

Homocystein FS*

Reagenz für die quantitative In-vitro-Bestimmung von Homocystein in Serum oder Plasma an photometrischen Systemen

Bestellinformation

Best.-Nr. Packungsgröße
1 3409 99 10 930 R1 4 x 12,5 mL + R2 1 x 8 mL + R3 1 x 6 mL
1 3400 99 10 041 3 x 1 mL TruCal Homocystein

Zusammenfassung [1]

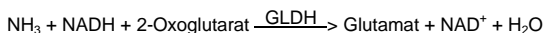
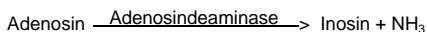
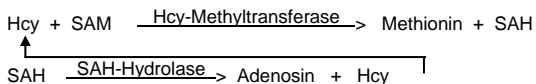
Homocystein ist eine schwefelhaltige Aminosäure, welche als Intermediärprodukt im Methioninstoffwechsel vorkommt. Erhöhte Homocysteinkonzentrationen im Plasma weisen als sensitiver Marker auf Folat- und Cobalamin (Vitamin B₁₂)-Mangelzustände hin. Darüber hinaus ist Homocystein ein unabhängiger Risikofaktor für Herz-Kreislaufkrankungen. Pathologische Homocystein-Konzentrationen werden auch im Zusammenhang mit Geburtsfehlern, Schwangerschaftskomplikationen, psychischen Erkrankungen und kognitiven Störungen (im Alter) häufig beobachtet.

Methode

Enzymatische Cycling-Methode

Prinzip

Oxidiertes Gesamt-Homocystein wird zu freiem Homocystein (Hcy) reduziert. Das freie Hcy reagiert mit dem Co-Substrat S-Adenosylmethionin (SAM), katalysiert durch eine Hcy-S-Methyltransferase, zu Methionin und S-adenosyl-Homocystein (SAH). SAH wird durch SAH-Hydrolase zu Adenosin und Hcy hydrolysiert. Das entstehende Hcy wird durch die Hcy-S-methyltransferase recycelt, was zu einer signifikanten Verstärkung des Messsignals führt. Das entstehende Adenosin wird sofort zu Inosin und Ammoniak hydrolysiert. Der gebildete Ammoniak wird durch die Glutamat-dehydrogenase umgesetzt, wobei NADH zu NAD⁺ umgewandelt wird. Die NADH-Abnahme wird bei 340 nm gemessen und ist proportional zur Homocystein-Konzentration in der Probe.



Hcy Homocystein
SAM S-Adenosylmethionin
SAH S-Adenosylhomocystein
GLDH Glutamatdehydrogenase

Reagenzien

Bestandteile und Konzentrationen

S-Adenosylmethionin (SAM)	0,1 mmol/L
NADH	0,2 mmol/L
TCEP	0,5 mmol/L
2-Oxoglutarat	5,0 mmol/L
Glutamatdehydrogenase	10 kU/L
SAH-Hydrolase	3,0 kU/L
Adenosindeaminase	5,0 kU/L
Hcy-Methyltransferase	5,0 kU/L

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

Die Reagenzien sind bei 2 – 8 °C bis zum Ende des auf der Packung angegebenen Verfallsmonats verwendbar, wenn nach dem Öffnen der Flaschen Kontaminationen vermieden werden. Lichtgeschützt aufbewahren! Reagenzien nicht einfrieren!

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

1. Die Reagenzien enthalten Natriumazid (< 1 g/L) als Konservierungsmittel. Nicht verschlucken! Berührung mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
2. In sehr seltenen Fällen kann es bei Proben von Patienten mit Gammopathien zu verfälschten Ergebnissen kommen [6].
3. Beachten Sie bitte die Sicherheitsdatenblätter und die notwendigen Vorsichtsmaßnahmen für den Gebrauch von Laborreagenzien. Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Patientenvorgeschichte, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.
4. Reagenzien verschiedener Chargen dürfen nicht gemischt werden.
5. Die Reagenzien sollen klar sein. Sie dürfen nicht mehr verwendet werden, wenn sie trüb werden, oder wenn die Extinktion von R1 unter 0,5 liegt (340 nm, Schichtdicke 0,6 cm).
6. Nur für professionelle Anwendung!

Entsorgung

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Vorbereitung der Reagenzien

3-Reagenzien-System

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

2-Reagenzien-System

2 mL R2 zu 12,5 mL R1 hinzufügen, gut mischen, dabei Schaumbildung vermeiden. Die Mischung ist bei 2 – 8 °C eine Woche stabil, wenn sie lichtgeschützt aufbewahrt wird.

Zusätzlich benötigte Materialien

NaCl-Lösung 9 g/L
Übliche Laborausrüstung

Probenmaterial

Serum, EDTA und Heparinplasma
Plasma sofort nach der Blutentnahme von den Zellbestandteilen trennen. Keine lipämischen oder hämolytischen Proben verwenden.

Stabilität in Serum und Plasma [2]

4 Tage	bei	20 – 25 °C
4 Wochen	bei	4 – 8 °C
4 Jahre	bei	–20 °C

Nur einmal einfrieren!
Kontaminierte Proben verwerfen!

Testschema für Analysenautomaten

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

3-Reagenzien-System

Basisparameter für Hitachi 911

Wellenlänge	700/340 nm (bichromatisch)
Temperatur	37 °C
Messung	2-Punkt End (Fixed-Time)
Probe/Kalibrator	15 µL
Reagenz 1	200 µL
Reagenz 2	32 µL
Reagenz 3	20 µL
Zugabe Reagenz 2	Cycle 5 (80 s)
Zugabe Reagenz 3	Cycle 15 (276 s)
Extinktion 1	Cycle 23 (460 s)
Extinktion 2	Cycle 31 (590 s)
Kalibration	linear

2-Reagenzien-System

Basisparameter für Hitachi 911

Wellenlänge	700/340 nm (bichromatisch)
Temperatur	37 °C
Messung	2-Punkt End (Fixed-Time)
Probe/Kalibrator	15 µL
Reagenz 1+2 (vorgemischt)	230 µL
Reagenz 3	20 µL
Zugabe Reagenz 3	Cycle 15 (276 s)
Extinktion 1	Cycle 23 (460 s)
Extinktion 2	Cycle 31 (590 s)
Kalibration	linear

Hinweis: Für die manuelle Bestimmung müssen die Volumina von Probe, Kalibrator und Reagenzien entsprechend umgerechnet werden.

Berechnung/Kalibration

Die Homocystein-Konzentration unbekannter Proben wird über eine lineare Kalibration berechnet. Die Kalibrationskurve wird mit TruCal Homocystein Level 1 und 2 erstellt. Für Cobas Mira wird TruCal Homocystein Level 0 und Level 2 verwendet. Die Kalibratorwerte sind rückverfolgbar auf das Referenzmaterial NIST SRM 1955.

Mit dem 3-Reagenzien-System ist die Kalibration mindestens 5 Tage stabil. Bei Anwendung des 2-Reagenzien-Systems muss täglich kalibriert werden.

Kontrollen

Für die interne Qualitätskontrolle sollte eine TruLab Homocystein Kontrolle gemessen werden. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall einer Abweichung bei der Kontrollwiederfindung festlegen.

	Best.-Nr.	Packungsgröße
TruLab Homocystein Level 1	5 9770 99 10 046	3 x 1 mL
TruLab Homocystein Level 2	5 9780 99 10 046	3 x 1 mL

Leistungsmerkmale

Messbereich

Der Test hat einen Messbereich bis 50 µmol/L. Wird dieser Bereich überschritten, müssen die Proben 1+1 mit NaCl-Lösung (9 g/L) verdünnt und das Ergebnis mit 2 multipliziert werden.

Spezifität/Interferenzen

Es treten keine Interferenzen auf mit Cystathionin bis 20 µmol/L, Adenosin bis 100 µmol/L, L-Cystein bis 1 mmol/L, Glutathion bis 500 µmol/L, Hämoglobin bis 1200 mg/dL, Ascorbinsäure bis 10 mmol/L, Bilirubin bis 20 mg/dL, Lipämie bis 2500 mg/dL Triglyceride, Natriumfluorid bis 1 mmol/L, Natriumphosphat bis 1 mmol/L und Ammonium bis 500 µmol/L. Weitere Informationen zu Interferenzen finden Sie bei Young DS [3].

Testempfindlichkeit/Nachweisgrenze

Die untere Nachweisgrenze ist 1 µmol/L.

Präzision

Gemäß Protokoll des NCCLS EP-5 (National Committee for Clinical Laboratory Standards)

Präzision in der Serie	n	Mittelwert [µmol/L]	Standardabweichung [µmol/L]	VK [%]
Probe 1	40	7,2	0,16	2,2
Probe 2	80	13,2	0,64	3,0
Probe 3	80	29,1	0,81	1,8

Gesamtpräzision	n	Mittelwert [µmol/L]	Standardabweichung [µmol/L]	VK [%]
Probe 1	40	7,2	0,29	4,1
Probe 2	80	13,2	0,72	5,9
Probe 3	80	29,1	0,92	4,0

Methodenvergleich

Bei einem Vergleich von DiaSys Homocystein FS (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 72 Proben folgende Ergebnisse erhalten:

$$y = 1,013 x - 0,162 \text{ µmol/L; } r = 0,978.$$

Referenzbereiche [4,5]

Frauen:

< 30 Jahre	6 – 14 [µmol/L]
30 – 59 Jahre	5 – 13 [µmol/L]
> 60 Jahre	7 – 14 [µmol/L]

Männer:

< 30 Jahre	6 – 14 [µmol/L]
30 – 59 Jahre	6 – 16 [µmol/L]
> 60 Jahre	6 – 17 [µmol/L]
> 85 Jahre	15 – 30 [µmol/L]

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln.

Literatur

1. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, Nexø E et al. Facts and recommendations about Total Homocysteine Determinations: an Expert Opinion. Clin Chem 2004; 50: 3-32.
2. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001. p. 34-5.
3. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
4. Schreiner H, Göbel-Schreiner B, Durst C, Casper R, Walch S. Homocysteine: reference values. Clin Lab 1997; 43: 1121-4.
5. Herrmann W, Quast S, Ullrich M, Schultze H, Geisel J. The importance of hyperhomocysteinemia in high age people. Clin Lab 1997; 43: 1005-9.
6. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45(9): 1240-1243.

Hersteller



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Deutschland