

Yumizen G AT

OZNACZANIE ANTYTROMBINY METODĄ CHROMOGENICZNĄ

Nr. kat.: 1300036390 4 x 3 mL Trombina
4 x 3 mL Substrat
4 x 7 mL Rozcieńczalnik

NAZWA PRODUKTU

Oznaczanie antytrombiny metodą chromogeniczną Yumizen G AT.

PRZEZNACZENIE

(Wyłącznie do stosowania w diagnostyce in vitro)

Yumizen G AT jest chromogenicznym testem stosowanym do oznaczania ilościowego aktywności antytrombiny (AT) w ludzkim osoczu z cytrynianem.

OMÓWIENIE I ZASADA DZIAŁANIA

Antytrombina jest nieodwracalnym inhibitorem trombiny (FIIa) i FXa. Nabyty lub dziedziczny niedobór antytrombiny stanowi ważny czynnik ryzyka powstawania skrzepu.

Antytrombina i trombina tworzą kompleks stechiometryczny. Szybkość formowania kompleksu jest znacznie zwiększana przez obecność heparyny, dlatego efekt przeciwwązkrzepowy w obecności heparyny pojawia się natychmiast.

ZASADA

Test Yumizen G AT do oznaczania aktywności antytrombiny składa się z dwóch etapów:

1. Próbkę osocza podlega inkubacji ze znaną, nadmierną ilością trombiny w obecności heparyny.
2. Po wykształceniu się kompleksu, aktywność trombiny resztkowej jest oznaczana przez chromogeniczny substrat trombiny (pomiar chłonności przy 405 nm). Ilość zahamowanej trombiny jest proporcjonalna do poziomu antytrombiny w próbce.

SKŁADNIKI AKTYWNE

- Trombina będąca odczynnikiem testu Yumizen G AT to liofilizowana trombina bydlęca w buforowanym podłożu, zawierającym heparynę i środek konserwujący.
- Substrat testu Yumizen G AT Substrate to liofilizowany chromogeniczny substrat trombiny zawierający środek konserwujący.
- Rozcieńczalnik testu Yumizen G AT Diluent jest roztworem buforowym zawierającym środek konserwujący.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Osoba, która korzysta z testu Yumizen G AT, musi być przeszkolonym pracownikiem laboratoryjnym!
- Z odczynników testu Yumizen G AT— ze względu na ich składniki — należy korzystać uważnie, przestrzegając środków ostrożności rekomendowanych w przypadku materiałów

stanowiących zagrożenie biologiczne!

- Odczynnik wchodzący w kontakt z próbkami badanymi i wszystkie pozostałe materiały powinny być traktowane jako potencjalne źródło zakażenia oraz muszą być utylizowane z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności!
- Należy unikać skażenia mikrobiologicznego odczynnika, ponieważ może to doprowadzić do uzyskania błędnych wyników!
- Odczynnik jest sporządzony z substancji pochodzenia zwierzęcego. W związku z tym należy traktować go jako produkt potencjalnie zakaźny i obchodzić się z nim z odpowiednią ostrożnością, stosując dobre praktyki laboratoryjne (5).
- Wszystkie odczynniki, odpady i wykorzystane jednorazowe wyroby laboratoryjne powinny być traktowane jako odpady! Należy się z nimi obchodzić i utylizować je zgodnie z obowiązującymi przepisami dotyczącymi postępowania z materiałami niebezpiecznymi.
- Nie używać odczynnika po upływie terminu ważności nadrukowanego na etykiecie!

PRZYGOTOWANIE

Odczynniki testu Yumizen G AT Thrombin i Substrate należy rozpuścić w 3 mL wody destylowanej. Odczynnik należy utrzymywać w temperaturze pokojowej (20-25°C) przez co najmniej 30 minut w celu właściwej rekonstrukcji. Przed użyciem należy zamieszać zawartość fiołki delikatnie w poziomie (5-10 razy), ale nie wstrząsać.

Rozcieńczalnik Yumizen G AT Diluent jest gotowy do użycia.

Należy poczekać, aż odczynniki osiągną temperaturę roboczą!

PRÓBKİ

Do testu Yumizen G AT potrzebne jest świeżo odwapnione osocze. Aby je uzyskać, należy zmieszać dziewięć części świeżo pobranej krwi żyłnej z jedną częścią cytrynianu trisodowego (3,2%; 109 mmol/L). Użycie cytrynianu trisodowego w wyższym stężeniu (3,8%; 129 mmol/L) jest niezalecane. Przed rozpoczęciem testu należy ostrożnie mieszać krew i odwirować osocze. Patrz wytyczne H21-A5 Instytutu Standardów Klinicznych i Laboratoryjnych (CLSI).

T (°C)	20-25	2-8	<-20
Stabilność osocza	4 godz.	Niedopuszczalna	1 miesiąc

PROCEDURA KALIBRACJI

Kalibracja testu Yumizen jest procesem opartym na rozcieńczaniu kalibratora, który można stosować z półautomatycznymi analizatorami krzepnięcia (linia Yumizen G Line) zgodnie z

opisanym niżej protokołem.

Należy przygotować seryjne rozcieńczenie kalibratora Yumizen G CAL zgodnie z poniższą tabelą:

	Punkt kalibracji nr 1	Punkt kalibracji nr 2	Punkt kalibracji nr 3	Punkt kalibracji nr 4
Stopień rozcieńczenia	1/20	1/40	1/60	0
Yumizen G CAL	20 µL	100 µL z punktu kalibracji nr 1 (1/20)	100 µL z punktu kalibracji nr 1 (1/20)	0 µL
Rozcieńczalnik Yumizen G AT Diluent	380 µL	100 µL	200 µL	100 µL
Łączna objętość	400 µL	200 µL	300 µL	100 µL

Zaleca się powtórzenie pomiaru.

1. Należy dodać 50 µL rozcieńczonego kalibratora do kuwety.
2. Należy dodać 50 µL trombiny Yumizen G AT Thrombin do kuwety.
3. Inkubować przez 2 minuty.
4. Dodać 50 µL substratu Yumizen G AT Substrate.
5. Rozpocząć pomiar chłonności.
6. Użyć wyniki, aby przygotować krzywą kalibracji zgodnie z poniższą tabelą.

Stopień rozcieńczenia	%	OD/min
1/20	X*	Wynik nr 1
1/40	X/2	Wynik nr 2
1/60	X/3	Wynik nr 3
0	0	Wynik nr 4

* Wartość Yumizen G CAL z dołączonego załącznika.

7. Zaznaczyć Kalibracja > Test chromogeniczny > AT(III) > Odczynnik > Odczynnik nr 1.
8. Wprowadzić nazwę, numer serii i datę ważności.
9. Nacisnąć Zatwierdź (✓).
10. Zaznaczyć odczynnik nr 2.
11. Wprowadzić nazwę, numer serii i datę ważności.
12. Nacisnąć Zatwierdź (✓).
13. W razie potrzeby nacisnąć **Tak**, aby zastąpić poprzednie ustawienia.
14. Nacisnąć %.
15. Zaznaczyć kalibrator i wprowadzić nazwę, numer serii i datę ważności.
16. Wprowadzić pary punktów i zatwierdzić (✓) po każdym punkcie.
17. W razie potrzeby wcisnąć **Tak**, aby zapisać ustawienia.

PROCEDURA TESTU

Test Yumizen G AT jest testem chromogenicznym, który można stosować z półautomatycznymi analizatorami krzepnięcia (linia Yumizen G) zgodnie z opisanym niżej protokołem. Zaleca się powtórzenie pomiaru.

1.	Rozcieńczenie próbki buforem do rozcieńczania	1:20
2.	Dodanie rozcieńczonej próbki do kuwety	50 µL
3.	Dodanie odczynnika - trombiny do kuwety	50 µL
4.	Inkubacja próbki i odczynnika	2 min
5.	Dodanie odczynnika - substratu do kuwety	50 µL
6.	Jednoczesne rozpoczęcie analizy chłonności (OD/min) przy 405 nm	10-40 s

W celu weryfikacji pomiarów zalecane jest stosowanie kontroli prawidłowych i zmienionych patologicznie. Każde laboratorium powinno wypracować własny program kontroli jakości. W przypadku oznaczania za pomocą innego koagulometru, należy przestrzegać instrukcji.

PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

Odczynniki testu Yumizen G AT w nienaruszonej fiolce pozostają stabilne do upływu daty ważności podanej na próbówce przy przechowywaniu w temperaturze 2-8°C. Stabilność po otwarciu oryginalnej fiolki jest przedstawiona w poniższej tabeli:

T (°C)	20-25	15-19	2-8
Trombina, Substrat (Dzień)	-	3	7
Rozcieńczalnik	3	-	7

Nie zamrażać! Substrat przechowywać w ciemności!

WYNIKI OCZEKIWANE

Wyniki testu Yumizen G AT można podawać jako wartości procentowe (%). Ten parametr oblicza się na podstawie krzywej kalibracji na wykresie liniowo-liniowym. Każde laboratorium powinno przygotować krzywą kalibracji dla danej serii według powyższego opisu (linia Yumizen G). W przypadku oznaczania za pomocą innego koagulometru, należy przestrzegać instrukcji. Prawidłowy zakres przedstawiany w % w dorosłej populacji wynosi 80-120%. Każde laboratorium powinno ustalić własny zakres norm lub zakres referencyjny.

OGRANICZENIA

Testu Yumizen G AT nie można zastosować w przypadku obecności inhibitorów trombiny (np. hirudyny, dagibatranu, itp.) w próbce pobranej od pacjenta.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

Test powtarzalności dla testu Yumizen G AT

przeprowadzony za pomocą analizatorów Horiba Medical (linia Yumizen G) przyniósł następujące wyniki:

Próbka	Powtarzalność w ramach jednego testu		Powtarzalność między różnymi testami	
	1	2	3	4
n	10	10	10	10
Średnia (%)	105,0	45,4	104,6	45,1
CV (%)	1,982	3,954	2,360	2,998

WYMAGANE WYPOSAŻENIE NIEWCHODZĄCE W SKŁAD PRODUKTU

- Kalibrator do kalibracji (Yumizen G CAL; nr kat.: 1300036416)
- Różne poziomy kontroli dla kontroli jakości (kontrola Yumizen G CTRL I i II; nr kat.: 1300036412).
- Optyczne lub mechaniczne analizatory krzepnięcia lub inne analizatory do wykonania pomiaru chłonności przy 405 nm – zalecane są analizatory Horiba (linia Yumizen G).

LITERATURA

1. CLSI: Collection, Transport, and Processing of

Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline- Fifth Edition. Dokument CLSI: H21-A5; 28:5; 2008.

2. Blombäck M, Blombäck B, Olsson P and 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. Dyrektywa Rady 2000/54/WE. Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej. Nr L262 z 17 października 2000: 21-45



HORIBA ABX SAS

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