



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.

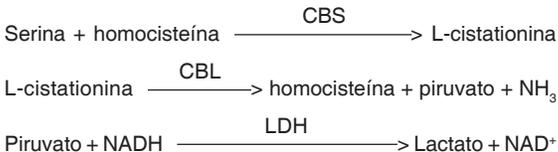
La homocisteína es liberada al plasma donde circula principalmente en su forma oxidada, unida a proteínas plasmáticas. La homocisteína total está representada por todas las especies de homocisteína encontradas en suero o plasma (homocisteína libre más homocisteína unida a proteínas).

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 β -sintetasa (CBS) formando L-cistationina. El ciclo hace que la cistationina vuelva a homocisteína por la enzima cistationina β -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⁺ 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 β -sintetasa (microbiana) > 20 kU/l, cistationina β -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.

| | |
|-----------------------------|------------|
| Muestra o Calibrador | 10 μ l |
|-----------------------------|------------|

| | |
|-------------------|-------------|
| Reactivo A | 150 μ l |
|-------------------|-------------|

Incubar durante 300 segundos a 37°C

| | |
|-------------------|------------|
| Reactivo B | 15 μ l |
|-------------------|------------|

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 μ mol/l, se multiplica la diferencia de absorbancia ($\Delta A = A_2 - A_1$) por el factor.

Precisión intraensayo (n = 20)

| Nivel | D.S. | C.V. |
|-------------------|------------------------|------|
| 7,06 μ mol/l | \pm 0,40 μ mol/l | 5,6% |
| 12,38 μ mol/l | \pm 0,38 μ mol/l | 3,1% |
| 29,16 μ mol/l | \pm 0,84 μ mol/l | 2,9% |

Precisión total (n = 20)

| Nivel | D.S. | C.V. |
|-------------------|------------------------|------|
| 7,06 μ mol/l | \pm 0,38 μ mol/l | 5,4% |
| 12,38 μ mol/l | \pm 0,41 μ mol/l | 3,3% |
| 29,16 μ mol/l | \pm 1,39 μ mol/l | 4,8% |

b) Linealidad: reacción es lineal hasta una concentración de 60 μ mol/l de homocisteína.

c) Límite de detección: 0,274 μ 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)

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, 5th 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.

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 μ mol/l

Niños < 15 años: < 10 μ mol/l

Adultos 15-65 años: < 15 μ mol/l

Adultos > 65 años: < 20 μ 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):

Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

| | | | |
|--|--|---|--------------------------------|
|  | Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro" |  | Elaborado por: |
|  | Representante autorizado en la Comunidad Europea |  | Nocivo |
|  | Uso diagnóstico "in vitro" |  | Corrosivo / Caústico |
|  | Contenido suficiente para <n> ensayos |  | Irritante |
|  | Fecha de caducidad |  | Consultar instrucciones de uso |
|  | Límite de temperatura (conservar a) |  | Calibrador |
|  | No congelar |  | Control |
|  | Riesgo biológico |  | Control Positivo |
|  | Volumen después de la reconstitución |  | Control Negativo |
|  | Contenido |  | Número de catálogo |
|  | Número de lote | | |

