

Yumizen G AT

ANTITHROMBIN CHROMOGENIC ASSAY

Kat. Nr.: 1300036390 4 x 3 mL Thrombin
4 x 3 mL Substrat
4 x 7 mL Verdünnungsmittel

PRODUKTNAME

Yumizen G AT chromogener Assay.

VERWENDUNGSZWECK

(Nur für die In-vitro-Diagnostik geeignet)

Yumizen G AT ist ein chromogener Assay zur quantitativen Bestimmung der Antithrombin (AT)-Aktivität in menschlichem Citratplasma.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNGEN

AT ist ein irreversibler Inhibitor von Thrombin (FIIa) und FXa. Ein erworbener oder vererbter AT-Mangel ist ein wichtiger Risikofaktor für Thrombosen. AT und Thrombin bilden einen stöchiometrischen Komplex. Die Geschwindigkeit der Komplexbildung wird durch die Anwesenheit von Heparin stark erhöht, so dass die antithrombotische Wirkung sofort einsetzt, wenn Heparin vorhanden ist.

GRUNDSATZ

Der Yumizen G AT-Assay zur Bestimmung des AT-Spiegels besteht aus zwei Schritten:

- 1 Die Plasmaprobe wird mit einer bekannten, überschüssigen Menge an Thrombin in Gegenwart von Heparin inkubiert.
- 2 Nach der Komplexbildung wird die Aktivität des Restthrombins durch ein chromogenes Thrombinsubstrat bestimmt (Absorptionsmessung bei 405 nm). Die Menge des gehemmten Thrombins ist proportional zum AT-Wert der Probe.

AKTIVE WIRKSTOFFE

- Yumizen G AT Thrombin-Reagenz ist ein gefriergetrocknetes Rinderthrombin in gepuffertem Medium, das Heparin und Konservierungsmittel enthält.
- Yumizen G AT Substrate ist ein gefriergetrocknetes chromogenes Thrombinsubstrat, das Konservierungsmittel enthält.
- Yumizen G AT Diluent ist ein Puffer, der Konservierungsmittel enthält.

VORSICHTSHINWEISE

- Die Person, die den Yumizen G AT-Assay installiert, muss eine ausgebildete Laborfachkraft sein!
- Die Reagenzien des Yumizen G AT-Tests sollten aufgrund ihrer Inhaltsstoffe mit Vorsicht gehandhabt werden, indem die für biologisch gefährliches Material empfohlenen Vorsichtsmaßnahmen beachtet werden!
- Reagenzien, die mit Proben und anderen Materialien in Berührung kommen, sollten so gehandhabt werden, als ob sie Infektionen übertragen könnten, und sollten mit entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen entsorgt werden!

- Vermeiden Sie eine mikrobielle Verunreinigung des Reagenzes, da sonst fehlerhafte Ergebnisse auftreten können!
- Dieses Reagenz wird aus Substanzen gewonnen, die tierischen Ursprungs sind. Daher sollte es als potenziell infektiös behandelt und mit den entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen gemäß der guten Laborpraxis gehandhabt werden (5).
- Alle Reagenzien, Abfälle und gebrauchten Einweg-Laborgeräte sollten als gefährlicher Abfall betrachtet werden! Ihre Handhabung und Entsorgung sollte gemäß den geltenden Vorschriften für die Verarbeitung von Gefahrstoffen erfolgen.
- Verwenden Sie das Reagenz nicht nach Ablauf des auf dem Etikett aufgedruckten Verfallsdatums!

VORBEREITUNG

Yumizen G AT Thrombin- und Substratreagenzien werden in 3 mL destilliertem Wasser aufgelöst. Halten Sie das Reagenz mindestens 30 Minuten lang bei Raumtemperatur (20-25°C), damit es richtig umgewandelt werden kann. Schwenken Sie das Fläschchen vor der Verwendung mehrere Male (5-10) vorsichtig horizontal, aber schütteln Sie es nicht.

Yumizen G AT Diluent ist gebrauchsfertig. Warten Sie, bis die Reagenzien die Arbeitstemperatur erreicht haben!

BESONDERHEITEN

Für den Yumizen G AT-Assay wird frisch entkalktes Plasma benötigt. Zur Gewinnung werden neun Teile frisch abgenommenes Venenblut mit einem Teil Trinatriumcitrat (3,2%; 109 mmol/L) gemischt. Die Verwendung einer höheren Konzentration von Trinatriumcitrat (3,8%; 129 mmol/L) wird nicht empfohlen. Mischen Sie das Blut vorsichtig und zentrifugieren Sie das Plasma vor dem Test. Siehe die Leitlinien H21-A5 des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

T (°C)	20-25	2-8	<-20
Plasma-haltbar	4 Stunden	Inakzeptabel	1 Monat

KALIBRIERUNGSVERFAHREN

Die Kalibrierung des Yumizen G AT-Assays ist ein auf Kalibratorverdünnung basierendes Verfahren, das mit halbautomatischen Gerinnungsanalysegeräten (Yumizen G-Linie) gemäß dem unten beschriebenen Protokoll verwendet werden kann. Bereiten Sie eine serielle Verdünnung des Kalibrators Yumizen G CAL gemäß der nachstehenden Tabelle vor:

	Kal. Punkt 1	Kal. Punkt 2	Kal. Punkt 3	Kal. Punkt 4
Verdünnungs-grad	1/20	1/40	1/60	0
Yumizen G KAL:	20 µL	100 µL von Kal Punkt 1 (1/20)	100 µL von Kal Punkt 1 (1/20)	0 µL
Yumizen G AT Verdünnung	380 µL	100 µL	200 µL	100 µL
Gesamt Volumen	400 µL	200 µL	300 µL	100 µL

Es wird empfohlen, eine Doppelmessung durchzuführen.

- 1 Geben Sie 50 µL des verdünnten Kalibrators in die Küvette.
- 2 50 µL Yumizen G AT Thrombin in die Küvette geben.
- 3 Für 2 Minuten inkubieren.
- 4 50 µL Yumizen G AT-Substrat hinzufügen. 5 Starten Sie die Absorptionsmessung.
- 6 Verwenden Sie die Ergebnisse zur Erstellung der Kalibrierungskurve gemäß der nachstehenden Tabelle.

Verdünnung	%	OD/min
1/20	X*	Ergebnis 1
1/40	X/2	Ergebnis 2
1/60	X/3	Ergebnis 3
0	0	Ergebnis 4

* Yumizen G Kal-Wert aus dem beigefügten Anhang.

- 7 Wählen Sie Kalibrierung > Chromogener Test > AT(III) > Reagenz > Reagenz 1.
- 8 Geben Sie den Namen, die Losnummer und das Verfallsdatum ein. 9 Drücken Sie die Bestätigungstaste (✓).
- 10 Wählen Sie Reagenz 2.
- 11 Geben Sie den Namen, die Losnummer und das Verfallsdatum ein.
- 12 Drücken Sie die Bestätigungstaste (✓).
- 13 Drücken Sie gegebenenfalls auf Ja, um die vorherigen Einstellungen zu überschreiben.
- 14 Drücken Sie %.
- 15 Wählen Sie Kalibrator und geben Sie Name, Chargennummer und Verfallsdatum ein.
- 16 Geben Sie die Punktpaare ein und bestätigen Sie (✓) nach jedem Punkt.
- 17 Drücken Sie gegebenenfalls Ja, um die Einstellungen zu speichern.

TESTVERFAHREN

Der Yumizen G AT-Assay ist ein chromogener Test, der mit halbautomatischen Gerinnungsanalysegeräten (Yumizen G Linie) nach dem unten beschriebenen Protokoll durchgeführt werden kann. Es wird empfohlen, eine Doppelmessung durchzuführen.

GEBRAUCHSANWEISUNG

1	Probenverdünnung mit Verdünnungspuffer	1:20
2	Zugabe der verdünnten Probe in die Küvette	50 µL
3	Zugabe von Thrombin-Reagenz in die Küvette	50 µL
4	Inkubation von Proben und Reagenzien	2 min
5	Zugabe von Substratreagenz in die Küvette	50 µL
6	Starten Sie gleichzeitig die Messung der Absorption (OD/min) bei 405 nm.	10-40 sec

Für verifizierte Messungen werden normale und pathologische Kontrollen empfohlen. Jedes Labor sollte sein eigenes Qualitätskontrollprogramm aufstellen. Bei der Bestimmung mit einem anderen Koagulometer beachten Sie bitte die Anweisungen des Handbuchs.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Die Reagenzien des Yumizen G AT Assays sind in intakten Fläschchen bis zu dem auf dem Fläschchen angegebenen Verfallsdatum stabil, wenn sie bei 2-8°C gelagert werden. Die Stabilität nach dem Öffnen des Originalfläschchens ist in der folgenden Tabelle aufgeführt:

T (°C)	20-25	15-19	2-8
Thrombin, Substrate (Tag)	-	3	7
Verdünnung (Tag)	3	-	7

Frieren Sie sie nicht ein! Bewahren Sie das Substrat im Dunkeln auf!

ERWARTETE ERGEBNISSE

Die Ergebnisse des Yumizen G AT-Tests können in Prozent (%) angegeben werden. Dieses Maß wird anhand einer Lin-Lin-Kalibrierungskurve berechnet. Jedes Labor sollte eine chargenspezifische Kalibrierungskurve gemäß der obigen Beschreibung erstellen (Yumizen G Linie). Bei der Bestimmung mit einem anderen Koagulometer beachten Sie bitte die Anweisungen des Handbuchs.

Der Normalbereich, ausgedrückt in %, liegt bei der erwachsenen Bevölkerung bei 80-120%. Jedes Labor sollte seinen eigenen Normal- oder Referenzbereich festlegen.

EINSCHRÄNKUNGEN

Der Yumizen G AT-Assay kann nicht angewendet werden, wenn Thrombininhibitoren (z. B. Hirudin, Dagibatran usw.) in der Patientenprobe vorhanden sind.

LEISTUNGSMERKMALE

Der Reproduzierbarkeitstest des Yumizen G AT-Tests auf Horiba Medical-Analysegeräten (Yumizen G Linie) ergibt Die folgenden Ergebnisse:

	Intra-Assay		Inter-Assay	
Probe	1	2	3	4
n	10	10	10	10
Durchschnitt (%)	105,0	45,4	104,6	45,1
CV (%)	1,982	3,954	2,360	2,998

**ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES
MATERIAL**

- Kalibrator für die Kalibrierung (Yumizen G CAL; Kat. Nr.: 1300036416)
- Verschiedene Kontrollniveaus zur Qualitätskontrolle (Yumizen G CTRL I & II Kontrolle; Kat. Nr.: 1300036412).
- Dieses Reagenz kann mit manuellen, halbautomatischen und automatischen Methoden durchgeführt werden.
- Gerinnung oder ein anderes Analysegerät zur Messung der Absorption bei 405 nm, empfohlen werden Horiba-Analysegeräte (Yumizen G Linie).

BIBLIOGRAPHIE

- 1 CLSI: Entnahme, Transport und Verarbeitung von Blutproben zum Testen plasmabasierter Gerinnungstests und molekularer Hämostasetests; anerkannte Leitlinie - Fünfte Ausgabe. CLSI-Dokument: H21-A5; 28:5; 2008.
- 2 Blombäck M, Blombäck B, Olsson P and Svendsen L: Die Bestimmung von Antithrombin unter Verwendung eines synthetischen chromogenen Substrats für Thrombin. Thromb Res; 5: 621-632; 1974.
- 3 Khor B, Van Cott EM: Labortests für Antithrombinmangel. Am J Hematol; 85: 947 950; 2010.
- 4 Meijer P, Haverkate F, Kluft C: Leistungsziele für die Laboruntersuchung von Antithrombin, Protein C und Protein S. Thromb Haemost; 96: 584-589; 2006.
- 5 Richtlinie des Rates (2000/54/EG). Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften. Nr. L262 vom 17. Oktober 2000: 21-45

HERSTELLER**HORIBA ABX SAS**

Parc Euromédecine

Rue du Caducée

BP 7290

34184 Montpellier Cedex 4

FRANCE



