

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

REF B08176

(Distribúcia: BECKMAN COULTER, len pre profesionálne využitie, na platformách BECKMAN COULTER AU (AU400, AU480, AU680, AU5800 a Dx C 700 AU))



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



SLOVENSKY:

URČENÉ POUŽITIE

Test Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent je určený pre *in vitro* kvantitatívne stanovenie celkového homocysteínu v ľudskom sére a plazme. Toto zariadenie môže pomôcť pri diagnóze a liečbe pacientov s podozrením na hyperhomocysteinémiu a homocystinúriu.

VAROVANIE: Vzorky pacientov, ktorí podstupujú liečbu s liekmi obsahujúcimi S-adenosyl-metionín, môžu vykazovať falošne zvýšené hladiny homocysteínu. Pacienti, ktorí užívajú metotrexát, karbamazepín, fenytoín, oxid dusný, antikonvulzanty alebo 6-azauridín triacetát, môžu mať zvýšené hladiny homocysteínu v dôsledku účinku týchto látok na metabolickú cestu. Ďalšie informácie nájdete v tomto príbalovom letáku v časti OBMEDZENIA POUŽITIA.

SÚHRN A VYSVETLENIE TESTU

Homocystein (HCY) je aminokyselina obsahujúca tiol, ktorá sa vytvára pri medzibunečnej demetylácii metionínu. Homocystein sa exportuje do plazmy, kde obieha väčšinou vo svojej oxidovanej forme viazaný na plazmové proteíny ako zmes proteínu-HCY disulfidu s albumínom (proteín-SS-HCY).¹⁻⁵ Prítomné sú menšie množstvá redukovaného homocysteínu a disulfidu homocysteínu (HCY-SS-HCY). Celkový homocystein (tHCY) predstavuje súčet všetkých druhov HCY, ktoré sa nachádzajú v sére alebo plazme (voľné a viazané na proteín). Homocystein sa metabolizuje buď na cystein alebo metionín. V transsulfuračnej ceste vitamínu B6 je homocystein ireverzibilne katabolizovaný na cystein. Prevažná časť homocysteínu sa remetyluje na metionín, najmä prostredníctvom folátov a kobalamín dependentného enzýmu metionínsyntázy. Keď sú tieto reakcie poškodené, homocystein sa akumuluje a vylučuje do krvi.^{3,5} Silno zvýšené koncentrácie celkového homocysteínu sa objavujú u pacientov s homocysteinúriou, čo je vzácna genetická porucha enzýmov podieľajúcich sa na metabolizme homocysteínu. U pacientov s homocysteinúriou sa prejavuje mentálna retardácia, predčasná artérioskleróza a artériálny a venózný tromboembolizmus.^{2,6} Boli zistené aj menej závažné genetické poruchy, ktoré spôsobujú mierne zvýšené hladiny celkového homocysteínu.⁷⁻⁹

Epidemiologické štúdie skúmali vzťah medzi zvýšenými hladinami homocysteínu a kardiovaskulárnymi chorobami (CVD). Metaanalýza 27 z týchto štúdií zahrnujúcich viac ako 4 000 pacientov odhadla, že zvýšenie celkového homocysteínu o 5 $\mu\text{mol/l}$ bolo spojené s pravdepodobnosťou výskytu koronárnej choroby srdca (CAD) 1,6 (95 % interval spoľahlivosti [IS], 1,4 až 1,7 pre mužov a 1,8 (95 % IS 1,3 až 1,9) pre ženy; pravdepodobnosť cerebrovaskulárneho ochorenia bola 1,5 (95 % IS 1,3 až 1,9). Riziko spojené so zvýšením celkového homocysteínu o 5 $\mu\text{mol/l}$ bolo rovnaké ako riziko spojené so zvýšením cholesterolu o 0,5 mmol/dl (20 mg/dl). Taktiež sa prejavila silná súvislosť s ochorením periférnych artérií.¹⁰

Hyperhomocysteinémia, zvýšené hladiny homocysteínu, možno dávať do súvislosti so zvýšeným rizikom kardiovaskulárných ochorení (CVD). Existuje tiež veľký počet publikovaných správ o prospektívnych štúdiách, ktoré skúmali vzťah medzi hyperhomocysteinémiou a rizikom CVD u mužov a žien, ktorí boli spočiatku zdraví. Konečné výsledky sa zakladali na kardiovaskulárnej príhode, ako napríklad infarkt myokardu, mŕtvica, CAD alebo úmrtí. Výsledky jedenástich z týchto vnorených prípadových kontrolných štúdií, ktoré preveroval Cattaneo,¹¹ boli dvojznačné, keď päť štúdií súvislosť s rizikom potvrdzovalo a šesť nie. Neskôr boli hladiny homocysteínu stanovené v prospektívnej štúdií postmenopauzálnych žien, ktoré sa zúčastnili Women's Health Study. Na homocystein boli testované vzorky od 122 žien, u ktorých následne došlo k vzniku kardiovaskulárných príhod, a porovnané s kontrolnou skupinou 244 žien, ktorým sa rovnali jednak vekom ako aj fajčením. Ženy v kontrolnej skupine v priebehu trojročného sledovacieho obdobia neboli onemocnením postihnuté. Výsledky preukázali, že u postmenopauzálnych žien, u ktorých došlo ku kardiovaskulárnym príhodám, boli východiskové hladiny homocysteínu signifikantne vyššie. Ženy s hladinami v najvyššom kvartile boli vystavené dvojnásobnému riziku akejkoľvek kardiovaskulárnej príhody. Bolo preukázané, že zvýšené východiskové hladiny predstavujú nezávislý rizikový faktor.¹² Hladiny homocysteínu boli taktiež stanovené u 1 933 starších mužov a žien pre kohortu Framingham Heart Study a preukázalo sa, že zvýšené hladiny homocysteínu sú nezávisle spojené so zvýšenými mierami všeobecnej úmrtnosti a úmrtnosti na CVD.¹³

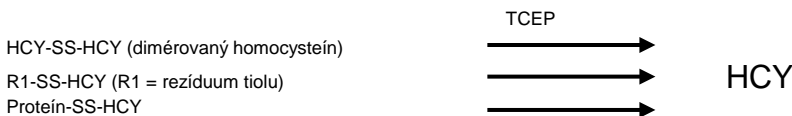
U pacientov s chronickým ochorením obličiek sa prejavovala nadmerná morbidita a mortalita spôsobená artériosklerotickou CVD. U týchto pacientov sa často objavujú nálezy zvýšenej koncentrácie homocysteínu v krvi. Hoci týmto pacientom chýbajú vitamíny podieľajúce sa na metabolizme homocysteínu, zvýšené hladiny HCY sú hlavne spôsobené zhoršeným odbúraním HCY obličkami z krvi.^{14,15}

Metabolizmus HCY môžu narušovať liečivá ako metotrexát, karbamazepín, fenytoín, oxid dusný a 6-azauridín triacetát a môžu zvyšovať hladiny HCY.¹⁶

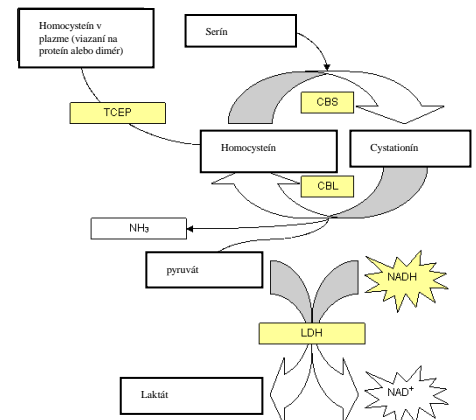
PRINCÍP TESTU

Viazaný alebo dimerizovaný homocystein (oxidovaná forma) sa redukuje na voľný homocystein, ktorý potom reaguje so sérinom za katalýzy cystationín beta-syntázy (CBS) pričom vzniká cystationín. Cystationín sa zase pôsobením cystationín beta-lyázy (CBL) rozkladá na homocystein, pričom vzniká aj pyruvát a čpavok. Pyruvát sa potom konvertuje pomocou laktát dehydrogenázy (LDH) na laktát s nikotínamid-adenín-dinukleotidom (NADH) ako koenzýmom. Rýchlosť konverzie NADH na NAD^+ je priamo úmerná koncentrácii homocysteínu (DA 340 nm).

Redukcia: Dimérový homocystein, primiešaný disulfid a formy HCY viazané na proteín vo vzorke sa redukujú za vzniku voľného HCY pomocou tris[2-karboxyethyl]fosfínu (TCEP).



Enzymatická konverzia: Voľný HCY sa konvertuje na cystationín pomocou beta-syntázy a nadbytočného sérinu. Cystationín sa potom rozkladá na homocystein, pyruvát a čpavok. Pyruvát sa konvertuje na laktát pomocou laktátdehydrogenázy s NADH ako koenzýmom. Rýchlosť konverzie NADH na NAD^+ (Δ A340 nm) je priamo úmerná koncentrácii homocysteínu.



ĎALŠIE INFORMÁCIE



Keďže spoločnosť Beckman Coulter nie je výrobcom činidla, ani nevykonáva kontrolu kvality alebo iné testy jednotlivých šarží, nemôže spoločnosť Beckman Coulter zodpovedať za kvalitu získaných údajov, ktorá je výsledkom účinnosti činidla, rozdielov medzi šaržami, alebo zmenami v protokoloch vykonávaných výrobcom.

TECHNICKÁ PODPORA

- Ak potrebujete technickú pomoc, spojte sa, prosím, s vaším miestnym zástupcom spoločnosti Beckman Coulter.
- V prípade poškodenia výrobku pri preprave kontaktujte sa, prosím, so strediskom klinickej podpory spoločnosti Beckman Coulter.
- Návod na použitie (včítane prekladova parametrov vyhýbania sa kontaminácii) nájdete na internetovej stránke - www.homocysteine.org.uk/BCI

OBJEDNÁVACIE INFORMÁCIE A SÚČASTI SADY

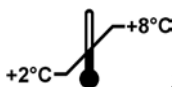
K opätovnej objednávke materiálov od vášho miestneho zástupcu spoločnosti Beckman Coulter môžete použiť nasledujúce kódy:

Kód výrobku	Popis	Zloženie	Riziká
B08176	REAG 1 - 1 x 30 ml Bezfarebná kvapalina 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 %. Redukčné činidlo (TCEP:2,9 mM) Pripravené k použitiu	
	REAG 2 - 1 x 5 ml Svetložltá kvapalina bez zápachu	Cyklické enzýmy CBS (0,748 KU/l) a CBL (16,4 KU/l) Azid sodný < 1 %. Pripravené k použitiu	
	CAL 0µM - 1 x 3,0 ml, (Modré viečko), bezfarebná tekutina bez zápachu	Vodný roztok homocysteínu (0 µmol/l). Pripravené k použitiu	
	CAL 28µM - 1 x 3,0 ml, (Červené viečko), bezfarebná tekutina bez zápachu	Vodný roztok homocysteínu (28 µmol/l). Pripravené k použitiu	

Kalibrátory sa pripravujú gravimetricky a sú výsledovateľné podľa NIST SRN 1955, čo sa potvrdzuje určeným postupom merania (HPLC). Priradené hodnoty sú vytlačené na štítkoch (0 µmol/l a 28 µmol/l).

Beckman Coulter poskytuje pre použitie s testom Liquid Stable (LS) 2-part Homocysteine Reagent súpravu kontrolných roztokov Homocysteine Control Kit (**obj. č. B08177**) s nízkou, strednou a vysokou koncentráciou.

UCHOVÁVANIE A PREPRAVA ČINIDIEL



1. Zložky súpravy uchovávajúte pri 2–8 °C a používajte až do uplynutia dátumu expirácie vyznačeného na štítkoch. Nepoužívajte expirované činidlá.
2. V prípade doručenia poškodeného výrobku kontaktujte sa, prosím, so strediskom technickej podpory spoločnosti Beckman Coulter.
3. Činidlá sa môžu používať opakovane až do dátumu ich použiteľnosti uvedeného na štítku. Činidlá sa **musia** medzi dvomi použitiami vrátiť do skladu a uchovávať pri teplote 2-8 °C.
4. Nemiešajte čísla šarží rozdielnych súprav činidiel.
5. **ČINIDLÁ NEZMRAZUJTE.**
6. Nevystavujte činidlá svetlu.
7. Vyvarujte sa kontaminácie činidiel. Pri každej manipulácii s činidlom alebo vzorkou použite nový jednorazový hrot pipety.
8. Uchovávanie po vložení do prístroja. Činidlá sa môžu uchovávať vložené do všetkých platforiem AU (AU400, AU480, AU680, AU5800 a DxC 700 AU), po dobu 30 dní.
9. Činidlá nesmú obsahovať častočky látok. Ak sa zakalia, musia byť zlikvidované.

UPOZORNENIA A BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA

Len pre in vitro diagnostiku

1. Dodržujte dôsledne všetky pokyny uvedené v tejto brožúrke, najmä pri manipulácii a podmienkach skladovania.
2. Činidlo 1 a činidlo 2 obsahujú azid sodný, ktorý môže v odpadovom potrubí reagovať s olovenou alebo medenou inštaláciou a vytvárať výbušné kovové azidy. Pri likvidácii splachujte veľkým množstvom vody, aby ste zabránili hromadeniu azidov.
3. Karty bezpečnostných údajov o všetkých nebezpečných zložkách v tejto súprave vám na vyžiadanie poskytne výrobca tohto produktu Axis-Shield Diagnostics Ltd.

REAG 1	EUH032 - Pri kontakte s kyselinami uvoľňuje veľmi toxický plyn.
REAG 2	

Upozornenie: Federálne zákony vyhradujú toto zariadenie na predaj lekárovi alebo na jeho objednávku.

ODBER VZORIEK A MANIPULÁCIA S NIMI

- Na meranie homocysteínu možno použiť sérum (odobraté do sérových skúmaviek alebo skúmaviek na oddelenie séra) a plazmu (odobratú do skúmaviek s draselnou soľou EDTA alebo s lítiumheparínom).
Neodporúča sa však používať výsledky jednotlivých pacientov striedavo zo séra, heparinizovanej plazmy a plazmy EDTA.²⁶ Navyše boli hlásené matrixové rozdiely medzi sérovými skúmavkami a skúmavkami na separáciu séra a skúmavkami na odber plazmy.¹⁸
Pre minimalizáciu nárastu koncentrácie homocysteínu v dôsledku syntézy červených krviniek spracovávajú vzorky nasledujúcim spôsobom:
 - Po odbere a pred spracovaním uložte všetky vzorky (sérum a plazma) na ľad. Sérum sa môže zrážať pomalšie a objem sa môže znížiť.¹⁶
 - Všetky vzorky sa môžu uchovávať na ľade až do 6 hodín pred separáciou centrifugovaním.¹⁶
 - Červené krvinky oddelíte od séra alebo plazmy centrifugovaním a premiestnite do kadičky alebo inej čistej nádoby.**Poznámka:** Vzorky, ktoré nebudú okamžite uložené na ľad, môžu vykazovať zvýšenú koncentráciu homocysteínu o 10–20 %.¹⁷
- Ak sa rozbor vykoná v priebehu 2 týždňov po odbere, vzorky sa musia uchovávať pri teplote 2–8 °C. Ak sa testovanie oneskorí o viac ako 2 týždne, musia sa vzorky uchovávať zmrazené pri –20 °C alebo nižšej teplote. Dokázalo sa, že vzorky boli stabilné pri –20 °C po dobu 8 mesiacov.^{16,18}
- Za overenie správnosti typu vzorky/typov vzoriek použitých pri teste Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay zodpovedá operátor.
- Skontrolujte všetky vzorky (preparáty, kalibrátory a kontrolné vzorky), či v nich nie sú bubliny. Pred rozborom bubliny odstráňte.
- Vzorky, ktoré obsahujú hmotné častičky (fibrín, červené krvinky alebo iné hmotné častičky) alebo viditeľné lipemické vzorky, sa musia z rozboru vylúčiť. Výsledky týchto vzoriek môžu byť chybné.
- Pre zaistenie zhody výsledkov po roztopení vzorky **dôkladne** premiešajte nízkorychlostným vortexom alebo opatrným prevracaním hore nohami. Vyhnite sa opakovanému zmrazovaniu a roztaveniu. Vzorky obsahujúce hmotné častičky, erytrocyty alebo zákal sa musia pred testovaním centrifugovať.

VÝSLEDKY

Výsledky sa uvádzajú v $\mu\text{mol/l}$. Vzorky $>44 \mu\text{mol/l}$ sa musia nariediť v pomere 1 časť vzorky k 2 častiam Cal 0 $\mu\text{mol/l}$ alebo 1 časť vzorky k 9 častiam Cal 0 $\mu\text{mol/l}$, podľa toho, čo je vhodnejšie. Zaisťte, aby výsledky boli vynásobené správnym faktorom riedenia.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

Referenčný rozsah: Referenčný rozsah musí stanoviť každé laboratórium, aby sa potvrdili charakteristiky testovanej populácie. Nasledujúce údaje možno použiť ako referenčný bod, pokiaľ laboratórium neanalyzuje dostatočný počet vzoriek pre stanovenie svojho vlastného referenčného rozsahu. Koncentrácia HCY v plazme či sére zdravých jednotlivcov sa mení s vekom, pohlavím, zemepisnou oblasťou a genetickými faktormi. Vedecká literatúra uvádza referenčné hodnoty pre dospelých mužov a ženy v rozmedzí od 5 do 15 $\mu\text{mol/l}$, keď muži majú vyššie hodnoty než ženy a postmenopauzálna ženy majú vyššie hodnoty homocysteínu než ženy premenopauzálna.^{16,19,20} Hodnoty HCY sa normálne zvyšujú s vekom, pričom medzi staršími pacientmi (> 60 rokov) je referenčné rozpätie 5-20 $\mu\text{mol/l}$.²¹ V krajinách, v ktorých sa uskutočňujú fortifikačné programy s kyselinou fóliovou, môžeme pozorovať znížené hladiny HCY.^{22,23}

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

OBMEDZENIA PRI POUŽITÍ

- Diagnostický prostriedok in vitro. Len pre profesionálne účely.
- Lineárny rozsah testu Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay je v prípade, že sa s ním pracuje podľa pokynov, 2–44 $\mu\text{mol/l}$ na platformách AU. Vzorky $> 44 \mu\text{mol/l}$ sa musia nariediť v pomere 1 časť vzorky k 2 častiam Cal 0 $\mu\text{mol/l}$ alebo 1 časť vzorky k 9 častiam Cal 0 $\mu\text{mol/l}$, podľa toho čo je vhodnejšie.
- Činidlá musia byť číre. Ak sú zakalené, zlikvidujte ich.
- Cystationín sa meria pomocou homocysteínu, ale u bežnej populácie má hladina cystationínu (0,065–0,3 $\mu\text{mol/l}$) zanedbateľný účinok. Vo veľmi zriedkavých prípadoch, v konečnom štádiu choroby obličiek a u pacientov s ťažkými metabolickými poruchami sa cystationínové hladiny môžu dramaticky zvýšiť a v ťažkých prípadoch zapríčiniť viac ako 20 % interferenciu.^{24,25}
- Karbamazepín, metotrexát, fenytoín, oxid dusný alebo 6-azauridín triacetát môžu ovplyvniť koncentráciu homocysteínu.¹⁶
- Poznámka: Vzorky pacientov, ktorí podstupujú liečbu s liekmi obsahujúcimi S-adenosyl-metionín, môžu vykazovať falošne zvýšené hladiny homocysteínu. Pacienti, ktorí užívajú metotrexát, karbamazepín, fenytoín, oxid dusný, antikonvulzanty alebo 6-azauridín triacetát, môžu mať zvýšené hladiny homocysteínu v dôsledku účinku týchto látok na metabolickú cestu.
- Vzorky, ktoré obsahujú hmotné častičky (fibrín, červené krvinky alebo iné hmotné častičky) alebo viditeľné lipemické vzorky, sa musia z rozboru vylúčiť. Výsledky týchto vzoriek môžu byť chybné.
- Obmedzenia: Hydroxylamín prítomný v rôznych železitých reagensoch sa môže prenášať (prostredníctvom miešačov vzoriek/reagensov alebo reakčnej kvety) a zapríčiniť nesprávne nízke výsledky. Vo väčšine prípadov nestačia na odstránenie tohto problému rutinné oplachovacie postupy (včítane reagensie Beckman Coulters UIBC P/N OSR1205, ktorá obsahuje hydroxylamín). V protokole spoločnosti Axis-Shield o vyhýbaní sa kontaminácii si prečítajte, ako predísť prenosu na systémy AU. Zabezpečte, prosím, aby boli implementované vhodné parametre pre vyhnutie sa kontaminácii. Špecifické parametre pre vyhnutie sa kontaminácii analyzátora môžete získať od zákaznickej podpory spoločnosti Axis-Shield.
- Keď je činidlo Homocysteín **REAG 1** v rotore na činidlá analyzátora série AU spoločnosti BECKMAN COULTER, môžu sa z neho uvoľňovať pary etanolu. Aby ste zabránili novej kontaminácii prostredníctvom vzduchu, vyhnite sa používaniu etanolových činidiel spolu s homocysteínom.

TECHNICKÉ ÚDAJE

NA ZÁKLADE MERANÍ NA PLATFORMÁCH AU BECKMAN COULTER – AU400, AU480, AU680, AU5800 A DXC 700 AU

Presnosť

Uskutočnila sa korelačná štúdia s plazmatickými vzorkami zjavne zdravých dospelých. Všetky vzorky boli analyzované pomocou testu Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent podľa Dokumentu EP9-A2 vydaného CLCI (predtým NCCLS).²⁷ Všetky výsledky sú popísané s pomocou intervalu spoľahlivosti 95 %. Rozsahy vzoriek a údajov:

Porovnávací metóda	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 vzoriek	94	99	98	99	94
Strmosť regresnej línie	0,99	0,97	0,97	0,98	0,99
Úsek na súradnicovej osi Y	0,17	-0,68	-0,22	-0,75	0,67
Korelačný koeficient	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Rozsah vzoriek	6,5 – 49,0	8,5 – 45,1	8,5 – 45,1	8,5 – 45,1	5,8-45,9

Presnosť

Štúdie na AU platformách (AU400, AU480, AU680, AU5800 a DxC 700 AU) boli uskutočnené podľa návodu na použitie vo forme Dokumentu EP5-A2 vydaného CLSI (predtým NCCLS).²⁸ Na každom systéme boli s použitím dvoch šarží číniel, v dvoch rôznych denných časových bodoch po dobu minimálne 5 dní analyzované tri kontrolné panely HCY s tromi vzorkami ľudskej plazmy testované dvojítm stanovením. Výsledky sú zhrnuté nižšie:

Beckman Coulter AU400

Vzorka	n	Čínidlo šarža	Priemer	V priebehu analýzy		Medzi analýzami		Spolu	
				SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV
Kontrolný roztok s nízkou koncentráciou	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
Kontrolný roztok so strednou koncentráciou	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
Kontrolný roztok s vysokou koncentráciou	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
Vzorka 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
Vzorka 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
Vzorka 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

Vzorka	n	Čínidlo šarža	Priemer	V priebehu analýzy		Medzi analýzami		Spolu	
				SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV
Kontrolný roztok s nízkou koncentráciou	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
Kontrolný roztok so strednou koncentráciou	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
Kontrolný roztok s vysokou koncentráciou	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
Vzorka 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
Vzorka 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
Vzorka 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

Vzorka	n	Čínidlo šarža	Priemer	V priebehu analýzy		Medzi analýzami		Spolu	
				SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV
Kontrolný roztok s nízkou koncentráciou	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
Kontrolný roztok so strednou koncentráciou	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
Kontrolný roztok s vysokou koncentráciou	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
Vzorka 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
Vzorka 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
Vzorka 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

Vzorka	n	Čínidlo šarža	Priemer	V priebehu analýzy		Medzi analýzami		Spolu	
				SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV
Kontrolný roztok s nízkou koncentráciou	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
Kontrolný roztok so strednou koncentráciou	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
Kontrolný roztok s vysokou koncentráciou	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
Vzorka 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
Vzorka 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
Vzorka 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

Vzorka	n	Činidlo šarža	Priemer	V priebehu analýzy		Medzi analýzami		Spolu	
				SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Kontrolný roztok s nízkou koncentráciou	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
Kontrolný roztok so strednou koncentráciou	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
Kontrolný roztok s vysokou koncentráciou	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
Vzorka 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
Vzorka 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
Vzorka 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 riadenia

Linearita riadenia testu Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay na platformách Beckman AU dáva % výťažok $100 \pm 10\%$ u všetkých vzoriek v celom rozsahu testu. Vzorky $>44 \mu\text{mol/l}$ vykazovali priemerný výťažok $100\% \pm 11\%$ všetkých očakávaných výsledkov, pokiaľ boli nariadené v rozsahu tejto analýzy.

Hranica detekcie

Limit detekcie (LOD) každého systému bol stanovený v súlade s dokumentom EP17-A vydaným CLSI (predtým NCCLS).²⁹ Hodnoty LOD (v $\mu\text{mol/l}$) sú uvedené v nasledujúcej tabuľke:

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 špecifickosť

Analytická špecifickosť boli stanovená iba na analyzátore Beckman Coulter AU400 podľa Dokumentu EP7-A2³⁰ vydaného CLSI pre interferujúce látky uvedené v zozname na nasledujúcej tabuľke:

Interferujúca látka	Koncentrácia interferujúcej látky	% interferencie
bilirubín	20 mg/dl	$\leq \pm 10$
hemoglobín	500 mg/dl	$\leq \pm 10$
červené krvinky	0,4%	$\leq \pm 10$
triglyceridy	500 mg/dl	$\leq \pm 10$
glutatión	1 000 $\mu\text{mol/l}$	$\leq \pm 10$
metionín	800 $\mu\text{mol/l}$	$\leq \pm 10$
L-cysteín	200 $\mu\text{mol/l}$	$\leq \pm 10$
pyruvát	1 250 $\mu\text{mol/l}$	$\leq \pm 10$

Žiadna z týchto látok pri rozbere významne neinterferovala.

Vzorky so zvýšenými hladinami proteínov vykazujú $>10\%$ rozdiel v porovnaní s výsledkami získanými z normálnych vzoriek a mali by byť odmietnuté. O možných interferenciách spôsobených liekmi, chorobami alebo predanalytickými premennými pozri referenciu 16 v časti Referencie tohto príbalového letáku.

Prenos na vzorku

Štúdie prenosu na vzorku na všetkých testovaných AU platformách ukázali, že prenos je menší ako limit detekcie testu.

Stabilita činidiel v systéme

Činidlá sú stabilné po dobu 30 dní na všetkých AU platformách.

Stabilita kalibrácie

Kalibračná krivka je stabilná až do 30 dní, ako to bolo overené na analyzátore Beckman Coulter AU400 a až 14 dní, ako to bolo overené na analyzátore Beckman Coulter AU5800 a DxC 700 AU.

Typy vzoriek

Skúmvky na odber vzoriek verifikované k použitiu sú skúmvky EDTA a skúmvky na lítium heparín a plazmu, skúmvky na sérum a skúmvky na oddelenie séra. Iné skúmvky na odber vzoriek neboli testované.

Na meranie homocysteínu možno použiť sérum (odobraté do sérových skúmaviek alebo skúmaviek na oddelenie séra) a plazmu (odobratú do skúmaviek s draselnou soľou EDTA alebo lítium heparínom). Za overenie správnosti použitého typu skúmavky zodpovedá laborant/laborantka. Neodporúča sa však používať výsledky jednotlivých pacientov striedavo zo séra, heparinizovanej plazmy a plazmy EDTA.²⁶ Navyše boli hlásené matrixové rozdiely medzi sérovými skúmvkami a skúmvkami na separáciu séra a skúmvkami na odber plazmy.¹⁸

PROTOKOL TESTU NA PLATFORMES AU – AU400, AU480, AU680, AU580 a DxC 700 AU

Zabezpečte, aby parametre kvalitatívneho rozboru presne zodpovedali nižšie uvedeným parametrom.

AU400 – PARAMETRE POSTUPU

Test č. [*]	Názov [HCY]	Typ [Ser.]	
Objem vzorky:	[16,5] µl	Objem riedidla:	[0,0] µl
Pre-dilučný faktor:	[1]		
Objem činidla 1:	[250] µl	Objem riedidla:	[0,0] µl
Objem činidla 2:	[25] µl	Objem riedidla:	[0,0] µl
Vlnová dĺžka pri:	[340] nm		
Vlnová dĺžka sek:	[380] nm		
Metóda reakcie:	RATE1		
Strmosť reakcie	[-]		
Bod 1	Prv [15]		
	Posl [27]		
Bod 2	Prv []		
	Posl []		
Linearita	[100]%		
Žiadne oneskorenie	[Nie]		
Min. optická hustota (OD)		Max. optická hustota (OD)	
L [-2,0]		H [2,5]	
Limit OD činidla	Prv L []	Prv H []	
	Posl L []	Posl H []	
Dynamický rozsah:	L [2,0]	H [44,0]	
Korelačný faktor:	A [1,0]	B [0,0]	
Doba stability v systéme:		[30]	
Kalibračné špecifikácie:			
	Bod	Optická hustota (OD)	Konc
	1 [*]	[]	[0,0]
	2 [*]	[]	[**]
	Typ kalibrácie:		[AA]
	Vzorec:	[Y=AX+B]	

*Definované používateľom **Zadať hodnoty z liekoviek s kalibrátormi

AU480 / AU680 – PARAMETRE POSTUPU

Test č. [*]	Názov [HCY]	Typ [Ser.]	
Objem vzorky:	[10] µl	Objem riedidla:	[0,0] µl
Pre-dilučný faktor:	[1]		
Objem činidla 1:	[155] µl	Objem riedidla:	[0,0] µl
Objem činidla 2:	[16] µl	Objem riedidla:	[0,0] µl
Vlnová dĺžka pri:	[340] nm		
Vlnová dĺžka sek:	[380] nm		
Metóda reakcie:	RATE1		
Strmosť reakcie	[-]		
Bod 1	Prv [15]		
	Posl [27]		
Bod 2	Prv []		
	Posl []		
Linearita	[25]%		
Žiadne oneskorenie	[Áno]		
Min. optická hustota (OD)		Max. optická hustota (OD)	
L [...]		H [...]	
Limit OD činidla	Prv L [-2,0]	Prv H [2,5]	
	Posl L [-2,0]	Posl H [2,5]	
Dynamický rozsah:	L [2,0]	H [44,0]	
Korelačný faktor:	A [1,0]	B [0,0]	
Doba stability v systéme:		[30]	
Kontrola vplyvu LIH		[Nie]	
Kalibračné špecifikácie:			
	Bod	Optická hustota (OD)	Konc
	1 [*]	[]	[0,0]
	2 [*]	[]	[**]
	Typ kalibrácie:		[AA]
	Vzorec:	[Y=AX+B]	
Stabilita	Činidlo Blank [30] dní	Kalibrácia [14] dní	

*Definované používateľom **Zadať hodnoty z liekoviek s kalibrátormi

AU5800 – PARAMETRE POSTUPU

Test č. [*]	Názov [HCY]	Typ [Ser.]	
Objem vzorky:	[7,5] µl	Objem riedidla:	[0,0] µl
Pre-dilučný faktor:	[1]		
Objem činidla 1:	[115] µl	Objem riedidla:	[0,0] µl
Objem činidla 2:	[12] µl	Objem riedidla:	[0,0] µl
Vlnová dĺžka pri:	[340] nm		
Vlnová dĺžka sek:	[380] nm		
Metóda reakcie:	RATE1		
Strmosť reakcie	[-]		
Bod 1	Prv [15]		
	Posl [27]		
Bod 2	Prv []		
	Posl []		
Linearita	[25]%		
Žiadne oneskorenie	[Áno]		
Min. optická hustota (OD)		Max. optická hustota (OD)	
L []		H []	
Limit OD činidla	Prv L [-2,0]	Prv H [2,5]	
	Posl L [-2,0]	Posl H [2,5]	
Dynamický rozsah:	L [2,0]	H [44,0]	
Korelačný faktor:	A [1,0]	B [0,0]	
Doba stability v systéme:		[30]	
Kontrola vplyvu LIH		[Nie]	
Kalibračné špecifikácie:			
	Bod	Optická hustota (OD)	Konc
	1 [*]	[]	[0,0]
	2 [*]	[]	[**]
	Typ kalibrácie:		[AA]
	Vzorec:	[Y=AX+B]	
Stabilita	Činidlo Blank [30] dní	Kalibrácia [14] dní	

*Definované používateľom **Zadať hodnoty z liečiek s kalibrátormi













DxC 700 PARAMETRE POSTUPU AU-TESTU

Názov testu.	Názov [HCY1G]	IČ činidla [225]	
Objem vzorky:	[10] µl	Riedidlo	[0,0] µl
Faktor predriedenia:	[1]		
Objem činidla 1 (R1):	[155] µl	Riedidlo	[0,0] µl
Objem činidla 2 (R2):	[16] µl	Riedidlo	[0,0] µl
Vlnová dĺžka pri:	[340] nm		
Vlnová dĺžka sek:	[380] nm		
Metóda reakcie:	RATE1		
Sklon reakcie	[-]		
Bod merania-1	1. [15]	Posledný [27]	
Bod merania-2	1. []	Posledný []	
Linearita	[25]%		
Kontrola oneskorenia	[Áno]		
Min. optická hustota (OD)	[-2,0]	Max. optická hustota (OD)	[3,0]
Limit OD činidla	1. C [-2,0]	C [2,5]	
	Posledný L [-2,0]	C [2,5]	
Analytický rozsah merania	C* [2,0]	C* [44,0]	
Korelačný faktor:	A [1]	B [0]	
Doba stability v systéme:		[30]	
Kontrola vplyvu LIH		[Nie]	
Hodnota/Označenie	[Hodnota]		
Nízke	[-9999999]	Vysoké	[9999999]
Kritické hranice	Nízke [-9999999]	Vysoké [9999999]	Jednotka [µmol/l]
Desatinné miesta	[1]		
Názov testu:	HCY1G	HCY1G	[Sérum]
Typ kalibrácie	[AA]	Vzorec	[Y=AX+B]
Počet	[2]		
Bod-1	[Cal0]	Konc [0]	Nízke [9999999] Vysoké [9999999]
Bod-1	[Cal28]	Konc [28]	Nízke [9999999] Vysoké [9999999]
Kontrola sklonu	[Žiadna]	Rozšírená kalibrácia obsluhy	[Nie]
Stabilita činidiel prázdna	[30] deň	[0] hodina	

* Hodnoty nastavené na prácu v µmol

POUŽITÁ LITERATÚRA

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. Schmitt 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.

	Diagnostický lekársky prípravok <i>in vitro</i>		Uchovávajte pri 2–8 °C
	Kód výrobu		Výrobca
	Číslo šarže		Uchovávajte v tme
	100 testov		Činidlo 1, 2
	Pozri návod na použitie		Kalibrátor 0 µmol/l , kalibrátor 28 µmol/l
	Použiť do		Axis-Shield Diagnostics Ltd., The Technology Park, Dundee, DD2 1XA, UK Tel: +44 (0) 1382 422000 Fax: +44 (0) 1382 422088
Rx Only	Iba na lekársky predpis		

Beckman Coulter a AU sú obchodné značky spoločnosti Beckman Coulter, Inc. a sú registrované v USPTO. Všetky ostatné ochranné známky sú majetkom príslušných vlastníkov.

Ver: 2017/07
RPBL1068/R5