

Instructions for use  
Mode d'emploi  
Gebrauchsanweisung  
Istruzioni per l'uso  
Instrucciones de uso  
Instruções da utilização  
Bruksanvisningen  
Brugervejledning

# Axis® Homocysteine EIA

**REF** FHCY100



Gentaur Europe BVBA  
Voortstraat 49,  
1910 Kampenhout BELGIUM  
Tel 0032 16 58 90 45  
Fax 0032 16 50 90 45  
[info@gentaur.com](mailto:info@gentaur.com)



**REF**

Product code / Numéro de produit / Artikelnummer / Codice Prodotto / Número de lista / Número de lista / Artikelnumret / Produktnummer

**IVD**

For *in vitro* diagnostic use / Pour usage diagnostique *in vitro* / Nur zur *In-vitro*-Diagnose verwenden / Per uso dignostico *in vitro* / Para diagnóstico *in vitro* / Para diagnóstico *in vitro* / För *in vitro*-diagnostisk användning / Til *in vitro*-diagnostisk brug

**LOT**

Lot number / Numéro de lot / Chargennummer / Numero lotto / Número de lote / Número do lote / Lotnummer / Partinummer



Consult instructions for use / Consulter le mode d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Leggere le istruzioni per l'uso / Consulte las instrucciones de uso / Consultar instruções da utilização / Se bruksanvisningen / Se brukervejledning



Expiration date / Date de péremption / Verfallsdatum / Data di scadenza / Fecha de caducidad / Data de validade / Utgångsdatum / Udløpsdato



Store at 2-8 °C / Stocker entre 2 et 8 °C / Lagerung bei 2-8 °C / Conservare a 2-8 °C / Manténgase de 2-8 °C / Conservar entre 2-8 °C / Förvaras vid 2-8 °C / Opbevares ved 2-8 °C



CAUTION! Handle human sourced materials as potentially infectious. Consult instructions for use (Infection Risk) / ATTENTION! Manipuler les produits d'origine humaine comme des produits potentiellement infectieux. Consulter le mode d'emploi (risque d'infection) / ACHTUNG! Aus Humanmaterial gewonnene Stoffe immer als potenziell infektiös behandeln. Gebrauchsanweisung beachten (Infektionsgefahr) / ATTENZIONE! Maneggiare i materiali di origine umana come potenzialmente infetti. Leggere le istruzioni per l'uso (Rischio di infezione) / PRECAUCIÓN: Maneje los materiales de origen humano como potencialmente infecciosos. Consulte las instrucciones de uso (riesgo de infección) / CUIDADO! Trate os materiais de origem humana como potencialmente infecciosos. Consulte as instruções de utilização (Risco de Infecção) / WARNING! Hantera material med mänskligt ursprung som eventuell smittofara. Se bruksanvisningen (Infektionsrisk) / FORSIGTIG! Materiale fra humane kilder skal håndteres som potentielle smitekilder. Se brugervejledningen (infektionsrisiko)

**CONTROL KIT**

Control Kit / Kit de contrôles / Kontroll Kit / Kit di controlli / Kit de control / Kit de controlo / Kontrollkit / Kontrol kit

**CALIBRATOR KIT**

Calibrator Kit / Kit d'étalons / Kalibrator Kit / Kit de calibratori / Kit de calibrador / Kit de calibração / Kalibratorkit / Kalibrator kit



96 tests / 96 testes / 96 Tests / 96 test / 96 ensayos / 96 testes / 96 tester / 96 prøver

**REAG A**

Reagent A-S / Réactifs A à S / Reagens A-S / Reagenti A-S /  
Reactivo A-S / Reagente A-S / Reagens A-S / Reagens A-S

**BUF WASH**

Wash Buffer / Tampon de lavage / Waschpuffer / Tampon de  
lavaggio / Tampón de Lavado / Solução tamponada de lavagem  
/ Tvättbuffert / Vaskebuffer

**CAL 1**

Calibrator 1-6 / Etalons 1 à 6 / Kalibrator 1-6 / Calibratori 1-6 /  
Calibrador 1-6 / Calibrador 1-6 / Kalibrator 1-6 / Kalibrator 1-6

**CONTROL L**

Control low, medium, high (L, M, H) / Contrôle bas, moyen,  
haut (L, M, H) / Kontrolle: niedrig, mittel, hoch (L, M, H) / Con-  
trollo basso, medio, alto (L, M, H) / Control bajo, medio, alto  
(L, M, H) / Controlo baixo, médio, alto (L, M, H) / Kontroll låg,  
medel, hög (L, M, H) / Kontrol lav, medium, høj (L, M, H)

**MICROTITRE STRIPS**

Microtitre Strips / Barrettes de microtitrage / Mikrotiter-streifen  
/ Strisce di Microtitolazione / Tiras Microtiter / Tiras de micro-  
titulação / Mikrotiter-remsor / Mikrotiter-strips

## Contenido

Uso Previsto .....	43
Resumen y Explicación de la Prueba .....	43
Principio del Ensayo .....	44
Advertencias y Precauciones .....	44
Componentes del Equipo .....	45
Preparación y Almacenamiento de los Componentes del Equipo .....	46
Recolección y Preparación de Muestras .....	46
Limitaciones .....	47
Procedimiento .....	47
Interpretación de los Resultados .....	48
Controles de Calidad .....	48
Rango de Referencia .....	49
Rango de Medición .....	49
Datos del Desempeño .....	49
Información de Seguridad del Producto .....	51
Referencias .....	71

## Uso Previsto

El propósito de Axis® Homocysteine Enzyme Immunoassay (EIA) es determinar cuantitativamente el total de L-homocisteína en el suero o en el plasma humano. La herramienta puede ayudar a diagnosticar y tratar a los pacientes con sospecha de hiperhomocisteinemia u homocistinuria.

## Resumen y Explicación de la Prueba

La homocisteína (Hcy) es un aminoácido que contiene un grupo tiol producido por la demetilación intracelular de metionina. Se exporta la Hcy en el plasma donde circula mayormente en sus formas oxidadas asociada a las proteínas del plasma.<sup>1, 2, 3, 4</sup> También están presentes cantidades más pequeñas de homocisteína reducida y disulfuro de homocisteína (Hcy-SS-Hcy). La homocisteína total representa la suma de todas las especies de Hcy que se encuentran en el plasma y en el suero (las libres más las asociadas a proteínas).

La Hcy se metaboliza en cisteína o en metionina. En la vía de sulfuración de vitamina B<sub>6</sub> dependiente, la Hcy se cataboliza irreversiblemente en cisteína. La mayor parte de Hcy es remetilada a metionina, principalmente por la enzima metionina sintetasa folato y cobalamina dependientes. La Hcy se acumula y se excreta a la sangre cuando estas reacciones están dañadas.<sup>2, 4</sup>

Se observan concentraciones muy elevadas de Hcy en individuos con **homocistinuria**, un desorden genético de las enzimas involucradas en el metabolismo de la Hcy poco frecuente. Los pacientes con homocistinuria presentan retraso mental, arteriosclerosis temprana y tromboembolias venosas y arteriales.<sup>1, 5</sup> La terapia de reducción de Hcy mejora el pronóstico de esta enfermedad.<sup>5</sup> También existen otros defectos genéticos menos severos que conducen a niveles moderadamente elevados de Hcy.<sup>6, 7, 8</sup>

Estudios epidemiológicos han investigado la relación entre los niveles de Hcy en sangre y las **enfermedades cardiovasculares (ECV)**. A partir de un meta análisis de 27 estudios epidemiológicos, que incluía a más de 4.000 pacientes, se estimó que un aumento en la Hcy de 5 µmol/L estaba vinculado a una proporción dispar de 1,6 en hombres y de 1,8 en mujeres de padecer enfermedades arteriales o coronarias (EAC) o igualmente asociado con un aumento del 0,5 mmol/L (20 mg/dL) en el colesterol. También presentaron una fuerte vinculación las enfermedades de arterias periféricas.<sup>9</sup>

Ciertos grupos de pacientes con anemia y/o astenia también presentan niveles aumentados de plasma – o Hcy en suero.<sup>10, 11</sup>

Los pacientes con afecciones renales crónicas padecen de un exceso de morbilidad y mortalidad debido a la ECV arteriosclerótica. Frecuentemente, se observan concentraciones elevadas de Hcy

en la sangre de estos pacientes. Aunque algunos de estos pacientes puedan carecer de algunas de las vitaminas que participan en el metabolismo de la Hcy, los niveles aumentados de Hcy se deben principalmente a la eliminación deficiente de Hcy de la sangre a través del riñón.<sup>12, 13</sup>

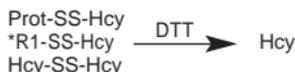
Las drogas como metotrexato, carbamazepina, fenitoína, óxido nítrico y penicilamina interfieren con el metabolismo de la Hcy y pueden dar niveles elevados de Hcy.<sup>14, 15</sup>

### Principio de Ensayo

Axis® Homocysteine EIA es un inmunoensayo enzimático para la determinación de Hcy en sangre.<sup>16</sup> La Hcy asociada a las proteínas se reduce a Hcy libre y se convierte enzimáticamente en S-adenosil-L-homocisteína (SAH) en un procedimiento aparte previo al inmunoensayo.<sup>17</sup> La enzima es específica para la forma L de la homocisteína, que es la única forma presente en la sangre.

### Reducción

La Hcy, en sus formas de disulfuro mixto y asociada a proteínas en la muestra, es reducida a Hcy libre por el uso de ditioneitol (DTT).



\*R1 es cualquier residuo del grupo tiol.

### Conversión enzimática

En la prueba de muestra, la Hcy se convierte en S-adenosil-L-homocisteína por el uso de la SAH hidrolasa y el exceso de adenosina (Ad).



La siguiente fase sólida del inmunoensayo enzimático se basa en la competencia entre la SAH en la muestra y la SAH inmovilizada en las paredes de la placa por la unión a un anticuerpo monoclonal anti-SAH. Después de la eliminación de los anticuerpos anti-SAH no unidos, se añade un anticuerpo secundario de conejo anti-ratón etiquetado con la enzima peroxidasa de rábano (HRP). La actividad de la peroxidasa se mide espectrofotométricamente después de la adición del sustrato, y la absorción es inversamente relativa a la concentración de Hcy en la muestra.

### Advertencias y Precauciones

1.  Para Uso de Diagnóstico *In Vitro* Solamente.
2. El Reactivo D contiene 0,15% de mercurio ( $\leq 0,074\%$  de mercurio) y se clasifica como "Nocivo". Trate y elimine apropiadamente (Ver sección "Información de Seguridad del Producto").
3. 0,01% del mercurio se utiliza como conservante de algunos reactivos. Cada equipo contiene menos del 0,028% de mercurio. Trate y elimine apropiadamente.
4. El Reactivo F contiene anticuerpos de ratón y el reactivo G contiene anticuerpos de conejo.
5. El Reactivo S contiene 0,8M de ácido sulfúrico y se clasifica como "Agente Irritante". Trate y elimine apropiadamente (Ver sección "Información de Seguridad del Producto").
6. Los Calibradores, Controles, Reactivo A y Reactivo E contienen menos del 10% de ácido sódico como conservante. El ácido sódico puede reaccionar en contacto con el plomo o el cobre de las cañerías y formar ácidos metálicos potencialmente explosivos. Para su eliminación, enjuagar con grandes cantidades de agua para evitar la formación del ácido.
7.  Los Controles contienen sueros de origen humano. Los materiales de origen han sido analizados y resultaron negativos para el Antígeno de Superficie de Hepatitis B (HBsAg), el Antígeno de VIH-1 (HIVAg), anticuerpo contra el VHC, anticuerpo VIH-1/2, anticuerpo anti-HTLV-I/II y anticuerpos anti-core de la Hepatitis B (Hbc). Sin embargo, el manejo de los

derivados de la sangre debe llevarse a cabo de acuerdo con los procedimientos recomendados de tratamiento de material infeccioso. Debe tomarse como referencia la publicación número (CDC) 93-8395<sup>18</sup> de HHS o las normas nacionales o locales sobre procedimientos de seguridad en el laboratorio.

8. No se deben intercambiar los Reactivos con números de lote diferentes.
9. No emplee el equipo después de la fecha de vencimiento especificada en el exterior de la caja.

### Componentes del Equipo

**[REF]** FHCY100 Axis<sup>®</sup> Homocysteine EIA Kit, 96 cavidades.

Componentes del Equipo	Solución	Código de Colores	Descripción del Componente	Volumen
<b>[REAG A]</b>	Tampón de Ensayo	Marrón	Tampón de Fosfato, ácido sódico	54 mL
<b>[REAG B]</b>	Adenosina/DTT	Blanco	Adenosina/ditiotreitol, ácido cítrico	3.5 mL
<b>[REAG C]</b>	SAH-hidrolasa	Blanco	S-adenosil-L-homocisteina hidrolasa bovina, trisbuffer, glicerol, metilparabeno	3.5 mL
<b>[REAG D]</b>	Inhibidor de la Enzima	Anaranjado	Meritolate, tampón de fosfato	55 mL
<b>[REAG E]</b>	Adenosina deaminasa	Rojo	Adenosina deaminasa, tampón de fosfato, ácido sódico, BSA, tinte rojo de fenol	55 mL
<b>[REAG F]</b>	Anticuerpo a-SAH	Verde	Anticuerpo monoclonal anti-S-adenosil-L-homocisteina de ratón, BSA, meritolate	25 mL
<b>[REAG G]</b>	Conjugado enzimático	Azul	Enzima de anticuerpos conjugados de conejo anti-ratón, BSA, peroxidasa de ribano, tinte azul	15 mL
<b>[REAG H]</b>	Solución de Substrato	Violeta	N-metil-2-pirrolidona, propilenglicol	15 mL
<b>[REAG S]</b>	Solución de Suspensión	Amarillo	0,8 M de Ácido Sulfúrico	20 mL
<b>[BUF WASH]</b>	Tampón de Lavado	Negro	Tampón de Fosfato, meritolate, Tween 20, BSA	60 mL
<b>[CAL 1] - [CAL 6]</b>	Calibradores	Blanco	S-adenosil-L-homocisteina (2, 4, 8, 15, 30, 50 µmol/L) en tampón con conservantes.	6 x 1.5 mL
<b>[MICROTITRE STRIPS]</b>	Tiras Microtiter	-	Recubiertos con S-adenosil-L-homocisteina	12 x 8 cavidades

**[BUF WASH]** está concentrado y debe diluirse (1+9) en agua purificada antes de usarse. Todos los demás componentes están listos para ser utilizados.

**[REF]** FHCY200 Kit de Control Axis<sup>®</sup> Homocysteine EIA

Componentes del Equipo	Cód. Cap	Descripción de los Componentes	Volumen
<b>[CONTROL L]</b>	L	7,0 µmol/L de homocisteína en muestras de suero de origen humano diluido, tampón de fosfato y conservante.	1,5 mL
<b>[CONTROL M]</b>	M	12,5 µmol/L homocisteína en muestras de suero de origen humano diluido, tampón de fosfato y conservante.	1,5 mL
<b>[CONTROL H]</b>	H	25,0 µmol/L homocisteína en muestras de suero de origen humano diluido, tampón de fosfato y conservante.	1,5 mL

Todos los controles están listos para ser utilizados.

Componentes del Equipo	Descripción del Componente	Volumen
[BUF] [WASH]	Tampón de Fosfato, mertiolate, Tween 20, BSA	1000 mL

[BUF] [WASH] está concentrado y debe diluirse (1+9) en agua purificada antes de usarse

#### Los materiales necesarios que no se proveen en el equipo son:

- Controles de homocisteína (Ver sección "Controles de Calidad" para más información)
- Tubos plásticos o de vidrio para el tratamiento previo de las muestras
- Pipetas/multipipetas 25 µL, 100 µL, 200 µL y 500 µL o multipipeta de 8 canales para 100 µL y 200 µL
- Frascos volumétricos de 50 mL y 600 mL
- Incubadora a 37 °C
- Lavadora y lectora (450 nm) de tiras microtiter

#### Preparación y Almacenamiento de los Componentes del Equipo

1. Los componentes deben almacenarse en frío (2 a 8 °C). Guarde todas las botellas en posición vertical y bien tapadas. Los componentes se mantienen estables hasta la fecha de vencimiento si se los trata y almacena según las indicaciones. Una vez abiertos los componentes del ensayo Axis® Homocisteína EIA, se mantendrán estables durante 12 semanas si se almacenan de 2 a 8 °C.
2. La solución para el tratamiento previo de las muestras debe realizarse mezclando los Reactivos A, B y C (Ver sección "Procedimiento"). La solución se mantendrá estable durante una hora y debe ser mezclada nuevamente por cada aplicación.
3. El Tampón de Lavado debe diluirse (1+9) en agua destilada antes de emplearse. Una vez preparado, se mantendrá estable por 4 semanas si se almacena a temperatura ambiente (18 a 25 °C).
4. Los Reactivos D y H se almacenan en botellas oscuras para evitar la exposición a la luz.
5. Es importante que las tiras microtiter se mantengan secas, es decir, en la bolsa sellada con cápsulas secantes, y refrigeradas. Se necesita estabilización por un mínimo de dos horas para alcanzar la temperatura ambiente (18 a 25 °C) Deje las tiras en la bolsa mientras se estabiliza la temperatura.
6. Durante la aplicación, sólo se debe mantener la cantidad necesaria de tiras microtiter en el marco. Las tiras sin utilizar deben mantenerse dentro de la bolsa sellada con las cápsulas secantes.
7. Evite la exposición del equipo a temperaturas que excedan los 37 °C ya que esto podría alterar la naturaleza de las enzimas.

#### Recolección y Preparación de Muestras

Con el ensayo Axis® Homocysteine EIA se pueden utilizar el plasma o el suero EDTA.

Dado que la síntesis de Hcy continúa en los glóbulos rojos, es muy importante que las muestras se preparen de la siguiente manera:

- Las muestras de suero deben dejarse coagular no más de 30 minutos antes de la centrifugación y separación del suero. Las muestras de suero deben mantenerse en hielo antes de la separación.
- Las muestras de plasma EDTA deben ser centrifugadas o puestas en hielo inmediatamente después de extraídas. Las muestras de plasma EDTA pueden mantenerse en hielo hasta 6 horas antes de la separación por centrifugación.

El consumo de alimentos puede afectar los niveles de homocisteína circulante. Las comidas ricas en proteínas suministran valores más altos de homocisteína y deben evitarse al final del día anterior a la extracción de la muestra.<sup>19, 20</sup>

Los procedimientos estandarizados de extracción de muestras son cruciales debido a los factores intervinientes mencionados anteriormente. Es necesario que las muestras descongeladas sean completamente mezcladas antes de utilizarse.

Las muestras de plasma o suero pueden almacenarse hasta 12 semanas a temperaturas de entre 2 a 8 °C, hasta 3 semanas a temperatura ambiente (18 a 25 °C) y si se congelan a menos de 20 °C, se comprobó que se mantienen estables como mínimo 8 meses.

### Limitaciones

- Si se utiliza una pipeta automática, puede ser necesario un lavado profundo de los tubos después de agregar el Reactivo G de color azul – preferentemente con ácido diluido seguido de agua. Cualquier solución que quede en el tubo interferirá con el siguiente paso del ensayo, es decir, agregar el Reactivo H.
- El procedimiento de lavado es crucial para obtener buena precisión. Si se requiere lavado manual, utilice cuatro veces 350 µL en vez de 3 veces 400 µL. Después del lavado, vacíe las cavidades en toallas de papel.
- Evite la exposición del equipo a temperaturas mayores de 37 °C ya que esto podría alterar la naturaleza de las enzimas.
- Las muestras de pacientes que están en tratamiento con medicamentos incluyendo S-adenosil-metionina puede presentar niveles elevados de homocisteína falsos.
- Las muestras de pacientes que hayan recibido preparaciones con anticuerpos monoclonales de ratones para el diagnóstico o el tratamiento pueden tener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). Los HAMA, presentes en las muestras de suero o plasma, pueden interferir en los inmunoensayos que empleen anticuerpos monoclonales de ratón. Estas muestras no deben participar del ensayo con Axis® Homocysteine EIA assay.
- Las muestras de pacientes que estén tomando metotrexato, carbamazepina, fenitoína, óxido nitroso, anticonvulsivos o triacetato 6-azauridina pueden presentar niveles elevados de homocisteína debido a la interferencia metabólica con el metabolismo de la homocisteína.

### Procedimiento

Asegúrese de que todas las soluciones y tiras microtiter estén estabilizadas a temperatura ambiente antes de ser utilizadas. Se recomienda dejar el equipo a temperatura ambiente durante toda la noche. Se aconseja poner en funcionamiento los calibradores por duplicado y llevar a cabo una nueva curva de calibración para cada puesta en funcionamiento, para evitar así variaciones en las puestas en funcionamiento utilizando placas de cultivo revestidas.

### Procedimiento para el Tratamiento Previo de las Muestras

1. La solución para el tratamiento previo de las muestras debe realizarse dentro de la hora previa al comienzo del ensayo. Volumen necesario para 10 muestras (no se calcula volumen muerto):

4,5 mL 

REAG A
REAG B
REAG C

  
0,25 mL  
0,25 mL  
Mezclar.

2. Diluir los calibradores y las muestras/controles en los tubos de plástico o de vidrio de la siguiente manera:  
25 µL calibrador/muestra/control  
+ 500 µL solución para el tratamiento previo de las muestras  
Mezclar bien.

Incubar 30 minutos a 37 °C (Tapar los tubos o cubrirlos con papel film durante la incubación).

Importante: Continúe con el paso 3 antes de que las muestras se hayan enfriado.

3. Agregar 500 µL **REAG D**  
Mezclar bien.  
Incubar 15 minutos entre 18 y 25 °C.
4. Agregar 500 µL **REAG E**  
Mezclar bien.  
Incubar 5 minutos de 18 a 25 °C.

### Procedimiento con Placas de Cultivo

5. Pipeta 25 µL con calibrador/muestra/control diluidos del paso 4 en las cavidades de las tiras microtiter revestidas con SAH.
6. Agregar 200 µL **REAG F** a cada cavidad.  
Incubar 30 minutos de 18 a 25 °C.  
Utilice la tapa que se adjunta durante todas las incubaciones.
7. Lavar con Tampón de Lavado diluido ( **BUF WASH** ) + agua purificada).  
Use 3 x 400 µL. Si se requiere lavado manual, use 4 veces 350 µL en lugar de 3 veces 400 µL.  
Después del lavado, vacíe las cavidades en toallas de papel.
8. Agregar 100 µL **REAG G** a cada cavidad.  
Incubar 20 minutos entre 18 y 25 °C.
9. Lavar con Tampón de Lavado diluido ( **BUF WASH** ) + agua purificada).  
Use 3 x 400 µL. Si se requiere lavado manual, use 4 veces 350 µL en vez de 3 veces 400 µL.  
Después del lavado, vacíe las cavidades en toallas de papel.
10. Agregar 100 µL **REAG H** a cada cavidad.  
Incubar 10 minutos entre 18 y 25 °C.
11. Agregar 100 µL **REAG S** a cada cavidad.
12. Agitar y leer a 450 nm dentro de los 15 minutos (Se prefiere una placa de agitación automática para asegurar una mezcla correcta).

### Interpretación de los Resultados

Los resultados deben interpretarse considerando todos los demás resultados de pruebas y el estado clínico del paciente.

Se recomienda utilizar un ajuste de curva logística de cuatro parámetros para preparar la curva de calibración y el cálculo de las muestras desconocidas.

### Controles de Calidad

Se recomienda a cada laboratorio que utilice un control de homocisteína con valor conocido.

Axis-Shield brinda una serie de controles bajos, medianos y altos. ( **REF** FHCY200).

Los controles contienen L-homocisteína en suero humano procesado en las siguientes concentraciones:

Control	Media de Hcy ( $\mu\text{mol/L}$ )	Rango de Hcy ( $\mu\text{mol/L}$ )
CONTROL L	7,0	5,6 - 8,4
CONTROL M	12,5	10,0 – 15,0
CONTROL H	25,0	20,0 – 30,0

### Rango de Referencia

Cada laboratorio debe determinar el rango de referencia para estar acorde con las características de la población que se está analizando. Como punto de referencia, los datos a continuación pueden emplearse hasta que el laboratorio haya analizado una cantidad suficiente de muestras como para determinar su propio rango de referencia.

La concentración de Hcy en el plasma o suero de individuos sanos varía según la edad, el sexo, el área geográfica y los factores genéticos. Informes científicos suministraron valores de referencia para adultos masculinos y femeninos entre 5 y 15  $\mu\text{mol/L}$ , los hombres con valores más altos que las mujeres, y las mujeres posmenopáusicas presentan valores de homocisteína más altos que las mujeres premenopáusicas.<sup>21, 22, 23</sup> Los valores de Hcy aumentarán normalmente con la edad, lo que dará un rango de referencia entre los mayores (> 60 años) de 5 a 20  $\mu\text{mol/L}$ .<sup>24</sup> En países que tienen implementados programas de fortificación con ácido fólico se pueden observar niveles reducidos de Hcy.<sup>25, 26</sup>

Con Axis® Homocysteine EIA, se analizaron muestras de 382 hombres y mujeres (100 escandinavos; 54 hombres de entre 30 y 60 años de edad, 46 mujeres de entre 29 y 70 años de edad, 185 hispanos, mayoritariamente hombres de entre 20 y 65 años, 97 norteamericanos; 54 hombres de entre 16 y 74 años y 43 mujeres de entre 15 y 79 años de edad), aparentemente sanos, sin información acerca de medicamentos que toman en la actualidad, estados de enfermedades o condiciones de riesgos conocidas debido a homocisteína elevada. La media de la concentración de homocisteína entre los escandinavos fue de 8,4  $\mu\text{mol/L}$ , entre los hispanos de 8,9  $\mu\text{mol/L}$  y entre los norteamericanos de 9,3  $\mu\text{mol/L}$ . El rango de referencia de homocisteína se estableció con una base del 95% del límite de confianza como 5 a 15  $\mu\text{mol/L}$  para la población escandinava, 3,6 a 15,0  $\mu\text{mol/L}$  para la población norteamericana y 2,9 a 16,0  $\mu\text{mol/L}$  para a población hispana.

### Rango de Medición

El rango del calibrador va de 2 a 50  $\mu\text{mol/L}$ .

### Datos del Desempeño

#### Precisión del Ensayo

La precisión de los análisis Axis® Homocysteine EIA fue evaluada de acuerdo con el Protocolo NCCLS EP-5 T2. Se analizaron tres niveles de controles durante 20 días con cuatro réplicas por funcionamiento en cada nivel. La información sobre la precisión del análisis se encuentra resumida en la Tabla 1.

Tabla 1: Precisión

Muestras	Promedio de Hcy $\mu\text{mol/L}$	Precisión Intraensayo	Precisión Total
Control Bajo	6,1	8 %	10 %
Control Mediano	10,5	7 %	9 %
Control Alto	20,6	8 %	10 %

#### Límite de cuantificación

El límite de cuantificación (CV < 20%) es de 1,0  $\mu\text{mol/L}$ .

### Linealidad de muestras de plasma diluido

Si la concentración de homocisteína en una muestra excede el rango de la curva de calibración, la muestra deberá ser diluida con el Reactivo A y reanalizada.

Se evaluó la linealidad diluyendo cuatro muestras altas de pacientes con cantidades diferentes de Reactivo A como diluyente.

El análisis lineal de regresión dio:

Pendiente: 0,98

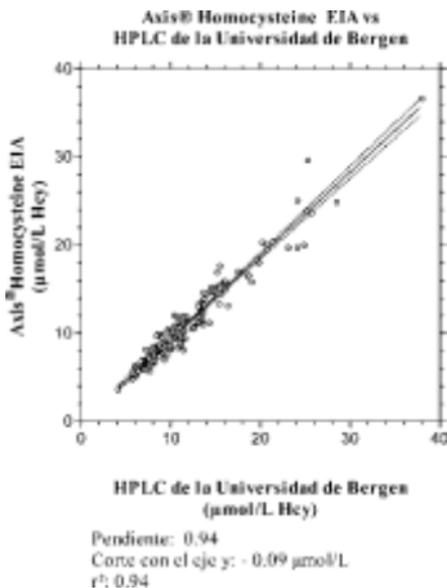
Intersección: -0,4  $\mu\text{mol/L}$

Coefficiente de correlación  $r^2$ : 0,99

### Método de Comparación

Se comparó la Axis® Homocysteine EIA con el método HPLC de la Universidad de Bergen.<sup>27</sup>

Una comparación de muestras de 164 pacientes en un rango de entre 3 y 37  $\mu\text{mol/L}$  homocisteína dió como resultado la regresión lineal en la Figura 1.



**Figura 1: Método de Comparación**

### Substancias que interfieren

Se introdujeron en muestras de plasmas la bilirrubina, la hemoglobina, los lípidos, los glóbulos rojos, las proteínas y el fluoruro de sodio y Axis® Homocysteine EIA los analizó para evaluar su interferencia.

El ensayo demostró menos del 10% de interferencia en presencia de:

bilirrubina (0,5 g/L), hemoglobina (10 g/L), triglicéridos (10 g/L), glóbulos rojos (5,0% v/v), proteína (80 g/L) y Fluoruro de Na (10 g/L).

### Reactividad Cruzada

Se analizó la reactividad cruzada con compuestos que pueden interferir con el ensayo Axis® Homocysteine EIA. El ensayo demostró 16% de reactividad cruzada en presencia de S-adenosil-L-metionina (0,5 mmol/L) y menos del 1% de reactividad cruzada en presencia de adenosina (5,0 mmol/L), cistationina (0,5 mmol/L), L-cisteína (100 mmol/L), glutatión (100 mmol/L) y tiolactona (0,5 mmol/L).

### Información de Seguridad del Producto

#### REAG D



R-20/21/22 Nocivo si se inhala, si entra en contacto con la piel o si se ingiere.

R-33 Peligro de efectos acumulativos.

S-24 Evite el contacto con la piel.

S-28 Si entró en contacto con la piel, lave inmediatamente con abundante agua.

S-36/37/39 Utilice ropa protectora apropiada, guantes y protección para ojos/rostro.

#### REAG S



R-36/38 Irritante para los ojos y para la piel.

S-25 Evite el contacto con los ojos.

S-26 En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con abundante agua y busque asistencia médica.

S-37/39 Utilice guantes y protección para ojos/rostro apropiados.

## References

1. Malinow, MR. Plasma homocyst(e)ine and arterial occlusive diseases: A mini-review. *Clin Chem* 1995;41:173-176.
2. Ueland PM. Homocysteine species as components of plasma redox thiol status. *Clin Chem* 1995;41:340-342.
3. Perry IJ, Refsum H, Morris RW, Ebrahim SB, Ueland PM, Shaper AG. Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged British men. *The Lancet* 1995;346:1395-1398.
4. Finkelstein JD. Methionine metabolism in mammals. *J Nutr Biochem* 1990;1:228-237.
5. Mudd SH, Levy HL, Skovby F. Disorder of transsulfuration. In: C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W.S. Sly, et al. eds. *The metabolic basis of inherited disease* New York: McGraw-Hill; 1995:1297-1327.
6. Clarke R, Daly L, Robinson K, Naughten E, Cahalane S, Fowler B, Graham I. Hyperhomocysteinemia: An independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991;324:1149-1155.
7. Deloughery TG, Evans A, Sadeghi A, McWilliams J, Henner WD, Taylor LM Jr, Press RD. Common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Correlation with homocysteine metabolism and late-onset vascular disease. *Circulation* 1996;94:3074-3078.
8. Schmitz C, Lindpaintner K, Verhoef P, Gaziano JM, Buring J. Genetic polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase and myocardial infarction. *Circulation* 1996;94:1812-1814.
9. Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG. A Quantitative Assessment of Plasma Homocysteine as a Risk Factor for Vascular Disease, *JAMA* 1995;274:1049-1057.
10. Allen, RH, Stabler SP, Savage DG, Lindenbaum J. Diagnosis of cobalamin deficiency I: Usefulness of serum methylmalonic acid and total homocysteine concentrations, *Am J Hematol* 1990;34:90-98
11. Stabler, SP, Lindenbaum J, Allen RH. The Use of homocysteine and other metabolites in the specific diagnosis of vitamin B-12 deficiency, *J Nutr* 1996;126: 1266S-1272S.
12. Guttormsen AB, Svarstad E, Ueland PM, Refsum H. Elimination of homocysteine from plasma in subjects with end-stage renal failure. *Irish J Med Sci* 1995;164 (Suppl. 15):8-9
13. Bostom AG, Lathrop L. Hyperhomocysteinemia in end-stage renal disease: Prevalence, etiology, and potential relationship to arteriosclerotic outcomes. *Kidney Int* 1997;52:10-20.
14. Desouza C, Keebler M, McNamara DB, Fonseca V. Drugs affecting homocysteine metabolism. *Review. Drugs* 2002;62 (4):605-616.
15. Refsum H, Ueland PM. Clinical significance of pharmacological modulation of homocysteine metabolism. *Review. Trends Pharmacol Sci* 1990;11:411-416
16. Frantzen F, Faaren AL, Alfheim I, Nordhei AK. An enzyme conversion immunoassay for determining total homocysteine in plasma or serum. *Clin Chem* 1998;44:311-316.
17. Sundrehagen E. Axis Biochemicals ASA. Enzymatic assay for homocysteine and a kit therefor. EP 623174/US5631127.
18. US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. HHS Publication No. (CDC) 93-8395. Washington, DC: US Government Printing Office, May 1999 (4th edition).
19. Ubbink JB, Vermaak Hayward WJ, van der Merwe A, Becker PJ. The effect of blood sample aging and food consumption on plasma total homocysteine levels. *Clinica Chimica Acta* 1992;207:119-128.
20. Guttormsen AB, Schneede J, Fiskerstrand T, Ueland PM, Refsum H. Plasma concentrations of homocysteine and other aminothiolic compounds are related to food intake in healthy human subjects. *J Nutr* 1994;124:1934-1941.
21. Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, Malinow R, Andersson A, Allen RH. Total homocysteine in plasma or serum: Methods and clinical applications. *Clin Chem* 1993;39:1764-1779.
22. Nehler MR, Taylor LM Jr, Porter JM. Homocysteine as a risk factor for atherosclerosis: A review. *Cardiovasc Pathol* 1997;6:1-9.

23. Lussier-Cacan S, Xhignesse M, Piolot A, Selhub J, Davignon J, Genest J Jr. Plasma total homocysteine in healthy subjects: sex-specific relation with biological traits. *Am J Clin Nutr* 1996; 64:587-593.
24. Clarke R, Woodhouse P, Ulvik A, Frost C, Sherliker P, Refsum H, Ueland PM, Khaw K- T. Variability and determinants of total homocysteine concentrations in plasma in an elderly population. *Clin Chem* 1998;44:102-107.
25. Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, Wilson PWF, Rosenberg IH. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *N Engl J Med* 1999;340:1449-1454.
26. Lawrence JM, Petitt DB, Watkins M, Umekubo MA. Trends in serum folate after food fortification. *Lancet* 1999;354:915-916.
27. Fiskerstrand T, Refsum H, Kvalheim G, Ueland PM. Homocysteine and other thiols in plasma and urine: Automated determination and sample stability. *Clin Chem* 1993;39:263-271.