



BIOPHEN™ α 2-Antiplasmin

Ref 220502

R1 R2 3 x 3 ml



www.hyphen-biomed.com

Chromogenní metoda pro α 2-Antiplasmin měření v plazmě. Tekuté reagensie jsou připraveny k použití.

155, rue d'Eragny
95000 NEUVILLE SUR OISE
FRANCE
Tel. : +33 (0)1 34 40 65 10
Fax : +33 (0)1 34 48 72 36
info@hyphen-biomed.com

Revize: 01_2021

POUŽITÍ:

BIOPHEN™ α 2-Antiplasmin (LRT) souprava je určena pro in vitro chromogenní kvantitativní stanovení aktivity α 2-Antiplasminu (α 2-AP) v lidské citrátové plazmě automatickou nebo manuální metodou. Reagensie jsou v tekuté formě, připravené k použití (LRT – liquid reagent technology).

SHRNUTÍ:

Technické:

Alfa 2-Antiplasmin (α 2-Antiplasmin nebo inhibitor plazminu) je inhibitor serinové proteázy (serpin), který inaktivuje plazmin, důležitý enzym zajišťující fibrinolýzu, který degraduje i jiné proteiny.

Klinické:

Testování α 2-AP aktivity může být užitečnou informací v případě deficitu α 2-Antiplasminu nebo během fibrinolytické terapie.

PRINCIP:

α 2-Antiplasmin přítomný v plazmě inaktivuje plazmin. Zbylý plazmin štěpí specifický substrát SPM-41 za uvolnění paranitroanilinu (pNA), jehož zbarvení se měří při 405 nm. Mezi intenzitou zbarvení a hladinou aktivity α 2-Antiplasminu je nepřímá úměra.



REAGENCIE:

R1 Lidský Plazmin, tekutina, připraveno k použití. Obsahuje malé množství azidu sodného (0,9g/l).

R2 Chromogenní substrát, specifický pro plazmin (SPM-41), tekutina, připraveno k použití. Obsahuje Proclin.

R1 **R2** 3 lahvičky po 3 ml

UPOZORNĚNÍ A VAROVÁNÍ:

- Některé reagensie v soupravě obsahují materiál lidského původu. Plazma použitá k výrobě takového materiálu byla testována registrovanými metodami a shledána negativní na přítomnost protilátek HIV 1, HIV 2 a HCV a antigenu Hepatitidy B. Přesto žádná metoda testování nemůže kompletně vyloučit přítomnost infekčních agens. Proto musí být tyto reagensie považovány za potencionálně infekční se všemi odpovídajícími bezpečnostními opatřeními.
- Azid sodný může v kontaktu s olovenými a měděnými trubkami vytvářet výbušné azidy kovů.
- Odpad likvidujte podle místních příslušných regulací.
- Používejte pouze reagensie stejné šarže.
- Studie stability prokázaly, že reagensie mohou být přepravovány za pokojové teploty bez poškození.
- Pouze pro laboratorní použití In Vitro.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ:

R1 **R2** Reagensie připravena k použití; homogenizujte obsah, zamezte tvorbě pěny, a ihned vložte do analyzátoru podle příslušného aplikačního protokolu.

Pro manuální metodu měření nechte reagensii stabilizovat 30 minut při pokojové teplotě (18-25°C), homogenizujte před použitím.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA:

Neotevřené reagensie musí být skladovány v teplotě 2-8°C, v jejich originálních obalech v krabičkách. Pak jsou stabilní až do data expirace vytištěného na obalu.

R1 **R2** Stabilita reagensie po otevření, pokud je zabráněno odpařování a kontaminaci a pokud je reagensie skladována uzavřená, je:

- 5 týdnů při 2-8°C
- 7 dní za pokojové teploty (18 – 25°C)
- Nemrazte.
- Stabilita v analyzátoru: viz specifická aplikace.

Pokud substrát zežloutne, je kontaminovaný. Znehodnotte lahvičku a načněte novou.

REAGENCIE POTŘEBNÉ, V KITU NEPŘÍTOMNÉ:

Reagensie:

- Destilovaná voda.
- Kyselina octová (20%) nebo 2% kyselina citrónová (pro end point metody).

- Fyziologický roztok (0,9% NaCl) nebo Imidazolový pufr (AR021B/K/L/M/N). Použijte stejné ředidlo pro všechna ředění.
- Specifické kalibrátory a kontroly se známou koncentrací α 2-AP jako jsou:

Název produktu	Referenční číslo
BIOPHEN™ Plasma Calibrator	222101
BIOPHEN™ Normal Control Plasma	223201
BIOPHEN™ Abnormal Control Plasma	223301

Odkažte se na specifický aplikační protokol pro použitý analyzátor.

Materiál:

Spektrofotometr nebo automatický přístroj pro chromogenní testy. Stopky, Kalibrované pipety, plastové zkumavky nebo mikrotitrační destička.

ODBĚR VZORKU A PŘÍPRAVA:

Krev (9 dílů) by měla být opatrně odebrána do antikoagulantu citrátu tri-sodného (1 díl; 0,109 M, 3,2%) přímou venepunkcí. První zkumavka by měla být znehodnocena. Příprava a skladování vzorků se provádí dle lokálních doporučení. Pro informace o skladování plazmy se odkažte na reference⁵.

PROVEDENÍ:

Souprava je určena pro kinetickou, automatickou nebo manuální (end point) metodu. Test je měřen při 37°C a rozvoj změn barvy je měřen při 405 nm.

Adaptace pro různé systémy jsou dostupné na vyžádání. Odkazujeme na specifické adaptace pro každý přístroj.

Metoda měření

1. Rekonstituuje kalibrátory a kontroly dle jejich příbalových letáků. Kalibrátory by měly být ředěny v diluentu dle níže uvedené tabulky pro stanovení kalibrační křivky („C“ definuje koncentraci α 2-AP neboli 100% pro normální poolovou plazmu). Kalibrační křivka může být stanovenapoužitím komerční plazmy se známou hladinou α 2-AP (C) nebo použitím poolové citrátové plazmy (alespoň 30 zdravých jedinců, muži a ženy, věkem mezi 18 a 55 lety, bez známých nemocí a jejich terapií), která má definičně hladinu α 2-AP 100%. Měření obsahuje 1:30 ředění plazmy, které představuje definičně 100% hladiny α 2-AP neboli koncentraci „C“ u komerčních kalibrátorů. V tomto případě 150% koncentrace (C1) se získá ředěním kalibrátoru dilučním faktorem 30 x (C):150.

Kalibrátory	C1	C2	C3	C4	C5	C6
α 2-AP (%)	150	100	50	25	12,5	0
Objem kalibrátoru	1500 μ l	660 μ l C1	500 μ l C2	500 μ l C3	500 μ l C4	0
Objem ředidla	0 μ l	330 μ l	500 μ l	500 μ l	500 μ l	500 μ l

2. Nařeďte vzorky, kalibrátory a kontroly v ředidle dle níže uvedené tabulky.

Vzorek	Referenční číslo	Ředění
Kontroly	223201 / 223301	1:30
Vzorky	-	1:30

Stanovte kalibrační křivku a proveďte kontrolu kvality. Pokud jsou vzorky skladovány za pokojové teploty (18-25°C), testujte je ihned. Přesné koncentrace kalibrátorů a kontrol dané šarže jsou uvedeny na letáku přiloženém k jejich balení.

3. Pipetujte dle následující tabulky do zkumavek předehřátých na 37°C:

	Zkumavka
Ředěná plazma, kontrola nebo kalibrátor	200 μ l
R1 : Lidský plazmin předehřátý na 37°C	200 μ l
Promíchat a inkubovat v 37°C 4 minuty, potom přidejte:	
R2 : SPM-41 substrát, předehřátý na 37°C	200 μ l
Promíchat a inkubovat v 37°C 4 minuty přesně	
Zastavit reakci následujícím způsobem	
Kyselina citrónová (2%)*	400 μ l
Promíchat a měřit absorbancí při 405 nm proti odpovídajícímu blank	

*Nebo kyselina octová (20%). Žluté zbarvení je stabilní 2 hodiny.

Blank se získá smícháním v opačném pořadí než v testu: Kyselina citrónová (2%), R2, R1, ředěná plazma.

Měří se absorbance při 405 nm. Vzorek blank musí být odečten od absorbance naměřené u korespondujícího testu. Vytvořte blank, pokud je vzorek ikterický, lipemický, hemolyzovaný nebo pokud se jeho barva liší od standardu.

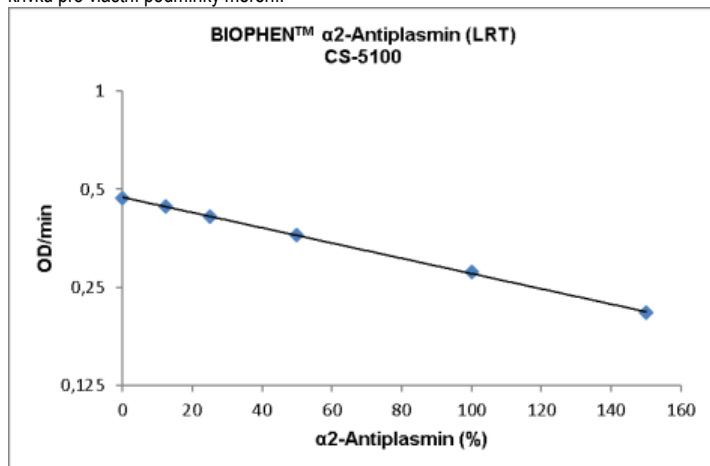
Pokud jsou použity jiné reakční objemy než výše uvedené, je nutné dodržet striktně poměr objemů reagentů. Uživatel je zodpovědný za validaci každé změny v provedení testu, která může ovlivnit výsledek.

KALIBRACE:

BIOPHEN™ α 2-Antiplasmin (LRT) souprava může být kalibrována pro měření aktivity α 2-AP. Kalibrátory pokrývající kalibrační rozmezí jsou dostupné od HYPHEN BioMed (viz REAGENCIE A MATERIÁL POTŘEBNÝ, V KITU NEPŘÍTOMNÝ) a mohou být použity ke stanovení kalibrační křivky.

- Kalibrační rozmezí je od 0 do 150% (na Sysmex CS-série).

Níže uvedené kalibrační křivky jsou jenom příklad. Uživatel musí sestavit vlastní kalibrační křivku pro vlastní podmínky měření.



KONTROLA KVALITY:

Užití kontrolních plazem umožňuje ověření kalibrační křivky stejně tak jako homogenity reaktivity testu mezi sériemi při použití stejné šarže reagentů.

Začněte kontrolu kvality do každé série testů dle doporučení správné odborné laboratorní práce. Nová kalibrace musí být provedena nejméně pro každou novou šarži reagentů, po každé významné opravě či údržbě přístroje, nebo když výsledek kontrol je mimo přijatelné meze.

Každá laboratoř by si měla definovat a verifikovat přijatelné rozmezí pro vlastní analytický systém.

VÝSLEDKY:

- Pro manuální end-point metodu vykreslete kalibrační křivku lin-log s absorbancí při OD 405 nm na ose Y a koncentrací α 2-AP na ose X.
- Pro kinetickou metodu použijte Δ OD 405 místo OD 405.
- Koncentrace α 2-AP (%) v testovaném vzorku je přímo odvozena z kalibrační křivky, pokud je použito normální ředění.
- Pokud jsou použita jiná ředění, výsledky musí být násobeny použitým ředícím poměrem.
- Výsledky testu by měly být interpretovány v souvislosti s klinickým stavem pacienta.

LIMITY:

- Abyste zajistili optimální výkon měření, následujte pozorně instrukce validované výrobcem HYPHEN BioMed.
- Jakákoliv reagentie neobvyklého vzhledu nebo vykazující známky kontaminace musí být znehodnocena.
- Jakákoliv vzorky neobvyklého vzhledu nebo vykazující známky aktivace musí být znehodnoceny.
- Specifita u vzorků s nízkou koncentrací α 2-AP, u vzorků s vyčerpaným α 2-AP, je naměřena kolem 8-15%. Může být použita varianta protokolu s kratším inkubacním časem s plazminem (30 sekund na Sysmex CS-série), která zvyšuje aktivitu α 2-AP a tak znehodnocuje reakce dalších inhibitorů.

OČEKÁVANÉ HODNOTY:

Koncentrace α 2-AP u dospělých jedinců je předpokládána mezi 75% a 135%^{6,7}. Každá laboratoř si musí stanovit vlastní přijatelné rozmezí.

CHARAKTERISTIKA:

- Dolní limit detekce analyzátoru závisí na použitém analytickém systému (Sysmex CS-5100).
- Standardní rozmezí závisí na použitém analytickém systému (kolem 10 až 150% α 2-AP na Sysmex CS-série).

- Byly provedeny studie výkonu, provedeny interně na Sysmex CS- 5100, za použití laboratorních kontrol po dobu 5 dní, 2 série denně, 2 opakování u každé série pro kontrolní hladinu. Následující hodnoty byly získány:

Kontroly	Intra assay				Inter assay			
	N	Průměr%	CV%	SD	N	Průměr%	CV%	SD
Normal	10	113,8	1,0	1,2	20	112,8	1,6	1,8
Abnormal	10	36,7	1,8	0,7	20	37,1	2,4	0,9

- Korelace s referenční metodou (Berichrom A2antiplasmin vs BIOPHEN™ α 2-Antiplasmin LRT na Sysmex CS-5100):
N = 60 y = 0,95x + 5,04 r = 0,995

- **Interference:**
Nebyly zjištěny žádné interference na Sysmex CS-5100 do následujících koncentrací:

Hemoglobin	Bilirubin (C/F)	Intralipidy	Hepariny (UFH/LMWH)
500 mg/dl	28 mg/dl	300 mg/dl	1 IU/ml

Viz specifický aplikační protokol pro použitý analyzátor.

REFERENCE:

1. Carpenter S.L. and Mathew P. α 2-Antiplasmin and its deficiency: Fibrinolysis out of balance. Haemophilia. 2008.
2. Kettle P. and Mayne E.E. A bleeding disorder due to deficiency of α 2-Antiplasmin. J Clin Pathol. 1985.
3. Weitz J.I. et al. α 2-Antiplasmin supplementation inhibits Tissue Plasminogen Activator-induced Fibrinogenolysis and bleeding with little effect on thrombosis. J clin Invest. 1993.
4. Aoki N. and Yamanaka T. The α 2-Antiplasmin inhibitor levels in liver disease. Clin Chem Acta. 1978.
5. CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008.
6. Kratz A. et al. Laboratory Reference Values. The New England Journal of Medicine. 2004.
7. Andrew M. et al. Maturation of the hemostatic system during childhood. Blood. 1992.

SYMBOLY:

Použité symboly a znaky jsou uvedeny v seznamu ISO 15223-1 standard, viz dokument Definice symbolů.

R1

H317: Může způsobit alergickou kožní reakci.