

Axis-Shield Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Assay

REF B08176

(Dystrybucja przez BECKMAN COULTER, tylko do profesjonalnego zastosowania, na platformach AU BECKMAN COULTER (AU400, AU480, AU680, AU5800 i 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



POLSKI:

PRZEZNACZENIE

Test Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent jest przeznaczony do oznaczania ilościowego *in vitro* stężenia homocysteiny całkowitej w ludzkiej surowicy i osoczu. Przyrząd może stanowić pomoc w rozpoznaniu i leczeniu pacjentów z podejrzeniem hiperhomocysteinemii i homocystynurii.

OSTRZEŻENIE: Próbkę pobrane od pacjentów przyjmujących leki angażujące S-adenozylometioninę mogą wykazywać fałszywie podwyższone poziomy homocysteiny. Pacjenci przyjmujący metotreksat, karbamazepinę, fenytoinę, podtlenek azotu, leki przeciwdrgawkowe lub trójocjan 6-azaurydyny mogą mieć podwyższone poziomy homocysteiny z powodu ich wpływu na szlak. Patrz punkt OGRANICZENIA ZASTOSOWANIA w niniejszej ulotce informacyjnej testu.

PODSUMOWANIE I OBJAŚNIENIE TESTU

Homocysteina (HCY) jest aminokwasem zawierającym grupę tiolową, powstającym na drodze wewnątrzkomórkowej demetylacji metioniny. Homocysteina jest eksportowana do osocza, gdzie krąży, przeważnie w postaci utlenionej, związana z białkami osocza jako mieszany disulfid białko-HCY z albuminą (białko-SS-HCY).¹⁻⁵ Obecne są mniejsze ilości zredukowanej homocysteiny i disulfidu homocystyny (HCY-SS-HCY). Homocysteina całkowita (tHCY) stanowi sumę wszystkich rodzajów HCY obecnych w surowicy lub osoczu (w postaci wolnej i związanej z białkami). Homocysteina jest metabolizowana do cysteiny lub metioniny. Na drodze transsulfuracji z udziałem witaminy B6 homocysteina jest nieodwracalnie katabolizowana do cysteiny. Większa część homocysteiny ulega remetylacji do metioniny, głównie przez folian i zależny od kobalaminy enzym syntazę metioninową. Homocysteina gromadzi się i jest wydzielana do krwi w przypadku zakłócenia takich reakcji.^{3,5} Poważnie podwyższone stężenia homocysteiny całkowitej są oznaczane u osób z homocystynurią, rzadkim zaburzeniem genetycznym enzymów zaangażowanych w metabolizm homocysteiny. U pacjentów z homocystynurią występuje niedorozwój umysłowy, wczesna arterioskleroza oraz tętnicza i żylna choroba zakrzepowo-zatorowa.^{2,6} Stwierdzone są również inne mniej poważne wady genetyczne, które prowadzą do umiarkowanie podwyższonych poziomów homocysteiny całkowitej.⁷⁻⁹

Badania epidemiologiczne zajmowały się związkiem między podwyższonymi poziomami homocysteiny a chorobą układu sercowo-naczyniowego (CVD). Meta-analiza 27 takich badań z udziałem powyżej 4000 pacjentów wykazała, że zwiększenie o 5 µmol/L homocysteiny całkowitej było związane z ilorazem szans dla choroby wieńcowej (CAD) wynoszącym 1,6 (95% przedział ufności [CI], 1,4 do 1,7) dla mężczyzn i 1,8 (95% CI 1,3 do 1,9) dla kobiet; iloraz szans dla choroby naczyniowej mózgu wynosił 1,5 (95% CI 1,3 do 1,9). Ryzyko związane ze zwiększeniem o 5 µmol/L homocysteiny całkowitej było takie samo jak w przypadku zwiększenia o 0,5 mmol/L (20 mg/dL) cholesterolu. Również w przypadku choroby tętnic obwodowych wykazano silny związek.¹⁰

Hiperhomocysteinemia, podwyższone poziomy homocysteiny, może być powiązana ze zwiększonym ryzykiem CVD. Istnieje wiele opublikowanych raportów z badań prospektywnych dotyczących związku między hiperhomocysteinemią a ryzykiem CVD u mężczyzn i kobiet, którzy byli początkowo zdrowi. Punkty końcowe były oparte na zdarzeniu sercowo-naczyniowym, takim jak ostry zawał mięśnia sercowego, udar, CAD lub umieralność. Wyniki jedenastu z tych zagnieżdżonych badań kliniczno-kontrolnych omówione przez Cattaneo¹¹ były niejednoznaczne, przy czym pięć z tych badań potwierdza związek z ryzykiem, a sześć nie. Bardziej aktualnie stężenia homocysteiny oznaczano w badaniu prospektywnym kobiet po menopauzie uczestniczących w badaniu Women's Health Study. Próbkę od 122 kobiet, u których później wystąpiły zdarzenia sercowo-naczyniowe, były badane w kierunku homocysteiny i porównane z grupą kontrolną 244 kobiet, dopasowanych pod względem wieku i palenia tytoniu. Kobiety w grupie kontrolnej pozostały wolne od choroby w czasie trzyletniego okresu obserwacji. Wyniki wykazały, że kobiety po menopauzie, u których wystąpiły zdarzenia sercowo-naczyniowe, miały istotnie podwyższone wartości wyjściowe homocysteiny. Kobiety z poziomami w najwyższym kwartylu miały dwukrotnie zwiększone ryzyko wystąpienia zdarzenia sercowo-naczyniowego. Wykazano, że podwyższone wyjściowe poziomy homocysteiny są niezależnym czynnikiem ryzyka.¹² Poziomy homocysteiny oznaczono również w 1933 mężczyzn i kobiet w podeszłym wieku w kohorcie badania Framingham Heart Study i wykazano, że podwyższone poziomy homocysteiny są niezależnie powiązane ze zwiększoną umieralnością ze wszystkich przyczyn i wskutek CVD.¹³

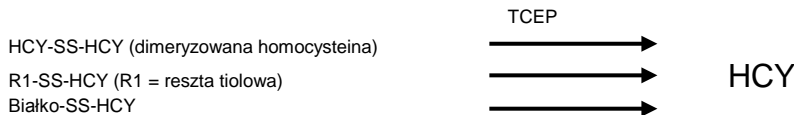
U pacjentów z przewlekłą chorobą nerek występuje większa chorobowość i umieralność wskutek CVD na tle miażdżycy. Podwyższone stężenie homocysteiny jest często obserwowane w krwi tych pacjentów. Chociaż u tych pacjentów występuje brak niektórych witamin zaangażowanych w metabolizm homocysteiny, podwyższone poziomy HCY są głównie spowodowane zaburzeniami usuwania HCY z krwi przez nerki.^{14,15}

Takie leki jak metotreksat, karbamazepina, fenytoina, podtlenek azotu i trójocjan 6-azaurydyny zakłócają metabolizm HCY i mogą powodować zwiększenie poziomów HCY.¹⁶

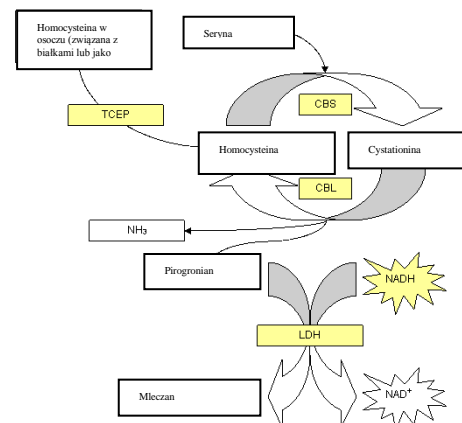
ZASADA TESTU

Związana lub dimeryzowana homocysteina (w postaci utlenionej) jest redukowana do wolnej homocysteiny, która następnie reaguje z seryną katalizowaną przez beta-syntazę cystationinową (CBS), tworząc cystationinę. Z kolei cystationina jest rozkładana przez liazę beta-cystationinową (CBL), tworząc homocysteinę, pirogronian i amoniak. Pirogronian jest następnie przekształcany przez dehydrogenazę mleczanową (LDH) w mleczan z dinukleotydem nikotynoamidoadeninowym (NADH) jako koenzymem. Współczynnik konwersji NADH w NAD⁺ jest bezpośrednio proporcjonalny do stężenia homocysteiny (D A340 nm).

Redukcja: Dimeryzowana homocysteina, mieszany dwusiarczek i postaci HCY związane z białkami w próbce są redukowane do wolnej HCY poprzez zastosowanie tris [2-karboksyetylo] fosfiny (TCEP).



Konwersja enzymatyczna: Wolna HCY jest przekształcana w cystationinę poprzez zastosowanie beta-syntazy cy i nadmiernej seryny. Cystationina jest następnie rozkładana w homocysteinę, pirogronian i amoniak. Pirogronian jest przekształcany w mleczan przez dehydrogenazę mleczanową z NADH jako koenzymem. Współczynnik konwersji NADH w NAD⁺ (Δ A340 nm) jest bezpośrednio proporcjonalny do stężenia homocysteiny.



DODATKOWE INFORMACJE



Ponieważ firma Beckman Coulter nie wytwarza odczynnika ani nie przeprowadza kontroli jakości ani innych testów poszczególnych serii, firma Beckman Coulter nie może być odpowiedzialna za jakość uzyskanych danych będącą wynikiem wydajności odczynnika, zmienności między seriami odczynników lub zmianami protokołu dokonanymi przez wytwórcę.

POMOC TECHNICZNA

- W celu uzyskania pomocy technicznej należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Beckman Coulter.
- Szkody wynikające z transportu – należy powiadomić dział wsparcia klinicznego Beckman Coulter Clinical Support Center, jeśli otrzymano uszkodzony produkt.
- Instrukcje użycia (wraz z tłumaczeniami i parametrami unikania skażenia krzyżowego) można znaleźć na stronie www.homocysteine.org.uk/BCI

INFORMACJE DOTYCZĄCE ZAMÓWIEŃ I SKŁADNIKI ZESTAWU

Następującymi kodami można posługiwać się w celu ponownego zamówienia materiałów od lokalnego przedstawiciela firmy Beckman Coulter:

Kod produktu	Opis	Skład	Niebezpieczeństwo
B08176	REAG 1 – 1 x 30 mL Bezbarwny, bezzapachowy płyn	NADH (0,47 mM), LDH (38 KU/L), Seryna (0,76 mM), zasada Trizma 1-10%, Chlorowodorek Trizma 1-10%, Azydek sodu < 1%. Reduktor (TCEP:2,9 mM) Gotowe do użycia	
	REAG 2 – 1 x 5 mL Bładożółty, bezzapachowy płyn	Enzymy cykliczne CBS (0,748 KU/L) i CBL (16,4 KU/L) Azydek sodu < 1%. Gotowe do użycia	
	CAL 0 µM – 1 x 3,0 mL, (niebieskie wieczko), bezbarwny, bezzapachowy płyn	Wodna homocysteina – materiał wyjściowy (0 µmol/L). Gotowe do użycia	
	CAL 28 µM – 1 x 3,0 mL, (czerwone wieczko), bezbarwny, bezzapachowy płyn	Wodny roztwór homocysteiny (28 µmol/L). Gotowe do użycia	

Kalibratory są przygotowane grawimetrycznie i dają się odtworzyć do NIST SRM 1955, co jest potwierdzone desygnowaną metodą pomiarową (HPLC). Przydzielone wartości są wydrukowane na etykietach (0 µmol/L i 28 µmol/L).

Zestaw kontrolny homocysteiny Homocysteine Control Kit (**Kod produktu – B08177**), zawierający kontrole o niskim, średnim i wysokim stężeniu, jest również dostępny w firmie Beckman Coulter do zastosowania z testem Liquid Stable (LS) 2-part Homocysteine Reagent.

PRZECHOWYWANIE I TRANSPORT ODCZYNNIKÓW



1. Składniki zestawu przechowywać w temperaturze 2-8°C i stosować do terminu ważności podanego na etykietach. Nie używać odczynników po upływie terminu ważności.
2. Należy powiadomić dział wsparcia technicznego Beckman Coulter Technical Support Center, jeśli otrzymano uszkodzony produkt.
3. Odczynniki można stosować wielokrotnie do terminu ważności podanego na etykietach. Odczynniki **muszą** być przechowywane w temperaturze 2-8°C między zastosowaniami.
4. Nie mieszać różnych numerów serii zestawów odczynników.
5. **NIE ZAMRAŻAĆ ODCZYNNIKÓW.**
6. Nie wystawiać odczynników na działanie światła.
7. Unikać zanieczyszczenia odczynników. Do każdego odczynnika lub próbki stosować nową jednorazową końcówkę pipety.
8. Przechowywanie w instrumencie. Odczynniki można przechowywać przez 30 dni w instrumencie na wszystkich platformach AU (AU400, AU480, AU680, AU5800 i **Dx C700 AU**).
9. Odczynniki nie powinny zawierać cząstek stałych. Należy je wyrzucić, jeśli staną się mętne.

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Tylko do badań diagnostycznych in vitro

1. Bezwzględnie przestrzegać instrukcji w niniejszej ulotce, zwłaszcza odnośnie warunków użytkowania i przechowywania.
2. Odczynnik 1 i Odczynnik 2 zawierają azydek sodu, który może wchodzić w reakcje z rurkami ołowianymi lub miedzianymi, tworząc wysokowybuchowe azydki metali. Podczas usuwania przepłukać dużymi ilościami wody w celu zapobiegnięcia gromadzeniu się azydku.
3. Karty charakterystyki substancji niebezpiecznych dla wszystkich niebezpiecznych składników zawartych w niniejszym zestawie są dostępne na żądanie u wytwórcy produktu, firmy Axis-Shield Diagnostics Ltd.

REAG 1	EUH032 -	W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy.
REAG 2		

Uwaga: Prawo federalne ogranicza sprzedaż tego urządzenia przez lub na zlecenie lekarza.

POBIERANIE PRÓBEK I POSTĘPOWANIE

- Do pomiaru stężenia homocysteiny można stosować surowicę (pobraną do próbek do surowicy lub próbek z separatorem surowicy) i osocze (pobrane do próbek z solą potasową EDTA lub z heparyną litową). Nie jest jednak zalecane wykorzystywanie wyników indywidualnego pacjenta otrzymanych na przemian z surowicy, heparynizowanego osocza i osocza z EDTA.²⁶ Dodatkowo zgłaszano różnice matryc między próbkami do surowicy i próbkami z separatorem surowicy i próbkami do osocza.¹⁸ W celu zminimalizowania zwiększania stężenia homocysteiny wskutek syntezy przez krwinki czerwone należy postępować w następujący sposób z próbkami:
 - Wszystkie próbki (surowica i osocze) umieścić na lodzie po pobraniu, a przed przetworzeniem. Surowica może wolniej tworzyć skrzepy i objętość może być zredukowana.¹⁶
 - Wszystkie próbki można trzymać na lodzie przez okres do 6 godzin przed oddzieleniem przez odwirowanie.¹⁶
 - Oddzielić krwinki czerwone od surowicy lub osocza poprzez odwirowanie i przenieść do pojemnika na próbkę lub innego czystego pojemnika.**Uwaga:** Probki, które nie były niezwłocznie umieszczone na lodzie, mogą wykazywać zwiększenie stężenia homocysteiny o 10-20%.¹⁷
- Jeśli test będzie wykonany w ciągu 2 tygodni od pobrania, próbkę należy przechowywać w temperaturze 2-8°C. Jeśli test będzie wykonany później niż w ciągu 2 tygodni, próbkę należy przechowywać zamrożoną w temperaturze -20 C lub niższej. Wykazano stabilność próbek w temperaturze -20 C przez 8 miesięcy.^{16,18}
- Operator jest odpowiedzialny za weryfikację prawidłowego (-ych) rodzaju (-ów) próbki (-ek), która (-e) jest (są) używana (-e) do testu Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay.
- Sprawdź wszystkie próbki (próbki, kalibratory i kontrole) pod kątem obecności pęcherzyków. Przed analizą usunąć pęcherzyki.
- Próbki zawierających cząstki stałe (fibrynę, krwinki czerwone lub inne substancje) i próbek widocznie lipemicznych nie należy stosować do tego testu. Wyniki z takich próbek mogą być niedokładne.
- Próbki wycisnąć do rozmożeniu poprzez wirowanie z małą prędkością lub delikatne odwracanie w celu zapewnienia spójności wyników. Unikać wielokrotnego zamrażania i rozmrażania. Probki z cząstkami stałymi, erytrocytami lub mętne należy odwirować przed wykonaniem testu.

WYNIKI

Wyniki są przedstawione w $\mu\text{mol/L}$. Probki $> 44 \mu\text{mol/L}$ należy odpowiednio rozcieńczyć w stosunku 1 część próbki do 2 części kalibratora $0 \mu\text{mol/L}$ lub 1 część próbki do 9 części kalibratora $0 \mu\text{mol/L}$. Upewnij się, że wyniki są pomnożone przez właściwy współczynnik rozcieńczenia.

OCZEKIWANE WARTOŚCI

Zakres referencyjny: Zakres referencyjny powinien być ustalony przez każde laboratorium w celu potwierdzenia charakterystyki badanej populacji. Jako punkt odniesienia można wykorzystywać poniższe dane aż do przeanalizowania przez laboratorium wystarczającej liczby próbek do ustalenia własnego zakresu referencyjnego. Stężenie HCY w osoczu lub surowicy zdrowych osób jest różne w zależności od wieku, płci, obszaru geograficznego i czynników genetycznych. Według piśmiennictwa naukowego wartości referencyjne dla dorosłych mężczyzn i kobiet wynoszą od 5 do 15 $\mu\text{mol/L}$, u mężczyzn wartości są wyższe niż u kobiet, a u kobiet po menopauzie wartości homocysteiny są wyższe niż u kobiet przed menopauzą.^{16,19,20} Wartości HCY normalnie zwiększają się wraz z wiekiem, dlatego zakres referencyjny w populacji osób w podeszłym wieku (> 60 lat) wynosi 5-20 $\mu\text{mol/L}$.²¹ W krajach prowadzących programy wzbogacania w kwas foliowy mogą być obserwowane zmniejszone poziomy HCY.^{22,23}

Zakres pomiarowy: Zakres pomiarowy testu Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay wynosi 2-44 $\mu\text{mol/L}$.

OGRANICZENIA ZASTOSOWANIA

- Badania diagnostyczne in vitro. Tylko do profesjonalnego zastosowania.
- Zakres liniowy testu Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay w przypadku użycia zgodnie z instrukcją wynosi 2-44 $\mu\text{mol/L}$ dla platform AU. Probki $> 44 \mu\text{mol/L}$ należy odpowiednio rozcieńczyć w stosunku 1 część próbki do 2 części kalibratora $0 \mu\text{mol/L}$ lub 1 część próbki do 9 części kalibratora $0 \mu\text{mol/L}$.
- Odczynniki powinny być klarowne. Wyrzucić, jeśli są mętne.
- Cystationina jest mierzona z homocysteiną, ale w populacji ogólnej poziom cystationiny (0,065 do 0,3 $\mu\text{mol/L}$) ma nieistotny wpływ. W bardzo rzadkich przypadkach, u pacjentów z końcowym stadium niewydolności nerek i u pacjentów z ciężkimi zaburzeniami metabolicznymi, poziomy cystationiny mogą gwałtownie wzrastać i w ciężkich przypadkach powodować zakłócenia większe niż 20%.^{24,25}
- Karbamazepina, metotreksat, fenytoina, podtlenek azotu lub trójocian 6-azaurydyny mogą wpływać na stężenie homocysteiny.¹⁶
- Uwaga: Probki pobrane od pacjentów przyjmujących leki angażujące S-adenozylometioninę mogą pokazywać fałszywie podwyższone poziomy homocysteiny. Pacjenci przyjmujący metotreksat, karbamazepinę, fenytoinę, podtlenek azotu, leki przeciwdrgawkowe lub trójocian 6-azaurydyny mogą mieć podwyższone poziomy homocysteiny z powodu ich wpływu na szlak.
- Próbki zawierających cząstki stałe (fibrynę, krwinki czerwone lub inne substancje) i próbek widocznie lipemicznych nie należy stosować do tego testu. Wyniki z takich próbek mogą być niedokładne.
- Ograniczenia: Hydroksyloamina, obecna w różnych odczynnikach żelaza, może powodować efekt przeniesienia (poprzez próbnik/mieszalnik odczynników lub kuwetę reakcyjną) i tym samym fałszywie niskie rezultaty. Rutynowe procedury płukania nie są w większości przypadków odpowiednie do usunięcia tego problemu (w tym odczynnik Beckman Coulters UIBC (P/N OSR1205), zawierający hydroksyloaminę). Informacje o zapobieganiu efektu przeniesienia na systemach AU, patrz protokół unikania kontaminacji Axis Shield. Należy zapewnić stosowanie odpowiednich parametrów unikania kontaminacji. Parametry unikania kontaminacji dla poszczególnych analizatorów są dostępne w dziale obsługi klienta Axis Shield.
- Oparę etanolu mogą uwalniać się z odczynnika Homocysteine REAG 1 podczas przebywania na karuzeli odczynników analizatorów serii BECKMAN COULTER AU. Należy unikać stosowania odczynników zawierających etanol razem z homocysteiną w celu uniknięcia potencjalnego zanieczyszczenia poprzez środki atmosferyczne.

DANE CHARAKTERYSTYCZNE

NA PODSTAWIE POMIARÓW WYKONANYCH NA PLATFORMACH AU BECKMAN COULTER – AU400, AU480, AU680, AU5800 I DXC 700 AU

Dokładność

Przeprowadzono badanie korelacji z udziałem próbek osocza najwidoczniej zdrowych osób dorosłych. Wszystkie próbki analizowano za pomocą testu Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent zgodnie z dokumentem CLSI (oficjalnie NCCLS) EP9-A2.²⁷ Wszystkie wyniki są opisane przy użyciu 95% przedziału ufności. Otrzymano następujące zakresy i dane próbek:

Metoda porównawcza	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
Liczba próbek	94	99	98	99	94
Współczynnik kierunkowy linii regresji	0,99	0,97	0,97	0,98	0,99
Wyraz wolny	0,17	-0,68	-0,22	-0,75	0,67
Współczynnik korelacji	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Zakres próbek	6,5 – 49,0	8,5 – 45,1	8,5 – 45,1	8,5 – 45,1	5,8-45,9

Precyzja

Badania na platformach AU (AU400, AU480, AU680, AU5800 i DxC 700 AU) były wykonane według dokumentu CLSI (oficjalnie NCCLS) EP5-A2.²⁸ Dla każdego instrumentu wykonywano test trzech kontroli HCY i trzech próbek osocza ludzkiego przy użyciu dwóch serii odczynników, w powtórzeniach po 2, w dwóch różnych porach dnia przez co najmniej 5 dni. Wyniki są podsumowane poniżej:

Beckman Coulter AU400

Próbka	n	Seria odczynnika	Średnia	Wewnątrz przebiegu		Między przebiegami		Łącznie	
				SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Kontrola o niskim stężeniu	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
Kontrola o średnim stężeniu	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
Kontrola o wysokim stężeniu	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
Próbka 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
Próbka 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
Próbka 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

Próbka	n	Seria odczynnika	Średnia	Wewnątrz przebiegu		Między przebiegami		Łącznie	
				SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Kontrola o niskim stężeniu	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
Kontrola o średnim stężeniu	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
Kontrola o wysokim stężeniu	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
Próbka 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
Próbka 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
Próbka 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

Próbka	n	Seria odczynnika	Średnia	Wewnątrz przebiegu		Między przebiegami		Łącznie	
				SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Kontrola o niskim stężeniu	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
Kontrola o średnim stężeniu	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
Kontrola o wysokim stężeniu	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
Próbka 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
Próbka 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
Próbka 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

Próbka	n	Seria odczynnika	Średnia	Wewnątrz przebiegu		Między przebiegami		Łącznie	
				SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Kontrola o niskim stężeniu	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
Kontrola o średnim stężeniu	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
Kontrola o wysokim stężeniu	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
Próbka 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
Próbka 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
Próbka 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

Próbka	n	Seria odczynnika	Średnia	Wewnątrz przebiegu		Między przebiegami		Łącznie	
				SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Kontrola o niskim stężeniu	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
Kontrola o średnim stężeniu	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
Kontrola o wysokim stężeniu	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
Próbka 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
Próbka 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
Próbka 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

Liniowość rozcieńczenia

Liniowość rozcieńczenia testu Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay na platformach AU Beckman wykazuje % zakres odzysku wynoszący $100\% \pm 10\%$ dla wszystkich próbek przez przedział testu. Próbki > 44 $\mu\text{mol/L}$ wykazują średni odzysk $100\% \pm 11\%$ wszystkich oczekiwanych wyników w przypadku rozcieńczenia do przedziału testu.

Granica wykrywalności

Granice wykrywalności (LOD) każdego układu ustalono zgodnie z dokumentem CLSI (oficjalnie NCCLS) EP17-A.²⁹ Wartości LOD ($\mu\text{mol/L}$) są podane w tabeli poniżej:

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

Swoistość analityczna

Oceny swoistości analitycznej dokonano jedynie na platformie Beckman Coulter AU400 na podstawie wytycznych dokumentu CLSI EP7-A2³⁰ dla substancji zakłócających wymienionych w tabeli poniżej:

Substancja zakłócająca	Stężenie substancji zakłócającej	% Zakłócenia
Bilirubina	20 mg/dL	$\leq \pm 10$
Hemoglobina	500 mg/dL	$\leq \pm 10$
Krwinki czerwone	0,4%	$\leq \pm 10$
Trójglicerydy	500 mg/dL	$\leq \pm 10$
Glutation	1000 $\mu\text{mol/L}$	$\leq \pm 10$
Metionina	800 $\mu\text{mol/L}$	$\leq \pm 10$
L-cysteina	200 $\mu\text{mol/L}$	$\leq \pm 10$
Pirogronian	1250 $\mu\text{mol/L}$	$\leq \pm 10$

Żadna z tych substancji nie zakłócała istotnie testu.

Próbki z podwyższonym stężeniem białka wykazują różnicę > 10% w porównaniu z wynikami uzyskanymi z normalnych próbek i dlatego należy ich unikać. Możliwe zakłócenia spowodowane lekami, chorobami lub zmiennymi przedanalizy, patrz punkt 16 w rozdziale Piśmiennictwo niniejszej ulotki.

Efekt przeniesienia próbek

Badania efektu przeniesienia próbek na wszystkich badanych platformach AU wykazały, że przeniesienie jest mniejsze niż granica wykrywalności testu.

Stabilność odczynników w instrumencie

Odczynniki są stabilne przez 30 dni na wszystkich platformach AU.

Stabilność kalibracji

Test krzywej kalibracji wykazał jej stabilność do 30 dni, co zweryfikowano na platformie Beckman Coulter AU400 oraz do 14 dni, co zweryfikowano na platformach Beckman Coulter AU5800 i DxC 700 AU.

Rodzaje próbek

Próbki do pobierania próbek poddane weryfikacji do stosowania to próbki na osocze z EDTA i heparyną litową, próbki do surowicy i z separatorem surowicy. Nie testowano innych próbek do pobierania próbek.

Do pomiaru stężenia homocysteiny można stosować surowicę (pobraną do próbek do surowicy lub próbek z separatorem surowicy) i osocze (pobrane do próbek z solą potasową EDTA lub z heparyną litową). Operator jest odpowiedzialny za weryfikację prawidłowych rodzajów próbek. Nie jest jednak zalecane wykorzystywanie wyników indywidualnego pacjenta otrzymanych na przemian z surowicy, heparynizowanego osocza i osocza z EDTA.²⁶ Dodatkowo zgłaszano różnice matryc między próbkami do surowicy i próbkami z separatorem surowicy i próbkami do osocza.¹⁹

PROTOKÓŁ TESTÓW NA PLATFORMACH AU – AU400, AU480, AU680, AU5800 i DxC700 AU

Należy upewnić się, że parametry testu dokładnie odpowiadają parametrom wymienionym poniżej.

AU400 – PARAMETRY PROCEDUR

Nr testu [*]	Nazwa [HCY]	Rodzaj [Ser.]	
Objętość próbki:	[16,5] µL	Objętość rozcieńczalnika:	[0,0] µL
Współczynnik wstępnego rozcieńczania:	[1]		
Objętość odczynnika 1:	[250] µL	Objętość rozcieńczalnika:	[0,0] µL
Objętość odczynnika 2:	[25] µL	Objętość rozcieńczalnika:	[0,0] µL
Pierwszorzędowa długość fali:	[340] nm		
Drugorzędowa długość fali:	[380] nm		
Sposób reakcji:	RATE1		
Współczynnik kierunkowy reakcji	[-]		
Punkt 1	Pierwszy [15] Ostatni [27]		
Punkt 2	Pierwszy [] Ostatni []		
Liniowość	[100]%		
Czas bez opóźnienia	[Nie]		
Min. OD		Maks. OD	
L [-2,0]		H [2,5]	
Granica OD odczynnika	Pierwszy L [] Ostatni L []	Pierwszy H [] Ostatni H []	
Zakres dynamiczny:	L [2,0]	H [44,0]	
Współczynnik korelacji:	A [1,0]	B [0,0]	
Okres stabilności w instrumencie:		[30]	
Charakterystyka kalibracji:			
	Punkt	Gęstość optyczna (OD)	Stężenie
	1 [*]	[]	[0,0]
	2 [*]	[]	[**]
	Rodzaj kalibracji:		[AA]
	Wzór:	[Y=AX+B]	

*Zdefiniowane przez użytkownika **Wprowadzić wartości na fiolkach kalibratora

AU480 / AU680 – PARAMETRY PROCEDUR

Nr testu [*]	Nazwa [HCY]	Rodzaj [Ser.]	
Objętość próbki:	[10] µL	Objętość rozcieńczalnika:	[0,0] µL
Współczynnik wstępnego rozcieńczania:	[1]		
Objętość odczynnika 1:	[155] µL	Objętość rozcieńczalnika:	[0,0] µL
Objętość odczynnika 2:	[16] µL	Objętość rozcieńczalnika:	[0,0] µL
Pierwszorzędowa długość fali:	[340] nm		
Drugorzędowa długość fali:	[380] nm		
Sposób reakcji:	RATE1		
Współczynnik kierunkowy reakcji	[-]		
Punkt 1	Pierwszy [15] Ostatni [27]		
Punkt 2	Pierwszy [] Ostatni []		
Liniowość	[25]%		
Czas bez opóźnienia	[Tak]		
Min. OD		Maks. OD	
L [...]		H [...]	
Granica OD odczynnika	Pierwszy L [-2,0] Ostatni L [-2,0]	Pierwszy H [2,5] Ostatni H [2,5]	
Zakres dynamiczny:	L [2,0]	H [44,0]	
Współczynnik korelacji:	A [1,0]	B [0,0]	
Okres stabilności w instrumencie:		[30]	
Próba wpływu LIH		[Nie]	
Charakterystyka kalibracji:			
	Punkt	Gęstość optyczna (OD)	Stężenie
	1 [*]	[]	[0,0]
	2 [*]	[]	[**]
	Rodzaj kalibracji:		[AA]
	Wzór:	[Y=AX+B]	
Stabilność	Odczynnik wyjściowy [30] dzień	Kalibracja [14] dzień	

*Zdefiniowane przez użytkownika **Wprowadzić wartości na fiolkach kalibratora

AU5800 – PARAMETRY PROCEDUR

Nr testu [*]	Nazwa [HCY]	Rodzaj [Ser.]	
Objętość próbki:	[7,5] µL	Objętość rozcieńczalnika:	[0,0] µL
Współczynnik wstępnego rozcieńczania:	[1]		
Objętość odczynnika 1:	[115] µL	Objętość rozcieńczalnika:	[0,0] µL
Objętość odczynnika 2:	[12] µL	Objętość rozcieńczalnika:	[0,0] µL
Pierwszorzędowa długość fali:	[340] nm		
Drugorzędowa długość fali:	[380] nm		
Sposób reakcji:	RATE1		
Współczynnik kierunkowy reakcji	[-]		
Punkt 1	Pierwszy [15] Ostatni [27]		
Punkt 2	Pierwszy [] Ostatni []		
Liniowość	[25]%		
Czas bez opóźnienia	[Tak]		
Min. OD		Maks. OD	
L []		H []	
Granica OD odczynnika	Pierwszy L [-2,0] Ostatni L [-2,0]	Pierwszy H [2,5] Ostatni H [2,5]	
Zakres dynamiczny:	L [2,0]	H [44,0]	
Współczynnik korelacji:	A [1,0]	B [0,0]	
Okres stabilności w instrumencie:		[30]	
Próba wpływu LIH		[Nie]	
Charakterystyka kalibracji:			
	Punkt	Gęstość optyczna (OD)	Stężenie
	1 [*]	[]	[0,0]
	2 [*]	[]	[**]
	Rodzaj kalibracji:		[AA]
	Wzór:	[Y=AX+B]	
Stabilność	Odczynnik wyjściowy [30] dzień	Kalibracja [14] dzień	

*Zdefiniowane przez użytkownika **Wprowadzić wartości na folkach kalibratora













DxC 700 AU – PARAMETRY PROCEDUR

Nazwa testu	Nazwa [HCY1G]	ID odczynnika [225]	
Objętość próbki:	[10] µL	Rozcieńczalnik	[0,0] µL
Współczynnik wstępnego rozcieńczania:	[1]		
Objętość odczynnika 1 (R1):	[155] µL	Rozcieńczalnik	[0,0] µL
Objętość odczynnika 2 (R2):	[16] µL	Rozcieńczalnik	[0,0] µL
Pierwszorzędowa długość fali:	[340] nm		
Drugorzędowa długość fali:	[380] nm		
Sposób reakcji:	RATE1		
Współczynnik kierunkowy reakcji	[-]		
Punkt pomiarowy-1	Pierwszy [15]	Ostatni [27]	
Punkt pomiarowy-2	Pierwszy []	Ostatni []	
Liniowość	[25]%		
Kontrola czasu opóźnienia	[Tak]		
Min. gęstość optyczna (OD)	[-2,0]	Maks. gęstość optyczna (OD)	[3,0]
Granica OD odczynnika	Pierwszy C [-2,0] Ostatni L [-2,0]	C [2,5] C [2,5]	
Analityczny zakres pomiarowy	C* [2,0]	C* [44,0]	
Współczynnik korelacji:	A [1]	B [0]	
Okres stabilności w instrumencie:		[30]	
Próba wpływu LIH (lipemia, żółtaczka, hemoliza):		[Nie]	
Wartość/flaga	[Wartość]		
Niska	[-9999999]	Wysoka	[9999999]
Limity krytyczne	Niska [-9999999]	Wysoka [9999999]	Jednostka [µmol/l]
Miejsca dziesiętne	[1]		
Nazwa testu:	HCY1G]	HCY1G]	[Surowica]
Rodzaj kalibracji	[AA]	Wzór	[Y=AX+B]
Liczby	[2]		
Punkt-1	[Kal0]	Stęż. [0]	Niska [9999999] Wysoka [9999999]
Punkt-1	[Kal28]	Stęż. [28]	Niska [9999999] Wysoka [9999999]
Kontrola nachylenia	[Brak]	Zaawansowana operacja kalibracji	[Nie]
Stabilność odczynnika wyjściowego	[30] Dzień	[0] Godzina	

*Wartości ustawione do pracy w µmol

PIŚMIENICTWO

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, Pettiti 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.

	Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>		Przechowywać w temperaturze 2-8°C
	Kod produktu		Wytwórca
	Numer serii		Przechowywać w ciemności
	100 oznaczeń		Odczynnik 1, 2
	Zapoznać się z instrukcją użycia		Kalibrator 0 µmol/L , kalibrator 28 µmol/L
	Zużyć do		Axis-Shield Diagnostics Ltd., The Technology Park, Dundee, DD2 1XA, UK Tel.: +44 (0) 1382 422000 Faks: +44 (0) 1382 422088
Rx Only	Do użytku tylko na receptę		

Beckman Coulter i AU są znakami towarowymi firmy Beckman Coulter, Inc. i są zarejestrowane w USPTO. Wszystkie inne znaki towarowe są własnością ich właścicieli.