

Yumizen G AT

ESSAI CHROMOGÈNE DE L'ANTITHROMBINE

N° de cat. : 1300036390 4 x 3 mL Thrombin
4 x 3 mL Substrate
4 x 7 mL Diluent

NOM DU PRODUIT

Essai chromogène Yumizen G AT

UTILISATION PRÉVUE

(Pour diagnostic in vitro uniquement)

Yumizen G AT est un essai chromogène utilisé pour la détermination quantitative de l'activité antithrombine (AT) dans le plasma humain citraté.

RÉSUMÉ ET EXPLICATIONS

L'antithrombine est un inhibiteur irréversible de la thrombine (FIIa) et du FXa. L'antithrombine acquise ou héréditaire est un facteur de risque important de thrombose.

L'antithrombine et la thrombine forment un complexe stœchiométrique. La vitesse de formation du complexe augmente significativement avec la présence d'héparine. L'effet antithrombotique apparaît donc immédiatement avec la présence d'héparine.

PRINCIPE

L'essai Yumizen G AT pour détermination du niveau d'antithrombine s'effectue en deux étapes :

1. L'échantillon de plasma est incubé avec une quantité excessive connue de thrombine en présence d'héparine.
2. Après formation du complexe, l'activité de la thrombine résiduelle est déterminée par un substrat de thrombine chromogène (mesure de l'absorbance à 405 nm). La quantité de thrombine inhibée est proportionnelle au niveau d'antithrombine de l'échantillon.

PRINCIPES ACTIFS

- Le réactif Yumizen G AT Thrombin se compose de thrombine bovine lyophilisée dans une solution tampon qui contient de l'héparine et un conservateur.
- Yumizen G AT Substrate est un substrat de thrombine chromogène lyophilisé qui contient un conservateur.
- Yumizen G AT Diluent est un tampon qui contient un conservateur.

PRÉCAUTIONS

- L'utilisateur qui met en place l'essai Yumizen G AT doit être un professionnel de laboratoire qualifié !
- En raison des réactifs qu'ils contiennent, les réactifs Yumizen G AT doivent être manipulés avec soin, en observant les précautions recommandées concernant les produits biologiques dangereux !
- Le réactif entrant en contact avec des spécimens

et d'autres matériaux doit être manipulé comme s'il pouvait transmettre une infection et doit être mis au rebut en prenant les précautions nécessaires !

- Éviter la contamination microbienne du réactif, car elle pourrait conduire à des résultats erronés !
- Ce réactif a été obtenu à partir de substances d'origine animale. Il doit donc être considéré comme potentiellement infectieux et manipulé avec précaution conformément aux bonnes pratiques de laboratoire (5).
- Tous les réactifs, les déchets et les équipements de laboratoire jetables utilisés doivent être considérés comme des déchets dangereux. Il faut procéder à leur manipulation et élimination conformément aux réglementations relatives au traitement de matériaux dangereux en vigueur.
- Ne pas utiliser le réactif après la date de péremption imprimée sur l'étiquette !

PRÉPARATION

Les réactifs Yumizen G AT Thrombin et Substrate sont dissous avec 3 mL d'eau distillée. Conserver le réactif à température ambiante (20-25°C) pendant au moins 30 minutes pour une reconstitution appropriée. Agiter délicatement et horizontalement le flacon avant l'emploi (5 à 10 fois), sans trop agiter.

Yumizen G AT Diluent est fourni prêt à l'emploi.

Attendre que les réactifs atteignent la température d'utilisation.

SPÉCIMENS

L'essai Yumizen G AT nécessite un plasma fraîchement décalcifié. Pour obtenir des échantillons décalcifiés, mélanger neuf parties de sang veineux fraîchement prélevé avec une partie de citrate trisodique (3,2% ; 109 mmol/L). L'utilisation de plus fortes concentrations de citrate trisodique (3,8% ; 129 mmol/L) n'est pas recommandée. Mélanger soigneusement le sang et centrifuger le plasma avant le test. Voir les instructions du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) H21-A5.

T (°C)	20-25	2-8	< -20
Stabilité du plasma	4 heures	Inacceptable	1 mois

PROCÉDURE DE CALIBRATION

L'essai Yumizen G AT est un processus basé sur la dilution du calibrant qui peut être utilisé avec des analyseurs de coagulation semi-automatiques (gamme Yumizen G) en suivant le protocole détaillé ci-dessous.

Préparer une dilution en série du calibrant Yumizen G CAL conformément au tableau ci-dessous :

	Point de cal. 1	Point de cal. 2	Point de cal. 3	Point de cal. 4
Taux de dilution	1/20	1/40	1/60	0
Yumizen G CAL	20 µL	100 µL à partir du point de cal. 1 (1/20)	100 µL à partir du point de cal. 1 (1/20)	0 µL
Yumizen G AT Diluent	380 µL	100 µL	200 µL	100 µL
Volume total	400 µL	200 µL	300 µL	100 µL

Une double mesure est recommandée.

1. Ajouter 50 µL de calibrant dilué dans la cuvette.
2. Ajouter 50 µL de Yumizen G AT Thrombin dans la cuvette.
3. Incuber pendant 2 minutes.
4. Ajouter 50 µL de Yumizen G AT Substrate.
5. Démarrer la mesure de l'absorbance.
6. Utiliser les résultats pour préparer la courbe de calibration conformément au tableau ci-dessous.

Taux de dilution	%	(OD/min)
1/20	X*	Résultat 1
1/40	X/2	Résultat 2
1/60	X/3	Résultat 3
0	0	Résultat 4

* Valeur Yumizen G CAL issue de l'annexe jointe.

7. Sélectionner Calibration > Test chromogène > AT(III) > Réactif > Réactif 1.
8. Entrer le nom, le numéro de lot et la date d'expiration.
9. Appuyer sur Valider (✓).
10. Sélectionner Réactif 2.
11. Entrer le nom, le numéro de lot et la date d'expiration.
12. Appuyer sur Valider (✓).
13. Si nécessaire, appuyer sur **Oui** pour écraser les réglages précédents.
14. Appuyer sur %.
15. Sélectionner Calibrant, puis entrer le nom, le numéro de lot et la date d'expiration.
16. Entrer les paires de point et valider (✓) chaque point.
17. Si nécessaire, appuyer sur **Oui** pour enregistrer les réglages.

PROCÉDURE DE TEST

L'essai Yumizen G AT est un test chromogène qui peut être utilisé avec des analyseurs de coagulation semi-automatiques (gamme Yumizen G) en suivant le protocole détaillé ci-dessous. Une double mesure est recommandée.

1.	Dilution de l'échantillon avec tampon Diluent	1:20
2.	Ajout du tampon dilué dans la cuvette	50 µL
3.	Ajout du réactif Thrombin dans la cuvette	50 µL
4.	Incubation de l'échantillon et du réactif	2 min
5.	Ajout du réactif Substrate dans la cuvette	50 µL
6.	Démarrage simultané de la lecture de l'absorbance (OD/min) à 405 nm	10-40 sec

Des contrôles normaux et pathologiques sont recommandés pour vérifier les mesures. Chaque laboratoire doit établir son propre programme de contrôle qualité. En cas de détermination à l'aide d'un autre coagulomètre, suivre les instructions du manuel.

CONSERVATION ET STABILITÉ

Les réactifs de l'essai Yumizen G AT dans un flacon intact sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon, s'ils sont stockés à une température comprise entre 2 et 8°C. La stabilité après ouverture du flacon d'origine est indiquée dans le tableau ci-dessous :

T (°C)	20-25	15-19	2-8
Thrombin, Substrate (jours)	-	3	7
Diluent (jours)	3	-	7

Ne pas congeler. Conserver le substrat à l'abri de la lumière.

RÉSULTATS ATTENDUS

Les résultats de l'essai Yumizen G AT peuvent être rapportés en pourcentage (%). Cette dimension est calculée à partir d'une courbe de calibration lin-lin. Chaque laboratoire doit préparer une courbe de calibration spécifique conformément à la description ci-dessus (gamme Yumizen G). En cas de détermination à l'aide d'un autre coagulomètre, suivre les instructions du manuel. La plage normale exprimée en % dans la population adulte est comprise entre 80 et 120%. Chaque laboratoire doit établir sa propre plage normale ou de référence.

LIMITES

L'essai Yumizen G AT ne peut pas être appliqué en cas de présence d'inhibiteurs de la thrombine (p.ex. hirudine, dabigatran, etc.) dans l'échantillon du patient.

CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES

Le test de reproductibilité de l'essai Yumizen G AT sur les analyseurs Horiba Medical (gamme Yumizen G) donne les résultats suivants :

	Intra-essai		Inter-essai	
Échantillon	1	2	3	4
n	10	10	10	10
Moyenne (%)	105,0	45,4	104,6	45,1
CV (%)	1,982	3,954	2,360	2,998

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

- Calibrant pour la calibration (Yumizen G CAL ; n° de cat. : 1300036416)
- Différents niveaux de contrôle de la qualité (Yumizen G CTRL I et II ; n° de cat. : 1300036412)
- Coagulation optique ou mécanique ou autre analyseur de mesure de l'absorbance à 405 nm, analyseurs Horiba (gamme Yumizen G) recommandés.

BIBLIOGRAPHIE

1. CLSI : Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline- Fifth Edition. Document CLSI : H21-A5 ; 28:5 ; 2008.
2. Blombäck M, Blombäck B, Olsson P et Svendsen L : The Assays of Antithrombin Using a Synthetic

Chromogenic Substrate for Thrombin. Thromb Res; 5: 621-632; 1974.

3. Khor B, Van Cott EM : Laboratory tests for antithrombin deficiency. Am J Hematol; 85: 947-950; 2010.

4. Meijer P, Haverkate F, Kluft C : Performance goals for the laboratory testing of antithrombin, protein C and protein S. Thromb Haemost; 96: 584-589; 2006.

5. Directive du Conseil (2000/54/CE). Journal officiel de l'Union européenne. N° L262 (17 octobre 2000) : 21-45



HORIBA ABX SAS

 Parc Euromédecine - Rue du Caducée
B.P. 7290
34184 MONTPELLIER Cedex 4 - FRANCE