzorky je nutné uchovávat při -20 °C nebo nižších teplotách. Bylo prokázáno, že vzorky jsou stabilní při -20 °C po 8 měsíců.^{16,18}
- Provozovatel odpovídá za ověření správného použitého typu(ů) vzorků u činidla Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay.
- Zkontrolujte, zda-li nejsou v nějakém vzorku (vzorky, kalibrační a kontrolní vzorky) přítomny bubliny. Před analýzou bubliny odstraňte.
- Vzorky obsahující částicovou hmotu (fibrin, červené krvinky nebo jinou hmotu) a viditelné lipemické vzorky by se neměly s testem používat. Vyvarujte se používání silně lipemických vzorků.
- Aby se zajistila shoda výsledků po roztátí vzorky **důkladně** promíchejte nízkorychlostním vortexem nebo opatrným převrácením vzhůru nohama. Chraňte před opakovaným zmrazením a roztáváním. Vzorky obsahující částice, erytrocyty nebo zákal je nutné před testováním odstředit.

VÝSLEDKY

Výsledky jsou uváděny v $\mu\text{mol/l}$. Vzorky $>44 \mu\text{mol/l}$ se musí naředit v poměru 1 část vzorku ku 2 částem Cal 0 $\mu\text{mol/l}$ nebo 1 část vzorku k 9 částem Cal 0 $\mu\text{mol/l}$, podle toho co je vhodnější. Zajistěte, aby výsledky byly vynásobeny správným faktorem ředění.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Zkušební rozsah: Je nutné, aby každá laboratoř stanovila referenční rozsah pro potvrzení charakteristik testované populace. Následující údaje lze použít jako referenční bod, dokud laboratoř neanalyzuje dostatečný počet vzorků pro stanovení vlastního referenčního rozsahu. Koncentrace HCY v plazmě či séru zdravých jednotlivců se mění s věkem, pohlavím, geografickou polohou a genetickými faktory. Vědecká literatura uvádí referenční hodnoty pro dospělé muže a ženy v rozmezí od 5 do 15 $\mu\text{mol/l}$, kdy muži mají vyšší hodnoty než ženy a postmenopauzální ženy mají vyšší hodnoty homocysteinu než ženy premenopauzální.^{16,19,20} Hodnoty HCY se normálně zvyšují s věkem, uvádějí referenční rozsah mezi starší populací (> 60 let) 5-20 $\mu\text{mol/l}$.²¹ V zemích s programy posílení kyseliny listové je možné pozorovat snížené hladiny HCY.^{22,23}

Měřitelný rozsah: Měřitelný rozsah testu Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay 2–44 $\mu\text{mol/l}$.

OMEZENÍ POUŽITÍ

- Určeno pro použití v diagnostice in vitro. Určeno pouze pro použití odborníky.
- Rozsah linearit chování činidla Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay na platformách AU, jestliže se s ním pracuje podle pokynů, je do 2–44 $\mu\text{mol/l}$. Vzorky $> 44 \mu\text{mol/l}$ se musí naředit v poměru 1 část vzorku ku 2 částem Cal 0 $\mu\text{mol/l}$ nebo 1 část vzorku k 9 částem Cal 0 $\mu\text{mol/l}$, podle toho co je vhodnější.
- Činidla musí být průhledná. Pokud jsou zakalená, zlikvidujte je.
- Cystathionin se měří pomocí homocysteinu, ale u běžné populace má hladina cystathioninu (0,065–0,3 $\mu\text{mol/l}$) zanedbatelný účinek. Ve velmi vzácných případech u pacientů s terminálním stádiem onemocnění ledvin a pacientů se závažnými poruchami metabolismu mohou hladiny cystathioninu dramaticky vzrůst a v některých případech způsobit rušení větší než 20 %.^{24,25}
- Karbamazepin, metotrexát, fenytoin, oxid dusný nebo 6-azauridin triacetát mohou ovlivňovat koncentraci homocysteinu.¹⁶
- Poznámka: Vzorky pacientů podstupujících léčbu léky s obsahem S-adenosyl-metioninu mohou vykazovat falešně zvýšené hladiny homocysteinu. Pacienti užívající metotrexát, karbamazepin, fenytoin, oxid dusný, antikonvulsanty nebo 6-azauridin triacetát mohou mít zvýšené hladiny homocysteinu z důvodu jejich účinku na spojení.
- Vzorky obsahující částicovou hmotu (fibrin, červené krvinky nebo jinou hmotu) a viditelné lipemické vzorky by se neměly s testem používat. Vyvarujte se používání silně lipemických vzorků.
- Omezení: Hydroxylamin přítomný v několika reagentech obsahujících železo se může přenést (přes sondu reagentů/mixéry nebo reakční kvyetou) a způsobují falešně nízké výsledky. Postupy rutinního proplachování nejsou adekvátní pro eliminaci tohoto problému ve většině případů (včetně reagentie Beckman Coulter UIBC (P/N OSR1205), která obsahuje hydroxylamin). Další informace nalezte v protokolu Jak zabránit kontaminace Axis Shield, aby se zabránilo přenosu na systémy AU. Zajistěte, že byly realizovány vhodné parametry pro zabránění kontaminace. Parametry pro zabránění kontaminace specifické pro analyzátor jsou k dispozici u zákaznické podpory Axis-Shield.
- Z reagentie **REAG 1** homocysteinu se mohou uvolňovat etanolové výpary, když je v karuselu s reagentiemi analyzátorů série BECKMAN COULTER AU. Aby nedošlo k případné kontaminaci přes atmosféru, zamezte používání etanolových reagentů společně s homocysteinem.

ÚDAJE O ÚČINNOSTI

NA ZÁKLADĚ MĚŘENÍ NA PLATFORMÁCH AU BECKMAN COULTER – AU400, AU480, AU680, AU5800 A DXC 700 AU

Správnost

Byla provedena studie korelace se vzorky plazmy od zdravých dárců. Všechny vzorky byly analyzovány použitím činidla Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent podle dokumentu CLSI (dříve NCCLS) EP9-A2²⁷. Všechny výsledky jsou popsány s využitím 95% intervalu spolehlivosti. Rozsahy vzorků a údajů:

Srovnávací metoda	Beckman Coulter AU400 vs. Catch Liquid Stable	Beckman Coulter AU480 vs AU400	Beckman Coulter AU680 vs AU400	Beckman Coulter AU5800 vs AU400	Beckman Coulter DxC 700 AU vs AU400
Počet vzorků	94	99	98	99	94
Úhel sklonu regresní křivky	0,99	0,97	0,97	0,98	0,99
Y-průsečík	0,17	-0,68	-0,22	-0,75	0,67
Koeficient korelace	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Rozsahy vzorků	6,5 – 49,0	8,5 – 45,1	8,5 – 45,1	8,5 – 45,1	5,8-45,9

Přesnost

Studie na platformách AU (AU400, AU480, AU680, AU5800 a Dx C 700 AU) byly prováděny podle dokumentu CLSI (dříve NCCLS) EP5-A2²⁸. Pro každý přístroj byly analyzovány tři kontrolní panely HCY s třemi vzorky lidské plasmy při použití dvou šarží činidel, při replikaci těchto dvou šarží, při dvou různých denních dobách po minimálně 5 dnů. Výsledky jsou shrnuty níže:

Beckman Coulter AU400

Vzorek	n	Šarže činidla	Průměr	V rámci cyklu		Mezi cykly		Celkem	
				SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Nízký kontrolní vzorek	80	1	6,28	0,17	2,6	0,11	1,7	0,28	4,4
	80	2	6,29	0,13	2,1	0,11	1,7	0,26	4,1
Střední kontrolní vzorek	80	1	12,33	0,18	1,5	0,15	1,2	0,37	3,0
	80	2	12,24	0,16	1,3	0,16	1,3	0,39	3,2
Vysoký kontrolní vzorek	80	1	25,53	0,38	1,5	0,35	1,4	0,65	2,5
	80	2	25,27	0,41	1,6	0,00	0,0	0,73	2,9
Vzorek P1	80	1	6,67	0,13	1,9	0,00	0,0	0,23	3,3
	80	2	6,97	0,15	2,2	0,00	0,0	0,31	4,4
Vzorek P2	80	1	35,96	0,46	1,3	0,40	1,1	0,89	2,5
	80	2	35,53	0,40	1,1	0,23	0,7	0,82	2,3
Vzorek P3	80	1	48,31	0,53	1,1	0,42	0,9	0,97	2,0
	80	2	47,66	0,47	1,0	0,38	0,8	1,07	2,2

Beckman Coulter AU480

Vzorek	n	Šarže činidla	Průměr	V rámci cyklu		Mezi cykly		Celkem	
				SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Nízký kontrolní vzorek	20	1	6,73	0,07	1,1	0,17	2,6	0,21	3,1
	20	2	6,51	0,17	2,5	0,11	1,7	0,22	3,4
Střední kontrolní vzorek	20	1	12,74	0,18	1,4	0,13	1,0	0,24	1,9
	20	2	12,43	0,22	1,8	0,17	1,3	0,30	2,4
Vysoký kontrolní vzorek	20	1	26,13	0,24	0,9	0,11	0,4	0,46	1,8
	20	2	25,66	0,17	0,7	0,12	0,5	0,47	1,8
Vzorek P1	20	1	10,54	0,33	3,1	0,00	0,0	0,37	3,5
	20	2	11,00	0,71	6,5	0,00	0,0	0,92	8,4
Vzorek P2	20	1	28,71	0,24	0,9	0,18	0,6	0,58	2,0
	20	2	28,20	0,18	0,6	0,12	0,4	0,60	2,1
Vzorek P3	20	1	37,63	0,32	0,9	0,18	0,5	0,97	2,6
	20	2	36,98	0,21	0,6	0,12	0,5	0,91	2,5

Beckman Coulter AU680

Vzorek	n	Šarže činidla	Průměr	V rámci cyklu		Mezi cykly		Celkem	
				SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Nízký kontrolní vzorek	20	1	6,96	0,16	2,4	0,00	0,0	0,16	2,4
	20	2	6,79	0,16	2,3	0,02	0,3	0,21	3,1
Střední kontrolní vzorek	20	1	13,03	0,12	1,0	0,15	1,2	0,20	1,5
	20	2	12,76	0,20	1,6	0,05	0,4	0,22	1,7
Vysoký kontrolní vzorek	20	1	26,38	0,23	0,9	0,28	1,0	0,41	1,6
	20	2	26,19	0,31	1,2	0,24	0,9	0,40	1,5
Vzorek P1	20	1	10,76	0,30	2,8	0,00	0,0	0,32	3,0
	20	2	10,65	0,32	3,0	0,00	0,0	0,39	3,6
Vzorek P2	20	1	28,90	0,34	1,2	0,15	0,5	0,48	1,6
	20	2	28,67	0,42	1,5	0,06	0,5	0,73	2,5
Vzorek P3	20	1	37,78	0,28	0,7	0,16	0,4	0,51	1,4
	20	2	37,90	0,28	0,7	0,11	0,3	0,67	1,8

Beckman Coulter AU5800

Vzorek	n	Šarže činidla	Průměr	V rámci cyklu		Mezi cykly		Celkem	
				SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Nízký kontrolní vzorek	20	1	6,49	0,24	3,6	0,00	0,0	0,30	4,7
	20	2	6,70	0,13	2,2	0,07	1,1	0,16	2,7
Střední kontrolní vzorek	20	1	12,52	0,23	1,8	0,00	0,0	0,23	1,8
	20	2	12,57	0,17	1,4	0,19	1,5	0,26	2,1
Vysoký kontrolní vzorek	20	1	25,87	0,26	1,0	0,32	1,2	0,41	1,6
	20	2	25,69	0,30	1,2	0,16	0,6	0,34	1,3
Vzorek P1	20	1	10,53	0,16	1,5	0,00	0,0	0,35	3,3
	20	2	10,53	0,27	2,6	0,00	0,0	0,34	3,2
Vzorek P2	20	1	28,58	0,22	0,8	0,24	0,8	0,52	1,8
	20	2	28,42	0,29	1,0	0,07	0,3	0,49	1,7
Vzorek P3	20	1	37,67	0,35	0,9	0,27	0,7	0,79	2,1
	20	2	37,55	0,29	0,8	0,26	0,7	0,55	1,5

Beckman Coulter DxC 700 AU

Vzorek	n	Šarže činidla	Průměr	V rámci cyklu		Mezi cykly		Celkem	
				SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Nízký kontrolní vzorek	80	1	5.77	0.1	1.7	0.0	0.0	0.3	5.1
	80	2	5.83	0.1	2.1	0.1	1.6	0.3	4.8
Střední kontrolní vzorek	80	1	11.72	0.1	1.1	0.0	0.0	0.4	3.0
	80	2	11.72	0.2	1.4	0.0	0.0	0.4	3.6
Vysoký kontrolní vzorek	80	1	23.34	0.2	0.9	0.0	0.0	0.6	2.4
	80	2	23.45	0.2	0.8	0.1	0.5	0.6	2.7
Vzorek P1	80	1	10.54	0.2	2.2	0.2	1.7	0.4	3.9
	80	2	10.63	0.2	2.2	0.2	2.2	0.4	4.1
Vzorek P2	80	1	29.16	0.5	1.5	0.2	0.6	0.7	2.5
	80	2	29.12	0.5	1.6	0.3	1.1	0.8	2.8
Vzorek P3	80	1	38.20	0.5	1.2	0.2	0.6	0.9	2.2
	80	2	38.16	0.6	1.5	0.0	0.0	1.0	2.6

Linearita ředění

Linearita ředění testu Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay na platformách Au Beckman dává průměrný výtěžek v % v rozsahu 100 ±10 % pro všechny vzorky v celém rozsahu testu. Vzorky >44 μmol/l vykazovaly průměrný výtěžek 100 % ±11 % všech očekávaných výsledků, pokud byly naředěny v rozsahu rozboru.

Limit detekce

Limit detekce (LOD) každého systému byl stanoven v souladu s dokumentem EP17-A CLSI (dříve NCCLS)²⁹. Hodnoty LOD (μmol/l) jsou uvedeny v následující tabulce:

Beckman Coulter AU400	Beckman Coulter AU480	Beckman Coulter AU680	Beckman Coulter AU5800	Beckman Coulter DxC 700 AU
0,33	0,39	0,54	0,59	1,04

Analytická specifita

Analytická specifita testu na přístroji Beckman Coulter AU400 hodnocená podle pokynů v dokumentu CLSI EP7-A2³⁰ pro interferující látky uvedené v následující tabulce:

Interferující látka	Koncentrace interferující látky	% interference
Bilirubin	20 mg/dl	≤ +10
Hemoglobin	500 mg/dl	≤ +10
Červené krvinky	0,4 %	≤ +10
Triglycerid	500 mg/dl	≤ +10
Glutathion	1000 μmol/l	≤ +10
Methionin	800 μmol/l	≤ +10
L-cystein	200 μmol/l	≤ +10
Pyruvát	1250 μmol/l	≤ +10

Žádná z těchto látek při rozboru signifikantně neinterferovala.

Vzorky se zvýšenými hladinami proteinů vykazují >10 % rozdíl ve srovnání s výsledky získanými z normálních vzorků a měly by být odmítnuty. Možná rušení způsobená léčivými, onemocněními nebo preanalytickými proměnnými viz odkaz 16 v části Odkazy na literaturu v tomto příbalovém letáku.

Přenos na vzorek

Studie přenosu na vzorek na platformách AU prokázaly, že přenos je menší než limit detekce testu.

Stabilita činidel na přístroji

Činidla na platformách AU jsou stabilní po dobu 30 dnů.

Stabilita kalibrace

Kalibrační křivka je stabilní po dobu 30 dnů, jak to bylo ověřeno na přístroji Beckman Coulter AU400, a po dobu 14 dnů, jak to bylo ověřeno na přístroji Beckman Coulter AU5800 a DxC 700 AU.

Typy vzorků

Zkumavky na odběr vzorků verifikovaných k použití jsou EDTA a zkumavky na plazmu lithium heparin, zkumavky na sérum a zkumavky na oddělení séra. Jiné zkumavky na odběr vzorku nebyly testovány.

K měření homocysteinu lze použít sérum (odebrané do sérových zkumavek nebo zkumavek na oddělení séra) a plazmu (odebraná do zkumavek s draselnou solí EDTA nebo lithium heparinem). Provozovatel odpovídá za ověření správného použitého typu zkumavky. Nedoporučuje se však používat výsledky jednotlivých pacientů střídavě ze séra, heparinizované plazmy a plazmy EDTA.²⁶ Byly hlášeny rozdíly pojiva mezi sérovými zkumavkami, zkumavkami na oddělení séra a zkumavkami s plazmou.¹⁸

PROTOKOL S TESTU NA PLATFORMĚ AU – AU400, AU480, AU680, AU5800 a Dx C 700 AU

Zajistěte, aby parametry kvantitativního rozboru přesně odpovídaly níže uvedeným parametrům.

AU400 – PARAMETRY POSTUPU

Test č. [*]	Název [HCY]	Typ [Ser.]	
Množství vzorku:	[16,5] µl	Množství ředidla:	[0,0] µl
Faktor předběžného ředění:	[1]		
Množství činidla 1:	[250] µl	Množství ředidla:	[0,0] µl
Množství činidla 2:	[25] µl	Množství ředidla:	[0,0] µl
Délka vlny pri:	[340] nm		
Délka vlny sek:	[380] nm		
Metoda reakce:	Rate1		
Sklon křivky reakce	[-]		
Bod 1	Prv [15] Posl [27]		
Bod 2	Prv [] Posl []		
Linearita	[100]%		
No-Lag-Time	[Ne]		
Min. OD		Max. OD	
D [-2,0]		V [2,5]	
Limit OD činidla	Prv D [] Posl D []	Prv V [...] Posl V []	
Dynamický rozsah:	D [2,0]	V [44,0]	
Faktor korelace:	A [1,0]	B [0,0]	
Doba stability na přístroji:		[30]	
Specifická kalibrace:			
	Bod	OD	Konc
	1 [*]	[]	[0,0]
	2 [*]	[]	[**]
	Typ kalibrace:		[AA]
	Vzorec:	[Y=AX+B]	

*Definováno uživatelem **Zadat hodnoty na lahvičkách s kalibrátory

AU480/AU680 – PARAMETRY POSTUPU

Test č. [*]	Název [HCY]	Typ [Ser.]	
Množství vzorku:	[10] µl	Množství ředidla:	[0,0] µl
Faktor předběžného ředění:	[1]		
Množství činidla 1:	[155] µl	Množství ředidla:	[0,0] µl
Množství činidla 2:	[16] µl	Množství ředidla:	[0,0] µl
Délka vlny pri:	[340] nm		
Délka vlny sek:	[380] nm		
Metoda reakce:	Rate1		
Sklon křivky reakce	[-]		
Bod 1	Prv [15] Posl [27]		
Bod 2	Prv [] Posl []		
Linearita	[25]%		
No-Lag-Time	[Ano]		
Min. OD		Max. OD	
D [...]		V [...]	
Limit OD činidla	Prv D [-2,0] Posl D [-2,0]	Prv V [2,5] Posl V [2,5]	
Dynamický rozsah:	D [2,0]	V [44,0]	
Faktor korelace:	A [1,0]	B [0,0]	
Doba stability na přístroji:		[30]	
Kontrola vlivu LIH		[Ne]	
Specifická kalibrace:			
	Bod	OD	Konc
	1 [*]	[]	[0,0]
	2 [*]	[]	[**]
	Typ kalibrace:		[AA]
	Vzorec:	[Y=AX+B]	
Stabilita	Činidlo blank [30] dnů	Kalibrace [14] dnů	

*Definováno uživatelem **Zadat hodnoty na lahvičkách s kalibrátory

AU5800 – PARAMETRY POSTUPU

Test č. [*]	Název [HCY]	Typ [Ser.]	
Množství vzorku:	[7,5] µl	Množství ředidla:	[0,0] µl
Faktor předběžného ředění:	[1]		
Množství činidla 1:	[115] µl	Množství ředidla:	[0,0] µl
Množství činidla 2:	[12] µl	Množství ředidla:	[0,0] µl
Délka vlny při:	[340] nm		
Délka vlny sek:	[380] nm		
Metoda reakce:	Rate1		
Sklon křivky reakce	[]		
Bod 1	Prv [15] Posl [27]		
Bod 2	Prv [] Posl []		
Linearita	[25]%		
No-Lag-Time	[Ano]		
Min. OD		Max. OD	
D [...]		V [...]	
Limit OD činidla	Prv D [-2,0] Posl D [-2,0]	Prv V [2,5] Posl V [2,5]	
Dynamický rozsah:	D [2,0]	V [44,0]	
Faktor korelace:	A [1,0]	B [0,0]	
Doba stability na přístroji:		[30]	
Kontrola vlivu LIH		[Ne]	
Specifická kalibrace:			
	Bod	OD	Konc
	1 [*]	[]	[0,0]
	2 [*]	[]	[**]
	Typ kalibrace:	[AA]	
	Vzorec:	[Y=AX+B]	
Stabilita	Činidlo blank [30] dnů	Kalibrace [14] dnů	

*Definováno uživatelem **Zadat hodnoty na lahvičkách s kalibrátory













DxC 700 AU – PARAMETRY TESTOVACÍHO POSTUPU

Název testu	Název [HCY1G]	ID reagentie [225]	
Objem vzorku:	[10] µl	Ředidlo	[0,0] µl
Faktor předběžného ředění:	[1]		
Objem reagentie 1 (R1):	[155] µl	Ředidlo	[0,0] µl
Objem reagentie 2 (R2):	[16] µl	Ředidlo	[0,0] µl
Primární vlnová délka:	[340] nm		
Sekundární vlnová délka:	[380] nm		
Metoda reakce:	RATE1		
Sklon reakční křivky	[]		
Měřicí bod-1	První [15]	Poslední [27]	
Měřicí bod-2	První []	Poslední []	
Linearita	[25]%		
Kontrola doby zpoždění	[Ano]		
Min. OD	[-2,0]	Max. OD	[3,0]
Limit OD reagentie	První C [-2,0] Poslední L [-2,0]	C [2,5] C [2,5]	
Analytický měřicí rozsah	C* [2,0]	C* [44,0]	
Faktor korelace:	A [1]	B [0]	
Doba stability v přístroji:		[30]	
Kontrola vlivu LIH		[Ne]	
Hodnota/příznak	[Hodnota]		
Nizká koncentrace	[-9999999]	Vysoká koncentrace	[9999999]
Kritické meze	Dolní [-9999999]	Horní [9999999]	Jednotka [µmol/l]
Desetinná místa	[1]		
Název testu:	HCY1G	HCY1G	[Sérum]
Typ kalibrace	[AA]	Vzorec	[Y=AX+B]
Počet	[2]		
Bod-1	[Cal0]	Konc [0]	Nizká [9999999] Vysoká [9999999]
Bod-1	[Cal28]	Konc [28]	Nizká [9999999] Vysoká [9999999]
Kontrola sklonu	[Žádná]	Operace pokročilé kalibrace	[Ne]
Stabilita – činidlo blank	[30] Den	[0] Hodina	

* Hodnoty nastavené pro práci v µmol

ODKAZY NA LITERATURU

1. McCully KS. Vascular Pathology of Homocysteinemia: Implications for the Pathogenesis of Arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969;56:111-122
2. Malinow MR. Plasma Homocyst(e)ine and Arterial Occlusive Diseases: A Mini-Review. *Clin Chem* 1995;41:173-176
3. Ueland PM. Homocysteine Species as Components of Plasma Redox Thiol Status. *Clin Chem* 1995;41:340-342
4. Perry IJ, Refsum H, Morris RW, et al. Prospective Study of Serum Total Homocysteine Concentration and Risk of Stroke in Middle-aged British Men. *The Lancet* 1995;346:1395-1398
5. Finkelstein JD. Methionine Metabolism in Mammals. *J Nutr Biochem* 1990;1:228-237
6. Mudd SH, Levy HL, Skovby F. Disorders of Transsulfuration. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, et al., eds *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. New York: McGraw-Hill, 1995;1279-1327
7. Clarke R, Daly L, Robinson K, et al. Hyperhomocysteinemia: An Independent Risk Factor for Vascular Disease. *N Engl J Med* 1991;324:1149-1155
8. Deloughery TG, Evans A, Sadeghi A, et al. Common Mutation in Methylenetetrahydrofolate Reductase. *Circulation* 1996;94:3074-3078
9. Schmitz C, Lindpaintner K, Verhoef P, et al. Genetic Polymorphism of Methylenetetrahydrofolate Reductase and Myocardial Infarction. *Circulation* 1996;94:1812-1814
10. Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, et al. A Quantitative Assessment of Plasma Homocysteine as a Risk Factor for Vascular Disease. *JAMA* 1995;274:1049-1057
11. Cattaneo M. Hyperhomocysteinemia, Artherosclerosis and Thrombosis. *Thromb Haemost* 1999;81:165-176
12. Ridker PM, Manson JE, Buring JE, et al. Homocysteine and Risk of Cardiovascular Disease Among Postmenopausal Women. *JAMA* 1999;281:1817-1821
13. Bostom AG, Silbershatz H, Rosenberg IH, et al. Nonfasting Plasma Total Homocysteine Levels and All-Cause and Cardiovascular Disease Mortality in Elderly Framingham Men and Women. *Arch Intern Med* 1999;159:1077-1080
14. Guttormsen AB, Svarstad E, Ueland PM, et al. Elimination of Homocysteine from Plasma in Subjects with Endstage Renal Failure. *Irish J Med Sci* 1995;164 (Suppl. 15):8-9
15. Bostom AG, Lathrop L. Hyperhomocysteinemia in End-stage Renal Disease: Prevalence, Etiology, and Potential Relationship to Arteriosclerotic Outcomes. *Kidney Int* 1997;52:10-20
16. Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, et al. Total Homocysteine in Plasma or Serum: Methods and Clinical Applications. *Clin Chem* 1993;39:1764-1779
17. Ueland PM, Refsum H. Plasma Homocysteine, A Risk Factor for Vascular Disease: Plasma Levels in Health, Disease, and Drug Therapy. *J Lab Clin Med* 1989;114:473-501
18. Fiskerstrand T, Refsum H, Kvalheim G, et al. Homocysteine and Other Thiols in Plasma and Urine: Automated Determination and Sample Stability. *Clin Chem* 1993;39:263-271
19. Nehler MR, Taylor LM Jr, Porter JM. Homocysteinemia as a Risk Factor for Atherosclerosis: A Review. *Cardiovascular Pathol* 1997;6:1-9
20. Lussier-Cacan S, Xhignesse M, Piolot A, et al. Plasma Total Homocysteine in Healthy Subjects: Sex-Specific Relation with Biological Traits. *Am J Clin Nutr* 1996;64:587-593
21. Clarke R, Woodhouse P, Ulvik A, et al. Variability and Determinants of Total Homocysteine Concentrations in Plasma in an Elderly Population. *Clin Chem* 1998;44:102-107
22. Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, et al. The Effect of Folic Acid Fortification on Plasma Folate and Total Homocysteine Concentrations. *N Engl J Med* 1999;340:1449-1454
23. Lawrence JM, Pettitt DB, Watkins M and Umekubo MA. Trends in Serum Folate after Food Fortification. *The Lancet* 1999;354:915-916
24. Herrmann W, Schorr H, Obeid R, et al. Disturbed Homocysteine and Methionine Cycle Intermediates S-adenosylhomocysteine and S-adenosylmethionine are Related to Degree of Renal Insufficiency in Type 2 Diabetes. *Clin Chem* 2005;51:1-7
25. Obeid R, Kuhlmann MK, Kohler H, et al. Response of Homocysteine, Cystathionine, and Methylmalonic Acid to Vitamin Treatment in Dialysis Patients. *Clin Chem* 2005;51:196-201
26. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, et al. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem* 2004;50(1):3-32
27. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Method Comparison and Bias Estimation using Patient Samples; Approved Guideline-Second Edition*. NCCLS document EP9-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2002
28. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline—Second Edition*. NCCLS Document EP5-A2, Wayne, PA: NCCLS, 2004
29. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Protocols for the Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline*. NCCLS Document EP17-A. Wayne, PA: NCCLS, 2004.
30. Clinical Laboratory Standards Institute. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Second Edition*. CLSI Document EP7-A2. Wayne, PA: CLSI, 2005.

	<i>In vitro</i> diagnostický zdravotnický prostředek		Uchovávejte při 2–8 °C
	Výrobní číslo		Výrobce
	Číslo šarže		Chraňte před světlem
	100 testů		Činidlo 1, 2
	Viz návod k použití		Kalibrátor 0 µmol/L , kalibrátor 28 µmol/L
	Použitelné do		Axis-Shield Diagnostics Ltd., The Technology Park, Dundee, DD2 1XA, UK Tel: +44 (0) 1382 422000 Fax: +44 (0) 1382 422088
Rx Only	K použití pouze na lékařský předpis		

Beckman Coulter a AU jsou obchodní značky společnosti Beckman Coulter, Inc. a jsou registrovány v USPTO. Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků.