



Yumizen G AT

ENSAIO CROMOGÊNICO ANTITROMBINA

Nº cat.: 1300036390 4 x 3 ml de trombina
4 x 3 ml de substrato
4 x 7 ml de diluente

NOME DO PRODUTO

Ensaio cromogênico Yumizen G AT.

USO PREVISTO

(Usar somente para diagnóstico in vitro)

Yumizen G AT é um ensaio cromogênico usado para a determinação quantitativa da atividade de antitrombina (AT) em plasma humano tratado com citrato.

RESUMO E EXPLICAÇÕES

AT é um inibidor irreversível de trombina (FIIa) e FXa. A deficiência de AT adquirida ou hereditária é um fator de risco importante de trombose.

AT e trombina formam um complexo estoiquiométrico. A velocidade da formação do complexo aumenta muito com a presença de heparina e, assim, o efeito antitrombótico aparece imediatamente quando a heparina está presente.

PRINCÍPIO

Ensaio Yumizen G AT para determinação do Nível de AT consiste em duas etapas:

1. A amostra de plasma é incubada com uma quantidade conhecida em excesso de trombina na presença de heparina.
2. Depois da formação do complexo, a atividade da trombina residual é determinada por um substrato de trombina cromogênico (medição de absorção em 405 nm). A quantidade de trombina inibida é proporcional ao nível de AT da amostra.

PRINCÍPIOS ATIVOS

- O reagente de trombina Yumizen G AT é uma trombina bovina congelada em meio tamponado que contém heparina e conservante.
- O substrato Yumizen G AT é substrato de trombina cromogênico congelado que contém conservante.
- O diluente Yumizen G AT é um tampão que contém conservante.

PRECAUÇÕES

- A pessoa que instala o ensaio Yumizen G AT deve ser um profissional treinado de laboratório.
- Devido a seus ingredientes, os reagentes do ensaio Yumizen G AT devem ser manuseados com cuidado, através da observação das precauções recomendadas para material de riscos biológicos.
- O reagente em contato com amostras e outros materiais deve ser manuseado como se fosse capaz de transmitir infecção e deve ser descartado com as devidas precauções.

- Evite a contaminação microbiana do reagente ou resultados incorretos podem ocorrer.
- Esse reagente é obtido a partir de substâncias de origem animal. Consequentemente, ele deve ser tratado como possivelmente infeccioso e manuseado com o devido cuidado de acordo com as boas práticas de laboratório (5).
- Todos os reagentes, resíduos e equipamentos de laboratório descartáveis utilizados devem ser considerados resíduos nocivos. Seu manuseio e eliminação devem ser feitos de acordo com o regulamento válido de processamento de materiais de risco.
- Não use o reagente depois da data de validade impressa no rótulo.

PREPARAÇÃO

Os reagentes de trombina e substrato Yumizen G AT são dissolvidos com 3 ml de água destilada. Mantenha o reagente em temperatura ambiente (20 a 25 °C) por pelo menos 30 minutos para a devida reconstituição. Gire o frasco com cuidado na horizontal mais vezes (5 a 10) antes de usar, mas não agite.

O diluente Yumizen G AT está pronto para uso.

Aguarde até o reagente atingir a temperatura operacional.

AMOSTRAS

O ensaio Yumizen G AT precisa de plasma fresco descalcificado. Para obtê-lo, misture nove partes de sangue venoso recentemente retirado com uma parte de citrato trissódico (3,2%; 109mmol/L). Não é recomendado usar uma concentração maior de citrato trissódico (3,8%; 129mmol/L). Misture o sangue cuidadosamente e centrifugue o plasma antes do teste. Consulte as diretrizes do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) H21-A5.

T (°C)	20-25	2-8	<-20
Estabilidade do	4 horas	Inaceitável	1 mês

PROCEDIMENTO DE CALIBRAGEM

A calibragem do ensaio Yumizen G AT é um processo com base em diluição do calibrador, que pode ser usado com analisadores de coagulação semiautomáticos (linha Yumizen G) de acordo com o protocolo detalhado abaixo.

Prepare uma diluição em série do calibrador Yumizen G CAL de acordo com a tabela abaixo:

	Ponto de calibragem 1	Ponto de calibragem 2	Ponto de calibragem 3	Ponto de calibragem 4
Taxa de diluição	1/20	1/40	1/60	0

Yumizen G CAL	20 µL	100 µL no ponto de calibragem 1 (1/20)	100 µL no ponto de calibragem 1 (1/20)	0 µL
Diluyente Yumizen G AT	380 µL	100 µL	200 µL	100 µL
Volume total	400 µL	200 µL	300 µL	100 µL

É recomendado medir duas vezes.

1. Adicione 50 µL do calibrador diluído na cubeta.
2. Adicione 50 µL da trombina Yumizen G AT na cubeta.
3. Incube por 2 minutos.
4. Adicione 50 µL de substrato Yumizen G AT.
5. Inicie a medição de absorção.
6. Use os resultados para preparar a curva de calibragem de acordo com a tabela abaixo.

Taxa de diluição	%	DE/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 no anexo fornecido.

7. Selecione Calibration > Chromogenic test > AT(III) > Reagent > Reagent 1.
8. Insira nome, número do lote e data de validade.
9. Pressione validate (✓).
10. Selecione Reagent 2.
11. Insira nome, número do lote e data de validade.
12. Pressione validate (✓).
13. Se necessário, pressione **Yes** para substituir as configurações anteriores.
14. Pressione %.
15. Selecione Calibrator e insira nome, número do lote e data de validade.
16. Insira os pares de pontos e pressione validate (✓) depois de cada ponto.
17. Se necessário, pressione **Yes** para armazenar as configurações.

PROCEDIMENTO DE TESTE

O ensaio Yumizen G AT é um teste cromogênico, que pode ser usado com analisadores de coagulação semiautomáticos (linha Yumizen G) de acordo com o protocolo detalhado abaixo. É recomendado medir duas vezes.

1.	Diluição da amostra com tampão de diluyente	1:20
2.	Adição da amostra diluída na cubeta	50 µl
3.	Adição do reagente de trombina na cubeta	50 µl

4.	Incubação de amostra e reagente	2min
5.	Adição do reagente de substrato na cubeta	50 µl
6.	Início simultâneo da leitura de absorção (DE/min) a 405 nm	10-40 s

Os controles normais e patológicos são recomendados para a medição verificada. Cada laboratório deve estabelecer seu próprio programa de controle de qualidade. Em caso de determinação por algum outro coagulômetro, siga as instruções do manual.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Os reagentes do ensaio Yumizen G AT em frasco intacto ficam estáveis até a data de validade fornecida no frasco, quando armazenados a 2–8°C. A estabilidade depois de aberto no frasco original é mostrada na tabela abaixo:

T (°C)	20-25	15-19	2-8
Trombina, substrato (Dia)	-	3	7
Diluyente (Dia)	3	-	7

Não congele! Mantenha o substrato no escuro.

RESULTADOS ESPERADOS

Os resultados do ensaio Yumizen G AT podem ser expressos em porcentagem (%). Essa dimensão é calculada em uma curva de calibragem lin-lin. Cada laboratório deve preparar uma curva de calibragem específica do lote de acordo com a descrição acima (linha Yumizen G). Em caso de determinação por algum outro coagulômetro, siga as instruções do manual.

A faixa normal expressa em % na população adulta é 80-120%. Cada laboratório deve determinar suas próprias faixas normais ou de referência.

LIMITAÇÕES

O ensaio Yumizen G AT não pode ser aplicado em caso de presença de inibidores de trombina (por exemplo, hirudin, dagibatran etc.) na amostra do paciente.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

O teste de reprodutibilidade do ensaio Yumizen G AT nos analisadores da Horiba Medical (linha Yumizen G) fornece os seguintes resultados:

	Intraensaio		Interensaio	
Amostra	1	2	3	4
n	10	10	10	10
Média (%)	105,0	45,4	104,6	45,1
CV (%)	1,982	3,954	2,360	2,998

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS^a

- Calibrador da calibragem (Yumizen G CAL; n° cat.: 1300036416)
- Níveis diferentes de controle para controle de qualidade (controle Yumizen G CTRL I e II; n° cat.: 1300036412).
- Este reagente pode ser usado através de métodos manual, semiautomatizado e automatizado.
- Coagulação ou outro analisador para medir a absorbância a 405 Nm; os analisadores Horiba (Yumizen G Line) são recomendados.

BIBLIOGRAFIA

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 e 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 de 17 de outubro de 2000: 21-45

FABRICANTE**HORIBA ABX SAS**

Parc Euromédecine

Rue du Caducée

BP 7290

34184 Montpellier Cedex 4

FRANCE



^aModificação: alteração dos materiais necessários.