

OMOCISTEINA SL

Metodo enzimatico bireagente

REF. 5550 15 + 4.25 ml + Cal 2x1ml
REF. 5551 2x15 + 2x4.25 ml + Cal 2x1ml



AZIENDA CERTIFICATA DNV
UNI EN ISO 9001:2008
UN EN ISO 13485:2012



USO PREVISTO

Per la determinazione quantitativa della concentrazione di omocisteina nel siero o plasma.

PRINCIPIO

L'omocisteina totale ossidata è ridotta ad omocisteina libera (Hcy). L' Hcy libera reagisce con un cosubstrato, S-adenosilmetionina (SAM) catalizzata dalla Hcy S-metiltransferasi per formare metionina e S-adenosilomocisteina (SAH). SAH è idrolizzata in adenosina e Hcy dalla SAH-idrolasi. L'Hcy formata viene ciclata nella reazione di conversione dell'Hcy dalla Hcy-S-metiltransferasi. La reazione ciclica porta ad una amplificazione significativa dei segnali di rilevazione. L' adenosina formata viene immediatamente idrolizzata in inosina e ammoniaca che viene processata da glutammato deidrogenasi con la concomitante conversione di NADH in NAD+. La diminuzione di NADH è misurata a 340 nm ed è proporzionale alla concentrazione di omocisteina nel campione.

CAMPIONE

Per la misurazione dell'omocisteina si può utilizzare siero o plasma EDTA, plasma eparina, plasma citrato. Si raccomanda il plasma citrato.

Dopo il campionamento, separare il siero o il plasma immediatamente dalle cellule del sangue o collocare il sangue sul ghiaccio, perché la concentrazione Hcy aumenterà del 10% ogni ora a temperatura ambiente. Dopo la separazione dalle cellule, il campione è stabile per 4 giorni a temperatura ambiente, stabile per 2 settimane a 2 - 8°C, e diversi mesi a - 20°C. Non utilizzare siero o plasma contenente fluoruro di sodio. I campioni con emolisi, torbidità o lipemia grave non sono raccomandati per il test. Evitare dieta ricca di proteine prima della raccolta del sangue poiché potrebbe portare a un aumento del livello di Hcy.

COMPONENTI FORNITI

Reagente (A) HCY Volume = 15 ml	SAM	0.1 mmol/l
	NADH	0.2 mmol/l
	TCEP	0.5 mmol/l
	Acido α -chetoglutarico	5.0 mmol/l
Reagente (B) HCY Volume = 4.25 ml	GDH	10 KU/L
	SAHH	3.0 KU/L
	ADA	5.0 KU/L
	MHT	5.0 KU/L
Calibratore Livello I Volume = 1 ml	Concentrazione in etichetta	
Calibratore Livello II Volume = 1 ml	Concentrazione in etichetta	

I Reagenti chiusi sono stabili fino alla data di scadenza se conservati a 2-8°C. In estate il prodotto deve essere refrigerato durante il trasporto. Non congelare. Una volta aperti, i reagenti sono stabili 30 giorni a 2-8°C.

PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda	340 nm
Cammino ottico	1 cm
Temperatura	37 °C
Letture	contro bianco reattivo
Reazione	Fixed time , decremento
Calibrazione	Multipunti

	Bianco	Campione	Calibratore
Reagente (A)	245 μ l	245 μ l	245 μ l
Acqua	14 μ l		
Campione		14 μ l	
Calibratori (1-2)			14 μ l
Agitare e incubare per 5 minuti			
Reagente (B)	70 μ l	70 μ l	70 μ l

Agitare e trasferire in cuvetta e, dopo incubazione di 2 minuti a 37 ° (T.0'), leggere l'estinzione dei calibratori e dei campioni al tempo 0" e dopo 180". Calcolare il ΔE /min a 340 nm.

CALIBRAZIONE

Utilizzare i due calibratori forniti per stabilire la curva di calibrazione. I valori assegnati ai calibratori sono riportati sull'etichetta di ciascun flacone e sono lotto dipendenti. Ripetere la calibrazione a cambio lotto del kit e comunque dopo un mese. Ripetere la calibrazione dopo 7 giorni se i reagenti sono conservati a bordo dell'analizzatore. Ripetere la calibrazione quando il risultato del controllo è fuori dal range stabilito.

INTERVALLI DI RIFERIMENTO

Studi condotti con standardizzazione NIST indicano **15 μ mol/l** come valore di cut-off per il livello normale di HCY negli adulti.

Adulti:	< 15 μ mol/l
Anziani:	15 - 20 μ mol/l
Centenari:	25 - 27 μ mol/l

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire gli intervalli di riferimento in relazione alla propria popolazione.

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Il reagente può contenere componenti non reattivi e conservanti di varia natura. A scopo cautelativo è opportuno evitare il contatto con la pelle e l'ingestione. Utilizzare le normali precauzioni previste in laboratorio. Smettere i rifiuti secondo le norme locali vigenti.

CONTROLLO DI QUALITA'

E' necessario eseguire i controlli ad ogni utilizzo del kit e verificare che i valori ottenuti siano inclusi nell'intervallo di riferimento riportato nelle istruzioni d'uso.

A tale scopo si consiglia l'utilizzo dei sieri di controllo REF.5541

PRESTAZIONI DEL METODO

Linearità: 3.0 - 50 μ mol/l.

Accuratezza: Deviazione relativa: \leq 15.0%

Precisione: Nella serie: CV \leq 10.0%; Tra le serie CV < 10.0%

Absorbance del bianco: $A_{340\text{nm}}$ (10 mm) \geq 0.8000

Interferenze: Nessuna interferenza è stata osservata da bilirubina non coniugata fino a 37.5 mg/dl, bilirubina coniugata fino a 30 mg/dl, emoglobina fino a 3.75 g/dl, acido ascorbico fino a 30 mg / dl.

BIBLIOGRAFIA

1. Refsum H, Smith Ad, Ueland PM, Nexø E et al. Facts and recommendations about Total Homocysteine Determinations: an Expert Opinion. Clin Chem 2004 ; 50:3-32.
2. Herrmann W, Quast S, Ullrich M, Schultze H, Geisel J. The importance of hyperhomocysteinemia in high age people. Clin Lab 1997 ; 43:1005-9.

Giessere Diagnostics srl

Via Enrico Fermi, 3 - Z.I. V. Tiburtina Km 18.300 - 00012 Guidonia Montecelio (RM)

Tel. +39 0774 051100 - Fax +39 0774 051111

e-mail: info@giessediagnostics.com - web site: www.giessediagnostics.com

Ed. 2018/01 rev. 00

HOMOCYSTEINE SL

Bireagent enzymatic method

REF. 5550 15 + 4.25 ml + Cal 2x1 ml
REF. 5551 2x15 + 2x4.25 ml + Cal 2x1 ml



DNV CERTIFIED COMPANY
UNI EN ISO 9001:2008
UN EN ISO 13485:2012



INTENDED USE

For the quantitative determination of homocysteine concentration in serum or plasma.

PRINCIPLE

Oxidized total homocysteine is reduced to free homocysteine (Hcy). The free Hcy reacts with a cosubstrate, S-adenosylmethionine (SAM) catalyzed by a Hcy S-methyltransferase to form methionine and S-adenosyl homocysteine (SAH). SAH is hydrolysed into adenosine and Hcy by SAH-hydrolase. The formed Hcy is cycled into the Hcy conversion reaction by Hcy-S-methyltransferase. The cycling reaction leads to significant amplification of detection signals. The formed adenosine is immediately hydrolysed into inosine and ammonia which is processed by glutamate dehydrogenase with concomitant conversion of NADH to NAD⁺. The decrease of NADH is measured at 340 nm and is proportional to the homocysteine concentration in the sample.

SAMPLE

Serum or EDTA plasma, heparin plasma, citrate plasma. Citrate plasma is recommended.

After sampling, separate the serum or plasma immediately from blood cells or place the blood on ice, because the Hcy concentration will increase 10% per hour at room temperature. After the separation from cells, the sample is stable for 4 days at room temperature, stable for 2 weeks at 2 - 8°C, and stable for several months at - 20°C. Do not use serum or plasma contains sodium fluoride. Specimens with hemolysis, turbidness or severe lipemia are not recommended for test. Avoid high protein diet before blood collection or it may lead to a rise of Hcy level.

KIT COMPONENTS

Reagent (A) HCY Volume = 15 ml	SAM NADH TCEP α-Ketoglutaric Acid	0.1 mmol/l 0.2 mmol/l 0.5 mmol/l 5.0 mmol/l
Reagent (B) HCY Volume = 4.25 ml	GDH SAHH ADA MHT	10 KU/L 3.0 KU/L 5.0 KU/L 5.0 KU/L
Calibrator Level I Volume = 1 ml	Concentration on the label	
Calibrator Level II Volume = 1 ml	Concentration on the label	

Unopened Reagent are stable until the expiration date when stored at 2-8°C. In the summer, this product should be kept refrigerated during transportation. Do not freeze. Opened reagents are stable 30 days at 2-8°C.

PROCEDURE

Wavelength: 340 nm
Optical path: 1 cm
Temperature: 37 °C
Reading: against blank reagent
Reaction: Fixed time, decrease
Calibration: Multipoint

	Blank	Sample	Calibrator
Reagent (A)	245 µl	245 µl	245 µl
Water	14 µl		
Sample		14 µl	
Calibrators (1-2)			14 µl
Mix and incubate for 5 minutes			
Reagent (B)	70 µl	70 µl	70 µl

Shake and put in cuvette and, after the incubation time of 2 minutes at 37 ° (T₀), read the calibrators and sample extinction at 0" and after 180". Calculate the ΔE/min at 340 nm.

CALIBRATION

Use the two calibrators for establish the calibration curve. Assigned values are printed on the vials' label and are lot dependent. Repeat the calibration after 1 month when using the same reagent lot. Repeat the calibration after 7 days when used the same reagent kit on the analyzer Repeat the calibration as required: e.g. quality control findings outside the specified limits.

EXPECTED VALUES

NIST standardized study shows **15 µmol/l** as the cut-off value for normal level of HCY for adults.

Adults: < 15 µmol/l
The elderly: 15 - 20 µmol/l
Centenarian: 25 - 27 µmol/l

Each laboratory should establish appropriate reference intervals related to its population.

PRECAUTIONS AND WARNINGS

Reagent may contain some non-reactive and preservative components. It is suggested to handle carefully it, avoiding contact with skin and swallow. Use the normal precautions required in the laboratory.

Dispose of waste according to local laws.

QUALITY CONTROL

It is recommended to execute the quality control at every kit utilization to verify that values are within the reference range indicated by the methodology. For this purpose the use of test serum REF.5541 is advised.

PERFORMANCE

Linearity: 3.0 - 50 µmol/l.

Accuracy: Relative Deviation: ≤ 15.0%

Precision: Intra-assay: CV ≤ 10.0%; Inter-assay: CV < 10.0%

Assorbance of Blank: A_{340 nm} (10 mm) ≥ 0.8000

Interferences: No interference was observed by unconjugated bilirubin up to 37.5 mg/dl, conjugated bilirubin up to 30 mg/dl, hemoglobin up to 3.75 g/dl, ascorbic acid up to 30 mg / dl.

REFERENCES

1. Refsum H, Smith Ad, Ueland PM, Nexø E et al. Facts and recommendations about Total Homocysteine Determinations: an Expert Opinion. Clin Chem 2004 ; 50:3-32.
2. Herrmann W, Quast S, Ullrich M, Schultze H, Geisel J. The importance of hyperhomocysteinemia in high age people. Clin Lab 1997 ; 43:1005-9.

Giessa Diagnostics srl

Via Enrico Fermi, 3 - Z.I. V. Tiburtina Km 18.300 - 00012 Guidonia Montecelio (RM)

Tel. +39 0774 051100 - Fax +39 0774 051111

e-mail: info@giessediagnostics.com - web site: www.giessediagnostics.com

Ed. 2018/01 rev. 00