

Yumizen G AT

ENSAYO CROMOGENICO DE ANTITROMBINA

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

NOMBRE DEL PRODUCTO

Ensayo cromogénico Yumizen G AT.

USO PREVISTO

(Solo para diagnóstico *in vitro*)

Yumizen G AT es un ensayo cromogénico utilizado para la determinación cuantitativa de la actividad de la antitrombina (AT) en plasma humano citratado.

RESUMEN Y EXPLICACIONES

La AT es un inhibidor irreversible de la trombina (FIIa) y el factor FXa. El déficit de antitrombina adquirido o hereditario constituye un factor de riesgo de trombosis importante.

La antitrombina y la trombina forman un complejo estequiométrico. La velocidad de formación del complejo aumenta en gran medida con la presencia de heparina, por lo tanto, el efecto antitrombótico aparece de inmediato en presencia de la heparina.

PRINCIPIO

El ensayo Yumizen G AT para la determinación del nivel de antitrombina consta de dos pasos:

1. La muestra de plasma se incuba con una cantidad conocida y excesiva de trombina en presencia de heparina.
2. Tras la formación del complejo, se determina la actividad de la trombina residual mediante un sustrato de trombina cromogénico (medición de la absorbencia a 405 nm). La cantidad de trombina inhibida es proporcional al nivel de AT de la muestra.

PRINCIPIOS ACTIVOS

- El reactivo Yumizen G AT Thrombin es una trombina bovina liofilizada en un medio amortiguado que contiene heparina y un conservante.
- Yumizen G AT Substrate es un sustrato cromogénico de trombina liofilizada que contiene un conservante.
- Yumizen G AT Diluent es una solución amortiguadora que contiene un conservante.

PRECAUCIONES

- ¡La persona encargada de instalar el ensayo Yumizen G AT debe ser un empleado del laboratorio que posea la formación adecuada!
- Debido a sus ingredientes, ¡los reactivos del ensayo Yumizen G AT deben manipularse con cuidado y respetando las precauciones recomendadas para aquellos materiales que entrañan riesgos biológicos!

- En caso de que el reactivo entre en contacto con muestras biológicas y otros materiales, ¡deberá manipularse como si pudiera transmitir infecciones y desecharse tomando las precauciones adecuadas!
- ¡Evite la contaminación microbiana del reactivo, ya que, de lo contrario, podrían obtenerse unos resultados erróneos!
- Este reactivo se obtiene a partir de sustancias de origen animal. Por ello, deberá considerarse como potencialmente infeccioso y manipularse con la debida precaución de conformidad con las buenas prácticas de laboratorio (5).
- ¡Todos los reactivos, desechos y equipos de laboratorio desechables utilizados deberán considerarse residuos peligrosos! Su manipulación y posterior eliminación se deberán llevar a cabo de acuerdo con la normativa de tratamiento de materiales peligrosos que corresponda.
- ¡No utilice el reactivo una vez superada la fecha de caducidad que se muestra en las indicaciones!

PREPARACIÓN

Los reactivos Yumizen G AT Thrombin y Substrate se disuelven en 3 mL de agua destilada. Mantenga el reactivo a temperatura ambiente (20-25°C) durante 30 minutos como mínimo para que se reconstituya correctamente. Remueva el vial con cuidado y en sentido horizontal algunas veces más (5-10) antes de utilizarlo, pero no lo agite. Yumizen G AT Diluent está listo para utilizarse.

¡Espere a que los reactivos alcancen la temperatura operativa!

MUESTRAS BIOLÓGICAS

El ensayo Yumizen G AT necesita plasma recién descalcificado. Para obtenerlo, mezcle nueve partes de sangre venosa recién extraída con una parte de citrato trisódico (3,2%; 109 mmol/L). No se recomienda utilizar concentraciones superiores de citrato trisódico (3,8%; 129 mmol/L). Antes de realizar la prueba, mezcle la sangre con cuidado y centrifugue el plasma. Consulte las directrices H21-A5 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

T (°C)	20-25	2-8	<-20
Estabilidad del plasma	4 horas	Inaceptable	1 mes

PROCEDIMIENTO DE CALIBRACIÓN

La calibración del ensayo Yumizen G AT es un proceso basado en la dilución de un calibrador que se puede utilizar con analizadores de coagulación semiautomáticos (Yumizen G Line) de acuerdo con el protocolo que se detalla a continuación. Prepare una dilución en serie del calibrador Yumizen G CAL de acuerdo con lo que se indica en

la siguiente tabla.

	Punto cal. 1	Punto cal. 2	Punto cal. 3	Punto cal. 4
Tasa dil.	1/20	1/40	1/60	0
Yumizen G CAL	20 µL	100 µL desde punto cal. 1 (1/20)	100 µL desde punto cal. 1 (1/20)	0 µL
Yumizen G AT Diluent	380 µL	100 µL	200 µL	100 µL
Volumen total	400 µL	200 µL	300 µL	100 µL

Se recomienda realizar una medición por duplicado.

1. Añada 50 µL de calibrador diluido en la cubeta.
2. Añada 50 µL de Yumizen G AT Thrombin en la cubeta.
3. Incúbela durante 2 min.
4. Añada 50 µL de Yumizen G AT Substrate.
5. Inicie la medición de la absorbencia.
6. Utilice los resultados para preparar la curva de calibración de acuerdo con la siguiente tabla.

Tasa de dilución	%	OD/min
1/20	X*	Resultado 1
1/40	X/2	Resultado 2
1/60	X/3	Resultado 3
0	0	Resultado 4

* Valor de Yumizen G CAL del anexo adjunto.

7. Seleccione Calibración > Prueba cromogénica > AT(III) > Reactivo > Reactivo 1.
8. Introduzca el nombre, el número de lote y la fecha de caducidad.
9. Pulse en validar (✓).
10. Seleccione el reactivo 2.
11. Introduzca el nombre, el número de lote y la fecha de caducidad.
12. Pulse en validar (✓).
13. De ser necesario, pulse **Sí** para sobrescribir la anterior configuración.
14. Pulse %.
15. Seleccione el calibrador e introduzca el nombre, el número de lote y la fecha de caducidad.
16. Introduzca las parejas de cada punto y pulse en validar (✓) después de cada punto.
17. De ser necesario, pulse **Sí** para guardar la configuración.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

El ensayo Yumizen G AT es una prueba cromogénica que se puede utilizar con analizadores de coagulación semiautomáticos

(Yumizen G Line) de acuerdo con el protocolo que se detalla a continuación. Se recomienda realizar una medición por duplicado.

1.	Dilución de la muestra con la solución amortiguadora Diluent	1:20
2.	Adición de la muestra diluida a la cubeta	50µL
3.	Adición del reactivo Thrombin a la cubeta	50µL
4.	Incubación de la muestra y el reactivo	2min
5.	Adición del reactivo Substrate a la cubeta	50µL
6.	Inicio simultáneo de la lectura de absorbencia (OD/min) a 405 nm	10-40 s

Para verificar la medición, se recomienda realizar controles normales y patológicos. Cada laboratorio debe establecer su propio programa de control de la calidad. En caso de que se realice una determinación con otro coagulómetro, siga las instrucciones del manual.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Cuando se almacenan a una temperatura de 2-8°C en viales intactos, los reactivos del ensayo Yumizen G AT permanecen estables hasta la fecha de caducidad que se indica en el frasco. En la siguiente tabla se muestra la estabilidad tras la apertura del vial original:

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

¡No congelar! ¡Mantenga el reactivo Substrate alejado de la luz!

RESULTADOS ESPERADOS

Los resultados del ensayo Yumizen G AT se pueden expresar en forma de porcentaje (%). Esta dimensión se calcula a partir de una curva de calibración lineal-lineal. Cada laboratorio deberá preparar una curva de calibración específica para cada lote de acuerdo con la anterior descripción (Yumizen G Line). En caso de que se realice una determinación con otro coagulómetro, siga las instrucciones del manual.

El rango normal expresado en un porcentaje para la población de adultos se sitúa entre 80-120%. Cada laboratorio debe determinar su propio intervalo normal o de referencia.

LIMITACIONES

El ensayo Yumizen G AT no se puede utilizar en caso de que existan inhibidores de trombina (p. ej., hirudina, dagibatran, etc.) en la muestra del paciente.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

La prueba de reproducibilidad del ensayo Yumizen G AT en analizadores de Horiba Medical (Yumizen G Line) ofrece los siguientes resultados:

	Intraanálisis	Entre análisis
--	---------------	----------------

Muestra	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

MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

- Calibrador para la calibración (Yumizen G CAL; n.º de cat.: 1300036416)
- Distintos niveles de control para el control de calidad (control Yumizen G CTRL I & II; n.º de cat.: 1300036412).
- Coagulación óptica o mecánica u otros analizadores para la medición de la absorbencia a 405 nm; se recomienda utilizar analizadores de Horiba (Yumizen G Line).

BIBLIOGRAFÍA

1. CLSI: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline- Fifth Edition. CLSI

document: 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. Council Directive (2000/54/EC). Official Journal of the European Communities. No. L262 from October 17, 2000: 21-45

**HORIBA ABX SAS**

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