

HOMOCISTEÍNA

MS: 80115310198



ANTES DE UTILIZAR O PRODUTO, VERIFIQUE O NÚMERO DA INSTRUÇÃO DE USO E A VERSÃO CORRESPONDENTE NA EMBALAGEM DO MESMO.

PARA OBTER AS INSTRUÇÕES DE USO EM FORMATO IMPRESSO, SEM CUSTO ADICIONAL, CONTATAR O SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR: SAC (21) 3907 2534 / 0800 015 1414 / sac@kovalent.com.br

APRESENTAÇÃO

Artigo nº	Apresentação
2150024K	R1 1x19mL + R2 1x5mL

FINALIDADE

O ensaio enzimático Homocisteína Kovalent destina-se a determinação quantitativa *in vitro* da concentração total de L-homocisteína no soro ou plasma. Esse teste pode auxiliar no diagnóstico e tratamento de pacientes com suspeita de hiperhomocisteinemia e homocistinúria.

Pacientes que estão tomando metotrexato, carbamazepina, fenitoína, óxido nítrico, anticonvulsivantes, ou triacetato de 6-azuridina podem ter níveis mais elevados de homocisteína devido à interferência metabólica desses medicamentos no metabolismo da homocisteína.

SUMÁRIO

Homocisteína (Hcy) é um aminoácido que contém um grupo sulfidrilo (tiol) produzido pela desmetilação intracelular de metionina. A homocisteína total (tHcy) representa a soma de todas as formas de Hcy (incluindo formas oxidadas, livres e ligadas a proteínas).

Níveis elevados de tHcy têm surgido como um importante fator de risco na avaliação de doenças cardiovasculares¹⁻³. O excesso de Hcy na corrente sanguínea pode causar danos aos vasos arteriais, devido à sua natureza irritante, e resultar em inflamação e formação de placas, o que pode eventualmente levar a um bloqueio do fluxo sanguíneo para o coração.

Níveis elevados de tHcy são produzidos por quatro principais fatores, que incluem: a) Deficiências genéticas em enzimas envolvidas no metabolismo de Hcy como cistationina beta-sintase (CBS), metionina sintase (MS) e metilentetrahydro-folato-redutase (MTHFR); b) Deficiência nutricional de vitaminas do grupo B, como B₆, B₁₂ e folato; c) Insuficiência renal para o clearance eficiente de aminoácidos; e d) Interações de medicamentos como óxido nítrico, metotrexato e fenitoína, que interferem no metabolismo de Hcy.

Níveis elevados de tHcy também são associados doença de Alzheimer⁴ e osteoporose⁵. Diretrizes para determinação de Hcy em laboratórios clínicos foram recentemente estabelecidas⁶.

PRINCÍPIO

O ensaio enzimático Homocisteína Kovalent é baseado em um novo princípio que avalia o produto da conversão do co-substrato (uma molécula que não é um substrato da enzima de conversão da Hcy e não contém qualquer elemento da amostra de Hcy) ao invés de avaliar o co-

substrato ou os produtos de conversão da Hcy, como descrito na literatura. Nesse ensaio, a Hcy oxidada é primeiro reduzida a Hcy livre, a qual logo reage com um co-substrato, S-adenosilmetionina (SAM) catalisada por uma Hcy S-metiltransferase para formar metionina (o produto de conversão da Hcy) e S-adenosilhomocisteína (SAH, o produto de conversão do co-substrato). SAH é avaliada através de reações enzimáticas acopladas incluindo SAH hidrolase, adenosina (Ado) deaminase e glutamato desidrogenase, onde a SAH é hidrolisada em adenosina (Ado) e Hcy pela SAH hidrolase. A Hcy formada, originada a partir do co-substrato SAM, se integra em uma reação de conversão de Hcy pela Hcy S-metiltransferase. Isso resulta em um produto de conversão do co-substrato baseado na reação enzimática cíclica que amplifica consideravelmente os sinais de detecção. O Ado formado é imediatamente hidrolisado em inosina e amônia. Em uma última etapa, a enzima glutamato desidrogenase (GLDH) catalisa a reação da amônia com 2-oxoglutarato e NADH para formar NAD⁺. A concentração de Hcy na amostra é diretamente proporcional à quantidade de NADH convertido a NAD⁺ (ΔOD_{340nm}).

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

1. Analisador capaz de dispensar 2 reagentes e medir a absorbância a 340 nm com controle de temperatura (37°C);
2. Conjunto de calibradores Topkal Homocisteína (5 níveis) Kovalent;
3. Conjunto de controles Topkon Homocisteína (4 níveis) Kovalent.

COMPOSIÇÃO DOS REAGENTES

Ingredientes ativos	Concentração
S-adenosilmetionina (SAM)	0,1 mM
NADH	>0,2 mM
TCEP	>0,5 mM
2-Oxoglutarato	5,0 mM
Glutamato desidrogenase	10 KU/L
SAH hidrolase	3,0 KU/L
Adenosina deaminase	5,0 KU/L
Hcy metiltransferase	5,0 KU/L

PREPARO DOS REAGENTES

Os reagentes do ensaio enzimático Homocisteína Kovalent são reagentes prontos para uso, líquidos e estáveis.

ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes do ensaio enzimático Homocisteína Kovalent devem ser armazenados em temperatura de 2-8°C. **NÃO CONGELE.** Os reagentes são estáveis quando armazenados conforme indicado, até a data de validade descrita no rótulo. Não misture reagentes de lotes diferentes.

Instrução de Uso

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

COLETA E MANUSEIO DE AMOSTRAS

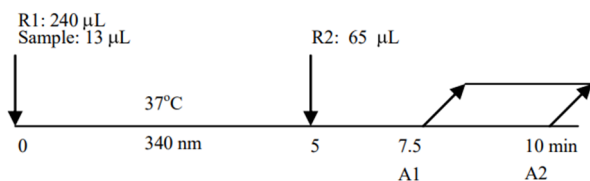
Soro fresco, plasma heparinizado e plasma-EDTA podem ser utilizados para o teste de Homocisteína Kovalent. É importante centrifugar as amostras de sangue imediatamente após a coleta para separar o plasma das células sanguíneas. Caso não seja possível a centrifugação imediata, as amostras de sangue deverão ser mantidas em gelo e centrifugadas dentro de uma hora. Amostras hemolisadas, turvas ou altamente lipêmicas não são recomendadas para realização do ensaio enzimático Homocisteína Kovalent. Após separação do plasma das células, Hcy é estável por pelo menos 4 dias em temperatura ambiente, várias semanas a 0-8°C e vários meses ou anos a -20°C.⁷

ALERTAS E PRECAUÇÕES

1. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
2. **NÃO INGERIR.** Evite contato com pele e olhos.
3. Contém azida sódica, o que pode reagir com tubulação de chumbo ou cobre e formar compostos explosivos. Para a eliminação deste reagente, descartar com uma grande quantidade de água.
4. Os reagentes contêm glicerol como estabilizante.
5. Os analisadores químicos automatizados utilizam etapas de lavagem de rotina integrada para evitar o transporte de reagentes. Contudo, a eficiência da lavagem de rotina varia e podem ser necessárias etapas de lavagem adicionais. Consulte o manual do operador do instrumento.
6. As amostras que contêm material de origem humana devem ser manipuladas em laboratório como potencialmente infectantes, usando procedimentos de segurança.
7. Informações de segurança adicionais relacionadas a armazenamento e manuseio deste produto estão contidas em sua Ficha de Dados de Segurança. Para obtenção da Ficha de Dados de Segurança, por favor entre em contato com Kovalent do Brasil Ltda.

PROCEDIMENTO DO TESTE

Antes da amostragem, agite suavemente o frasco do calibrador e do controle múltiplas vezes, para homogeneizar. Após cada uso, feche imediatamente a tampa e retorne para o armazenamento a 2-8°C.



Aplicações para sistemas automáticos estão disponíveis quando requisitadas ou em nosso site: www.kovalent.com.br

CALIBRAÇÃO

Para os analisadores, usar os calibradores Topkal Homocisteína (5 níveis) Kovalent. A curva de calibração é estável por até 5 dias.

CONTROLE DE QUALIDADE

Recomendamos a utilização dos controles Topkon Homocisteína (4 níveis) Kovalent para validar o desempenho dos reagentes do ensaio enzimático Homocisteína Kovalent. A faixa de valores normais e anormais do controle Topkon Homocisteína (4 níveis)

Kovalent está disponível na bula do produto. As faixas dos limites aceitáveis dos controles devem ser estabelecidas individualmente pelos laboratórios.

RESULTADOS

Os resultados são expressos em µmol/L.

Nota: As amostras com valores superiores a 50 µmol/L devem ser diluídas com água destilada 1:1 e analisadas novamente. O resultado deve ser multiplicado por 2.

INTERVALO DE REFERÊNCIA

Na maior parte dos laboratórios clínicos dos Estados Unidos, o valor de 15 µmol/L é utilizado como valor cut-off para o nível normal de Hcy em adultos. Na Europa, o valor de 12 µmol/L é utilizado como valor cut-off. Entretanto, é recomendado que cada laboratório estabeleça a faixa normal de valores para a população daquela região.

LIMITAÇÕES

- A faixa de medição do ensaio é de 3 a 50 µmol/L. As amostras com valores de homocisteína superiores a 50 µmol/L devem ser diluídas com água destilada 1:1.
- Os reagentes devem ser transparentes. Se estiverem turvos ou a absorvância inicial for menor que 0,5 a 340 nm (com caminho ótico de 0,6 cm), o reagente deve ser descartado.
- A S-adenosilhomocisteína (SAH) causa uma interferência positiva significativa. No entanto, a SAH ou não é detectável ou está presente em concentrações menores que nmole/L no plasma normal, portanto não deve ser motivo de preocupação.
- Os pacientes que estão tomando metotrexano, carbamazepina, fenitoína, óxido nítrico, anticonvulsivantes ou triacetato de 6-azuridina podem apresentar níveis mais elevados de homocisteína devido a interferência metabólica destes medicamentos no metabolismo da homocisteína.
- Sugere-se a adição de 3-deazaadenosina para inibir a produção de homocisteína nos glóbulos vermelhos. No entanto, o ensaio de Homocisteína Kovalent não pode utilizar amostras que contenham 3-deazaadenosina porque esta inibe uma das enzimas-chave utilizadas no ensaio.

ESTUDO DE DESEMPENHO

Limite de Detecção

Para demonstração do limite de detecção (LOD) no ensaio enzimático Homocisteína Kovalent, o calibrador zero foi testado em 12 replicatas. O LOD foi definido como a média +3DP.

Calibrador zero	
N	12
Média	0,05
DP	0,117
Média + 3DP	0,40
LOD = 0,4 µM HCY	

Acurácia

Estudos de correlação foram realizados através do teste de 40 amostras de soro, em comparação com um método comercial existente de ensaio de Hcy. A regressão linear forneceu um valor de coeficiente de correlação r^2 de 0,99, inclinação de 0,94 e interseção em y de 1,05.

Instrução de Uso

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

Precisão

Os estudos de precisão foram conduzidos de acordo com o protocolo NCCLS EP-5, com as seguintes modificações.

Para precisão na corrida, quatro amostras de soro contendo 7,0, 12,0, 15,6 e 29,0 µM de Hcy foram testadas com o ensaio enzimático Homocisteína Kovalent no equipamento OLYMPUS AU400, com 20 replicatas em um dia. A imprecisão na corrida (CV%) dos quatro níveis de Hcy nas amostras de soro foi de 4,5% para 7 µM de Hcy, 1,87% para 12 µM de Hcy, 3,04% para 15,6 µM de Hcy e 2,4% para 29,0 µM de Hcy.

Para precisão inter-ensaio, quatro amostras de soro contendo 7,0, 12,0, 15,6 e 29,0 µM de Hcy foram testadas em 2 corridas por dia, em triplicata, por 5 dias. A imprecisão inter-ensaio (CV%) dos três níveis controle de homocisteína foi de 5,87% para 7 µM de Hcy, 4,88% para 12 µM de Hcy, 5,51% para 15,6 µM de Hcy e 2,57% para 29,0 µM de Hcy.

Linearidade

O teste é linear até 50 µmol/L.

Interferência

Foi realizado um estudo de interferência através do teste de uma amostra de soro enriquecida com diferentes concentrações de substâncias endógenas. As seguintes substâncias normalmente presentes no soro produziram um desvio inferior a 10% quando medido a estas concentrações: 40 mg/dL de bilirrubina, 1000 mg/dL de triglicérides, 500 mg/dL de hemoglobina, 40 mg/dL de bilirrubina conjugada, 10 mM de ácido ascórbico e 100 µM* de cistationina.

**As concentrações testadas são cerca de 5 a 10 vezes maior que a faixa normal dos níveis séricos.

GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS

Seguir as disposições da resolução em vigor que dispõe sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes.

GARANTIA













Esta instrução de uso deve ser lida atentamente antes da utilização do produto e as informações nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.

REFERÊNCIAS

1. Eikelboom JW, et. al. Ann Intern Med 131:363-75, (1999)
2. Scott J, Weir D. Q J Med 89: 561– 3 (1996)
3. Nygard O, N Engl J Med. 337(4):230-6(1997)
4. Seshadri S. et al. N. Engl. J. Med. 346:477-483(2002)
5. McLean R. et al. N. Engl. J. Med. 350: 2042-2049 (2004)
6. Refsum H. Clinical Laboratory News May 2002, pp 2-14
7. Guttormsen AB et al. J Nutr. 124(10):1934-41 (1994)
8. Vilaseca et al. Clin. Chem. 43: 690-692 (1997)
9. Faure-Delanef et al. Am. J. Hum. Genet. 60: 999-1001 (1997)

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR

Observação: Favor consultar a tabela abaixo para identificar os diversos símbolos.

	Consulte as instruções para utilização
	Validade
	Código do lote
	Número de catálogo
	Cuidado
	Fabricante
	Quantidade suficiente para <n> ensaios
	Produto para a saúde para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Limites de temperatura
	Não reutilizar
	Manter à seco
	Manter afastado de luz solar

FABRICADO POR

Kovalent do Brasil Ltda.
Rua Cristóvão Sardinha, 110 – Jd. Bom Retiro
São Gonçalo – RJ – CEP 24722-414 - Brasil
www.kovalent.com.br
CNPJ: 04.842.199/0001-56

Apresentações comercializadas sob demanda:

Nº de registro	Apresentação
80115310198	R1: 1 x 38 ml + R2: 1 x 10 ml
80115310198	R1: 1 x 38 ml + R2: 2 x 5 ml
80115310198	R1: 2 x 19 ml + R2: 2 x 5 ml

SAC: sac@kovalent.com.br
(21) 3907-2534 / 0800 015 1414

Data de vencimento e nº de Lote: VIDE RÓTULO