

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 ilościowej 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 fiolki 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.

- Należy dodać 50 µL rozcieńzonego kalibratora do kuwety.
- Należy dodać 50 µL trombiny Yumizen G AT Thrombin do kuwety.
- Inkubować przez 2 minuty.
- Dodać 50 µL substratu Yumizen G AT Substrate.
- Rozpocząć pomiar chłonności.
- 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.

- Zaznaczyć Kalibracja > Test chromogeniczny > AT(III) > Odczynnik > Odczynnik nr 1.
- Wprowadzić nazwę, numer serii i datę ważności.
- Nacisnąć Zatwierdź (✓).
- Zaznaczyć odczynnik nr 2.
- Wprowadzić nazwę, numer serii i datę ważności.
- Nacisnąć Zatwierdź (✓).
- W razie potrzeby nacisnąć **Tak**, aby zastąpić poprzednie ustawienia.
- Nacisnąć %.
- Zaznaczyć kalibrator i wprowadzić nazwę, numer serii i datę ważności.
- Wprowadzić pary punktów i zatwierdzić (✓) po każdym punkcie.
- 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^a**

- 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).
- Odczynnik może być stosowany w metodzie ręcznej, półautomatycznej i automatycznej.
- Analizator krzepnięcia lub inny analizator do pomiaru absorbancji przy długości fali 405 nm. Zalecane są analizatory firmy 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

PRODUCENT**HORIBA ABX SAS**

Parc Euromédecine

Rue du Caducée

BP 7290

34184 Montpellier Cedex 4

FRANCE



^aModyfikacja: modyfikacja wymaganych materiałów.