

IMMULITE® 2000 Набор реагентов для определения гомоцистеина/ Homocysteine

Назначение

Для диагностики *in vitro* с использованием анализаторов IMMULITE® 2000 — для количественного определения L-гомоцистеина в плазме и сыворотке человека. Устройство может использоваться в диагностике и лечении пациентов с подозрением на гипергомоцистеинемию и гомоцистинурию.

Каталожный номер: L2KHO2 (200 тестов)

Код теста: HCY Цвет: Темно-серый

Внимание! Образцы, полученные от пациентов, проходящих терапию с применением S-аденозил-метионина, могут давать ложно завышенные показания по уровням гомоцистеина. Результаты образцов, взятых у пациентов, принимающих метотрексат, карбамазепин, фенитоин, закись азота, противосудорожные препараты и 6-азауридина триацетат, необходимо интерпретировать с осторожностью, поскольку эти вещества мешают определению гомоцистеина.

Краткое описание и пояснение

Общий гомоцистеин (tHcy) стал важным фактором риска при оценке сердечно-сосудистых заболеваний.^{3-7,12} Hcy, содержащая тиол аминокислота, продуцируется в результате внутриклеточного деметилирования метионина. При этом Hcy служит запасом, который может быть впоследствии использован для восполнения либо метионина через действие фолатзависимого фермента метионин-синтазы, либо цистеина через В6-зависимое транссульфирование.^{1,2} Hcy находится в плазме главным образом в связанной с белком форме, однако также присутствуют свободная, окисленная и дисульфидная формы.

Крайне высокие уровни tHcy характерны для больных гомоцистинурией — редким генетическим заболеванием, поражающим ферменты, участвующие в метаболизме Hcy.^{1,2,3} Больные гомоцистинурией подвержены тромбоэмболии артерий, умственной отсталости и раннему атеросклерозу.¹ С умеренными уровнями Hcy сопряжены менее тяжелые генетические дефекты.^{3,4,5}

Гомоцистеин признан показателем сердечно-сосудистых заболеваний. Метаанализ 27 эпидемиологических исследований показывает, что увеличение tHcy на 5 мкмоль/л может быть связано с отношением шансов для ишемической болезни сердца (ИБС) 1,6 для мужчин и 1,8 для женщин, причем это повышение риска такое же, как при повышении холестерина на 0,5 ммоль/л.⁷ Кроме того, у пациентов с хроническим заболеванием почек, осложненным артериосклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием, уровень tHcy повышен из-за неспособности почек выводить Hcy из крови.^{1,2,3}

Принципы проведения теста

Конкурентный иммуноанализ.

IMMULITE 2000 автоматически выполняет один цикл предварительной обработки образца плазмы или сыворотки с помощью S-аденозил-L-гомоцистеин-гидролазы (SAH) и раствора дитиотрейтоля (ДТТ) в реакционной пробирке, не содержащей шарика. После 30-минутной инкубации обработанный образец переносят во вторую реакционную пробирку, содержащую покрытый SAH полистироловый шарик и меченный щелочной фосфатазой антитело, специфичное к SAH. В течение 30-минутной инкубации преобразованный SAH из предварительно обработанного образца конкурирует с иммобилизованным SAH за связывание меченного щелочной фосфатазой антитела к SAH. Несвязанный коньюгат фермента удаляется путем центробежной промывки. Добавляется субстрат, и процедура продолжается согласно описанию для стандартного иммуноанализа в руководстве пользователя.

Циклы инкубации: 2 × 30 минут. 2 позиции теста на анализ: 1 пробирка для обработки образца; 1 пробирка для иммунной реакции.

Цикл 1: Высвобождение связанного гомоцистеина и преобразование в SAH

Цикл 2: Иммунная реакция

Время до получения первого результата: 65 минут

Взятие образцов

Для использования рекомендованы образцы гепаринизированной и EDTA-плазмы, однако также подходит сыворотка. Важно отделить плазму или сыворотку от клеток в максимально сжатые сроки после взятия, поскольку начинается синтез HCY в эритроцитах. **В период времени от выборки до центрифугирования образцы хранят на льду.** Обратите внимание, что хранение на льду особенно затрудняет использование образцов сыворотки.

Для очистки липемических образцов рекомендуется использовать ультрацентрифугу.

Если образец гемолизирован, это может свидетельствовать о его неправильной обработке перед поступлением в лабораторию. Результаты такого образца следует интерпретировать с осторожностью.

Центрифугирование образцов сыворотки до завершения формирования сгустка может привести к появлению фибрина в образце. Чтобы предотвратить получение ошибочных результатов в связи с наличием фибрина, перед центрифугированием образца убедитесь, что произошло полное формирование сгустка. Для некоторых образцов, особенно взятых у пациентов, получающих антикоагулянтную терапию, может потребоваться увеличенное время свертывания.

При использовании пробирок для сбора крови разных производителей могут быть получены разные результаты в зависимости от используемых материалов и добавок, включая гель и физические барьеры, активаторы свертывания и/или антикоагулянты. Характеристики IMMULITE 2000 Homocysteine не были проверены со всеми возможными типами пробирок. Для получения дополнительной информации о проверенных пробирках см. раздел, посвященный альтернативным типам образцов.

Необходимый объем: 15 мкл плазмы или сыворотки

Хранение: 14 дней при температуре 2–8°C или 6 месяцев при –20°C.

Предупреждения и предостережения

Для диагностики *in vitro*.

ВНИМАНИЕ! Изделие содержит материалы животного происхождения, поэтому с ним следует обращаться как с потенциальным носителем и переносчиком заболеваний.

Реагенты: Храните при температуре 2–8°C. Утилизируйте согласно действующему законодательству.

Соблюдайте общие меры предосторожности и обращайтесь со всеми компонентами как с источниками инфекции. Исходные материалы, полученные из человеческой крови, были протестированы и не дали положительного результата на сифилис, антитела к ВИЧ 1 и 2, поверхностный антиген гепатита В и антитела к гепатиту С.

В качестве консерванта был добавлен азид натрия, концентрация которого составляет менее 0,1 г/дл. В момент утилизации промойте большим количеством воды, чтобы предотвратить скопление потенциально взрывоопасных азидов металла в свинцовых и медных водопроводных трубах.

Хемилюминесцентный субстрат: Избегайте загрязнения и воздействия прямого солнечного света. (См. вкладыш.)

Вода: Используйте дистиллированную или деионизированную воду.

Поставляемые материалы

Компоненты поставляются в виде набора. Этикетки на внутренней коробке необходимы для анализа.

Homocysteine Bead Pack (Упаковка шариков) (L2HO12)

Со штрихкодом. 200 шариков, покрытых S-аденозил-L-гомоцистеином (SAH). Стабильны при 2–8°C до истечения срока годности.

L2KHO2: 1 упаковка

Homocysteine Reagent Wedge (Реагентный клин) (L2HOA2)

Со штрихкодом. Один клин, содержащий 3 реагента: 15,5 мл бычьей S-аденозил-L-гомоцистеин-гидролазы в буфере с консервантом. 18,5 мл дитиотретола (ДТТ) в буфере. 11,5 мл щелочной фосфатазы (из кишечника теленка), конъюгированной с моноклональными мышиными антителами к SAH в буфере. Стабильны при 2–8°C до истечения срока годности.

L2KHO2: 1 клин

Перед использованием оторвите верхнюю часть этикетки по перфорации, стараясь не повредить штрихкод. Снимите фольгу с поверхности клина. Защелкнуть скользящую крышку в направляющих на поверхности клина.

Homocysteine Adjustors (Калибраторы) (LHOL, LHOH)

Два флакона из желтого стекла (высокий и низкий), 2,0 мл каждый, синтетического S-аденозил-L-гомоцистеина (SAH) в матриксе из белка/буфера. Стабильны при 2–8°C в течение 30 дней после вскрытия или в течение 6 месяцев (в аликоватах) при –20°C.

L2KHO2: 1 набор

Перед калибровкой наклейте соответствующие аликовотные наклейки со штрихкодом (из набора) на пробирки образцов таким образом, чтобы штрихкоды могли быть считаны сканером анализатора.

Материалы, поставляемые отдельно

Разбавитель образцов для теста по определению гомоцистеина/Homocysteine Sample Diluent (L2HOZ)

Для разведения образцов с высокой концентрацией в автоматическом режиме. 25 мл концентрированного (готового к использованию) матрикса из белка/буфера без гомоцистеина. Хранение: 30 дней (после вскрытия) при 2–8°C или 6 месяцев (в аликоватах) при –20°C.

В комплект поставки входят этикетки со штрихкодами для работы с разбавителем. Перед использованием наклейте соответствующую этикетку на пробирку образца 16 × 100 мм таким образом, чтобы штрихкоды могли быть считаны сканером анализатора.

L2HOZ: 3 этикетки

L2SUBM: Хемилюминесцентный субстрат/Chemiluminescent substrate module

L2PWSM: Промывающий раствор/Probe wash module

L2KPM: Очищающий раствор/Probe cleaning kit

LRXT: Реакционные пробирки/Immulite disposable sample cups (одноразовые)

L2ZT: 250 пробирок для разбавителей/Diluent tubes (16 × 100 мм)

L2ZC: 250 крышек к пробиркам для разбавителей/Diluent tube caps

Также требуются

Дистиллированная или деионизированная вода; пробирки; контроли

Процедура анализа

Обратите внимание, что для оптимальной эффективности важно выполнять все процедуры регулярного обслуживания, описанные в руководстве пользователя IMMULITE 2000.

См. инструкции по подготовке, настройке, разведению, калибровке, анализу и контролю качества в руководстве пользователя IMMULITE 2000.

Рекомендуемый интервал калибровки: 4 недели

Образцы контроля качества: Выполняйте контроль качества с частотой, указанной в нормативных актах или требованиях к аккредитации.

Используйте не менее двух уровней контроля или пулы плазмы или сыворотки (низкий и высокий) гомоцистеина.

Компания Siemens Healthcare Diagnostics рекомендует использовать коммерчески доступные материалы для контроля качества как минимум 2 уровней (низкий и высокий). Для получения достоверных данных результаты по контролям должны находиться в указанном для системы диапазоне или диапазоне, установленном согласно принятой лабораторией схеме КК.

Ожидаемые значения

Уровни гомоцистеина могут варьироваться в зависимости от возраста, пола, региона и генетических факторов, поэтому для лабораторий важно установить собственные референтные диапазоны на основе их местного населения. В публикациях предлагается референтный диапазон 5–15 мкмоль/л для взрослых мужчин и женщин,¹¹ однако отмечается, что для мужчин характерны более высокие уровни, чем для женщин, а в период постменопаузы у женщин характерны более высокие уровни, чем в период пременопаузы.¹²

120 образцов предположительно здоровых взрослых добровольцев (мужчин и женщин) в возрасте 22–66 лет были протестированы с помощью теста IMMULITE 2000 Homocysteine. Образцы взяли в пробирки с гепаринизированной плазмой и хранили на льду до отделения плазмы от клеток. Медианное значение составило 7,7 мкмоль/л, центральный 95 % интервал — 5,0–12 мкмоль/л.

Эти пределы можно рассматривать только в качестве рекомендованных. В каждой лаборатории должны быть утверждены собственные референтные диапазоны.

Ограничения

Образцы, полученные от пациентов, проходящих терапию с применением S-аденозилметионина, могут давать ложно завышенные показания по уровням гомоцистеина.

Хотя анализ исходных соединений для карбамазепина, фенитоина, 6-азауридина и антоптерина не выявил перекрестной реактивности, результаты образцов, взятых у пациентов, получавших эти препараты, а также метотрексат, закись азота и другие противосудорожные препараты, необходимо интерпретировать с осторожностью, поскольку было показано, что эти вещества интерферируют с некоторыми тестами на гомоцистеин.

Гетерофильные антитела сыворотки человека могут вступать в реакцию с иммуноглобулинами в составе реагента, приводя к интерференции в *in vitro* иммуноанализе. [См. Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34:27-33.] Для образцов пациентов, постоянно контактирующих с животными или продуктами животной сыворотки, может наблюдаться интерференция, и, как следствие, аномальные результаты для образцов. Состав данных реагентов подобран таким образом, чтобы минимизировать риск интерференции; однако в редких случаях возможно взаимодействие между компонентами некоторых сывороток и веществами в составе теста. Для диагностических целей результаты этого анализа следует использовать с учетом клинической картины, анамнеза и других исследований.

Характеристики теста

Репрезентативные данные эффективности анализа представлены в таблицах и на графиках. Результаты выражаются в мкмоль/л. (Если не указано иное, все результаты были получены на образцах гепаринизированной плазмы.)

Рабочий диапазон: 2–50 мкмоль/л

Тест прослеживаем до внутреннего стандарта, созданного с использованием проверенных материалов и процедур измерения.

Аналитическая чувствительность: 1,2 мкмоль/л

Воспроизводимость: Образцы анализировали в 4 экземплярах в течение нескольких дней, выполнив в общей сложности 20 постановок и 80 повторностей. (См. таблицу «Воспроизводимость».)

Линейность: Образцы анализировали в различных разведениях. (Репрезентативные данные представлены в таблице «Линейность».)

Эффект добавленной концентрации: Проводилось исследование образцов с добавлением трех растворов гомоцистеина в соотношении 1 к 19 (125, 250, 500 мкмоль/л). (Репрезентативные данные представлены в таблице «Эффект добавленной концентрации».)

Специфичность: Антитело обладает высокой специфичностью к гомоцистеину. (См. таблицу «Специфичность».)

Билирубин: Наличие конъюгированного и неконъюгированного билирубина в концентрации до 200 мг/л не оказывало влияния на результаты (в границах заявленной воспроизводимости теста).

Биотин: Образцы, содержащие биотин в концентрации 1500 нг/мл, демонстрируют изменения результатов равные 10 % или менее. Концентрация биотина выше указанной может привести к неправильным результатам для проб пациентов.

Гемолиз: Наличие гемоглобина в концентрации до 512 мг/дл не оказывало влияния на результаты (в границах заявленной воспроизводимости теста).

Липемия: Наличие триглицеридов в концентрации до 3000 мг/дл не оказывало влияния на результаты (в границах заявленной воспроизводимости теста).

Альтернативный тип образца: Чтобы определить возможность использования сыворотки в тесте IMMULITE 2000 Homocysteine, пробы крови 34 добровольцев были собраны на льду в гепаринизированные пробирки, пробирки с EDTA и чистые вакуумные пробирки. Образцы отделили от клеток и в сопоставляемые образцы добавили гомоцистеин, затем протестировали с помощью теста IMMULITE 2000 Homocysteine; были получены следующие результаты.

(EDTA) = 0,98 (гепарин) + 0,85 мкмоль/л
r = 0,954

(Сыворотка) = 1,02 (гепарин) – 0,53 мкмоль/л
r = 0,975

Средние значения:

20,2 мкмоль/л (гепарин)

20,7 мкмоль/л (EDTA)

20,1 мкмоль/л (сыворотка)

Чтобы оценить влияние температуры хранения, в гепаринизированные пробирки, пробирки с EDTA и чистые вакуумные пробирки были собраны пробы у 5 добровольцев на каждый тип пробирки. Некоторые пробирки хранили при комнатной температуре, тогда как другие хранили на льду в течение разных периодов времени перед отделением. На графиках ниже показано влияние времени хранения и температуры на гепарин, EDTA и сыворотку. (См. графики 1–3.)

Сравнение методов 1: Тест сравнивали с коммерчески доступным ручным иммуноферментным анализом (набор А) для 168 образцов плазмы. (Диапазон концентраций: приблизительно от 4 до 43 мкмоль/л. См. график «Сравнение методов 1».)

Линейная регрессия:

$$(IML 2000) = 1,0 \text{ (набор А)} + 0,24 \text{ мкмоль/л}$$
$$r = 0,966$$

Средние значения:

12,9 мкмоль/л (IMMULITE 2000)

12,7 мкмоль/л (набор А)

Сравнение методов 2: Тест также сравнивали с внутренним методом ВЭЖХ, используемым в референтной лаборатории в США, для 95 образцов гепаринизированной плазмы. (Диапазон концентраций: приблизительно от 4 до 44 мкмоль/л. См. график «Сравнение методов 2».)

Линейная регрессия:

$$(IML 2000) = 0,97 \text{ (ВЭЖХ)} + 0,71 \text{ мкмоль/л}$$
$$r = 0,974$$

Средние значения:

13,4 мкмоль/л (IMMULITE 2000)

13,2 мкмоль/л (ВЭЖХ)

Сравнение методов 3: Тест сравнивали с другим коммерчески доступным иммуноанализом (набор В) для 113 образцов плазмы. (Диапазон концентраций: приблизительно от 4 до 23 мкмоль/л. См. график «Сравнение методов 3».)

Линейная регрессия:

$$(IML 2000) = 0,90 \text{ (набор В)} - 0,02 \text{ мкмоль/л}$$
$$r = 0,925$$

Средние значения:

8,7 мкмоль/л (IMMULITE 2000)

9,6 мкмоль/л (набор В)

Список литературы

1. Selhub J, Miller JW. The pathogenesis of homocysteinemia: interruption of the coordinate regulation by s-adenosylmethionine of the remethylation and transsulfuration of homocysteine. Am J Clin Nutr 1992;55:131-8.
2. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, et al. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase and plasma homocysteine concentrations. Circulation 1996;93:7-9.
3. Malinow MR. Plasma homocysteine and arterial occlusive diseases: A mini review. Clin Chem. 1995;40:173-76.
4. Clarke R, Daly L, Robinson K, Naughten E, et al. Hyperhomocysteinemia: An independent risk factor for vascular disease. New Eng J Med 1991;324:1149-55.

5. Deloughery TG, Evans A, Sadeghi A, et al. Common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase: Correlation with homocysteine metabolism and late-onset vascular disease. *Circulation* 1996;94:3074-78.
6. Bostom AG, Selhub J. Homocysteine and arteriosclerosis: Subclinical and clinical disease associations. *Circulation* 1999;99:2361-63.
7. Boushey CJ, Beresford SAA, et al. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. *JAMA* 1995;274(13):1049-57.
8. Guttormsen AB, Svarstad E, et al. Elimination of homocysteine in subjects with end-stage renal failure. *Irish J Med Sci* 1995;164:8.
9. Bostom AG, Lathrop, L. Hyper-homocysteinemia in end-stage renal disease (ESDR): Prevalence, etiology and potential relationship to arterio-sclerotic outcomes. *Kidney Int* 1997;52:10-20.
10. Refsum H, Ueland PM. Clinical significance of pharmacological modulation of homocysteine metabolism. *TIPS* 1990;11:411-16.
11. Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, et al. Total homocysteine in plasma or serum: Methods and clinical applications. *Clin Chem* 1993;39:1764-79.
12. Nehler MR, Taylor LM, Porter JM. Homocysteine as a risk factor for atherosclerosis: A Review. *Cardiovasc Pathol* 1997;6:1-9.

Техническая поддержка

Обратитесь к национальному дистрибутору.

siemens.com/healthcare

Система контроля качества Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. сертифицирована согласно стандарту ISO 13485.

Таблицы и графики

Воспроизводимость (мкмоль/л)

Среднее значение	Внутри серии		Всего	
	SD	CV	SD	CV
1 4,2	0,54	12,8 %	0,63	15,1 %
2 11,0	0,89	8,1 %	0,94	8,5 %
3 16,5	0,96	5,9 %	1,29	7,8 %
4 24,5	1,37	5,6 %	1,98	8,1 %

Специфичность (мкмоль/л)

Соединение	Добавленное количество мкмоль/л	% перекрестной реактивности
Аденозин	5000	H/O
S-аденозил-L-метионин	500	0,6 %
Цистатионин	500	6,1 %
L-цистеин	100 000	H/O
Глутатион	100 000	H/O

H/O: Необнаруживаемый

Линейность (мкмоль/л)

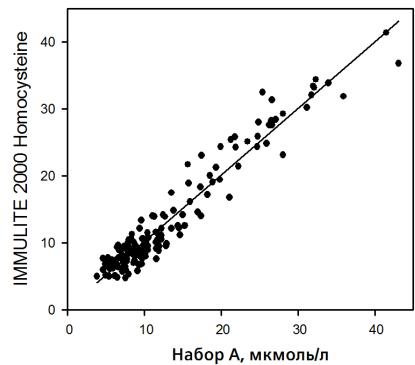
	Разведение	Наблюдаемое	Ожидаемое	% набл/ожид
1	8 к 8	19,2	—	—
	4 к 8	9,47	9,60	99 %
	2 к 8	4,94	4,80	103 %
	1 к 8	2,11	2,40	88 %
2	8 к 8	25,2	—	—
	4 к 8	13,8	12,6	110 %
	2 к 8	6,15	6,30	98 %
	1 к 8	3,34	3,15	106 %
3	8 к 8	31,6	—	—
	4 к 8	15,7	15,8	99 %
	2 к 8	7,44	7,90	94 %
	1 к 8	3,37	3,95	85 %
4	8 к 8	47,5	—	—
	4 к 8	24,2	23,7	102 %
	2 к 8	11,5	11,9	97 %
	1 к 8	4,91	5,94	83 %

Эффект добавленной концентрации (мкмоль/л)

	Раствор	Наблюдаемое	Ожидаемое	% набл/ожид
1	—	7,41	—	—
	A	13,3	13,3	100 %
	B	20,2	19,5	104 %
	C	34,4	32,0	108 %
2	—	9,96	—	—
	A	14,7	15,7	94 %
	B	22,6	22,0	103 %
	C	36,2	34,5	105 %
3	—	13,3	—	—
	A	16,9	18,9	89 %
	B	26,0	25,1	104 %
	C	32,0	37,6	85 %

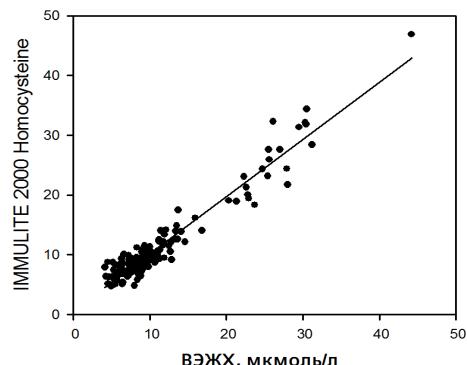
Раствор	Наблюдаемое	Ожидаемое	% набл/ожид
4	—	20,2	—
A	27,7	25,4	109 %
B	33,0	31,7	104 %
C	44,5	44,2	101 %

Сравнение методов 1



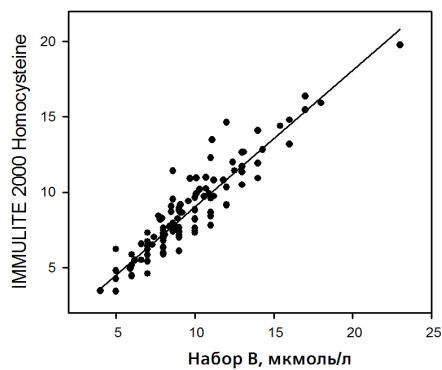
$(IML\ 2000) = 1,0\ (\text{набор A}) + 0,024\ \text{мкмоль/л}$
 $r = 0,966$

Сравнение методов 2



$(IML\ 2000) = 0,97\ (\text{ВЭЖХ}) + 0,71\ \text{мкмоль/л}$
 $r = 0,974$

Сравнение методов 3



$$(IML 2000) = 0,90 \text{ (набор В)} - 0,02 \text{ мкмоль/л}$$
$$r = 0,925$$

Влияние температуры хранения на разные типы образцов

График 1: Гепарин

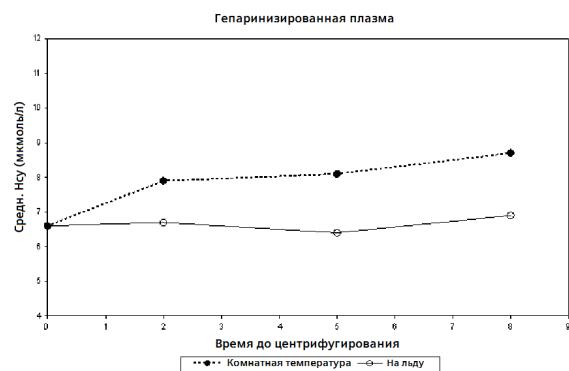


График 2: EDTA

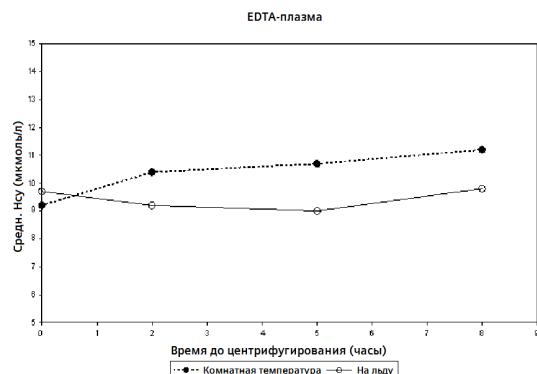
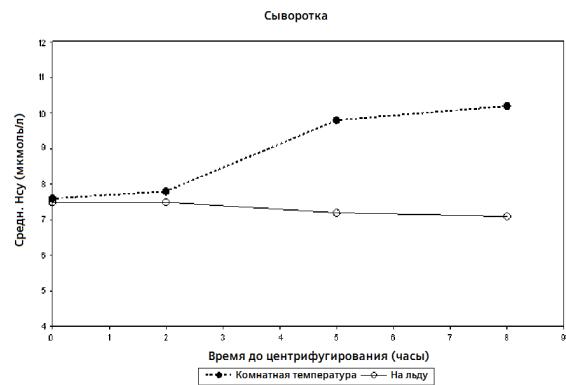


График 3: Сыворотка



IMMULITE является товарным знаком компании Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2018 Siemens Healthcare Diagnostics. Все права защищены.

Made in: UK



Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis, Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

2018-03-15

PIL2KHO – 24_RU

cc#EU23262, cc#EU23262A, cc#EU23343

Описание символов

На этикетку изделия могут наноситься следующие символы:

Символ	Описание	Символ	Описание
IVD	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Коррозия
REF	Каталожный номер		Череп и скрещенные кости
	Производитель		Окружающая среда
EC REP	Уполномоченный представитель в Европейском Союзе	BEAD PACK	Упаковка шариков
CE	Маркировка CE	TEST UNIT	Тест-единица
CE 0088	Маркировка CE с идентификационным номером нотифицированного органа	REAG WEDGE	
	Ознакомьтесь с инструкцией по применению	REAG WEDGE A	
	Внимание! Возможная биологическая опасность	REAG WEDGE B	
	Температурные ограничения (2–8°C)	REAG WEDGE D	
	Верхняя температурная граница (≤ –20°C)	ADJUSTOR L	Калибратор, низкий
	Нижняя температурная граница (≥ 2°C)	ADJUSTOR H	Калибратор, высокий
	Замораживать запрещено (> 0°C)	ADJUSTOR AB	Антитело калибратора
	Не использовать повторно	DIL	Разбавитель образца
	Не подвергать воздействию солнечных лучей	CONTROL CONTROL 1 CONTROL 2 CONTROL 3	Контрольный образец
LOT	Код партии	CONTROL + CONTROL + L	Положительный контрольный образец Низкоположительный контрольный образец

Символ	Описание	Символ	Описание
	Содержит количество, достаточное для (n) тестов	CONTROL -	Отрицательный контрольный образец
2008-01	Формат даты (год-месяц)	CONTROL AB	Антитело контроля
	Использовать до:	PRE A PRE B	Раствор для предварительной обработки
	Опасность для здоровья	DITHIOTHREITOL	Раствор дитиотрейтоля
	Восклицательный знак	BORATE-KCN BUF	Боратный буферный раствор с цианидом калия