

Aplicação Prevista

Teste Cromogénico automatizado para a determinação da antitrombina em plasma humano citratado, nos Sistemas ACL Futura, ACL Advance e ACL TOP.

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 anticoagulante 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 e possíveis acidentes trombóticos. Os défices de AT estão associados a um risco elevado de doenças tromboembólicas.^{1,2,3}

O kit Antitrombina Líquida pode ser utilizado para excluir ou diagnosticar o seu défice congénito^{4,5} em doentes com tendência para o tromboembolismo, em estádios pré-operatórios, antes da prescrição de contraceptivos orais, na coagulação intravascular disseminada,⁶ síndromas nefróticos, hepatopatias⁷ e terapêutica com heparina ou concentrados de antitrombina.^{8,9}

O kit Antitrombina Líquida consiste numa técnica baseada num substrato cromogénico sintético e na desactivação do FXa.^{10,11} 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 **Liquid Antithrombin (Antitrombina Líquida)** é composto por:

- S Chromogenic substrate** (Núm. Cat. 0020030120): recipientes 4 x 4,5 mL de substrato cromogénico S-2765, N- α -Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA-2HCl (13,5 mg/recipiente), detergente e tampão.
- E Factor Xa reagent** (Núm. Cat. 0020030110): recipientes 4 x 4,5 mL de uma solução que contém Factor bovino Xa (45 nkat/recipiente), heparina, tampão, albumina de soro de bovino e conservante.

AVISOS E PRECAUÇÕES:

Todos os produtos de origem animal devem ser tratados como potencialmente infecciosos. Evitar o contacto com a pele e os olhos (S 24/25). Não deitar os resíduos no esgoto (S 29). Usar vestuário de protecção adequado (S 36).

Para uso em diagnóstico *in vitro*.

Preparação

Chromogenic substrate: Misturar invertendo o recipiente.

Factor Xa reagent: Misturar invertendo o recipiente.

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 - Depois de aberto, o reagente é estável durante 5 semanas a 2-8°C no recipiente original ou 48 horas a 15°C nos Sistemas ACL Futura, ACL Advance e Família ACL TOP. Não recongelar.

Factor Xa reagent - Depois de aberto, o reagente é estável durante 5 semanas a 2-8°C no recipiente original ou 48 horas a 15°C nos Sistemas ACL Futura, ACL Advance e Família ACL TOP. Não recongelar.

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 CLSI (anteriormente NCCLS) Documento H21-A4.¹²

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	0020011000	0020011000
Controlos Especiais de Teste Nível 2	0020012000	0020012000
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.¹³ 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.¹⁴

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 ACL Futura e ACL Advance por níveis de heparina (heparina não fraccionada ou Heparina de baixo peso molecular) até 4 U/mL, α_1 -antitripsina até 4 mg/mL, α_2 -macroglobulina até 7 mg/mL, Co-factor II de heparina até 4 U/mL, hemoglobina até 150 mg/dL, bilirrubina até 40 mg/dL e triglicéridos até 500 mg/dL.

Não existe interferência nos resultados da antitrombina na Família ACL TOP por níveis de heparina (heparina não fraccionada ou Heparina de baixo peso molecular) até 4 U/mL, α_1 -antitripsina até 4 mg/mL, α_2 -macroglobulina até 10 mg/mL, Co-factor II de heparina até 4 U/mL, hemoglobina até 500 mg/dL, bilirrubina até 40 mg/dL e triglicéridos até 2300 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/ bebês 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.¹⁵

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.

ACL Futura/ACL Advance	Média (actividade %)	CV% (Intra-série)	CV% (Total)
Controlo Normal	104,6	2,10	3,88
Controlos Especiais de Teste Nível 1	54,2	2,47	3,82
Controlos Especiais de Teste Nível 2	25,2	12,10	13,13

Família ACL TOP	Média (actividade %)	CV% (Intra-série)	CV% (Total)
Controlo Normal	104,4	2,2	3,1
Controlos Especiais de Teste Nível 1	62,1	3,5	3,8
Controlos Especiais de Teste Nível 2	31,4	7,4	8,6

Correlação:

Sistema	n	declive	intersecção	r	Método Comparativo
ACL Futura	118	1,01	-2,22	0,994	HemosIL Antitrombina
ACL Advance					
Família ACL TOP	118	1,06	0,443	0,986	HemosIL Antitrombina

Num estudo clínico adicional, comparou-se o Antitrombina Líquida com Antitrombina (Núm. Cat. 0020008900). Foram analisadas amostras de 64 doentes (26 normais, 11 tratados com Heparina, 5 medicados com anticoncepcionais orais, 4 tratados com terapêutica de substituição da antitrombina, 5 com défice congénito de antitrombina, 5 com hepatopatias, 4 com coagulação intravascular disseminada e outros 4 com antitrombina elevada). Obteve-se uma correlação (r) de 0,997 no ACL Futura/ACL Advance.

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

Limite de detecção:

Sistema	Limite de detecção
Família ACL TOP	7,2 (actividade %)

Linearidade:

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

Bibliography / Literatur / Bibliografía / Bibliographie / Bibliografia / Bibliografía

<p>1. 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.</p> <p>2. 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. Haemost. 1991; 65: 534 (abst).</p> <p>3. 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.</p> <p>4. Perry DJ. Antithrombin and its Inherited Deficiencies, Blood. 1994; 8: 37-55.</p> <p>5. 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.</p> <p>6. 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.</p>	<p>7. 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.</p> <p>8. Schulman S, Tengborn L. Treatment of Venous Thromboembolism, in Patients with Congenital Deficiency of Antithrombin, Thromb. Haemostas. 1992; 68: 634-636.</p> <p>9. 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.</p> <p>10. 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. Haemost. 1994; 71: 280-283.</p> <p>11. 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. Haemost. 1993; 69: 231-235.</p>	<p>12. 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.</p> <p>13. Zucker S, Cathey MH, West B. Preparation of Quality Control Specimens for Coagulation, Am J. Clin. Pathol. 1970; 53: 924-927.</p> <p>14. Westgard JO and Barry PL. Cost-Effective Quality Control: managing the Quality and Productivity of Analytical Process, AACC Press 1986.</p> <p>15. Kottke-Marchant K, Duncan A. Antithrombin Deficiency: Issues in Laboratory Diagnosis, Arch Pathol Lab Med. 2002; 126:1326-1336.</p>
--	--	---

ACL, ACL Futura and ACL TOP are trademarks of Instrumentation Laboratory

©2004 Instrumentation Laboratory
Issued November 2007

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

In vitro diagnostic medical device In-vitro Diagnostikum De uso diagnóstico in vitro Dispositif médical de diagnostic in vitro Per uso diagnostico in vitro Dispositivo médico para utilização em diagnóstico in vitro	Batch code Chargen-Bezeichnung Identificación número de lote Désignation du lot Numero del lotto Número de lote	Use by Verwendbar bis Caducidad Utilisable jusqu'à Da utilizzare prima del Data limite de utilização	Temperature limitation Festgelegte Temperatur Temperatura de Almacenamiento Températures limites de conservation Limiti di temperatura Limite 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 Kontrollen Control Contrôle Controllo Controlo	Biological risks Biologisches Risiko Riesgo biológico Risque biologique Rischio biologico Risco biológico	Manufacturer Hergestellt von Fabricado por Fabricant Prodotto da Fabricado por	Authorised representative Bevollmächtigter Representante autorizado Mandataire Rappresentanza autorizzata Representante autorizado