

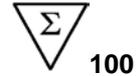
Axis-Shield Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Assay

REF B08176

(Vertrieb durch BECKMAN COULTER, nur für den professionellen Gebrauch auf BECKMAN COULTER AU Plattformen (AU400, AU480, AU680, AU5800 und DxC 700 AU))



Axis-Shield Diagnostics Ltd.
The Technology Park
Dundee DD2 1XA
United Kingdom
Tel.: +44 1382 422000
Fax: +44 1382 422088



DEUTSCH:

VERWENDUNGSZWECK

Der Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay ist für die quantitative *in-vitro*-Bestimmung des Gesamthomocysteins in Humanserum und -plasma vorgesehen. Das Produkt kann bei der Diagnose und Behandlung von Patienten eingesetzt werden, bei denen der Verdacht auf Hyperhomocysteinämie oder Homocystinurie besteht.

WARNUNG: Proben von Patienten, die im Rahmen einer Arzneimitteltherapie mit S-Adenosylmethionin behandelt werden, können fälschlicherweise erhöhte Homocysteinspiegel aufweisen. Patienten, die mit Methotrexat, Carbamazepin, Phenytoin, Distickstoffmonoxid, Antikonvulsiva oder 6-Azauridin-Triacetat behandelt werden, können infolge der Auswirkungen dieser Substanzen auf den Stoffwechselweg erhöhte Homocysteinspiegel zeigen. Weitere Informationen unter EINSCHRÄNKUNGEN DER ANWENDUNG in dieser Packungsbeilage.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG DES TESTS

Homocystein (HCY) ist eine thiolhaltige Aminosäure, die bei der intrazellulären Demethylierung von Methionin gebildet wird. Homocystein gelangt in das Plasma, wo es – hauptsächlich in seiner oxidierten Form – an Plasmaproteine gebunden in einem Gemisch aus Protein-SS-HCY-Disulfid und Albumin (Protein-SS-HCY) zirkuliert.¹⁻⁵ Zusätzlich liegen kleinere Mengen von reduziertem Homocystein und Disulfid-Homocystein (HCY-SS-HCY) vor. Gesamthomocystein (tHCY) ist die Summe aller HCY-Spezies, die im Serum oder Plasma vorkommen (frei oder proteingebunden). Homocystein wird zu Cystein oder zu Methionin verstoffwechselt. Über den Vitamin-B6-Transsulfurierungsweg wird Homocystein irreversibel zu Cystein katabolisiert. Ein wesentlicher Teil des Homocysteins wird – hauptsächlich durch das folat- und cobalamin-abhängige Enzym Methionin-Synthase – zu Methionin remethyliert. Bei einer Beeinträchtigung dieser Reaktionen kommt es zu einer Akkumulation von Homocystein mit Ausscheidung in das Blut.^{3,5} Bei Personen mit Homocystinurie – einer seltenen genetischen Störung der an der Verstoffwechslung von Homocystein beteiligten Enzyme – werden stark erhöhte Konzentrationen von Gesamthomocystein beobachtet. Patienten mit Homocystinurie zeigen eine mentale Retardierung und leiden an früh einsetzender Atherosklerose sowie arteriellen und venösen Thromboembolien.^{2,6} Andere, weniger schwerwiegende genetische Defekte, die zu leicht erhöhten Gesamthomocysteinspiegeln führen, werden ebenfalls beobachtet.⁷⁻⁹

Der Zusammenhang zwischen erhöhten Homocysteinspiegeln und kardiovaskulären Erkrankungen war Gegenstand epidemiologischer Studien. Eine Metaanalyse von 27 dieser Studien mit insgesamt über 4000 Patienten gelangte zu der Abschätzung, dass ein Anstieg des Gesamthomocysteinspiegels um 5 µmol/l mit einem Quotenverhältnis (Odds Ratio) für koronare Herzkrankheit (KHK) von 1,6 (95%-Konfidenzintervall: 1,4 bis 1,7) bei Männern bzw. 1,8 (95%-Konfidenzintervall: 1,3 bis 1,9) bei Frauen assoziiert war; das Quotenverhältnis (Odds Ratio) für zerebrovaskuläre Erkrankungen betrug 1,5 (95%-Konfidenzintervall: 1,3 bis 1,9). Das mit einem Anstieg des Gesamthomocysteins um 5 µmol/l assoziierte Risiko war mit dem eines Anstiegs des Cholesterinspiegels um 0,5 mmol/l (20 mg/dl) identisch. Weiterhin wurde ein enger Zusammenhang mit der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit beobachtet.¹⁰

Ein als Hyperhomocysteinämie bezeichneter erhöhter Homocysteinspiegel geht mit einem erhöhten Risiko von Herz-Kreislauf-Erkrankungen einher. Darüber hinaus gibt es eine Vielzahl von Veröffentlichungen zu prospektiven Studien, die den Zusammenhang zwischen Hyperhomocysteinämie und dem Risiko von Herz-Kreislauf-Erkrankungen bei anfangs gesunden Männern und Frauen untersuchten. Die Endpunkte basierten auf einem kardiovaskulären Ereignis wie z. B. akuter Myokardinfarkt, Schlaganfall, KHK oder Tod. Die Ergebnisse von elf dieser eingebetteten Fall-Kontroll-Studien, die von Cattaneo¹¹ analysiert wurden, waren nicht eindeutig: Bei fünf der Studien wurde ein Zusammenhang mit dem Risiko festgestellt, bei sechs hingegen nicht. In einer in jüngerer Zeit durchgeführten prospektiven Studie wurde der Homocysteinspiegel postmenopausaler Frauen bestimmt, die an der Women's Health Study teilnahmen. Dabei wurden Proben von 122 Frauen, bei denen in der Folge kardiovaskuläre Ereignisse auftraten, auf Homocystein getestet und mit denen einer Kontrollgruppe von 244 Frauen verglichen, die hinsichtlich Alter und Raucherstatus vergleichbar waren. Die Frauen in der Kontrollgruppe blieben über den dreijährigen Nachsorgezeitraum erkrankungsfrei. Die Ergebnisse belegten, dass postmenopausale Frauen, die kardiovaskuläre Ereignisse entwickelten, einen signifikant höheren initialen Homocysteinspiegel aufwiesen. Bei den Frauen, deren Spiegel im obersten Quartil lag, bestand ein zweifach erhöhtes Risiko für ein kardiovaskuläres Ereignis beliebiger Art. Es wurde nachgewiesen, dass ein initial erhöhter Homocysteinspiegel einen unabhängigen Risikofaktor darstellt.¹² Des Weiteren wurde der Homocysteinspiegel von 1933 älteren Männern und Frauen des Teilnehmerkollektivs der Framingham Heart Study bestimmt und nachgewiesen, dass erhöhte Homocysteinspiegel unabhängig mit einer erhöhten Gesamtsterblichkeitsrate wie auch mit einer erhöhten Rate kardiovaskulär bedingter Sterblichkeit einhergehen.¹³

Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz zeigen eine erhöhte Morbidität und Mortalität infolge atherosklerotischer Herz-Kreislauf-Erkrankungen. Viele dieser Patienten weisen erhöhte Homocysteinspiegel auf. Bei diesen Patienten herrscht zwar ein Mangel an bestimmten der an der Verstoffwechslung von Homocystein beteiligten Vitamine, die erhöhten HCY-Spiegel sind jedoch hauptsächlich auf die beeinträchtigte Clearance von Homocystein aus dem Blut durch die Nieren zurückzuführen.^{14,15}

Wirkstoffe wie Methotrexat, Carbamazepin, Phenytoin, Distickstoffmonoxid und 6-Azauridin-triacetat stören den HCY-Stoffwechsel und können zu erhöhten HCY-Spiegeln führen.¹⁶

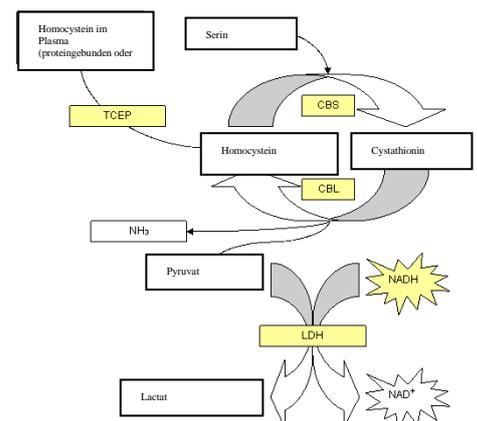
PRINZIP DES ASSAYS

Gebundenes oder dimerisiertes Homocystein (oxidierte Form) wird zu freiem Homocystein reduziert, das dann in einer durch Cystathionin-Beta-Synthase (CBS) katalysierten Reaktion mit Serin zu Cystathionin reagiert. Cystathionin wird wiederum durch Cystathionin-Beta-Lyase (CBL) zu Homocystein, Pyruvat und Ammoniak abgebaut. Pyruvat wird anschließend durch Lactatdehydrogenase (LDH) zu Lactat umgewandelt, wobei Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid (NADH) als Coenzym fungiert. Die Rate der Umwandlung von NADH in NAD⁺ ist direkt proportional zur Homocysteinkonzentration (DE: 340 nm).

Reduktion: Dimerisiertes Homocystein, gemischtes Disulfid und proteingebundene Formen von HCY in der Probe werden durch Anwendung von Tris(2-carboxyethyl)phosphan (TCEP) zu freiem HCY reduziert.



Enzymatische Umwandlung: Freies HCY wird durch Cystathionin-Beta-Synthase und einen Serin-Überschuss in Cystathionin umgewandelt. Cystathionin wiederum wird zu Homocystein, Pyruvat und / Pyruvat mittels Lactatdehydrogenase mit NADH als Coenzym in Lactat umgewandelt. Die Rate der Umwandlung von NADH in NAD⁺ ist direkt proportional zur Homocysteinkonzentration (ΔE: 340 nm).



ZUSÄTZLICHE INFORMATIONEN

Da Beckman Coulter das Reagenz nicht herstellt und keine Qualitätskontrollen oder andere Tests an einzelnen Chargen durchführt, übernimmt Beckman Coulter für die Qualität der erhaltenen Daten, die von den Leistungsdaten des Reagenzes, etwaigen Variationen zwischen den Reagenzchargen oder vom Hersteller vorgenommenen Protokolländerungen beeinflusst werden kann, keine Verantwortung.

TECHNISCHE UNTERSTÜTZUNG

- Für technische Unterstützung wenden Sie sich an Ihre Beckman Coulter Vertretung vor Ort.
- Bei Versandschäden – Benachrichtigen Sie das Beckman Coulter Clinical Support Center, wenn dieses Produkt bei Erhalt beschädigt ist.
- Gebrauchsanleitungen (einschließlich Übersetzungen und Parameter für die Vermeidung von Kreuzkontaminationen) finden Sie unter www.homocysteine.org.uk/BCI

BESTELLINFORMATIONEN UND KOMPONENTEN DES KITS

Unter den folgenden Bestellnummern können Sie Materialien bei Ihrer Beckman Coulter Vertretung vor Ort nachbestellen:

Bestellnummer	Beschreibung	Zusammensetzung	Gefahren
B08176	REAG 1 – 1 x 30 ml Farb- und geruchlose Flüssigkeit	NADH (0,47 mM), LDH (38 kU/l), Serin (0,76 mM), Trizma-Base 1 – 10 %, Trizma-Hydrochlorid 1 – 10 %, Natriumazid < 1 %. Reduktionsmittel (TCEP: 2,9 mM) Gebrauchsfertig	
	REAG 2 – 1 x 5 ml Blassgelbe, geruchlose Flüssigkeit	Zyklusenzyme CBS (0,748 kU/l) und CBL (16,4kU/l), Natriumazid < 1 %. Gebrauchsfertig	
	CAL 0 µM – 1 x 3,0 ml (Blaue Kappe) Farb- und geruchlose Flüssigkeit	Wässrige Homocystein-Leerprobe (0 µmol/l). Gebrauchsfertig	
	CAL 28 µM – 1 x 3,0 ml (Rote Kappe) Farb- und geruchlose Flüssigkeit	Wässrige Homocysteinlösung (28 µmol/l). Gebrauchsfertig	

Die Kalibratoren werden gravimetrisch hergestellt und sind auf NIST SRM 1955 rückverfolgbar (bestätigt durch HPLC-Messung). Die jeweiligen Werte sind auf den Etiketten aufgedruckt (0 µmol/l und 28 µmol/l).

Beckman Coulter bietet auch ein Homocystein-Kontrollen-Kit (**Bestell-Nr. B08177**) mit den Kontrollen „Niedrig“, „Mittel“ und „Hoch“ für die Verwendung mit dem Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay an.

LAGERUNG UND TRANSPORT VON REAGENZIEN

- 
- Die Kit-Komponenten bei 2 °C bis 8 °C lagern und bis zu dem auf den Etiketten aufgedruckten Verfallsdatum verbrauchen. Abgelaufene Reagenzien dürfen nicht verwendet werden.
 - Das Beckman Coulter Clinical Support Center benachrichtigen, wenn dieses Produkt bei Erhalt beschädigt ist.
 - Reagenzien können bis zum Ablauf des auf den Etiketten aufgedruckten Verfallsdatums mehrmals verwendet werden. Reagenzien **müssen** zwischen den Anwendungen wieder bei 2 °C bis 8 °C aufbewahrt werden.
 - Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen des Reagenzkits dürfen nicht miteinander vermischt werden.
 - REAGENZIEN NICHT EINFRIEREN.**
 - Reagenzien vor Lichteinfall schützen.
 - Kontamination von Reagenzien vermeiden. Bei jedem Pipettieren eines Reagenzes oder einer Probe eine neue Einmalpipettenspitze verwenden.
 - Lagerung im Instrument. In das System eingesetzt können die Reagenzien in allen AU-Plattformen (AU400, AU480, AU680, AU5800 **und Dx-C 700 AU**) für bis zu 30 Tage gelagert werden.
 - Die Reagenzien dürfen keine Partikel aufweisen. Beim Auftreten einer Trübung müssen sie entsorgt werden.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Nur für die in-vitro-Diagnostik

- Die Anweisungen in dieser Packungsbeilage, insbesondere zu Handhabung und Lagerungsbedingungen, sind genau zu befolgen.
- Reagenz 1 und Reagenz 2 enthalten Natriumazid, das unter Bildung hochexplosiver Metallazide mit Blei- und Kupferrohren reagieren kann. Bei der Entsorgung mit großen Mengen Wasser nachspülen, um die Ablagerung von Aziden zu vermeiden.
- Sicherheitsdatenblätter für alle in diesem Kit enthaltenen gefährlichen Komponenten sind auf Anfrage vom Hersteller Axis-Shield Diagnostics Ltd. erhältlich.

REAG 1	EUH032 -	Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.
REAG 2		

Vorsicht: Nach US-amerikanischem Bundesrecht darf diese Vorrichtung nur durch einen Arzt oder auf ärztliche Verordnung hin abgegeben werden.

ABNAHME UND HANDHABUNG DER PROBEN

- Für die Bestimmung des Homocysteinspiegels können Serum (in Serum- oder Serumtrennröhrchen abgenommen) und Plasma (in Kalium-EDTA- oder Lithium-Heparin-Röhrchen abgenommen) verwendet werden.
Es wird jedoch davon abgeraten, für einen individuellen Patienten wechselweise die mittels Serum, heparinisiertem Plasma und EDTA-Plasma bestimmten Werte zu verwenden.²⁶ Zudem liegen Berichte über Matrixunterschiede zwischen Serum-, Serumtrenn- und Plasmaröhrchen vor.¹⁸
Die Proben sind wie folgt zu verarbeiten, um einen durch die Erythrozyten-Synthese bedingten Anstieg der Homocysteinkonzentration auf ein Minimum zu beschränken:
 - Alle Proben (Serum und Plasma) nach der Abnahme und vor der Verarbeitung auf Eis stellen. Serum gerinnt u. U. langsamer und das Volumen kann abnehmen.¹⁶
 - Alle Proben können vor dem Trennen durch Zentrifugieren maximal 6 Stunden lang auf Eis gelagert werden.¹⁶
 - Erythrozyten durch Zentrifugieren vom Serum oder Plasma trennen und in einen Probenbecher oder einen anderen sauberen Behälter überführen.**Hinweis:** Proben, die nicht sofort auf Eis gestellt werden, können eine um 10 % bis 20 % höhere Homocysteinkonzentration aufweisen.¹⁷
- Wenn der Assay innerhalb von 2 Wochen nach der Abnahme durchgeführt wird, sind die Proben bei 2 °C bis 8 °C zu lagern. Vergehen bis zum Test mehr als 2 Wochen, müssen die Proben bei -20 °C oder tieferen Temperaturen gelagert werden. Proben, die bei -20 °C gelagert werden, sind erwiesenermaßen bis zu 8 Monate lang stabil.^{16,18}
- Der Anwender muss sicherstellen, dass für den Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay der (die) richtige(n) Probentyp(en) verwendet wird (werden).
- Alle Proben (einschließlich Kalibratoren und Kontrollen) auf Blasen untersuchen. Etwaige Blasen vor der Analyse entfernen.
- Proben, die Partikel enthalten (Fibrin, Erythrozyten und andere Partikel), sowie sichtbar lipämische Proben dürfen mit dem Assay nicht untersucht werden. Die von derartigen Proben stammenden Ergebnisse können falsch sein.
- Die Proben nach dem Auftauen durch Mischen auf dem Vortexer mit niedriger Drehzahl oder durch behutsames Umdrehen **gründlich** mischen, um konsistente Ergebnisse zu gewährleisten. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermeiden. Proben mit suspendierten Partikeln, Erythrozyten oder Trübungen müssen vor dem Testen zentrifugiert werden.

ERGEBNISSE

Ergebnisse werden in µmol/l berichtet. Proben mit einer Konzentration von mehr als 44 µmol/l müssen je nach Konzentration im Verhältnis 1:2 (Probe/Kalibrator) oder 1:9 (Probe/Kalibrator) mit Kalibrator 0 µmol/l verdünnt werden. Es ist sicherzustellen, dass die Ergebnisse mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multipliziert werden.

ERWARTETE WERTE

Referenzbereich: Der Referenzbereich ist von jedem Labor entsprechend der Eigenschaften der zu untersuchenden Population selbst festzulegen. Bis das Labor selbst genügend Proben analysiert hat, um einen eigenen Referenzbereich festzulegen, können die folgenden Daten als vorübergehende Referenz verwendet werden. Die HCY-Konzentration im Plasma oder Serum variiert bei gesunden Personen mit dem Alter, dem Geschlecht, der geographischen Region und genetischen Faktoren. In der Fachliteratur finden sich Referenzwerte für erwachsene Männer und Frauen zwischen 5 und 15 µmol/l, wobei die Werte bei Männern höher sind als bei Frauen und die Werte bei postmenopausalen Frauen höher sind als bei prämenopausalen Frauen.^{16,19,20} Die HCY-Werte nehmen mit dem Alter normalerweise zu, so dass der Referenzbereich bei älteren Menschen (> 60 Jahre) von 5 bis 20 µmol/l reicht.²¹ In Ländern mit Programmen zur Folsäureanreicherung werden möglicherweise niedrigere HCY-Konzentrationen beobachtet.^{22,23}

Messbereich: Der Messbereich des Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assays reicht von 2 bis 44 µmol/l.

ANWENDUNGSGRENZEN

- Nur für die in-vitro-Diagnostik. Nur für die professionelle Verwendung.
- Der lineare Bereich des Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assays reicht auf den AU-Plattformen bei Beachtung der Anwendungshinweise von 2 bis 44 µmol/l. Proben mit einer Konzentration von mehr als 44 µmol/l müssen je nach Konzentration im Verhältnis 1:2 (Probe/Kalibrator) oder 1:9 (Probe/Kalibrator) mit Kalibrator 0 µmol/l verdünnt werden.
- Die Reagenzien müssen klar sein. Getrübe Reagenzien müssen entsorgt werden.
- Gemeinsam mit dem Homocystein wird auch das Cystathionin gemessen, jedoch hat der Cystathionin-Spiegel in der allgemeinen Population nur einen vernachlässigbaren Einfluss auf das Messergebnis (0,065 bis 0,3 µmol/l). In sehr seltenen Fällen, bei terminaler Nierenerkrankung und bei Patienten mit schweren Stoffwechselstörungen können die Cystathionin-Spiegel stark ansteigen und in stark ausgeprägten Fällen Störungen von über 20 % verursachen.^{24,25}
- Carbamazepin, Methotrexat, Phenytoin, Distickstoffmonoxid oder 6-Azauridinriacetat können die Homocysteinkonzentration beeinflussen.¹⁶
- Hinweis:** Proben von Patienten, die im Rahmen einer Arzneimitteltherapie mit S-Adenosylmethionin behandelt werden, können fälschlicherweise erhöhte Homocysteinspiegel aufweisen. Patienten, die mit Methotrexat, Carbamazepin, Phenytoin, Distickstoffmonoxid, Antikonvulsiva oder 6-Azauridin-Triacetat behandelt werden, können infolge der Auswirkungen dieser Substanzen auf den Stoffwechselweg erhöhte Homocysteinspiegel zeigen.
- Proben, die Partikel enthalten (Fibrin, Erythrozyten und andere Partikel), sowie sichtbar lipämische Proben dürfen mit dem Assay nicht untersucht werden. Die von derartigen Proben stammenden Ergebnisse können falsch sein.
- Einschränkungen: Eine Verschleppung (über Reagenziensonde/-mischer oder Reaktionsküvette) von Hydroxylamin (in bestimmten Eisenreagenzien auftretend) kann falsch niedrige Resultate zur Folge haben. In den meisten Fällen (einschließlich dem Beckman Coulter UIBC-Reagenz Bestellnr. OSR 1205, das Hydroxylamin enthält) sind Routine-Spülverfahren nicht ausreichend, um dieses Problem zu eliminieren. Beachten Sie hinsichtlich der Vermeidung einer Verschleppung auf AU-Systeme das Axis Shield Kontaminationsvermeidungsprotokoll.
Stellen Sie sicher, dass die geeigneten Kontaminationsvermeidungsparameter implementiert wurden. Der Axis-Shield Kundendienst stellt auf Anfrage analyzerspezifische Kontaminationsvermeidungsparameter bereit.
- Ist das Homocystein **REAG 1**-Reagenz in das Reagenzienkarussell eines Analysegeräts der BECKMAN COULTER AU-Linie eingesetzt, kann dieses Ethanolämpfe freisetzen. Vermeiden Sie eine gemeinsame Verwendung von ethanolhaltigen Reagenzien und Homocystein um eine potenzielle Kontamination über die Atmosphäre auszuschließen.

LEISTUNGSDATEN

BASIEREND AUF AN BECKMAN COULTER AU-PLATTFORMEN – AU400, AU480, AU680, AU5800 UND DXC 700 AU – GENERIERTEN MESSWERTEN

Genauigkeit

An Plasmaproben von augenscheinlich gesunden Erwachsenen wurde eine Korrelationsstudie durchgeführt. Alle Proben wurden mit dem Liquid Stable (LS) 2 Part Homocysteine Reagent Assay gemäß CLSI-Dokument (vormals NCCLS) EP9-A2²⁷ analysiert. Alle Ergebnisse sind für ein 95%-Konfidenzintervall angegeben. Diese Studie kam zu den folgenden Ergebnissen (zusätzlich angegeben: Probenbereiche);

Vergleich von/mit	Beckman Coulter AU400 / Catch Liquid Stable	Beckman Coulter AU480 / AU400	Beckman Coulter AU680 / AU400	Beckman Coulter AU5800 / AU400	Beckman Coulter DxC 700 AU / AU400
Anzahl der Proben	94	99	98	99	94
Steigung der Regressionsgeraden	0,99	0,97	0,97	0,98	0,99
y-Achsen-Abschnitt	0,17	-0,68	-0,22	-0,75	0,67
Korrelationskoeffizient	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Probenbereich	6,5 – 49,0	8,5 – 45,1	8,5 – 45,1	8,5 – 45,1	5,8-45,9

Präzision

Gemäß den Richtlinien von CLSI-Dokument (vormals NCCLS) EP5-A2²⁸ wurden Untersuchungen auf den AU-Plattformen (AU400, AU480, AU680, AU5800 und Dx^C 700 AU) durchgeführt. Für jedes System wurden unter Verwendung von zwei Reagenzchargen an zwei unterschiedlichen Zeitpunkten pro Tag mindestens 5 Tage lang drei HCY-Kontrollen und drei Humanplasmaproben in Doppelbestimmung getestet. Die Ergebnisse sind nachstehend zusammengefasst:

Beckman Coulter AU400

Probe	n	Reagenzcharge	Mittelwert	Innerhalb einer Serie		Zwischen Serien		Gesamt	
				SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
Kontrolle „Niedrig“	80	1	6,28	0,17	2,6	0,11	1,7	0,28	4,4
	80	2	6,29	0,13	2,1	0,11	1,7	0,26	4,1
Kontrolle „Mittel“	80	1	12,33	0,18	1,5	0,15	1,2	0,37	3,0
	80	2	12,24	0,16	1,3	0,16	1,3	0,39	3,2
Kontrolle „Hoch“	80	1	25,53	0,38	1,5	0,35	1,4	0,65	2,5
	80	2	25,27	0,41	1,6	0,00	0,0	0,73	2,9
Probe P1	80	1	6,67	0,13	1,9	0,00	0,0	0,23	3,3
	80	2	6,97	0,15	2,2	0,00	0,0	0,31	4,4
Probe P2	80	1	35,96	0,46	1,3	0,40	1,1	0,89	2,5
	80	2	35,53	0,40	1,1	0,23	0,7	0,82	2,3
Probe P3	80	1	48,31	0,53	1,1	0,42	0,9	0,97	2,0
	80	2	47,66	0,47	1,0	0,38	0,8	1,07	2,2

Beckman Coulter AU480

Probe	n	Reagenzcharge	Mittelwert	Innerhalb einer Serie		Zwischen Serien		Gesamt	
				SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
Kontrolle „Niedrig“	20	1	6,73	0,07	1,1	0,17	2,6	0,21	3,1
	20	2	6,51	0,17	2,5	0,11	1,7	0,22	3,4
Kontrolle „Mittel“	20	1	12,74	0,18	1,4	0,13	1,0	0,24	1,9
	20	2	12,43	0,22	1,8	0,17	1,3	0,30	2,4
Kontrolle „Hoch“	20	1	26,13	0,24	0,9	0,11	0,4	0,46	1,8
	20	2	25,66	0,17	0,7	0,12	0,5	0,47	1,8
Probe P1	20	1	10,54	0,33	3,1	0,00	0,0	0,37	3,5
	20	2	11,00	0,71	6,5	0,00	0,0	0,92	8,4
Probe P2	20	1	28,71	0,24	0,9	0,18	0,6	0,58	2,0
	20	2	28,20	0,18	0,6	0,12	0,4	0,60	2,1
Probe P3	20	1	37,63	0,32	0,9	0,18	0,5	0,97	2,6
	20	2	36,98	0,21	0,6	0,12	0,5	0,91	2,5

Beckman Coulter AU680

Probe	n	Reagenzcharge	Mittelwert	Innerhalb einer Serie		Zwischen Serien		Gesamt	
				SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
Kontrolle „Niedrig“	20	1	6,96	0,16	2,4	0,00	0,0	0,16	2,4
	20	2	6,79	0,16	2,3	0,02	0,3	0,21	3,1
Kontrolle „Mittel“	20	1	13,03	0,12	1,0	0,15	1,2	0,20	1,5
	20	2	12,76	0,20	1,6	0,05	0,4	0,22	1,7
Kontrolle „Hoch“	20	1	26,38	0,23	0,9	0,28	1,0	0,41	1,6
	20	2	26,19	0,31	1,2	0,24	0,9	0,40	1,5
Probe P1	20	1	10,76	0,30	2,8	0,00	0,0	0,32	3,0
	20	2	10,65	0,32	3,0	0,00	0,0	0,39	3,6
Probe P2	20	1	28,90	0,34	1,2	0,15	0,5	0,48	1,6
	20	2	28,67	0,42	1,5	0,06	0,5	0,73	2,5
Probe P3	20	1	37,78	0,28	0,7	0,16	0,4	0,51	1,4
	20	2	37,90	0,28	0,7	0,11	0,3	0,67	1,8

Beckman Coulter AU5800

Probe	n	Reagenzcharge	Mittelwert	Innerhalb einer Serie		Zwischen Serien		Gesamt	
				SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
Kontrolle „Niedrig“	20	1	6,49	0,24	3,6	0,00	0,0	0,30	4,7
	20	2	6,70	0,13	2,2	0,07	1,1	0,16	2,7
Kontrolle „Mittel“	20	1	12,52	0,23	1,8	0,00	0,0	0,23	1,8
	20	2	12,57	0,17	1,4	0,19	1,5	0,26	2,1
Kontrolle „Hoch“	20	1	25,87	0,26	1,0	0,32	1,2	0,41	1,6
	20	2	25,69	0,30	1,2	0,16	0,6	0,34	1,3
Probe P1	20	1	10,53	0,16	1,5	0,00	0,0	0,35	3,3
	20	2	10,53	0,27	2,6	0,00	0,0	0,34	3,2
Probe P2	20	1	28,58	0,22	0,8	0,24	0,8	0,52	1,8
	20	2	28,42	0,29	1,0	0,07	0,3	0,49	1,7
Probe P3	20	1	37,67	0,35	0,9	0,27	0,7	0,79	2,1
	20	2	37,55	0,29	0,8	0,26	0,7	0,55	1,5

Beckman Coulter DxC 700 AU

Probe	n	Reagenzcharge	Mittelwert	Innerhalb einer Serie		Zwischen Serien		Gesamt	
				SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
Kontrolle „Niedrig“	80	1	5.77	0.1	1.7	0.0	0.0	0.3	5.1
	80	2	5.83	0.1	2.1	0.1	1.6	0.3	4.8
Kontrolle „Mittel“	80	1	11.72	0.1	1.1	0.0	0.0	0.4	3.0
	80	2	11.72	0.2	1.4	0.0	0.0	0.4	3.6
Kontrolle „Hoch“	80	1	23.34	0.2	0.9	0.0	0.0	0.6	2.4
	80	2	23.45	0.2	0.8	0.1	0.5	0.6	2.7
Probe P1	80	1	10.54	0.2	2.2	0.2	1.7	0.4	3.9
	80	2	10.63	0.2	2.2	0.2	2.2	0.4	4.1
Probe P2	80	1	29.16	0.5	1.5	0.2	0.6	0.7	2.5
	80	2	29.12	0.5	1.6	0.3	1.1	0.8	2.8
Probe P3	80	1	38.20	0.5	1.2	0.2	0.6	0.9	2.2
	80	2	38.16	0.6	1.5	0.0	0.0	1.0	2.6

Linearität der Verdünnung

Die Linearität der Verdünnung des Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assays auf den Beckman AU-Plattformen ergibt eine prozentuale Wiederfindung von $100 \pm 10\%$ für alle Proben über den gesamten Bereich des Assays. Proben mit einer Konzentration über $44 \mu\text{mol/l}$ zeigen nach Verdünnung in den Messbereich des Assays eine mittlere Wiederfindung von $100\% \pm 11\%$ aller erwarteten Ergebnisse.

Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LOD) jedes einzelnen Systems wurde in Übereinstimmung mit dem CLSI-Dokument (früher NCCLS) EP17-A²⁹ bestimmt. Die LOD-Werte ($\mu\text{mol/l}$) sind nachstehend tabellarisch aufgeführt:

Beckman Coulter AU400	Beckman Coulter AU480	Beckman Coulter AU680	Beckman Coulter AU5800	Beckman Coulter DxC 700 AU
0,33	0,39	0,54	0,59	1,04

Analytische Spezifität

Die Bestimmung der analytischen Spezifität (in Übereinstimmung mit CLSI-Dokument EP7-A²⁹) für die in der folgenden Tabelle aufgeführten Störsubstanzen erfolgte ausschließlich auf dem Beckman Coulter AU400:

Störsubstanz	Konzentration der Störsubstanz	Störung [%]
Bilirubin	20 mg/dl	$\leq \pm 10$
Hämoglobin	500 mg/dl	$\leq \pm 10$
Erythrozyten	0,4 %	$\leq \pm 10$
Triglycerid	500 mg/dl	$\leq \pm 10$
Glutathion	1000 $\mu\text{mol/l}$	$\leq \pm 10$
Methionin	800 $\mu\text{mol/l}$	$\leq \pm 10$
L-Cystein	200 $\mu\text{mol/l}$	$\leq \pm 10$
Pyruvat	1250 $\mu\text{mol/l}$	$\leq \pm 10$

Keine dieser Substanzen führte zu einer signifikanten Störung des Assays.

Proben mit erhöhtem Proteinspiegel zeigen im Vergleich zu Ergebnissen, die mit normalen Proben gewonnen wurden, Abweichungen über 10 % und müssen vermieden werden.

Informationen zu möglichen Störungen durch Arzneimittel, Erkrankungen oder präanalytische Variablen entnehmen Sie Literaturverweis 16 im Abschnitt „Quellenangaben“ dieser Packungsbeilage.

Probenverschleppung

Auf allen AU-Plattformen durchgeführte Studien zur Probenverschleppung haben gezeigt, dass die Verschleppung unter der Nachweisgrenze des Assays liegt.

Reagenzstabilität im System

Die Reagenzien sind in allen AU-Plattformen für 30 Tage stabil.

Stabilität der Kalibrierung

Die Kalibrierungskurve ist gemäß Verifizierung auf dem Beckman Coulter AU400 bis zu 30 Tage und gemäß Verifizierung auf dem Beckman Coulter AU5800 und DxC 700 AU bis zu 14 Tage stabil.

Probentypen

Zu den Probenabnehmeröhrchen, die für den Gebrauch getestet wurden, gehören EDTA- und Lithium-Heparin-Plasmaröhrchen sowie Serum- und Seruntrennröhrchen. Andere Probenabnehmeröhrchen wurden nicht getestet.

Für die Bestimmung des Homocysteinspiegels können Serum (in Serum- oder Seruntrennröhrchen abgenommen) und Plasma (in Kalium-EDTA- oder Lithium-Heparin-Röhrchen abgenommen) verwendet werden. Der Anwender hat sicherzustellen, dass der richtige Röhrchentyp verwendet wird. Es wird jedoch davon abgeraten, für einen individuellen Patienten wechselweise die mittels Serum, heparinisiertem Plasma und EDTA-Plasma bestimmten Werte zu verwenden.²⁶ Zudem liegen Berichte über Matrixunterschiede zwischen Serum-, Seruntrenn- und Plasmaröhrchen vor.¹⁸

ASSAY-PROTOKOLLS FÜR AU-PLATTFORMEN (AU400, AU480, AU680, AU5800 und DxC 700 AU)

Stellen Sie sicher, dass die Assay-Parameter exakt mit den im Folgenden aufgeführten Parametern übereinstimmen.

AU400 – VERFAHRENSPARAMETER

Testnr. [*]	Name [HCY]	Typ [Ser.]	
Probenvolumen:	[16,5] µl	Verdünnungsmittelvolumen:	[0,0] µl
Vorverdünnungsfaktor:	[1]		
Volumen Reagenz 1:	[250] µl	Verdünnungsmittelvolumen:	[0,0] µl
Volumen Reagenz 2:	[25] µl	Verdünnungsmittelvolumen:	[0,0] µl
Primäre Wellenlänge:	[340] nm		
Sekundäre Wellenlänge:	[380] nm		
Reaktionsmethode:	RATE1		
Steilheit der Reaktion	[-]		
Punkt 1	Erster [15]		
	Letzter [27]		
Punkt 2	Erster []		
	Letzter []		
Linearität	[100] %		
Keine-Verzögerung-Zeit	[Nein]		
Min. OD		Max. OD	
L [-2,0]		H [2,5]	
Reagenz-OD-Grenze	Erster L []	Letzter H []	
	Letzter L []	Letzter H []	
Dynamischer Bereich:	L [2,0]	H [44,0]	
Korrelationsfaktor:	A [1,0]	B [0,0]	
Stabilität (in das System eingesetzt):		[30]	
Kalibrierungsspezifikationen:			
	Punkt	OD	Konz.
	1 [*]	[]	[0,0]
	2 [*]	[]	[**]
	Kalibrierungstyp:		[AA]
	Formel:	[Y=AX+B]	

*Anwenderdefiniert **Werte auf Kalibratorfläschchen eingeben

AU480 / AU680 – VERFAHRENSPARAMETER

Testnr. [*]	Name [HCY]	Typ [Ser.]	
Probenvolumen:	[10] µl	Verdünnungsmittelvolumen:	[0,0] µl
Vorverdünnungsfaktor:	[1]		
Volumen Reagenz 1:	[155] µl	Verdünnungsmittelvolumen:	[0,0] µl
Volumen Reagenz 2:	[16] µl	Verdünnungsmittelvolumen:	[0,0] µl
Primäre Wellenlänge:	[340] nm		
Sekundäre Wellenlänge:	[380] nm		
Reaktionsmethode:	RATE1		
Steilheit der Reaktion	[-]		
Punkt 1	Erster [15]		
	Letzter [27]		
Punkt 2	Erster []		
	Letzter []		
Linearität	[25] %		
Keine-Verzögerung-Zeit	[Ja]		
Min. OD		Max. OD	
L [...]		H [...]	
Reagenz-OD-Grenze	Erster L [-2,0]	Erster H [2,5]	
	Letzter L [-2,0]	Letzter H [2,5]	
Dynamischer Bereich:	L [2,0]	H [44,0]	
Korrelationsfaktor:	A [1,0]	B [0,0]	
Stabilität (in das System eingesetzt):		[30]	
LIH-Einflussprüfung		[Nein]	
Kalibrierungsspezifikationen:			
	Punkt	OD	Konz.
	1 [*]	[]	[0,0]
	2 [*]	[]	[**]
	Kalibrierungstyp:		[AA]
	Formel:	[Y=AX+B]	
Stabilität	Reagenzienblindwert [30] Tage	Kalibrierung [14] Tage	

*Anwenderdefiniert **Werte auf Kalibratorfläschchen eingeben

AU5800 – VERFAHRENSPARAMETER

Testnr. [*]	Name [HCY]	Typ [Ser.]	
Probenvolumen:	[7,5] µl	Verdünnungsmittelvolumen:	[0,0] µl
Vorverdünnungsfaktor:	[1]		
Volumen Reagenz 1:	[115] µl	Verdünnungsmittelvolumen:	[0,0] µl
Volumen Reagenz 2:	[12] µl	Verdünnungsmittelvolumen:	[0,0] µl
Primäre Wellenlänge:	[340] nm		
Sekundäre Wellenlänge:	[380] nm		
Reaktionsmethode:	RATE1		
Steilheit der Reaktion	[-]		
Punkt 1	Erster [15]		
	Letzter [27]		
Punkt 2	Erster []		
	Letzter []		
Linearität	[25] %		
Keine-Verzögerung-Zeit	[Ja]		
Min. OD		Max. OD	
L []		H []	
Reagenz-OD-Grenze	Erster L [-2,0]	Erster H [2,5]	
	Letzter L [-2,0]	Letzter H [2,5]	
Dynamischer Bereich:	L [2,0]	H [44,0]	
Korrelationsfaktor:	A [1,0]	B [0,0]	
Stabilität (in das System eingesetzt):		[30]	
LIH-Einflussprüfung		[Nein]	
Kalibrierungsspezifikationen:			
	Punkt	OD	Konz.
	1 [*]	[]	[0,0]
	2 [*]	[]	[**]
	Kalibrierungstyp:		[AA]
	Formel:	[Y=AX+B]	
Stabilität	Reagenzienblindwert [30] Tage	Kalibrierung [14] Tage	

*Anwenderdefiniert **Werte auf Kalibratorfläschchen eingeben

DxC 700 AU – PARAMETER DES TESTVERFAHRENS

Testname	Name [HCY1G]	Reagenz-ID [225]	
Probenvolumen:	[10] µl	Verdünnungsmittel	[0,0] µl
Vorverdünnungsfaktor:	[1]		
Volumen Reagenz 1 (R1):	[155] µl	Verdünnungsmittel	[0,0] µl
Volumen Reagenz 2 (R2):	[16] µl	Verdünnungsmittel	[0,0] µl
Primäre Wellenlänge:	[340] nm		
Sekundäre Wellenlänge:	[380] nm		
Reaktionsmethode:	RATE1		
Steilheit der Reaktion	[-]		
Messpunkt 1	Erster [15]	Letzter [27]	
Messpunkt 2	Erster []	Letzter []	
Linearität	[25] %		
Prüfung der Verzögerungszeit	[Ja]		
Min. optische Dichte (OD)	[-2,0]	Max. OD	[3,0]
Reagenz-OD-Grenze	Erster C [-2,0]	C [2,5]	
	Letzter L [-2,0]	C [2,5]	
Analytischer Messbereich	C* [2,0]	C* [44,0]	
Korrelationsfaktor:	A [1]	B [0]	
Stabilität im System:		[30]	
LIH-Einflussprüfung:		[Nein]	
Wert/Markierung	[Wert]		
Unterer	[-9999999]	Oberer	[9999999]
Kritische Grenzwerte	Unterer [-9999999]	Oberer [9999999]	Einheit [µmol/l]
Dezimalstellen	[1]		
Testname:	[HCY1G]	[HCY1G]	[Serum]
Kalibrierungstyp	[AA]	Formel	[Y=AX+B]
Anzahl	[2]		
Punkt 1	[Cal0]	Konz. [0]	Oberer [9999999] Unterer [9999999]
Punkt 1	[Cal28]	Konz. [28]	Oberer [9999999] Unterer [9999999]
Steigungsprüfung	[Keine]	Erweiterte Kalibrierung	[Nein]
Stabilität Reagenzleerwert	[30] Tage	[0] Stunden	

*Werte für Messung in µmol eingestellt

QUELLENANGABEN

1. McCully KS. Vascular Pathology of Homocysteinemia: Implications for the Pathogenesis of Arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969;56:111-122
2. Malinow MR. Plasma Homocyst(e)ine and Arterial Occlusive Diseases: A Mini-Review. *Clin Chem* 1995;41:173-176
3. Ueland PM. Homocysteine Species as Components of Plasma Redox Thiol Status. *Clin Chem* 1995;41:340-342
4. Perry LJ, Refsum H, Morris RW, et al. Prospective Study of Serum Total Homocysteine Concentration and Risk of Stroke in Middle-aged British Men. *The Lancet* 1995;346:1395-1398
5. Finkelstein JD. Methionine Metabolism in Mammals. *J Nutr Biochem* 1990;1:228-237
6. Mudd SH, Levy HL, Skovby F. Disorders of Transsulfuration. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, et al., eds *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. New York: McGraw-Hill, 1995;1279-1327
7. Clarke R, Daly L, Robinson K, et al. Hyperhomocysteinemia: An Independent Risk Factor for Vascular Disease. *N Engl J Med* 1991;324:1149-1155
8. Deloughery TG, Evans A, Sadeghi A, et al. Common Mutation in Methylenetetrahydrofolate Reductase. *Circulation* 1996;94:3074-3078
9. Schmitz C, Lindpaintner K, Verhoef P, et al. Genetic Polymorphism of Methylenetetrahydrofolate Reductase and Myocardial Infarction. *Circulation* 1996;94:1812-1814
10. Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, et al. A Quantitative Assessment of Plasma Homocysteine as a Risk Factor for Vascular Disease. *JAMA* 1995;274:1049-1057
11. Cattaneo M. Hyperhomocysteinemia, Artherosclerosis and Thrombosis. *Thromb Haemost* 1999;81:165-176
12. Ridker PM, Manson JE, Buring JE, et al. Homocysteine and Risk of Cardiovascular Disease Among Postmenopausal Women. *JAMA* 1999;281:1817-1821
13. Bostom AG, Silbershatz H, Rosenberg IH, et al. Nonfasting Plasma Total Homocysteine Levels and All-Cause and Cardiovascular Disease Mortality in Elderly Framingham Men and Women. *Arch Intern Med* 1999;159:1077-1080
14. Guttormsen AB, Svarstad E, Ueland PM, et al. Elimination of Homocysteine from Plasma in Subjects with Endstage Renal Failure. *Irish J Med Sci* 1995;164 (Suppl. 15):8-9
15. Bostom AG, Lathrop L. Hyperhomocysteinemia in End-stage Renal Disease: Prevalence, Etiology, and Potential Relationship to Arteriosclerotic Outcomes. *Kidney Int* 1997;52:10-20
16. Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, et al. Total Homocysteine in Plasma or Serum: Methods and Clinical Applications. *Clin Chem* 1993;39:1764-1779
17. Ueland PM, Refsum H. Plasma Homocysteine, A Risk Factor for Vascular Disease: Plasma Levels in Health, Disease, and Drug Therapy. *J Lab Clin Med* 1989;114:473-501
18. Fiskerstrand T, Refsum H, Kvalheim G, et al. Homocysteine and Other Thiols in Plasma and Urine: Automated Determination and Sample Stability. *Clin Chem* 1993;39:263-271
19. Nehler MR, Taylor LM Jr, Porter JM. Homocysteinemia as a Risk Factor for Atherosclerosis: A Review. *Cardiovascular Pathol* 1997;6:1-9
20. Lussier-Cacan S, Xhignesse M, Piolot A, et al. Plasma Total Homocysteine in Healthy Subjects: Sex-Specific Relation with Biological Traits. *Am J Clin Nutr* 1996;64:587-593
21. Clarke R, Woodhouse P, Ulvik A, et al. Variability and Determinants of Total Homocysteine Concentrations in Plasma in an Elderly Population. *Clin Chem* 1998;44:102-107
22. Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, et al. The Effect of Folic Acid Fortification on Plasma Folate and Total Homocysteine Concentrations. *N Engl J Med* 1999;340:1449-1454
23. Lawrence JM, Petitti DB, Watkins M and Umekubo MA. Trends in Serum Folate after Food Fortification. *The Lancet* 1999;354:915-916
24. Herrmann W, Schorr H, Obeid R, et al. Disturbed Homocysteine and Methionine Cycle Intermediates S-adenosylhomocysteine and S-adenosylmethionine are Related to Degree of Renal Insufficiency in Type 2 Diabetes. *Clin Chem* 2005;51:1-7
25. Obeid R, Kuhlmann MK, Kohler H, et al. Response of Homocysteine, Cystathionine, and Methylmalonic Acid to Vitamin Treatment in Dialysis Patients. *Clin Chem* 2005;51:196-201
26. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, et al. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem* 2004;50(1):3-32
27. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Method Comparison and Bias Estimation using Patient Samples; Approved Guideline-Second Edition*. NCCLS document EP9-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2002
28. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline-Second Edition*. NCCLS Document EP5-A2, Wayne, PA: NCCLS, 2004
29. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Protocols for the Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline*. NCCLS Document EP17-A. Wayne, PA: NCCLS, 2004.
30. Clinical Laboratory Standards Institute. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline-Second Edition*. CLSI Document EP7-A2. Wayne, PA: CLSI, 2005.

	Medizinprodukt für die <i>in-vitro</i> -Diagnostik		Bei 2 °C bis 8 °C lagern
	Bestellnummer		Hergestellt durch
	Chargennummer		Im Dunkeln lagern
	100 Tests		Reagenz 1, 2
	Gebrauchsanweisung beachten		Kalibrator 0 µmol/l, Kalibrator 28 µmol/l
	Verwendbar bis		Axis-Shield Diagnostics Ltd., The Technology Park, Dundee, DD2 1XA, UK Tel.: +44 1382 422000 Fax: +44 1382 422088
Rx Only	Verschreibungspflichtig		

Beckman Coulter und AU sind Marken von Beckman Coulter, Inc., und sind in der USPTO registriert. Alle anderen Marken sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.