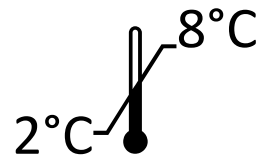
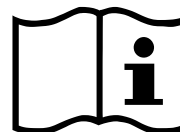


# ACTICHROME® AT-III

**REF 838**

*χρωμογονική δοκιμασία για τη μέτρηση της  
δραστικότητας αντιθρομβίνης III στο ανθρώπινο πλάσμα*



Obelis s.a  
Boulevard Général Wahis 53, 1030 Brussels, ΒΕΛΓΙΟ

## ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Το ACTICHROME® AT III προορίζεται για τον ποσοτικό προσδιορισμό της δραστηριότητας της αντιθρομβίνης III στο ανθρώπινο πλάσμα με χρωμογονική δοκιμασία. Η δοκιμασία προορίζεται για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

## ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Η αντιθρομβίνη III είναι αναστολέας των σερινοπρωτεϊνών του πλάσματος. Μια σημαντική λειτουργία της αντιθρομβίνης III είναι η αναστολή της δραστηριότητας της θρομβίνης. Συνήθως, ο ρυθμός αναστολής της θρομβίνης από την αντιθρομβίνη III είναι αργός (προοδευτική δραστηριότητα αντιθρομβίνης). Ωστόσο, ο ρυθμός αναστολής μπορεί να ενισχυθεί κατά αρκετές χιλιάδες παρουσία ηπαρίνης (δραστηριότητα συμπαράγοντα ηπαρίνης).

Οι Tolefsen και Blank ανέφεραν έναν άλλο ταχύ αναστολέα της θρομβίνης που εξαρτάται από την ηπαρίνη, τον συμπαράγοντα II της ηπαρίνης, στο ανθρώπινο πλάσμα. Αυτή η πρωτεΐνη μπορεί να προκαλέσει παρεμβολές στους προσδιορισμούς της αντιθρομβίνης III, κυρίως σε υψηλές συγκεντρώσεις ηπαρίνης (2 USP μονάδες/ml). Για να παροχή ειδικότητας στην αντιθρομβίνη III, αυτό το σύστημα δοκιμασίας χρησιμοποιεί χαμηλότερη τελική συγκέντρωση ηπαρίνης (1,0 USP μονάδες/ml) στην οποία η ενισχυμένη από την ηπαρίνη αδρανοποίηση της θρομβίνης που προκαλείται από τον συμπαράγοντα II της ηπαρίνης είναι αμελητέα. Επίσης, ο ανθρώπινος συμπαράγοντας II της ηπαρίνης αντιδρά ευκολότερα με την ανθρώπινη θρομβίνη παρά με τη βόεια θρομβίνη (Fribberger, *et al.*). Συνεπώς, περαιτέρω ειδικότητα για την αντιθρομβίνη III παρέχεται στο παρόν σύστημα δοκιμασίας με τη χρήση βόειας θρομβίνης.

## ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Στην παρούσα μέθοδο δύο σταδίων (Odegard, *et al.*), η θρομβίνη προστίθεται σε αραιωμένο διάλυμα πλάσματος που περιέχει αντιθρομβίνη III παρουσία περίσσειας ηπαρίνης. Μετά από μια αρχική επώαση (στάδιο 1), προσδιορίζεται η υπολειπόμενη θρομβίνη με ένα ειδικό για τη θρομβίνη χρωμογόνο υπόστρωμα (στάδιο 2). Η υπολειπόμενη δραστηριότητα της θρομβίνης είναι αντιστρόφως ανάλογη της συγκέντρωσης της αντιθρομβίνης III στο πλάσμα.

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Το REF 838 περιέχει επαρκή αντιδραστήρια για την εκτέλεση 60 δοκιμών χρησιμοποιώντας μια χειροκίνητη μέθοδο.



**R1 Βόεια Θρομβίνη:** 6 φιαλίδια (λυοφιλοποιημένα).

**R2 SPECTROZYME® TH:** 6 φιαλίδια (λυοφιλοποιημένα).

**R3 Ρυθμιστικό Διάλυμα Δοκιμασίας:** 6 φιαλίδια, 5 ml, συμπύκνωμα 10X.

## ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Αυτό το προϊόν περιέχει πρώτη ύλη ζωικής προέλευσης. Δεδομένου ότι καμία μέθοδος εξέτασης δεν μπορεί να εγγυηθεί πλήρως ότι τα προϊόντα που προέρχονται από ζωικά δείγματα δεν μεταδίδουν αιματογενώς μεταδιδόμενα παθογόνα, ο χειρισμός αυτού του αντιδραστήριου θα πρέπει να γίνεται όπως συνιστάται για οποιοδήποτε δυνητικά μολυσματικό δείγμα.

Βόεια θρομβίνη	Προειδοποίηση		H315, H319; P264, P280, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P337 + P313		
SPECTROZYME TH	Προειδοποίηση		<table border="1"><tr><td>CONT</td><td>Άλας διοξικού Η-D-κυκλοεξυλαλανυλ-αλανυλ-αργινίνη-παρα-νιτροανιλιδίου</td></tr></table> H315, H319, H335, P261, P264, P280, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P337 + P313	CONT	Άλας διοξικού Η-D-κυκλοεξυλαλανυλ-αλανυλ-αργινίνη-παρα-νιτροανιλιδίου
CONT	Άλας διοξικού Η-D-κυκλοεξυλαλανυλ-αλανυλ-αργινίνη-παρα-νιτροανιλιδίου				
Ρυθμιστικό Διάλυμα Δοκιμασίας	-	-	Τηρείτε τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές υγιεινής.		

**Δηλώσεις  
Επικινδυνότητας:**

H315 Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος.  
H319 Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό.  
H335 Μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό της αναπνευστικής οδού.

**Δηλώσεις  
Προφυλάξεων:**

P261 Αποφεύγετε να αναπνέετε σκόνη.  
P264 Πλύνετε σχολαστικά μετά το χειρισμό.  
P280 Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.  
P302 + P352 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ:  
Πλύντε με άφθονο νερό.



P305 + P351 + P338 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ:  
Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν  
φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εφόσον είναι εύκολο. Συνεχίστε  
να ξεπλένετε.

P337 + P313 Εάν δεν υποχωρεί ο οφθαλμικός ερεθισμός:  
Συμβουλευθείτε/Επισκεφθείτε γιατρό.



## ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΚΑΙ ΦΥΛΑΞΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα άθικτα φιαλίδια των αντιδραστηρίων είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα όταν αποθηκεύονται στους 2°–8°C.


**R1 Βόεια Θρομβίνη:** Εκτελέστε ανασύσταση με 2 ml φιλτραρισμένου απιονισμένου νερού. Η ανασυσταθείσα βόεια θρομβίνη είναι σταθερή για:

	1 εβδομάδα	1 μήνα
	2–8°C	–20°C

**R2 SPECTROZYME TH:** Εκτελέστε ανασύσταση με 2 ml κεκαθαμένου νερού ή φιλτραρισμένου απιονισμένου νερού. Το ανασυσταθέν υπόστρωμα είναι σταθερό για:

	1 εβδομάδα	1 μήνα
	2–8°C	–20°C

**R3 Ρυθμιστικό Διάλυμα Δοκιμασίας:** Αραιώστε το Ρυθμιστικό Διάλυμα Δοκιμασίας σε 50 ml με φιλτραρισμένο απιονισμένο νερό. Το Ρυθμιστικό Διάλυμα Δοκιμασίας με ισχύ εργασίας είναι σταθερό για:

	1 εβδομάδα	1 μήνα
	2–8°C	–20°C

## ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Για αυτήν τη δοκιμασία μπορεί να χρησιμοποιηθεί φτωχό σε αιμοπετάλια πλάσμα που έχει συλλεχθεί με κιτρικό οξύ. Βλ. «Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis

Assays-Approved Guideline», CLSI Document H21-A5, Vol. 28, No. 5, January 2008. Η συλλογή πλάσματος πρέπει να εκτελείται ως εξής:

1. Συλλέξτε 9 μέρη αίματος σε 1 μέρος αντιπηκτικού διαλύματος κιτρικού τρινατρίου 3,2% (0,109 M).
2. Φυγοκεντρίστε το δείγμα αίματος με ταχύτητα 1.500 x g για 15 λεπτά.
3. Το πλάσμα πρέπει να αποθηκεύεται στους 2°–8°C και να υποβάλλεται σε δοκιμασία εντός 2 ωρών. Εναλλακτικά, το πλάσμα μπορεί να αποθηκευτεί στους –20°C για έως 1 μήνα.
4. Το κατεψυγμένο πλάσμα πρέπει να αποψύχεται γρήγορα στους 37°C. Το αποψυγμένο πλάσμα πρέπει να αποθηκεύεται στους 2°–8°C και να αναλύεται εντός 24 ωρών.

## **ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ**

**Παρεχόμενα υλικά** — Βλ. Αντιδραστήρια

### **Υλικά Που Απαιτούνται Αλλά Δεν Παρέχονται**

Απιονισμένο νερό τύπου 1 ή αποσταγμένο νερό

Ειδικός Βαθμονομητής Πήξης, REF C.BMD.SCC030-01ML-A

Ειδικό Πλάσμα Ελέγχου Πήξης Φυσιολογικό, REF C.BMD.SCCN180-01ML-A

Ειδικό Πλάσμα Ελέγχου Πήξης Παθολογικό, REF C.BMD.SCCA180-01ML-A

Μονές πιπέτες 0–200 μl, 200–1000 μl

Πλαστικοί δοκιμαστικοί σωλήνες, εργαστηριακό χρονόμετρο, υγρό ή ξηρό λουτρό 37°C

50% παγόμορφο οξικό οξύ

Φασματοφωτόμετρο που λειτουργεί στα 405 nm, αναλυτής πήξης

### **Βαθμονόμηση Δοκιμασίας**

Για την προετοιμασία των προτύπων Αντιθρομβίνης III, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ο Ειδικός Βαθμονομητής Πήξης, REF C.BMD.SCC030-01ML-A, ή δεξαμενοποιημένο φυσιολογικό ανθρώπινο πλάσμα (τουλάχιστον 10 φυσιολογικοί δότες), το οποίο έχει συλλεχθεί με τον ίδιο τρόπο όπως το προς εξέταση πλάσμα. Καθώς τα από του στόματος αντισυλληπτικά και άλλα σκευάσματα οιστρογόνων/προγεστερόνης μπορεί να επηρεάσουν τα επίπεδα της αντιθρομβίνης III, το πλάσμα από χρήστες αυτών των σκευασμάτων δεν πρέπει να συμπεριλαμβάνεται στη δεξαμενή.

Προετοιμάστε τα πρότυπα Αντιθρομβίνης III, τους ορούς ελέγχου και τα δείγματα πλάσματος ασθενούς ως εξής. Αναλύστε τα πρότυπα, τους ορούς ελέγχου και τα δείγματα αμέσως μετά την προετοιμασία.

Πρότυπο*	Όγκος Ειδικού Βαθμονομητή Πήξης	Όγκος Ρυθμιστικό Διάλυμα Δοκιμασίας
100%	25 μl	1000 μl
50%	500 μl προτύπου 100%	500 μl
0%	0 μl	1000 μl
Δείγμα Ασθενούς/ Ορός Ελέγχου	Όγκος Δείγματος Ασθενούς/Ορός Ελέγχου	Όγκος Ρυθμιστικό Διάλυμα Δοκιμασίας
	25 μl	1000 μl

\*Η πραγματική τιμή των Προτύπων Αντιθρομβίνης III εξαρτάται από την τιμή της εκάστοτε παρτίδας του Ειδικού Βαθμονομητή Πήξης.

## Διαδικασία Δοκιμασίας

Η δοκιμασία ACTICHROME AT III μπορεί να πραγματοποιηθεί μη αυτόματα ή με τη χρήση ημιαυτοματοποιημένων ή αυτοματοποιημένων αναλυτών πήξης.

Η BioMedica Diagnostics προσφέρει Εφαρμογές Οργάνων για τη διεξαγωγή της δοκιμασίας ACTICHROME AT III σε διάφορους αναλυτές πήξης. Αυτές οι εφαρμογές οργάνων μπορεί να περιέχουν ειδικά για την χρησιμοποιούμενη πλατφόρμα δεδομένα προγραμματισμού και απόδοσης, τα οποία διαφέρουν από αυτά που παρέχονται σε αυτές τις Οδηγίες χρήσης. Σε αυτές τις περιπτώσεις, οι πληροφορίες που περιέχονται στην εφαρμογή οργάνου υπερισχύουν των πληροφοριών που παρέχονται σε αυτές τις Οδηγίες χρήσης. Ανατρέξτε στο ειδικό εγχειρίδιο οργάνου του κατασκευαστή για τις πλήρεις οδηγίες λειτουργίας.

## Διαδικασία Δοκιμασίας — Μη Αυτόματη Μέθοδος

### Μέθοδος τελικού σημείου

1. Προσθέστε 200 μl προτύπου ή άγνωστου πλάσματος σε πλαστικό σωλήνα.
2. Επβάστε σε θερμοκρασία 37°C για 2–4 λεπτά.

3. Προσθέστε 200 μl Βόειας Θρομβίνης.
4. Αναμείξτε και επωάστε στους 37°C για 1 λεπτό.
5. Προσθέστε 200 μl SPECTROZYME TH.
6. Αναμείξτε και επωάστε στους 37 °C για 1 λεπτό.
7. Προσθέστε 200 μl 50% παγόμορφου οξικού οξέος.
8. Αναμείξτε.
9. Προσθέστε 200 μl νερού\* (προαιρετικά).

Μετρήστε την απορρόφηση στα 405 nm σε ημιμικροκυψελίδα 1 cm έναντι τυφλού που παρασκευάστηκε ως εξής:

200 μl οξικού οξέος

200 μl πρότυπου αραιωμένου διαλύματος

200 μl Βόειας Θρομβίνης

200 μl SPECTROZYME TH

200 μl νερού\* (προαιρετικά)

(\*Για ορισμένα φασματοφωτόμετρα απαιτείται τουλάχιστον 1 ml όγκου στην κυψελίδα.)

### **Κινητική Μέθοδος**

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί κινητικός αναλυτής για τη μέτρηση του αρχικού ρυθμού υδρόλυσης του χρωμογόνου υποστρώματος. Η διαδικασία που πρέπει να χρησιμοποιηθεί είναι η εξής:

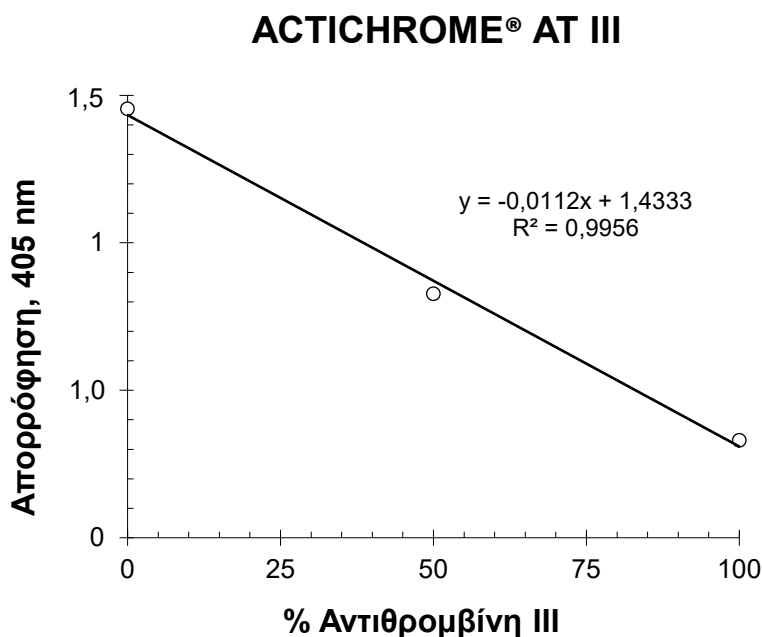
1. Προσθέστε 5 μl πρότυπου ή άγνωστου πλάσματος σε 200 μl Ρυθμιστικού Διαλύματος Αραίωσης.
2. Επωάστε σε θερμοκρασία 37°C για 2–4 λεπτά.
3. Προσθέστε 200 μl Βόειας Θρομβίνης.
4. Αναμείξτε και επωάστε στους 37°C για 1 λεπτό.
5. Προσθέστε 200 μl SPECTROZYME TH.
6. Μετρήστε τον ρυθμό μεταβολής της απορρόφησης στα 405 nm.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### Αντιπροσωπευτική Πρότυπη Καμπύλη

Η πρότυπη καμπύλη δημιουργείται με τη γραφική απεικόνιση της μέσης απορρόφησης για κάθε πρότυπο Αντιθρομβίνης III έναντι της αντίστοιχης δραστικότητάς του σε μορφή ποσοστού. Θα πρέπει να δημιουργείται πρότυπη καμπύλη για κάθε δοκιμασία που εκτελείται. Σχεδιάστε τη γραμμή της βέλτιστης αντιστοιχίας μεταξύ των σημείων, που αντιστοιχεί κατά κανόνα σε μια γραμμική εξίσωση, για την ανάλυση δεδομένων.

Η ακόλουθη πρότυπη καμπύλη προορίζεται μόνο ως παράδειγμα.



### ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Υπολογίστε με παρεμβολή τη δραστικότητα της αντιθρομβίνης III του δείγματος του ασθενούς απευθείας από την πρότυπη καμπύλη.

### ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Όταν χρησιμοποιούνται πρόσφατα ανασυσταθέντα αντιδραστήρια, πρέπει να περιλαμβάνεται πλάσμα ελέγχου στην εκτέλεση. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί Ειδικό Πλάσμα Ελέγχου Πήξης Φυσιολογικό, REF C.BMD.SCCN180-01ML-A και Ειδικό Πλάσμα Ελέγχου Πήξης Παθολογικό, REF C.BMD.SCCA180-01ML-A. Τα επίπεδα που λαμβάνονται για αυτά τα πλάσματα ελέγχου πρέπει να εμπίπτουν στα καθορισμένα εύρη. Εάν αυτά τα δείγματα πλάσματος ελέγχου δεν δώσουν επίπεδα Αντιθρομβίνης III

εντός του καθορισμένου εύρους, η ανάλυση πρέπει να επαναληφθεί. Εάν μετά από επαναλαμβανόμενη ανάλυση αυτών των δειγμάτων πλάσματος ελέγχου δεν είναι δυνατή η επίτευξη επιπέδων Αντιθρομβίνης III εντός του καθορισμένου εύρους, επικοινωνήστε με την BioMedica Diagnostics.

## **ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ**

Ικτερικά, λιπαιμικά και αιμολυμένα δείγματα ενδέχεται να προκαλέσουν παρεμβολές στη δοκιμασία. Εάν το πλάσμα του δείγματος είναι πολύ ικτερικό, πρέπει να παρασκευαστεί δεύτερο τυφλό που περιέχει το αραιωμένο διάλυμα πλάσματος του δείγματος αντί του πρότυπου αραιωμένου διαλύματος και η απορρόφησή του πρέπει να αφαιρεθεί από την απορρόφηση που λαμβάνεται για το πλάσμα του δείγματος.

## **ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ**

Το φυσιολογικό εύρος του AT III στο πλάσμα είναι 75%–125%. Σε ασθενείς με κληρονομική ανεπάρκεια AT III μπορεί να παρατηρηθούν επίπεδα δραστηριότητας 30–60%. Στις διάφορες κλινικές παθήσεις που συνδέονται με την επίκτητη ανεπάρκεια AT III περιλαμβάνεται η ηπατική νόσος, η διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (ΔΕΠ), το νεφρωσικό σύνδρομο, η πνευμονική εμβολή, το εγκεφαλικό επεισόδιο και η θρομβοφλεβίτιδα. Επίσης, η χρήση από του στόματος αντισυλληπτικών μπορεί να μειώσει τα επίπεδα AT III.

## **ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ**

### **Ακρίβεια**

Σε κλινικές μελέτες σύγκρισης του ACTICHROME AT III με διάφορα άλλα κιτ χρωμογονικών δοκιμασιών αντιθρομβίνης III που διατίθενται στο εμπόριο παρατηρήθηκε η ακόλουθη συσχέτιση:

$$\% \text{ AT III (άλλες αναλύσεις)} = 0,93\% \text{ AT III (ACTICHROME)} + 5,9 \text{ (n=53, r = 0,80)}$$

### **Ακρίβεια**

Οι παρακάτω εκτιμήσεις ακρίβειας (συντελεστής διακύμανσης) παρατηρήθηκαν με τη χρήση της λειτουργίας τελικού σημείου διακοπής ημι-μικρομεθοδολογίας. Η ακρίβεια μπορεί να βελτιωθεί σημαντικά με τη χρήση κινητικής λειτουργίας.

% AT III	Συντελεστής Διακύμανσης	
	Εντός της δοκιμασίας (n=20)	Μεταξύ δοκιμασιών (n = 10)
100	4,4%	5,8%
50	3,4%	6,4%

## Ευαισθησία

Το ACTICHROME AT III είναι ευαίσθητο σε 10% αντιθρομβίνης III.

## Ειδικότητα

Η εξειδίκευση του συστήματος δοκιμασίας καθορίστηκε με μελέτες που χρησιμοποιούν πλάσμα στο οποίο έχει αφαιρεθεί επιλεκτικά η αντιθρομβίνη III και, στη συνέχεια, έχει προστεθεί κεκαθαρμένη αντιθρομβίνη III για να επιτευχθούν διάφορες συγκεντρώσεις αντιθρομβίνης III.




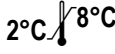








## ΙΧΝΗΛΑΣΙΜΟΤΗΤΑ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΩΝ ΚΑΙ ΥΛΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

Πληροφορίες σχετικά με την ιχνηλασιμότητα των βαθμονομητών και του υλικού ελέγχου διατίθενται κατόπιν αιτήματος.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Odegard, O. R., Lie, M. and Ablidgaard, U. *Thrombosis Research* 1975, **6**: 287-294.
2. Tolefsen, D. M. and Blank, M. K. *Journal of Clinical Investigations* 1981, **68**: 589-596.
3. Friberger, P., Egberg, N., Holmer, E., Hellgren, M. and Blomback, M. *Thrombosis Research* 1982, **25**: 433-436.

## ΕΠΕΞΗΓΗΣΕΙΣ ΣΥΜΒΟΛΩΝ

	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης		Προειδοποίηση
	In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν		Περιορισμός θερμοκρασίας αποθήκευση στους 2°C έως 8°C
	Αριθμός παρτίδας		Αριθμός καταλόγου
	Ημερομηνία λήξης		Κατασκευαστής
	Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις		Περιέχει...
	Σήμανση CE		Εξουσιοδοτημένος Αντιπρόσωπος Στην Ευρωπαϊκή Ένωση