

REF	CONTENT	SYSTEM
06589332 190	R1, 6 x 7 mL R2, 6 x 2 mL	cobas t 411

Български**Предназначение**

Ин витро тест за количествено определяне на активността на антитромбин III в човешка плазма в анализаторите **cobas t**.

Резюме

Антитромбин е едноверижан гликопротеин, който се синтезира в черния дроб и има молекулна маса приблизително 58200 далтона.¹

AT е прогресивен инхибитор и инактивира не само тромбин (фактор IIa), но така също и други серин протеази: предимно фактор Ха и в по-малка степен IXa, XIa, XIIa, както и плазмин и каликреин.^{2,3} Хепаринът значително ускорява инактивирането на IIa и Ха.⁴ Както концентрацията на AT, така и концентрациите на протеин С и протеин S играят важна роля в поддържането на хемостатично равновесие.^{3,5}

За първи път се съобщава за наследствен AT дефицит със съпътстващи тромбоемболични усложнения през 1965 г.⁵

Дефицитът на AT се наследява по автосоматичен доминиращ начин и той е широко разпространен приблизително еднакво при мъжете и жените. Разграничени са два типа:

- Дефицит тип I:
Концентрациите и активността на AT се редуцират в еднаква степен поради намален синтез в черния дроб.
 - Дефицит тип II:
Концентрацията на AT остава нормална, но се редуцира биологичната му активност поради промяна на молекулярната му структура.³
- Придобитият дефицит на AT се среща много по-често от вродения, но въпреки това много по-рядко причинява повишен риск за тромбоза. Концентрацията и активността на AT се намаляват в еднаква степен. Дефицитът на AT може да се причини от:
- Намален синтез поради ограничено (чернодробно заболяване) или незряло функциониране на черния дроб (новородени, преждевременно родени бебета). Най-общо, всички коагулационни фактори и инхибитори, зависещи от черния дроб, се понижават в еднаква степен. Поради цялостното балансирано хемостатично равновесие, не се появява увеличен риск от тромбоза.
 - Интравазална загуба на AT поради неговата относително малка молекулна маса:
 - Бъбречна загуба по време на нефротичен синдром
 - Чревна загуба по време на ентеропатии със загуба на протеини
 - Увеличена инфилтрация в екстравазалното пространство поради нарастнала пропускливост на кръвоносните съдове^{4,6}
 - Увеличена загуба поради нараснало активиране на коагулационния процес или активиране на коагулацията за по-дълъг период от време, напр.
 - Постоперативно
 - Продължителна интравенозна терапия с хепарин
 - Консумативна коагулопатия, DIC⁷
 - При септична инфекция съществува пряка връзка между загубата на активността на AT и сериозността на инфекцията или развитието на сепсиса. При клинично съмнение за сепсис се налага ранното установяване и определяне в контекста на мониториране активността на AT на заболяване, за да се гарантира ранното откриване на DIC.^{8,9}

Принцип на теста

Хепарин и предварително дефинирано количество тромбин, се добавят към пробата в излишък. Всичкият наличен антитромбин е свързан в неактивен комплекс. Неинхибирият тромбин освобождава p-нитроанилин от хромогения субстрат MeOCO-Gly-Pro-Arg-pNA. Останалото количество тромбин е обратно пропорционално на съдържанието на AT в пробата, поради което нарастването в

абсорбцията при дължина на вълната от 405 nm може да се използва за изчисляване активността на антитромбин.

Реактиви - работни разтвори

- R1** Тромбинов реагент. 6 флакона, всеки съдържащ обем 7 mL TRIS^a/HCl буфер: 100 mmol/L, pH 8.1; хепарин (свинска мукоза): 2 U/mL; аprotинин (говежди бял дроб): 6.5 U/mL; NaCl: 270 mmol/L; тромбин (говежда плазма): 0.38 U/mL
- R2** Субстрат (стартер реагент). 6 флакона, всеки съдържащ обем 2 mL MeOCO-Gly-Pro-Arg-pNA · AcOH: 1.8 mmol/L

a) 2-Амино-2-хидроксиметилпропан-1,3-диол

Предпазни мерки и предупреждения

За ин витро диагностично приложение. Спазвайте нормалните предпазни мерки, необходими при работа с всички лабораторни реактиви. Извървяването на всички отпадни материали трябва да се извършва в съответствие с местните разпоредби. Налични са листовки с данни за безопасност за професионалните потребители при поискване.

Да се избягва образуването на пяна във всички реактиви и типове проби (проби, калибратори и контроли).

Работа с реактивите

Реактивите са готови за употреба. Поставете отново капачката, разклатете внимателно и се оставя да престои в продължение на 30 минути при 18-25 °C. Внимателно разклатете, непосредствено преди употреба, за да се осигури хомогенност. Да се избягва образуването на пяна.

Съхранение и годност

Съхранявайте при 2-8 °C.

Неотворените реактиви са годни до изтичането на посочения срок на годност.

Съхранявайте реактивите в оригиналния флакон.

Годност на отворените реактиви в оригиналните флакони:

при 2-8 °C (затворена капачка)	14 дни
в анализаторите	5 дни

Предвид многобройните комбинации от условия за съхранение (частично в анализатора, частично при 2-8 °C), всяка лаборатория трябва да установи свои собствени продължителности на стабилност в съответствие с практиките си, ако реактивът се съхранява частично при 2-8 °C. Тези продължителности не трябва да надвишават посочените по-горе стойности, определени при контролирани условия.

Вземане и подготовка на проби

Само пробите, дадени по-долу, са тествани и са установени като приемливи:

3.2 % цитратна човешка плазма

Използвайте стандартни епруветки за вземане на проби, направени от пластмаса или силиконизирано стъкло. Строго спазвайте съотношението на кръв (9 части) към разтвор на натриев цитрат 0.11 M (1 част).^{10,11}

Дадените типове проби са тествани с избрани епруветки за вземане на проби, които са били пазарно достъпни по време на тестването, т.е. не са тествани всички епруветки на всички производители. Възможно е системите за вземане на проби от различни производители да съдържат различни материали, които в някои случаи могат да повлияят на резултатите от теста. Когато работите проби в първични епруветки (системи за вземане на проби), следвайте инструкциите на производителя на епруветката.

Центрофугирайте 15 минути при 2500 g или такова, при което броят на тромбоцитите е < 10000 тромбоцита/μL.

Годност¹²: 1 ден, при 18-25 °C

5 дни при 2-8 °C

Осигурени материали

Вижте раздел "Реактиви - работни разтвори".

Необходими материали (не са осигурени)

- [REF] 07149131190, Global Cal, 5 x 1 mL
- [REF] 07128029190, Con N, 20 x 1 mL
- [REF] 07137826190, Con P, 20 x 1 mL
- [REF] 06488846190, Imid Buff, 20 x 20 mL
- [REF] 07204736190, Day Clean, 12 x 11 mL
- Коагулационен анализатор **cobas t**. Вижте ръководство на оператора за съответния анализатор за допълнително необходимите материали.
- Дестилирана или дейонизирана вода
- Основно лабораторно оборудване

Анализ

За оптимални резултати от анализа следвайте указанията в този документ. Вижте съответното ръководство на оператора за специфичните за анализатора инструкции за анализ.

Работата на приложения, които не са потвърдени от Roche, не подлежи на гаранция и трябва да се дефинира от потребителя.

Поставете реактивите, контролите и калибратора (според изискванията) в оригиналните им флакони в определените позиции на анализатора.

Калибрация

За калибрация, използвайте кита калибратори, както е посочено в раздел "Необходими материали (не са осигурени)" и направете справка със съответната листовка с метода.

Бланк: Imid Buff

Честота на калибрация:

Препоръчителна е 2-точкова калибрация:

- след смяна на партидата
- съгласно изискванията на контролните процедури

Извършвайте бланк калибрация (Imid Buff)

- всеки ден

- при поставяне на нов флакон с реактив в системата

Проследяемост: Този метод е стандартизиран спрямо NIBSC Reference AT (08/258) на СЗО.

Качествен контрол

Контролите са необходими за проверка на точността и възпроизводимостта на резултатите.

За качествен контрол използвайте контролните китове, изброени в раздела "Необходими материали".

Контролните интервали и граници трябва да се адаптират към индивидуалните изисквания на всяка лаборатория. Получените стойности трябва да попадат в дефинираните граници. Всяка лаборатория трябва да установи коригиращи действия, ако стойностите попадат извън дефинираните граници.

Следвайте приложимите правителствени регулации и местни разпоредби за качествен контрол.

Ограничения - интерференция

Критерий: Възстановяване в рамките на $\pm 10\%$ от първоначалната стойност.

Иктер: Без значителна интерференция до концентрация на неконюгиран билирубин от ≤ 60.0 mg/dL. Без значителна интерференция до концентрация на конюгиран билирубин от ≤ 60.0 mg/dL.

Хемолиза: Без значително повлияване до концентрация на хемоглобин от ≤ 1100 mg/dL.

Липемия (Интралипид): Без значително повлияване до концентрация от ≤ 1800 mg/dL.

Въздействието на липемия, хемоглобин и билирубин е тествано съгласно Glick.¹³

Лекарства: Не е открита интерференция при терапевтични концентрации, използвайки общи лекарствени панели^{14,15} включително инхибиторите на фактор Ха Ривароксабан и Фондапаринукс.

В много редки случаи, гамопатия, най-вече тип IgM (Макроглобулинемия на Waldenstrom), може да доведе до неточни резултати.

Наличието на преките инхибитори на тромбин като Аргатробан, Дабигатран¹⁶ и Бивалирудин в пробата влияе на резултатите от анализа (увеличена измерена активност на АТ), което може да бъде от клинично значение.

За диагностични цели резултатите винаги трябва да бъдат оценявани в съответствие с анамнезата на пациента, клиничните прегледи и други резултати.

Граници и обхвати**Обхват на измерване**

20-120 %

Долни граници на измерване

Граница на бланк (LoB) и граница на откриване (LoD)

Граница на бланк = 5 %

Граница на откриване = 10 %

Границите на бланк и на откриване са определени в съответствие с изискванията на CLSI (Институт за Клинични и Лабораторни Стандарти) EP17-A. Границата на бланк е стойността на 95^{ия} перцентил от $n = 60$ измервания на проби без аналит при няколко независими серии. Границата на бланк съответства на концентрацията, под която се откриват проби без аналит с вероятност от 95 %.

Границата на откриване се определя според границата на бланк и стандартното отклонение на проби с ниска концентрация. Границата на откриване отговаря на най-ниската концентрация на аналит, която може да се открие (стойност над границата на бланк с вероятност от 95 %).

Очаквани стойности

80-120 %¹⁷

Всяка лаборатория трябва да разследва прехвърляемостта на очакваните стойности към нейната собствена популация от пациенти и ако е необходимо, да определи свои референтни граници.

Специфични данни за работата на теста

По-долу са дадени представителни данни за работата в анализаторите. Възможно е резултатите, получени в различните лаборатории, да се различават.

Прецизност

Повторяемостта и междинната прецизност са определени с човешки проби и контроли в съответствие с EP5 изискванията на CLSI (Институт за клинични и лабораторни стандарти) (2 аликовта на серия, 2 серии на ден, 21 дни). Получени са следните резултати:

Проба	Средна стойност (%)	Повторяемост		Междинна прецизност	
		SD (%)	CV (%)	SD (%)	CV (%)
Con N	89.4	1.3	1.5	3.3	3.7
Con P	36.0	1.8	4.9	2.5	6.8
Плазма 1	105	2.1	2.0	3.3	3.1
Плазма 2	60.3	1.7	2.7	2.4	4.1
Плазма 3	41.6	2.2	5.4	2.9	6.9

Метод на сравнение

Сравнение на теста АТ, обработван в анализатор **cobas t 411 (y)** и теста АТ, обработван в **cobas c 501 (x)**, даде следната корелация (%):

Брой измерени проби: 102

Passing/Bablok¹⁸

$y = 0.974x - 1.81$

Линейна регресия

$y = 0.969x - 1.82$

t = 0.927

r = 0.991

Абсолютно отклонение при 50 % активност (Passing/Bablok): -3.11 %
 Активностите на антитромбин, използвайки реактива AT, са между 21.2 и 115 %.

Референции

- 1 Lane DA, Olds RR, Thein SL. Antithrombin and its deficiency states. Blood Coagul Fibrinolysis 1992;3:315-41.
- 2 Neubauer M, Ramschak H, Lanzer G. Antithrombin III, the most important inhibitor of hemostasis. Physiology and clinical aspects. Wien Med Wochenschr. 1986;136:560-562.
- 3 Menache D, Grossman BJ, Jackson CM. Antithrombin III: Physiology, deficiency, and replacement therapy. Transfusion. 1992;32(6):580-588.
- 4 Thaler E. Antithrombin-III-Mangel und Thrombophilie. Hämostaseologie. 1985;5:127-133.
- 5 Hiller E, Riess H. Klinische Bedeutung der Gerinnungsinhibitoren Antithrombin III und Protein C. Therapiewoche. 1985;35:1533-1541.
- 6 Schrader J, Köstering H, Scheler F. Klinische Relevanz der Bestimmung von Antithrombin III. Laboratoriumsblätter. 1983;33:87-98.
- 7 Hasler K, Wörner D, Bernstein P. Antithrombin-III-Aktivitätsabfall im Plasma unter intravenöser kontinuierlicher Heparintherapie. Hämostaseologie. 1990;10:133-137.
- 8 Wüst T, Beeser H, Lang HR. Diagnostik und Therapie der Verbrauchskoagulopathie. Intensivmed. 1990;27:177-82.
- 9 Ostermann H, Kienast J. Bedeutung der Gerinnungsinhibitoren für Diagnostik und Therapie der disseminierten intravasalen Gerinnung. In: Anders O, Jacob J, eds. Gerinnungsstörungen. Diagnostik und Behandlung (5. Rostocker Symposium, September 1995). Schriesheim: Weller, 1996.
- 10 CLSI Document H21-A5, vol. 28, No. 5. Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline - 5th edition, 2008.
- 11 CLSI Document H3-A6. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard - Sixth Edition, vol. 27, No. 26, 2007.
- 12 Heil W, Grunewald R, Amend M et al. Influence of time and temperature on coagulation analytes in stored plasma. Clin Chem Lab Med. 1998 Jun;36(7):459-62.
- 13 Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
- 14 Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
- 15 Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
- 16 Stroobants AK, van Dam W, Bakker B, et al. Interference study of direct thrombin inhibitors and anti-Xa inhibitors on hemostasis assays on a cobas t 411 system, ISTH congress 2015, poster abstract.
- 17 Hesse R, Tritschler W, Castelfranchi G, Bablok W. Antithrombin III: Referenzwerte mit einem chromogenen Substrat (Chromozym TH). Blut 1981;42:227-34.
- 18 Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

За допълнителна информация, моля вижте съответното ръководство на оператора за съответния анализатор и листовките на всички необходими компоненти.

В тази листовка като десетичен разделител винаги се използва точка за маркиране на границата между интегралната и дробната част в десетичните числа. При хилядите не се използват разделители.

Символи

Roche Diagnostics използва следните символи и знаци, освен посочените в ISO 15223-1 стандарта.

CONTENT

Съдържание на кита

SYSTEM

Анализатори/апарати, в които могат да се използват реактивите

REAGENT

Реактив

CALIBRATOR

Калибратор



Обем след разтваряне или миксиране

GTIN

Глобален търговски артикулен номер

Добавките, премахнатото или измененията се означават в лентата за промени в полето.

© 2015, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
 www.roche.com

