

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 INTEGRA 400 plus COBAS INTEGRA 800
Material requerido adicionalmente (no suministrado):			
05385504 190	HCYS Calibrator Kit (2 x 3 mL)	07 7493 6	
05142423 190	HCYS Control Kit Control 1 (2 x 3 mL)	07 7490 1	
	HCYS Control Kit Control 2 (2 x 3 mL)	07 7492 8	
20756350 322	NaCl Diluent 9 % (6 x 22 mL)	07 5635 0	

Español

Información del sistema

Test HCYS, ID del test 0-006

Uso previsto

Prueba *in vitro* para la determinación cuantitativa de la L-homocisteína total en suero y plasma humanos en los sistemas COBAS INTEGRA. El presente test se emplea en el diagnóstico de la hiperhomocisteinemia o de la homocistinuria.

Características^{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.

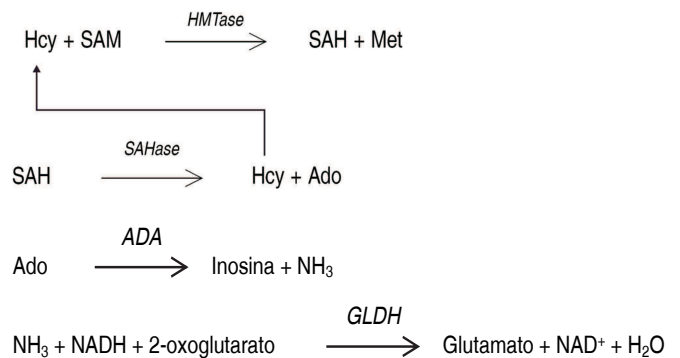
Se ha demostrado que niveles elevados de tHcy constituyen un importante factor de riesgo en la evaluación de las enfermedades cardiovasculares.^{1,2,3} Un exceso de Hcy en el torrente sanguíneo puede causar lesiones arteriales debido a su carácter irritante, provocando inflamaciones y la formación de 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 metileno tetrahidrofolato reductasa (MTHFR);
- las deficiencias nutricionales de la vitamina B (vitamina B₆, vitamina B₁₂ y folato);
- la 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 Alzheimer,⁴ 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 cosustrato y no directamente el cosustrato 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 cosustrato, 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^a) > 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 de enzima

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

SR Reactivo iniciador

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

a) Tris(2-carboxietil)fosfina

R1 está en la posición A, R2 en la posición B y SR 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

Sin abrir, a 2-8 °C	véase la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del cobas c pack
Sistema COBAS INTEGRA 400 plus en uso en el analizador, a 10-15 °C	4 semanas
Sistema COBAS INTEGRA 800 en uso en el analizador, a 8 °C	4 semanas

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 o 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 deben conservarse en hielo y centrifugarse dentro de una hora. No se recomienda emplear muestras hemolizadas, turbias o fuertemente lipémicas para el ensayo de homocisteína.

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.

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

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

Material suministrado

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

Material requerido adicionalmente (no suministrado)

Diluyente NaCl al 9 %, Ref. No. 20756350 322, ID 07 5635 0 para la dilución automática de las muestras y las diluciones en serie de los estándares. El diluyente NaCl al 9 % se coloca en la posición predefinida de la bandeja de los analizadores COBAS INTEGRA 400 plus/800 donde es estable durante 4 semanas.

Realización del test

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

Aplicación para suero y plasma**Definición del test para los analizadores COBAS INTEGRA 400 plus**

Modo de medición	Absorbancia
Cálculo de la absorbancia	Cinética
Modo de reacción	R1/R2-S-SR
Dirección de reacción	Disminución
Longitud de onda A/B	340/659 nm
Cálc. primero/último	50/62
Unidad	µmol/L

Parámetros de pipeteo

		Diluyente (H ₂ O)
R1	175 µL	–
R2	27 µL	–
Muestra	14 µL	–
SR	18 µL	–
Volumen total	234 µL	

Definición del test para el analizador COBAS INTEGRA 800

Modo de medición	Absorbancia
Cálculo de la absorbancia	Cinética
Modo de reacción	R1/R2-S-SR
Dirección de reacción	Disminución
Longitud de onda A/B	340/659 nm
Cálc. primero/último	73/95
Unidad	µmol/L

Parámetros de pipeteo

		Diluyente (H ₂ O)
R1	175 µL	–
R2	27 µL	–
Muestra	14 µL	–
SR	18 µL	–
Volumen total	234 µL	

Calibración

Calibradores	HCYS Calibrator Kit
Modo de calibración	Proporción de dilución de la calibración: 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:18 realizada automáticamente por el instrumento
Réplica de la calibración	Logit/log 5
Intervalo de calibraciones	Se recomienda por duplicado Calibración completa <ul style="list-style-type: none"> ▪ cada 7 días ▪ tras cambiar de lote de reactivos ▪ si fuera necesario según los procedimientos de control de calidad

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

Control de calidad

Para el control de calidad, emplear 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

El analizador COBAS INTEGRA 400 plus calcula automáticamente la concentración de analito de cada muestra. Para más detalles, consultar el análisis de datos de la ayuda on-line.

Limitaciones del análisis - interferencias

Criterio: Recuperación dentro de $\pm 1.5 \mu\text{mol/L}$ de los valores iniciales de las muestras $\leq 15 \mu\text{mol/L}$ y dentro de $\pm 10 \%$ para muestras $> 15 \mu\text{mol/L}$.

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

Hemólisis:¹¹ Sin interferencias significativas hasta un índice H de 100 (concentración de hemoglobina: aproximadamente $62 \mu\text{mol/L}$ o 100mg/dL).

Lipemia (Intralipid):¹¹ Sin interferencias significativas 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 han registrado interferencias con paneles de fármacos de uso común en concentraciones terapéuticas.^{12,13} Excepciones: la glutatona (0.5mmol/L), la cistationina ($100 \mu\text{mol/L}$) y el piruvato (0.5mmol/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, en el presente test no pueden emplearse muestras conteniendo 3-deazaadenosina por inhibir una de las enzimas clave utilizadas en el ensayo.

En casos muy raros pueden obtenerse resultados falsos debidos a la gammapatía, 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: Los pasos de lavado especial se aplican cuando ciertas pruebas se utilizan conjuntamente de forma combinada en los analizadores COBAS INTEGRA. Para más detalles y en cuanto a la última versión de la lista de lavados adicionales, consulte la metodología CLEAN.

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

Límites e intervalos

Intervalo de medición

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

El límite superior y el inferior del intervalo de medición depende del valor del calibrador empleado.

Determinar las muestras con concentraciones superiores a través de la función de repetición. Con la función de repetición, las muestras se diluyen 1:5. Los resultados de las muestras diluidas por la función de repetición del ciclo se multiplican automáticamente por el factor 5.

Límites inferiores de medición

Límite del Blanco, Límite de Detección y Límite de Cuantificación

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

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

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

El Límite del Blanco, el Límite de Detección y el Límite de Cuantificación fueron determinados cumpliendo con los requerimientos EP17-A del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (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 máximo del 30 %. Se ha determinado empleando 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 suplementación de ácido fólico	sin suplementación 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 siguientes resultados:

Repetibilidad	Media $\mu\text{mol/L}$	DE $\mu\text{mol/L}$	CV %
Homocysteine Control 1	12.2	0.1	1.0
Homocysteine Control 2	38.9	0.5	1.3
Suero humano 1	8.47	0.09	1.1
Suero humano 2	13.5	0.1	0.9
Suero humano 3	31.2	0.3	0.9
Suero humano 4	45.5	0.6	1.4

Precisión intermedia	Media $\mu\text{mol/L}$	DE $\mu\text{mol/L}$	CV %
Homocysteine Control 1	12.2	0.2	1.4
Homocysteine Control 2	38.9	0.6	1.5
Suero humano 1	8.47	0.11	1.3
Suero humano 2	13.5	0.2	1.4
Suero humano 3	31.2	0.5	1.4
Suero humano 4	45.5	0.8	1.7

Comparación de métodos

Se han comparado los valores de homocisteína en muestras de suero humano obtenidos en un analizador COBAS INTEGRA 800 (y) con los obtenidos con el mismo reactivo en un analizador COBAS INTEGRA 400 (x).

Número de muestras (n) = 56

Homocysteine Enzymatic AssayPassing/Bablok¹⁶

Regresión lineal

$$y = 1.00x + 0.144 \mu\text{mol/L}$$

$$y = 1.04x - 0.224 \mu\text{mol/L}$$

 $\tau = 0.967$ $r = 0.998$ La concentración de las muestras se situó entre 3.39 y 46.8 $\mu\text{mol/L}$.**Referencias bibliográficas**

- 1 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.
- 2 Scott J, Weir D. Homocysteine and cardiovascular disease. *Q J Med* 1996;89(8):561-563.
- 3 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.
- 4 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.
- 5 Stanger O, Fowler B, Piertz K, et al. Homocysteine, folate and vitamin B12 in neuropsychiatric diseases: review and treatment recommendations. *Expert Rev Neurother* 2009;9(9):1393-1412.
- 6 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.
- 7 Refsum H. Total Homocysteine: Guidelines for Determination in the Clinical Laboratory. *Clin Lab News* 2002 May;12-14 (www.aacc.org).
- 8 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.
- 9 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.
- 10 Rasmussen K and Moller J. Total homocysteine measurement in clinical practice. *Ann Clin Biochem* 2000;37:627-648.
- 11 Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470-475.
- 12 Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996;34:385-386.
- 13 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.
- 14 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.
- 15 Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. *Clin Chem Lab Med* 2007;45(9):1240-1243.
- 16 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

**GTIN**

Volumen tras reconstitución o mezcla

Número Global de Artículo Comercial

La barra del margen indica suplementos, eliminaciones o cambios.

© 2020, Roche Diagnostics



0123

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

+800 5505 6606

