

# Homocisteína FS\*

Reactivo para la determinación cuantitativa *In Vitro* de la homocisteína en suero o plasma en sistemas fotométricos

## Información de pedido

Nº de pedido      Tamaño del envase  
1 3409 99 10 930      R1 4 x 12,5 mL + R2 1 x 8 mL + R3 1 x 6 mL  
1 3400 99 10 041      3 x 1 mL TruCal Homocisteína

## Resumen [1]

La homocisteína es un aminoácido con azufre que aparece como producto intermedio en el metabolismo de la metionina. Las concentraciones elevadas de homocisteína en el plasma detectan, como marcador sensible, los estados de carencia de folato y cobalamina (vitamina B<sub>12</sub>). Además, la homocisteína es un factor de riesgo independiente de enfermedades cardiovasculares. También se observan frecuentemente concentraciones patológicas de homocisteína en malformaciones congénitas, embarazos con complicaciones, enfermedades psíquicas y trastornos cognitivos (en personas mayores).

## Método

Método cíclico enzimático

## Principio

La homocisteína total oxidada se reduce a homocisteína libre (Hcy). La Hcy libre reacciona con el cosustrato S-adenosilmetionina (SAM), catalizada por una Hcy-S-metiltransferasa, en metionina y S-adenosilhomocisteína (SAH). La SAH se hidroliza mediante la SAH-hidrolasa en adenosina y Hcy. La Hcy generada se recicla mediante la Hcy-S-metiltransferasa, lo cual causa un aumento notable de la señal medida. La adenosina formada se hidroliza inmediatamente en inosina y amoniaco. La glutamato deshidrogenasa transforma el amoniaco formado, por lo cual la NADH se convierte en NAD<sup>+</sup>. La reducción de NADH se mide a 340 nm y es proporcional a la concentración de homocisteína presente en la muestra.

Hcy + SAM  $\xrightarrow{\text{Hcy-metiltransferasa}}$  Metionina + SAH

SAH  $\xrightarrow{\text{SAH-hidrolasa}}$  Adenosina + Hcy

Adenosina  $\xrightarrow{\text{Adenosindeaminasa}}$  Inosina + NH<sub>3</sub>

NH<sub>3</sub> + NADH + 2-Oxoglutarato  $\xrightarrow{\text{GLDH}}$  Glutamato + NAD<sup>+</sup> + H<sub>2</sub>O

Hcy      Homocisteína  
SAM      S-adenosilmetionina  
SAH      S-adenosilhomocisteína  
GLDH      Glutamato deshidrogenasa

## Reactivos

### Componentes y concentraciones

S-adenosilmetionina (SAM)	0,1 mmol/L
NADH	0,2 mmol/L
TCEP	0,5 mmol/L
2-oxoglutarato	5,0 mmol/L
Glutamato deshidrogenasa	10 kU/L
SAH-hidrolasa	3,0 kU/L
Adenosindeaminasa	5,0 kU/L
Hcy-metiltransferasa	5,0 kU/L

## Conservación y estabilidad de los reactivos

Los reactivos se pueden conservar a una temperatura de 2 a 8 °C hasta el final del mes de caducidad indicado en el envase, siempre que se evite la contaminación una vez abiertos los frascos. Mantener el reactivo protegido de la luz. No se deben congelar los reactivos.

## Advertencias y medidas de precaución

1. Los reactivos contienen azida de sodio (< 1 g/L) como conservante. No ingerir. Evitar el contacto con la piel y las mucosas.
2. Excepcionalmente pueden obtenerse valores erróneos en muestras de pacientes con gammapatías [6].
3. Observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio. Para un correcto diagnóstico, se recomienda evaluar los resultados según la historia médica del paciente, los exámenes clínicos así como los resultados obtenidos con otros parámetros.
4. No mezclar los reactivos de diferentes lotes.
5. Los reactivos deben ser transparentes. No deben utilizarse si están turbios o cuando la absorbancia de R1 es inferior a 0,5 (340 nm, paso óptico 0,6 cm).
6. ¡Únicamente para el empleo profesional!

## Eliminación de residuos

Obsérvese la normativa legal al respecto.

## Preparación de los reactivos

### Sistema de 3 reactivos

Los reactivos son listos para usar.

### Sistema de 2 reactivos

Añadir 2 mL de R2 a 12,5 mL de R1 y mezclar bien evitando la formación de espuma. La mezcla se mantiene estable durante una semana de 2 a 8 °C si se mantiene protegido de la luz.

## Equipo adicional necesario

Solución de NaCl 9 g/L  
Equipo usual de laboratorio

## Muestras

Suero, plasma (heparina o EDTA)

Separar el plasma de los elementos celulares inmediatamente después de la extracción de sangre. No deben utilizarse muestras lipídicas o hemolíticas.

Estabilidad en suero y plasma [2]

4 días	de	20 a 25 °C
4 semanas	de	4 a 8 °C
4 años	a	-20 °C

¡Congelar sólo una vez!

¡Desechar las muestras contaminadas!

## Esquema de la prueba para equipos automáticos de análisis

Hay disponibles, a petición, aplicaciones para sistemas automáticos.

### Sistema de 3 reactivos

Parámetros base en Hitachi 911

Longitud de onda	700/340 nm (bicromático)
Temperatura	37 °C
Método de medida	Test en 2 puntos (tiempo fijo)
Muestra/calibrador	15 µL
Reactivo 1	200 µL
Reactivo 2	32 µL
Reactivo 3	20 µL
Adición del reactivo 2	Ciclo 5 (80 s)
Adición del reactivo 3	Ciclo 15 (276 s)
Absorbancia 1	Ciclo 23 (460 s)
Absorbancia 2	Ciclo 31 (590 s)
Calibración	Lineal

### Sistema de 2 reactivos

Parámetros base en Hitachi 911

Longitud de onda	700/340 nm (bicromático)
Temperatura	37 °C
Método de medida	Test en 2 puntos (tiempo fijo)
Muestra/calibrador	15 µL
Reactivos 1+2 (mezclado previamente)	230 µL
Reactivo 3	20 µL
Adición del reactivo 3	Ciclo 15 (276 s)
Absorbancia 1	Ciclo 23 (460 s)
Absorbancia 2	Ciclo 31 (590 s)
Calibración	Lineal

**Nota:** Para llevar a cabo la determinación manual es preciso que los volúmenes de la muestra, del calibrador y de los reactivos estén convenientemente calculados.

### Cálculo/Calibración

La concentración de homocisteína en pruebas desconocidas se calcula mediante una calibración lineal. La curva de calibración se establece con los niveles 1 y 2 de TruCal Homocisteína. Con el analizador Cobas Mira se utilizan los niveles 0 y 2 de TruCal Homocisteína. Los valores de calibración son trazables al material de referencia NIST SRM 1955.

Con el sistema de 3 reactivos la calibración se mantiene estable al menos durante 5 días. Cuando se utiliza el sistema de 2 reactivos, es preciso realizar la calibración diariamente.

### Controles

Para el control de calidad interno debe utilizarse el control TruLab Homocisteína. Cada laboratorio debería establecer medidas correctoras en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido.

	Nº de pedido	Tamaño del envase
TruLab Homocisteína Nivel 1	5 9770 99 10 046	3 x 1 mL
TruLab Homocisteína Nivel 2	5 9780 99 10 046	3 x 1 mL

### Características

#### Rango de medida

El test tiene un rango de medición de hasta 50 µmol/L. Si se sobrepasan estos valores, es preciso diluir las muestras en una proporción 1+1 con solución de NaCl (9 g/L) y multiplicar por 2 el resultado.

### Especificidad/Interferencias

No se presentan interferencias con cistationina hasta 20 µmol/L, adenosina hasta 100 µmol/L, L-cisteína hasta 1 mmol/L, glutatión hasta 500 µmol/L, hemoglobina hasta 1200 mg/dL, ácido ascórbico hasta 10 mmol/L, bilirrubina hasta 20 mg/dL, lipidemia hasta 2500 mg/dL de triglicéridos, fluoruro sódico hasta 1 mmol/L, fosfato sódico hasta 1 mmol/L y amonio hasta 500 µmol/L.

Para más información sobre interferencias, véase Young DS [3].

### Sensibilidad del test/Límite de prueba

El límite inferior de prueba es 1 µmol/L.

### Precisión

De acuerdo con el protocolo NCCLS EP-5 (National Committee for Clinical Laboratory Standards)

Precisión en la serie	n	Valor medio [µmol/L]	Desviación estándar [µmol/L]	Coefficiente de variación (CV) [%]
Muestra 1	40	7,2	0,16	2,2
Muestra 2	80	13,2	0,64	3,0
Muestra 3	80	29,1	0,81	1,8

Precisión total	n	Valor medio [µmol/L]	Desviación estándar [µmol/L]	Coefficiente de variación (CV) [%]
Muestra 1	40	7,2	0,29	4,1
Muestra 2	80	13,2	0,72	5,9
Muestra 3	80	29,1	0,92	4,0

### Comparación de métodos

En la comparación de DiaSys Homocisteína FS (y) con otro test comercial (x) se obtuvieron los siguientes resultados para 72 muestras:

$$y = 1,013 x - 0,162 \mu\text{mol/L}; r = 0,978.$$

### Valores de referencia [4,5]

Mujeres:

< 30 años	6 – 14 [µmol/L]
30 – 59 años	5 – 13 [µmol/L]
> 60 años	7 – 14 [µmol/L]

Hombres:

< 30 años	6 – 14 [µmol/L]
30 – 59 años	6 – 16 [µmol/L]
> 60 años	6 – 17 [µmol/L]
> 85 años	15 – 30 [µmol/L]

Cada laboratorio debe comprobar si los valores de referencia indicados son adecuados para sus pacientes y si es necesario, determinar sus propios valores de referencia.

### Bibliografía

1. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, Nexø E et al. Facts and recommendations about Total Homocysteine Determinations: an Expert Opinion. Clin Chem 2004; 50: 3-32.
2. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1a ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001. . p. 34-5.
3. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
4. Schreiner H, Göbel-Schreiner B, Durst C, Casper R, Walch S. Homocysteine: reference values. Clin Lab 1997; 43: 1121-4.
5. Herrmann W, Quast S, Ullrich M, Schultze H, Geisel J. The importance of hyperhomocysteinemia in high age people. Clin Lab 1997; 43: 1005-9.
6. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45(9):1240-1243.

### Fabricado por



DiaSys Diagnostic Systems GmbH  
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania