

Yumizen G AT

ΧΡΩΜΟΓΟΝΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΙΝΗΣ

Αριθ. κατ.: 1300036390

4 x 3 ml Thrombin
(Θρομβίνη)
4 x 3 ml Substrate
(Υπόστρωμα)
4 x 7 ml Diluent
(Αραιωτικό)

ΟΝΟΜΑ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ

Yumizen G AT Χρωμογόνο
προσδιορισμός αντιθρομβίνης.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

(Αποκλειστικά για In Vitro
διαγνωστική χρήση)

Το Yumizen G AT είναι ένας χρωμογόνο
προσδιορισμός για τον ποσοτικό προσδιορισμό
της δραστηριότητας της αντιθρομβίνης (AT) σε
ανθρώπινο πλάσμα με κιτρικό.

ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Η AT είναι ένας μη αντιστρεπτός αναστολέας της
θρομβίνης (FIIa) και του παράγοντα FXa. Η
επίκτητη ή κληρονομική ανεπάρκεια AT είναι
σημαντικός παράγοντας κινδύνου για τη
δημιουργία θρόμβωσης.

Η AT και η θρομβίνη σχηματίζουν ένα
στοιχειομετρικό σύμπλοκο. Η ταχύτητα
σχηματισμού του συμπλόκου αυξάνεται
σημαντικά επί παρουσίας ηπαρίνης, συνεπώς η
αντιθρομβωτική επίδραση εμφανίζεται αμέσως
όταν υπάρχει ηπαρίνη.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Η δοκιμασία Yumizen G AT για τον προσδιορισμό
του
επιπέδου της AT περιλαμβάνει
δύο βήματα:

1. Το δείγμα πλάσματος επωάζεται με γνωστή,
περίσσεια ποσότητα θρομβίνης παρουσία
ηπαρίνης.

2. Μετά τον σχηματισμό του συμπλόκου, η
δραστηριότητα της υπολειμματικής θρομβίνης
προσδιορίζεται από ένα χρωμογόνο υπόστρωμα
θρομβίνης (μέτρηση απορρόφησης στα 405-nm). Η
ποσότητα ανεσταλμένης θρομβίνης είναι ανάλογη
του επιπέδου AT του δείγματος.

ΕΝΕΡΓΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

- Το αντιδραστήριο Yumizen G AT Thrombin είναι
μια λυοφιλική βόεια θρομβίνη σε
ρυθμιστικό μέσο που περιέχει ηπαρίνη και
συντηρητικό.
- Το Yumizen G AT Substrate είναι ένα
λυοφιλικό χρωμογόνο υπόστρωμα
θρομβίνης το οποίο περιέχει συντηρητικό.
- Το αραιωτικό Yumizen G AT Diluent είναι ένα
ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει συντηρητικό.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- Το άτομο που εγκαθιστά τον προσδιορισμό
Yumizen G AT πρέπει να είναι εκπαιδευμένος
επαγγελματίας εργαστηρίου!
- Τα αντιδραστήρια του προσδιορισμού Yumizen G
AT, λόγω των συστατικών τους, θα πρέπει να
διαχειρίζονται με προσοχή, τηρώντας τις
προφυλάξεις που συνιστώνται για βιολογικά
επικίνδυνα υλικά!
- Το αντιδραστήριο που έρχεται σε επαφή με
δείγματα και άλλα υλικά θα πρέπει να
αντιμετωπίζεται ως ικανό να μεταδώσει μόλυνση
και θα πρέπει να απορρίπτεται με κατάλληλες
προφυλάξεις!
- Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση του
αντιδραστηρίου, διαφορετικά ενδέχεται να
προκύψουν εσφαλμένα αποτελέσματα!
- Αυτό το αντιδραστήριο παρασκευάζεται από
ουσίες ζωικής προέλευσης. Κατά συνέπεια, θα
πρέπει να αντιμετωπίζεται ως δυνητικά
μολυσματικό υλικό και ο χειρισμός του θα
πρέπει να γίνεται λαμβάνοντας τις κατάλληλες
προφυλάξεις, σύμφωνα με την ορθή
εργαστηριακή πρακτική (5).
- Όλα τα αντιδραστήρια, τα απόβλητα και ο
χρησιμοποιημένος αναλώσιμος εργαστηριακός
εξοπλισμός θα πρέπει να θεωρούνται
επικίνδυνα απόβλητα! Ο χειρισμός και η
απόρριψή τους θα πρέπει να γίνονται
σύμφωνα με τον ισχύοντα κανονισμό για τη
διαχείριση επικίνδυνων υλικών.
- Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο πέραν
της ημερομηνίας λήξης που αναγράφεται στην
ετικέτα!

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ

Τα αντιδραστήρια θρομβίνης και υποστρώματος
του Yumizen G AT διαλύονται σε 3 ml
απεσταγμένου νερού. Διατηρήστε το
αντιδραστήριο σε θερμοκρασία δωματίου (20-
25°C) για τουλάχιστον 30 λεπτά, ώστε να
επιτευχθεί σωστή ανασύσταση. Πραγματοποιήστε
ήπια περιδίνιση του φιαλιδίου σε οριζόντια θέση
αρκετές φορές (5-10) πριν το χρησιμοποιήσετε,
αλλά μην το ανακινείτε.

Το αραιωτικό Yumizen G AT είναι έτοιμο
για χρήση.

Περιμένετε μέχρι τα αντιδραστήρια να φτάσουν
στη θερμοκρασία εργασίας!

ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Ο προσδιορισμός Yumizen G AT απαιτεί
πρόσφατα απασβεστωμένο πλάσμα. Για την
παρασκευή, αναμίξτε εννέα μέρη πρόσφατα
ληφθέντος φλεβικού αίματος με ένα μέρος
κιτρικού τρινατρίου (3,2%, 109mmol/L).

Η χρήση υψηλότερης συγκέντρωσης κυττρικού τρινατρίου (3,8%, 129 mmol/L) δεν συνιστάται. Αναμίξτε προσεκτικά το αίμα και φυγοκεντρήστε το πλάσμα πριν από τη δοκιμασία. Ανατρέξτε στις κατευθυντήριες οδηγίες H21-A5 του Ινστιτούτου Κλινικών και Εργαστηριακών Προτύπων (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI).

T (°C)	20-25	2-8	<-20
Σταθερότητα πλάσματος	4 ώρες	Μη αποδεκτό	1 μήνας

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Η βαθμονόμηση του προσδιορισμού Yumizen G AT είναι μια διαδικασία που βασίζεται σε αραιώσεις βαθμονομητή, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με ημιαυτόματους αναλυτές πήξης αίματος (Yumizen G Line), σύμφωνα με το πρωτόκολλο που παρουσιάζεται αναλυτικά παρακάτω.

Προετοιμάστε διαδοχικές αραιώσεις του βαθμονομητή Yumizen G CAL σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα:

	Σημείο βαθμον. 1	Σημείο βαθμον. 2	Σημείο βαθμον. 3	Σημείο βαθμον. 4
Αναλογία αραιώσης	1/20	1/40	1/60	0
Yumizen G CAL	20 μL	100 μL από σημείο βαθμον. 1 (1/20)	100 μL από σημείο βαθμον. 1 (1/20)	0 μL
Yumizen G AT Diluent	380 μL	100 μL	200 μL	100 μL
Συνολικός όγκος	400 μL	200 μL	300 μL	100 μL

Συνιστάται η διενέργεια μέτρησης εις διπλούν.

1. Προσθέστε 50 μL αραιωμένου βαθμονομητή στην κυψελίδα.
2. Προσθέστε 50 μL Thrombin Yumizen G AT στην κυψελίδα.
3. Επώστε για 2-λεπτά.
4. Προσθέστε 50-μL Yumizen G AT Substrate.
5. Ξεκινήστε τη μέτρηση απορρόφησης.
6. Χρησιμοποιήστε τα αποτελέσματα για να δημιουργήσετε την καμπύλη βαθμονόμησης σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα.

Αναλογία αραιώσης	%	Ο.Π./λεπτό
1/20	X*	Αποτέλεσμα 1
1/40	X/2	Αποτέλεσμα 2
1/60	X/3	Αποτέλεσμα 3
0	0	Αποτέλεσμα 4

* Τιμή Yumizen G CAL από το συνημμένο παράρτημα.

7. Επιλέξτε Calibration (Βαθμονόμηση) > Chromogenic test (Χρωμογόνος δοκιμασία) > AT(III) > Reagent (Αντιδραστήριο) > Reagent 1 (Αντιδραστήριο 1).

8. Εισαγάγετε Όνομα, Αριθμό παρτίδας και Ημερομηνία λήξης.
9. Πατήστε επιβεβαίωση (✓).
10. Επιλέξτε Reagent 2 (Αντιδραστήριο 2).
11. Εισαγάγετε Όνομα, Αριθμό παρτίδας και Ημερομηνία λήξης.
12. Πατήστε επικύρωση (✓).
13. Εάν χρειάζεται, πατήστε **Yes** (Ναι) για να αντικαταστήσετε τις προηγούμενες ρυθμίσεις.
14. Πατήστε %.
15. Επιλέξτε Calibrator (Βαθμονομητής) και εισαγάγετε Όνομα, Αριθμό παρτίδας και Ημερομηνία λήξης.
16. Εισαγάγετε τα ζεύγη σημείων και επιβεβαιώστε (✓) μετά από κάθε σημείο.
17. Εάν χρειάζεται, πατήστε **Yes** (Ναι) για να αποθηκεύσετε τις ρυθμίσεις.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ

Ο προσδιορισμός Yumizen G AT είναι μια χρωμογόνος δοκιμασία, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με ημιαυτόματους αναλυτές πήξης αίματος (Yumizen G Line), σύμφωνα με το πρωτόκολλο που παρουσιάζεται αναλυτικά παρακάτω. Συνιστάται η διενέργεια μέτρησης εις διπλούν.

1.	Αραίωση δείγματος με ρυθμιστικό διάλυμα Diluent	1:20
2.	Προσθήκη αραιωμένου δείγματος στην κυψελίδα	50-μl
3.	Προσθήκη αντιδραστηρίου Thrombin στην κυψελίδα	50-μl
4.	Επώση δείγματος και αντιδραστηρίου	2-λεπτά
5.	Προσθήκη αντιδραστηρίου Substrate στην κυψελίδα	50-μl
6.	Ταυτόχρονη έναρξη της μέτρησης απορρόφησης (Ο.Π./λεπτό) στα 405-nm	10-40-δευτ.

Για επαλήθευση των μετρήσεων συνιστάται η χρήση φυσιολογικών και παθολογικών μαρτύρων. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να καθιερώνει το δικό του πρόγραμμα ελέγχου ποιότητας. Εάν ο προσδιορισμός έχει διεξαχθεί με οποιονδήποτε άλλο αναλυτή πήξης του αίματος, ακολουθήστε τις οδηγίες του σχετικού εγχειριδίου.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Τα αντιδραστήρια του προσδιορισμού Yumizen G AT σε άθικτο φιαλίδιο παραμένουν σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο φιαλίδιο, εφόσον φυλάσσονται στους 2-8°C. Η σταθερότητα εντός του αρχικού φιαλιδίου μετά το άνοιγμα, παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα:

T (°C)	20-25	15-19	2-8
Θρομβίνη, Υπόστρωμα	-	3	7
Αραιωτικό (Ημέρα)	3	-	7

Να μην καταψύχονται! Διατηρείτε το υπόστρωμα σε σκοτεινό μέρος!

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η αναφορά των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού Yumizen G AT μπορεί να γίνει σε ποσοστό επί τοις εκατό (%). Αυτή η διατύπωση υπολογίζεται από καμπύλη βαθμονόμησης lin-lin. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να δημιουργήσει μια ειδική για την παρτίδα καμπύλη βαθμονόμησης σύμφωνα με την παραπάνω περιγραφή (Yumizen G Line). Εάν ο προσδιορισμός έχει διεξαχθεί με οποιονδήποτε άλλο αναλυτή πήξης του αίματος, ακολουθήστε τις οδηγίες του σχετικού εγχειριδίου.

Το εύρος φυσιολογικών τιμών σε % για τον ενήλικο πληθυσμό είναι 80-120%. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να προσδιορίζει το δικό του εύρος φυσιολογικών τιμών ή τιμών αναφοράς.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Ο προσδιορισμός Yumizen G AT δεν μπορεί να εφαρμοστεί παρουσία αναστολέων θρομβίνης (π.χ., ιρουδίνης, δαβιγατράνης, κ.λπ.) στο δείγμα ασθενούς.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Η δοκιμασία αναπαραγωγιμότητας του προσδιορισμού Yumizen G AT σε αναλυτές της Horiba Medical (Yumizen G line) δίνει το ακόλουθο αποτέλεσμα:

	Εντός του προσδιορισμού		Μεταξύ των προσδιορισμών	
Δείγμα	1	2	3	4
n	10	10	10	10
Μέση τιμή	105,0	45,4	104,6	45,1
CV (%)	1,982	3,954	2,360	2,998

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

- Βαθμονομητής για τη βαθμονόμηση (Yumizen G CAL, αριθ. κατ.: 1300036416)
- Διαφορετικά επίπεδα μαρτύρων για ποιοτικό έλεγχο (Μάρτυρας Yumizen G CTRL I & II, αριθ. κατ.: 1300036412).
- Οπτικοί ή μηχανικοί αναλυτές πήξης του αίματος ή άλλοι αναλυτές για μέτρηση της απορρόφησης στα 405—nm. Συνιστώνται αναλυτές της Horiba (Yumizen G Line).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

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