



# Homocysteine

Para la determinación de homocisteína total en suero y plasma

## SIGNIFICACION CLINICA

La homocisteína es un producto derivado del metabolismo proteico, específicamente de la desmetilación intracelular del aminoácido esencial metionina.

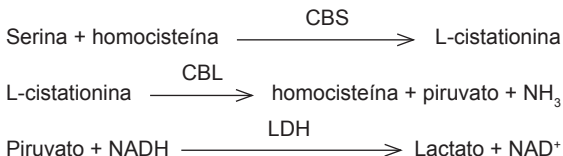
La homocisteína es liberada al plasma donde circula principalmente en su forma oxidada, unida a proteínas plasmáticas. La homocisteína total está representada por todas las especies de homocisteína encontradas en suero o plasma (homocisteína libre más homocisteína unida a proteínas).

En cantidades pequeñas la homocisteína no es dañina para el organismo o para los vasos sanguíneos pero cuando se acumulan grandes cantidades en circulación, puede dañar arterias y la inflamación resultante causa eventualmente el bloqueo de la circulación sanguínea hacia el corazón.

Estudios recientes evidencian que niveles elevados de homocisteína en sangre tiene un valor predictivo de riesgo de enfermedad arteriocoronaria similar al efecto que ocasiona un nivel elevado de colesterol. Evidencias recientes también relacionan altos niveles de homocisteína en sangre con el riesgo de abortos espontáneos y defectos en el nacimiento.

## FUNDAMENTOS DEL METODO

Las formas oxidadas de homocisteína son reducidas a homocisteína libre que luego reacciona con serina en una reacción catalizada por la enzima cistationina  $\beta$ -sintetasa (CBS) formando L-cistationina. El ciclo hace que la cistationina vuelva a homocisteína por la enzima cistationina  $\beta$ -liasa (CBL) formando piruvato y amonio. Esta secuencia cíclica aumenta la sensibilidad del método aproximadamente 10 veces. El piruvato es detectado usando lactato deshidrogenasa (LDH) con NADH. El grado de conversión de NADH a NAD<sup>+</sup> es directamente proporcional a la cantidad de homocisteína en la muestra.



## REACTIVOS PROVISTOS

**A. Reactivo A:** solución conteniendo lactato deshidrogenasa (músculo de conejo) > 35 kU/l, serina 0,76 mmol/l, NADH 0,47 mmol/l, en buffer Tris pH 8,5.

**B. Reactivo B:** solución conteniendo cistationina  $\beta$ -sintetasa (microbiana) > 20 kU/l, cistationina  $\beta$ -liasa (microbiana) > 10 kU/l, pH 7,5.

## REACTIVOS NO PROVISTOS

- Solución salina (0,9%)
- **Homocysteine Calibrator** de Wiener lab.

## INSTRUCCIONES PARA SU USO

**Reactivos Provistos:** listos para usar.

## PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

## ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Los Reactivos Provistos son estables a 2-10°C hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

## INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben ser límpidos. Descartar en caso de observar turbidez.

## MUESTRA

Suero o plasma

**a) Recolección:** obtener suero de la manera usual.

**b) Aditivos:** en caso de usar plasma como muestra, debe utilizarse EDTA o heparina para su obtención.

**c) Sustancias interferentes conocidas:** no se observan interferencias por bilirrubina hasta 20 mg/dl, triglicéridos hasta 500 mg/dl y hemoglobina hasta 500 mg/dl.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** la homocisteína total en suero o plasma es estable 4 días a 20-25°C, 4 semanas refrigerada entre 2-10°C y 4 años a -20°C.

## MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Material volumétrico para medir los volúmenes indicados
- Analizador automático
- Cronómetro

## PROCEDIMIENTO

(Analizador Automático)

A continuación se detalla un procedimiento general para **Homocysteine** en un analizador automático. Cuando se

implemente la técnica para un analizador en particular, seguir las instrucciones de trabajo del mismo.

<b>Muestra o Calibrador</b>	10 ul
-----------------------------	-------

<b>Reactivo A</b>	150 ul
-------------------	--------

Incubar durante 300 segundos a 37°C

<b>Reactivo B</b>	15 ul
-------------------	-------

Incubar durante 60 segundos a 37°C. Lectura de absorbancia inicial a 340 nm ( $A_1$ ). A los 300 segundos exactamente medidos con cronómetro, se registra una segunda lectura ( $A_2$ ).

Para obtener el resultado de homocisteína en  $\mu\text{mol/l}$ , se multiplica la diferencia de absorbancia ( $\Delta A = A_2 - A_1$ ) por el factor.

## CALIBRACION

Se recomienda el uso **Homocysteine Calibrator** de Wiener lab. Los calibradores deben procesarse de la misma manera que las muestras y a partir de él se calcula el factor correspondiente.

Ingresar el valor de concentración del calibrador, cada vez que se cambia el lote.

## METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar con cada determinación, 2 niveles de un material de control de calidad (**Homocysteine Control**) con concentraciones conocidas de homocisteína.

El rango aceptable de control deberá ser establecido por cada laboratorio.

## VALORES DE REFERENCIA

Embarazadas: < 10  $\mu\text{mol/l}$

Niños < 15 años: < 10  $\mu\text{mol/l}$

Adultos 15-65 años: < 15  $\mu\text{mol/l}$

Adultos > 65 años: < 20  $\mu\text{mol/l}$

Estos rangos deben ser considerados sólo como guía para los valores esperados.

Los niveles de homocisteína pueden variar con la edad, sexo, área geográfica y factores genéticos.

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

No pipetear con la boca.

Se recomienda el uso de **Homocysteine Control** de Wiener lab. como material de control de calidad, ya que con controles de otras marcas comerciales pueden obtenerse valores diferentes al rango especificado dado que los mismos dependen del método o sistema utilizado.

## PERFORMANCE

**a) Precisión:** basado en el protocolo EP15-A del CLSI, se obtuvieron los siguientes coeficientes de variación como estimadores de la precisión intraensayo ( $CV_i$ ) y total ( $CV_t$ ):

### Precisión intraensayo (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
7,06 $\mu\text{mol/l}$	$\pm 0,40 \mu\text{mol/l}$	5,6%
12,38 $\mu\text{mol/l}$	$\pm 0,38 \mu\text{mol/l}$	3,1%
29,16 $\mu\text{mol/l}$	$\pm 0,84 \mu\text{mol/l}$	2,9%

### Precisión total (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
7,06 $\mu\text{mol/l}$	$\pm 0,38 \mu\text{mol/l}$	5,4%
12,38 $\mu\text{mol/l}$	$\pm 0,41 \mu\text{mol/l}$	3,3%
29,16 $\mu\text{mol/l}$	$\pm 1,39 \mu\text{mol/l}$	4,8%

**b) Linealidad:** reacción es lineal hasta una concentración de 60  $\mu\text{mol/l}$  de homocisteína.

**c) Límite de detección:** 0,274  $\mu\text{mol/l}$ .

## PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

## PRESENTACION

55 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A

- 1 x 5 ml Reactivo B

(Cód. 1009365)

55 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A

- 1 x 5 ml Reactivo B

(Cód. 1009623)

55 ml: - 1 x 50 ml Reactivo A

- 1 x 5 ml Reactivo B

(Cód. 1009931)\*

## BIBLIOGRAFIA

- McCully KS. - Am. J. Pathol. 56:111-128; 1969.
- McCully KS. - Ann. Clin. Lab. Sci. 23:447-493; 1993.
- Cramer DA. - Laboratory Medicine - 29:7; 1998.
- Rosenquist TH, Ratashak SA, Selhub J. - Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:15227-15232; 1996.
- Young, DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5<sup>th</sup> ed., AACCPress, Washington, DC, p 3-441; 2000.
- Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, et al, - Clin. Chem. 39:1764-79; 1993.
- Probst R, Brandl R, Blümke M, Neumeier D. - Clin. Chem. 44:1567-9; 1998.
- CLSI EP9 A2: Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Ed., CLSI, 2002.
- CLSI EP15 A2: User verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline - Second Ed., CLSI, 2005.
- CLSI EP6 A: Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline, CLSI, 2003.
- Silvia Persichilli, Bruno Zappacosta, et al. - Clin. Chem. Lab. Med. 46/12: 1786-1788; 2008.
- John M Scott et al. - Clin. Chem. 50/1:3-32; 2004.



# Homocysteine

Para a determinação de homocisteína total em soro e plasma

## SIGNIFICADO CLÍNICO

A homocisteína é um produto derivado do metabolismo protéico, especificamente da desmetilação intracelular do aminoácido essencial metionina.

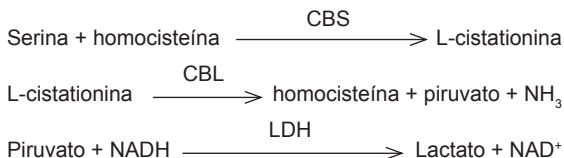
A homocisteína é liberada ao plasma onde circula principalmente em forma oxidada, unida às proteínas plasmáticas. A homocisteína total está representada por todas as espécies e homocisteína presentes em soro ou plasma (homocisteína livre mais homocisteína unida a proteínas).

Em quantidades pequenas a homocisteína não é nociva para o organismo ou para os vasos sanguíneos, embora quando se acumularem grandes quantidades na circulação, pode causar dano às artérias. A inflamação resultante pode eventualmente, causar o bloqueio da circulação sanguínea ao coração.

Estudos recentes demonstram que os níveis aumentados de homocisteína no sangue têm um valor preditivo de risco de aterosclerose coronária semelhante àquele causado pelos níveis aumentados de colesterol. Evidências recentes também relacionam altos níveis de homocisteína no sangue com o risco de abortos espontâneos e defeitos no nascimento.

## FUNDAMENTOS DO MÉTODO

As formas oxidadas de homocisteína são reduzidas a homocisteína livre que logo após reage com serina em uma reação catalisada pela enzima cistationina  $\beta$ -sintetase (CBS) formando L-cistationina. O ciclo faz com que a cistationina volte para homocisteína pela enzima cistationina  $\beta$ -liase (CBL) formando piruvato e amônia. Esta seqüência cíclica aumenta a sensibilidade do método aproximadamente em 10 vezes. O piruvato é detectado utilizando lactato desidrogenase (LDH) com NADH. O grau de conversão de NADH a NAD<sup>+</sup> é diretamente proporcional à quantidade de homocisteína na amostra.



## REAGENTES FORNECIDOS

**A. Reagente A:** solução contendo lactato desidrogenase (músculo de coelho) > 35 kU/l, serina 0,76 mmol/l, NADH 0,47 mmol/l, em tampão Tris pH 8,5.

**B. Reagente B:** solução contendo cistationina  $\beta$ -sintetase (microbiana) > 20 kU/l, cistationina  $\beta$ -liase (microbiana) > 10 kU/l, pH 7,5.

## REAGENTES NÃO FORNECIDOS

- Solução salina (0,9%)
- **Homocysteine Calibrator** da Wiener lab.

## INSTRUÇÕES DE USO

**Reagentes Fornecidos:** prontos para uso.

## PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro". Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas. Todos os reagentes e as amostras devem ser descartados conforme à regulação local vigente.

## ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Os Reagentes Fornecidos são estáveis a 2-10°C até a data de vencimento indicada na embalagem.

## INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser límpidos. Descartar em caso de observar turbidez.

## AMOSTRA

Soro ou plasma

- Coleta:** obter soro da maneira habitual.
- Aditivos:** se a amostra utilizada for plasma, coletar a amostra com EDTA ou heparina.
- Substâncias interferentes conhecidas:** não são observadas interferências por bilirrubina até 20 mg/dl, triglicerídeos até 500 mg/dl nem hemoglobina até 500 mg/dl. Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.
- Estabilidade e instruções de armazenamento:** a homocisteína total em soro ou plasma é estável 4 dias a 20-25°C, 4 semanas refrigerada a 2-10°C e 4 anos a -20°C.

## MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Material volumétrico para medir os volumes indicados.
- Analisador automático.
- Cronômetro.

## PROCEDIMENTO

(Analisador automático)

A seguir, é detalhado um procedimento geral para **Homocysteine** em um analisador automático. Quando for

utilizada a técnica para um analisador em particular, as instruções de trabalho do mesmo devem ser seguidas.

<b>Amostra ou Calibrador</b>	10 µl
------------------------------	-------

<b>Reagente A</b>	150 µl
-------------------	--------

Incubar durante 300 segundos a 37°C.

<b>Reagente B</b>	15 µl
-------------------	-------

Incubar durante 60 segundos a 37°C. Leitura da absorbância inicial a 340 nm ( $A_1$ ). Transcorridos 300 segundos exatamente medidos com cronômetro, registrar a segunda leitura ( $A_2$ ).

Para obter o resultado de homocisteína em  $\mu\text{mol/l}$ , deve-se multiplicar a diferença de absorbância ( $\Delta A = A_2 - A_1$ ) pelo fator.

#### Precisão intra-ensaio (n = 20)

Nível	D.P.	C.V.
7,06 $\mu\text{mol/l}$	$\pm 0,40 \mu\text{mol/l}$	5,6%
12,38 $\mu\text{mol/l}$	$\pm 0,38 \mu\text{mol/l}$	3,1%
29,16 $\mu\text{mol/l}$	$\pm 0,84 \mu\text{mol/l}$	2,9%

#### Precisão total (n = 20)

Nível	D.P.	C.V.
7,06 $\mu\text{mol/l}$	$\pm 0,38 \mu\text{mol/l}$	5,4%
12,38 $\mu\text{mol/l}$	$\pm 0,41 \mu\text{mol/l}$	3,3%
29,16 $\mu\text{mol/l}$	$\pm 1,39 \mu\text{mol/l}$	4,8%

**b) Linearidade:** a reação é linear até uma concentração de 60  $\mu\text{mol/l}$  de homocisteína.

**c) Limite de detecção:** 0,274  $\mu\text{mol/l}$ .

#### PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado.

#### APRESENTAÇÃO

55 ml: - 1 x 50 ml Reagente A

- 1 x 5 ml Reagente B

(Cód. 1009365)

55 ml: - 1 x 50 ml Reagente A

- 1 x 5 ml Reagente B

(Cód. 1009623)

55 ml: - 1 x 50 ml Reagente A

- 1 x 5 ml Reagente B

(Cód. 1009931)\*

#### REFERÊNCIA

- McCully KS. - Am. J. Pathol. 56:111-128; 1969.
- McCully KS. - Ann. Clin. Lab. Sci. 23:447-493; 1993.
- Cramer DA. - Laboratory Medicine - 29:7; 1998.
- Rosenquist TH, Ratashak SA, Selhub J. - Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:15227-15232; 1996.
- Young, DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5<sup>th</sup> ed., AACCPress, Washington, DC, p 3-441; 2000.
- Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, et al. - Clin. Chem. 39:1764-79; 1993.
- Probst R, Brandl R, Blümke M, Neumeier D. - Clin. Chem. 44:1567-9; 1998.
- CLSI EP9 A2: Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Ed., CLSI, 2002.
- CLSI EP15 A2: User verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline - Second Ed., CLSI, 2005.
- CLSI EP6 A: Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline, CLSI, 2003.
- Silvia Persichilli, Bruno Zappacosta, et al. - Clin. Chem. Lab. Med. 46/12: 1786-1788; 2008.
- John M Scott et al. - Clin. Chem. 50/1:3-32; 2004.

#### CALIBRAÇÃO

É recomendável utilizar **Homocysteine Calibrator** de Wiener lab. Os calibradores devem ser processados da mesma maneira que as amostras e a partir dele, deve ser calculado o fator correspondente.

Ingressar o valor de concentração do calibrador cada vez que seja mudado o lote.

#### MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar com cada determinação, 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Homocysteine Control**) com concentrações conhecidas de homocisteína.

O faixa aceitável de controle deverá ser estabelecida por cada laboratório.

#### VALORES DE REFERÊNCIA

Grávidas: < 10  $\mu\text{mol/l}$

Crianças < 15 anos: < 10  $\mu\text{mol/l}$

Adultos 15-65 anos: < 15  $\mu\text{mol/l}$

Adultos > 65 anos: < 20  $\mu\text{mol/l}$

Estas faixas devem ser consideradas somente como guia para os valores esperados.

Os níveis de homocisteína podem variar com a idade, sexo, área geográfica e fatores genéticos.

É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

#### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA.

Não pipetar com a boca.

É recomendável o uso de **Homocysteine Control** de Wiener lab. como material de controle de qualidade, visto que com outros controles comerciais podem ser obtidos valores diferentes à faixa estabelecida porque os mesmos são dependentes do método ou sistema utilizado.

#### DESEMPENHO

**a) Precisão:** baseado no protocolo EP15-A do CLSI, foram obtidos os seguintes coeficientes de variação como estimadores da precisão intra-ensaio (CV<sub>i</sub>) e total (CV<sub>t</sub>):



# Homocysteine

For total homocysteine determination in serum and plasma

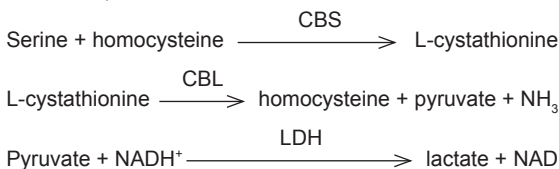
## SUMMARY

Homocysteine is a by-product of protein metabolism, specifically the intracellular demethylation of the essential amino acid, methionine. Homocysteine is exported into plasma where it circulates, mostly in its oxidized form, bound to plasma proteins.

Total homocysteine represents the sum of all homocysteine species found in serum or plasma (free plus protein bound). In small amounts, homocysteine is not harmful to the body or blood vessels, but when excess amounts accumulate in the blood stream, arterial vessels may be damaged and the resulting inflammation may eventually cause blockage of blood to the heart. Recent studies are yielding evidence that elevated blood levels of homocysteine have a predictive value for risk of coronary artery disease similar to that of elevated cholesterol levels. Recent evidence has also related elevated blood levels of homocysteine to the risk of miscarriages and birth defects.

## PRINCIPLE

Oxidized forms of homocysteine are reduced to free homocysteine which then reacts with serine catalyzed by cystathionine  $\beta$ -synthase (CBS) to form L-cystathionine. Cystathionine is cycled back to homocysteine by cystathionine  $\beta$ -lyase (CBL) forming in the process pyruvate and ammonia. This cycling sequence increases the sensitivity of the method by about 10-fold. Pyruvate is detected using lactate dehydrogenase (LDH) with NADH. The rate of conversion of NADH to NAD is directly proportional to the amount of homocysteine in the sample or calibrator.



## PROVIDED REAGENTS

**A. Reagent A:** > 35 kU/l lactate dehydrogenase (rabbit muscle), serine 0.76 mmol/l, NADH 0.47 mmol/l, Tris buffer pH 8.5.

**B. Reagent B:** > 20 kU/l cystathionine  $\beta$ -synthase (microbial), > 10 kU/l cystathionine  $\beta$ -lyase (microbial), pH 7.5.

## NON-PROVIDED REAGENTS

- Saline Solution (0.9%)
- Wiener lab's **Homocysteine Calibrator**

## INSTRUCTIONS FOR USE

**Provided Reagents:** ready to use.

## WARNINGS

The reagents are for "in vitro" diagnostic use.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

## STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

**Provided Reagents:** stable at 2-10°C until the expiration date stated on the box.

## INSTABILITY OR DETERIORATION OF REAGENTS

Reagents are limpid solutions. Discard in case of turbidity.

## SAMPLE

Serum or plasma

**a) Collection:** obtain serum in the usual way.

**b) Additives:** in case plasma is used as sample, use EDTA or heparin for its collection.

**c) Known interfering substances:** no interference is observed by bilirubin up to 20 mg/dl, hemoglobin up to 500 mg/dl and triglycerides up to 500 mg/dl.

Refer to Young bibliography for effects of drugs on this method.

**d) Stability and storage instructions:** homocysteine in serum or plasma is stable for up to 4 days at 20-25°C, for up to 4 weeks at 2-10°C and for up to 4 years at -20°C.

## REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Volumetric material for measuring stated volumes.
- Automated analyzer.

## PROCEDURE

(Automated analyzer)

The general testing procedure for **Homocysteine** in an automated analyzer is detailed below. For programming instructions check the user's manual of the automated analyzer in use.

<b>Sample or Calibrator</b>	10 $\mu$ l
<b>Reagent A</b>	150 $\mu$ l

Incubate for 300 seconds at 37°C.

**Reagent B**

15 µl

Incubate for 60 seconds at 37°C. Measure initial absorbance at 340 nm ( $A_1$ ). At exactly 300 seconds measured (using stopwatch) the absorbance again ( $A_2$ ). To obtain homocysteine result in µmol/l, multiply the absorbance difference ( $\Delta A = A_2 - A_1$ ) by the factor.

**CALIBRATION**

Wiener lab's **Homocysteine Calibrator** is recommended. Calibrator should be processed as a sample and the corresponding factor is calculated based on it. Insert the calibrator's concentration value every time a lot is changed.

**QUALITY CONTROL METHOD**

For each determination, process 2 levels of a quality control material (**Homocysteine Control**) with known homocysteine concentrations.

Each laboratory should establish its own acceptable control range.

**REFERENCE VALUES**

Pregnant: < 10 mmol/l

Children < 15 years: < 10 mmol/l

Adults 15-65 years: < 15 mmol/l

Adults > 65 years: < 20 mmol/l

Consider these limits as guidelines only.

Homocysteine levels can vary with age, gender, geographical area and genetic factors, therefore it is important for laboratories to establish their own reference ranges.

**PROCEDURE LIMITATIONS**

See Known Interfering Substances under SAMPLE.

Do not pipette by mouth.

It is recommended to use Wiener lab's **Homocysteine Control** as quality control material. The use of controls from other manufacturers may yield different values for certain ranges because they are dependent from the method or system used.

**PERFORMANCE**

**a) Reproducibility:** the following coefficients of variations were obtained as an estimation of the intra-assay (CV<sub>i</sub>) and total (CV<sub>t</sub>) precision studies, according to the guidelines contained in CLSI EP15-A document:

**Intraassay precision (n = 20)**

Level	S.D.	C.V.
7.06 mmol/l	± 0.40 mmol/l	5.6%
12.38 mmol/l	± 0.38 mmol/l	3.1%
29.16 mmol/l	± 0.84 mmol/l	2.9%

**Total precision (n = 20)**

Level	S.D.	C.V.
7.06 mmol/l	± 0.38 mmol/l	5.4%
12.38 mmol/l	± 0.41 mmol/l	3.3%
29.16 mmol/l	± 1.39 mmol/l	4.8%

**b) Linearity:** reacción es linear up to homocysteine concentration of 60 mmol/l.

**c) Detection Limit:** 0.274 mmol/l.

**PARAMETERS FOR AUTOMATIC ANALYZERS**

For programming instructions check the user's manual of the automated analyzer in use.

**WIENER LAB. PROVIDES**

55 ml: - 1 x 50 ml Reagent A  
- 1 x 5 ml Reagent B  
(Cat. N° 1009365)

55 ml: - 1 x 50 ml Reagent A  
- 1 x 5 ml Reagent B  
(Cat. N° 1009623)

55 ml: - 1 x 50 ml Reagent A  
- 1 x 5 ml Reagent B  
(Cat. N° 1009931)\*

**REFERENCES**

- McCully KS. - Am. J. Pathol. 56:111-128; 1969.
- McCully KS. - Ann. Clin. Lab. Sci. 23:447-493; 1993.
- Cramer DA. - Laboratory Medicine - 29:7; 1998.
- Rosenquist TH, Ratashak SA, Selhub J. - Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:15227-15232; 1996.
- Young, DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5<sup>th</sup> ed., AACC Press, Washington, DC, p 3-441; 2000.
- Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, et al, - Clin. Chem. 39:1764-79; 1993.
- Probst R, Brandl R, Blümke M, Neumeier D. - Clin. Chem. 44:1567-9; 1998.
- CLSI EP9 A2: Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Ed., CLSI, 2002.
- CLSI EP15 A2: User verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline - Second Ed., CLSI, 2005.
- CLSI EP6 A: Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline, CLSI, 2003.
- Silvia Persichilli, Bruno Zappacosta, et al. - Clin. Chem. Lab. Med. 46/12: 1786-1788; 2008.
- John M Scott et al. - Clin. Chem. 50/1:3-32; 2004.



# Homocysteine

Nr kat. 1009365  
Nr kat. 1009623  
Nr kat. 1009931

Do oznaczania całkowitej Homocysteiny

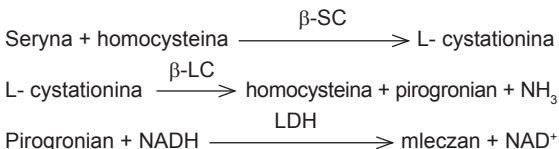
## WSTĘP

Homocysteina jest produktem przemiany białek, głównie wewnątrzkomórkowej demetylacji aminokwasu metioniny. Homocysteina jest transportowana do surowicy, gdzie jest transportowana głównie w formie utlenionej, związanej z białkami surowicy.

Całkowita zawartość homocysteiny w organizmie jest sumą obu form homocysteiny jakie występują w surowicy (wolna i związana z białkami). W niewielkich ilościach homocysteina nie wywiera szkodliwego wpływu na organizm a zwłaszcza na funkcje naczyń krwionośnych ale w nadmiarze homocysteina akumuluje się w krążeniu, ścianki naczyń mogą ulec uszkodzeniu i powstający stan zapalny może spowodować zablokowanie dopływu krwi do serca. Ostatnie badania dowodzą predykcyjnej wartości podwyższonego poziomu homocysteiny w stosunku do ryzyka wystąpienia choroby niedokrwiennej serca podobnie jak podwyższony poziom cholesterolu. Ostatnie doniesienia łączą również podwyższone poziomy homocysteiny we krwi ze zwiększonym ryzykiem poronień i nieprawidłowości podczas porodu.

## ZASADA DZIAŁANIA

Utleniona forma homocysteiny jest redukowana do wolnej homocysteiny, która następnie reaguje z seryną w reakcji katalizowanej przez  $\beta$ -syntetazę cystationiny ( $\beta$ -SC) i powstaje forma L-cystationiny. Cystationina jest przekształcana powtórnie do homocysteiny przez  $\beta$ -liazę cystationiny ( $\beta$ -LC), jednocześnie powstaje amoniak i pirogronian. Ta cykliczna reakcja podwyższa czułość metody około 10 razy. Pirogronian jest wykrywany przy pomocy LDH i NADH. Szybkość konwersji NADH do NAD jest wprost proporcjonalna do zawartości homocysteiny w próbce lub materiale kalibracyjnym.



## DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

**A. Odczynnik A:** > 35 KU/L dehydrogenazy mleczanowej (mięśnie królika), seryna 0.76 mmol/l, NADH 0.47 mmol/l, Bufor Tris (pH 8.5)

**B. Odczynnik B:** > 20 kU/l  $\beta$ -syntetaza cystationiny (bakteryjna), > 10kU/l  $\beta$ -liaza cystationiny (bakteryjna), pH 7.5.

## NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

- Sól fizjologiczna (0,9%)
- Wiener lab. **Homocysteine Calibrator**

## INSTRUKCJA UŻYCIA

**Dostarczane odczynniki:** gotowe do użycia.

## OSTRZEŻENIA

Odczynniki tylko do diagnostyki "in vitro".  
Przy pracy z odczynnikiem stosować środki ostrożności typowe dla rutynowych procedur w laboratoriach klinicznych. Odpady należy utylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami.

## TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczane odczynniki są trwałe do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu, jeśli są przechowywane w temperaturze 2-10°C.

## NIESTABILNOŚĆ LUB ROZKŁAD ODCZYNNIKA

Odczynniki powinny być klarowne, jeśli wystąpi zmętnienie odczynnik należy wymienić.

## MATERIAŁ

Świeża surowica krwi lub osocze

- a) Pobranie:** pobrać krew w klasyczny sposób.
- b) Substancje dodatkowe:** w przypadku osocza zaleca się heparynę lub EDTA jako antykoagulant.
- c) Znane interakcje:** bilirubina do 20 mg/dl, hemoglobina do poziomu 500 mg/dl, triglicerydy do 500 mg/dl nie mają wpływu na wynik badania.  
Wpływ leków: patrz dane źródłowe Young D.S., pozycja w j. polskim
- d) Trwałość i warunki przechowywania:** homocysteina w surowicy lub osoczu jest stabilna do 4 dni w temperaturze pokojowej (20-25°C), do 4 tygodni w temperaturze 2-10°C, do 4 lat. w temperaturze -20°C.

## WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (nie dostarczone)

- Mikropipety i pipety do pomiaru objętości
- Analizator biochemiczny

## PROCEDURA

(Analizator automatyczny)

Podstawowa procedura oznaczania homocysteiny na analizatorze automatycznym została przedstawiona poniżej.

Należy zapoznać się z instrukcją obsługi celem programowania analizatorów automatycznych.

W próbkach oznaczonych próbka badana (badana/kalibrator/kontrola), umieścić:

<b>Próbka badana/kalibrator/kontrola</b>	10 µl
--	-------

<b>Odczynnik A</b>	150 µl
--------------------	--------

Inkubować przez 300 sekund w 37°C.

<b>Odczynnik B</b>	15 µl
--------------------	-------

Inkubować przez 60 sekund w 37°C.

Odczytać wyjściową absorbancję próbki wzorcowej i próbki badanej przy długości fali 340 nm ( $A_1$ ).

Po dokładnie 300 sekundach odczytać (stoper) odczytać ponownie absorbancję ( $A_2$ ).

Aby obliczyć stężenie homocysteiny w µmol/l, należy pomnożyć różnicę absorbancji ( $\Delta A = A_2 - A_1$ ) przez współczynnik (faktor).

otrzymano podczas badania precyzji zgodnie z wytycznymi zawartymi w dokumencie EP15-A NCCLS

#### Precyzja w trakcie badania (n = 20)

Poziom	S.D.	C.V.
7,06 umol/l	± 0,40 umol/l	5,6%
12,38 umol/l	± 0,38 umol/l	3,1%
29,16 umol/l	± 0,84 umol/l	2,9%

#### Precyzja całkowita (n = 20)

Poziom	S.D.	C.V.
7,06 umol/l	± 0,38 umol/l	5,4%
12,38 umol/l	± 0,41 umol/l	3,3%
29,16 umol/l	± 1,39 umol/l	4,8%

**b) Zakres pomiarowy:** reakcja jest liniowa do poziomu 60 mmol/l homocysteiny.

**c) Graniczna wykrywalność:** 0.274 mmol/l

#### PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Należy zapoznać się z instrukcją obsługi celem programowania automatycznych analizatorów.

#### WIENERLAB DOSTARCZA

55 ml: - 1 x 50 ml odczynnika A

- 1 x 5 ml odczynnika B

(Nr kat. 1009365)

55 ml: - 1 x 50 ml odczynnika A

- 1 x 5 ml odczynnika B

(Nr kat. 1009623)

55 ml: - 1 x 50 ml odczynnika A

- 1 x 5 ml odczynnika B

(Nr kat. 1009931)

#### ŹRÓDŁA

- McCully KS. - Am. J. Pathol. 56:111-128; 1969.
- McCully KS. - Ann. Clin. Lab. Sci. 23:447-493; 1993.
- Cramer DA. - Laboratory Medicine - 29:7; 1998.
- Rosenquist TH, Ratashak SA, Selhub J. - Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:15227-15232; 1996.
- Young, DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed., AACCC Press, Washington, DC, p 3-441; 2000.
- Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, et al, - Clin. Chem. 39:1764-79; 1993.
- Probst R, Brandl R, Blümke M, Neumeier D. - Clin. Chem. 44:1567-9; 1998.
- CLSI EP9 A2: Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Ed., CLSI, 2002.
- CLSI EP15 A2: User verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline - Second Ed., CLSI, 2005.
- CLSI EP6 A: Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline, CLSI, 2003.
- Silvia Persichilli, Bruno Zappacosta, et al. - Clin. Chem. Lab. Med. 46/12: 1786-1788; 2008.
- John M Scott et al. - Clin. Chem. 50/1:3-32; 2004.

#### KALIBRACJA

Do kalibracji zaleca się użycie Wiener lab. **Homocysteine Calibrator**.

Materiał kalibracyjny należy traktować tak jak próbkę badaną ponieważ jest z nim związany, wyliczany na tej podstawie współczynnik (faktor). Należy wprowadzić wartość materiału kalibracyjnego (stężenie) za każdym razem gdy zmienia się seria odczynnika.

#### METODA KONTROLI JAKOŚCI

Do każdego oznaczenia należy dołączać dwa poziomy materiał kontrolny (**Homocysteine Control**) z mianowanymi wartościami homocysteiny.

Każde laboratorium powinno ustalić własne zakresy wartości dopuszczalnych dla materiału kontrolnego .

#### ZAKRES WARTOŚCI REFERENCYJNYCH

Kobiety w ciąży: < 10 mmol/l

Dzieci < 15 lat: < 10 mmol/l

Dorośli 15-65 lat: < 15 mmol/l

Podane zakresy są jedynie orientacyjne.

Poziom Homocysteiny zmienia się z wiekiem, płcią, pochodzeniem geograficznym i czynnikami genetycznymi dlatego.

Zgodnie z zaleceniami IFCC, każde Laboratorium powinno ustalić własne zakresy wartości referencyjny.

#### OGRANICZENIA PROCEDURY

Patrz znane interakcje z innymi substancjami w rozdziale MATERIAŁ.

Nie pipetować przy pomocy ust.

Zaleca się stosowanie Wiener lab. **Homocysteine Control** jako materiał kontroli jakości. Użycie materiału kontrolnego innej firmy może spowodować różnice w wartościach dla poszczególnych zakresów ponieważ są one zależne od zastosowanej metody.


#### CHARAKTERYSTYKA TESTU


**a) Powtarzalność:** następujące współczynniki zmienności





## SÍMBOLOS // SÍMBOLOS // SYMBOLS // OZNACZENIA

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits. // Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.


 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"// Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"// This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices// Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea// Representante autorizado na Comunidade Europeia// Authorized representative in the European Community// Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Uso diagnóstico "in vitro"// Uso médico-diagnóstico "in vitro"// "In vitro" diagnostic medical device// Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos// Conteúdo suficiente para <n> testes// Contains sufficient for <n> tests// Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Fecha de caducidad// Data de validade// Use by// Użyć przed

 Límite de temperatura (conservar a)// Limite de temperatura (conservar a)// Temperature limitation (store at)// Ograniczenie dopuszczalnej temperatur

 No congelar// Não congelar// Do not freeze// Nie zamrażać

 Riesgo biológico// Risco biológico// Biological risks// Ryzyko biologiczne

 Volumen después de la reconstitución// Volume após a reconstituição// Volume after reconstitution// Objętość po rozpuszczeniu

 Contenido// Conteúdo// Contents// Zawartość

 Número de lote// Número de lote// Batch code// numer serii

 Elaborado por:// Elaborado por:// Manufactured by:// Wytwórca

 Nocivo// Nocivo// Harmful// Substancja szkodliwa

 Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic// Substancja żrące

 Irritante// Irritante// Irritant// Substancja drażniąca


 Consultar instrucciones de uso// Consultar as instruções de uso// Consult instructions for use// Przed użyciem zapoznać się z instrukcją


 Calibrador// Calibrador// Calibrator// Kalibrator

 Control// Controle// Control// Próba kontrolna

 Control Positivo// Controle Positivo// Positive Control// Próba kontrolna dodatnia

 Control Negativo// Controle Negativo// Negative Control// Próba kontrolna ujemna

 Número de catálogo// Número de catálogo// Catalog number// Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.  
Riobamba 2944  
2000 - Rosario - Argentina  
<http://www.wiener-lab.com.ar>  
Dir. Tec.: Viviana E. Cétola  
Bioquímica  
Producto Autorizado A.N.M.A.T.  
PM-1102-51



**Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina