

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

Odczynnik diagnostyczny *in vitro* do oznaczania aktywności antytrombiny metodą chromogenną.

Wersja aplikacji ^{a b}

	Nazwa testu
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

Przeznaczenie (1, 2) ^c

Wyłącznie do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Yumizen G AT jest chromogenicznym testem stosowanym do oznaczania ilościowego aktywności antytrombiny (AT) w ludzkim osoczu z cytrynianem.

Znaczenie kliniczne (3) ^d

Antytrombina działa jako kluczowy regulator krzepnięcia krwi i jest niezbędna do skutecznej terapii heparyną.

Antytrombina i trombina tworzą kompleks stechiometryczny.

Szybkość formowania kompleksu jest znacznie zwiększana przez obecność heparyny, dlatego efekt przeciwwązropowy w obecności heparyny pojawia się natychmiast.

Metoda (1) ^e

Yumizen G AT do oznaczania poziomu AT 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 AT w próbce.

Wynik pomiaru absorbancji uzyskuje się w gęstości optycznej na jednostkę czasu (OD/min). Jest on konwertowany na wartość procentową (%) za pomocą równania kalibracji.

Odczynniki ^b

Odczynnik nr 1:

Yumizen G AT Thrombin jest liofilizowany.

Odczynnik ten to trombina bydlęca w buforowanej pożywce zawierającej heparynę i środek konserwujący.

Trombina bydlęca	< 1%
Heparyna	< 0,1 g/L
Albumina z surowicy wołowej	< 10 g/L
Azydek sodu	< 1 g/L

^aModyfikacja: dodano nowy analizator.

^bModyfikacja: dodano rozdział.

^cModyfikacja: nowy format ulotki.

^dModyfikacja: zmieniono sekcję § „Znaczenie kliniczne”.

^eModyfikacja: zmieniono sekcję § „Metoda”.

Yumizen G AT

Odczynnik nr 2:

Yumizen G AT Substr. jest liofilizowany.

Odczynnik ten jest chromogennym substratem trombiny, który zawiera środek konserwujący.

Trombina, substrat < 2 g/L

Odczynnik nr 3:

Yumizen G AT Dil. jest gotowy do użycia.

Odczynnik ten jest buforem zawierającym środek konserwujący.

Azydek sodu < 1 g/L

Yumizen G AT należy używać zgodnie z niniejszą ulotką. Producent nie może zagwarantować właściwego działania produktu, jeśli zostanie on użyty w sposób inny od podanego.

Postępowanie z produktem ^f

1. Przed odtworzeniem pozwól fiolkom odstać przez 5 min (20 - 25°C).
2. W celu odtworzenia zawartości fiolek dodaj do nich wody dejonizowanej lub oczyszczonej w następujący sposób:
 - **Yumizen G AT Thrombin:** 3 mL
 - **Yumizen G AT Substr.:** 3 mL
 - **Yumizen G AT Dil.:** Gotowe do użycia

Zachowaj szczególną ostrożność, otwierając gumową zatyczkę, aby nie utracić części liofilizowanej zawartości fiolek.

3. Załóż zatyczki i delikatnie odwracaj butelki (8–10 razy), aby zdyspergować zawartość (staraj się nie spienić zawartości).
4. Pozwól fiolkom odstać przez co najmniej 30 min (20 - 25°C).
5. Przed użyciem jeszcze raz dokładnie wymieszaj zawartość fiolek.
6. **Wyłącznie do analizatorów automatycznych:** umieść fioleki bez zatyczek w analizatorze w następujący sposób:
 - **Yumizen G AT Thrombin:** Uchwyt na odczynnik
 - **Yumizen G AT Substr.:** Uchwyt na odczynnik
 - **Yumizen G AT Dil.:** Uchwyt pomocniczy

W celu zapewnienia optymalnego działania odczynnik należy wyjąć z analizatora po użyciu, zamknąć fiolkę i przechowywać w temperaturze 2 - 8°C.

Analizę kontroli należy wykonywać codziennie w tym samym czasie, co analizę próbek pacjentów, a także każdorazowo przy wykonywaniu kalibracji.

Częstość oznaczeń kontrolnych zależy od wymogów obowiązujących w danym laboratorium.

Każde laboratorium musi ustalić własne procedury zapewniania jakości i ich przestrzegać. Muszą one spełniać bieżące wymagania akredytacyjne oraz odnośne przepisy.

Należy zachować ostrożność, by nie zamienić zatyczek produktu z zatyczkami od innych produktów.

Kalibrator ^b

Informacje o kalibratorze

Yumizen G CAL (1300036146) (nie dołączono)

Parametr podawany przez to oznaczenie jest wyliczany z krzywej kalibracyjnej lin-lin.

W przypadku każdego wyznaczenia AT wymagana jest kalibracja lokalna z użyciem podanej serii odczynnika na podanym analizatorze.

Procedura kalibracji do analizatorów półautomatycznych

Kalibracja jest opartym na roztworze, przeprowadzanym przez kalibrator procesem, który może być używany z HORIBA (Linia Yumizen G).

1. Należy przygotować seryjne rozcieńczenie kalibratora **Yumizen G CAL** w następujący sposób:

	Punkt 1	Punkt 2	Punkt 3	Punkt 4
Stopień rozcieńczenia	1/20	1/40	1/60	0
Yumizen G CAL	20 µL	100 µL Punkt 1 (1/20)	100 µL Punkt 1 (1/20)	0 µL
Yumizen G AT Dil.	380 µL	100 µL	200 µL	100 µL
Całkowita objętość	400 µL	200 µL	300 µL	100 µL

2. Przeprowadzić analizę każdego rozcieńczonego kalibratora zgodnie z instrukcjami z rozdziału *Procedura analizatorów półautomatycznych*. Zaleca się powtórzenie pomiaru.

^fModyfikacja: zmieniono sekcję § „Sposób postępowania”.

^bModyfikacja: dodano rozdział.

Yumizen G AT

3. Przygotować krzywą kalibracyjną w następujący sposób:

Stopień rozcieńczenia	%	OD/min
1/20	X ^(a)	Wynik nr 1
1/40	X/2	Wynik nr 2
1/60	X/3	Wynik nr 3
0	0	Wynik nr 4

^a: Wartość **Yumizen G CAL** z załączonego dodatku

4. Odnotować wyniki % i OD/min w menu kalibracji urządzenia.

5. Wprowadzić dane, używając ikony „punkty”.
Więcej informacji znajduje się w podręczniku użytkownika danego instrumentu.

W przypadku wyznaczania przez dowolne inne analizatory hemostazy przestrzegać instrukcji podanych w podręczniku.

Kontrola ^b

Do wewnętrznej kontroli jakości należy używać:

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

Częstość przeprowadzania kontroli oraz przedziały ufności powinny być ustalone w oparciu o wytyczne laboratoryjne oraz przepisy obowiązujące w danym kraju. Należy przestrzegać krajowych, regionalnych i lokalnych wytycznych dotyczących materiałów do kontroli jakości. Wynik kontroli musi zawierać się w zdefiniowanych przedziałach ufności. Każde laboratorium powinno wypracować sposób postępowania w przypadku, gdy wyniki wykraczają poza wyznaczone przedziały. Oznaczenie kontroli powinno być przeprowadzane raz dziennie i/lub po wykonaniu kalibracji.

Procedura analizatorów półautomatycznych ⁹

Yumizen G AT może być używany na półautomatycznych analizatorach (Linia Yumizen G) zgodnie z poniższą procedurą.

Zaleca się powtórzenie pomiaru.

1	Rozcieńczyć próbkę za pomocą Yumizen G AT Dil.	1:20
2	Dodać rozcieńczoną próbkę do kuwety.	50 µL
3	Inkubować w temperaturze 37°C.	30 s
4	Dodać Yumizen G AT Thrombin.	50 µL
5	Inkubować w temperaturze 37°C.	2 min
6	Dodać Yumizen G AT Substr.	50 µL
7	Natychmiast rozpocząć pomiar przy 405 nm.	10 - 40 s

W przypadku wyznaczania przez dowolne inne analizatory hemostazy przestrzegać instrukcji podanych w podręczniku.

Wymagane wyposażenie niewchodzące w skład produktu ^h

- Analizatory HORIBA (Linia Yumizen G) są zalecane.
- Analizatory innych firm również mogą być stosowane, pod warunkiem że wykorzystują metodę chromogeniczną przy 405 nm i możliwy jest wolny dostęp do konfiguracji testu.
- Kalibrator: **Yumizen G CAL** (1300036146)
- Kontrola: **Yumizen G CTRL I & II** (1300036412)
- Woda dejonizowana lub oczyszczona
- Standardowy sprzęt laboratoryjny

Próbka ⁱ

Osocze

- Osocze z dodatkiem 3,2% (109 mmol/L) cytrynianu sodu jako środka przeciwkrzepiowego w pierwotnej próbce.
- Osocze z dodatkiem 3,2% (109 mmol/L) cytrynianu sodu, teofiliny, adenozyiny i dipirydamolu (CTAD) jako środków przeciwkrzepiowych w pierwotnej próbce.

Ostrożnie wymieszać krew.

Wirowanie materiału badanego

Szybkość	Czas	Temperatura
1500 g	15 min (nie mniej)	temperatura pokojowa

^bModyfikacja: dodano rozdział.

⁹Modyfikacja: zmieniono sekcję § „Procedura analizatorów półautomatycznych”.

^hModyfikacja: zmieniono sekcję § „Wymagane wyposażenie niewchodzące w skład produktu”.

ⁱModyfikacja: zmieniono sekcję § „Próbka”.

Yumizen G AT

Stabilność próbek (4)

- W temperaturze 20 - 25°C: 4 godziny
- W temperaturze 2 - 8°C: 4 godziny
- W temperaturze -24°C: 24 mies. (tylko osocze)

Aby rozmrozić osocze:

1. Szybko rozmroź zamrożoną próbkę osocza w temperaturze 37°C.
2. Delikatnie wymieszaj próbkę.
Ponownie wprowadź do zawiesiny jakiegokolwiek osad, dokładnie mieszając bezpośrednio po rozmrożeniu, a przed rozpoczęciem testowania.
3. Natychmiast przetestuj próbkę.

Mieszanie przed testami jest bardzo ważne, ponieważ podczas zamrażania mogą powstawać osady zawierające niektóre białka.

Dodatkowe informacje zawiera dokument CLSI H21-A5.

Zakres norm ^b

Każde laboratorium powinno wypracować swoje własne zakresy odniesienia.

Wartości podane w niniejszej ulotce mają wyłącznie charakter orientacyjny.

	Średnia (%)	Od (%)	Do (%)
Zakres prawidłowy dla osób dorosłych	100	80	120

Przechowywanie i stabilność ^j

Stabilność przed otwarciem

Stabilny do daty ważności podanej na etykiecie, jeśli jest przechowywany w temperaturze 2 - 8°C.

Stabilność po odtworzeniu

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

Stabilność w analizatorze

W przypadku odczynników i rozcieńczalnika wymagane są inne pojemniki w analizatorze. Należy postępować

zgodnie z instrukcjami z podręcznika obsługi analizatorów automatycznych.

Analizatory automatyczne

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

Nie zamrażać.

Yumizen G AT Substr.

Chronić przed światłem w trakcie przechowywania.

Postępowanie z odpadami ^b

- Należy postępować zgodnie z lokalnie obowiązującymi przepisami.
- Ten produkt zawiera mniej niż 0,01% azydru sodu jako środka konserwującego. Azydek sodu może wchodzić w reakcje z ołowiem lub miedzią, tworząc wybuchowe azydki metali.

Ogólne środki ostrożności ^k

- Niniejszy produkt jest przeznaczony wyłącznie do profesjonalnej diagnostyki *in vitro*.
Do użytku laboratoryjnego.
- Stosować zgodnie z zaleceniami.
- Ten odczynnik został sklasyfikowany jako nieszkodliwy w rozumieniu rozporządzenia (WE) nr 1272/2008.
- **Odczynnik nr 1: (Yumizen G AT Thrombin)**
Ostrzeżenie: Produkt 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).
- Nie pipetować ustami.
- Nie uzupełniać produktów.
- Nie połykać. Unikać zanieczyszczenia skóry i błon śluzowych.
- Korzystając z produktu, należy stosować standardowe laboratoryjne środki ostrożności.
- Po użyciu należy zutylizować fiolki produktu. Utylizacja wszelkich odpadów powinna być prowadzona zgodnie z lokalnie obowiązującymi wytycznymi.

^bModyfikacja: dodano rozdział.

^jModyfikacja: zmieniono sekcję § „Przechowywanie i stabilność”.

^kModyfikacja: zmieniono sekcję § „Ogólne środki ostrożności”.

Yumizen G AT

- W celu uzyskania informacji należy skorzystać z karty charakterystyki substancji niebezpiecznych (SDS) danego produktu.
- Nie używać produktu, jeżeli można zaobserwować zmianę jego cech biologicznych, chemicznych lub fizycznych, co wskazuje na jego nieprzydatność do użytku.
- Nie należy używać tego produktu w przypadku nieprzestrzegania warunków magazynowania, w tym w zakresie temperatury.
- Przed przystąpieniem do obsługi urządzenia użytkownik musi zostać przeszkolony przez przedstawiciela firmy HORIBA.
- Użytkownik ma obowiązek upewnić się, czy niniejszy dokument dotyczy używanego produktu.
- W celu uzyskania pomocy technicznej zadzwoń pod numer +33 (0)4 67 14 15 16.
- Każdy poważny incydent wynikający ze stosowania wyrobu należy zgłaszać producentowi i organowi kraju właściwemu dla miejsca pobytu użytkownika lub pacjenta.
- Stosowanie analizatorów do oznaczania hemostazy innych firm może spowodować utratę harmonizacji systemu.
- Obowiązkiem użytkownika jest ocena ryzyka stosowania analizatorów do oznaczania hemostazy innych firm.

Działanie (2, 6)

Podane poniżej dane dotyczące wydajności są reprezentatywne dla systemów HORIBA.

Zmienność między seriami ^b

Zmienność między partiami została zbadana za pomocą analizy grup próbek między kolejnymi partiami. Różnica jednostek dla różnych grup próbek na analizatorach Linia Yumizen G daje następujący wynik.

Przykładowa grupa	Normalny	Patologiczny
Różnica	1,5%	6,4%

Objętość próbki ^b

Urządzenie	Objętość
Yumizen G1500/G1550	50 µL (rozcieńczonej próbki)
Yumizen G1500h/G1550h	50 µL (rozcieńczonej próbki)
Yumizen G800	50 µL (rozcieńczonej próbki)

Urządzenie

Yumizen G800h/G850h
Yumizen G405
Yumizen G400 DDi
Yumizen G200

Objętość

50 µL (rozcieńczonej próbki)
50 µL (rozcieńczonej próbki)
50 µL (rozcieńczonej próbki)
50 µL (rozcieńczonej próbki)

Granica wykrywalności ^b

Granica wykrywalności zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS) EP17-A2 (7) wynosi 10%.

Granica oznaczalności ^b

Granica oznaczalności zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS) EP17-A2 (7) wynosi 10%.

Precyzja

Powtarzalność (w analizatorach automatycznych) ^l

Powtarzalność zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS), H57-A (8), EP05-A3 (9) (dane uzyskane w badaniu wewnętrznym).

- 2 kontrole (10 oznaczeń)
- 2 próbki (20 oznaczeń)

	Wartość średnia %	CV %
Próbka kontrolna 1	108,8	1,730
Próbka kontrolna 2	50,5	4,621
Próbka 1	108,4	2,224
Próbka 2	68,8	2,997

Maksymalne kryteria akceptacji (CV %): < 8%

Odtwarzalność (w analizatorach automatycznych) ^m

Odtwarzalność zgodnie z zaleceniami CLSI (NCCLS), EP05-A3 (9) (dane uzyskane w badaniu wewnętrznym).

- 2 kontrole (10 oznaczeń)

	Wartość średnia %	CV %
Próbka kontrolna 1	108,4	2,154
Próbka kontrolna 2	47,2	6,326

Maksymalne kryteria akceptacji (CV %): < 15%

^bModyfikacja: dodano rozdział.

^lModyfikacja: modyfikacja powtarzalności.

^mModyfikacja: modyfikacja odtwarzalności.

Yumizen G AT

Zakres pomiaru ^b

Zakres pomiarowy i liniowość są określone w zakresie od 150% na urządzeniach Linia Yumizen G.

Korelacja ^b

Próbki koreluje się z komercyjnie dostępnym odczynnikiem używanym jako wzorzec w analizatorach HORIBA (Linia Yumizen G).

- Regresja Passinga-Babloka: 1,061 (nachylenie)
- Procedura wykresu Blanda-Altmana: 0,63 (różnica %)

Czynniki zakłócające (10) ^b

Hemoglobina: Nie obserwuje się znaczącego wpływu do 16,7 g/L.

Triglicerydy: Nie obserwuje się znaczącego wpływu do stężenia Intralipid® (świadczącego o lipemii) wynoszącego 40 mmol/L.

Bilirubina: Nie obserwuje się znaczącego wpływu do 750 µmol/L.

Testu **Yumizen G AT** nie może być stosowany w przypadku obecności inhibitorów trombiny (np. hirudyny i nowych doustnych antykoagulantów (NOAC), takich jak bezpośrednie inhibitory trombiny) w próbce pacjenta.

Wydajność kliniczna ^b

Dla tego testu rzadko zgłasza się czułość i swoistość kliniczną, dodatnią wartość predykcyjną i negatywną wartość predykcyjną.

Wynika to w dużej mierze z faktu, że test antytrombiny jest testem funkcjonalnym.

W celu postawienia diagnozy i zaplanowania leczenia należy użyć wyników innych rutynowych testów krzepnięcia w połączeniu z innymi informacjami diagnostycznymi oraz oceną stanu pacjenta wykonaną przez lekarza prowadzącego.

Środki ostrożności dotyczące charakterystyki

Dane pomiarowe zostały wygenerowane podczas oceny wydajności i nie są zalecane jako kryterium akceptacji.

Piśmiennictwo

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).

^bModifikacja: dodano rozdział.