

# Antithrombin - 0020008900

## Aplicação Prevista

Teste Cromogénico automatizado para a determinação quantitativa da antitrombina em plasma humano citratado, nos Sistemas de Coagulação IL.

## Resumo e Princípio

A antitrombina (AT) ou Co-factor I da heparina é o principal inibidor fisiológico da coagulação sanguínea e é essencial para que a terapêutica anti-coagulante com a heparina seja eficiente. A AT, através da acção inibidora das suas proteases de coagulação especialmente a trombina, o FXa e o FIXa, evitam processos descontrolados da coagulação. Os défices de AT estão associados a um risco elevado de doenças tromboembólicas.<sup>1,2,3</sup>

O kit Antitrombina pode ser utilizado para excluir ou diagnosticar o seu défice congénito<sup>4,5</sup> em doentes com tendência para o tromboembolismo, em estádios pré-operatórios, antes da prescrição de contraceptivos orais, na coagulação intravascular disseminada<sup>6</sup>, síndromas nefróticas, hepatopatias<sup>7</sup> e terapêutica com heparina ou concentrados de antitrombina.<sup>8,9</sup> O kit Antitrombina consiste numa técnica baseada num substrato cromogénico sintético e na desactivação do FXa.<sup>10,11</sup> Como consequência, o método é específico e não é alterado pelo Co-factor II da heparina.

O nível de AT no plasma de doentes é medido automaticamente nos sistemas de coagulação IL em duas etapas:

1. Incubação do plasma com o reagente Factor Xa, na presença de excesso de heparina.
2. Quantificação da actividade do Factor Xa residual com um substrato cromogénico sintético. A para-nitroanilina libertada é medida cineticamente a 405 nm, sendo o seu nível inversamente proporcional à actividade da AT da amostra.

## Composição

O kit **Antithrombin (Antitrombina)** é composto por:

- S Chromogenic substrate** (Núm. Cat. 0020008910): recipientes 2 x 2 mL de substrato cromogénico liofilizado S-2765, N- $\alpha$ -Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA-2HCl (6 mg/recipiente) e estabilizadores.
- E Factor Xa reagent** (Núm. Cat. 0020008920): recipientes 2 x 2,5 mL de uma preparação liofilizada que contém Factor bovino Xa (26 nkat/recipiente), heparina, tampão e albumina de soro de bovino.

## AVISOS E PRECAUÇÕES:

Evitar o contacto com a pele e os olhos (S 24/25). Não deitar os resíduos nos esgotos (S 29). Usar vestuário de protecção adequado (S 36).

Para uso em diagnóstico *in vitro*.

## Preparação

**Chromogenic substrate:** Dissolver o conteúdo de cada recipiente em 2 mL de água destilada tipo II de acordo com a CLSI (anteriormente NCCLS).<sup>12</sup> Fechar o recipiente e homogeneizar suavemente. Verificar se o produto fica completamente dissolvido. Conservar o reagente entre 15 e 25°C durante 30 minutos. Misturar suavemente invertendo o recipiente, antes de utilizar.

**Factor Xa reagent:** Dissolver o conteúdo de cada recipiente em 2,5 mL de água destilada tipo II de acordo com a CLSI.<sup>12</sup> Fechar o recipiente e homogeneizar suavemente. Verificar se o produto fica completamente dissolvido. Conservar o reagente entre 15 e 25°C durante 30 minutos. Misturar suavemente invertendo o recipiente, antes de utilizar.

## Conservação e estabilidade do reagente

Os reagentes fechados, que ainda não foram utilizados, são estáveis até ao final do prazo de validade, que consta no rótulo, desde que conservados entre 2-8°C.

**Chromogenic substrate** - Estabilidade depois da reconstituição: 7 dias a 15°C, 3 meses a 2-8°C, 6 meses a -20°C dentro do recipiente original, 24 horas a 15-25°C no ACL® ELITE/ELITE PRO/8/9/10000 ou 48 horas a 15°C no nos Sistemas ACL Futura e ACL Advance.

**Factor Xa reagent** - Estabilidade depois da reconstituição: 7 dias a 15°C, 3 meses a 2-8°C, 6 meses a -20°C dentro do recipiente original, 24 horas a 15°C no ACL® ELITE/ELITE PRO/8/9/10000 ou 48 horas a 15°C no nos Sistemas ACL Futura e ACL Advance.

Para obter uma estabilidade óptima retire os reagentes do aparelho e conserve-os entre 2-8°C, nos recipientes originais.

## Método de ensaio

Seguir as instruções da técnica de acordo com o Manual do Operador dos aparelhos IL ou com o Manual de Aplicações dos Aparelhos IL.

## Recolha e preparação da amostra

Adicionar nove partes de sangue extraído recentemente por punção venosa a uma parte de citrato trissódico. Para efectuar a recolha, o manuseamento e a conservação da amostra devem seguir-se as recomendações referidas no documento H21-A3 da CLSI.<sup>13</sup>

## Reagentes adicionais e plasmas de controlo

Este kit não inclui os produtos abaixo mencionados, pelo que deverão ser pedidos em separado:

	Américas e Pacífico Núm. Cat.	Europa Núm. Cat.
Plasma de Calibração	0020003700	0020003700
Controlo Normal	0020003120	0020003110
Controlos Especiais de Teste Nível 1	0020010100	0020010100
Controlos Especiais de Teste Nível 2	0020010200	0020010200
Controlo Anormal Baixo	0020003220	0020003210
Controlo Anormal Alto	0020003320	0020003310
Diluyente de factores	0009757600	0009757600
Solução de limpeza	0009831700	0009831700
Solução de limpeza	0009832700	0009832700

## Controlo de Qualidade

Para realizar um programa completo de Controlo de Qualidade, recomenda-se a utilização dos controlos normais e anormais.<sup>14</sup> Os controlos adequados para este programa são o Controlo Normal, o Controlo Anormal Baixo, o Controlo Anormal Alto e o Controlos Especiais de Teste Nível 1 e 2. Cada laboratório deve estabelecer a sua própria média e desvio padrão e deve efectuar um programa de controlo de qualidade para monitorizar os seus resultados. Os controlos devem ser analisados uma vez em cada turno de 8 horas, de acordo com a norma vigente no Laboratório. Ver Manual do Operador para mais informações. Consultar a publicação de Westgard e col. para identificar e solucionar situações anormais do Controlo de Qualidade.<sup>15</sup>

## Resultados

Os resultados da Antitrombina são expressos em actividade (%). Para mais informações consultar o Manual do Operador do Aparelho.

## Limitações/interferências

Não existe interferência nos resultados da antitrombina nos Sistemas de Coagulação da IL por níveis de heparina (heparina não fraccionada ou Heparina de baixo peso molecular) até 2 U/mL,  $\alpha_2$ -antitripsina até 2 mg/mL,  $\alpha_2$ -macroglobulina até 7 mg/mL, Co-factor II de heparina até 3 U/mL, hemoglobina até 200 mg/dL, bilirrubina até 20 mg/dL e triglicéridos até 1000 mg/dL.

## Valores Esperados

Os níveis de actividade da antitrombina em indivíduos saudáveis estão aproximadamente no intervalo de 83 – 128%. Os níveis de antitrombina são baixos em recém-nascidos/bébé e crianças até 1 ano de idade e aumentam para níveis de adulto a partir dessa idade; os níveis são depois ligeiramente mais elevados do que nos adultos até aos 16 anos.<sup>16</sup>

Devido a muitas variáveis que podem afectar os resultados, cada laboratório deve estabelecer o seu próprio intervalo normal.

## Características técnicas

### Precisão:

A precisão foi avaliada, intra e na totalidade (de análise para análise e de dia para dia), ao longo de vários ensaios, com amostras normais e anormais.

Família ACL	Média (actividade %)	CV% (Intra-série)	CV% (Total)
Controlo Normal	110	2,10	4,80
Controlo Anormal Baixo	35,5	4,14	5,44
Controlo Anormal Alto	20,3	5,13	8,88

ACL Futura/ ACL Advance	Média (actividade %)	CV% (Intra-série)	CV% (Total)
Controlo Normal	113	0,88	2,64
Controlo Anormal Baixo	35,4	5,60	8,20
Controlo Anormal Alto	22,8	9,90	10,74

### Correlação:

Sistema	declive	intersecção	r	Método Comparativo
Família ACL	0,96	-1,20	0,992	COAMATIC® Antithrombin, Chromogenix
ACL Futura/ ACL Advance	1,02	0,29	0,991	COAMATIC® Antithrombin, Chromogenix

Estes resultados de precisão e de correlação foram obtidos utilizando lotes específicos, de reagente e de controlo.

### Linearidade:

Sistema	Linearidade
Família ACL e ACL Futura/ACL Advance	10-150 (actividade %)

## Bibliography / Literatur / Bibliografía / Bibliographie / Bibliografia / Bibliografia

- Wells PS, Blajchman MA, Henderson P. The prevalence of Antithrombin Deficiency in Healthy Blood Donors. A Cross-Sectional Study, *Am. J. Hematol.* 1994; 4: 321-324.
- Tait RC, Walker ID, Perry DJ, Carrell RW, Islam SIA, McCall F, Mitchell R, Davidson JF. Prevalence of Antithrombin III Deficiency Subtypes in 4000 Healthy Blood Donors, *Thromb. Haemostas.* 1991; 65: 534 (abst).
- Harper PL, Luddington RJ, Daly M. The Incidence of Dysfunctional Antithrombin Variants: Four Cases in 210 Patients with Thromboembolic Disease, *Br. J. Haematol.* 1991; 77: 360-364.
- Perry DJ. Antithrombin and its Inherited Deficiencies, *Blood.* 1994; 8: 37-55.
- Pabinger I, Brucker S, Kyrle PA. Hereditary Deficiency of Antithrombin III, Protein C and Protein S. Prevalence in Patients with a History of Venous Thrombosis and Criteria for Rational Patient Screening, *Blood Coag. Fibrinolys.* 1992; 3: 547-553.
- Fourrier F, Chopin C, Goudemand J, Hendrycx S, Caron C, Rime A, Marey A, Lestavel P. Septic Shock, Multiorgan Failure, and Disseminated Intravascular Coagulation. Compared Patterns of Antithrombin III, Protein C and Protein S Deficiencies, *Chest.* 1993; 101: 816-823.
- Knot E, Ten Cate JW, Drijfhout HR, Kahlé LH, Tytgat GN. Antithrombin III Metabolism in Patients with Liver Disease, *J. Clin. Pathol.* 1984; 37: 523-530.
- Schulman S, Tengbom L. Treatment of Venous Thromboembolism, in Patients with Congenital Deficiency of Antithrombin, *Thromb. Haemostas.* 1992; 68: 634-636.
- Schwartz RS, Bauer KA, Rosenberg RD, Kavanaugh EJ, Davies DC, Bogdanoff DA. Clinical Experience with Antithrombin III Concentrate in treatment of Congenital and Acquired Deficiency of Antithrombin, *Am. J. Med.* 1989; 87 (sup 3B): 53-60.
- Bohner J, von Pape K, Blaurock M. Thrombin Based Antithrombin Assays show Over Estimation of Antithrombin III Activity in Patients on Heparin Therapy due to Heparin Cofactor II Influence, *Thromb. Haemostas.* 1994; 71: 280-283.
- Demers C, Henderson P, Blajchman MA, Wells MJ, Mitchell L, Johnston M, Ofusu FA, Fernandez-Rachubinski F, Andrew M, Hirsh J, Ginsberg J. An Antithrombin III Assay Based on Factor Xa Inhibition Provides a more Reliable Test to Identify Congenital Antithrombin III Deficiency than an Assay Based on Thrombin Inhibition, *Thromb. Haemostas.* 1993; 69: 231-235.
- Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Preparation and Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory, Third Edition, CLSI/NCCLS Document C3-A3; Vol. 17 No. 18.
- Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays, Fourth Edition, CLSI/NCCLS Document H21-A4; Vol. 23 No. 35.
- Zucker S, Cathey MH, West B. Preparation of Quality Control Specimens for Coagulation, *Am J. Clin. Pathol.* 1970; 53: 924-927.
- Westgard JO and Barry PL. Cost-Effective Quality Control: managing the Quality and Productivity of Analytical Process, AACC Press 1986.
- Kottke-Marchant K, Duncan A. Antithrombin Deficiency: Issues in Laboratory Diagnosis, *Arch Pathol Lab Med.* 2002; 126:1326-1336.

ACL and ACL FUTURA are trademarks of Instrumentation Laboratory

©1999 Instrumentation Laboratory  
Issued January 2007

## Symbols used / Verwendete Symbole / Símbolos utilizados / Symboles utilisés / Simboli impiegati / Símbolos utilizados

**IVD**

*In vitro* diagnostic medical device  
*In-vitro* Diagnostikum  
De uso diagnóstico *in vitro*  
Dispositif mèdical de diagnostic *in vitro*  
Per uso diagnostico *in vitro*  
Dispositivo médico para utilização em diagnóstico *in vitro*

**LOT**

Batch code  
Chargen-Bezeichnung  
Identificación número de lote  
Désignation du lot  
Número del lotto  
Número de lote



Use by  
Verwendbar bis  
Caducidad  
Utilisable jusqu'à  
Da utilizzare prima del  
Data límite de utilização



Temperature limitation  
Festgelegte Temperatur  
Temperatura de Almacenamiento  
Températures limites de conservation  
Limiti di temperatura  
Límite de temperatura



Consult instructions for use  
Beilage beachten  
Consultar la metódica  
Lire le mode d'emploi  
Vedere istruzioni per l'uso  
Consultar as instruções de utilização

**CONTROL**

Control  
Kontrollen  
Control  
Contrôle  
Controllo  
Controlo



Biological risks  
Riesgo biológico  
Risque biologique  
Rischio biologico  
Risco biológico



Manufacturer  
Hergestellt von  
Fabricado por  
Fabricant  
Prodotto da  
Fabricado por

**EC REP**

Authorised representative  
Bevollmächtigter  
Representante autorizado  
Mandataire  
Rappresentanza autorizzata  
Representante autorizado