

Antitrombina		
Determinazione quantitativa dell' Antitrombina nel plasma umano		
REF		IVD
MCLAT		

1. PRINCIPIO

L'antitrombina è il principale inibitore della coagulazione fisiologica. Inibisce la coagulazione serina delle esterasi, soprattutto trombina, Fattore Xa e Fattore IXa, regola il percorso di coagulazione e impedisce trombosi. Quando unito a eparina, l'antitrombina diventa un inibitore ad azione potente e veloce della coagulazione serina delle esterasi.

"Antitrombina" test è un metodo cinetico basato sull'inibizione del fattore Xa, che è ad una concentrazione costante e superiore, per Antitrombina, in presenza di eparina. Il restante Fattore Xa viene quindi misurata l'attività amidolitica su uno specifico substrato cromogenico Fattore Xa, che rilascia pNA. La quantità di pNA generato è inversamente proporzionale alla concentrazione di Antitrombina presente nel plasma testato.

Heparin + AT → [AT Hep.]

[AT Hep.] + [Excess FXa] → [FXa-AT-Hep.] + [Remaining FXa] [Remaining FXa] + SXa-11 → Peptide + pNA

2. PREPARAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

Reagente:

R1) Fattore Xa - liquido e pronto all'uso.

pH 7.85, contiene eparina, BSA e sodio azide.

R2) FXa substrato - liquido e pronto all' uso

Substrato cromogenico specifico per Fattore Xa (11-65) con stabilizzanti.

R3) DILUENTE – Soluzione Fisiologica

Il Reagente è stabile fino alla data di scadenza se conservato a 2 – 8° C.

(Non congelare)

E' indispensabile che il reagente al momento dell'uso, sia a Temperatura ambiente

Una prolungata conservazione del reagente potrebbe determinare la formazione di un sedimento giallo. In tal caso, prima dell'uso, agitare delicatamente. Valori errati, valori del controllo di qualità oltre i limiti stabiliti oppure alterazioni del colore del prodotto potrebbero indicare un deterioramento. In ogni caso, prestazioni scadenti potrebbero essere dovute ad altri fattori legati al sistema del test.

Il Reagente non contiene sostanze o preparati classificati pericolosi in base alla legislazione attualmente vigente

3. PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Pazienti in terapia con eparina possono essere testati.

Nove volumi di sangue devono essere raccolti in un volume di citrato di sodio al 3,2% (0,109 M). Immediatamente dopo la raccolta del sangue, i campioni vengono centrifugati a 1 500 x g per 10 minuti e separare il surnatante. Fare riferimento alla versione più recente del documento CLSI H21 per ulteriori istruzioni relative alla raccolta e alla conservazione dei campioni.

4. PRECAUZIONI

Ogni qualvolta si manipolano agenti infettanti, reagenti chimici, reagenti di origine umana od animale, sangue o altri liquidi biologici, è consigliabile seguire le più comuni raccomandazioni e prendere tutte le necessarie precauzioni igieniche come l'utilizzazione di guanti monouso.

5. CALIBRAZIONE E CONTROLLO DI QUALITÀ

Per il controllo di qualità utilizzare:

Control Plasma I 1 ml REF MCL-PLASMA I

Control Plasma II 1 ml REF MCL-PLASMA II

E' consigliabile eseguire un controllo normale ed uno patologico almeno ogni 40 campioni.

Ciascun laboratorio dovrebbe stabilire il proprio range di controllo che tenga conto delle possibili variazioni giornaliere delle performance di ciascun controllo

6. MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

Normale strumentazione di laboratorio. Coagulometro con termostato per le cuvette. Micropipette automatiche. Cuvette di vetro o di polistirene ad alta qualità. Cronometro.

7. PROCEDURA MANUALE

1. Diluire 10 ul di campione con 100 ul di DILUENTE in una delle provette in dotazione..

2. Dispensare 44 ul di campione.

3. Aggiungere 140 ul di R1.

4. Incubare per 120 secondi.

5. Aggiungere 40 ul di R2.

8. VALORI DI RIFERIMENTO

Ogni laboratorio deve determinare specifici valori di riferimento, sulla base della propria popolazione.

Adulti:

75 – 125 %

9. CALCOLO.

Si consiglia di costruire una curva per ogni nuovo lotto di prodotto, ogni qualvolta si cambia lo strumento e nei casi in cui i valori dei controlli non rientrino nel range

10. LIMITAZIONI.

L' analisi biochimica della coagulazione comprende una serie di reazioni influenzate da numerose condizioni preesistenti all' analisi stessa e, pertanto, per ottenere risultati riproducibili è necessario un costante controllo di tali variabili⁹ come ad esempio:

- Il pH del plasma aumenta se esposto all' aria. Conservare, quindi, il plasma sempre in provette di plastica e di vetro siliconato ben chiuse
- Il prodotto è stato studiato per funzionare a 37° C. Assicurarsi che tutti gli elementi riscaldanti, pertanto, si trovino costantemente a tale temperatura
- Tutte le attrezzature di laboratorio devono risultare sempre perfettamente pulite e prive anche di sole tracce di detergenti
- Per un appropriato uso della strumentazione seguire sempre le raccomandazioni del produttore

11. INTERFERENZE.

L'emoglobina non interferisce fino a 500 mg/dl, la bilirubina non interferisce fino a 28 mg/dl, i trigliceridi non interferiscono fino a 300 mg/dl, l'eparina non interferisce fino a 4 IU/ml.

12. SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Il prodotto deve essere utilizzato solo in laboratori specializzati. Fare riferimento alle normative vigenti per una corretta procedura di smaltimento dei rifiuti.

S56: riporre il material e i flaconi in apposite contenitori per prodotti pericolosi o inquinanti..

S57: utilizzare contenitori appropriate per impedire inquinamento ambientale.

S61: evitare di disperdere nell'ambiente. Fare riferimento al data sheet relativo alla sicurezza.

13. NOTE

1. Non ritardare a mescolare il sangue con l' anticoagulante

2. Evitare la schiuma nei campioni
3. Campioni torbidi, itterici, lipemici od emolisati potrebbero dare luogo a risultati errati.
4. Utilizzare esclusivamente contenitori in vetro siliconato od in plastica
5. Il congelamento e lo scongelamento del plasma che contiene cellule residue possono danneggiarne le membrane compromettendo i risultati
7. Campioni di plasma con ematocrito non compreso tra 20 e 55% potrebbero non rispondere correttamente al test. In tali casi è necessario modificare la concentrazione del citrato cambiando il rapporto tra sangue ed anticoagulante

14. BIBLIOGRAFIA

- 1.Heit, J. A. et al. Determinants of plasma fibrin D-dimer sensitivity for acute pulmonary embolism as defined by pulmonary angiography. Arch Pathol Lab Med, 123: 235-239, 1999.
- 2.Bounameaux, H., et al. Plasma measurement of D-dimer as diagnostic aid in suspected venous thromboembolism: an overview. Thromb Haemostas, 71: 1-6, 1994.
- 3.Pfizzer S.A. et al. Fibrin detected in plasma of patients with disseminated intravascular coagulation by fibrin-specific antibodies consists primarily of high molecular weight factor XIII-crosslinked and plasmin-modified complexes partially containing fibrinopeptide A. Thromb Haemostas, 78: 1069- 1078, 1997.
- 4.Lindahl T. L. et al. Clinical evaluation of a diagnostic strategy for deep venous thrombosis with exclusion by low plasma levels of fibrin degradation product D-dimer. Scand J Lab Invest, 58: 307-316, 1998.
- 5.Gardiner, C., et al. An evaluation of rapid D-dimer assays for the exclusion of deep vein thrombosis. British Journal of Haematology, 128: 842-848, 2005.
- 6.Meissner, M.H., Venous thromboembolism in trauma: a local manifestation os systemic hypercoagulability? J. Trauma, 54(2): 224-231, 2003.
- 7.Ballegeer, V. et al. Fibrinolytic response to venous occlusion and fibrin fragment D-dimer levels in normal and complicated pregnancy. Thromb Haemostasis 58: 1030- 1032, 1987.
- 8.Kario, K. et al. Which factors affect high D-dimer levels in the elderly? Thromb Res, 65(5): 501-508, 1991.

15. SIMBOLI – 98/79/EC DIRECTIVE



Attenzione! Leggere le istruzioni For in vitro diagnostic use only



Size – No. Of determination Scadenza



Manufacturer Do not reuse



Store at –°C



Lot. #



Code #



SELEO SRL
I TRAVERSA BUGNANO SC – 81030 – ORTA DI ATELLA (CE)



ANTITROMBINA_SELEO_CE_IT_REV01_032017