

## Instruções de Uso

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

# 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](mailto:sac@kovalent.com.br)

### APRESENTAÇÃO

Artigo n° 2150024K      Apresentação R1 1x19mL + R2 1x5mL

### 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. Esse teste pode auxiliar no diagnóstico e tratamento de pacientes com indícios de hiperhomocisteinemia e homocistinúria.

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

### SUMÁRIO

Homocisteína (Hcy) é um aminoácido que contém um grupo sulfidrilo (tiol) produzido pela desmetilação intracelular de metionina. A homocisteína total (Hcy total) 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 cardiovasculares<sup>1,3</sup>. 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 metiltetraidro-folato-redutase (MTHFR); b) Deficiência nutricional de vitaminas do grupo B, como B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> e folato; c) Insuficiência renal para o *clearance* eficiente de aminoácidos; e d) Interações de medicamentos como óxido nítrico, metotrexato e fenitoína que interfere com o metabolismo de Hcy.

Níveis elevados de tHcy também são associados doença de Alzheimer<sup>4</sup> e osteoporose<sup>5</sup>. Diretrizes para determinação de Hcy foram recentemente em laboratórios clínicos<sup>6</sup>.

### PRINCÍPIO

O ensaio enzimático para Hcy 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 de 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 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<sup>+</sup>. A concentração de Hcy na amostra é diretamente proporcional à quantidade de NADH convertido a NAD<sup>+</sup> ( $\Delta OD_{340nm}$ ).

### REAGENTES

#### Componentes e Concentrações

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

#### MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

1. Analisador capaz de dispensar dois reagentes e medindo a absorvância 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.

#### PREPARO DOS REAGENTES

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

#### CUIDADOS E PRECAUÇÕES

1. Os reagentes contêm azida sódica (0,95 g/L) como conservante, que pode reagir com tubulação de chumbo ou de cobre formando compostos explosivos. Para a eliminação deste reagente, descartar com bastante quantidade de água. Não ingerir! Evite contato com pele e olhos; Os reagentes contêm glicerol como estabilizante.
2. As amostras que contêm material de origem humana devem ser manipuladas em laboratório como potencialmente infectantes, usando procedimentos de segurança;
3. Por favor, consulte a ficha de segurança e tome as precauções necessárias para o manuseio de reagentes de laboratório. Para um diagnóstico final, os resultados devem sempre ser correlacionados com o histórico médico do paciente, exames clínicos e outros resultados.

#### GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS

Seguir as disposições da resolução RDC n° 306/2004 que dispõe sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes.

#### ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes são estáveis até o prazo da data de validade, se armazenados a temperatura de 2 a 8 °C. **NÃO CONGELAR!** Não misturar reagentes de lotes diferentes.

#### 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. Não são recomendadas amostras hemolisadas ou turvas nem as amostras consideravelmente lipêmicas para realizar o ensaio da Homocisteína Kovalent.

Após separação do plasma das células:

Estabilidade da Hcy<sup>7</sup>:

4 dias	a	Temperatura ambiente
Várias semanas	a	0 - 8 °C
Vários meses ou anos	a	-20 °C

#### PROCEDIMENTOS PARA O TESTE

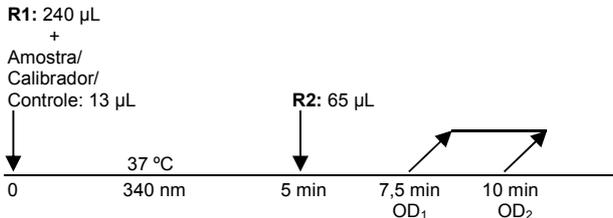
Aplicações para sistemas automáticos estão disponíveis quando requisitadas ou em nosso site: [www.kovalent.com.br](http://www.kovalent.com.br)

## Instruções de Uso

Somente para uso diagnóstico in vitro

### 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 armazenar novamente na temperatura de 2 °C a 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. A curva de calibração é estável por até 5 dias.

### CONTROLE DE QUALIDADE

Recomendamos que cada laboratório utilize os controles Topkon Homocisteína Kovalent de 4 níveis para validar a performance dos reagentes de Homocisteína Kovalent. As faixas dos limites aceitáveis dos controles devem ser estabelecidas nas respectivas bulas.

### RESULTADOS

Os resultados são expressos em µmol/L.

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

### 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 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

Estas instruções de uso devem ser lidas 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.

### CARACTERÍSTICAS / DESEMPENHO

#### Faixa de Medição

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.

#### Especificidade / 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 µmol/L\*\* de cistationina.

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

### Sensibilidade / Limite de Detecção

Para determinar o limite de detecção do ensaio enzimático para homocisteína Kovalent, foi utilizado o calibrador Topkal Homocisteína Kovalent com 12 replicatas. 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 µmol/L Homocisteína	

### Linearidade

O teste é linear até 50 µmol/L.

### PRECISÃO

Para estar dentro da precisão do ensaio foi medido 4 amostras de soro homocisteína que continham 7, 12, 15,6 e 29 µmol/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 µmol/L de Hcy, 1,87% para 12,0 µmol/L de Hcy, 3,04% para 15,6 µmol/L de Hcy e 2,4% para 29 µmol/L de Hcy. Para precisão inter-ensaio, foi testado 4 amostras de soro homocisteína que continham 7, 12, 15,6 e 29 µmol/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 µmol/L de Hcy, 4,88% para 12,0 µmol/L de Hcy, 5,51% para 15,6 µmol/L de Hcy e 2,57% para 29 µmol/L de Hcy.

### Comparação de Métodos

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

### VALORES DE REFERÊNCIA

Grávidas e crianças	< 15 anos	< 10 µmol/L
Adultos	15 a 65 anos	< 15 µmol/L
Adultos acima de 65 anos		< 20 µmol/L

A maioria dos laboratórios clínicos dos Estados Unidos utiliza 15 µmol/L como valor normal dos níveis de homocisteína para adultos<sup>8,9</sup>. Na Europa é utilizado 12 µmol/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.

### LITERATURA

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).

## Instruções de Uso

Somente para uso diagnóstico in vitro

### 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

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

Apresentações comercializadas sob demanda:

N° de registro	Apresentação
80115310198	R1 1x38mL + R2 1x10mL
80115310198	R1 1x38mL + R2 1x5mL
80115310198	R1 2x19mL + R2 2x5mL

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

Data de vencimento e nº de Lote: VIDE RÓTULO