

BIOPHEN™ AT anti-(h)Xa LRT**REF 221123 R1 R2 3 x 3 ml****REF 221127 R1 R2 4 x 7,5 ml**

Datum Revize: 09/2024

POUŽITÍ:

BIOPHEN™ AT anti-(h)Xa LRT kit je chromogenní test pro in vitro kvantitativní stanovení aktivity heparin kofaktoru antitrombinu (AT) v lidské citrátové plazmě za použití automatizované anti Xa metody.

Tato metoda je součástí diagnózy u pacientů s podezřením na vrozený nebo získaný deficit AT.

Reagencie jsou určeny pro in vitro použití vyškoleným personálem v laboratoři.

SHRNUTÍ:**Technické¹:**

Antitrombin je hlavním fyziologickým koagulačním inhibitorem. Inhibuje obzvláště serinové estrázy, především trombin, Faktor Xa a Faktor IXa, reguluje koagulační kaskádu a chrání před trombózou. V komplexu sheparinem se stává antithrombin potentním a rychle reagujícím inhibitorem serinových proteáz.

Klinické²⁻⁵:

Spontánní tromboembolické nemoci jsou pozorovány v přítomnosti vrozených deficitů AT, které se dělí na 4 skupiny.

Koncentrace AT je menší u novorozenců, u různých stavů jako těhotenství, poškození jater, DIC, atd.

Měření anti-Xa aktivity AT v lidské plazmě je potřeba pro diagnózu vrozených nebo získaných deficitů antitrombinu.

PRINCIP STANOVENÍ:

BIOPHEN™ AT anti-(h)Xa LRT stanovení je kinetická metoda založená na inhibici Faktoru Xa, který za konstantní koncentrace a v přebytku reaguje s antitrombinem za přítomnosti heparinu. Zbývající Faktor Xa je potom měřen za pomoci specifického chromogenního substrátu (Sxa-11-65), který uvolňuje pNA. Množství uvolněného pNA je potom nepřímo úměrné koncentraci antitrombinu v testované plazmě.

Vzhledem k tomu, že toto stanovení není citlivé na heparin, mohou být tímto kitem měřeni i pacienti, kteří jsou na heparinové terapii.

REAGENCIE:

R1 Lidský Faktor Xa, přibližně 7 IU/ml v tekuté formě, pH okolo 7.85. Obsahuje UFH v koncentraci cca 1 IU/ml, BSA, konzervanty a stabilizátory.

R2 FXa substrát, chromogenní substrát specifický na Faktor Xa (11-65) v koncentraci cca 2 mg/ml, tekutý. Obsahuje směs 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-jedna a 2-methyl-2H-isothiazol-3-jedna v poměru 3:1, konzervanty a stabilizátory.

Varování: H317 – Může způsobit alergickou kožní reakci (senzibilizace pokožky, Kategorie 1).

VAROVÁNÍ A UPOZORNĚNÍ:

- Některé reagencie v soupravě obsahují materiál lidského a zvířecího původu. Lidská plazma použitá k přípravě produktu byla restována registrovanou metodou a shledána negativní na přítomnost protilátek HIV 1, HIV 2, HCV a povrchového antigenu Hepatitidy B. I přesto nelze stoprocentně zaručit nepřítomnost infekčních agens a proto musí být s produktem zacházeno jako s potenciálně infekčním se všemi vyplývajícími bezpečnostními opatřeními.
- Důkladně si přečtěte bezpečnostní list reagencie.
- Odpad likvidujte dle platných místních regulací.
- P280: Používejte ochranné pomůcky – rukavice, oděv, ochranu očí a obličej.
- P302 + P352: Při kontaktu s kůží: Omyjte velkým množstvím vody a mýdlem.
- P333 + P313: Při podráždění pokožky nebo při ekzému: Vyhledejte lékařskou pomoc.
- P362 + P364: Kontaminované oblečení svlékněte a vyperte před dalším použitím.
- Používejte pouze reagencie stejné šarže.
- Souhrn pro bezpečnost a výkon (SSP) je k dispozici na stránkách Eudamed, nebo na vyžádání od výrobce HYPHEN BioMed.
- Jakékoliv závažné příhody se souvislostí na tuto reagencii ohlašte výrobci nebo jeho zástupci ve vašem regionu.

PŘÍPRAVA REAGENCIE:

R1 R2 Reagencie jsou připraveny k použití. Homogenizujte bez tvorby pěny a vložte do analyzátoru dle aplikačního protokolu.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA:

Neotevřené reagencie skladujte při 2 – 8°C v originálním balení. Takto skladované mohou být použity až do data expirace uvedeného na obalu.

R1 R2 Stabilita reagencie po otevření, pokud je předejito odpařování a kontaminaci, je:

- 90 dní při 2 – 8°C
- Nemrazte.
- Stabilita v analyzátoru – viz aplikační protokol.

Žluté zbarvení znamená kontaminaci substrátu. Kontaminovaný substrát znehodnotte a načněte novou lahvičku.

REAGENCIE A MATERIÁL POTŘEBNÝ, ALE V KITU NEOBSAŽENÝ:

- Imidazol pufr (AR021B / K / L / M / N) nebo Hemostasis Hepes pufr (AR033K / L / M / N). Použijte stejný pufr pro všechna ředění.
- Specifické kontroly a kalibrátory se známou hladinou:

Jméno produktu	Referenční číslo
BIOPHEN™ Plasma Calibrator	221 101
BIOPHEN™ Normal Control Plasma	223 201
BIOPHEN™ Abnormal Control Plasma	223 301

- Spektrofotometr, fotometr nebo automatický přístroj na chromogenní stanovení (CS-série, CN-série, STA-R®, ACT-TOP®).
- Laboratorní materiál.

Aplikační protokoly pro ostatní analyzátoři mohou být validovány výrobcem přístroje dle nařízení 2017/746 (EU), pokud není modifikován zamýšlený účel reagencie.

NÁVAZNOST:

Certifikáty návaznosti a příbalové letáky výše uvedených kalibračních a kontrolních plazem jsou k dispozici od výrobce nebo jeho zástupce. Další informace viz příbalové letáky kalibrátorů a kontrol.

PŘÍPRAVA A ODBĚR VZORKU:

Skládování a příprava plazmy chudé na destičky (PPP) musí být prováděna dle validovaných metod⁵⁻⁷.

Krev (9 dílů) musí být opatrně odebrána do 0,109 M (3,2%) citrátového antikoagulancia (1 díl), přímou venepunkcí. První odebraná zkumavka by měla být znehodnocena.

Plazmu neskladujte při pokojové teplotě déle než 4 hodiny.

Pokud plazma nebude měřena do 4 hodin, měla by být zmrazena při -20°C nebo méně.

Plazmu rozmrazujte pouze jednou při 37°C.

PROVEDENÍ TESTU:

Viz aplikační protokol pro váš analyzátor.

KONTROLA KVALITY:

Použitím kontroly kvality validujete shodu metody a homogenitu mezi sériemi pro danou šarži reagiencí.

Zahrňte kontrolu kvality do běžného provozu. Nová kalibrační křivka musí být stanovena pro každou novou sérii testů, pro každou novou šarži, po významné údržbě analyzátoru, nebo pokud naměřené hodnoty kontroly kvality jsou mimo přijatelné rozmezí pro danou metodu.

Každá laboratoř se musí stanovit vlastní přijatelné rozmezí a verifikovat předpokládaný výkon na svém analytickém systému.

VÝSLEDKY:

- Koncentrace AT (%) v měřeném vzorku je přímo odečtena z kalibrační křivky, pokud je použito standardní ředění (v IU/ml nebo %, kde 100%=100 IU/dl = 1 IU/ml).
- Rozdíly mezi šaržemi, měřené na 3 šaržích, jsou: %CV < 2%.
- Výsledky musí být hodnoceny v souladu s klinickým a biologickým stavem pacienta.

LIMITY:

- Abyste zajistili optimální výkon testu a dostali potřebným specifikacím, technické instrukce validované společností HYPHEN BioMed musí být pozorně dodrženy.
- Jakékoliv reagencie neobvyklého vzhledu nebo jevící známky kontaminace musí být znehodnocena.
- Jakýkoliv vzorek jevící známky aktivace nebo jiné, podezřelé znaky, musí být znehodnocen.
- Jakékoliv změny měření musí být validovány laboratoři, aby se zachoval výkon metody.
- Test je Anit-Xa metoda, a proto není očekávaná interference Heparin Kofaktorem II, α 2-macroglobulin nebo α 1-Antitrypsin^{2,4,8}.

- Přímé inhibitory faktoru Xa (DOAC) mohou indikovat falešně zvýšenou aktivitu AT⁵.
- Naměřené AT může být rozdílné při rozlišných měření AT aktivity. V závislosti na typu AT deficitu a jeho léčbě byly vypořádány rozdílné výsledky – mezi anti-IIa a anti-Xa metodami, a také vzácně u normálních výsledků⁵.
- Nedoporučuje se provádět laboratorní analýzu AT zaměřenou na genetický deficit, pokud jsou přítomny patologické nebo farmakologické vlivy a preanalytické komplikace, jelikož mohou vykazovat falešně nižší hodnoty⁵.
- Šetření neobvyklých nebo abnormálních výsledků by mělo být provedeno dle klinického stavu pacienta.⁵ Antigenní test Antitrombinu (jako je LIAPHEN™ Antithrombin 120002/120008) může objasnit charakter AT deficitu, stejně jako měření progresivní aktivity AT.

OČEKÁVANÉ HODNOTY:

Referenční rozmezí, získáno na v interní studii na zdravých dospělých jedincích na přístrojích CS-série (n=154), CN-série (n=146), STA-R® (n=147) a ACLT-TOP® (n=154) byl naměřen respektive 83 až 121%, 81 až 123%, 83 až 123% a 83 až 120% (Centrální 90%, 95 percentil)¹¹.

Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní referenční rozmezí.

Studie normálního rozmezí byla provedena na každém analyzátoru a je zapsána v aplikačních protokolech.

Analytický výkon

Rozmezí měření

Rozmezí měření je definováno použitým analytickým systémem a je uvedeno v jednotlivých aplikačních protokolech.

Přesnost

Studie přesnosti byly provedeny na laboratorních vzorcích a poolové plazmě.

Správnost: Zkreslení je méně než 17% pro všechny vzorky.

Přesnost: Koeficient variace (CV) pro všechny vzorky je menší 7% pro opakování, méně než 10 % pro opakovatelnost a méně než 10% v laboratoři. Přesnost je dokumentována v aplikačních protokolech přístrojů.

Interference

Interference jsou dány analytickým systémem a jsou uvedeny v jednotlivých aplikačních protokolech.

Klinický výkon

Shoda	ACL TOP® přístroje				
	Analyt	N	Lineární regrese	R	Referenční / porovnávací metoda
	AT	144	$Y = 5,97 + 1,00x$	0,972	HemosIL® Liquid Antithrombin

Citlivost/Specificita

Analyt	N	ACL TOP® přístroje		Prostor po křivkou (ROC)	
		Citlivost	Specificita	LR+	LR-
AT	144	0,96	1,00	0,999	
AT	144	96%	94%	21,2	0,06

PPV = Předpokládaná hodnota pozitivního výsledku

NPV = Předpokládaná hodnota negativního výsledku

LR+ = Poměr pravděpodobnosti +

LR- = Poměr pravděpodobnosti -

REFERENCE:

1. Mann K.G. Biochemistry and Physiology of blood coagulation. Thrombosis and Haemostasis. 1999.
2. Patnaik MM and Moll S. Inherited antithrombin deficiency: a review. Haemophilia. 2008.
3. Amiral J and Seghatchian J. Revisiting antithrombin in health and disease, congenital deficiencies and genetic variants, and laboratory studies on α and β forms. Transfus Apher Sci. 2018.
4. Khor B and Van Cott EM. Laboratory tests for antithrombin deficiency. American Journal of Hematology. 2010.
5. Van Cott E.M *et al.* Recommendations for clinical laboratory testing for antithrombin deficiency; Communication from the SSC of the ISTH. , J Thromb Haemost 2020.
6. CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008
7. Ieko M. *et al.* Expert consensus regarding standardization of sample preparation for clotting time assays. Int J Hematol. 2020
8. Odegard O R *et al.* Heparin cofactor activity measured with an amidolytic method. Thromb res 6. 1975.

REF Katalogové číslo	LOT Číslo šarže	IVD In Vitro diagnostický prostředek
Rx Numerický identifikátor reagentie Teplota	Viz návod k použití	WHO STD WHO kód standardu Expirace
CE značka s číslem certifikovaného orgánu	Výrobce	YYYY-MM-DD
Cx Numerický identifikátor kontrol	Rekonstituční objem	CONTENTS Obsah
EXP Doba Expirace	i-MA Viz aplikační protokol	CONTAINS Obsahuje
TARGET VALUE Cílová hodnota	Počet testů	UNIT Jednotky
UDI Identifikátor produktu	Skladujte mimo sluneční světlo	CALX Numerický identifikátor kalibrátoru
DANGER Nebezpečí	Obsahuje materiál biologického původu	Obsahuje lidskou plazmu nebo deriváty
Biologické riziko	WARNING Varování	UK CA UKCA značení konformity
	ACCEPTANCE RANGE Přijatelné rozmezí	