

ДІАГНОСТИЧНИЙ РЕАГЕНТ

ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ L-ГОМОЦИСТЕЇНУ В СИРОВАТЦІ АБО ПЛАЗМІ ЛЮДИНИ НА ФОТОМЕТРИЧНИХ СИСТЕМАХ

Ферментативний
2 Реагенти

992911, НОМОСЫСТЕІНЕ

Каталог. №: **992911**

Виробник : **DIALAB (Австрія)**

Методика від **04-03-2019**

Версія **10**



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

Кат. №	Розмір набору	Вміст
908510	4 x 20 мл	3 x 20 мл R1 + 1 x 18 мл R2
908520	4 x 10 мл	3 x 10 мл R1 + 1 x 9 мл R2
992911	1 x 39 мл	1 x 30 мл R1 + 1 x 9 мл R2
9A0849	4 x 20 мл	3 x 20 мл R1 + 1 x 18 мл R2
DT1034	4 x 20 мл	4 x 20 мл R1 + 1 x 20 мл R2
9T1049	4 x 20 мл	4 x 20 мл R1 + 1 x 20 мл R2
9E1849	2 x 39 мл	2 x 30 мл R1 + 2 x 9 мл R2

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 артеріальних 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 + NH₃
NH₃ + NADH + 2-Oxoglutarate $\xrightarrow{\text{GLDH}}$ Glutamate + NAD⁺ + H₂O

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⁺. Концентрація Hcy у зразку прямо пропорційна до кількості NADH конвертованого у NAD⁺.

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 KU/L
SAH hydrolase	3,0 KU/L
Adenosine deaminase	5,0 KU/L
Hcy methyltransferase	5,0 KU/L

ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

Реагенти готові до використання.

СТАБІЛЬНІСТЬ І ЗБЕРІГАННЯ РЕАГЕНТІВ

Умови:	Захищати від світла! Закрити відразу ж після використання. Уникайте забруднення. Не заморозувати!
Зберігання:	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: 3 - 5 хвилин після додавання R2
2 зчитування: 3 - 5 хвилин після першого зчитування
*залежить від приладу

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. Помножьте результати на 2.

ЧУТЛИВІСТЬ/МЕЖА ВИЯВЛЕННЯ

Нижня межа виявлення становить 0.4 мкмоль/л.

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

СПЕЦИФІЧНІСТЬ/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 б-азуридин триацетат, можуть мати більш високий рівень гомоцистеїну через метаболічне втручання в метаболізм гомоцистеїну.

5-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 різні і можуть знадобитися додаткові етапи промивання.

ПОРІВНЯННЯ МЕТОДІВ

Кореляційні дослідження проводили шляхом тестування 40 зразків сироватки порівнюючи з існуючим комерційним методом Hcu. Лінійна регресія дає наступне рівняння:

$$y = 0,94x + 1,05; R^2 = 0,99$$

КАЛІБРУВАННЯ

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

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для перевірки роботи реактивів Hcu слід використовувати контролю гомоцистеїну.

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

Кожна лабораторія повинна запровадити коригувальні дії у разі відхилення у відновленні контролю.

АВТОМАТИЗАЦІЯ

Спеціальні адаптації для автоматизованих аналізаторів можуть бути проведені за запитом.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ І ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Для використання тільки в in vitro діагностиці тільки кваліфікованими працівниками лабораторії.
2. Не ковтати! Уникати контакту зі шкірою, очима та слизовими оболонками.
3. Містить азид натрію, який може реагувати зі свинцевим або мідним водопроводом, утворюючи вибухонебезпечні сполуки. Після утилізації цього реагенту, промийте стоки великою кількістю води.
4. Не змішуйте реагенти різних лотів.
5. Дотримуйтесь необхідних вимог щодо використання лабораторних реагентів.
6. 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.



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул. Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com



© Переклад на українську мову ТОВ «ДІАМЕБ»