

# Yumizen G AT

## SAGGIO CROMOGENICO PER ANTITROMBINA

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

### DENOMINAZIONE DEL PRODOTTO

Saggio cromogenico Yumizen G AT.

### USO PREVISTO

**(Solo per uso diagnostico in vitro)**

Yumizen G AT è un saggio cromogenico utilizzato per la determinazione quantitativa dell'attività dell'antitrombina (AT) nel plasma umano citratato.

### RIEPILOGO E SPIEGAZIONI

L'AT è un inibitore irreversibile della trombina (FIIa) e del FXa. La carenza di AT acquisita o ereditaria costituisce un importante fattore di rischio per la trombosi.

L'AT e la trombina formano un complesso stechiometrico. La velocità di formazione del complesso aumenta considerevolmente in presenza di eparina, pertanto quando questa è presente l'effetto antitrombotico è immediatamente evidente.

### PRINCIPIO

Il saggio Yumizen G AT per la determinazione del livello di AT consiste in due fasi:

1. Il campione di plasma è incubato con una quantità nota ed eccessiva di trombina in presenza di eparina.
2. Dopo la formazione del complesso, l'attività della trombina residua viene determinata attraverso un substrato cromogenico per la trombina (misurazione dell'assorbanza a 405 nm). La quantità di trombina inibita è proporzionale al livello di AT del campione.

### PRINCIPI ATTIVI

- Il reagente Yumizen G AT Thrombin è costituito da trombina di origine bovina liofilizzata in un terreno tamponato che contiene eparina e conservante.
- Yumizen G AT Substrate è un substrato cromogenico liofilizzato per trombina che contiene conservante.
- Yumizen G AT Diluent è un tampone che contiene conservante.

### PRECAUZIONI D'USO

- La persona addetta all'installazione del saggio Yumizen G AT deve essere un professionista di laboratorio qualificato.
- I reagenti del saggio Yumizen G AT, a causa degli ingredienti in essi contenuti, devono essere manipolati con cautela, attenendosi alle precauzioni consigliate per i materiali a rischio biologico.
- I reagenti che entrano a contatto con campioni e altri materiali devono essere trattati come

materiali potenzialmente in grado di trasmettere infezioni e devono essere smaltiti con le opportune precauzioni.

- La contaminazione microbica del reagente potrebbe causare risultati errati e va pertanto evitata.
- Questo reagente è derivato da sostanze di origine animale. Pertanto, deve essere trattato come un campione potenzialmente infetto e manipolato con la dovuta cautela in conformità alle buone pratiche di laboratorio (5).
- Tutti i reagenti, gli scarti e le attrezzature da laboratorio monouso utilizzate devono essere considerati rifiuti pericolosi. La manipolazione e lo smaltimento devono avvenire conformemente alla normativa vigente sul trattamento dei materiali pericolosi.
- Non utilizzare il reagente dopo la data di scadenza stampata sull'etichetta.

### PREPARAZIONE

I reagenti Yumizen G AT Thrombin e Substrate vengono disciolti con 3 mL di acqua distillata. Mantenere il reagente a temperatura ambiente (20-25°C) per almeno 30 minuti per un'adeguata ricostituzione. Agitare delicatamente la fiala in senso orizzontale più volte (5-10) prima dell'uso, senza scuoterla.

Yumizen G AT Diluent è pronto all'uso.

Aspettare che i reagenti abbiano raggiunto la temperatura di lavoro.

### PROVINI

Il saggio Yumizen G AT richiede plasma appena decalcificato. Per ottenerlo, miscelare nove parti di sangue venoso appena prelevato con una parte di trisodio citrato (3,2%; 109 mmol/L). L'utilizzo di una concentrazione più elevata di trisodio citrato (3,8%;

129 mmol/L) è sconsigliato. Miscelare con cautela il sangue e centrifugare il plasma prima del test. Consultare le linee guida H21-A5 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

| T (°C)           | 20-25 | 2-8             | <-20   |
|------------------|-------|-----------------|--------|
| Plasma stabilità | 4 ore | Non accettabile | 1 mese |

### PROCEDURA DI CALIBRAZIONE

La calibrazione del saggio Yumizen G AT è un processo di calibrazione basato sulla diluizione che può essere utilizzato con analizzatori di coagulazione semiautomatici (serie Yumizen G) in base al protocollo descritto di seguito.

Preparare una diluizione seriale del calibratore Yumizen G CAL in base alla tabella qui sotto:

|            | Punto cal. 1 | Punto cal. 2 | Punto cal. 3 | Punto cal. 4 |
|------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Tasso dil. | 1/20         | 1/40         | 1/60         | 0            |

|                         |        |                                  |                                  |        |
|-------------------------|--------|----------------------------------|----------------------------------|--------|
| Yumizen G<br>CAL        | 20 µL  | 100 µL da Punto<br>cal. 1 (1/20) | 100 µL da Punto<br>cal. 1 (1/20) | 0 µL   |
| Yumizen G<br>AT Diluent | 380 µL | 100 µL                           | 200 µL                           | 100 µL |
| Volume<br>totale        | 400 µL | 200 µL                           | 300 µL                           | 100 µL |

È consigliabile eseguire una doppia misurazione.

1. Aggiungere 50 µL di calibratore diluito nella cuvetta.
2. Aggiungere 50 µL di Yumizen G AT Thrombin nella cuvetta.
3. Incubare per 2 min.
4. Aggiungere 50 µL di Yumizen G AT Substrate.
5. Cominciare la misurazione dell'assorbanza.
6. Utilizzare i risultati per preparare la curva di calibrazione in base alla tabella qui sotto.

| Tasso di diluizione | %   | OD/min      |
|---------------------|-----|-------------|
| 1/20                | X*  | Risultato 1 |
| 1/40                | X/2 | Risultato 2 |
| 1/60                | X/3 | Risultato 3 |
| 0                   | 0   | Risultato 4 |

\* Valore Yumizen G CAL dall'allegato.

7. Selezionare Calibrazione > Test cromogenico > AT(III) > Reagente > Reagente 1.
8. Inserire Nome, Numero di lotto e Data di scadenza.
9. Premere conferma (✓).
10. Selezionare Reagente 2.
11. Inserire Nome, Numero di lotto e Data di scadenza.
12. Premere conferma (✓).
13. Se necessario, premere **Si** per sovrascrivere le impostazioni precedenti.
14. Premere %.
15. Selezionare Calibratore e inserire Nome, Numero di lotto e Data di scadenza.
16. Inserire le coppie di punti e confermare (✓) dopo ciascun punto.
17. Se necessario, premere **Si** per salvare le impostazioni.

#### PROCEDURA DEL TEST

Il saggio Yumizen G AT è un test cromogenico che può essere utilizzato con analizzatori di coagulazione semiautomatici (serie Yumizen G) in base al protocollo descritto di seguito. È consigliabile eseguire una doppia misurazione.

|    |                                          |      |
|----|------------------------------------------|------|
| 1. | Diluizione campione con tampone Diluent  | 1:20 |
| 2. | Aggiunta campione diluito nella cuvetta  | 50µL |
| 3. | Aggiunta reagente Thrombin nella cuvetta | 50µL |
| 4. | Incubazione campione e reagente          | 2min |

|    |                                          |           |
|----|------------------------------------------|-----------|
| 5. | Aggiunta reagente Substrate nella        | 50µL      |
| 6. | Cominciare contemporaneamente la lettura | 10-40 sec |

Per verificare le misurazioni si consigliano controlli normali e patologici. Ogni laboratorio deve determinare il proprio programma di controllo qualità. In caso di determinazione con altri coagulometri, seguire le istruzioni del manuale.

#### CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Prima dell'apertura i reagenti del saggio Yumizen G AT sono stabili fino alla data di scadenza indicata sulla fiala, se conservati a 2-8°C. La stabilità dopo l'apertura nella fiala originale è indicata nella tabella seguente:

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

Non congelarli. Conservare il Substrate in un ambiente buio.

#### RISULTATI PREVISTI

I risultati del saggio Yumizen G AT possono essere riportati in percentuale (%). Questa dimensione è calcolata da una curva di calibrazione lin-lin. Ciascun laboratorio dovrebbe preparare una curva di calibrazione specifica per lotto in base alla descrizione sopra riportata (serie Yumizen G). In caso di determinazione con altri coagulometri, seguire le istruzioni del manuale. L'intervallo normale espresso in % nella popolazione adulta è 80-120%. Ogni laboratorio deve determinare il proprio range normale o di riferimento.

#### LIMITAZIONI

Il saggio Yumizen G AT non è applicabile in caso di presenza di inibitori della trombina (ad es. irudina, dagibatran, ecc.) nel campione del paziente.

#### CARATTERISTICHE ANALITICHE

Il test di riproducibilità del saggio Yumizen G AT sugli analizzatori Horiba Medical (serie Yumizen G) fornisce i seguenti risultati:

|           | Intra-test |       | Inter-test |       |
|-----------|------------|-------|------------|-------|
| Campione  | 1          | 2     | 3          | 4     |
| n         | 10         | 10    | 10         | 10    |
| Media (%) | 105,0      | 45,4  | 104,6      | 45,1  |
| CV (%)    | 1,982      | 3,954 | 2,360      | 2,998 |

#### MATERIALI NECESSARI NON IN DOTAZIONE

- Calibratore per la calibrazione (Yumizen G CAL; n. cat.: 1300036416)
- Diversi livelli di controllo per il controllo qualità (controlli Yumizen G CTRL I & II; n. cat.: 1300036412).

- Coagulazione ottica o meccanica o altro analizzatore per misurare l'assorbanza a 405 nm, gli analizzatori Horiba (serie Yumizen G) sono consigliati.

**BIBLIOGRAFIA**

1. CLSI: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline- Fifth Edition. Documento CLSI: H21-A5; 28:5; 2008.
2. Blombäck M, Blombäck B, Olsson P, 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. Direttiva del Consiglio (2000/54/CE). Gazzetta ufficiale delle Comunità europee. N. L262 del 17 ottobre 2000: 21-45

**HORIBA ABX SAS**

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