

Homocysteine Enzymatic

In-vitro-Test für die quantitative Bestimmung des Gesamt-L-Homocystein in Humanserum und -plasma

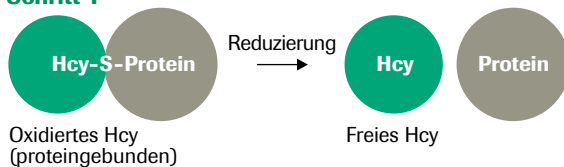
Anwendungszweck

Bei Homocystein (Hcy) handelt es sich um eine Thiol-haltige Aminosäure, die bei der intrazellulären Demethylierung von Methionin entsteht. Als Gesamt-Homocystein (tHcy) werden alle Hcy-Formen, auch die oxidierten, proteingebundenen und freien, bezeichnet. Erhöhte tHcy-Spiegel haben sich als wichtiger Risikofaktor bei der Abschätzung von kardiovaskulären Erkrankungen herausgestellt. Ein Übermass an Hcy in der Blutbahn kann aufgrund seiner reizenden Eigenschaften die Arterienwände schädigen und zu Entzündungen und Plaquebildung führen, wodurch der Blutfluss zum Herzen blockiert werden kann. Erhöhte tHcy-Spiegel sind auf vier Faktoren zurückzuführen:

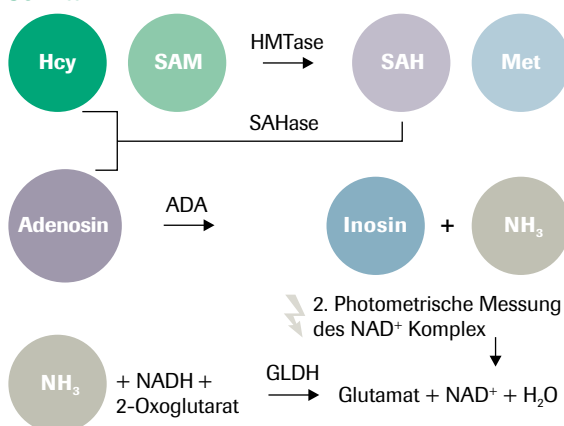
- genetisch bedingter Mangel an Enzymen, die am Hcy-Stoffwechsel beteiligt sind, wie Cystathionin-beta-Synthase (CBS), Methioninsynthase (MS) und Methylentetrahydrofolat-Reductase (MTHFR)
- ernährungsbedingter Mangel an B-Vitaminen wie B6, B12 und Folat
- keine effektive Aminosäureausscheidung aufgrund von Niereninsuffizienz
- Wechselwirkung mit Medikamenten wie Stickoxid, Methotrexat und Phenytoin, die den Hcy-Stoffwechsel stören. Erhöhte tHcy-Spiegel werden auch mit Morbus Alzheimer und Osteoporose in Verbindung gebracht

Testverfahren: Enzyme-Cycling

Schritt 1



Schritt 2



1. Schritt

Oxidiertes, proteingebundenes Hcy wird zunächst zu freiem Hcy reduziert.

2. Schritt

Unter der katalytischen Wirkung einer Hcy-S-Methyltransferase bildet Hcy dann mit einem Co-Substrat, dem S-Adenosylmethionin (SAM), Methionin (Met) und S-Adenosylhomocystein (SAH). SAH wird in gekoppelten enzymatischen Reaktionen gemessen, bei denen SAH durch die SAH-Hydrolase zu Adenosin (Ado) und Hcy hydrolysiert wird. Das gebildete Hcy wird erneut in die Hcy-Umwandlungsreaktion eingebunden, wodurch ein Reaktionszyklus entsteht, der das Nachweissignal amplifiziert. Das gebildete Ado wird sofort in Inosin und Ammoniak (NH₃) hydrolysiert, das unter der katalytischen Aktivität der Glutamatdehydrogenase (GLDH) bei gleichzeitiger Umwandlung von NADH zu NAD⁺ reagiert.

Photometrische Messung

Die Hcy-Konzentration in der Probe ist indirekt proportional zu der Menge NADH, die zu NAD⁺ ($\Delta A_{340\text{nm}}$) umgewandelt wird.



Life needs answers

Technische Daten des Homocysteine-Tests

	Homocysteine Enzymatic	Homocysteine Enzymatic	Homocysteine Enzymatic
Systeme	cobas c 311 Analyzer cobas c 501/ cobas c 502 Modul COBAS INTEGRA® 400 plus System COBAS INTEGRA® 800 System	cobas c 701/ cobas c 702 Modul	Roche/Hitachi MODULAR ANALYTICS <P>
Probenmaterial	Serum, Plasma	Serum, Plasma	Serum, Plasma
Reaktionszeit	10 Minuten	10 Minuten	10 Minuten
Messbereich	3–50 µmol/L	3–50 µmol/L	3–50 µmol/L
Haltbarkeit im Gerät	4 Wochen	4 Wochen	4 Wochen
Kalibrierungsintervall	Jede Reagenzcharge und nach 7 Tagen	Jede Reagenzcharge und nach 7 Tagen	Jede Reagenzcharge und nach 7 Tagen
Cystathionin-Interferenz	Keine Cystathionin-Interferenz bis 100 µmol/L		
Referenzbereich ¹	In den meisten klinischen Laboratorien der USA gelten 15 µmol/L als Cut-off-Wert für normale Hcy-Spiegel bei Erwachsenen. In europäischen Laboratorien werden 12 µmol/L als Cut-off-Wert für normale Hcy-Spiegel bei Erwachsenen verwendet. Wichtige Faktoren sind Alter, Schwangerschaft und Nierenfunktion. Auch die Aufnahme von Folsäure als Ergänzungsmittel oder über angereicherte Nahrungsmittel muss berücksichtigt werden:		
	Gruppe	Ergänzung mit Folat µmol/L	Ohne Folat µmol/L
	Nüchtern/basales tHcy:	8	10
	Schwangerschaft	8	10
	Kinder < 15 Jahre	8	10
	Erwachsene 15–65 Jahre	12	15
	Ältere > 65 Jahre	16	20
	Jedes Labor muss die Übertragbarkeit der Referenzwerte auf seine eigene Patientenpopulation überprüfen und bei Bedarf eigene Referenzbereiche erstellen.		
Wiederholpräzision	cobas c 501 Modul 8.26 µmol/L = 2.0% 13.1 µmol/L = 1.8% 30.0 µmol/L = 1.4% 44.4 µmol/L = 2.0%	cobas c 701 Modul 6.15 µmol/L = 2.1% 16.9 µmol/L = 1.4% 23.3 µmol/L = 1.3%	Roche/Hitachi MODULAR ANALYTICS <P> 7.91 µmol/L = 2.2% 14.4 µmol/L = 1.4% 47.2 µmol/L = 1.3%
Zwischenpräzision	cobas c 501 Modul 8.26 µmol/L = 2.3% 13.1 µmol/L = 2.1% 30.0 µmol/L = 1.8% 44.4 µmol/L = 2.2%	Die Ergebnisse für die Zwischenpräzision wurden auf dem Mastersystem cobas c 501 Modul ermittelt.	

Bestellinformationen

Homocysteine cobas c , INTEGRA	100 Tests	05 385 415 190
Homocysteine cobas c 701/ cobas c 702 Modul	200 Tests	06 542 921 190
Homocysteine Modular P	R1: 2 x 23 mL R2: 2 x 5 mL R3: 2 x 4 mL	05 385 377 190
HCYS Calibrator Kit	2 x 3 mL	05 385 504 190
HCYS Control Kit	Kontrolle 1: 2 x 3 mL Kontrolle 2: 2 x 3 mL	05 142 423 190

COBAS, COBAS C, COBAS INTEGRA, LIFE NEEDS ANSWERS und MODULAR sind Marken von Roche.

©2013 Roche

Roche Diagnostics (Schweiz) AG
Industriestr. 7
CH-6343 Rotkreuz
www.roche-diagnostics.ch

Referenz

¹ Refsum H. Total Homocysteine: Guidelines for Determination in the Clinical Laboratory. *Clin Lab News* 2002; pp 2-14.