

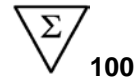
Dosaggio Axis-Shield Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Assay

REF B08176

(Distribuito da BECKMAN COULTER, solo per uso professionale sulle piattaforme AU BECKMAN COULTER (AU400, AU480, AU680, AU5800 e DxC 700 AU))



Axis-Shield Diagnostics Ltd.
The Technology Park
Dundee DD2 1XA
United Kingdom
Tel: +44 (0) 1382 422000
Fax: +44 (0) 1382 422088



ITALIANO:

USO PREVISTO

Il dosaggio Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay è studiato per la determinazione quantitativa *in vitro* dell'omocisteina totale nel siero e plasma umano. Questo dispositivo può contribuire alla diagnosi e al trattamento di pazienti sospettati di avere iperomocisteinemia e omocistinuria.

AVVERTENZA: i campioni di pazienti trattati con farmaci a base di S-adenosil-metionina possono mostrare falsi livelli elevati di omocisteina. I pazienti che stanno assumendo metotressato, carbamazepina, fenitoina, ossido nitroso, anticonvulsivi o triacetato di 6-azauridina possono mostrare livelli elevati di omocisteina a causa dell'effetto di questi agenti sulla via dell'omocisteina. Consultare la sezione LIMITAZIONI D'USO nel presente foglietto illustrativo.

RIASSUNTO E SPIEGAZIONE DEL TEST

L'omocisteina (HCY) è un aminoacido contenente tiolo prodotto per demetilazione intracellulare della metionina. L'omocisteina viene esportata nel plasma, dove è in circolo principalmente nella sua forma ossidata, legata alle proteine plasmatiche sotto forma di disolfuro misto proteina-HCY con albumina (proteina-SS-HCY).¹⁻⁵ Sono presenti anche quantità più piccole di omocisteina ridotta e disolfuro di omocisteina (HCY-SS-HCY). L'omocisteina totale (tHCY) rappresenta la somma di tutte le forme di HCY presenti nel siero o plasma (proteina libera più proteina legata). L'omocisteina viene metabolizzata in cisteina o metionina. Nella via di trans-solfurazione della vitamina B6, l'omocisteina viene catabolizzata in modo irreversibile in cisteina. Gran parte dell'omocisteina viene rimetilata in metionina, principalmente da parte dell'enzima folato e cobalamina-dipendente metionina sintasi. L'omocisteina si accumula e viene escreta nel sangue quando queste reazioni sono alterate.^{3,5} Si riscontrano pericolose concentrazioni elevate di omocisteina totale nei soggetti con omocistinuria, una rara malattia genetica degli enzimi coinvolti nel metabolismo dell'omocisteina. I pazienti con omocistinuria manifestano ritardo mentale, arteriosclerosi precoce e tromboembolia arteriosa e venosa.^{2,6} Si osservano anche altre anomalie genetiche meno gravi che provocano livelli di omocisteina totale moderatamente elevati.⁷⁻⁹

Il rapporto fra livelli di omocisteina elevati e malattie cardiovascolari (CVD) è stato esaminato da vari studi epidemiologici. Una meta-analisi di 27 di questi studi comprendente oltre 4000 pazienti ha stimato che un aumento di 5 µmol/L dell'omocisteina totale è associato ad un odds ratio per le coronaropatie (CAD) di 1,6 (intervallo di confidenza [IC] al 95% 1,4- 1,7 per gli uomini e 1,8 (IC al 95% 1,3 - 1,9) per le donne; l'odds ratio per le malattie cerebrovascolari è di 1,5 (IC al 95% 1,3 - 1,9). Il rischio associato ad un aumento di 5 µmol/L dell'omocisteina totale è identico a quello associato ad un aumento di 0,5 mmol/L (20 mg/dL) del colesterolo. Una forte correlazione è emersa anche per la malattia arteriosa periferica.¹⁰

L'iperomocisteinemia, ossia la presenza di livelli elevati di omocisteina, può essere associata ad un aumentato rischio di CVD. Sono stati pubblicati anche numerosi report di studi prospettici sul rapporto fra l'iperomocisteinemia e il rischio di CVD in uomini e donne inizialmente sani. Gli endpoint finali erano basati su un evento cardiovascolare, quale infarto miocardico acuto, ictus, CAD o morte. I risultati di undici di questi studi caso-controllo "nested" revisionati da Cattaneo¹¹ sono equivoci, in quanto cinque di questi studi supportano l'associazione con il rischio, mentre sei no. Più di recente, i livelli di omocisteina sono stati determinati in uno studio prospettico di donne in post-menopausa che hanno partecipato al Women's Health Study. I campioni di 122 donne, che successivamente hanno sviluppato eventi cardiovascolari, sono stati testati per l'omocisteina e confrontati con un gruppo di controllo di 244 donne che sono state appaiate per età e abitudini legate al fumo. Le donne nel gruppo di controllo sono rimaste libere dalla malattia per il periodo di follow-up della durata di tre anni. I risultati hanno dimostrato che le donne in post-menopausa che hanno sviluppato eventi cardiovascolari avevano livelli di omocisteina al basale significativamente superiori. Le pazienti con livelli nel quartile più alto erano a doppio rischio di un qualsiasi evento cardiovascolare. I livelli elevati di omocisteina al basale hanno dimostrato di essere un fattore di rischio indipendente.¹² Inoltre, i livelli di omocisteina sono stati determinati in uomini classe 1933 e donne della coorte del Framingham Heart Study, dimostrando che livelli elevati di omocisteina sono associati in modo indipendente ad aumentati tassi di morte per tutte le cause e per CVD.¹³

I pazienti con malattie renali croniche presentano un'eccessiva morbilità e mortalità dovute a CVD di natura arteriosclerotica. La concentrazione elevata di omocisteina è un parametro spesso osservato nel sangue di questi pazienti. Sebbene tali pazienti manchino di alcune delle vitamine coinvolte nel metabolismo dell'omocisteina, i livelli elevati di HCY sono dovuti principalmente ad alterata eliminazione dell'HCY dal sangue da parte dei reni.^{14,15}

Alcuni farmaci, come metotressato, carbamazepina, fenitoina, ossido nitroso e triacetato di 6-azauridina interferiscono con il metabolismo dell'HCY e possono indurre livelli elevati di HCY.¹⁶

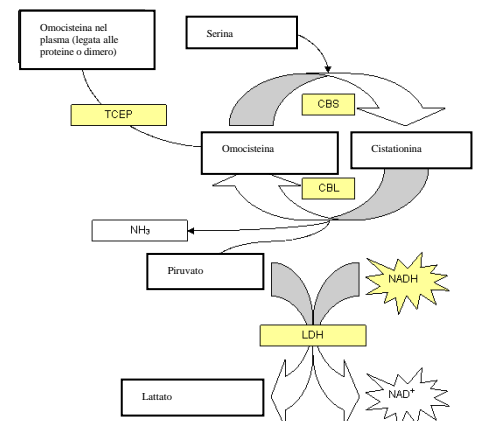
PRINCIPIO DEL DOSAGGIO

L'omocisteina legata o dimerizzata (forma ossidata) è ridotta in omocisteina libera, che reagisce poi con la serina catalizzata dalla cistationina beta-sintasi (CBS) formando cistationina. La cistationina, a sua volta, viene degradata dalla cistationina beta-liasi (CBL) formando omocisteina, piruvato e ammoniaca. Il piruvato viene poi convertito dalla lattato deidrogenasi (LDH) in lattato con nicotinammide adenina dinucleotide (NADH) come coenzima. La velocità di conversione dell'NADH in NAD⁺ è direttamente proporzionale alla concentrazione di omocisteina (DA340 nm).

Riduzione: l'omocisteina dimerizzata, il disolfuro misto e le forme di HCY legate alle proteine nel campione vengono ridotte in modo da formare HCY libera utilizzando tris-[2-carbossietil]-fosfina (TCEP).



Conversione enzimatica: l'HCY libera viene convertita in cistationina utilizzando la cistationina beta-sintasi e la serina eccedente. La cistationina viene poi degradata in omocisteina, piruvato e ammoniaca. Il piruvato viene convertito in lattato mediante lattato deidrogenasi con NADH come coenzima. La velocità di conversione dell'NADH in NAD⁺ (Δ A340 nm) è direttamente proporzionale alla concentrazione di omocisteina.



ULTERIORI INFORMAZIONI


Beckman Coulter non fabbrica il reagente e non esegue controlli di qualità o altri test sui singoli lotti, pertanto non può essere ritenuta responsabile per la qualità dei dati ottenuti, la quale è riconducibile alle prestazioni del reagente, ad eventuali variazioni fra lotti di reagenti o a cambiamenti del protocollo apportati dal produttore.

ASSISTENZA TECNICA

- Per questioni di assistenza tecnica contattare il rappresentante Beckman Coulter locale.
- Per danni dovuti al trasporto contattare il Centro di Assistenza Clinica Beckman Coulter se il prodotto è danneggiato alla consegna.
- Per quanto riguarda le istruzioni per l'uso (comprese eventuali traduzioni e i parametri per la prevenzione della contaminazione crociata), visitare il sito www.homocysteine.org.uk/BCI

INFORMAZIONI PER L'ORDINAZIONE E COMPONENTI DEL KIT

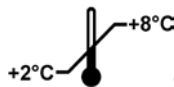
I seguenti codici possono essere utilizzati per riordinare i materiali dal rappresentante Beckman Coulter locale:

Codice prodotto	Descrizione	Composizione	Pericolo
B08176	REAG 1 - 1 x 30 mL Liquido incolore, inodore	NADH (0,47 mM), LDH (38 KU/L), Serina (0,76 mM), Trizma base 1-10%, Trizma cloridrato 1-10%, Sodio azide < 1%. Agente riducente (TCEP: 2,9 mM) Pronto per l'uso	
	REAG 2 - 1 x 5 mL Liquido giallo pallido, inodore	Enzimi ciclici CBS (0,748 KU/L) e CBL (16,4 KU/L) Sodio azide < 1%. Pronto per l'uso	
	CAL 0 µM - 1 x 3,0 mL, (tappo blu), liquido incolore, inodore	Bianco omocisteina acquosa (0 µmol/L) Pronto per l'uso	
	CAL 28 µM - 1 x 3,0 mL, (tappo rosso), liquido incolore, inodore	Soluzione di omocisteina acquosa (28 µmol/L) Pronto per l'uso	

I calibratori sono preparati in modo gravimetrico e sono tracciabili secondo NIST SRM 1955, come confermato da una procedura di misurazione designata (HPLC). I valori assegnati sono stampati sulle etichette (0 µmol/L e 28 µmol/L).

Beckman Coulter mette a disposizione anche un Homocysteine Control Kit (**codice prodotto B08177**) contenente controlli bassi, medi e alti, da utilizzare con il dosaggio Liquid Stable (LS) 2-part Homocysteine Reagent Assay.

CONSERVAZIONE E SPEDIZIONE DEI REAGENTI



1. Conservare i componenti del kit ad una temperatura di 2-8°C ed utilizzarli entro la data di scadenza indicata sulle etichette. Non utilizzare reagenti scaduti.
2. Si prega di contattare il Centro di Assistenza Tecnica Beckman Coulter se il prodotto è danneggiato alla consegna.
3. I reagenti possono essere utilizzati in più occasioni entro la data di scadenza indicata sulle etichette. I reagenti **devono** essere conservati ad una temperatura di 2-8°C fra un uso e l'altro.
4. Non mescolare i kit di reagenti di diversi numeri di lotto.
5. **NON CONGELARE I REAGENTI.**
6. Conservare i reagenti al riparo dalla luce.
7. Evitare la contaminazione dei reagenti. Utilizzare un nuovo puntale per pipetta monouso per ogni reagente o campione manipolato.
8. Conservazione a bordo dello strumento. I reagenti possono essere conservati per 30 giorni a bordo di tutte le piattaforme AU (AU400, AU480, AU680, AU5800 e Dx^C 700 AU).
9. I reagenti devono essere privi di particelle in sospensione. Se diventano torbidi, devono essere gettati.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Esclusivamente per uso diagnostico in vitro

1. Attenersi scrupolosamente alle istruzioni fornite nel presente foglietto illustrativo, soprattutto per quanto riguarda le condizioni di manipolazione e conservazione.
2. Il reagente 1 e il reagente 2 contengono sodio azide, che può reagire con le tubature in piombo o rame formando azidi metallici altamente esplosivi. Per lo smaltimento, far defluire i materiali con abbondante acqua per impedire la formazione di azidi.
3. Le schede tecniche di sicurezza relative a tutti i componenti pericolosi contenuti in questo kit possono essere richieste al produttore, Axis-Shield Diagnostics Ltd.

REAG 1	EUH032 - A contatto con acidi libera gas molto tossici.
REAG 2	

Attenzione: La legge federale limita la vendita di questo dispositivo da parte o dietro prescrizione di un medico.

RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

- Il siero (raccolto in provette per siero o con separatore di siero) e il plasma (raccolto in provette con EDTA di potassio o eparina di litio) possono essere utilizzati per effettuare le misurazioni dell'omocisteina.
Tuttavia, si raccomanda di non utilizzare in modo intercambiabile i singoli risultati di pazienti ottenuti da siero, plasma eparinato e plasma EDTA.²⁶ Sono state inoltre riportate differenze di matrice fra provette per siero, con separatore di siero e provette per plasma.¹⁸
Per ridurre al minimo eventuali aumenti della concentrazione di omocisteina a causa della sintesi operata dai globuli rossi, processare i campioni come segue:
 - Dopo la raccolta, collocare tutti i campioni (siero e plasma) su ghiaccio fino al momento della processazione. Il siero potrebbe coagulare più lentamente e il volume potrebbe risultare ridotto.¹⁶
 - Tutti i campioni possono essere conservati su ghiaccio fino a 6 ore prima della separazione mediante centrifugazione.¹⁶
 - Separare i globuli rossi dal siero o dal plasma mediante centrifugazione e trasferirli in un apposito recipiente per campioni o altro contenitore pulito.**Nota:** i campioni che non vengono collocati immediatamente su ghiaccio possono mostrare un aumento del 10-20% della concentrazione di omocisteina.¹⁷
- Se il test viene eseguito entro 2 settimane dalla raccolta dei campioni, i campioni vanno conservati a 2-8 C. Se il test viene eseguito oltre 2 settimane dopo, i campioni vanno congelati ad una temperatura pari o inferiore a -20 C. I campioni hanno dimostrato di rimanere stabili a -20 C per 8 mesi.^{16,18}
- È responsabilità dell'operatore verificare che venga/veganò utilizzata/e la/e tipologia/e di campioni corrette nel dosaggio Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay.
- Ispezionare tutti i campioni (campioni dei pazienti, calibratori e controlli) per verificare che non presentino bolle d'aria. Eliminare le bolle d'aria prima di eseguire il test.
- Non utilizzare in questo dosaggio campioni contenenti particelle in sospensione (fibrina, globuli rossi o altro materiale) e campioni visibilmente lipemici. I risultati di questi campioni potrebbero essere equivoci.
- Dopo lo scongelamento, miscelare **accuratamente** i campioni agitando a bassa velocità su vortex oppure effettuando una delicata inversione per garantire la coerenza dei risultati. Evitare ripetuti congelamenti e scongelamenti. I campioni che presentano particelle in sospensione, eritrociti o torbidità devono essere centrifugati prima di eseguire il test.

RISULTATI

I risultati sono riportati in $\mu\text{mol/L}$. I campioni $> 44 \mu\text{mol/L}$ vanno diluiti nel rapporto di 1 parte di campione per 2 parti di Cal 0 $\mu\text{mol/L}$ o 1 parte di campione per 9 parti di Cal 0 $\mu\text{mol/L}$, come appropriato. Accertarsi che i risultati vengano moltiplicati per il corretto fattore di diluizione.

VALORI ATTESI

Range di riferimento: ciascun laboratorio deve stabilire il proprio range di riferimento per confermare le caratteristiche della popolazione da testare. I seguenti dati possono essere utilizzati come punto di riferimento finché il laboratorio non ha analizzato un sufficiente numero di campioni per stabilire il proprio range di riferimento. La concentrazione di HCY nel plasma o nel siero di individui sani varia con l'età, il sesso, l'area geografica e i fattori genetici. La letteratura scientifica riporta valori di riferimento per uomini e donne adulti fra 5 e 15 $\mu\text{mol/L}$; gli uomini presentano valori superiori rispetto alle donne e le donne in post-menopausa presentano valori di omocisteina superiori rispetto alle donne in pre-menopausa.^{16,19,20} I valori di HCY aumentano di norma con l'età; il range di riferimento fra la popolazione anziana (> 60 anni) è di 5-20 $\mu\text{mol/L}$.²¹ Nei paesi con programmi di fortificazione con acido folico si possono osservare livelli ridotti di HCY.^{22,23}

Range misurabile: il range misurabile del dosaggio Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay è di 2-44 $\mu\text{mol/L}$.

LIMITAZIONI D'USO

- Per uso diagnostico in vitro. Solo per uso professionale.
- Il range lineare del dosaggio Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay, se eseguito secondo le istruzioni, è di 2-44 $\mu\text{mol/L}$ per le piattaforme AU. I campioni $> 44 \mu\text{mol/L}$ vanno diluiti nel rapporto di 1 parte di campione per 2 parti di Cal 0 $\mu\text{mol/L}$ o 1 parte di campione per 9 parti di Cal 0 $\mu\text{mol/L}$, come appropriato.
- I reagenti devono essere trasparenti. Gettarli se torbidi.
- La cistationina viene misurata con l'omocisteina, ma nella popolazione in generale il livello di cistationina (0,065 - 0,3 $\mu\text{mol/L}$) ha un effetto trascurabile. In casi molto rari, come pazienti con patologia renale in stadio terminale e con gravi disturbi metabolici, i livelli di cistationina possono aumentare in modo drastico e in casi gravi causare un'interferenza superiore al 20%.^{24,25}
- La concentrazione di omocisteina può essere influenzata da carbamazepina, metotressato, fenitoina, ossido nitroso o triacetato di 6-azauridina.¹⁶
- Nota: i campioni di pazienti trattati con farmaci a base di S-adenosil-metionina possono mostrare falsi livelli elevati di omocisteina. I pazienti che stanno assumendo metotressato, carbamazepina, fenitoina, ossido nitroso, anticonvulsivi o triacetato di 6-azauridina possono mostrare livelli elevati di omocisteina a causa dell'effetto di questi agenti sulla via dell'omocisteina.
- Non utilizzare in questo dosaggio campioni contenenti particelle in sospensione (fibrina, globuli rossi o altro materiale) e campioni visibilmente lipemici. I risultati di questi campioni potrebbero essere equivoci.
- Limitazioni: può verificarsi il trascinamento (tramite provetta reagente/miscelatori o cuvetta di reazione) di idrossilamina, presente in numerosi reagenti a base di ferro, e causare risultati falsamente bassi. In gran parte dei casi, le normali procedure di lavaggio non sono adeguate per risolvere questo problema (compreso il reagente UIBC di Beckman Coulter (P/N OSR1205, contenente idrossilamina)). Per la prevenzione del trascinamento sulle piattaforme AU consultare il protocollo per la prevenzione della contaminazione Axis Shield Contaminaton Avoidance.
Accertarsi che siano stati implementati gli adeguati parametri per la prevenzione della contaminazione. I parametri per la prevenzione della contaminazione specifici dell'analizzatore possono essere richiesti all'Assistenza Clienti di Axis-Shield.
- Il reagente Homocysteine **REAG 1** può liberare vapori di etanolo quando è a bordo del carosello reagenti degli analizzatori della serie AU BECKMAN COULTER. Astenersi dall'uso di reagenti a base di etanolo unitamente a Homocysteine per evitare il rischio di potenziale contaminazione aerotrasportata.

DATI RELATIVI ALLE PRESTAZIONI

BASATI SULLE MISURAZIONI ESEGUITE SULLE PIATTAFORME AU BECKMAN COULTER - AU400, AU480, AU680, AU5800 E DXC 700 AU

Accuratezza

È stato condotto uno studio di correlazione con campioni di plasma ottenuti da adulti apparentemente sani. Tutti i campioni sono stati analizzati utilizzando il dosaggio Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay secondo il documento CLSI (formalmente NCCLS) EP9-A2.²⁷ Tutti i risultati sono descritti utilizzando un intervallo di confidenza al 95%. I range e i dati dei campioni hanno prodotto i seguenti risultati:

Metodo di comparazione	Beckman Coulter AU400 vs. Catch Liquid Stable	Beckman Coulter AU480 vs. AU400	Beckman Coulter AU680 vs. AU400	Beckman Coulter AU5800 vs. AU400	Beckman Coulter DxC 700 AU vs AU400
Numero di campioni	94	99	98	99	94
Pendenza della linea di regressione	0,99	0,97	0,97	0,98	0,99
Intercetta Y	0,17	-0,68	-0,22	-0,75	0,67
Coefficiente di correlazione	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Range campione	6,5 - 49,0	8,5 - 45,1	8,5 - 45,1	8,5 - 45,1	5,8-45,9

Precisione

Gli studi sulle piattaforme AU (AU400, AU480, AU680, AU5800 e DxC 700 AU) sono stati eseguiti rispettando le istruzioni del documento CLSI (formalmente NCCLS) EP5-A2.²⁸ Per ogni strumento sono stati testati tre controlli HCY e tre campioni di plasma umano utilizzando due lotti di reagenti, in replicati di due, in due diversi momenti della giornata per almeno 5 giorni. I risultati sono riassunti qui di seguito:

Beckman Coulter AU400

Campione	n	Lotto reagente	Media	Intra-assay		Inter-assay		Totale	
				DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV
Controllo basso	80	1	6,28	0,17	2,6	0,11	1,7	0,28	4,4
	80	2	6,29	0,13	2,1	0,11	1,7	0,26	4,1
Controllo medio	80	1	12,33	0,18	1,5	0,15	1,2	0,37	3,0
	80	2	12,24	0,16	1,3	0,16	1,3	0,39	3,2
Controllo alto	80	1	25,53	0,38	1,5	0,35	1,4	0,65	2,5
	80	2	25,27	0,41	1,6	0,00	0,0	0,73	2,9
Campione P1	80	1	6,67	0,13	1,9	0,00	0,0	0,23	3,3
	80	2	6,97	0,15	2,2	0,00	0,0	0,31	4,4
Campione P2	80	1	35,96	0,46	1,3	0,40	1,1	0,89	2,5
	80	2	35,53	0,40	1,1	0,23	0,7	0,82	2,3
Campione P3	80	1	48,31	0,53	1,1	0,42	0,9	0,97	2,0
	80	2	47,66	0,47	1,0	0,38	0,8	1,07	2,2

Beckman Coulter AU480

Campione	n	Lotto reagente	Media	Intra-assay		Inter-assay		Totale	
				DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV
Controllo basso	20	1	6,73	0,07	1,1	0,17	2,6	0,21	3,1
	20	2	6,51	0,17	2,5	0,11	1,7	0,22	3,4
Controllo medio	20	1	12,74	0,18	1,4	0,13	1,0	0,24	1,9
	20	2	12,43	0,22	1,8	0,17	1,3	0,30	2,4
Controllo alto	20	1	26,13	0,24	0,9	0,11	0,4	0,46	1,8
	20	2	25,66	0,17	0,7	0,12	0,5	0,47	1,8
Campione P1	20	1	10,54	0,33	3,1	0,00	0,0	0,37	3,5
	20	2	11,00	0,71	6,5	0,00	0,0	0,92	8,4
Campione P2	20	1	28,71	0,24	0,9	0,18	0,6	0,58	2,0
	20	2	28,20	0,18	0,6	0,12	0,4	0,60	2,1
Campione P3	20	1	37,63	0,32	0,9	0,18	0,5	0,97	2,6
	20	2	36,98	0,21	0,6	0,12	0,5	0,91	2,5

Beckman Coulter AU680

Campione	n	Lotto reagente	Media	Intra-assay		Inter-assay		Totale	
				DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV
Controllo basso	20	1	6,96	0,16	2,4	0,00	0,0	0,16	2,4
	20	2	6,79	0,16	2,3	0,02	0,3	0,21	3,1
Controllo medio	20	1	13,03	0,12	1,0	0,15	1,2	0,20	1,5
	20	2	12,76	0,20	1,6	0,05	0,4	0,22	1,7
Controllo alto	20	1	26,38	0,23	0,9	0,28	1,0	0,41	1,6
	20	2	26,19	0,31	1,2	0,24	0,9	0,40	1,5
Campione P1	20	1	10,76	0,30	2,8	0,00	0,0	0,32	3,0
	20	2	10,65	0,32	3,0	0,00	0,0	0,39	3,6
Campione P2	20	1	28,90	0,34	1,2	0,15	0,5	0,48	1,6
	20	2	28,67	0,42	1,5	0,06	0,5	0,73	2,5
Campione P3	20	1	37,78	0,28	0,7	0,16	0,4	0,51	1,4
	20	2	37,90	0,28	0,7	0,11	0,3	0,67	1,8

Beckman Coulter AU5800

Campione	n	Lotto reagente	Media	Intra-assay		Inter-assay		Totale	
				DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV
Controllo basso	20	1	6,49	0,24	3,6	0,00	0,0	0,30	4,7
	20	2	6,70	0,13	2,2	0,07	1,1	0,16	2,7
Controllo medio	20	1	12,52	0,23	1,8	0,00	0,0	0,23	1,8
	20	2	12,57	0,17	1,4	0,19	1,5	0,26	2,1
Controllo alto	20	1	25,87	0,26	1,0	0,32	1,2	0,41	1,6
	20	2	25,69	0,30	1,2	0,16	0,6	0,34	1,3
Campione P1	20	1	10,53	0,16	1,5	0,00	0,0	0,35	3,3
	20	2	10,53	0,27	2,6	0,00	0,0	0,34	3,2
Campione P2	20	1	28,58	0,22	0,8	0,24	0,8	0,52	1,8
	20	2	28,42	0,29	1,0	0,07	0,3	0,49	1,7
Campione P3	20	1	37,67	0,35	0,9	0,27	0,7	0,79	2,1
	20	2	37,55	0,29	0,8	0,26	0,7	0,55	1,5

Beckman Coulter DxC 700 AU

Campione	n	Lotto reagente	Media	Intra-assay		Inter-assay		Totale	
				DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV
Controllo basso	80	1	5.77	0.1	1.7	0.0	0.0	0.3	5.1
	80	2	5.83	0.1	2.1	0.1	1.6	0.3	4.8
Controllo medio	80	1	11.72	0.1	1.1	0.0	0.0	0.4	3.0
	80	2	11.72	0.2	1.4	0.0	0.0	0.4	3.6
Controllo alto	80	1	23.34	0.2	0.9	0.0	0.0	0.6	2.4
	80	2	23.45	0.2	0.8	0.1	0.5	0.6	2.7
Campione P1	80	1	10.54	0.2	2.2	0.2	1.7	0.4	3.9
	80	2	10.63	0.2	2.2	0.2	2.2	0.4	4.1
Campione P2	80	1	29.16	0.5	1.5	0.2	0.6	0.7	2.5
	80	2	29.12	0.5	1.6	0.3	1.1	0.8	2.8
Campione P3	80	1	38.20	0.5	1.2	0.2	0.6	0.9	2.2
	80	2	38.16	0.6	1.5	0.0	0.0	1.0	2.6

Linearità di diluizione

La linearità di diluizione del dosaggio Liquid Stable (LS) 2-Part Homocysteine Reagent Assay sulle piattaforme AU Beckman dà un range di recupero del $100 \pm 10\%$ per tutti i campioni nel range del dosaggio. I campioni $>44 \mu\text{mol/L}$ presentano un recupero medio del $100\% \pm 11\%$ di tutti i risultati attesi in caso di diluizione nel range di dosaggio.

Limite di rilevazione

Il limite di rilevazione (LOD) di ogni sistema è stato stabilito secondo il documento CLSI (formalmente NCCLS) EP17-A²⁹. I valori LOD ($\mu\text{mol/L}$) sono espressi qui di seguito sotto forma di tabella:

Beckman Coulter AU400	Beckman Coulter AU480	Beckman Coulter AU680	Beckman Coulter AU5800	Beckman Coulter DxC 700 AU
0,33	0,39	0,54	0,59	1,04

Specificità analitica

La specificità analitica del dosaggio è stata valutata solo sulla piattaforma AU400 Beckman Coulter secondo le istruzioni del documento CLSI EP7-A²⁰ per le sostanze interferenti indicate nella seguente tabella:

Sostanza interferente	Concentrazione della sostanza interferente	% interferenza
Bilirubina	20 mg/dL	$\leq \pm 10$
Emoglobina	500 mg/dL	$\leq \pm 10$
Globuli rossi	0,4%	$\leq \pm 10$
Trigliceride	500 mg/dL	$\leq \pm 10$
Glutazione	1000 $\mu\text{mol/L}$	$\leq \pm 10$
Metionina	800 $\mu\text{mol/L}$	$\leq \pm 10$
L-cisteina	200 $\mu\text{mol/L}$	$\leq \pm 10$
Piruvato	1250 $\mu\text{mol/L}$	$\leq \pm 10$

Nessuna di queste sostanze ha interferito in modo significativo sul dosaggio.

I campioni con elevati livelli di proteine mostrano una differenza $>10\%$ rispetto ai risultati ottenuti da campioni normali, pertanto sono da evitarsi. Consultare il riferimento 16 nella sezione Bibliografia del presente foglietto illustrativo per maggiori informazioni su eventuali interferenze causate da farmaci, malattie e variabili pre-analitiche.

Trascinamento del campione

Gli studi sugli effetti di trascinamento del campione su tutte le piattaforme AU testate mostrano che il trascinamento è inferiore al limite di rilevazione del dosaggio.

Stabilità dei reagenti a bordo

I reagenti sono stabili per 30 giorni a bordo di tutte le piattaforme AU.

Stabilità della calibrazione

La curva di calibrazione è stabile fino a 30 giorni, come verificato sulla piattaforma AU400 di Beckman Coulter, e fino a 14 giorni, come verificato sulle piattaforme AU5800 e DxC 700 AU di Beckman Coulter.

Tipi di campioni

Le provette per la raccolta dei campioni convalidate per l'uso sono provette per plasma con EDTA e eparina di litio, provette per siero e con separatore di siero. Non sono stati testati altri tipi di provette per la raccolta dei campioni.

Il siero (raccolto in provette per siero o con separatore di siero) e il plasma (raccolto in provette con EDTA di potassio o eparina di litio) possono essere utilizzati per effettuare le misurazioni dell'omocisteina. È responsabilità dell'operatore verificare che venga utilizzato il corretto tipo di provetta. Tuttavia, si raccomanda di non utilizzare in modo intercambiabile i singoli risultati di pazienti ottenuti da siero, plasma eparinato e plasma EDTA.²⁶ Sono state inoltre riportate differenze di matrice fra provette per siero, con separatore di siero e provette per plasma.¹⁸

PROTOCOLLO DEL DOSAGGIO PER PIATTAFORME AU – AU400, AU480, AU680, AU5800 e DxC 700 AU

Accertarsi che i parametri del dosaggio corrispondano esattamente a quelli di seguito elencati.

AU400 – PARAMETRI PER LA PROCEDURA

Test n° [*]	Nome [HCY]	Tipo [Siero]	
Volume campione:	[16,5] µL	Volume diluente:	[0,0] µL
Fattore di prediluizione:	[1]		
Volume reagente 1:	[250] µL	Volume diluente:	[0,0] µL
Volume reagente 2:	[25] µL	Volume diluente:	[0,0] µL
Lunghezza d'onda prim.:	[340] nm		
Lunghezza d'onda sec.:	[380] nm		
Metodo di reazione:	RATE1		
Pendenza della reazione	[-]		
Punto 1	Primo [15] Ultimo [27]		
Punto 2	Primo [] Ultimo []		
Linearità	[100]%		
Nessun lag time	[No]		
DO min.		DO max.	
L [-2,0]		H [2,5]	
Limite DO reagente	Primo L [] Primo L []	Primo H [] Ultimo H []	
Range dinamico:	L [2,0]	H [44,0]	
Fattore di correlazione:	A [1,0]	B [0,0]	
Periodo di stabilità a bordo:		[30]	
Calibrazione specifica:			
	Punto	DO	Conc.
	1 [*]	[]	[0,0]
	2 [*]	[]	[**]
	Tipo di calibrazione:		[AA]
	Formula:	[Y=AX+B]	

*Definito dall'utente **Inserire i valori sui flaconcini dei calibratori

AU480 / AU680 – PARAMETRI PER LA PROCEDURA

Test n° [*]	Nome [HCY]	Tipo [Siero]	
Volume campione:	[10] µL	Volume diluente:	[0,0] µL
Fattore di prediluizione:	[1]		
Volume reagente 1:	[155] µL	Volume diluente:	[0,0] µL
Volume reagente 2:	[16] µL	Volume diluente:	[0,0] µL
Lunghezza d'onda prim.:	[340] nm		
Lunghezza d'onda sec.:	[380] nm		
Metodo di reazione:	RATE1		
Pendenza della reazione	[-]		
Punto 1	Primo [15] Ultimo [27]		
Punto 2	Primo [] Ultimo []		
Linearità	[25]%		
Nessun lag time	[Si]		
DO min.		DO max.	
L [...]		H [...]	
Limite DO reagente	Primo L [-2,0] Primo L [-2,0]	Primo H [2,5] Primo H [2,5]	
Range dinamico:	L [2,0]	H [44,0]	
Fattore di correlazione:	A [1,0]	B [0,0]	
Periodo di stabilità a bordo:		[30]	
Controllo influenza LIH		[No]	
Calibrazione specifica:			
	Punto	DO	Conc.
	1 [*]	[]	[0,0]
	2 [*]	[]	[**]
	Tipo di calibrazione:		[AA]
	Formula:	[Y=AX+B]	
Stabilità	Bianco reagente [30] giorni	Calibrazione [14] giorni	

*Definito dall'utente **Inserire i valori sui flaconcini dei calibratori

AU5800 – PARAMETRI PER LA PROCEDURA

Test n° [*]	Nome [HCY]	Tipo [Siero]	
Volume campione:	[7,5] µL	Volume diluente:	[0,0] µL
Fattore di prediluizione:	[1]		
Volume reagente 1:	[115] µL	Volume diluente:	[0,0] µL
Volume reagente 2:	[12] µL	Volume diluente:	[0,0] µL
Lunghezza d'onda prim.:	[340] nm		
Lunghezza d'onda sec.:	[380] nm		
Metodo di reazione:	RATE1		
Pendenza della reazione	[-]		
Punto 1	Primo [15]		
	Ultimo [27]		
Punto 2	Primo []		
	Ultimo []		
Linearità	[25]%		
Nessun lag time	[Si]		
DO min.		DO max.	
L []		H []	
Limite DO reagente	Primo L [-2,0]	Primo H [2,5]	
	Primo L [-2,0]	Primo H [2,5]	
Range dinamico:	L [2,0]	H [44,0]	
Fattore di correlazione:	A [1,0]	B [0,0]	
Periodo di stabilità a bordo:		[30]	
Controllo influenza LIH		[No]	
Calibrazione specifica:			
	Punto	DO	Conc.
	1 [*]	[]	[0,0]
	2 [*]	[]	[**]
	Tipo di calibrazione:		[AA]
	Formula:		[Y=AX+B]
Stabilità	Bianco reagente [30] giorni	Calibrazione [14] giorni	

*Definito dall'utente **Inserire i valori sui flaconcini dei calibratori













DxC 700 AU – PARAMETRI PER LA PROCEDURA DEL DOSAGGIO

Nome del test:	Nome [HCY1G]	ID reagente [225]	
Volume campione:	[10] µL	Diluente	[0,0] µL
Fattore di pre-diluizione:	[1]		
Volume reagente 1 (R1):	[155] µL	Diluente	[0,0] µL
Volume reagente 2 (R2):	[16] µL	Diluente	[0,0] µL
Lunghezza d'onda prim.:	[340] nm		
Lunghezza d'onda sec.:	[380] nm		
Metodo di reazione:	RATE1		
Pendenza della reazione	[-]		
Punto di misurazione - 1	Primo [15]	Ultimo [27]	
Punto di misurazione - 2	Primo []	Ultimo []	
Linearità	[25]%		
Controllo lag time	[Si]		
DO min.	[-2,0]	DO max.	[3,0]
Limite DO reagente	Primo C [-2,0]	C [2,5]	
	Ultimo L [-2,0]	C [2,5]	
Range di misurazione analitica	C* [2,0]	C* [44,0]	
Fattore di correlazione:	A [1]	B [0]	
Periodo di stabilità a bordo:		[30]	
Controllo influenza LIH (lipemia, ittero, emolisi):		[No]	
Valore/Flag	[Valore]		
Basso	[-9999999]	Alto	[9999999]
Limiti critici	Basso [-9999999]	Alto [9999999]	Unità [µmol/L]
Posizioni decimali	[1]		
Nome del test:	[HCY1G]	[HCY1G]	[Siero]
Tipo di calibrazione	[AA]	Formula	[Y=AX+B]
Conteggi	[2]		
Punto - 1	[Cal0]	Conc. [0]	Basso [9999999] Alto [9999999]
Punto - 1	[Cal28]	Conc. [28]	Basso [9999999] Alto [9999999]
Controllo pendenza	[Nessuno]	Funzione di calibrazione avanzata	[No]
Stabilità del bianco reagente	[30] giorno/i	[0] ora/e	

* Valori impostati per lavorare in µmol

BIBLIOGRAFIA

1. McCully KS. Vascular Pathology of Homocysteinemia: Implications for the Pathogenesis of Arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969;56:111-122
2. Malinow MR. Plasma Homocyst(e)ine and Arterial Occlusive Diseases: A Mini-Review. *Clin Chem* 1995;41:173-176
3. Ueland PM. Homocysteine Species as Components of Plasma Redox Thiol Status. *Clin Chem* 1995;41:340-342
4. Perry IJ, Refsum H, Morris RW, *et al.* Prospective Study of Serum Total Homocysteine Concentration and Risk of Stroke in Middle-aged British Men. *The Lancet* 1995;346:1395-1398
5. Finkelstein JD. Methionine Metabolism in Mammals. *J Nutr Biochem* 1990;1:228-237
6. Mudd SH, Levy HL, Skovby F. Disorders of Transsulfuration. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, *et al.*, eds *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. New York: McGraw-Hill, 1995;1279-1327
7. Clarke R, Daly L, Robinson K, *et al.* Hyperhomocysteinemia: An Independent Risk Factor for Vascular Disease. *N Engl J Med* 1991;324:1149-1155
8. Deloughery TG, Evans A, Sadeghi A, *et al.* Common Mutation in Methylenetetrahydrofolate Reductase. *Circulation* 1996;94:3074-3078
9. Schmitz C, Lindpaintner K, Verhoef P, *et al.* Genetic Polymorphism of Methylenetetrahydrofolate Reductase and Myocardial Infarction. *Circulation* 1996;94:1812-1814
10. Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, *et al.* A Quantitative Assessment of Plasma Homocysteine as a Risk Factor for Vascular Disease. *JAMA* 1995;274:1049-1057
11. Cattaneo M. Hyperhomocysteinemia, Arteriosclerosis and Thrombosis. *Thromb Haemost* 1999;81:165-176
12. Ridker PM, Manson JE, Buring JE, *et al.* Homocysteine and Risk of Cardiovascular Disease Among Postmenopausal Women. *JAMA* 1999;281:1817-1821
13. Bostom AG, Silbershatz H, Rosenberg IH, *et al.* Nonfasting Plasma Total Homocysteine Levels and All-Cause and Cardiovascular Disease Mortality in Elderly Framingham Men and Women. *Arch Intern Med* 1999;159:1077-1080
14. Guttormsen AB, Svarstad E, Ueland PM, *et al.* Elimination of Homocysteine from Plasma in Subjects with Endstage Renal Failure. *Irish J Med Sci* 1995;164 (Suppl. 15):8-9
15. Bostom AG, Lathrop L. Hyperhomocysteinemia in End-stage Renal Disease: Prevalence, Etiology, and Potential Relationship to Arteriosclerotic Outcomes. *Kidney Int* 1997;52:10-20
16. Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, *et al.* Total Homocysteine in Plasma or Serum: Methods and Clinical Applications. *Clin Chem* 1993;39:1764-1779
17. Ueland PM, Refsum H. Plasma Homocysteine, A Risk Factor for Vascular Disease: Plasma Levels in Health, Disease, and Drug Therapy. *J Lab Clin Med* 1989;114:473-501
18. Fiskerstrand T, Refsum H, Kvalheim G, *et al.* Homocysteine and Other Thiols in Plasma and Urine: Automated Determination and Sample Stability. *Clin Chem* 1993;39:263-271
19. Nehler MR, Taylor LM Jr, Porter JM. Homocysteinemia as a Risk Factor for Atherosclerosis: A Review. *Cardiovascular Pathol* 1997;6:1-9
20. Lussier-Cacan S, Xhignesse M, Piolot A, *et al.* Plasma Total Homocysteine in Healthy Subjects: Sex-Specific Relation with Biological Traits. *Am J Clin Nutr* 1996;64:587-593
21. Clarke R, Woodhouse P, Ulvik A, *et al.* Variability and Determinants of Total Homocysteine Concentrations in Plasma in an Elderly Population. *Clin Chem* 1998;44:102-107
22. Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, *et al.* The Effect of Folic Acid Fortification on Plasma Folate and Total Homocysteine Concentrations. *N Engl J Med* 1999;340:1449-1454
23. Lawrence JM, Pettiti DB, Watkins M and Umekubo MA. Trends in Serum Folate after Food Fortification. *The Lancet* 1999;354:915-916
24. Herrmann W, Schorr H, Obeid R, *et al.* Disturbed Homocysteine and Methionine Cycle Intermediates S-adenosylhomocysteine and S-adenosylmethionine are Related to Degree of Renal Insufficiency in Type 2 Diabetes. *Clin Chem* 2005;51:1-7
25. Obeid R, Kuhlmann MK, Kohler H, *et al.* Response of Homocysteine, Cystathionine, and Methylmalonic Acid to Vitamin Treatment in Dialysis Patients. *Clin Chem* 2005;51:196-201
26. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, *et al.* Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem* 2004;50(1):3-32
27. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Method Comparison and Bias Estimation using Patient Samples; Approved Guideline-Second Edition*. NCCLS document EP9-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2002
28. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline—Second Edition*. NCCLS Document EP5-A2, Wayne, PA: NCCLS, 2004
29. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Protocols for the Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline*. NCCLS Document EP17-A. Wayne, PA: NCCLS, 2004.
30. Clinical Laboratory Standards Institute. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Second Edition*. CLSI Document EP7-A2. Wayne, PA: CLSI, 2005.

	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>		Conservare a 2-8°C
	Codice prodotto		Produttore
	Numero di lotto		Conservare al buio
	100 test		Reagente 1, 2
	Consultare le istruzioni per l'uso		Calibratore 0 µmol/L, calibratore 28 µmol/L
	Da utilizzare entro		Axis-Shield Diagnostics Ltd., The Technology Park, Dundee, DD2 1XA, UK Tel: +44 (0) 1382 422000 Fax: +44 (0) 1382 422088
Rx Only	Usso solo dietro prescrizione medica		

Beckman Coulter e AU sono marchi di fabbrica di Beckman Coulter, Inc. e sono registrati in USPTO. Tutti gli altri marchi sono di proprietà dei rispettivi proprietari.

Ver.: 2017/07
RPBL1068/R5