



Інструкція з використання набору реагентів для визначення кількості гомоцистеїну в сироватці або плазмі крові Гомоцистеїн СпЛ

IN VITRO

Зберігати при 2-8 °С

Тільки для професійного використання.

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 перетвориться 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 цистатіонін (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. Особливого 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 mmol/l (ммоль/л), ЛДГ – 38 KU/L (кОд/л), серин - 0,76 mmol/l (ммоль/л), редуцтант - 2,9 mmol/l (ммоль/л), натрію азид <1%.
2. **Реагент 2.** Циклічні ензими: CBS - 0,748 KU/L (кОд/л) та CBL - 16,4 KU/L (кОд/л), натрію азид <1%.
3. Інструкція з використання.
4. Сертифікат якості.

Додаткові реагенти

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

Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірювального діапазону: 1-46 μmol/l (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 μmol/l (мкмоль/л).
3. Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 5%.

Матеріал для дослідження

Сироватка або гепаринізована або ЕДТА плазма крові.

Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові протягом години. 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 °С або протягом 8 місяців при -20 °С.

Перелік необхідного устаткування

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

Підготовка реагентів

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

Проведення аналізу

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

	Стандартний зразок	Дослідний зразок
P1, ml (мл)	1.0	1.0
Калібратор, ml (мл)	0.06	-
Зразок, ml (мл)	-	0.06
Перемішати, інкубувати протягом 5 min (хв) при температурі 37°C.		
P2, ml (мл)	0.1	0.1

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

- Перемішати та виміряти оптичну щільність E1 через 1 min (хв) та E2 – через 4 min (хв).
- 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 5-15 $\mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л), для дорослих старше 60 років 5-20 $\mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л).

Відтворюваність

	Внутрисерійна (n=20)		Міжсерійна (n=20)	
Значення, $\mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л).	7.0	36.0	7.0	35.5
SD	0.133	0.468	0.308	0.817
CV, %	1.9	1.3	4.4	2.3

Порівняння методів

Точність: результати отримані при використанні реагентів виробництва ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», при порівнянні з іншими комерційними реагентами (x) систематичних відхилень не виявлено.

Порівняння було проведено на 50 зразках.

Коефіцієнт кореляції (r^2): 0,9867

Рівняння регресії: $y = 0,9923x + 0,0048$

Результати характеристик точності залежать від аналізатору, що використовується.

Специфічність

Гемоліз спричиняє зниження значення білірубіну.

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи «СпЛ Гомоцистеїн Контроль» 3 рівня (ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», Україна) або контрольний матеріал іншого виробника. Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми.

Калібрування приладу проводиться перед використанням нової серії реагентів або у відповідності з вимогами до контролю якості лабораторії. Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

Примітки

1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8 °С. Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

Вимоги безпеки та утилізації

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 заморожувати реагенти, не використовуйте реагенти, якщо вони мають ознаки каламутності.

Транспортування

Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25 °С.

Допускається транспортування при середньодобовій температурі 37 °С не більше 72 h (год).


Гарантія виробника

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro № 754 від 02.10.2013р. при додержанні споживачем умов зберігання.









2. Гарантійний термін зберігання становить 12 mth (міс) з дня виготовлення набору.

Комплектація

	REF 2.039	REF 2.012	REF 2.013
Вміст	10 визн.	30 визн.	60 визн.
P1	1 x 10 ml (мл)	1 x 30 ml (мл)	1 x 60 ml (мл)
P2	1 x 1 ml (мл)	1 x 3 ml (мл)	1 x 6 ml (мл)

 ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», Україна, 61001, м. Харків, вул. Франківська, 14.
Тел./факс: (057) 752-32-31, www.granum.ua

Символи на продукції

 Виробник	Виготовлено: Дата виробництва	Придатно до: Термін придатності	Серія: Номер серії
 IVD Виріб медичний для діагностики in vitro	 Консультуйтеся з інструкцією із використання	 Знак відповідності Технічним регламентам	 Температурне обмеження
 Берегти від сонячного світла	 Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів	 Каталожний номер	



Гомоцистеїн СпЛ

Ензиматичний циклічний. Рідкий

granumlab.com.ua