

# ГОМОЦИСТЕЇН ФЕРМЕНТАТИВНА ПЕРЕРобКА

## Homocysteine, Enzym. Recycling

Каталог. №: 908500B

Дата випуску інструкції: 21-03-2018

Версія 09



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

Кат. №	Вміст		
908500B	780 мл	600 мл	Реагент 1
		180 мл	Реагент 2
908510	4 x 20 мл (78 мл)	3 x 20 мл	Реагент 1
		1 x 18 мл	Реагент 2
908520	4 x 10 мл (39 мл)	3 x 10 мл	Реагент 1
		1 x 9 мл	Реагент 2
992911	1 x 39 мл	1 x 30 мл	Реагент 1
		1 x 9 мл	Реагент 2
9A0849	4 x 20 мл (78 мл)	3 x 20 мл	Реагент 1
		1 x 18 мл	Реагент 2
9T1049	4 x 20 мл (78 мл)	3 x 20 мл	Реагент 1
		1 x 18 мл	Реагент 2

Додатково пропонуються:

908550	5 x 1 мл	Гомоцистеїн набір калібраторів (5 рівнів)
905620	4 x 1 мл	Гомоцистеїн набір контролів (4 рівні)

### ПАРАМЕТРИ ТЕСТУ

**Метод:** УФ, 2-точкової кінетичної (фіксований час) реакції, ферментативної циклізації

**Довжина хвилі:** 340 нм

**Температура:** 37 °С

**Зразок:** сироватка, ЕДТА плазма, гепаринова плазма

**Лінійність:** до 50 мкмоль/л

**Чутливість:** нижня межа визначення становить 0.4 мкмоль/л

### РЕЗЮМЕ

Підвищений рівень загального гомоцистеїну (ЗГ) виявився важливим фактором ризику при оцінці серцево-судинних захворювань [1-3]. Надлишок гомоцистеїну (Г) в крові може призвести до травм артерійних судин через його подразнюючу природу і призвести до запалення та утворення бляшок, що може призвести до блокування припливу крові до серця.

Підвищені рівні ЗГ, також пов'язані з хворобою Альцгеймера [4] і остеопорозом [5].

### ПРИНЦИП ТЕСТУ

**Hcy + SAM**  $\xrightarrow{\text{Hcy-methyltransferase}}$  methionine + SAH

**SAH**  $\xrightarrow{\text{SAH-hydrolase}}$  Adenosine + Hcy

**Adenosine**  $\xrightarrow{\text{Adenosine deaminase}}$  Inosine + NH<sub>3</sub>  
NH<sub>3</sub> + NADH + 2-Oxoglutarate  $\xrightarrow{\text{GLDH}}$  Glutamate + NAD<sup>+</sup> + H<sub>2</sub>O

У цьому аналізі, окислений Hcy спочатку редукують до вільного Hcy, який потім реагує з ко-субстратом, S-аденозилметионіном (SAM), каталізується Hcy S-метилтрансферазою з утворенням метіоніну (Hcy конверсійний продукт Hcy) і S-аденозилгомоцистеїну (SAH, продукт перетворення ко-субстрату). SAH оцінюють реакціями зв'язаного ферменту, включаючи гідролазу SAH, аденозиндеаміназу та глутаматдегідрогеназу, де SAH гідролізують в аденозин і Hcy гідролазу SAH. Сформований Hcy, що походить з ко-субстрату SAM, циклічно перетворюється в реакцію конверсії Hcy за допомогою Hcy S-метилтрансферази. Це утворює спільно-субстратний продукт перетворення на основі ферментної циклічної

реакційної системи зі значним посиленням сигналів виявлення. Утворений аденозин негайно перетворюється в інозин і аміак. На останньому етапі фермент глутаматдегідрогенази (GLDH) каталізує реакцію аміаку з 2-оксоглутаратом і NADH з утворенням NAD<sup>+</sup>. Концентрація Hcy у зразку прямо пропорційна до кількості NADH конвертованого у NAD<sup>+</sup>.

### СКЛАД РЕАГЕНТІВ

КОМПОНЕНТИ	КОНЦЕНТРАЦІЯ
S-Adenosylmethionine (SAM)	0,1 мМ
NADH	0,2 мМ
TCEP	0,5 мМ
2-Oxoglutarate	5,0 мМ
Glutamate dehydrogenase	10 КО/л
SAH hydrolase	3,0 КО/л
Adenosine deaminase	5,0 КО/л
Hcy methyltransferase	5,0 КО/л

### ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

Реагенти готові до використання.

### СТАБІЛЬНІСТЬ І ЗБЕРІГАННЯ РЕАГЕНТІВ

**Умови:** Захищати від світла!  
Закрити відразу ж після використання.  
**Зберігання:** Уникайте забруднення. Не заморожувати!  
При 2-8 °С  
**Стабільність:** До закінчення терміну придатності  
Реагент повинен бути прозорим. Його слід викинути, якщо він стає мутним або початкова абсорбція становить менше 0,5 при 340 нм (світлова доріжка 0,6).

### ЗАБІР ТА ОБРОБКА ЗРАЗКА

У аналізі гомоцистеїну можна використовувати свіжу сироватку, гепаринову плазму або плазму ЕДТА.

Центрифугують зразок крові відразу після збору! Якщо негайне центрифугування неможливе, зібрані зразки крові слід зберігати на льоду і центрифугувати протягом години.

Гемолізовані, каламутні або сильно ліпемічні зразки потрібно викинути. Було запропоновано додавання 3-деазааденозину для інгібування продукції Hcy в еритроцитах. Однак, аналіз Dialab Hcy не може використовувати зразки, що містять 3-деазааденозин, оскільки він інгібує один з ключових ферментів, що використовуються в аналізі.

### СТАБІЛЬНІСТЬ І ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКІВ

**Сироватка, гепаринова плазма або ЕДТА плазма:**

При кімнатній температурі:	4 дні
При 0 – 8 °С	Кілька тижнів
При -20°С	>1 рік

### НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ

Аналізатор здатний вимірювати поглинання при 340 нм і контроль температури.

Загальне лабораторне обладнання

### ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Основна довжина хвилі: 340 нм

Друга довжина хвилі: 700 нм

Зразок: 13 мкл

Реагент 1: 240 мкл

Інкубаційний час: 5 хвилин

Реагент 2: 65 мкл

1 зчитування: 2.5 хвилин після додавання R2

2 зчитування: 5 хвилин після додавання R2

### РЕФЕРЕНТНИЙ ДІАПАЗОН

У більшості клінічних лабораторій, концентрація між 12 і 15 мкмоль/л використовується як значення cut-off для нормального рівня Hcy для дорослих.

Проте кожній лабораторії рекомендується встановлювати діапазон нормальних значень для населення в їхньому регіоні.

### РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

#### ЛІНІЙНІСТЬ, ВИМІРЮВАЛЬНИЙ ДІАПАЗОН

Тест був розроблений для визначення концентрацій гомоцистеїну у межах діапазону вимірювання від 3 - 50 мкмоль / л.

Зразки зі значеннями вищими ніж 50 мкмоль/л потрібно розвести 1:2 дистильованою водою та проаналізувати повторно. Помножте результати на 2.

#### ЧУТЛИВІСТЬ/МЕЖА ВИЯВЛЕННЯ

Нижня межа виявлення становить 0.4 мкмоль/л.

#### ПОРІВНЯННЯ МЕТОДІВ

Кореляційні дослідження проводили шляхом тестування 40 зразків сироватки порівнюючи з існуючим комерційним методом Нсу. Лінійна регресія дає наступне рівняння:  
 $y = 0,94x + 1,05; R^2 = 0,99$

#### ТОЧНІСТЬ

В аналізі к-сть=20	Середнє, (мкмоль/л)	СВ, (мкмоль/л)	КВ, %
Зразок 1	7.08	0.33	4.61
Зразок 2	12.4	0.24	1.91
Зразок 3	16.2	0.51	3.12
Зразок 4	26.9	0.66	2.47

Між аналізами к-сть=30	Середнє, (мкмоль/л)	СВ, (мкмоль/л)	КВ, %
Зразок 1	7.32	0.44	5.98
Зразок 2	11.3	0.57	5.08
Зразок 3	14.4	0.81	5.61
Зразок 4	27.7	0.72	2.61

#### ІНТЕРФЕРУЮЧІ РЕЧОВИНИ

Наступні речовини, які зазвичай присутні в сироватці, виробляють менше ніж 10% відхилення при випробуванні на рівнях, рівних концентраціям, наведеним нижче.

Аскорбінова кислота	10 мМ
Білірубін	40 мг/дл
Гемоглобін	500 мг/дл
Тригліцериди	1000 мг/дл
Цистатіонін	100 мкМ

Пацієнти, які приймають метотрексат, карбамазепін, фенітоїн, закис азоту, антиконвульсанти або 6-азуридин триацетат, можуть мати більш високий рівень гомоцистеїну через метаболічне втручання в метаболізм гомоцистеїну.

S-аденозилгомоцистеїн (SAH) буде викликати значну позитивну інтерференцію. Однак, SAH або не виявляється, або при дуже низьких концентраціях в нормальній плазмі і не повинен викликати занепокоєння. Автоматизовані хімічні аналізатори використовують бортові рутинні етапи промивання для запобігання перенесенню реагентів з допомогою реагентних зондів. Проте ефективність рутинного промивання зонду реагентів різна і можуть знадобитися додаткові етапи промивання.

#### КАЛІБРУВАННЯ

Аналіз вимагає використання Стандарту Гомоцистеїну або Калібратора. Ми рекомендуємо Dialab **Набір калібраторів Гомоцистеїну (5 рівнів)**.

#### КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для перевірки роботи реактивів Нсу слід використовувати контролю гомоцистеїну.

Ми рекомендуємо **набір Dialab для гомоцистеїну (4 рівні)**.

Кожна лабораторія повинна запровадити коригувальні дії у разі відхилення контрольного відновлення.

#### АВТОМАТИЗАЦІЯ

Спеціальні адаптації для автоматизованих аналізаторів можуть бути проведені за запитом.

#### ПОПЕРЕДЖЕННЯ І ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Для використання тільки в in vitro діагностиці тільки кваліфікованими працівниками лабораторії.
- Не ковтати! Уникати контакту зі шкірою, очима та слизовими оболонками.
- Містить азид натрію, який може реагувати зі свинцевим або мідним водопроводом, утворюючи вибухонебезпечні сполуки. Після утилізації цього реагенту, промийте стоки великою кількістю води.
- Не змішуйте реагенти різних лотів.
- Дотримуйтесь необхідних вимог щодо використання лабораторних реагентів.
- Додаткова інформація з безпеки щодо зберігання та поводження з цим виробом надається в Паспорті безпеки матеріалу для цього продукту.

#### ПОВОДЖЕННЯ З ВІДХОДАМИ

Відповідно до місцевих вимог.



#### ВИРОБНИК

Діалаб GmbH

Виробництво та продаж хіміко-технічної продукції та лабораторних приладів в ІЗ НОЕ-Зюд, Хондастрас, Обджект М55, 2351

Вінер-Нойдорф

Тел.: +43 (0) 2236 660910-0,

Факс: +43 (0) 2236 660910-30,

e-mail: [office@dialab.at](mailto:office@dialab.at)



#### УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»

вул. Симона Петлюри, 25

м. Івано-Франківськ, 76014

тел.: +38 (0342) 775 122

факс: +38 (0342) 775 123

e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)

[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)

