

INFINITI[®] Pannello Fattore II-V & MTHFR
Metodica

Per Uso Diagnostico *In Vitro*



Solo per l'esportazione

Prodotto da AutoGenomics, Inc., 2980 Scott Street, Vista, CA USA 92081

Rappresentante EU Autorizzato: BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55 CH-4124, Schönenbuch, Svizzera

USO

INFINITI Pannello Fattore II-V & MTHFR è un dispositivo diagnostico *in vitro* composto da reagenti e strumentazione per la rilevazione e la genotipizzazione delle mutazioni dei geni codificanti il Fattore II (Protrombina) G20210A, il Fattore V Leiden G1691A e MTHFR (A1298C e C677T). INFINITI Pannello Fattore II-V & MTHFR è un test qualitativo da utilizzarsi nei laboratori clinici.

INFINITI Pannello Fattore II-V & MTHFR per la rilevazione e la genotipizzazione del Fattore II, del Fattore V e MTHFR è da utilizzarsi quale ausilio nella valutazione dei pazienti con sospetta trombofilia.

INFORMAZIONI GENERALI

I fattori di rischio genetico sono coinvolti nella predisposizione degli individui alla trombosi venosa^(1, 2). La mutazione più comune associata alla trombosi ereditaria è il fattore V Leiden G1691A che comporta una resistenza alla proteina C attivata. Questa mutazione ha una prevalenza relativamente elevata nella popolazione generale (circa il 5% nei Caucasic) ed è responsabile dall'85% al 95% dei casi di resistenza alla proteina C attivata.⁽²⁾ Il Fattore V Leiden G1691A provoca un aumento del rischio di trombosi venosa, con odd ratio (Ors) da 3 a 8 negli eterozigoti e da 30 a 140 negli omozigoti⁽³⁾.

La seconda mutazione più comune associata alla trombosi ereditaria è la mutazione G20210A nel gene della protrombina (Fattore II). Questa è associata a un aumento dei livelli plasmatici di protrombina ed è presente dall'1% al 2% della popolazione generale⁽²⁾. I portatori eterozigoti della mutazione G20210A della protrombina presentano un rischio stimato da 3 a 8 volte maggiore di incorrere nella trombosi venosa. I portatori omozigoti sono molto rari e le informazioni disponibili sull'aumento del rischio di trombosi associato alla mutazione negli omozigoti sono molto limitate.

L'eterozigosi sia per il Fattore V Leiden G1691A che per il Fattore II (Protrombina) G20210A provoca l'insorgenza precoce della trombosi e comporta una maggiore gravità se paragonata alla presenza di una sola delle mutazioni negli eterozigoti.

Livelli plasmatici elevati di omocisteina sono un altro fattore di rischio per la trombosi venosa e sono associati l'omozigosi per una variante genetica nel gene della metilen tetra-idrofolato reductasi (MTHFR). La variante MTHFR C677T si traduce in un enzima termolabile ed in una diminuita produzione di folato, un cofattore richiesto per la rimetilazione dell'omocisteina. Se nel gene MTHFR oltre alla mutazione C677T è presente la mutazione A1298C, si hanno livelli aumentati di omocisteina e diminuiti di folati

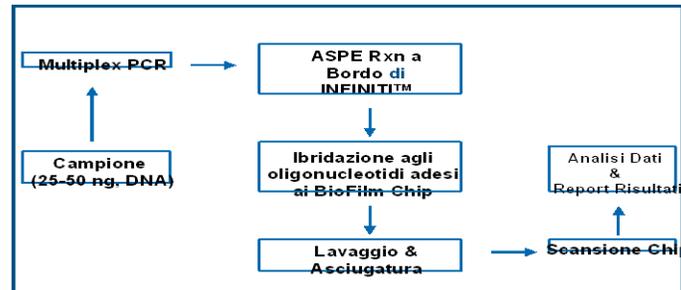
PRINCIPIO DEL TEST

INFINITI Pannello Fattore II-V & MTHFR è stato progettato per rilevare simultaneamente le mutazioni del Fattore II (G20210A), del Fattore V (G1691A) e di MTHFR (A1298C e C677T). Il protocollo del test è basato su cinque processi principali:

- (a) Estrazione del DNA da campioni di sangue umano
- (b) Amplificazione mediante Polymerase Chain Reaction del DNA purificato
- (c) Estensione del primer analita specifico con incorporazione del marcato (ASPE)
- (d) Ibridazione dei primer su un microarray e successivo lavaggio
- (e) Scansione del microarray
- (f) Rilevazione del segnale e analisi (determinazione del genotipo Fattore II-V & MTHFR)

I punti da (c) a (f) sono automatizzati mediante l'analizzatore INFINITI.

Di seguito la procedura schematizzata del test.



DESCRIZIONE DEL DISPOSITIVO

INFINITI Pannello Fattore II-V & MTHFR è un dispositivo diagnostico *in vitro* che utilizza una tecnologia brevettata da AutoGenomics basata su film-microarray, combinata con l'automazione del processo, e la gestione dei reagenti sotto la guida del software per la rilevazione e la genotipizzazione della mutazione del Fattore II (Protrombina) G20210A, del Fattore V Leiden (G1691A) e MTHFR (A1298C e C677T) dal DNA ottenuto da campioni di sangue periferico umano intero.

INFINITI Pannello Fattore II-V & MTHFR comprende Amplification Mix, BioFilmChip[®] Microarray, Modulo Reagenti Intellipac[®] e ed è automatizzato con l'Analizzatore INFINITI - Software Operativo Qmatic[®].

Il **BioFilmChip Microarray** è formato da una pellicola di poliestere coattata con componenti multi-strato brevettati per ottimizzare l'analisi del DNA. Gli strati sono stati progettati per fornire una superficie versatile che aumenti le prestazioni del test. I microarray sono test specifici.

(INFINITI Pannello Fattore II-V & MTHFR utilizza un microarray chip (L-chip) che contiene Sonde a Cattura non utilizzate che potrebbero essere potenzialmente impiegate per aggiungere altri test specifici. Quindi test multipli possono essere sviluppati utilizzando lo stesso microarray).

Il **Modulo Reagenti Intellipac** contiene quattro scomparti che alloggiavano i reagenti del test. Il Modulo Reagenti Intellipac ha un chip di memoria integrato; le informazioni sui reagenti quali numero di lotto, data di scadenza, volumi sono archiviate nel chip di memoria e evidenziate quando si compila la lista di lavoro.

L'**Analizzatore INFINITI** è uno strumento in multiplex che misura i segnali in fluorescenza di target marcati di DNA ibridati a BioFilmChip microarray. L'Analizzatore INFINITI automatizza il test INFINITI Pannello Fattore II-V & MTHFR integrando tutti i singoli processi di gestione dei campioni (PCR amplicon), dei reagenti, l'ibridazione, la rilevazione e l'analisi dei risultati. I test sono processati automaticamente e gli spot vengono letti dal microscopio confocale interno. I risultati sono analizzati e presentati in formato numerico e grafico.

L'Analizzatore INFINITI ha due componenti principali: il modulo di dispensazione e quello ottico. Per la sua operatività vengono utilizzati una serie di componenti elettroniche: motori a passi multipli, dispositivi di riscaldamento e raffreddamento, lettore di codici a barre, tubo fotomoltiplicatore e macchina fotografica, tutti collegati a porte USB.

- Modulo di Dispensazione - Il modulo di dispensazione esegue tutte le operazioni correlate alla dispensazione e all'aspirazione del reagente nonché alla fase di dispensazione sul microarray del campione amplificato. Quando il campione è stato processato e ibridato sul microarray, questo viene trasferito al modulo ottico per la misurazione del segnale fluorescente.
- Modulo Ottico – Il modulo ottico è una camera oscura comprensiva di macchina fotografica, laser e tubo fotomoltiplicatore (PMT) che si muovono su 3 assi. E' il modulo nel quale il microarray viene trasportato automaticamente dopo essere stato processato nella stazione di stringenza. Il modulo ottico segue i movimenti X-Y-Z a passi precisi (2.0 micron per passo). Usando un diodo laser con lunghezze d'onda di emissione di 760 nm, la macchina fotografica scatta una foto 1.2x1.2 mm per ciascuno spot di registrazione che emette fluorescenza. Le analisi di queste foto permettono di determinare la localizzazione dei tre spot di registrazione. Rispetto alla posizione dei tre spot di registrazione il software calcola le coordinate di tutti gli altri bio-spot. Durante la scansione, il modulo si muove lungo l'asse Z per focalizzare il chip e lungo gli assi X e Y per localizzare gli spot singoli sul microarray.

Le istruzioni sull'utilizzo dell'Analizzatore INFINITI sono fornite nel Manuale dell'Operatore dell'Analizzatore INFINITI.

L'hardware dell'Analizzatore INFINITI è controllato dal **software operativo Qmatic**, software real-time multitasking installato nel computer interno allo strumento (monitor LCD). Il software operativo Qmatic controlla la procedura del test, la robotica, la rilevazione ottica e l'analisi dei risultati. I risultati sono disponibili a video per la verifica. I referti riportano i risultati sia in formato numerico che grafico. L'operatore può anche stampare i risultati visualizzati in formato tabella (la stampante non è inclusa nell'Analizzatore INFINITI).

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Requisiti

- **Ad uso diagnostico *in vitro*. Da utilizzarsi solo a cura di personale di laboratorio qualificato.**
- Questo test deve essere utilizzato solo su sangue intero prelevato in provetta EDTA. Non congelare/scongela i campioni di sangue. I campioni devono essere testati nel più breve tempo possibile.
- Non usare Eparina con questa procedura: l'Eparina può interferire con la PCR.
- Per ridurre al minimo il rischio di contaminazioni crociate, la preparazione del campione, il set up della reazione di PCR e l'analisi del prodotto della PCR dovrebbero essere effettuate seguendo linee guida approvate come le CLSI (Molecular Diagnostic Methods for Genetic Diseases: Approved Guideline).
- Tutti i campioni dei pazienti sono da considerarsi potenzialmente pericolosi. Prestare attenzione nel trattamento di materiali di origine umana. Nessun metodo può garantire l'assenza di HCV, HIV o di altri agenti infettivi.

Seguire le Linee Guida CLSI (Molecular Diagnostics Methods for Infectious Diseases; Approved Guidelines; MM3-A).

- Non costituire pool o miscele di reagenti di lotti diversi.
- Non usare kit o reagenti oltre la data di scadenza.
- Conservare kit e reagenti secondo quanto riportato sull'etichetta del prodotto.

Procedure di Laboratorio

- Seguire le normali procedure per il trattamento dei reagenti di laboratorio. Non mescolare i reagenti di contenitori diversi o di lotti diversi.

- Seguire le norme di sicurezza del laboratorio: non pipettare con la bocca; indossare indumenti protettivi (ad es., guanti monouso, camici da laboratorio) e protezioni oculari; non mangiare, bere o fumare nelle aree di lavoro del laboratorio; lavare le mani accuratamente dopo aver manipolato campioni e reagenti.

Manipolazione dei Rifiuti

- Smaltire reagenti non usati, campioni e rifiuti secondo quanto previsto dalla vigente normativa nazionale.
- Le Schede di Sicurezza (Material Safety Data Sheets) sono disponibili presso il Customer Service Medical Systems S.p.A.

Preparazione dei Campioni

- Fare riferimento alle istruzioni di sicurezza riportate nella metodica fornita con il kit per l'estrazione del DNA.
- Il prodotto ottenuto dalla PCR non può essere conservato prima di essere caricato nell'Analizzatore INFINITI. Usare immediatamente.

Analizzatore INFINITI

- **Leggere il Manuale dell'Operatore dell'Analizzatore INFINITI prima di utilizzare lo strumento.** Fare particolare attenzione alle "Note".
- Seguire le indicazioni relative a Avvertenze e Precauzioni di Sicurezza contenute nel Manuale dell'Operatore.
- Fare riferimento alla Sezione Requisiti di Installazione per l'installazione dello strumento.
- Fare riferimento alla Sezione Errori quando si riscontrano errori durante l'operatività dello strumento.
- Fare riferimento alla Sezione Help quando si riscontrano problemi.

CONSERVAZIONE/STABILITA'

BioFilmChip Microarray: valido fino a data di scadenza riportata sull'etichetta - 12 mesi dalla data di produzione, refrigerato (da 2°C a 8°C)

Reagente Intellipac: valido fino a data di scadenza riportata sull'etichetta - 12 mesi dalla data di produzione, refrigerato (da 2°C a 8°C)

Nota: Non usare il Reagente Intellipac oltre quattro settimane dall'apertura.

Mix di Amplificazione: valido fino a data di scadenza riportata sull'etichetta - 18 mesi dalla data di produzione, congelato (da -30°C a -15°C)

Nota: la data di scadenza per ogni singola confezione è stampata sull'etichetta.

RACCOLTA CAMPIONE E STABILITA'

- Sangue periferico prelevato in provetta EDTA (tappo porpora).
- Non congelare/scongela i campioni di sangue. I campioni devono essere processati nel più breve tempo possibile.

MATERIALI FORNITI (SUFFICIENTI PER 48 TEST)

- AutoGenomics Codice n° 01-1010-02 FII-V & MTHFR Magazine – BioFilmChip® Microarray 12 BioFilmChip per magazine (4 magazine per kit)
- AutoGenomics Codice n° 01-2010-02 FII-V & MTHFR Intellipac® Modulo reagenti: 24 tests per modulo (2 moduli per kit) contenente
 - 1.4 ml ASPE master mix composto da:
 - d[AGT]TP Mix
 - Cy5 -dCTP
 - ASPE Primer Mix
 - Tampone di Estensione

- 2.6 ml Tampone di Ibridazione
SSC
Sodio azide
Controllo Positivo di Ibridazione (Pos C-PTAG10, Cy5)
- AutoGenomics Codice n° 01-3010-02 FII-V & MTHFR Amp Mix: 4 x 250µl vial di PCR Master Mix contenente:
 - d[AGT]TP Mix
 - dCTP
 - PCR Primer Mix
 - MgCl₂
 - Tampone PCR
 - AutoGenomics Codice n° 12-001: Tampone di lavaggio

REAGENTI NECESSARI MA NON FORNITI

- DNA Extraction Kits – INFINITI Pannello FII-V & MTHFR serve a rilevare le mutazioni del Fattore II (Protrombina) G20210A, del Fattore V Leiden G1691A e MTHFR (A1298C e C677T) usando DNA genomico isolato dal sangue con sufficiente purezza, ad es. con indice di assorbanza da 260 nm a 280 nm di 1.7 - 2.0. Qualsiasi metodo di estrazione di DNA che rispetti queste specifiche può essere usato. INFINITI Pannello FII-V & MTHFR è stato testato con altri numerosi kit in commercio: l'operatore che desiderasse ulteriori informazioni può contattare la Medical Systems S.p.A.
- Acqua Distillata (DNase e RNase free)
- Titanium Taq DNA Polimerasi (vedere Autogenomics catalog dei prodotti per formazioni sui rifornitori).

ATTREZZATURA

Attrezzatura necessaria non fornita con i reagenti:

- AutoGenomics Codice n° 10-0010-99: Analizzatore INFINITI con software operativo Qmatic.
- AutoGenomics Codice n° 11-0080-00: Puntali INFINITI
- AutoGenomics Codice n° 11-0030-00: INFINITI micropiastre da 24 pozzetti/coperchi
- Pipette
- Mini Centrifuga
- Puntali per pipette
- Racks per provette da Microfuge
- Thermocycler
- Vortex
- Provette a parete sottile per PCR da 0.2 ml
- Provette per microcentrifuga da 0,5 ml

PROCEDURA DEL TEST

Estrazione del DNA

Seguire le istruzioni forniti nel kit usato per l'estrazione del DNA.

Reazione PCR

Nota: Il prodotto della PCR non può essere conservato: caricarlo immediatamente nell'analizzatore INFINITI.

1. Scongellare e portare a temperatura ambiente la provetta della Amp Mix e mantenere in ghiaccio la Taq DNA polimerasi.

- Vortexare la provetta Amp Mix ottenuto 2 - 5 sec per mescolare i reagenti e centrifugare brevemente per portare il contenuto sul fondo della provetta. Includere un controllo negativo in ciascun set up della reazione di PCR.

Preparare la Master Mix secondo il protocollo seguente

10X PCR Buffer (Ampl. Mix)	17.75 µl
Taq DNA Polimerasi	0.25 µl
Template DNA (25 ng/µl)	2.0 µl
<hr/>	
Totale	20.0 µl

Per il Controllo negativo PCR, aggiungere 1µl di acqua DNase free.

- Vortexare le provette 2 – 5 secondi per miscelare i componenti e poi centrifugare brevemente.

Importante: Assicurarsi che i tubi siano adeguatamente sigillati con il coperchio di silicone per evitare l'evaporazione o la fuoriuscita.

- Posizionare le provette nel thermocycler impostando le seguenti condizioni:

Condizioni Multiplex 2 Tm PCR

Passaggio N°.	Temperatura °C	Tempo	N°. di Cicli
1	95	4 minuti	
2	95	15 secondi	40
	56	15 secondi	
	72	15 secondi	
3	4	Hold	

Nota:

Si raccomanda di impostare la reazione PCR nelle micropiastre INFINITI da 24 pozzetti (WP24) per ridurre al minimo la manipolazione del campione nei passaggi successivi.

Per evitare una potenziale contaminazione, si raccomanda un'area di lavoro separata per la PCR.

Dopo il PCR è completa assicurarsi che non vi è anormale evaporazione del prodotto della PCR. Ispezionate il volume per ogni reazione visivamente. Tutti i volumi di reazione della PCR dovrebbe essere di circa 20µl. In caso contrario, non procedere con il test.

Il tempo totale per l'amplificazione PCR dovrebbe essere di 1 ora e 10 minuti ± 5 minuti.

Caricamento Campioni

Seguire le istruzioni del **Manuale dell'Operatore dell'Analizzatore INFINITI (codice N° EM-34000)**.

- Se la PCR è stata fatta in provette diverse da WP24, dispensare i 20 µl di prodotto della PCR nella piastra WP24 e caricarla nell'Analizzatore INFINITI.
- Caricare il BioFilmChip Magazine, il Modulo Intellipac, i puntali e il tampone di lavaggio specifici.

Operazioni dell'Analizzatore INFINITI

Fare riferimento al **Manuale dell'Operatore dell'Analizzatore INFINITI (codice N° EM-34000)**.

CONTROLLO DI QUALITA'

Si raccomanda di inserire in ciascuna seduta un controllo positivo per tutti i genotipi (eterozigote e/o omozigote ottenuto da una linea cellulare o da un campione di un paziente), un controllo negativo (un campione che non contiene la mutazione di interesse, ad es. un campione Wild Type) , ed un "Controllo No Template" (acqua Molecular Grade). Contattare Medical Systems S.p.A. per ulteriori informazioni.

Nota: Il thermocycler usato deve essere regolarmente sottoposto a manutenzione e calibrato con uno standard esterno di temperatura, secondo le norme del laboratorio ed i requisiti del CQ.

LIMITAZIONI

I risultati ottenuti da questo metodo dovrebbero essere usati ed interpretati soltanto in un contesto globale di diagnosi clinica. AutoGenomics non è responsabile di qualsiasi decisione clinica venga presa.

L'assenza delle mutazioni rilevate da questo test non garantisce che non siano presenti altre mutazioni. E' possibile la presenza di altre mutazioni non rilevabili da questo kit.

INTERPRETAZIONI DEI RISULTATI

I risultati ottenuti con il test INFINITI Pannello Fattore II-V & MTHFR vengono refertati indicando quale genotipo è stato rilevato nel campione, ad es., Wild Type, Omozigote, o Eterozigote per Fattore II (Protrombina) G20210A, Fattore V Leiden G1691A, MTHFR A1298C e MTHFR C677T.

Se non vengono visualizzati risultati, e c'è un messaggio di errore nell'angolo in basso a destra della pagina dei risultati, allora il test deve essere ripetuto per quel campione. Un eventuale messaggio di errore come "Error # 125 non template control equivalent" indica uno o più dei analiti non potevano essere genotipizzati. Tutti gli errori vengono catturati nel log degli errori del INFINITI. Per ulteriori informazioni su errori si prega di consultare la sezione "Risoluzione dei problemi del INFINITI Analyzer" del manuale di istruzioni. Per ulteriori chiarimenti e la risoluzione dell' errore si prega di contattare il supporto tecnico a AutoGenomics.

SMALTIMENTO

I materiali di rifiuto del test INFINITI Pannello Fattore II-V & MTHFR sono comuni rifiuti di laboratorio, e devono essere manipolati/smaltiti secondo quanto previsto dalle procedure di laboratorio e dalla normativa nazionale vigente.

PRESTAZIONI DEL TEST

Specificità Analitica

Durante lo sviluppo di questo test sono stati condotti relativi studi di specificità. La specificità dei primer della PCR è stata determinata dalla dimensione della banda del frammento amplificato su gel e dalla sequenza del frammento amplificato. La specificità del primer ASPE stata confermata ottenendo risultati corretti da campioni genomici noti. La specificità delle sonde di cattura è stata determinata per ibridazione con diversi oligonucleotidi e dimostrando che l'oligo corretto ibridizza lo spot noto.

Sensibilità Analitica

Gli studi hanno dimostrato che INFINITI Pannello Fattore II-V & MTHFR può rilevare da un minimo di 1 ng ad un massimo di 300 ng di DNA. Si consiglia una quantità minima di 25 ng di DNA per test

Concordanza Percentuale

Il test INFINITI Pannello Fattore II-V & MTHFR concorda al 100% con il metodo di riferimento. I risultati sono illustrati di seguito:

Genotipo	Numero Test	Numero di Risultati corretti alla Prima Seduta	Numero di Risultati Discordanti alla Prima Seduta	Numero di Risultati Errati alla Prima Seduta	Concordanza Prima Seduta	Numero di Risultati comprese Sedute Ripetute	Numero di Risultati Discordanti su Sedute Ripetute	Numero di Risultati Errati su Sedute Ripetute	Concordanza Totale
Fattore II									
WT	44	44	0	0	100%	44	0	0	100%
MUT	0					0			
HET	6	4	0	2	66.7%	6	0	0	100%
total	50	48	0	2	96.0%	50	0	0	100%
Fattore V									
WT	37	34	1	2	91.9%	37	0	0	100%
MUT	2	2	0	0	100%	2	0	0	100%
HET	11	11	0	0	100%	11	0	0	100%
total	50	47	1	2	94.0%	50	0	0	100%
MTHFR C677T									
WT	22	20	2	0	90.9%	22	0	0	100%
MUT	8	8	0	0	100%	8	0	0	100%
HET	20	19	1	0	95.0%	20	0	0	100%
total	50	47	3	0	94.0%	50	0	0	100%
MTHFR A1298C									
WT	24	22	0	2	91.7%	24	0	0	100%
MUT	4	4	0	0	100%	4	0	0	100%
HET	21	18	1	2	85.7%	21	0	0	100%
total	49	44	1	4	89.8%	49	0	0	100%
TOTAL	199	186	5	8	93.5%	199	0	0	100%

Precisione/Riproducibilità – Test

Chip-per-chip: Usando lo stesso campione e lo stesso Analizzatore INFINITI, il test è stato eseguito in cinque replicati usando tre BioFilmChip microarray dello stesso lotto. I CV ottenuti usando spot in triplicato per ciascuna mutazione vanno da 9 – 12% per i risultati wild-type. La seduta è stata ripetuta altre due volte, utilizzando ciascuna volta un diverso Analizzatore INFINITI. Tutti i risultati sono stati corretti al 100%.

Lotto-per-lotto: Tre lotti di BioFilmChip microarray sono stati testati quattro volte usando lo stesso strumento, con differenti aliquote dello stesso campione. L'analisi statistica ANOVA Two-way sulle letture RFU non ha rilevato differenze lotto-per-lotto su tre delle quattro sedute ($p > 0.05$), mentre ha rilevato differenze lotto/lotto su una seduta ($0.05 > p > 0.01$). I risultati dei genotipi erano corretti al 100%.

Giorno-per-giorno: campioni di genoma noti sono stati testati 12 volte ogni giorno per tre giorni usando uno stesso strumento. I CV% del segnale espresso in RFU sono rientrati in un range da 1.35 a 14.87 il 1° giorno, da 0.77 a 19.72 il 2° giorno e da 0.41 a 21.2 il 3° giorno. I risultati dei genotipi erano corretti al 100%.

Precisione/Riproducibilità - Strumento

- E' stato analizzato un campione di DNA usando tre diversi Analizzatori INFINITI ed un lotto di BioFilmChips, per cinque volte (cinque sedute).

Intra-Strumento: Il CV % ottenuto da un solo chip utilizzato per cinque volte su un solo strumento rientra in un intervallo compreso fra 0.9 e 28.3 I risultati dei genotipi sono riproducibili al 100% su ciascun strumento.

Inter-Strumento: Il CV % ottenuto usando un solo chip per cinque volte su tre strumenti diversi rientra in un intervallo compreso fra 0.5% e 12. Tutti i risultati dei genotipi sono corretti e riproducibili al 100%.

- Tre strumenti sono stati utilizzati in tre giorni diversi usando un MicroarrayChip Standard (non-assay). Per ciascuno strumento utilizzato, ciascuno spot della sonda di cattura sullo Standard Microarray Chip è stato letto 24 volte, ne è stata calcolata la media delle letture e calcolato il CV %. I risultati sono riportati nella tabella seguente:

Strumento	Media CV%	Range CV%
1	4.03%	1.9 - 7.5%
2	3.99%	2.7 - 6.5%
3	3.24%	1.9 - 5.3%

Trascinamento fra Campioni (Carry-over)

Non è stato rilevato trascinamento caricando di seguito una serie di campioni: wild type (300 ng DNA), campione positivo (10 ng DNA), campione eterozigote (300 ng DNA) campione no template control o acqua e ripetendo il test per sei volte.

Interferenza

I risultati degli studi dimostrano che non c'è interferenza con 8 mg/dL di bilirubina, 70 mg/dL di colesterolo, e 1333 v/dL di eparina. Nessuno studio è stato condotto con anticoagulanti orali. Non sono state registrati reclami.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. Peterson LC, Hedner U, Wildgoose P. In: High KA, HR Roberts eds. Molecular basis of thrombosis and hemostasis. New York: Marcel Dekker,1995.
2. Grody W, Griffin J, Taylor A, Korf B, Heit, J. (2001) American College of Medical Genetics Consensus Statement on Factor V Leiden Mutation Testing, Genetics in Medicine, 3:2, 139-147.
3. Salomon O. et al; Single and Combined Prothrombotic Factors in Patients With Idiopathic Venous Thromboembolism; Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 1999;19:511-518) © 1999 American Heart Association, Inc.