

Yumizen G AT

- Yumizen G200
- Yumizen G400 DDi/G405
- Yumizen G800/G800h/G850h
- Yumizen G1500/G1550/G1500h/G1550h

REF	1300036390
THROMBIN	4 x 3 mL
SUBSTRATE	4 x 3 mL
DILUENT	4 x 7 mL



HORIBA ABX SAS
Parc Euromédecine
Rue du Caducée
BP 7290
34184 Montpellier Cedex 4
FRANCE

Reagente diagnostico *in vitro* per la determinazione dell'attività dell'antitrombina mediante dosaggio cromogenico.

Versione dell'applicazione ^{a b}

	Nome analisi
Yumizen G1500/G1550	AT
Yumizen G1500h/G1550h	AT
Yumizen G800	AT
Yumizen G800h/G850h	AT
Yumizen G405	AT
Yumizen G400 DDi	AT
Yumizen G200	AT

Uso previsto (1, 2) ^c

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

Yumizen G AT è un saggio cromogenico utilizzato per la determinazione quantitativa dell'attività dell'antitrombina (AT) nel plasma umano citratato.

Aspetti di interesse clinico (3) ^d

L'antitrombina svolge la funzione di regolatore chiave della coagulazione del sangue ed è essenziale per un'efficace terapia a base di eparina.

L'antitrombina e la trombina formano un complesso stechiometrico.

La velocità di formazione del complesso aumenta considerevolmente in presenza di eparina, pertanto quando questa è presente l'effetto antitrombotico è immediatamente evidente.

Metodo (1) ^e

Il dosaggio **Yumizen G AT** per la determinazione del livello di AT avviene in due passaggi:

1. Il campione di plasma è incubato con una quantità nota ed eccessiva di trombina in presenza di eparina.
2. Dopo la formazione del complesso, l'attività della trombina residua viene determinata attraverso un substrato cromogenico per la trombina (misurazione dell'assorbanza a 405 nm).

La quantità di trombina inibita è proporzionale al livello di AT del campione.

Il risultato della misurazione dell'assorbanza si ottiene in densità ottica per unità di tempo (OD/min). Viene convertito in una percentuale (%) mediante un'equazione di calibrazione.

Reagenti ^b

Reagente 1

Yumizen G AT Thrombin è liofilizzato.

Questo reagente è trombina bovina in terreno tamponato che contiene eparina e conservante.

Trombina bovina	< 1%
Eparina	< 0,1 g/L
Albumina bovina	< 10 g/L
Sodio azide	< 1 g/L

^aModifica: aggiunta di un nuovo strumento.

^bModifica: aggiunta di un capitolo.

^cModifica: nuova forma del foglio illustrativo.

^dModifica: modifica del paragrafo "Aspetti di interesse clinico".

^eModifica: modifica del paragrafo "Metodo".

Yumizen G AT

Reagente 2

Yumizen G AT Substr. è liofilizzato.

Questo reagente è un substrato cromogenico per la trombina che contiene conservanti.

Substrato di trombina < 2 g/L

Reagente 3

Yumizen G AT Dil. è pronto all'uso.

Questo reagente è un tampone che contiene conservante.

Sodio azide < 1 g/L

Yumizen G AT deve essere utilizzato in conformità delle presenti indicazioni.

Il produttore non garantisce le prestazioni in caso di utilizzo non conforme.

Manipolazione ^f

1. Lasciar riposare le fiale per 5 min (20 - 25°C) prima di ricostituirle.
2. Ricostituire il contenuto delle fiale con acqua deionizzata o purificata procedendo come segue:
 - **Yumizen G AT Thrombin**: 3 mL
 - **Yumizen G AT Substr.**: 3 mL
 - **Yumizen G AT Dil.**: Pronto all'uso

Aprire il tappo di gomma con cautela per evitare la perdita di materiale liofilizzato.

3. Rimettere i tappi e capovolgere delicatamente i flaconi (8 - 10 volte) per distribuire il contenuto (evitare la formazione di schiuma).
4. Lasciar riposare le fiale per almeno 30 min (20 - 25°C).
5. Miscelare accuratamente le fiale ancora una volta prima dell'uso.
6. **Solo per analizzatori automatici**: collocare le fiale nello strumento senza tappo procedendo come segue:
 - **Yumizen G AT Thrombin**: Piatto reagenti
 - **Yumizen G AT Substr.**: Piatto reagenti
 - **Yumizen G AT Dil.**: Contenitore ausiliario

Per garantire prestazioni ottimali, rimuovere il reagente dallo strumento dopo l'uso, tappare la fiala e conservare a 2 - 8°C.

Analizzare il controllo ogni giorno contemporaneamente all'analisi dei campioni dei pazienti e ogni volta in cui si esegue una calibrazione.

La frequenza dei controlli dipende dalle esigenze del laboratorio.

Ogni laboratorio è tenuto a fissare le procedure di garanzia della qualità da rispettare. Queste devono essere conformi agli attuali requisiti per l'accreditamento e alle normative attinenti.

Evitare di scambiare i tappi con altri prodotti.

Calibratore ^b

Informazioni sul calibratore

Yumizen G CAL (1300036146) (non incluso)

Il valore riportato con questo dosaggio è stato calcolato a partire da una curva di calibrazione lin-lin.

Ogni determinazione dell'AT richiede una calibrazione locale con il lotto di reagente indicato, sullo strumento in questione.

Procedura di calibrazione per gli analizzatori semiautomatici

La calibrazione è un processo basato sulla diluizione del calibratore che può essere utilizzato con HORIBA (Serie Yumizen G).

1. Preparare una diluizione in serie del calibratore **Yumizen G CAL** come indicato di seguito:

	Punto 1	Punto 2	Punto 3	Punto 4
Tasso di diluizione	1/20	1/40	1/60	0
Yumizen G CAL	20 µL	100 µL Punto 1 (1/20)	100 µL Punto 1 (1/20)	0 µL
Yumizen G AT Dil.	380 µL	100 µL	200 µL	100 µL
Volume totale	400 µL	200 µL	300 µL	100 µL

2. Analizzare ciascun calibratore diluito come indicato nel capitolo *Procedura per gli analizzatori semiautomatici*. È consigliabile eseguire una doppia misurazione.

^fModifica: modifica del paragrafo "Manipolazione".

^bModifica: aggiunta di un capitolo.

Yumizen G AT

3. Preparare la curva di calibrazione come indicato di seguito:

Tasso di diluizione	%	OD/min
1/20	X ^(a)	Risultato 1
1/40	X/2	Risultato 2
1/60	X/3	Risultato 3
0	0	Risultato 4

^a: Valore **Yumizen G CAL** dalla documentazione allegata

4. Riportare i risultati % e OD/min nel menu di calibrazione dello strumento.

5. Inserire i dati utilizzando l'icona "punti".
Consultare il manuale d'uso in dotazione allo strumento.

In caso di determinazione con qualsiasi altro analizzatore dell'emostasi, attenersi alle istruzioni contenute nel rispettivo manuale.

Controllo ^b

Ai fini del controllo qualità interno, utilizzare gli elementi descritti di seguito:

- **Yumizen G CTRL I & II** (1300036412) (non incluso)
5 x 1 mL + 5 x 1 mL

La frequenza dei controlli e i limiti di fiducia devono essere conformi alle istruzioni di laboratorio e alle direttive specifiche del singolo paese. Per l'analisi dei materiali di controllo della qualità, attenersi alle disposizioni nazionali, regionali e locali. I risultati devono essere compresi nel range dei limiti di fiducia definiti. Ciascun laboratorio è tenuto a fissare una procedura da seguire nel caso in cui i risultati oltrepassino detti limiti di fiducia. Analizzare ogni controllo quotidianamente e/o dopo una calibrazione.

Procedura per gli analizzatori semiautomatici ^g

Yumizen G AT può essere utilizzato con gli analizzatori semiautomatici (Serie Yumizen G), seguendo questa procedura.
È consigliabile eseguire una doppia misurazione.

^bModifica: aggiunta di un capitolo.

^gModifica: modifica del paragrafo "Procedura per gli analizzatori semiautomatici".

^hModifica: modifica del paragrafo "Materiali necessari non in dotazione".

ⁱModifica: modifica del paragrafo "Campione".

1	Diluire il campione con Yumizen G AT Dil.	1:20
2	Aggiungere il campione diluito nella cuvetta.	50 µL
3	Incubare a 37°C.	30 s
4	Aggiungere Yumizen G AT Thrombin.	50 µL
5	Incubare a 37°C.	2 min
6	Aggiungere Yumizen G AT Substr.	50 µL
7	Iniziare immediatamente la misurazione a 405 nm.	10 - 40 s

In caso di determinazione con qualsiasi altro analizzatore dell'emostasi, attenersi alle istruzioni contenute nel rispettivo manuale.

Materiali necessari non in dotazione ^h

- Sono raccomandati gli analizzatori HORIBA (Serie Yumizen G).
- Gli analizzatori di terze parti sono consentiti se è possibile accedere a metodi cromogeni a 405 nm e configurare i test liberamente.
- Calibratore: **Yumizen G CAL** (1300036146)
- Controllo: **Yumizen G CTRL I & II** (1300036412)
- Acqua deionizzata o purificata
- Attrezzature standard per laboratorio

Campione ⁱ

Plasma

- 3,2% (109 mmol/L) di plasma anticoagulato con sodio citrato nella provetta primaria.
- 3,2% (109 mmol/L) di plasma anticoagulato con sodio citrato, teofillina, adenosina e dipiridamolo (CTAD) nella provetta primaria.

Miscelare il sangue con cautela.

Centrifuga del campione

Velocità	Tempo	Temperatura
1500 g	15 min (non meno di)	temperatura ambiente

Yumizen G AT

Stabilità del campione (4)

- A 20 - 25°C: 4 ore
- A 2 - 8°C: 4 ore
- A -24°C: 24 mesi (solo il plasma)

Per scongelare il plasma:

1. Scongellare rapidamente il campione di plasma congelato a 37°C.
2. Miscelare delicatamente il campione. Risospendere eventuali precipitati miscelando immediatamente e con cura subito dopo lo scongelamento e prima del test.
3. Testare il campione immediatamente.

È essenziale miscelare prima del test perché con la congelazione alcune proteine possono precipitare. Per ulteriori informazioni consultare il documento CLSI H21-A5.

Range di riferimento ^b

Ogni laboratorio deve determinare i propri range di riferimento. I valori forniti in questo documento sono puramente indicativi.

	Media (%)	Da (%)	A (%)
Intervallo normale adulti	100	80	120

Conservazione e stabilità ⁱ

Stabilità prima dell'apertura

Stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservato a una temperatura di 2 - 8°C.

Stabilità dopo la ricostituzione

	2 - 8°C
Yumizen G AT Thrombin	7 giorni
Yumizen G AT Substr.	7 giorni
Yumizen G AT Dil.	7 giorni

Stabilità a bordo strumento

Per i reagenti e i diluenti a bordo strumento occorrono contenitori diversi. Seguire le istruzioni riportate nel manuale degli analizzatori automatici.

Analizzatori automatici

	20 - 25°C	15 - 19°C
Yumizen G AT Thrombin	-	3 giorni
Yumizen G AT Substr.	-	3 giorni
Yumizen G AT Dil.	3 giorni	-

Non congelare.

Yumizen G AT Substr.

Conservare lontano dalla luce.

Gestione dei rifiuti ^b

- Attenersi alle disposizioni locali.
- Questo prodotto contiene meno dello 0,01% di sodio azide come conservante. La sodio azide può reagire con piombo e rame e formare un complesso metallo-azide esplosivo.

Precauzioni di carattere generale ^k

- Questo prodotto è destinato all'uso professionale per la diagnostica *in vitro*. Per uso in laboratorio.
- Solo su prescrizione medica.
- Questo reagente è classificato come non pericoloso in conformità alla direttiva (CE) 1272/2008.
- **Reagente 1 (Yumizen G AT Thrombin)**
Avvertenza: Questo prodotto è derivato da sostanze di origine animale. Pertanto, deve essere trattato come un campione potenzialmente infettivo e maneggiato con la dovuta cautela in conformità alle buone pratiche di laboratorio (5).
- Non pipettare con la bocca.
- Non rabboccare i prodotti.
- Non ingerire. Evitare il contatto con la pelle e con le membrane mucose.
- Rispettare le precauzioni per l'uso standard di laboratorio.
- Le fiale del prodotto devono essere eliminate dopo l'uso. Lo smaltimento dei rifiuti deve avvenire in conformità delle normative locali.
- Consultare la scheda di dati di sicurezza specifica del prodotto.
- Non utilizzare il prodotto se vi sono segni evidenti di deterioramento biologico, chimico o fisico.

^bModifica: aggiunta di un capitolo.

ⁱModifica: modifica del paragrafo "Conservazione e stabilità".

^kModifica: modifica del paragrafo "Precauzioni di carattere generale".

Yumizen G AT

- Non utilizzare il prodotto in caso di mancato rispetto delle condizioni di conservazione raccomandate, inclusa la temperatura.
- L'operatore deve essere formato da un rappresentante HORIBA prima di provare a utilizzare il dispositivo.
- L'utente è tenuto a verificare che il presente documento faccia riferimento al prodotto utilizzato.
- Per l'assistenza tecnica, contattare il numero +33 (0)4 67 14 15 16.
- Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo dovrà essere segnalato al produttore e all'autorità competente dello stato in cui si trova l'operatore e/o il paziente.
- Gli analizzatori di emostasi di terze parti possono compromettere l'armonia del sistema.
- L'utente è tenuto a valutare il rischio legato all'uso di analizzatori di emostasi di terze parti.

Prestazioni (2, 6)

I dati sulle prestazioni elencati di seguito sono rappresentativi delle prestazioni con i sistemi HORIBA.

Variabilità da un lotto all'altro ^b

La variabilità da un lotto all'altro è stata testata con l'analisi di gruppi di campioni tra lotti consecutivi. La differenza di unità di diversi gruppi di campioni sugli analizzatori della Serie Yumizen G produce i seguenti risultati.

Gruppo di campioni	Normale	Patologico
Differenza	1,5%	6,4%

Volume del campione ^b

Strumento	Volume
Yumizen G1500/G1550	50 µL (di campione diluito)
Yumizen G1500h/G1550h	50 µL (di campione diluito)
Yumizen G800	50 µL (di campione diluito)
Yumizen G800h/G850h	50 µL (di campione diluito)
Yumizen G405	50 µL (di campione diluito)
Yumizen G400 DDi	50 µL (di campione diluito)
Yumizen G200	50 µL (di campione diluito)

Limite di rivelabilità ^b

Il limite di rilevabilità secondo le raccomandazioni del protocollo CLSI (NCCLS) EP17-A2 (7) è del 10%.

Limite di quantizzazione ^b

Il limite di quantificazione secondo le raccomandazioni del protocollo CLSI (NCCLS) EP17-A2 (7) è del 10%.

Precisione

Ripetibilità (sugli analizzatori automatici) ^l

Ripetibilità secondo le raccomandazioni del protocollo CLSI (NCCLS), H57-A (8), EP05-A3 (9) (dati ottenuti in uno studio interno).

- 2 controlli (10 analisi)
- 2 campioni (20 analisi)

	Valore medio %	CV %
Campione di controllo 1	108,8	1,730
Campione di controllo 2	50,5	4,621
Campione 1	108,4	2,224
Campione 2	68,8	2,997

Criteri di accettabilità massimi (CV %): < 8%

Riproducibilità (sugli analizzatori automatici) ^m

Riproducibilità secondo le raccomandazioni del protocollo CLSI (NCCLS), EP05-A3 (9) (dati ottenuti in uno studio interno).

- 2 controlli (10 analisi)

	Valore medio %	CV %
Campione di controllo 1	108,4	2,154
Campione di controllo 2	47,2	6,326

Criteri di accettabilità massimi (CV %): < 15%

Intervallo di misurazione ^b

L'intervallo di misurazione e la linearità vengono determinati fino a 150% sugli strumenti Serie Yumizen G.

Correlazione ^b

I campioni sono stati messi a confronto sugli analizzatori HORIBA (Serie Yumizen G) prendendo come riferimento un reagente disponibile in commercio.

^bModifica: aggiunta di un capitolo.

^lModifica: modifica della ripetibilità.

^mModifica: modifica della riproducibilità.

Yumizen G AT

- Regressione Passing-Bablok: 1,061 (pendenza)
- Procedura Bland-Altman: 0,63 (% differenza)

Interferenze (10) ^b

Emoglobina: Nessuna influenza significativa osservata fino a 16,7 g/L.

Trigliceridi: Non si osserva alcuna influenza significativa fino a una concentrazione di Intralipid® (rappresentativo della lipemia) di 40 mmol/L.

Bilirubina: Nessuna influenza significativa osservata fino a 750 µmol/L.

Il dosaggio **Yumizen G AT** non è applicabile in caso di presenza di inibitori della trombina (ad es. irudina e nuovi anticoagulanti orali (NOAC), come inibitori diretti della trombina) nel campione del paziente.

Prestazioni cliniche ^b

La sensibilità e la specificità clinica, il valore predittivo positivo e il valore predittivo negativo non vengono comunemente riportati per questo test.

Questo dipende in larga misura dal fatto che questo dosaggio antitrombina è un test funzionale.

Per arrivare a una diagnosi e a un ciclo di trattamento, è necessario utilizzare i risultati di altri test di coagulazione di routine insieme ad altre informazioni diagnostiche e alla valutazione delle condizioni del paziente da parte del medico curante.

Precauzioni relative alle caratteristiche

I dati di misurazione sono stati generati durante una valutazione delle prestazioni e non sono consigliati come criterio di accettazione.

Bibliografia

1. Blombäck M, Blombäck B, Olsson P and Svendsen L. The Assays of Antithrombin Using a Synthetic Chromogenic Substrate for Thrombin. *Thromb Res* (1974) **5** (5): 621-632.
2. Khor B, Van Cott EM. Laboratory tests for antithrombin deficiency. *Am J Hematol* (2010) **85**: 947-950.
3. One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test. Approved Guideline, 2nd ed., CLSI (NCCLS) document H47-A2 (2008) 28:20.
4. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays. Approved Guideline, 5th ed., CLSI (NCCLS) document H21-A5 (2008).
5. Council Directive (2000/54/EC). Official Journal of the European Communities. No. L262 from October 17, 2000: 21-45.
6. Meijer P, Haverkate F, Kluft C. Performance goals for the laboratory testing of antithrombin, protein C and protein S. *Thromb Haemost* (2006) **96**: 584-589.
7. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures. Approved Guideline, 2nd ed., CLSI (NCCLS) document EP17-A2 (2012).
8. Protocol for the Evaluation, Validation, and Implementation of Coagulometers. Approved Guideline, 1th ed., CLSI (NCCLS) document H57-A (2008).
9. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures. Approved Guideline, 3rd ed., CLSI (NCCLS) document EP05-A3 (2014).
10. Interference Testing in Clinical Chemistry. Approved Guideline, 2nd ed., CLSI (NCCLS) document EP07-A2 (2005).

^bModifica: aggiunta di un capitolo.