

KIT PER IL DOSAGGIO DELL'ACIDO IALURONICO (HA)Per uso diagnostico *in vitro***USO PREVISTO**

Dosaggio enzimatico della proteina legante per la determinazione dell'acido ialuronico (HA) nel siero o nel plasma umano. L'acido ialuronico è indicato per l'uso come marker sierologico della fibrosi epatica in combinazione con altri dati sierologici e clinici per la previsione di fibrosi avanzata (Metavir F3-4) in pazienti affetti da malattia del fegato cronica associata a epatopatia steatosica non alcolica (NASH).

COMPENDIO E SPIEGAZIONE DEL DOSAGGIO

L'acido ialuronico (HA), noto anche come ialuronato o ialurone, è un glicosaminoglicano - un polisaccaride di elevato peso molecolare con una catena non ramificata costituita da sequenze che si ripetono nell'ordine di legami β -(1-4)-acido glucuronico e β -(1-3)-N-acetilglucosamina. Ciascun dimero costituisce una unità e ha un peso molecolare di circa 450 dalton. La molecola di HA può avere una lunghezza che varia da meno di 10 ad oltre 1.000 unità.¹⁻⁴ L'HA è prodotto principalmente da fibroblasti e altre cellule specializzate di tessuto connettivo. L'HA ricopre un ruolo strutturale nella matrice di tessuto connettivo (proteoglicano) e prende parte a varie interazioni da cellula a cellula. L'HA è ampiamente distribuito in tutto il corpo e può essere rilevato come molecola libera nel plasma e nel liquido sinoviale. Nel plasma l'emivita della molecola di HA è stata stimata in circa 5-6 minuti.^{3,4} L'HA è presente in elevate concentrazioni nel liquido sinoviale ed è responsabile della normale ritenzione idrica e della lubrificazione delle articolazioni. L'HA sinoviale può passare nel plasma attraverso il sistema linfatico.⁵ I livelli di HA in circolazione vengono mantenuti stabili da un meccanismo efficiente di rimozione dipendente dai recettori presente nelle cellule endoteliali sinusoidali del fegato e dall'azione enzimatica della ialuronidasi.^{6,7}

I livelli di HA nel siero possono essere elevati in varie malattie del fegato caratterizzate da fibrosi e cirrosi epatica, dovute alla riduzione di HA nel fegato e/o ad una maggiore produzione epatica di HA durante l'infiammazione epatica.^{8,9} Maggiori livelli di HA hanno dimostrato una migliore correlazione con il livello di danno istopatologico al fegato rispetto ai normali test della funzione epatica tra cui l'ALT/AST, la fosfatasi alcalina e la bilirubina.^{10,11} È stato proposto che la determinazione dei livelli di HA nel siero potrebbe essere utile nella distinzione tra fegato cirrotico e non cirrotico, nella valutazione del grado di fibrosi epatica e nel monitoraggio della funzione epatica.¹²⁻¹⁶ È stato inoltre dimostrato che i livelli di HA riflettono l'estensione della fibrosi epatica nei pazienti affetti da epatite C cronica e possono essere utili nel monitoraggio della risposta al trattamento con interferone alfa.¹⁷⁻¹⁹ Una correlazione simile è stata riscontrata in pazienti affetti da cirrosi alcolica²⁰ e da cirrosi biliare primitiva.¹⁰ È stato anche dimostrato che i livelli di HA sono un marker precoce di danno epatico da agenti tossici quali etanolo, acetaminofene e lipopolisaccaride batterica, in quanto le modifiche patologiche del SEC in risposta a tali agenti precedono le modifiche patologiche degli epatociti.^{13,21}

NASH è un tipo di steatosi epatica non alcolica (NAFLD) con una prevalenza stimata del 3-5% nella popolazione generale. È definita come la presenza di steatosi epatica e infiammazione con lesione delle cellule epatiche (degenerazione balloniforme) con o senza fibrosi.³⁰ I dati clinici suggeriscono che livelli elevati di HA sono stati rilevati in pazienti affetti da NASH con fibrosi epatica.²⁴

PRINCIPIO DEL DOSAGGIO

Il kit per il dosaggio dell'HA consente di misurare i livelli di HA e viene impiegato come un dosaggio enzimatico della proteina legante che utilizza una molecola di cattura denominata proteina legante dell'acido ialuronico (HABP).^{22, 23, 25} L'HABP funziona come un recettore specifico per l'HA e collega l'HA *in vivo* con la proteina del core e altri glicosaminoglicani per formare complessi aggregati di proteoglicani. In questo dosaggio, la HABP naturale viene isolata dalla cartilagine nasale bovina tramite purificazione per affinità e rivestita a micropozzetti per catturare in modo specifico l'HA. Inoltre, una versione enzima-coniugata di HABP viene usata per misurare la quantità di HA catturata dal plasma o dal siero umano dai micropozzetti rivestiti di HABP.²⁸⁻²⁹ La HABP si lega, si inibisce e si stabilizza sul fondo e sui bordi dei pozzetti di una piastra microtiter. I campioni diluiti di siero o di plasma del paziente vengono incubati nei pozzetti consentendo all'HA disponibile di legarsi alla HABP immobilizzata. Le piastre vengono quindi risciacquate per eliminare tutte le molecole non legate di plasma o siero. La quantità di HA legato viene misurata utilizzando una seconda molecola HABP coniugata a un enzima (perossidasi di rafano). Ogni molecola HBAP coniugata non legata viene quindi eliminata tramite risciacquo.

La HABP coniugata legata viene incubata con un sistema di substrato cromoforo. Lo sviluppo cromatico finale viene misurato in spettrofotometria in unità di densità ottica (DO). Le concentrazioni di HA nel siero o nel plasma del paziente vengono stabilite in base a una curva di riferimento generata dalle unità di densità ottica relative a cinque campioni di concentrazione di HA nota e 0 ng/ml (bianco reagente).

REAGENTI

Conservare a 2-8 °C. Non congelare.


Ciascun kit per il dosaggio dell'HA da 96 micropozzetti contiene i seguenti reagenti (i volumi possono variare a seconda della misura e della configurazione del kit):

- 12 strisce di micropozzetti con 8 micropozzetti rivestiti di HABP stabilizzata, con telaio.
- 1 flacone (57 ml) di tampone di reazione (soluzione blu).
- 1 fiala (0,5 ml) di calibratore HA da 50 ng/ml.
- 1 fiala (0,5 ml) di calibratore HA da 100 ng/ml.
- 1 fiala (0,5 ml) di calibratore HA da 200 ng/ml.
- 1 fiala (0,5 ml) di calibratore HA da 500 ng/ml.
- 1 fiala (0,5 ml) di calibratore HA da 800 ng/ml.
- 1 flacone (13 ml) di soluzione HABP coniugata con HRP (soluzione rossa).
- 1 flacone (13 ml) di soluzione di substrato mono-componente (contiene 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina e perossido di idrogeno, stabilizzata).
- 1 flacone (15 ml) di soluzione di arresto (acido solforico 0,36 N).
- 1 flacone (30 ml) di concentrato di lavaggio [33x soluzione fisiologica tamponata con fosfato (PBS)]; 30 ml che vanno ricostituiti a 1 litro di PBS 0,01M, pH 7,35 ± 0,1.
- 1 fiala (0,5 ml) di Controllo Alto HA (il range accettabile è stampato sull'etichetta della fiala)
- 1 fiala (0,5 ml) di Controllo Moderato HA (il range accettabile è stampato sull'etichetta della fiala)
- 1 fiala (0,5 ml) di Controllo Basso HA (il range accettabile è stampato sull'etichetta della fiala)

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Per uso diagnostico *in vitro*

1. I campioni di siero o plasma dei pazienti da analizzare con questo test, come tutti gli emoderivati di origine umana, devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo.
2. Non pipettare con la bocca.
3. Non fumare, mangiare o bere nelle aree in cui si maneggiano i campioni o i reagenti del kit.
4. Indossare guanti monouso quando si maneggiano i reagenti del kit e lavarsi bene le mani subito dopo.
5. Le seguenti informazioni sono riportate sulle etichette di alcuni componenti:
Irritante per gli occhi (R 36). Evitare il contatto con la cute (S 24). Evitare il contatto con gli occhi (S 25). In caso di contatto con gli occhi risciacquare immediatamente con acqua abbondante e rivolgersi a un medico (S 26). In caso di ingestione, rivolgersi immediatamente a un medico e mostrare questo contenitore o l'etichetta (S 46).

Avvertimento .

PRELIEVO E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Il siero o l'acido etilendiaminotetracetico (EDTA) sono le matrici di campione preferenziali. Il sangue deve essere prelevato tramite venopuntura. Il siero o il plasma devono essere separati dalle cellule per centrifugazione. Se non vengono analizzati immediatamente, i campioni devono essere conservati a una temperatura di 2-8 °C. Se i campioni devono essere conservati per oltre 72 ore, è necessario congelarli a -20 °C o a temperature inferiori. I campioni contenenti materiale particolato visibile devono essere centrifugati prima dell'analisi.

ISTRUZIONI PER L'USO

Materiali forniti

Kit per dosaggio dell'acido ialuronico; per un elenco completo, vedere "Reagenti".

Materiali richiesti ma non forniti

- Acqua distillata o demineralizzata per la preparazione della soluzione di lavaggio PBS (circa 1 l)
- Cilindri graduati
- Pipette di precisione in grado di erogare quantità comprese tra 5 e 1000 microlitri, con le punte appropriate
- Vari contenitori di vetro o plastica idonei per il maneggiamento di piccoli volumi
- Beuta, flacone o cilindro graduato da 1 litro
- Flaconi di lavaggio, preferibilmente con la punta parzialmente accorciata per ottenere un flusso abbondante o un sistema di lavaggio automatico o semi-automatico delle piastre

- Pipette multicanale con capacità di erogazione in 8 pozzetti simultaneamente (raccomandate)
- Provette per microdiluizione e portaprovette per microdiluizione in 96 pozzetti per la diluizione dei campioni
- Spettrofotometro per piastra in grado di rilevare l'assorbanza a 450 nm (con riferimento a 650 nm, se possibile)
- Guanti monouso, preferibilmente senza talco

Note procedurali

1. Attendere che i campioni dei pazienti e i reagenti del kit raggiungano la temperatura ambiente (20-26 °C). Miscelare bene prima dell'uso; evitare la formazione di schiuma. Riportare tutti i campioni e i reagenti non utilizzati nel congelatore (2-8 °C) quanto prima.
2. Tutti i campioni, comprese le soluzioni di riferimento e i controlli, vanno dosati in pozzetti duplicati.
3. Predisporre due pozzetti come bianco reagente. Per il bianco reagente si usa il tampone di reazione senza siero, che agisce da calibratore HA da 0 ng/ml.
4. Il lettore di piastre va azzerato contro l'aria.
5. Una buona tecnica di lavaggio è fondamentale per la riuscita ottimale del dosaggio. Per ottenere un lavaggio adeguato, dirigere un getto forte di soluzione di lavaggio verso il fondo dei micropozzetti usando una bottiglia di plastica morbida a punta larga. È possibile usare anche un sistema di lavaggio automatico per le piastre.
6. **IMPORTANTE:** se non si rimuovono adeguatamente eventuali residui di soluzione di lavaggio, lo sviluppo cromatico della soluzione di substrato potrebbe essere non uniforme.
7. Se possibile, utilizzare una pipetta multicanale in grado di effettuare la dispensazione simultanea in 8 pozzetti. Ciò rende più rapida la procedura e fornisce tempi di incubazione e di reazione più uniformi per tutti i pozzetti.
8. È importante controllare attentamente la durata di tutte le fasi. Per tutte le incubazioni, il periodo di incubazione inizia non appena si termina l'aggiunta del campione o del reagente.
9. L'aggiunta di tutti i campioni e reagenti va eseguita alla stessa velocità e nella stessa sequenza.
10. Se l'incubazione avviene ad una temperatura diversa dalla temperatura ambiente (20-26 °C) si potrebbero ottenere risultati non accurati.
11. Evitare di contaminare i reagenti quando si aprono e si rimuovono le aliquote dalle fiale principali.
12. Per questo dosaggio, non utilizzare Tween 20 o detergenti di altro tipo.
13. Non utilizzare i componenti del kit oltre la loro data di scadenza.
14. Non usare componenti del kit appartenenti a kit di lotti diversi.

Preparazione dei reagenti

Soluzione di lavaggio (PBS): diluire 30 ml di concentrato di lavaggio PBS 33x con acqua distillata o demineralizzata in modo da ottenere 1 litro di soluzione. Il pH della soluzione finale deve essere pari a $7,35 \pm 0,1$. Conservare la soluzione PBS non utilizzata a 2-8 °C. Gettare la soluzione se mostra segni di contaminazione microbica o di altro tipo.

Procedura di dosaggio

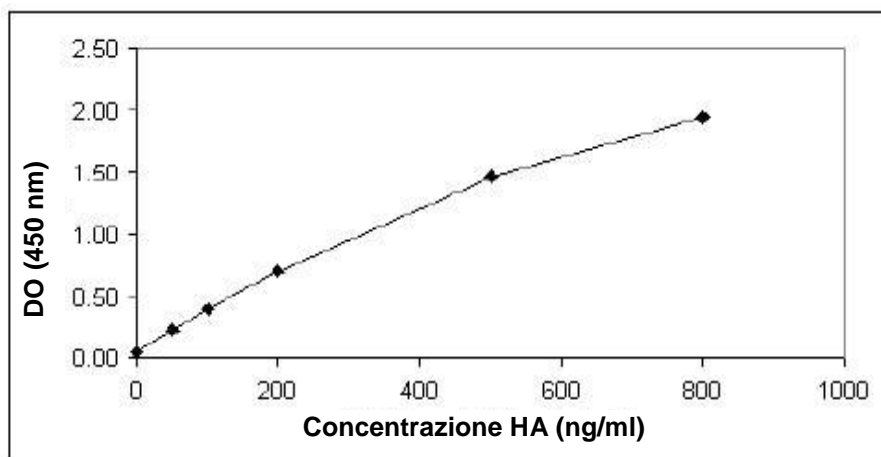
1. Analizzare le soluzioni di riferimento HA, i controlli HA e il bianco reagente in duplicato. Le determinazioni in duplicato si raccomandano anche per i campioni del paziente. Per il bianco reagente si usa il tampone di reazione senza siero, che rappresenta il calibratore HA a 0 ng/ml. Nelle successive fasi di dosaggio, il bianco reagente sarà trattato allo stesso modo delle soluzioni di riferimento, dei controlli o dei campioni del paziente.
2. Staccare dal telaio tutte le strisce di micropozzetti non utilizzate e riporle nella busta in dotazione.
3. Preparare soluzioni di riferimento HA, controlli HA e campioni del paziente aggiungendo 1 parte della soluzione o del campione a 10 parti di tampone di reazione (soluzione blu). Ad esempio, 30 µl di campione aggiunti a 300 µl di tampone di reazione costituiranno un volume sufficiente per un test in duplicato.
4. Aggiungere 100 µl di soluzioni di riferimento HA diluite, controlli HA, campioni del paziente e il tampone di reazione (per il bianco reagente) nei micropozzetti appropriati.
5. Incubare per 60 minuti a temperatura ambiente (20-26 °C).
6. Al termine dell'incubazione, capovolgere con cautela i micropozzetti e versare il contenuto in un apposito contenitore. Evitare la contaminazione degli altri micropozzetti con i campioni. Lavare i pozzetti per 4 volte con la soluzione di lavaggio (PBS), riempiendoli completamente. Capovolgere i micropozzetti tra un lavaggio e l'altro per eliminare il liquido. Con un movimento a scatto del polso, scuotere i pozzetti provocando la fuoriuscita del liquido. Asciugare il liquido residuo battendo e/o picchiando le piastre su carta assorbente. Evitare che i pozzetti si asciughino tra le varie fasi.
7. Aggiungere 100 µL di soluzione HAPB coniugata a HRP (soluzione rossa) a tutti i pozzetti.
8. Incubare per 30 minuti a temperatura ambiente.
9. Al termine dell'incubazione, capovolgere con cautela i micropozzetti e svuotare la soluzione coniugata. Lavare 4 volte con la soluzione PBS e battere o picchiare come descritto alla Fase 6. Evitare che i pozzetti si asciughino.

10. Aggiungere 100 μL di soluzione di substrato monocomponente a ciascun pozzetto e incubare per 30 minuti a temperatura ambiente. Aggiungere la soluzione di substrato nei pozzetti a velocità costante. Nei pozzetti con campioni positivi si sviluppa una colorazione blu.
11. Aggiungere 100 μL di soluzione di arresto (acido solforico 0,36 N) a ciascun pozzetto per arrestare la reazione enzimatica. Assicurarsi di aggiungere la soluzione di arresto ai pozzetti nello stesso ordine e alla stessa velocità usati per la soluzione di substrato.
12. Annullare o azzerare il lettore di piastre contro l'aria. Leggere la densità ottica di ciascun pozzetto a 450 nm (riferimento a 650 nm). La densità ottica dei pozzetti deve essere misurata entro 30 minuti dall'aggiunta della soluzione di arresto.

Risultati

1. Calcolare i valori della densità ottica media per i pozzetti duplicati delle soluzioni di riferimento HA, dei controlli HA, dei bianchi reagenti e dei campioni del paziente.
2. Usando la regressione polinomiale di terzo ordine (consigliata), la curva a 4 parametri o un tracciato manuale (da punto a punto), calcolare la curva più pertinente usando i valori medi di densità ottica dei calibratori da 0 ng/ml (bianco reagente), 50, 100, 200, 500 e 800 ng/ml. Per ciascun turno di dosaggio occorre tracciare una nuova curva. Da questa curva a sei punti, calcolare le concentrazioni risultanti di HA (ng/ml) nei controlli HA e nei campioni del paziente.

Esempio di curva di riferimento
ESCLUSIVAMENTE A SCOPO ESEMPLIFICATIVO, NON USARE



3. I campioni con concentrazioni di HA inferiori a 20 ng/ml possono essere classificati come "inferiori a 20 ng/ml". I campioni con concentrazioni di HA superiori a 800 ng/ml possono essere classificati come "superiori a 800 ng/ml" o possono essere diluiti fino a 1:15 ridosati per ottenere risultati più accurati. I risultati ottenuti con il secondo dosaggio di questi campioni devono essere moltiplicati per il fattore di diluizione per ottenere la concentrazione finale di HA.
4. Assicurarsi che tutti i parametri di controllo di qualità siano stati osservati (vedere la sezione Controllo di qualità) prima di refertare i risultati delle analisi.

Controllo di qualità

1. Il valore medio di densità ottica del bianco reagente deve essere $\leq 0,1$. Valori superiori a 0,1 possono indicare una eventuale contaminazione del substrato monocomponente o di altri reagenti.
2. Il valore medio di densità ottica del calibratore HA da 500 ng/ml deve essere di 0,8 o superiore.
3. Tra i valori di densità ottica doppi non vi devono essere variazioni superiori al 20% per campioni con un valore medio di densità ottica superiore a 0,3.
4. I valori ottenuti per i controlli HA devono rientrare nei range stampati sull'etichetta di ciascun contenitore. Le variabili di analisi in ciascun laboratorio, incluse le apparecchiature e le tecniche utilizzate, possono influire sul recupero del controllo; ciascun laboratorio dovrà stabilire il proprio range accettabile per i controlli HA.
5. Ciascun laboratorio dovrebbe confermare periodicamente i normali valori di cut-off e di prevalenza per la popolazione di pazienti analizzati. Vedere Caratteristiche prestazionali.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Valori attesi²⁴

I livelli di HA sono stati misurati in una popolazione composta da 199 adulti sani con tre lotti di kit per il dosaggio dell'HA in conformità agli standard CLSI C28-A3c. È stato determinato che il valore HA medio di questa popolazione è pari a 17,3 ng/ml con una deviazione standard di 12,8 ng/ml. Usando una tecnica non parametrica, sono stati eliminati i quattro valori più alti e più bassi. **La media normale risultante ≤ 56 ng/ml** include il 95% dei campioni rimanenti.

I dati suggeriscono che per i pazienti con livelli di HA compresi tra 56-150 ng/ml (vedere i dati delle prestazioni cliniche di seguito) potrebbe essere indicato un ulteriore monitoraggio. Il cut-point per la decisione clinica³⁰ è 150 ng/ml, il quale indica la possibilità di fibrosi avanzata. Negli individui affetti da fibrosi avanzata può essere indicato eseguire la biopsia epatica.³⁰

Prestazioni cliniche²⁴ Epatopatia steatosica non alcolica (NASH)

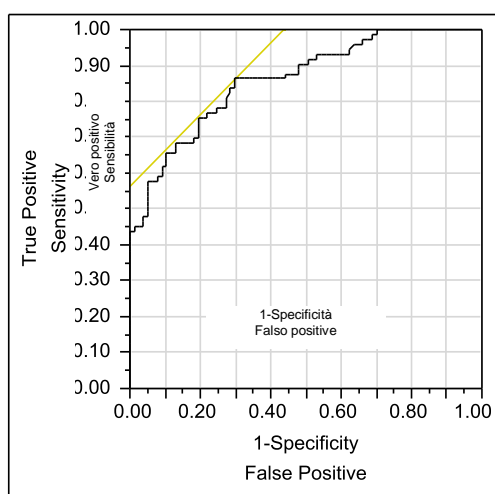
Campioni di siero provenienti da pazienti affetti da NASH sono stati ottenuti dall'Istituto Nazionale della Salute (National Institute of Health, NIH) - divisione NIDDK, i due set separati: set di training, n = 340 e set di convalida, n = 300. Durante lo studio di training sono state valutate le prestazioni cliniche del dosaggio di HA in relazione alla fibrosi epatica ed è stato stabilito un cut-point adeguato per il rilevamento della fibrosi avanzata nella coorte NASH. I dati sono stati quindi convalidati al cut-point selezionato. Le percentuali dei valori predittivi positivi (PPV) e negativi (NPV) sono state calcolate usando il metodo della curva ROC (Receiver Operating Characteristic) paragonando i valori di HA (ng/ml) alla presenza di fibrosi epatica avanzata (METAVIR F3-F4), valutata tramite esame istologico dei campioni biopsici epatici. **Il cut-point per la decisione clinica³⁰ è 150 ng/ml.** Il dosaggio di HA ha mostrato una percentuale dei valori PPV dell'88,0% e dei valori NPV dell'81,4% per l'identificazione di pazienti affetti da fibrosi avanzata al cut-point.

La tabella di seguito indica le caratteristiche del kit per il dosaggio dell'HA a 150 ng/ml:

	Set di convalida
Valori predittivi positivi	88,0%
Valori predittivi negativi	81,4%

Il grafico di seguito mostra il ROC (area sotto la curva) per valutare la fibrosi avanzata (F3 e F4) nei pazienti affetti da NASH:

Set di convalida:



Area sotto la curva = 0,86070

L'area sotto la curva per il set di convalida è di 0,86070, a supporto delle prestazioni cliniche del dosaggio di HA per la valutazione della fibrosi avanzata in pazienti affetti da NASH.

Prestazioni analitiche²⁴

Precisione:

La precisione è stata valutata in conformità a quanto specificato negli standard CLSI EP5-A2 utilizzando campioni di siero alto, medio e basso.

	Basso	Moderato	Elevato
Valore effettivo (ng/ml)	53,5	147,1	721,7
Ripetibilità stimata (%CV)	13,5%	9,3%	8,1%
Stima della precisione in laboratorio (%CV)	16,2%	13,0%	14,5%
Precisione intergiornaliera (%CV)	NC	5%	7%
Fra le serie, Giornaliera (%CV)	11%	8%	10%

NC: NON CALCOLABILE o <0

Riproducibilità:

I dati di riproducibilità sono stati calcolati in conformità a CLSI EP5-A2 e ISO PDTR 22971 (Practical Guide to ISO 5725-2: 1994, TC 69/SC 6.)

Il riassunto dei dati raccolti da tutti i centri di analisi è riportato di seguito:

	Basso	Moderato	Basso positivo	Moderato positivo
Valore effettivo (ng/ml)	32,3	122,0	372,4	613,1
Stima della ripetibilità (%CV)	7,7%	5,9%	8,6%	6,9%
Limite di ripetibilità	7,0	20,2	90,1	117,8
Stima tra laboratori (%CV)	3,2%	3,2%	4,9%	3,6%
Stima di riproducibilità (%CV)	8,3%	5,0%	7,1%	5,8%
Limite di riproducibilità	7,5	17,1	73,9	100,2

Linearità

La linearità del kit per il dosaggio dell'acido ialuronico è stata valutata in conformità a CLSI EP6-A ed è stata dimostrata essere lineare da 20 ng/ml a 1300 ng/ml entro $\pm 10\%$ all'interno di questo intervallo.

Limite di bianco (LoB) / Limite di rilevabilità (LoD):

Sulla base di 360 determinazioni (180 in bianco e 180 positive) usando CLSI EP17-A, il LoD per il kit per il dosaggio dell'HA è di 11 ng/ml con il 95% di probabilità di ottenere una risposta positiva (un risultato superiore al LoB) a questi livelli e il 95% di probabilità di ottenere una risposta negativa su campioni in bianco. È stato usato un LoB di 7 ng/ml.

INTERFERENZA E REATTIVITÀ CROCIATA²⁴

Il kit per il dosaggio dell'HA è stato valutato per interferenze in conformità a CLSI EP7-A2. I seguenti costituenti del siero/plasma, quando aggiunti al siero con livelli di HA bassi, moderati, elevati. Non è stata riscontrata alcuna interferenza ai livelli indicati di seguito:

Emoglobina	200 mg/ml	20.000 mg/dl	N/D
Bilirubina coniugata	0,5 mg/ml	50 mg/dl	855 mmol/l
Bilirubina libera	0,5 mg/ml	50 mg/dl	855 mmol/l
Trigliceridi	50 mg/ml	5000 mg/dl	56,5 mmol/l

È stata valutata la reattività crociata tra l'HA e il fattore reumatoide IgM. Il fattore reumatoide IgM, quando aggiunto al siero con livelli di HA bassi, il moderati o elevati in conformità a NCCLS EP7-A2, ha mostrato una reattività crociata pari a <2% a tutti i livelli con il fattore reumatoide IgM.

È stata valutata la reattività crociata tra l'HA e una miscela di composti glicosaminoglicani (condroitin-6-solfato, condroitin-4-solfato, condroitin-2, solfato-6 e condroitin-4-6-solfato). Quando questa miscela è stata aggiunta al siero con livelli di HA bassi, moderati e elevati in conformità a NCCLS EP7-A2, è stata rilevata una reattività crociata pari a <2% a tutti i livelli con i composti glicosaminoglicani.

LIMITI DEL TEST

È possibile usare i livelli di acido ialuronico ottenuti con questo dosaggio per valutare il grado di fibrosi avanzata nei pazienti affetti da malattia cronica del fegato. Il medico deve interpretare questi risultati tenendo conto dell'anamnesi del paziente, degli esami clinici e di altre procedure diagnostiche.

I livelli di HA nel siero possono essere elevati durante l'infiammazione sinoviale e la distruzione della cartilagine come osservato nell'artrite reumatoide, in conseguenza di una maggiore produzione e a causa del passaggio nella circolazione. Elevati livelli di HA nel siero sono stati rilevati anche in alcuni pazienti affetti da osteoartrite attiva o più avanzata, sclerosi sistemi progressiva e lupus eritematoso sistemico; si ritiene che ciò sia dovuto all'attività del fattore di crescita nelle cellule di tessuto connettivo e all'interessamento sinoviale.²⁶⁻²⁸

Come riportato in letteratura,²⁶ i nostri studi mostrano che l'età tende a far aumentare i livelli di HA nei soggetti sani, sebbene in misura minima. È stato dimostrato che il livello di aumento nei soggetti sani è di circa 0,36 ng/ml all'anno.

Garanzia












Si garantisce che le prestazioni di questo prodotto corrispondano a quanto descritto nel presente foglietto illustrativo. La Corgenix, Inc. non rilascia alcuna garanzia implicita di commerciabilità o idoneità a uno scopo particolare, e in nessuna circostanza la Corgenix, Inc. si riterrà responsabile di eventuali danni indiretti.

Per il servizio di assistenza tecnica o di assistenza clienti negli Stati Uniti chiamare il numero 1-800-729-5661. Fuori dagli Stati Uniti, chiamare il numero +1-303-457-4345, inviare un fax al numero +1-303-457-4519, inviare un'e-mail all'indirizzo: technicalsupport@corgenix.com, oppure rivolgersi ad un distributore Corgenix autorizzato.

REFERENCES

1. Sundblad L. The chemistry and biology of compounds containing aminosugars. In *The Amino Sugars*. EA Balazs and REW Jeanloz Editors, Academic Press, N.Y. (1965).
2. Laurent TC. Structure of hyaluronic acid. In *Chemistry and Molecular Biology of the Intracellular Matrix*. EA Balazs Editor, Academic Press, N.Y. (1970).
3. Fraser JRE, Laurent TC, Pertoft H, et al. Plasma clearance, tissue distribution and metabolism of hyaluronic acid injected intravenously in the rabbit. *Biochem J* 200:415- 424 (1981).
4. Fraser JRE, Laurent TC, Engstrom-Laurent A, et al. Elimination of hyaluronic acid from the blood stream in the human. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 11:17-25 (1984).
5. Balazs EA, Watson D, Duff IF, et al. Hyaluronic acid in synovial fluid. I. Molecular parameters of hyaluronic acid in normal and arthritic human fluids. *Arthritis Rheum* 10:357-376 (1967).
6. Engstrom-Laurent A, Hallgren R. Circulating hyaluronate in rheumatoid arthritis: relationship to inflammatory activity and the effect of corticosteroid therapy. *Ann Rheum Dis* 44:83-88 (1985).
7. Tamaki S, Ueno T, et al. Evaluation of hyaluronic acid binding ability of hepatic sinusoidal endothelial cells in rats with liver cirrhosis. *Gastroenterology* 111:1049-1057 (1996).
8. Engstrom-Laurent A, Loof L, Nyberg A, et al. Increased serum levels of hyaluronate in liver disease. *Hepatology* 5:638-642 (1985).
9. Freborug T, Delpech B, Bercoff E, et al. Serum hyaluronate in liver diseases: study by enzymeimmunological assay. *Hepatology* 6:392-395 (1986).
10. Nyberg A, Engstrom-Laurent A, Loof L. Serum hyaluronate in primary biliary cirrhosis: a biochemical marker for progressive liver damage. *Hepatology* 8:142- 146 (1988).
11. Wong VS, Hughes V, Trull A, et al. Serum hyaluronic acid is a useful marker of liver fibrosis in chronic hepatitis C virus infection. *J Viral Hepatitis* 5:187-192 (1998).
12. McHutchison JG, Blatt LM, Medina MD, et al. Measurement of serum hyaluronic acid in patients with chronic hepatitis C and its relationship to liver histology. *J Gastroenterol Hepatol* 15:945-951 (2000).
13. Bramley PN, Rathbone BJ, Forbes MA, et al. Serum hyaluronate as a marker of hepatic derangement in acute liver damage. *J Hepatology* 13:8-13 (1991).
14. Ueno T, Inuzuka S, Torimura T, et al. Serum hyaluronate reflects hepatic sinusoidal capillarization. *Gastroenterology* 105:475-481 (1993).
15. Plevis JN, Haydon GH, Simpson KJ, et al. Serum hyaluronan – a non-invasive test for diagnosing liver cirrhosis. *Eur J Gastro & Hepatology* 12:1121-1127 (2000).
16. Guéchet J, Serfaty L, et al. Prognostic value of serum hyaluronan in patients with compensated HCV cirrhosis. *J Hepatology* 32:447-452 (2000).
17. Ueno T, Inuzuka S, Sata M, et al. Serum hyaluronate predicts response to interferon alpha therapy in patients with chronic hepatitis C. *Hepato-Gastroenterology* 42:522-527 (1995).
18. Yamada M, Fukuda Y, et al. Serum hyaluronic acid reflects the effect of interferon treatment on hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 11:646-651 (1996).
19. Hashimoto O, Ueno Y, et al. Long-term improvement of hepatic fibrosis in chronic hepatitis C treated with interferon- a. *Hepatology Res.* 10:200-216 (1998).
20. Tran A, Hastier P, Barjoan EM, et al. Non invasive prediction of severe fibrosis in patients with alcoholic liver disease. *Gastroenterol Clin Biol* 24:626-630 (2000).
21. Deaciuc IV, Spitzer JJ. Hepatic sinusoidal endothelial cell in alcoholemia and endotoxemia. *Alcoholism: Clin & Exp. Research* 20:607-614(1996).
22. Chichibu K, Matsuura, T, Shichijo S, et al. Assay of serum hyaluronic acid in clinical application. *Clin Chimica Acta* 181:317-324 (1989).
23. Lindqvist U, Chichibu K, Delpech B, et al. Seven different assays of hyaluronan compared for clinical utility. *Clin Chemistry* 38:127-132 (1992).
24. Data on File (Corgenix, Inc.).
25. Santos ME, Kondo T, Wiecezorek A, Collier D, Lopez LR. Clinical utility of serum hyaluronic acid levels in liver disease. *Clinical Chemistry* 41:S71 (1995).
26. Sharif M, George E, Shepstone L, et al. Serum Hyaluronic Acid level as a predictor of disease progression in Osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum* 38:760-767 (1995).
27. Engstrom-Laurent A, Feltelius N, Hallgren R, et al. Raised serum hyaluronate levels in Scleroderma: an effect of growth factor induced activation of connective tissue cells? *Ann Rheum Dis* 44:614-620 (1985).
28. Santos ME, Kondo T, Wiecezorek A, Lopez LR. Increased serum hyaluronic acid levels in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 37:S247; 5ff (1994).
29. Engstrom-Laurent A, Hallgren R. Circulating hyaluronic acid levels vary with physical activity in healthy subjects and in rheumatoid arthritis patients: relationship to synovial mass and morning stiffness. *Arthritis Rheum* 1333-1338 (1987).
30. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanayal AJ. The Diagnosis and Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 2005-2023 (2012).

SYMBOL LEGEND

										
Manufacturer	Authorized Representative	In vitro diagnostic medical device	Batch Code	Use by/ Expiry Date	Temperature Limitation	Warning	Caution	Catalog Number	European Conformity	Consult Instructions for Use/ Package Insert
Hersteller	Bevollmächtigter	In-vitro-Diagnostikum	Chargennummer	Verfallsdatum	Temperaturbeschränkungen	Waarschuwing	Voorzichtigheid	Katalognummer	CE-Konformitätskennzeichnung	Gebrauchsanweisung im Inneren der Verpackung beachten
Fabriqué par	Représentant agréé	Dispositif de diagnostic in vitro	Code de Lot	Utiliser jusqu' à/ Date de péremption	Limites de température	Avertissement	Prudence	Numéro de catalogue	Conformité aux normes européennes	Consulter le mode d'emploi/ notice jointe au conditionnement
Fabricado por	Representante autorizado	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro	Código de Lote	Usar antes de/ Fecha de caducidad	Limitación de temperatura	Advertencia	Precaución	Número de catálogo	Conformidad europea	Consultar las instrucciones de uso/ prospecto del envase
Prodotta da	Rappresentante autorizzato	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Codice del lotto	Scade il/ data di scadenza	Limite di temperatura	Avvertimento	Cautela	Numero di catalogo	Conformità europea	Consultare le istruzioni per l'uso/ il foglietto illustrativo



Corgenix, Inc.
Broomfield, Colorado 80020, USA
© 2015, Corgenix, Inc.

US Patent Number 5,019,498
Japanese Patent Number (JP) 2073041
European Patent Number (EP) 283779



MT Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80
D-66386 St. Ingbert/Germany

ITALY CONTACT:

Meridian Healthcare srl

Via G. Guglielmino, 68 - 95030 Tremestieri Etneo - CT
Tel. 095 725 68 69 - Fax: 095 725 44 54
e-mail: info@meridianhealthcare.it

Meridian Healthcare®