

Homocystéine FS*

Réactif de diagnostic in vitro pour la détermination quantitative de la homocystéine dans le sérum ou le plasma sur systèmes photométriques

Présentation

Références	Emballage coffret
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 Homocysteine

Intérêt clinique [1]

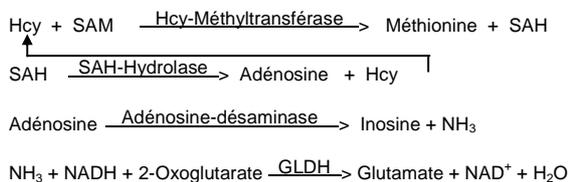
L'homocystéine est un acide aminé soufré et il est un intermédiaire dans le métabolisme de la méthionine. Une augmentation des concentrations d'homocystéine dans le plasma indique, en tant que marqueur sensible, des états de carence en folate et cobalamine (vitamine B₁₂). En outre, l'homocystéine constitue un facteur de risque indépendant pour les affections cardiovasculaires. Des concentrations pathologiques d'homocystéine sont également souvent observées liées à des malformations congénitales, des complications durant la grossesse, des affections psychiques et des troubles cognitifs (au cours de la vieillesse).

Méthode

Méthode du cycle enzymatique

Principe

L'homocystéine totale oxydée est réduite en homocystéine libre (Hcy). L'Hcy libre réagit avec le co-substrat, la S-adénosyl-méthionine (SAM), catalysée par une Hcy-S-méthyle-transférase, en méthionine et S-adénosyl-homocystéine (SAH). La SAH est hydrolysée en adénosine et Hcy par la SAH-hydrolase. L'Hcy générée est recyclée par la Hcy-S-méthyle-transférase, ce qui entraîne une potentialisation significative du signal de mesure. L'adénosine générée est immédiatement hydrolysée en inosine et en ammoniac. L'ammoniac formé est transformé par la glutamate-déshydrogénase, le NADH étant transformé en NAD⁺. La diminution du NADH est mesurée à 340 nm et est proportionnelle à la concentration d'homocystéine de l'échantillon.



Hcy	Homocystéine
SAM	S-Adénosylméthionine
SAH	S-Adénosylhomocystéine
GLDH	Glutamate-déshydrogénase

Réactifs

Composants et Concentrations

S-Adénosylméthionine (SAM)	0,1 mmol/L
NADH	0,2 mmol/L
TCEP	0,5 mmol/L
2-Oxoglutarate	5,0 mmol/L
Glutamate-déshydrogénase	10 kU/L
SAH-Hydrolase	3,0 kU/L
Adénosine-désaminase	5,0 kU/L
Hcy-Méthyltransférase	5,0 kU/L

Préparation et conservation des réactifs

Les réactifs sont stables jusqu'à la fin du mois de la date de péremption indiquée, conservés entre +2 °C et +8 °C, protégés de la lumière et en évitant toute contamination. Ne pas congeler les réactifs.

Avertissements et précautions d'emploi

1. Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (< 1 g/L) comme conservateur. Ne pas avaler ! Éviter le contact avec la peau et les muqueuses.
2. Dans de très rares cas, des spécimens de patients souffrant de gammopathie peuvent produire des valeurs faussées [6].
3. Merci de vous référer aux fiches de sécurité et prendre les précautions nécessaires pour l'utilisation de réactifs de laboratoire. Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être exploités en fonction de l'historique médical du patient, des examens cliniques ainsi que des résultats obtenus sur d'autres paramètres.
4. Les réactifs de différents lots ne doivent pas être mélangés.
5. Les réactifs doivent être clairs. Ils ne peuvent plus être utilisés lorsqu'ils sont troubles ou lorsque l'extinction de R1 est inférieure à 0,5 (340 nm, trajet optique 0,6 cm).
6. Uniquement à usage professionnel !

Élimination des déchets

Se référer aux exigences légales nationales.

Préparation des réactifs

Système avec 3 réactifs

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Système avec 2 réactifs

Mélanger 2 mL de R2 avec 12,5 mL de R1. Agiter doucement afin d'éviter la formation de mousse. La stabilité de mélange est d'une semaine entre +2 et +8 °C dans le noir.

Matériels requis mais non fournis

Solution NaCl 9 g/L
Équipement général de laboratoire

Spécimen

Sérum, plasma recueilli sur héparine et EDTA.

Le plasma doit être décanté immédiatement (séparé des éléments cellulaires). Ne pas utiliser des échantillons lipémiques et hémolytiques.

Stabilité dans le sérum et le plasma [2]

4 jours	entre	+20 et +25 °C
4 semaines	entre	+4 et +8 °C
4 ans	à	-20 °C

Congélation unique !

Éliminer les échantillons contaminés !

Mode opératoire pour analyseurs

Des notices d'application adaptées aux systèmes automatisés sont disponibles sur demande.

Système à 3 réactifs

Paramètre de base pour Hitachi 911

Longueur d'onde	700/340 nm (bi-chromatique)
Température	+37 °C
Mesure	Test à deux points (temps fixe)
Echantillon/Calibrant	15 µL
Réactif 1	200 µL
Réactif 2	32 µL
Réactif 3	20 µL
Addition Réactif 2	Cycle 5 (80 s)
Addition Réactif 3	Cycle 15 (276 s)
Absorbance 1	Cycle 23 (460 s)
Absorbance 2	Cycle 31 (590 s)
Calibration	linéaire

Système à 2 réactifs

Paramètre de base pour Hitachi 911

Longueur d'onde	700/340 nm (bi-chromatique)
Température	+37 °C
Mesure	Test à deux points (temps fixe)
Echantillon/Calibrant	15 µL
Réactif 1+2 (pré-mélangé)	230 µL
Réactif 3	20 µL
Addition Réactif 3	Cycle 15 (276 s)
Absorbance 1	Cycle 23 (460 s)
Absorbance 2	Cycle 31 (590 s)
Calibration	linéaire

Note: Pour une procédure manuelle, les volumes des échantillons, des calibrants et des réactifs doivent être convertis par conséquent.

Calcul/Calibration

La concentration en homocystéine des échantillons à doser se calcule à partir d'une calibration linéaire. La courbe de calibration est obtenue à partir de TruCal Homocysteine Niveau 1 et 2. Pour le Cobas Mira, TruCal Homocysteine niveau 0 et niveau 2 doivent être utilisés. Les valeurs du calibrant sont établies par rapport au matériel de référence NIST SRM 1955.

Lors d'une utilisation du système avec 3 réactifs la stabilité de la calibration est 5 jours. Lors d'application avec 2 réactifs une calibration quotidienne est nécessaire.

Contrôles

Pour le contrôle de qualité interne, le contrôle DiaSys TruLab Homocysteine devrait être utilisé. Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites de confiances.

	Références	Emballage coffret
TruLab Homocysteine Niveau 1	5 9770 99 10 046	3 x 1 mL
TruLab Homocysteine Niveau 2	5 9780 99 10 046	3 x 1 mL

Performances

Domaine de mesure

Le test a été développé pour la détermination des concentrations en homocystéine jusqu'à 50 µmol/L. Au delà de cet intervalle, diluer l'échantillon 1 + 1 avec de la solution de NaCl (9 g/L) et multiplier le résultat par 2.

Spécificité/Interférences

Aucune perturbation n'a été observée par la présence de cystathionine jusqu'à 20 µmol/L, d'adénosine jusqu'à 100 µmol/L, de L-cystéine jusqu'à 1 mmol/L, de glutathion jusqu'à 500 µmol/L, d'hémoglobine jusqu'à 1200 mg/dL, d'acide ascorbique jusqu'à 10 mmol/L, de bilirubine jusqu'à 20 mg/dL, de lipémie jusqu'à 2500 mg/dL de triglycérides, de fluorure de sodium jusqu'à 1 mmol/L, de nitrate de sodium jusqu'à 1 mmol/L et d'ammonium jusqu'à 500 µmol/L. Pour plus d'information au sujet des interférences, voir Young DS [3].

Sensibilité/Limite de détection

La limite de détection analytique est de 1 µmol/L.

Etude de précision

En accord avec le protocole EP-5 du NCCLS (National Committee of Clinical Laboratory Standards)

Intra série	n	Moyenne [µmol/L]	DS [µmol/L]	CV [%]
Echantillon 1	40	7,2	0,16	2,2
Echantillon 2	80	13,2	0,64	3,0
Echantillon 3	80	29,1	0,81	1,8

Précision totale	n	Moyenne [µmol/L]	DS [µmol/L]	CV [%]
Probe 1	40	7,2	0,29	4,1
Probe 2	80	13,2	0,72	5,9
Probe 3	80	29,1	0,92	4,0

Comparaison de méthodes

Une comparaison de la Homocystéine FS de Diasys (y) avec une méthode disponible sur le marché (x), réalisée sur 72 échantillons, a donné les résultats suivants :

$y = 1,013x - 0,162$ µmol/L ; coefficient de corrélation : $r = 0,978$.

Valeurs usuelles [4,5]

Femmes:

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

Hommes:

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

Chaque laboratoire devrait vérifier si les valeurs usuelles sont transmissibles à sa propre population patiente et déterminer ses propres valeurs de référence si besoin.

Références bibliographiques

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. 1st 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.

Fabricant



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim (Allemagne)