

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 de diagnóstico *in vitro* para determinação de atividade antitrombina por ensaio cromogênico.

Versão de aplicação ^{a b}

	Nome do teste
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

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 citratado.

Interesse clínico (3) ^d

A antitrombina funciona como um regulador importante de coagulação sanguínea e é essencial para a terapia eficaz com heparina.

Antitrombina e trombina formam um complexo estequiométrico.

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.

Método (1) ^e

O 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.

O resultado da medição de absorção é obtido na densidade óptica por tempo de unidade (OD/min). Ele é convertido para uma porcentagem (%) por uma equação de calibração.

Reagentes ^b

Reagente 1

Yumizen G AT Thrombin é congelado em gelo seco. Esse reagente é uma trombina bovina em meio tamponado que contém heparina e conservante.

Trombina bovina	< 1%
Heparina	< 0,1 g/L

^aModificação: novo instrumento adicionado.

^bModificação: capítulo adicionado.

^cModificação: novo layout do folheto.

^dModificação: parágrafo "Interesse clínico" alterado.

^eModificação: parágrafo "Método" alterado.

Yumizen G AT

Albumina bovina < 10 g/L

Azida de sódio < 1 g/L

Reagente 2

Yumizen G AT Substr. é congelado em gelo seco. Esse reagente é substrato de trombina cromogênico que contém conservante.

Substrato de trombina < 2 g/L

Reagente 3

Yumizen G AT Dil. está pronto para uso. Esse reagente é um tampão que contém conservante.

Azida de sódio < 1 g/L

Yumizen G AT deve ser usado de acordo com este aviso. O fabricante não oferece garantias de desempenho se utilizado de outra forma.

Manuseio ^f

- Deixe os frascos em repouso por 5 min (20 - 25°C) antes da reconstituição.
- Reconstitua o conteúdo dos frascos com água desionizada ou purificada, da seguinte forma:
 - **Yumizen G AT Thrombin:** 3 mL
 - **Yumizen G AT Substr.:** 3 mL
 - **Yumizen G AT Dil.:** Pronta para uso

Tome cuidado ao abrir a tampa de borrada, para que não haja perda de material liofilizado.

- Recoloque as tampas e agite delicadamente os frascos (8 - 10 vezes) para dispersar o conteúdo (evite a formação de espuma).
- Deixe os frascos em repouso no mínimo 30 min (20 - 25°C).
- Agite bem os frascos uma vez mais antes do uso.
- Apenas para analisadores automatizados:** coloque os frascos no instrumento sem a tampa, da seguinte forma:
 - **Yumizen G AT Thrombin:** Suporte do reagente
 - **Yumizen G AT Substr.:** Suporte do reagente
 - **Yumizen G AT Dil.:** Suporte auxiliar

Para obter um desempenho ideal, retire o reagente do instrumento após o uso, feche o frasco e armazene a 2 - 8°C.

Uma análise de controle deve ser executada diariamente, no mesmo horário, como amostra do paciente, incluindo todas as vezes em que houver nova calibragem.

A frequência dos controles depende dos requisitos do laboratório.

Cada laboratório deve estabelecer os procedimentos de garantia de qualidade a serem seguidos. Tais procedimentos devem estar de acordo com os requisitos de certificação atuais e com regulamentos pertinentes.

Tome cuidado para não trocar as tampas com as de outros produtos.

Calibrador ^b

Informações sobre o calibrador

Yumizen G CAL (1300036146) (não incluído)
A dimensão reportada por esse teste e calculada em uma curva de calibragem lin-lin.
Cada determinação AT exige calibragem local com o lote de reagente fornecido com o instrumento fornecido.

Procedimento de calibração para analisadores semiautomáticos

A calibração é um processo baseado na diluição do calibrador que pode ser usado com a HORIBA (Linha Yumizen G).

- Prepare uma diluição em série do calibrador **Yumizen G CAL** da seguinte forma:

	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4
Taxa de diluição	1/20	1/40	1/60	0
Yumizen G CAL	20 µL	100 µL Ponto 1 (1/20)	100 µL Ponto 1 (1/20)	0 µL
Yumizen G AT Dil.	380 µL	100 µL	200 µL	100 µL
Volume total	400 µL	200 µL	300 µL	100 µL

- Processe cada calibrador diluído de acordo com o capítulo *Procedimento para analisadores semiautomáticos*.
Recomendamos a duplicação da medição.

^fModificação: parágrafo "Manuseio" alterado.

^bModificação: capítulo adicionado.

Yumizen G AT

3. Prepare a curva de calibração da seguinte forma:

Taxa de diluição	%	DO/min
1/20	X ^(a)	Resultado 1
1/40	X/2	Resultado 2
1/60	X/3	Resultado 3
0	0	Resultado 4

^a: Valor **Yumizen G CAL** do anexo

4. introduza a % e os resultados de DO/min no menu de calibração do seu equipamento.

5. Introduza os dados utilizando o ícone “pontos”.
Consulte o manual do usuário do seu instrumento.

Em caso de determinação por qualquer outro analisador de hemostasia, siga as instruções do manual.

Controle ^b

Para o controle de qualidade interno, use:

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

A frequência dos controles e dos intervalos de confiança devem corresponder às diretrizes do laboratório e do país. Siga as diretrizes federais, estaduais e locais para testes de materiais de controle de qualidade. Os resultados devem estar dentro da faixa de limites de confiança definidos. Cada laboratório deve estabelecer um procedimento a ser seguido caso os resultados excedam a esses limites de confiança. Cada controle deve ser testado diariamente e/ou após uma calibragem.

Procedimento para analisadores semiautomáticos ⁹

Yumizen G AT pode ser usado em analisadores semiautomáticos (Linha Yumizen G), de acordo com o procedimento a seguir.

Recomendamos a duplicação da medição.

1	Dilua a amostra com Yumizen G AT Dil.	1:20
2	Adicione a amostra diluída na cubeta.	50 µL

3	Faça a incubação a 37°C.	30 s
4	Adicione o Yumizen G AT Thrombin.	50 µL
5	Faça a incubação a 37°C.	2min
6	Adicione o Yumizen G AT Substr.	50 µL
7	Comece imediatamente a medição a 405 nm.	10 - 40 s

Em caso de determinação por qualquer outro analisador de hemostasia, siga as instruções do manual.

Materiais Necessários, mas não Fornecidos ^h

- Recomenda-se o uso de analisadores HORIBA (Linha Yumizen G).
- Analisadores de terceiros também podem ser usados quando são permitidos métodos baseados em cromogenia a 405 nm e acesso livre à configuração de testes.
- Calibrador: **Yumizen G CAL** (1300036146)
- Controle: **Yumizen G CTRL I & II** (1300036412)
- Água desionizada ou purificada
- Equipamentos padrão de laboratório

Amostra ⁱ

Plasma

- 3,2% (109 mmol/L) de plasma anticoagulado de citrato de sódio no tubo principal.
- 3,2% (109 mmol/L) de plasma anticoagulado de citrato de sódio, teofilina, adenosina e dipiridamol (CTAD) no tubo principal.

Misture cuidadosamente o sangue.

Centrifugação da amostra

Velocidade	Hora	Temperatura
1500 g	15 min (não menos que)	temperatura ambiente

Estabilidade da amostra (4)

- A 20 - 25°C: 4 horas
- A 2 - 8°C: 4 horas
- A -24°C: 24 meses (somente o plasma)

^bModificação: capítulo adicionado.

⁹Modificação: parágrafo “Procedimento para analisadores semiautomáticos” alterado.

^hModificação: parágrafo “Materiais necessários, mas não fornecidos” alterado.

ⁱModificação: parágrafo “Amostra” alterado.

Yumizen G AT

Para congelar o plasma:

1. Descongele rapidamente a amostra de plasma congelado a 37°C.
2. Misture delicadamente a amostra.
Ressuspenda qualquer precipitação, misturando a amostra imediatamente após o descongelamento e antes do teste.
3. Teste a amostra imediatamente.

A mistura é fundamental antes do teste, uma vez que pode ocorrer precipitação de certas proteínas com o congelamento.

Para obter informações adicionais, consulte o documento CLSI H21-A5.

Intervalo de referência ^b

Cada laboratório deve estabelecer faixas de referência próprias.

Os valores fornecidos aqui são usados apenas como diretrizes.

	Média (%)	De (%)	Até (%)
Faixa normal na população adulta	100	80	120

Armazenamento e Estabilidade ^j

Estabilidade antes da abertura

Estabilidade até a data de validade indicada no rótulo, se for armazenado a 2 - 8°C.

Estabilidade após a reconstituição

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

Estabilidade na integração

Diferentes recipientes integrados são necessários para reagentes e diluentes. Siga as instruções contidas no manual de analisadores automáticos.

Analisadores automatizados

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

Não congele.

Yumizen G AT Substr.

Proteja da incidência de luz.

Gerenciamento de resíduos ^b

- Consulte os requisitos legais locais.
- Este produto contém menos de 0,01% de azida de sódio como conservante. A azida de sódio pode reagir com chumbo e cobre para formar azidas metálicas explosivas.

Precauções gerais ^k

- Este produto deve ser usado para diagnóstico *in vitro* apenas por pessoas autorizadas.
Para uso em laboratório.
- Apenas para o uso prescrito.
- Este reagente é classificado como não perigoso de acordo com a regulamentação (EC) N°.1272/2008.
- **Reagente 1 (Yumizen G AT Thrombin)**
Cuidado: Esse produto 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 laboratoriais (5).
- Não use a boca para pipetagem.
- Não reconstitua os produtos.
- Não engolir. Evite contato com pele e mucosas.
- Siga as precauções laboratoriais padrão de uso.
- Os frascos do produto devem ser descartados após o uso. O descarte de material residual deve ser feito de acordo com diretrizes locais.
- Consulte a ficha técnica de segurança associada ao produto.
- Não utilize o produto se houver evidências de deterioração biológica, química ou física.
- Não utilize o produto se as recomendações de condições de armazenamento, incluindo temperatura, não são seguidas.

^bModificação: capítulo adicionado.

^jModificação: parágrafo "Armazenamento e estabilidade" alterado.

^kModificação: parágrafo "Precauções gerais" alterado.

Yumizen G AT

- O usuário deve ser treinado por um representante da HORIBA antes de tentar operar o dispositivo.
- É responsabilidade do usuário verificar se este documento se aplica ao produto usado.
- Para obter assistência técnica, ligue para +33 (0)4 67 14 15 16.
- Qualquer incidente grave ocorrido em relação ao dispositivo deve ser reportado ao fabricante e à autoridade competente do país de residência do usuário e/ou do paciente.
- A utilização de analisadores de hemostasia de terceiros pode causar riscos de desarmonização do sistema.
- É responsabilidade do usuário avaliar o risco da utilização de analisadores de hemostasia de terceiros.

Desempenho (2, 6)

Os dados de desempenho listados abaixo são representativos do desempenho em sistemas HORIBA.

Variabilidade de lote para lote ^b

A variabilidade lote a lote foi testada com uma análise de grupo de amostras entre lotes consecutivos. A diferença de unidades de grupos de amostras diferentes nos analisadores da Linha Yumizen G dão o seguinte resultado.

Grupo de amostras	Normal	Patológico
Diferença	1,5%	6,4%

Volume de amostra ^b

Instrumento	Volume
Yumizen G1500/G1550	50 µL (da amostra diluída)
Yumizen G1500h/G1550h	50 µL (da amostra diluída)
Yumizen G800	50 µL (da amostra diluída)
Yumizen G800h/G850h	50 µL (da amostra diluída)
Yumizen G405	50 µL (da amostra diluída)
Yumizen G400 DDi	50 µL (da amostra diluída)
Yumizen G200	50 µL (da amostra diluída)

Limite de detecção ^b

O limite de detecção de acordo com as recomendações encontradas na CLSI (NCCLS) EP17-A2 (7) é 10%.

Limite de quantificação ^b

O limite de quantificação de acordo com as recomendações encontradas na CLSI (NCCLS) EP17-A2 (7) é 10%.

Precisão

Repetibilidade (em analisadores automáticos) ^l

Repetibilidade de acordo com as recomendações encontradas na CLSI (NCCLS), H57-A (8), EP05-A3 (9) (dados obtidos no estudo interno).

- 2 controles (10 procedimentos)
- 2 amostras (20 procedimentos)

	Valor médio %	CV %
Espécime de controle 1	108,8	1,730
Espécime de controle 2	50,5	4,621
Espécime 1	108,4	2,224
Espécime 2	68,8	2,997

Critérios máximos de aceitação (CV %): < 8%

Reprodutibilidade (em analisadores automáticos) ^m

Reprodutibilidade de acordo com as recomendações encontradas na CLSI (NCCLS), EP05-A3 (9) (dados obtidos no estudo interno).

- 2 controles (10 procedimentos)

	Valor médio %	CV %
Espécime de controle 1	108,4	2,154
Espécime de controle 2	47,2	6,326

Critérios máximos de aceitação (CV %): < 15%

Intervalo de medição ^b

O intervalo de medição e a linearidade são determinados até 150% nos equipamentos da Linha Yumizen G.

Correlação ^b

Os espécimes são correlacionados com um reagente comercial tomado como referência em analisadores da HORIBA (Linha Yumizen G).

^bModificação: capítulo adicionado.

^lModificação: modificação de repetibilidade.

^mModificação: modificação de reprodutibilidade.

Yumizen G AT

- Regressão Passing-Bablok: 1,061 (inclinação)
- Procedimento de gráfico Bland et Altman: 0,63 (diferença em porcentagem)

Interferências (10) ^b

Hemoglobina: nenhuma influência significativa é observada até 16,7 g/L.

Triglicerídeos: Nenhuma influência significativa é observada até uma concentração de Intralipid® (representativa de lipemia) de 40 mmol/L.

Bilirrubina: nenhuma influência significativa é observada até 750 µmol/L.

O ensaio **Yumizen G AT** não pode ser aplicado em caso de presença de inibidores de trombina (por exemplo hirudina e novos anticoagulantes orais (NACO), como inibidores de trombina) na amostra do paciente.

Desempenho clínico ^b

A sensibilidade e especificidade clínica, o valor preditivo positivo e o valor preditivo negativo normalmente não são relatados para esse teste.

Isso se deve muito ao fato de que esse teste de antitrombina é funcional.

Para chegar a um diagnóstico e a um curso de tratamento, os resultados de outros testes de coagulação de rotina devem ser usados em conjunto com outras informações de diagnóstico e a avaliação da condição do paciente realizada pelo profissional de saúde participante.

Precauções de características

Os dados da medição foram gerados durante uma avaliação de desempenho e não são recomendados como um critério de aceitação.

Referência

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).

^bModificação: capítulo adicionado.