

Información de pedido

REF	CONTENT	ID del sistema	Analizadores adecuados para el cobas c pack
05385415 190	Homocysteine Enzymatic Assay 100 pruebas	07 7487 1	cobas c 311, cobas c 501/502
Material requerido adicionalmente (no suministrado):			
05385504 190	HCYS Calibrator Kit (2 x 3 mL)	Código 590	
05142423 190	HCYS Control Kit Control 1 (2 x 3 mL)	Código 254	
	HCYS Control Kit Control 2 (2 x 3 mL)	Código 255	
04489357 190	Diluent NaCl 9 % (50 mL)	ID del sistema 07 6869 3	

Español

Información del sistema

Analizadores cobas c 311/501:

HCYS: ACN 778

Analizadores cobas c 502:

HCYS: ACN 8778

Uso previsto

Test in vitro para la determinación cuantitativa de la L-homocisteína total en suero y plasma humanos en los sistemas Roche/Hitachi cobas c. El presente test se emplea en el diagnóstico de la hiperhomocisteinemia o de la homocistinuria.

Generalidades^{1,2,3}

La homocisteína (Hcy) es un aminoácido con un grupo tiol que se sintetiza por desmetilación intracelular de la metionina. La homocisteína total (tHcy) representa la totalidad de las formas de Hcy incluyendo las formas oxidadas, las fijadas a proteínas y las formas libres.

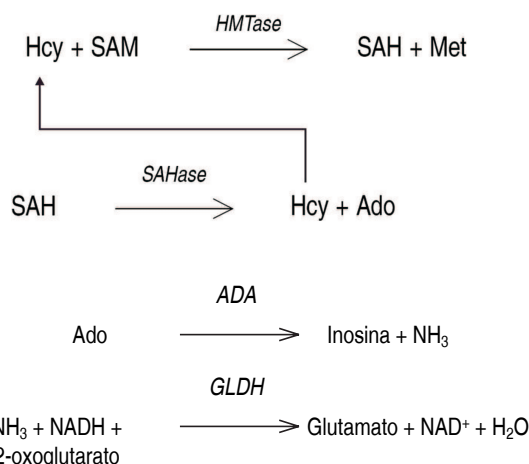
Se ha demostrado que niveles elevados de tHcy constituyen un importante factor de riesgo en la evaluación de las enfermedades cardiovasculares.^{1,2,3} Un exceso de Hcy en el torrente sanguíneo puede causar lesiones arteriales debido a su carácter irritante, provocando inflamaciones y la formación de plaquetas que lleguen a bloquear la circulación de la sangre al corazón.

El aumento de las concentraciones de tHcy se debe a cuatro factores principales:

- deficiencias genéticas de las enzimas involucradas en el metabolismo de la Hcy como la cistationina beta-sintetasa (CBS), la metionina sintetasa (MS) y la metilmetotetrahidrofolato reductasa (MTHFR);
- deficiencias nutricionales de la vitamina B (vitamina B₆, vitamina B₁₂ y folato);
- insuficiencia renal obstaculizando el aclaramiento de los aminoácidos e
- interacciones farmacológicas, por ejemplo con el óxido nítrico, el metotrexato y la fenitoína interfiriendo en el metabolismo de la homocisteína. Las concentraciones elevadas de tHcy se encuentran también vinculadas a la enfermedad de Alzheimer⁴, la enfermedad neuropsiquiátrica⁵ y la osteoporosis.⁶ Recientemente se han establecido normas para la determinación de la homocisteína total en el laboratorio clínico.^{7,8}

Principio del test

El ensayo enzimático de la homocisteína se basa en un novedoso principio de test (enzyme cycling assay) en que se determina el producto de conversión del cosubstrato y no directamente el cosubstrato o los productos de conversión de la Hcy. En el presente ensayo, la Hcy oxidada se reduce a Hcy libre la cual, catalizada por una homocisteína S-metiltransferasa, reacciona con un cosubstrato, la S-adenosilmetionina (SAM) para formar metionina (Met) y S-adenosilhomocisteína (SAH). La SAH se determina por una serie de reacciones enzimáticas acopladas en las cuales la SAH es hidrolizada para transformarse en adenosina (Ado) y Hcy en presencia de hidrolasa de SAH. En una reacción de conversión, la Hcy formada es reincorporada a un ciclo de reacción que amplifica la señal de detección. La adenosina formada se hidroliza inmediatamente a inosina y amoníaco. En el último paso, la enzima glutamato deshidrogenasa (GLDH) cataliza la reacción del amoníaco con el 2-oxoglutarato y NADH para formar NAD⁺. La concentración de Hcy de la muestra es directamente proporcional a la cantidad de NADH convertida a NAD⁺ ($\Delta A_{340 \text{ nm}}$).



Reactivos - Soluciones de trabajo

R1 Reactivo de NADH

S-adenosilmetionina 0.1 mmol/L, TCEP* > 0.5 mmol/L, 2-oxoglutarato < 5.0 mmol/L, NADH > 0.2 mmol/L, tampón, pH 9.1 (25 °C), conservante, estabilizador

R2 Reactivo enzimático

Homocisteína S-metiltransferasa (HMTasa) 5.0 kU/L, glutamato deshidrogenasa (GLDH) 10 kU/L, caseína (bovina) ≤ 0.2 %, tampón, pH 7.2 (25 °C), conservante, detergente

R3 Reactivo iniciador

Adenosina desaminasa (bovina) 5.0 kU/L, S-adenosilhomocisteína hidrolasa (SAHase) 3.0 kU/L, caseína (bovina) ≤ 0.2 %, tampón, pH 7.2 (25 °C), conservante, estabilizador

*Tris(2-carboxietil)fosfina

R1 está en la posición A, R2 está en la posición B y R3 está en la posición C.

Medidas de precaución y advertencias

Para el uso diagnóstico *in vitro* por los profesionales de la salud. Observe las medidas de precaución usuales para la manipulación de reactivos de laboratorio.

Residuos infecciosos o microbiológicos:

Advertencia: manipule los residuos como material biológico potencialmente peligroso. Deseche los residuos de acuerdo con las instrucciones y procedimientos de laboratorio aceptados.

Peligros ambientales:

Aplique todas las normas locales de eliminación pertinentes para asegurar una eliminación segura.

Existe una ficha de datos de seguridad a disposición del usuario profesional que la solicite.

Preparación de los reactivos

Los reactivos están listos para el uso.

Conservación y estabilidad**HCYS**

Sin abrir, a 2-8 °C: véase la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del **cobas c** pack.

En uso y refrigerado en el analizador: 4 semanas

Diluyente NaCl al 9 %

Sin abrir, a 2-8 °C: véase la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del **cobas c** pack.

En uso y refrigerado en el analizador: 12 semanas

No congelar.**Obtención y preparación de las muestras**

Emplear únicamente tubos o recipientes adecuados para recoger y preparar las muestras.

Sólo se han analizado y considerado aptos los tipos de muestra aquí indicados.

Suero.

Plasma tratado con heparina de litio y EDTA di y tripotásico.

Centrifugar las muestras de sangre inmediatamente después de recogerlas para separar el plasma de las células sanguíneas. Las muestras que no pueden centrifugarse inmediatamente deberían conservarse en hielo y centrifugarse dentro de una hora. No se recomienda efectuar la prueba de Hcy con muestras hemolizadas, turbias o fuertemente lipémicas.

Los tipos de muestra aquí indicados fueron analizados con tubos de recogida de muestras seleccionados, comercializados en el momento de efectuar el análisis, lo cual significa que no fueron analizados todos los tubos de todos los fabricantes. Los sistemas de recogida de muestras de diversos fabricantes pueden contener diferentes materiales que, en ciertos casos, pueden llegar a afectar los resultados de los análisis. Si las muestras se procesan en tubos primarios (sistemas de recogida de muestras), seguir las instrucciones del fabricante de tubos.

Estabilidad:^{8,9,10} 4 días a 15-25 °C
4 semanas a 2-8 °C
10 meses a -20 °C

Centrifugar las muestras que contienen precipitado antes de realizar el ensayo.

Consulte la sección de limitaciones e interferencias para obtener detalles sobre posibles interferencias por muestras.

Material suministrado

Consultar la sección "Reactivos - Soluciones de trabajo" en cuanto a los reactivos suministrados.

Material requerido adicionalmente (no suministrado)

Consultar la sección "Información de pedido"

Equipo usual de laboratorio

Realización del test

Para garantizar el funcionamiento óptimo del test, observe las instrucciones de la presente metodología referentes al analizador empleado. Consulte el manual del operador apropiado para obtener las instrucciones de ensayo específicas del analizador.

Roche no se responsabiliza del funcionamiento de las aplicaciones no validadas por la empresa. En su caso, el usuario se hace cargo de su definición.

Aplicación para suero y plasma**Definición del test para el analizador cobas c 311**

Tipo de medición 2 puntos finales

Tiempo de reacción/ Puntos de medición 10 / 36-57

Longitud de onda (sub/princ) 700/340 nm

Dirección de reacción Disminución

Unidades $\mu\text{mol/L}$

Pipeteo de reactivo Diluyente (H₂O)

R1 176 μL –

R2 28 μL –

R3 20 μL –

Volúmenes de muestra	Muestra	Dilución de muestra	
		Muestra	Diluyente (NaCl)
Normal	14 μL	–	–
Disminuido	14 μL	30 μL	120 μL
Aumentado	14 μL	–	–

Normal 14 μL

Disminuido 14 μL

Aumentado 14 μL

Definición del test en los analizadores cobas c 501/502

Tipo de medición 2 puntos finales

Tiempo de reacción/ Puntos de medición 10 / 51-70

Longitud de onda (sub/princ) 700/340 nm

Dirección de reacción Disminución

Unidades $\mu\text{mol/L}$

Pipeteo de reactivo Diluyente (H₂O)

R1 176 μL –

R2 28 μL –

R3 20 μL –

Volúmenes de muestra	Muestra	Dilución de muestra	
		Muestra	Diluyente (NaCl)
Normal	14 μL	–	–
Disminuido	14 μL	30 μL	120 μL
Aumentado	14 μL	–	–

Normal 14 μL

Disminuido 14 μL

Aumentado 14 μL

Calibración

Calibradores S1-5: HCYS Calibrator Kit

Multiplicar el valor de calibrador del HCYS Calibrator Kit específico del lote por los factores indicados a continuación a fin de determinar las concentraciones estándar de la curva de calibración de 5 puntos.

S1: 0.050 S4: 0.500

S2: 0.100 S5: 1.00

S3: 0.250

Modo de calibración RCM

Intervalo de calibraciones Calibración completa

• cada 7 días

• con cada lote de reactivos

• si fuera necesario según los procedimientos de control de calidad

El intervalo de calibración puede ampliarse si el laboratorio asegura una verificación aceptable de la calibración.

Trazabilidad: el presente método ha sido estandarizado frente al material de referencia SRM 1955 del NIST.

Control de calidad

Efectuar el control de calidad con los controles indicados en la sección "Información de pedido".

Adicionalmente pueden emplearse otros controles apropiados.

Adaptar los intervalos y límites de control a los requisitos individuales del laboratorio. Los resultados obtenidos deben hallarse dentro de los límites definidos. Cada laboratorio debería establecer medidas correctivas a seguir en caso de obtener valores fuera del intervalo definido.

Cumplir con las regulaciones gubernamentales y las normas locales de control de calidad pertinentes.

Cálculo

Los sistemas **cobas c** calculan automáticamente la concentración de analito de cada muestra.

Limitaciones del análisis - interferencias

Criterio: recuperación dentro de $\pm 10\%$ del valor inicial para una concentración de analito $> 15 \mu\text{mol/L}$ o dentro de $\pm 1.5 \mu\text{mol/L}$ para una concentración de analito $\leq 15 \mu\text{mol/L}$.

Ictericia:¹¹ sin interferencia significativa hasta un índice I de 20 para la bilirrubina conjugada y sin conjugar (concentración de bilirrubina conjugada y sin conjugar: aproximadamente $342 \mu\text{mol/L}$ o 20 mg/dL).

Hemólisis:¹¹ sin interferencia significativa hasta un índice H de 100 (concentración aproximada de hemoglobina: $62 \mu\text{mol/L}$ o 100 mg/dL).

Lipemia (Intralipid):¹¹ sin interferencia significativa hasta un índice L de 250. No existe una correlación satisfactoria entre el índice L (que corresponde a la turbidez) y la concentración de triglicéridos.

Fármacos: no se registró ninguna interferencia con paneles de fármacos de uso común analizados a concentraciones terapéuticas.^{12,13}

Excepciones: la glutatona a 0.5 mmol/L , la cistationina a $100 \mu\text{mol/L}$ y el piruvato a 0.5 mmol/L .

Las concentraciones de homocisteína pueden ser elevadas en pacientes que toman metotrexato, carbamacepina, fenitoína, óxido nítrico, anticonvulsivos o triacetato de 6-azauridina debido a interferencias con el metabolismo de la homocisteína.^{7,10}

La S-adenosilhomocisteína (SAH) produce una interferencia significativamente positiva. Pero dado que la SAH sólo puede detectarse a concentraciones subnanomolares en el plasma normal, no es motivo de preocupación.¹⁴

Se ha propuesto añadir 3-deazaadenosina para inhibir la producción de Hcy en los eritrocitos. No obstante, el presente test no puede efectuarse con muestras que contienen 3-deazaadenosina por inhibir una de las enzimas clave utilizadas en el ensayo.

En casos muy raros pueden obtenerse resultados falsos debidos a la gammopatía, particularmente del tipo IgM (macroglobulinemia de Waldenström).¹⁵

Para el diagnóstico, los resultados del test siempre deben interpretarse teniendo en cuenta la anamnesis del paciente, la exploración clínica así como los resultados de otros exámenes.

ACCIÓN REQUERIDA

Programación de lavado especial: en los sistemas **cobas c**, ciertas combinaciones de test requieren ciclos de lavado especial. La lista de las contaminaciones por arrastre también puede encontrarse en la versión más actual de la metodología NaOHD-SMS-SmpCln1+2-SCCS. Para mayor información, consulte el manual del operador del analizador correspondiente. Analizador **cobas c 502**: Todos los pasos de lavado necesarios para evitar la contaminación por arrastre están disponibles a través de **cobas link**. En algunos casos se requieren entradas manuales.

En caso necesario, implemente el lavado especial destinado a evitar la contaminación por arrastre antes de comunicar los resultados del test.

Límites e intervalos**Intervalo de medición**

$3\text{--}50 \mu\text{mol/L}$

Determinar las muestras de mayor concentración a través de la función de repetición. En este caso, las muestras se diluyen a 1:5. Los resultados de las muestras diluidas con la función de repetición se multiplican automáticamente por 5.

Límites inferiores de medición**Límite de Blanco, Límite de Detección y Límite de Cuantificación**

Límite de Blanco = $3 \mu\text{mol/L}$

Límite de Detección = $3 \mu\text{mol/L}$

Límite de Cuantificación = $5.5 \mu\text{mol/L}$

Tanto el Límite de Blanco como el Límite de Detección fueron determinados cumpliendo con los requerimientos establecidos en el protocolo EP17-A del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).

El Límite de Blanco es el valor del percentil 95 obtenido a partir de $n \geq 60$ mediciones de muestras libres de analito en varias series independientes. El Límite de Blanco corresponde a la concentración por debajo de la cual se encuentran, con una probabilidad del 95 %, las muestras sin analito.

El Límite de Detección se determina basándose en el Límite de Blanco y en la desviación estándar de muestras de baja concentración.

El Límite de Detección corresponde a la menor concentración de analito detectable (valor superior al Límite de Blanco con una probabilidad del 95 %).

El Límite de Cuantificación es la menor concentración de analito cuya medición puede reproducirse con un error total del 30 %. Se ha determinado a partir de muestras con concentraciones bajas de homocisteína.

Valores teóricos

En la mayoría de los laboratorios clínicos estadounidenses se emplea un valor de corte de $15 \mu\text{mol/L}$ para concentraciones normales de Hcy en adultos.

En los laboratorios europeos, se emplea un valor de corte de $12 \mu\text{mol/L}$ para concentraciones normales de Hcy en adultos.⁸

Tanto la edad como el embarazo y la función renal juegan un papel importante. También debe considerarse la toma de ácido fólico, tanto en forma de complemento como para el enriquecimiento de alimentos:

Grupo	con complementación de ácido fólico	sin complementación de ácido fólico
tHcy en ayunas, $\mu\text{mol/L}$		
Embarazo	8	10
Niños (< 15 años)	8	10
Adultos (15-65 años):	12	15
Ancianos (> 65 años)	16	20

Cada laboratorio debería comprobar si los intervalos de referencia pueden aplicarse a su grupo de pacientes y, en caso necesario, establecer sus propios valores.

Datos específicos de funcionamiento del test

A continuación, se indican los datos representativos de funcionamiento de los analizadores. Los resultados de cada laboratorio en particular pueden diferir de estos valores.

Precisión

La precisión se determinó con muestras humanas y controles según la directiva EP5 del instituto para estándares clínicos y de laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) con repetibilidad ($n = 21$) y precisión intermedia (2 alícuotas por ciclo, 2 ciclos por día, 21 días). Se obtuvieron los resultados siguientes:

<i>Repetibilidad</i>	<i>Media</i>	<i>DE</i>	<i>CV</i>
	$\mu\text{mol/L}$	$\mu\text{mol/L}$	%
Homocysteine Control 1	12.2	0.2	1.5
Homocysteine Control 2	39.1	0.7	1.8
Suero humano 1	8.26	0.16	2.0
Suero humano 2	13.1	0.2	1.8
Suero humano 3	30.0	0.4	1.4
Suero humano 4	44.4	0.9	2.0

Precisión intermedia	Media	DE	CV
	$\mu\text{mol/L}$	$\mu\text{mol/L}$	%
Homocysteine Control 1	12.2	0.3	2.1
Homocysteine Control 2	39.1	0.8	2.0
Suero humano 1	8.26	0.19	2.3
Suero humano 2	13.1	0.3	2.1
Suero humano 3	30.0	0.5	1.8
Suero humano 4	44.4	1.0	2.2

Los datos obtenidos con los analizadores **cobas c 501** son representativos para los analizadores **cobas c 311**.

Comparación de métodos

Se han comparado los valores de homocisteína en muestras de suero humano obtenidos en un analizador **cobas c 501** (y) con los obtenidos con el reactivo correspondiente en un analizador COBAS INTEGRA 400 (x).

Número de muestras (n) = 56

Passing/Bablok ¹⁶	Regresión lineal
$y = 0.962x + 0.248 \mu\text{mol/L}$	$y = 0.993x - 0.175 \mu\text{mol/L}$
$r = 0.971$	$r = 0.999$

Las concentraciones de las muestras se situaron entre 3.03 y 47.2 $\mu\text{mol/L}$.

Los datos obtenidos con los analizadores **cobas c 501** son representativos para los analizadores **cobas c 311**.

Referencias bibliográficas

- Eikelboom JW, Lonn E, Genest J Jr, et al. Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: A critical review of the epidemiologic evidence. *Ann Intern Med* 1999;131(5):363-375.
- Scott J, Weir D. Homocysteine and cardiovascular disease. *Q J Med* 1996;89(8):561-563.
- Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, et al. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1997;337(4):230-236.
- Seshadri S, Beiser A, Selhub J, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2002;346(7):476-483.
- Stanger O, Fowler B, Piertzik K, et al. Homocysteine, folate and vitamin B12 in neuropsychiatric diseases: review and treatment recommendations. *Expert Rev Neurother* 2009;9(9):1393-1412.
- McLean RR, Jacques PF, Selhub J, et al. Homocysteine as a predictive factor for hip fracture in older persons. *N Engl J Med* 2004;350(20):2042-2049.
- Refsum H. Total Homocysteine: Guidelines for Determination in the Clinical Laboratory. *Clin Lab News* 2002 May;12-14 (www.aacc.org).
- 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.
- Fiskerstrand T, Refsum H, Kvalheim G, et al. Homocysteine and other thiols in plasma and urine: Automated determination and sample stability. *Clin Chem* 1993 Feb;39(2):263-271.
- Rasmussen K and Moller J. Total homocysteine measurement in clinical practice. *Ann Clin Biochem* 2000;37:627-648.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470-475.
- Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996;34:385-386.
- Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. *Ann Clin Biochem* 2001;38:376-385.

- Loehrer FM, Angst CP, Brunner FP, et al. Evidence for disturbed S-adenosylmethionine: S-adenosylhomocysteine ratio in patients with end-stage renal failure: a cause for disturbed methylation reactions? *Nephrol Dial Transplant* 1998;13(3):656-661.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. *Clin Chem Lab Med* 2007;45(9):1240-1243.
- Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988 Nov;26(11):783-790.

En la presente metódica se emplea como separador decimal un punto para distinguir la parte entera de la parte fraccionaria de un número decimal. No se utilizan separadores de millares.

Todo incidente grave que se haya producido en relación con el producto se comunicará al fabricante y a la autoridad competente del Estado Miembro en el que se encuentre el usuario y/o el paciente.

Para el resumen del informe de seguridad y funcionamiento, consulte: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Símbolos

Roche Diagnostics utiliza los siguientes símbolos y signos adicionalmente a los indicados en la norma ISO 15223-1 (para los EE.UU.: consulte dialog.roche.com para la definición de los símbolos usados):

CONTENT	Contenido del estuche
→	Volumen tras reconstitución o mezcla
GTIN	Número Global de Artículo Comercial

La barra del margen indica suplementos, eliminaciones o cambios.

© 2020, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

+800 5505 6606

