



Інструкція з використання набору реагентів для визначення кількості гомоцистеїну в сироватці або плазмі крові ГОМОЦИСТЕЇН «СпЛ» IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Принцип методу

Димеризований гомоцистеїн (окислена форма) зводиться до вільного гомоцистеїну, який реагує з серином, що каталізується цистатіонін бета-синтетазою (CBS) з утворенням цистатіоніну. Цистатіонін, в свою чергу, розбивається цистатіонін бета-ліазою (CBL), та формує гомоцистеїн, піруват і аміак. Піруват перетворюється під дією лактатудегідрогенази (ЛДГ) в лактат та NADH. Швидкість перетворення NADH в NAD + прямо пропорційна концентрації гомоцистеїну.

Клінічне значення

Гомоцистеїн - проміжний продукт обміну незамінної амінокислоти метіоніну. Один з факторів, що ушкоджує стінки судин і тим самим сприяє розвитку атеросклерозу нарівні з порушенням ліпідного обміну. У нормі в організмі знаходиться недовго та під впливом ферментів перетворюється назад в метіонін або в цистотіонін (наступний продукт обміну). Може накопичуватися в організмі внаслідок різних порушень. Гомоцистеїн викликає ряд патологічних процесів, зокрема вражає ендотелій судин. На місці ураження за допомогою холестерину, інших ліпідів і кальцію утворюється атеросклеротична бляшка, що порушує кровообіг в органі. Підвищення рівня гомоцистеїну призводить до збільшення ризику тромбоутворення та атеросклеротичного ураження судин на 80% у жінок і на 60% у чоловіків. Особливому ризику піддаються пацієнти з цукровим діабетом і молоді люди з ознаками раннього атеросклерозу, у яких можуть розвинути інфаркти та інсульти. Підвищений вміст гомоцистеїну нерідко призводить до порушення маткового і плацентарного кровообігу, що може бути причиною безпліддя, народження дітей з вадами розвитку та невиношування вагітності. Розвиток хвороби Альцгеймера та мозкові розлади у віці старше 60 років прямо пов'язані з підвищеним вмістом гомоцистеїну в крові. Клінічний діагноз не повинен базуватися на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

Склад набору

1. Реагент 1. NADH - 0,47 ммоль/л, ЛДГ – 38 КОд/л, серін - 0,76 ммоль/л, редуцтант - 2,9 ммоль/л, натрію азид <1%.
2. Реагент 2. Циклічні ензими: CBS - 0,748 КОд/л та CBL - 16,4 КОд/л, натрію азид <1%.
3. Інструкція з використання.
4. Паспорт.

Додаткові реагенти

Калібратори гомоцистеїну (2 рівні) та контролю (3 рівня) постачаються окремо.

Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірювального діапазону: від нижньої межі 1-46 мкмоль/л. Відхилення від лінійності не перевищує 5%.
Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, розведіть зразки Калібратором «0» 1:2 (в три рази) або 1:9 (в 10 разів) та помножте результат на 3 або 10 відповідно.
2. Чутливість не менш 1 мкмоль/л.
3. Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 5%.

Матеріал для дослідження

Сироватка або гепаринизована плазма крові. Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові якомога швидше. Якщо негайне центрифугування неможливо, зібрані зразки крові повинні зберігатися у льоді та центрифугуватися протягом години. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків.

Стабільний протягом 2 тижнів при температурі 2-8°C або протягом 8 місяців при -20°C.

Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 340 нм.
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 см.
- Баня з термостатом і температурою 37°C.
- Загальне лабораторне обладнання.

Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Всі реагенти готові до використання.

Проведення аналізу

1. Умови вимірювання:
довжина хвилі 340 нм
кювета з товщиною оптичного шару 1 см
температура 37°C
2. Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.
3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних у таблиці.

	Дослідний зразок
P1, мл	1.0
Зразок, мкл	60
Перемішати, інкубувати протягом 5 хв. при температурі 37°C.	
P2, мкл	100

Прим. Об'єми реагенту, стандарту та зразку можуть бути пропорційно змінені відповідно до робочого об'єму кювети використовуваного аналізатора.

6. Перемішати та виміряти оптичну щільність E1 через 1 хв. та E2 - через 5 хв.
7. Розрахувати різницю $\Delta E = E2 - E1$

Розрахунок результатів

Визначити концентрацію гомоцистеїну в досліджуваних зразках за допомогою калібрувальної кривої.

Референтні величини

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Нормальний рівень гомоцистеїну для дорослих становить до 15 мкмоль/л.

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: «НОМОСЫSTEIN -d CONTROL. LOW Leve 1, 2,3» (Іспанія) Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми.

Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8°C, в захищеному від світла місці та запобігати забрудненню під час його використання.

Не використовувати реактиви після закінчення терміну придатності (1 рік).

Примітки

P1 є шкідливим при ковтанні. Проковтнувши, негайно звернутися до лікаря і пред'явити упаковку або етикетку. P2 при контакті з кислотами виділяє дуже токсичний газ. Носити відповідний захисний одяг, рукавички і захист для очей та обличчя.

Не змішувати реагенти з різних партій, не заморожувати реагенти, не використовуйте реагенти, якщо вони мають ознаки каламутності.