

HOMOCISTEÍNA

MS 80115310198

APRESENTAÇÃO

Artigo nº

2150024K
2150048K
2150048K
2150048K

Apresentação

R1 1 x 19 mL + R2 1 x 5 mL
R1 1 x 38 mL + R2 1 x 10 mL
R1 1 x 38 mL + R2 2 x 5 mL
R1 2 x 19 mL + R2 2 x 5 mL

FINALIDADE

O ensaio enzimático para homocisteína foi concebido com dois reagentes para determinação quantitativa *in vitro* da concentração total de L-homocisteína no soro ou plasma. Este teste pode auxiliar no diagnóstico e tratamento da hiperhomocisteinemia e homocistinúria.

Os pacientes que estão tomando metotrexate, carbamazepina, óxido nítrico, fenitoína, anticonvulsivantes, ou triacetato de 6-azuridina podem ter níveis elevados de homocisteína devido à interferência destas drogas com o metabolismo da homocisteína.

SUMÁRIO

Homocisteína (Hcy) é um aminoácido contendo um grupo sulfidrílo (tiol) intracelular produzido pela desmetilação de metionina. O total de homocisteína (Hcy total) representa a soma de todas as formas de Hcy (incluindo formas oxidadas, livres e ligadas a proteínas).

Níveis elevados de homocisteína têm surgido como um fator de risco significativo na avaliação de doenças cardiovasculares.¹⁻³ O excesso de Hcy total no sangue pode causar danos aos vasos arteriais, devido à sua natureza irritante e pode causar inflamação e formação de placas, o que em última análise, poderia provocar um bloqueio do fluxo sanguíneo para o coração.

Os níveis elevados de homocisteína são produzidos por quatro fatores principais, que incluem:

as deficiências genéticas de enzimas envolvidas no metabolismo de Hcy como cistationina beta-sintase (CBS)-sintase, metionina sintase (MS) e metilentetraidro-folato-redutase (MTHFR)

a deficiência nutricional de vitaminas do grupo B, como a B₆, B₁₂ e folato insuficiência renal para o clearance de aminoácidos

interação medicamentosa com o óxido nítrico, metotrexate e fenitoína.

Os níveis elevados de homocisteína também têm sido associados com as enfermidades de Alzheimer⁴ e osteoporose⁵. Diretrizes recentes foram estabelecidas para a determinação de homocisteína em laboratórios clínicos.⁶

PRICÍPIO

O ensaio enzimático para Homocisteína Kovalent é baseado num novo princípio que avalia o produto de conversão do co-substrato (uma molécula que não é um substrato da enzima de conversão da Hcy e não contém nenhum elemento da amostra de Hcy) ao invés de avaliar o co-substrato ou os produtos de conversão da Hcy, como descrito na literatura. Neste ensaio, a Hcy oxidada é reduzida em primeiro lugar 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 a adenosina (Ado) e Hcy pela SAH hidrolase. A Hcy que se forma a partir do co-substrato SAM se integra numa reação cíclica 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 produzido se hidrolisa imediatamente em inosina e amoníaco os quais reagem com glutamato desidrogenase com a conversão correspondente de NADH a NAD⁺ (ΔOD_{340nm}).

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Analisador capaz de dispensar dois reagentes e medindo a absorbância a 340 nm com controle de temperatura (37° C).

O conjunto de calibradores Topkal Homocisteína (5 níveis) Kovalent.

O conjunto de controles Topkon Homocisteína (4 níveis) Kovalent.

REAGENTES

S-adenosilmetionina (SAM)	0,1 mM
NADH	>0,2 mM
TCEP	>0,5 mM
2-oxoglutarato	5,0 mM
1-3 Glutamato desidrogenase	10KU/L
SAH hidrolase	3,0 KU/L

Adenosina deaminase 5,0 KU/L

Hcy metiltransferase 5,0 KU/L

PREPARO DOS REAGENTES

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

CUIDADOS E PRECAUÇÕES

Tome os cuidados necessários no manuseio de reagentes de laboratórios.

GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS

Seguir as disposições da resolução RDC nº 306/2004 que dispõe sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes.

ESTABILIDADE E ARMAZENAMENTO DOS REAGENTES

Os reagentes de ensaio enzimático para Homocisteína Kovalent devem manter-se a uma temperatura de 2 – 8°C. NÃO CONGELAR! Se forem seguidas as instruções de armazenamento, os reagentes são estáveis até a data de validade indicada no rótulo. Não misturar reagentes de lotes diferentes.

TIPO E MANUSEIO DAS AMOSTRAS

No ensaio para Hcy pode-se utilizar soro fresco, plasma com heparina ou plasma de EDTA. É importante centrifugar as amostras de sangue imediatamente, depois levá-los para separar o plasma das células sanguíneas. Se não for possível a centrifugação imediata, as amostras de sangue deverão ser mantidas em gelo e centrifugadas dentro de uma hora. Para realizar o ensaio para Homocisteína Kovalent não recomendados amostras hemolizadas ou turvas nem as amostras consideravelmente lipêmicas. Depois de separar o plasma das células, a Hcy é estável durante pelo menos 4 dias à temperatura ambiente, durante várias semanas a 0 - 8 ° C e por vários meses ou anos a -20° C.⁷

PRECAUÇÕES

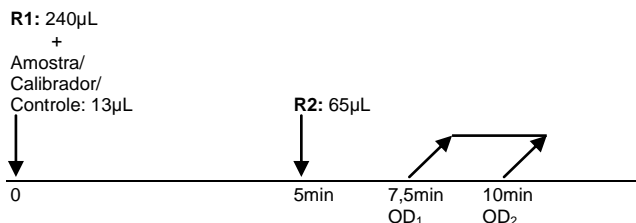
Os reagentes são somente para uso diagnóstico *in vitro*. NÃO INGERIR. Evitar o contato com a pele e os olhos. Contém azida sódica, que pode reagir com tubulação de chumbo ou de cobre formando compostos explosivos. Os calibradores e controles são preparados em base de soro humano. Os reagentes contêm glicerol como agente estabilizante. As amostras que contêm material de origem humana devem ser manipuladas em laboratório como potencialmente infectantes, usando procedimentos de segurança.

PROCEDIMENTOS PARA O TESTE

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

Procedimento manual

- Antes de usar a amostra, agitar levemente, várias vezes o frasco de calibrador e de controle para assegurar a homogeneidade. Depois de cada uso recolocar a tampa rapidamente e rearmazenar na temperatura de 2°C – 8°C.
- Amostra/controle/calibrador: sem diluição
- Curva de referência: gerar uma curva de referência utilizando o conjunto de calibradores de 5 níveis Topkal Homocisteína Kovalent, pronto para uso e realizar o teste conforme o esquema abaixo.



- Calcular ΔODs , construir uma curva padrão e ler a concentração dos controles e amostras.

CALIBRAÇÃO

Para os equipamentos automatizados, usar os calibradores de 5 níveis Topkal Homocisteína Kovalent.

Instruções de Uso

Somente para uso diagnóstico in vitro



CONTROLE DE QUALIDADE

Recomendamos que cada laboratório utilize os controles Topkon Homocisteína Kovalent de 4 níveis para validar o rendimento dos reagentes de Homocisteína Kovalent. As faixas dos limites toleráveis dos controles estão descritas nas respectivas bulas.

RESULTADOS

Os resultados são expressos em $\mu\text{mol/L}$. Nota: As amostras com valores superiores a $50 \mu\text{mol/L}$ devem ser diluídas com água destilada 1:1 e analisadas novamente. O resultado deve ser multiplicado por 2.

FAIXA DE REFERÊNCIA

Grávidas e crianças (< 15 anos) < $10 \mu\text{mol/L}$
Adultos (15 a 65 anos) < $15 \mu\text{mol/L}$
Adultos acima de 65 anos < $20 \mu\text{mol/L}$

A maioria dos laboratórios clínicos dos Estados Unidos usa $15 \mu\text{mol/L}$ como valor normal dos níveis de homocisteína para adultos. ⁸⁻⁹ Na Europa se utiliza $12 \mu\text{mol/L}$.

No entanto é recomendado que cada laboratório estabeleça uma faixa de valores normais para a população de sua região em particular, pois os níveis de homocisteína podem variar com a idade, sexo, área geográfica e fatores genéticos.

LIMITAÇÕES

- A faixa de medição do ensaio é de 3 a $50 \mu\text{mol/L}$. As amostras com valores de homocisteína superiores a $50 \mu\text{mol/L}$ devem ser diluídas com água destilada 1:1.
- Os reagentes são transparentes. Se estiverem turvos ou a absorbância 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 significativa positiva. No entanto, a SAH não é detectável em concentrações encontradas em plasma normal e não devem ser motivo de preocupação.
- Os pacientes que estão tomando metotrexano, carbamazepina, fenitoína, óxido nítrico, anticonvulsivantes ou triacetato de 6-azuridina podem apresentar níveis elevados de homocisteína devido a interferência metabólica destes medicamentos com o 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.

GARANTIA

O desempenho do produto é garantido se forem seguidos os procedimentos recomendados nas instruções de uso.

CARACTERÍSTICAS / DESEMPENHO

Sensibilidade / Limite de detecção:

Para determinar o limite de detecção do ensaio enzimático para Homocisteína Kovalent, foi testado o calibrador Topkal Homocisteína Kovalent com 12 repetições. O limite de detecção foi definido como a média de 3 desvios padrões.

Calibrador zero	
n	12
Média	0,05
Desvio Padrão	0,117
Média + 3 desvios padrões	0,40
Limite de detecção = $0,40 \mu\text{mol/L}$ Homocisteína	

Exatidão

Foram feitos estudos de correlação com 40 amostras de soro em comparação com um método comercial existente para a Homocisteína. A regressão linear produz um coeficiente de correlação r^2 com um valor de 0,99, a inclinação é de 0,94 e a interseção 1,05.

Precisão

Para estar dentro da precisão do ensaio foi medido 4 amostras de soro homocisteína que continham 7, 12, 15,6 e $29 \mu\text{mol/L}$ de homocisteína com o ensaio enzimático no OLYMPUS AU400 com 20 replicatas em um dia. As imprecisões do ensaio (%CV) para 4 níveis de amostras de soro de homocisteína são de 4,5% para $7,0 \mu\text{mol/L}$ de Hcy, 1,87% para $12,0 \mu\text{mol/L}$ de Hcy, 3,04% para $15,6 \mu\text{mol/L}$ de Hcy e 2,4% para $29,0 \mu\text{mol/L}$ de Hcy. Para precisão inter-ensaio, foi testado 4 amostras de soro homocisteína que continham 7, 12, 15,6 e $29 \mu\text{mol/L}$ de Hcy em duas corridas diárias em

triplicata durante 5 dias. As imprecisões inter-ensaio de 3 níveis de controle de homocisteína são de 5,87% para $7,0 \mu\text{mol/L}$ de Hcy, 4,88% para $12,0 \mu\text{mol/L}$ de Hcy, 5,51% para $15,6 \mu\text{mol/L}$ de Hcy e 2,57% para $29,0 \mu\text{mol/L}$ de Hcy.

Linearidade

O teste é linear até $50 \mu\text{mol/L}$.

Interferências

Foi realizado um estudo de interferência testando uma amostra de soro adulterado 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 triglicerídeos, 500 mg/dL de hemoglobina, 40 mg/dL de bilirrubina conjugada, 10 mmol/L de ácido ascórbico e $100 \mu\text{mol/L}$ de cistationina.

*As concentrações utilizadas no ensaio são cerca de 5-10 vezes maior que a gama normal do nível presente no soro.

LITERATURA

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

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR

Símbolos Usados

- Fabricante
- Limites de temperatura
- Diagnóstico in vitro
- Cuidado, consulte documentos anexos
- Consulte instruções de uso
- Material Reciclável
- Não rejeitar diretamente para o ambiente
- Lote
- Data de Fabricação
- Validade
- Risco Biológico
- Altamente tóxico
- Corrosivo
- Nocivo

ELABORADO 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
Farm. Resp.: Jorge A. Janoni
CRF: 2648-RJ

SAC: sac@kovalent.com.br - (21) 3907-2534

Data de vencimento e nº de Lote: VIDE RÓTULO