

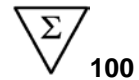
# Axis-Shield Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Assay

REF B08176

(Distributer BECKMAN COULTER, samo za profesionalnu primjenu na AU platformama kompanije BECKMAN COULTER (AU400, AU480, AU680, AU5800 i DxC 700 AU))



Axis-Shield Diagnostics Ltd.  
The Technology Park  
Dundee DD2 1XA  
United Kingdom  
Tel: +44 (0) 1382 422000  
Faks: +44 (0) 1382 422088



## HRVATSKI:

## NAMJENA

Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent namijenjen je za *in vitro* kvantitativno određivanje ukupnog homocisteina u humanom serumu i plazmi. Proizvod može pomoći u postavljanju dijagnoze i liječenju pacijenata za koje se sumnja da imaju hiperhomocisteinemiju i homocistinuriju.

**UPOZORENJE:** Uzorci pacijenta koji su na terapiji lijekovima koji uključuju S-adenozil metionin mogu pokazati netočno povišene razine homocisteina. Pacijenti koji uzimaju metotreksat, karbamazepin, fenitoin, dušikov oksid, antikoagulative ili 6-azauridin triacetat mogu imati povišene razine homocisteina zbog djelovanja tih tvari na metaboličke putove. Pogledajte poglavlje OGRANIČENJA ZA UPORABU u prilogu pakiranju priloženom uz ovaj test.

## SAŽETAK I OBJAŠNJENJE TESTA

Homocistein (HCY) je aminokiselina koja sadrži tiol, a nastaje unutarstaničnom demetilacijom metionina. Homocistein se transportira u plazmu u kojoj, pretežno u oksidiranom stanju, cirkulira vezan za proteine plazme u obliku miješanog disulfida proteinskog homocisteina s albuminom (protein-SS-HCY)<sup>1-5</sup>. Prisutne su manje količine reduciranog homocisteina i disulfidnog homocisteina (HCY-SS-HCY). Ukupni homocistein (tHCY) predstavlja zbroj svih vrsta homocisteina pronađenih u serumu ili plazmi (slobodnih i vezanih za proteine). Homocistein se metabolizira u cistein ili metionin. Pri transulfuraciji vitamina B6 homocistein se nepovratno razlaže u cistein. Najveći dio homocisteina remetilacijom se pretvara u metionin, uglavnom pomoću folata i enzima metionin-sintaze ovisnog o kobalaminu. Homocistein se nakuplja i izlučuje u krv kada dođe do ometanja ovih reakcija.<sup>3,5</sup> Vrlo povišene koncentracije ukupnog homocisteina pronađene su kod ispitanika s homocistinurijom, rijetkim genetskim poremećajem enzima koji su uključeni u metabolizam homocisteina. Kod pacijenata s homocistinurijom javljaju se mentalna retardacija, rana arterioskleroza te tromboembolije arterija i vena.<sup>2,6</sup> Također su uočeni i drugi manje ozbiljni genetski defekti koji dovode do umjereno povišenih razina ukupnog homocisteina.<sup>7-9</sup>

Odnos između povišenih razina homocisteina i kardiovaskularne bolesti bio je predmet ispitivanja epidemioloških istraživanja. Meta-analiza 27 takvih istraživanja, u koja je bilo uključeno više od 4000 pacijenata, dovela je do procjene po je kojoj povećanje od 5  $\mu\text{mol/l}$  ukupnog homocisteina povezano s omjerom izgleda (eng. odds ratio) od 1,6 za obolijevanje od bolesti koronarnih arterija (interval pouzdanosti od 95% 1,4 do 1,7) za muškarce i 1,8 (interval pouzdanosti od 95% 1,3 do 1,9) za žene; omjer izgleda za obolijevanje od cerebrovaskularne bolesti iznosio je 1,5 (interval pouzdanosti od 95% 1,3 do 1,9). Rizik povezan s povećanjem od 5  $\mu\text{mol/l}$  ukupnog homocisteina bio je istovjetan riziku od povećanja kolesterola za 0,5 mmol/l (20 mg/dl). Također, ustanovljena je visoka korelacija s bolestima perifernih arterija.<sup>10</sup>

Hiperhomocisteinemija, povišena razina homocisteina, može se dovesti u vezu s povišenim rizikom obolijevanja od kardiovaskularne bolesti. Objavljeno je više izvještaja o prospektivnim istraživanjima koja se bave povezanošću hiperhomocisteinemije i rizika od kardiovaskularne bolesti kod prvotno zdravih ispitanika oba spola. Zaključci su utemeljeni na kardiovaskularnom događaju poput akutnog infarkta miokarda, moždanog udara, cerebrovaskularne bolesti ili smrti. Jedanaest ugniježenih istraživanja slučajeva i kontrola koje je analizirao Cattaneo<sup>11</sup> dalo je dvosmislene rezultate jer je pet istraživanja ustanovilo povezanost rizika, a šest nije. U skorije vrijeme provedeno je prospektivno istraživanje u kojem su određivane razine homocisteina kod žena u postmenopauzi koje su sudjelovale u istraživanju o zdravlju žena. Utvrđena je razina homocisteina u uzorcima prikupljenim od 122 žene kod kojih su naknadno nastupili kardiovaskularni događaji i uspoređena je s kontrolnom grupom od 244 žene odgovarajuće dobi i pušačkog statusa. Žene iz kontrolne grupe nisu oboljele tijekom naredne tri godine. Rezultati su pokazali da su žene u postmenopauzi koje su pogođene kardiovaskularnim događajima imale značajno više početne razine homocisteina. One s razinama u najvišoj četvrtini imale su dvostruko veći rizik za bilo koji kardiovaskularni događaj. Pokazalo se da su povišene razine homocisteina na početku istraživanja predstavljale neovisni faktor rizika.<sup>12</sup> Također, u kohorti Framingham studije srca utvrđene su razine homocisteina kod 1933 ispitanika starije dobi ženskog i muškog spola i pokazano je kako su povišene razine homocisteina neovisno povezane s povišenim stopama smrtnosti uopće i smrtnosti od kardiovaskularne bolesti.<sup>13</sup>

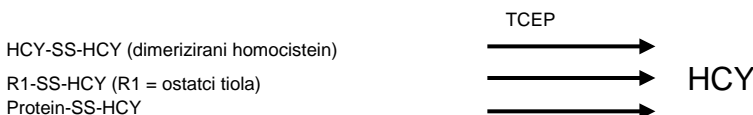
Pacijenti s kroničnom bolešću bubrega imaju povišen rizik obolijevanja i umiranja od arteriosklerotske kardiovaskularne bolesti. U njihovoj krvi često se pronalazi povišena koncentracija homocisteina. Iako tim pacijentima često nedostaju određeni vitamini uključeni u metabolizam homocisteina, povišene razine homocisteina poglavito su prouzročene time što njihovi bubrezi nedostatan odstranjuju homocistein iz krvi.<sup>14,15</sup>

Lijekovi poput metotreksata, karbamazepina, fenitoina, dušikova oksida i 6-azauridin triacetata interferiraju s metabolizmom homocisteina i mogu povisiti njegovu razinu.<sup>16</sup>

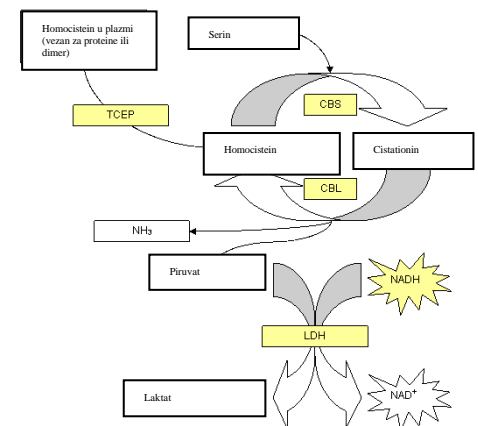
## NAČELO TESTA

Vezani ili dimerizirani homocistein (oksidirani oblik) reducira se do slobodnog oblika koji potom reagira sa serinom te kataliziran cistationin beta-sintazom (CBS) tvori cistationin. Cistationin beta-lijaza (CBL) potom razlaže cistationin na homocistein, piruvat i amonijak. Piruvat se potom pomoću laktat dehidrogenaze (LDH) pretvara u laktat s nikotinamid adenin dinukleotidom (NADH) kao koenzim. Stopa konverzije NADH u NAD<sup>+</sup> direktno je proporcionalna koncentraciji homocisteina ( $\Delta A_{340 \text{ nm}}$ ).

**Redukcija:** Dimerizirani homocistein, miješani disulfid i oblici u kojima je homocistein vezan za proteine u uzorku se reduciraju na slobodni homocistein primjenom tris (2-karboksietil) fosfina (TCEP).



**Enzimski pretvorba:** Slobodni homocistein tvori cistationin pomoću cistationin beta-sintaze i preostalog serina. Cistationin se potom razlaže na homocistein, piruvat i amonijak. Piruvat pomoću laktat dehidrogenaze prelazi u laktazu s NADH kao koenzim. Stopa pretvorbe NADH u NAD<sup>+</sup> izravno je proporcionalna koncentraciji homocisteina ( $\Delta A_{340 \text{ nm}}$ ).



## DODATNE INFORMACIJE




Budući da tvrtka Beckman Coulter ne proizvodi reagense niti provodi kontrolu kvalitete ili bilo kakve testove pojedinačnih serija, ne može se smatrati odgovornom za kvalitetu dobivenih podataka ovisnih o učinkovitosti reagenasa, eventualne varijacije serija reagenasa ili izmjenu protokola od strane proizvođača.

## TEHNIČKA PODRŠKA

- Za tehničku podršku obratite se lokalnom predstavniku tvrtke Beckman Coulter.
- U slučaju oštećenja pri isporuci – obavijestite nadležni centar za kliničku podršku tvrtke Beckman Coulter ako ovaj proizvod primite oštećen.
- Za upute za uporabu (uključujući prijevode i parametre za izbjegavanje unakrsne kontaminacije) posjetite [www.homocysteine.org.uk/BCI](http://www.homocysteine.org.uk/BCI)

## INFORMACIJE ZA NARUČIVANJE I KOMPONENTE TESTA

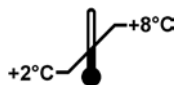
Za ponovno naručivanje materijala od lokalnog predstavnika tvrtke Beckman Coulter koristite sljedeće kodove;

Kod proizvoda	Opis	Sastav	Opasnost
B08176	REAG 1 - 1 x 30 mL Bezbojna tekućina bez mirisa	NADH (0,47 mM), LDH (38 KU/l), Serin (0,76 mM), Trizma Base 1-10%, Trizma hidroklorid 1-10%, Natrijev azid < 1%. Reduktor (TCEP: 2,9 mM) <b>Spremno za uporabu</b>	
	REAG 2 - 1 x 5mL Svijetlo žuta tekućina bez mirisa	Ciklični enzimi CBS (0,748 KU/l) i CBL (16,4 KU/L) Natrijev azid < 1%. <b>Spremno za uporabu</b>	
	CAL 0 µM - 1 x 3,0 mL, (plavi čep), bezbojna tekućina bez mirisa	Vodena slijepa proba homocisteina (0 µmol/l). <b>Spremno za uporabu</b>	
	CAL 28 µM - 1 x 3,0 mL, (crveni čep), bezbojna tekućina bez mirisa	Vodeni homocistein, otopina (28 µmol/l). <b>Spremno za uporabu</b>	

Kalibratori su pripremljeni gravimetrijski uz dokazivanje mjerne sljedivosti sukladno s NIST SRM 1955, potvrđeno referentnom metodom mjerenja (HPLC). Odgovarajuće vrijednosti ispisane su na naljepnici (0 µmol/l i 28 µmol/l).

Komplet za Homocysteine Control Kit (**kod proizvoda - B08177**) koji sadrži niske, srednje i visoke kontrole može se naručiti i od tvrtke Beckman Coulter za primjenu s testom Liquid Stable (LS) 2-part Homocysteine Reagent.

## SKLADIŠTENJE I TRANSPORT REAGENASA



1. Komponente kompleta treba skladištiti na temperaturama od 2 do 8°C i rabiti samo do isteka datuma valjanosti na naljepnici. Ne smiju se rabiti reagensi kojima je prošao datum valjanosti.
2. Obavijestite nadležni centar za tehničku podršku tvrtke Beckman Coulter ako se ovaj proizvod primi oštećen.
3. Reagensi se mogu primjenjivati više puta do isteka datuma valjanosti navedenog na naljepnici. Reagensi se između dvije primjene **moraju** skladištiti na temperaturama od 2 do 8°C.
4. Ne smiju se miješati reagensi iz kompleta s različitim serijskim brojevima.
5. **REAGENCI SE NE SMIJU ZAMRZAVATI.**
6. Ne izlažite reagense svjetlosti.
7. Izbjegavajte kontaminaciju reagenasa. Pri svakom rukovanju reagensom ili uzorkom uzmite novi vrh pipete za jednokratnu uporabu.
8. Čuvanje u instrumentu. Reagensi se mogu čuvati 30 dana u instrumentu na svim AU platformama (AU400, AU480, AU680, AU5800 **i Dx C 700 AU**).
9. Reagensi ne smiju sadržavati krute čestice. Zamućene reagense bacite.

## UPOZORENJA I MJERE OPREZA

### Samo za in vitro dijagnostičku uporabu

1. Strogo se pridržavajte uputa iz ovog priručnika, osobito onih o rukovanju i uvjetima skladištenja.
2. Reagens 1 i Reagens 2 sadrže natrijev azid koji u reakciji s olovnim ili bakarnim cijevima može tvoriti visoko eksplozivne metalne azide. Pri izlijevanju, isperite velikom količinom vode kako bi se spriječila tvorba metalnih azida.
3. Listovi s podacima o sigurnosti materijala za sve opasne komponente sadržane u ovom kompletu dostupni su, na zahtjev, od proizvođača proizvoda Axis-Shield Diagnostics Ltd.

REAG 1	EUH032 - U dodiru s kiselinama oslobađa vrlo otrovni plinovi.
REAG 2	

Oprez: Američki savezni zakon ograničava prodaju ovog proizvoda na prodaju od strane liječnika ili po nalogu liječnika.

## PRIKUPLJANJE I RUKOVANJE UZORCIMA

- Za mjerenje razine homocisteina može se uzeti serum (prikupljen u epruvete za serum ili epruvete za razdvajanje seruma) i plazma (prikupljena u epruvete kalij-EDTA ili litij-heparin).  
Imajte na umu da se ne preporučuje utvrđivanje rezultata za istog pacijenta naizmjenično iz seruma, heparinizirane plazme i EDTA plazme.<sup>26</sup> Osim toga, zabilježene su matricne razlike između epruvete za serum i epruvete za razdvajanje seruma i epruvete za plazmu.<sup>18</sup>  
Radi smanjivanja rasta koncentracije homocisteina prouzročenog sintezom crvenih krvnih stanica na najmanju moguću mjeru, uzorci se trebaju obrađivati na sljedeći način:
  - Nakon uzimanja sve uzorke (serum i plazmu) držite na ledu do obrade. Serum će se sporije zgrušavati i smanjit će se njegov volumen.<sup>16</sup>
  - Svi uzorci mogu se držati na ledu do 6 sati prije razdvajanja centrifugiranjem.<sup>16</sup>
  - Centrifugiranjem razdvojite crvene krvne stanice od seruma i plazme te ih prebacite u čašicu za uzorak ili neki drugi čisti spremnik.**Napomena:** U uzorcima koji se ne stave na led neposredno nakon uzimanja, koncentracija homocisteina može narasti za 10-20%.<sup>17</sup>
- Ako će se analiza provoditi unutar 2 tjedna nakon uzimanja uzorka, uzorak čuvajte na temperaturi od 2 do 8 °C. Ako se analiza odlaže na dulje od 2 tjedna, uzorak čuvajte zamrznut na temperaturi od -20 °C ili nižoj. Pokazalo se da su na temperaturi od -20 °C uzorci stabilni 8 mjeseci.<sup>16,18</sup>
- Rukovatelj je odgovoran da se pobrine za uporabu prave vrste uzorka u testu Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay.
- Provjerite ima li mjehurića u svakom od uzoraka (uključujući kalibratore i kontrole). Uklonite mjehuriće prije analize.
- Za ovaj test ne treba koristiti uzorke koji sadrže partikulatne tvari (fibrin, crvene krvne stanice ili druge tvari) ili vidno lipemične uzorke. Rezultati dobiveni iz takvih uzoraka mogu biti netočni.
- Nakon otapanja uzorke **temeljito** izmiješajte u vorteks mikseru s malom brzinom vrtnje ili pažljivim preokretanjem kako bi se osigurali konzistentni rezultati. Izbjegavajte ponovno zamrzavanje ili otapanje. Uzorke koji sadrže partikulatne tvari, eritrocite i zamućene uzorke prije analize centrifugirajte.

## REZULTATI

Rezultati su prikazani u  $\mu\text{mol/l}$ . Uzorke  $>44 \mu\text{mol/l}$  prema potrebi razrijedite u omjeru 1 dio uzorka prema 2 dijela kalibratora  $0 \mu\text{mol/l}$  ili 1 dio uzorka prema 9 dijelova kalibratora  $0 \mu\text{mol/l}$ . Rezultati se moraju pomnožiti odgovarajućim faktorom razrjeđivanja.

## OČEKIVANE VRIJEDNOSTI

**Referentni raspon:** Svaki laboratorij mora odrediti referentni raspon radi potvrde karakteristika ispitivane populacije. Sljedeći podatci mogu se primjenjivati kao referentni dok laboratorij ne provede analize dostatnog broja uzoraka za određivanje vlastitog referentnog raspona. Koncentracija homocisteina u plazmi ili serumu zdravih osoba mijenja se ovisno o dobi, spolu, zemljopisnom području i genetskim čimbenicima. Uobičajene vrijednosti referentnog raspona za odrasle muškarce i žene u stručnoj literaturi iznose između  $5$  i  $15 \mu\text{mol/l}$ , pri čemu su vrijednosti za muškarce više od vrijednosti za žene, a vrijednosti za žene u postmenopauzi više nego kod žena koje još nisu ušle u menopauzu.<sup>16,19,20</sup> Vrijednosti homocisteina obično će se povećavati sa starošću, dajući referentni raspon među starijom populacijom ( $> 60$  godina) od  $5$ - $20 \mu\text{mol/l}$ .<sup>21</sup> U zemljama s programima obogaćivanja namirnica folnom kiselinom mogu se primijetiti smanjene razine homocisteina.<sup>22,23</sup>

**Mjerni raspon:** Mjerni raspon za Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay iznosi  $2$ - $44 \mu\text{mol/l}$ .

## OGRAIČENJA UPORABE

- In vitro dijagnostička uporaba. Samo za profesionalnu uporabu.
- Linearni raspon testa Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay kada se pravilno provodi iznosi  $2$ - $44 \mu\text{mol/l}$  za AU platforme. Uzorke  $> 44 \mu\text{mol/l}$  prema potrebi razrijedite u omjeru 1 dio uzorka prema 2 dijela kalibratora  $0 \mu\text{mol/l}$  ili 1 dio uzorka prema 9 dijelova kalibratora  $0 \mu\text{mol/l}$ .
- Reagensi trebaju biti bistri. Zamućene reagense bacite.
- Iako se zajedno s homocisteinom mjeri i cistationin, razina cistationina je parametar ( $0,065$  do  $0,3 \mu\text{mol/l}$ ) koji se može zanemariti za opću populaciju. U iznimno rijetkim slučajevima, poput završnog stadija oboljenja bubrega i pacijenata s teškim metaboličkim poremećajima, vrijednost cistationina može biti znatno povišena i u teškim slučajevima interferencija može iznositi i više od  $20\%$ .<sup>24,25</sup>
- Karbamazepin, metotreksat, fenitoin, dušikov oksid ili 6-azauridin triacetat mogu utjecati na koncentraciju homocisteina.<sup>16</sup>
- Napomena: Uzorci pacijenta koji su na terapiji lijekovima koji uključuju S-adenozil metionin, mogu pokazati netočno povišene razine homocisteina. Pacijenti koji uzimaju metotreksat, karbamazepin, fenitoin, dušikov oksid, antikoagulative ili 6-azauridin triacetat mogu imati povišene razine homocisteina zbog djelovanja tih tvari na metaboličke putove.
- Za ovaj test ne treba koristiti uzorke koji sadrže partikulatne tvari (fibrin, crvene krvne stanice i druge tvari) ili vidno lipemične uzorke. Rezultati dobiveni iz takvih uzoraka mogu biti netočni.
- Ograničenja: Hidroksilamin koji je prisutan u nekoliko reagenasa željeza može se prenijeti (putem uzorka reagens/miksera ili reakcijske kuvete) i prouzrokovati netočno niske rezultate. Rutinski postupci ispiranja nisu prikladni za rješavanje ovog problema u većini slučajeva (uključujući Beckman Coulter UIBC reagens P/N QSR1205, koji sadrži hidroksilamin). Molimo pogledajte pravilnik kompanije Axis Shield za izbjegavanje kontaminacije kako bi se spriječio prijenos na AU sustave. Molimo pobrinite se za primjenu odgovarajućih parametara za izbjegavanje kontaminacije. Parametri za izbjegavanje kontaminacije specifični za analizator dostupni su kod korisničke službe kompanije Axis Shield.
- Para etanola može se osloboditi iz reagensa **REAG 1** za mjerenje homocisteina postavljenog na karusel za reagense serije analizatora BECKMAN COULTER AU. Izbjegavajte primjenu reagenasa na bazi etanola zajedno s homocisteinom kako biste spriječili potencijalnu kontaminaciju kroz atmosferu.

## PODATCI O RADNOJ UČINKOVITOSTI

### UTEMELJENI NA MJERENJIMA PROVEDENIM NA AU PLATFORMAMA TVRTKE BECKMAN COULTER - AU400, AU480, AU680, AU5800 I DXC 700 AU

#### Točnost

Ispitivanje korelacije provedeno je na uzorcima plazme od očigledno zdravih odraslih osoba. Svi uzorci analizirani su pomoću sredstva Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent u skladu s dokumentom EP9-A2 instituta CLSI (zvanično NCCLS).<sup>27</sup> Svi rezultati su opisani koristeći interval pouzdanosti od  $95\%$ . Rasponi uzorka i podatci dali su sljedeće rezultate:

Metoda usporedbe	Beckman Coulter AU400 u usporedbi s Catch Liquid Stable	Beckman Coulter AU480 u usporedbi s AU400	Beckman Coulter AU680 u usporedbi s AU400	Beckman Coulter AU5800 u usporedbi s AU400	Beckman Coulter DxC 700 AU u usporedbi s AU400
Broj uzoraka	94	99	98	99	94
Nagib regresijske linije	0,99	0,97	0,97	0,98	0,99
Odsječak na Y-osi	0,17	-0,68	-0,22	-0,75	0,67
Koeficijent korelacije	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Raspon uzorka	6,5 – 49,0	8,5 – 45,1	8,5 – 45,1	8,5 – 45,1	5,8-45,9

### Preciznost

Ispitivanja na AU platformama (AU400, AU480, AU680, AU5800 i Dx<sup>c</sup> 700 AU) provedena su prema uputama iz dokumenta EP5-A2 instituta CLSI (zvanično NCCLS).<sup>28</sup> Za svaki instrument testirane su tri kontrole homocisteina i tri uzorka humane plazme pomoću dvije serije reagenasa, u dva replikata, dvaput na dan tijekom najmanje 5 dana. Dobiveni rezultati sumirani su na sljedeći način:

#### Beckman Coulter AU400

Uzorak	n	Serija reagensa	Srednja vrijednost	Unutar jedne obrade		Između različitih obrada		Ukupno	
				SO	%KV	SO	%KV	SO	%KV
Niska kontrola	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
Srednja kontrola	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
Visoka kontrola	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
Uzorak 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
Uzorak 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
Uzorak 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

Uzorak	n	Serija reagensa	Srednja vrijednost	Unutar jedne obrade		Između različitih obrada		Ukupno	
				SO	%KV	SO	%KV	SO	%KV
Niska kontrola	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
Srednja kontrola	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
Visoka kontrola	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
Uzorak 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
Uzorak 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
Uzorak 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

Uzorak	n	Serija reagensa	Srednja vrijednost	Unutar jedne obrade		Između različitih obrada		Ukupno	
				SO	%KV	SO	%KV	SO	%KV
Niska kontrola	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
Srednja kontrola	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
Visoka kontrola	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
Uzorak 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
Uzorak 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
Uzorak 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

Uzorak	n	Serija reagensa	Srednja vrijednost	Unutar jedne obrade		Između različitih obrada		Ukupno	
				SO	%KV	SO	%KV	SO	%KV
Niska kontrola	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
Srednja kontrola	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
Visoka kontrola	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
Uzorak 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
Uzorak 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
Uzorak 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**

Uzorak	n	Serija reagensa	Srednja vrijednost	Unutar jedne obrade		Između različitih obrada		Ukupno	
				SO	%KV	SO	%KV	SO	%KV
Niska kontrola	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
Srednja kontrola	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
Visoka kontrola	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
Uzorak 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
Uzorak 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
Uzorak 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

**Linearnost razrjeđenja**

Linearnost razrjeđenja za test Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay na AU platformama tvrtke Beckman daje analitički prinos u postotcima od 100 ± 10% za sve uzorke u referentnom rasponu testa. Uzorci >44 µmol/l, kada su razrijeđeni, pokazuju srednji analitički prinos od 100% ± 11% svih očekivanih rezultata u referentnom rasponu testa.

**Granica dokazivanja**

Granica dokazivanja svakog sustava određena je prema smjernicama iz dokumenta EP17-A instituta CLSI (zvanično NCCLS)<sup>29</sup>. Vrednosti granice detekcije (µmol/l) date su u sledećoj tabeli:

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

**Analitička specifičnost**

Analitička specifičnost procijenjena je samo na platformi AU400 tvrtke Beckman Coulter prema smjernicama iz dokumenta EP7-A2<sup>30</sup> instituta CLSI i to za interferirajuće tvari navedene u sljedećoj tablici:

Interferirajuća tvar	Koncentracija interferirajuće tvari	% interferencije
Bilirubin	20 mg/dl	≤ +10
Hemoglobin	500 mg/dl	≤ +10
Crvene krvne stanice	0,4%	≤ +10
Trigliceridi	500 mg/dl	≤ +10
Glutacion	1000 µmol/l	≤ +10
Metionin	800 µmol/L	≤ +10
L-Cistein	200 µmol/l	≤ +10
Piruvat	1250 µmol/l	≤ +10

Nijedna od ovih tvari nije pokazala značajnu interferenciju u testu.

Uzorci s povišenom razinom proteina pokazuju >10% razlike kada se usporede s rezultatima dobivenim iz normalnih uzoraka te ih treba izbjegavati. U referenci 16 iz odjeljka s referencama ove upute mogu se naći moguće interferencije izazvane lijekovima, bolestima ili preanalitičkim varijablama.

**Prijenos uzorka**

Ispitivanja prijenosa uzorka provedena na svim AU platformama pokazala su prijenos uzorka manji od granice dokazivanja za test.

**Stabilnost reagensa u instrumentu**

Reagensi su stabilni do 30 dana na svim AU platformama.

**Stabilnost kalibracije**

Krivulja kalibracije stabilna je do 30 dana, što je potvrđeno na platformi AU400 tvrtke Beckman Coulter te do 14 dana, što je potvrđeno na platformama AU5800 i DxC 700 AU tvrtke Beckman Coulter.

**Vrste uzoraka**

Za ovu vrstu testa odobrene su sljedeće epruvete za prikupljanje uzoraka: EDTA epruvete za plazmu i epruvete za plazmu s litij heparinom te epruvete za serum i razdvajanje seruma. Nisu ispitivane druge vrste epruveta za uzimanje uzoraka.

Za mjerenje razine homocisteina mogu se koristiti serum (prikupljen u epruvete za serum ili epruvete za razdvajanje seruma) i plazma (prikupljena u EDTA epruvetu s kalijem ili epruvetu s litij-heparinom). Rukovatelj je odgovoran za potvrdu odabira odgovarajuće vrste epruvete. Imajte na umu da se ne preporučuje utvrđivanje rezultata za istog pacijenta naizmjenično iz seruma, heparinizirane plazme i EDTA plazme.<sup>26</sup> Osim toga, zabilježene su matrične razlike između epruvete za serum i epruvete za razdvajanje seruma i epruvete za plazmu.<sup>18</sup>

**PROTOKOL S TESTIRANJA NA AU PLATFORMAMA – AU400, AU480, AU680, AU5800 i DxC 700 AU**

Parametri analize moraju biti istovjetni parametrima navedenim u priloženim tablicama.

**AU400 – PARAMETRI POSTUPKA**

Br. testa [*]	Naziv [HCY]	Vrsta [Ser.]	
Volumen uzorka:	[16,5] µl	Volumen razrjeđivača:	[0,0] µl
Faktor pred-razrjeđivanja:	[1]		
Volumen reagensa 1:	[250] µl	Volumen razrjeđivača:	[0,0] µl
Volumen reagensa 2:	[25] µl	Volumen razrjeđivača:	[0,0] µl
Primarna valna duljina:	[340] nm		
Sekundarna valna duljina:	[380] nm		
Metoda reakcije:	RATE1		
Nagib reakcije	[-]		
Točka 1	Prv [15]		
	Poslj [27]		
Točka 2	Prv [ ]		
	Poslj [ ]		
Linearnost	[100]%		
Bez vremena odlaganja	[Ne]		
Min. optička gustoća		Maks. optička gustoća	
L [-2,0]		H [2,5]	
Granica optičke gustoće reagensa	Prv L [ ]	Prv H [ ]	
	Poslj L [ ]	Poslj H [ ]	
Dinamički raspon:	L [2,0]	H [44,0]	
Faktor korelacije:	A [1,0]	B [0,0]	
Interval stabilnosti u instrumentu:		[30]	
Specifično za kalibraciju:			
	Točka	Optička gustoća	Konc
	1 [*]	[ ]	[0,0]
	2 [*]	[ ]	[**]
	Vrsta kalibracije:		[AA]
	Formula:	[Y=AX+B]	

\*Određuje korisnik

\*\*Unijeti vrijednosti s bočica kalibratora

**AU480 / AU680– PARAMETRI POSTUPKA**

Br. testa [*]	Naziv [HCY]	Vrsta [Ser.]	
Volumen uzorka:	[10] µl	Volumen razrjeđivača:	[0,0] µl
Faktor pred-razrjeđivanja:	[1]		
Volumen reagensa 1:	[155] µl	Volumen razrjeđivača:	[0,0] µl
Volumen reagensa 2:	[16] µl	Volumen razrjeđivača:	[0,0] µl
Primarna valna duljina:	[340] nm		
Sekundarna valna duljina:	[380] nm		
Metoda reakcije:	RATE1		
Nagib reakcije	[-]		
Točka 1	Prv [15]		
	Poslj [27]		
Točka 2	Prv [ ]		
	Poslj [ ]		
Linearnost	[25]%		
Bez vremena odlaganja	[Da]		
Min. optička gustoća		Maks. optička gustoća	
L [...]		H [...]	
Granica optičke gustoće reagensa	Prv L [-2,0]	Prv H [2,5]	
	Poslj L [-2,0]	Poslj H [2,5]	
Dinamički raspon:	L [2,0]	H [44,0]	
Faktor korelacije:	A [1,0]	B [0,0]	
Interval stabilnosti u instrumentu:		[30]	
Provjera utjecaja LIH		[Ne]	
Specifično za kalibraciju:			
	Točka	Optička gustoća	Konc
	1 [*]	[ ]	[0,0]
	2 [*]	[ ]	[**]
	Vrsta kalibracije:		[AA]
	Formula:	[Y=AX+B]	
Stabilnost	Slijepa vrijednost reagensa [30] dana	Kalibracija [14] dana	

\*Određuje korisnik

\*\*Unijeti vrijednosti s bočica kalibratora

**AU5800- PARAMETRI POSTUPKA**

Br. testa [*]	Naziv [HCY]	Vrsta [Ser.]	
Volumen uzorka:	[7,5] µl	Volumen razrjeđivača:	[0,0] µl
Faktor pred-razrjeđivanja:	[1]		
Volumen reagensa 1:	[115] µl	Volumen razrjeđivača:	[0,0] µl
Volumen reagensa 2:	[12] µl	Volumen razrjeđivača:	[0,0] µl
Primarna valna duljina:	[340] nm		
Sekundarna valna duljina:	[380] nm		
Metoda reakcije:	RATE1		
Nagib reakcije	[-]		
Točka 1	Prv [15]		
	Poslj [27]		
Točka 2	Prv [ ]		
	Poslj [ ]		
Linearnost	[25]%		
Bez vremena odlaganja	[Da]		
Min. optička gustoća		Maks. optička gustoća	
L [ ]		H [ ]	
Granica optičke gustoće reagensa	Prv L [-2,0]	Prv H [2,5]	
	Poslj L [-2,0]	Poslj H [2,5]	
Dinamički raspon:	L [2,0]	H [44,0]	
Faktor korelacije:	A [1,0]	B [0,0]	
Interval stabilnosti u instrumentu:		[30]	
Provjera utjecaja LIH		[Ne]	
Specifično za kalibraciju:			
	Točka	Optička gustoća	Konc
	1 [*]	[ ]	[0,0]
	2 [*]	[ ]	[**]
	Vrsta kalibracije:		[AA]
	Formula:	[Y=AX+B]	
Stabilnost	Slijepa vrijednost reagensa [30] dana	Kalibracija [14] dana	

\*Određuje korisnik

\*\*Unijeti vrijednosti s bočica kalibratora













**DxC 700 AU – PARAMETRI TESTNOG POSTUPKA**

Naziv testa:	Naziv [HCY1G]	Oznaka reagensa [225]	
Volumen uzorka:	[10] µl	razrjeđivač	[0,0] µl
Faktor pred-razrjeđenja:	[1]		
Volumen reagensa 1 (R1):	[155] µl	razrjeđivač	[0,0] µl
Volumen reagensa 2 (R2):	[16] µl	razrjeđivač	[0,0] µl
Primarna valna duljina:	[340] nm		
Sekundarna valna duljina:	[380] nm		
Metoda reakcije:	RATE1		
Nagib reakcije	[-]		
Mjerna točka 1	prva [15]	posljednja [27]	
Mjerna točka 2	prva [ ]	posljednja [ ]	
Linearnost	[25] %		
Provjera vremena odgode	[Da]		
Min. optička gustoća	[-2,0]	Maks. optička gustoća	[3,0]
Granica optičke gustoće reagensa	prvi C [-2,0]	C [2,5]	
	posljednji L [-2,0]	C [2,5]	
Raspon analitičkog mjerenja	C* [2,0]	C* [44,0]	
Faktor korelacije:	A [1]	B [0]	
Interval stabilnosti u uređaju:		[30]	
Provjera utjecaja lipemije, ikterusa i hemolize		[Ne]	
Vrijednost/oznaka	[vrijednost]		
niska	[-9999999]	visoka	[9999999]
Kritična ograničenja	nisko [-9999999]	visoko [9999999]	jedinica [µmol/l]
Decimalna mjesta	[1]		
Naziv testa:	HCY1G]	HCY1G]	[Serum]
Vrsta kalibracije	[AA]	Formula	[Y=AX+B]
Brojanja	[2]		
Točka 1	[Cal0]	Konc. [0]	nisko [9999999] visoko [9999999]
Točka 1	[Cal28]	Konc. [28]	nisko [9999999] visoko [9999999]
Provjera nagiba	[Nema]	Postupak napredne kalibracije	[Ne]
Stabilnost slijepa probe s reagensom	[30] dan	[0] sat	

\* Vrijednosti podešene za rad u µmol

## REFERENCE

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 IJ, 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, Pettiti 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.

	<i>In vitro</i> dijagnostički medicinski uređaj		Čuvati na temperaturi od 2 do 8°C
	Kod proizvođača		Proizvođač
	Broj serije		Čuvati na tamnom
	100 testova		Reagens 1, 2
	Pogledati Upute za uporabu		Kalibrator 0 µmol/l, kalibrator 28 µmol/l
	Upotrijebiti do		Axis-Shield Diagnostics Ltd., The Technology Park, Dundee, DD2 1XA, UK Tel: +44 (0) 1382 422000 Faks: +44 (0) 1382 422088
<b>Rx Only</b>	Dostupno samo na recept		

Beckman Coulter i AU su zaštitni znaci tvrtke Beckman Coulter, Inc., registrirani u USPTO. Svi drugi zaštitni znakovi su vlasništvo njihovih vlasnika.

Ver: 2017/07  
RPBL1068/R5