

INNOVANCE® Antithrombin/ Набор ИННОВАНС антитромбин (INNOVANCE Antithrombin)

Назначение

INNOVANCE® Antithrombin – хромогенный анализ для автоматического численного определения функционально активного антитромбина в цитратной плазме человека. Анализ пригоден для диагностики врожденного или приобретенного дефицита антитромбина, который ассоциируется с высоким риском тромбоза. Анализ INNOVANCE® Antithrombin можно использовать для мониторинга замещающей терапии с использованием концентратов антитромбина.

Сводка

Антитромбин – главный ингибитор ферментной активности процесса свертывания, который синтезируется в клетках печени. Этот ингибитор сериновой протеазы необратимо ингибирует различные факторы коагуляции, в первую очередь тромбин и фактор Ха. Ингибирование тромбина и фактора Ха антитромбином ускоряется примерно тысячекратно в присутствии гепарина.

Анализ INNOVANCE® Antithrombin подходит для определения физиологически активного антитромбина в автоматических анализаторах и позволяет диагностировать врожденный и приобретенный дефицит антитромбина.

Генетически обусловленный дефицит тромбина ведет к снижению активности антитромбина на фоне пониженной концентрации протеина (дефицит I типа) или нормальной концентрации протеина (дефицит II типа). Приобретенный дефицит антитромбина развивается вследствие сокращения выработки, повышения потребления, или потери протеина на фоне таких состояний, как ДВС (синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания), сепсис, немедленные гемолитические реакции при переливании, повышенная потеря протеина при нефротическом синдроме, тромботическая микроангиопатия, злокачественные образования, острые тромботические эпизоды и терапия с применением аспарагиназы¹.

Анализ INNOVANCE® Antithrombin позволяет на ранней стадии выявить пациентов с повышенным риском развития тромбоза.

Принципы выполнения процедуры

В анализе INNOVANCE® Antithrombin используется принцип измерения пигментообразования. К цитратной плазме добавляется избыточное количество фактора Ха. В присутствии гепарина часть этого фермента образует комплекс с присутствующим в образце антитромбином и инактивируется. Неингибированный остаток фактора Ха выделяет специфичный пигментообразующий субстрат, вызывая появление окраски. Степень выделения субстрата определяется по повышению поглощения на длине волны 405 нм.

антитромбин + гепарин —> [антитромбин • гепарин]

[антитромбин • гепарин] + ФХа (избыт.) —> [антитромбин • гепарин • ФХа] + ФХа (остат.)

пигментообразующий субстрат ФХа $\xrightarrow{\text{ФХа (остат.)}}$ трипептид + краситель

Высвобождение красителя обратно пропорционально ингибирующей активности антитромбина в образце плазмы. Чем меньше концентрация функционально активного антитромбина, тем выше поглощение в единицу времени.

Реагенты

Примечание

Анализ INNOVANCE® Antithrombin можно использовать в автоматизированных анализаторах гемостаза. Siemens Healthcare Diagnostics предоставляет справочные руководства (краткие инструкции) для ряда анализаторов. Эти справочные руководства содержат информацию по работе с анализатором и проведению исследования, которая может отличаться от информации, приведенной в настоящей инструкции. В подобном случае справочное руководство имеет приоритет над настоящим текстом. Также обратитесь к инструкции по эксплуатации, предоставленной производителем инструмента.

Существенное замечание

Для использования анализа INNOVANCE® Antithrombin на системе BCS® необходимо установить программное обновление «BCS® System - Update of Cleaner SCS Applications». Кроме того, при использовании INNOVANCE® Antithrombin на системе BCS® необходимо убедиться, что в анализатор загружено не более одного флакона с Cleaner SCS, и не допускать его незаметного опустошения.

INNOVANCE® Antithrombin	Форма	Ингредиенты	Концентрация	Источник
REAGENT	жидкость	фактор Ха человека, соли, стабилизаторы, бычий сывороточный альбумин глутамат натрия, аprotинин, гепарин и гирудин в трисе/HCl, pH 8,0; готов к использованию консерванты: 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one и 2-methyl-2H-isothiazol-3-one	прим. 1 000 МЕ/л прим. 1 500 МЕ/л < 0,0015 %	человеческий бычий
SUBSTRATE	жидкость	benzyloxycarbonyl-D-Leu-Gly-Arg-ANBA-methylamide-acetate в буферном р-ре ацетата натрия pH 5,6; готов к использованию консерванты: 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one и 2-methyl-2H-isothiazol-3-one	2,4 мМ < 0,0015 %	

INNOVANCE® Antithrombin	Форма	Ингредиенты	Концентрация	Источник
BUFFER	жидкость	соли в трисе/HCl, pH 8,0; готов к использованию консерванты: 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one и 2-methyl-2H-isothiazol-3-one	< 0,0015 %	

Меры предосторожности

Только для использования в диагностике *in vitro*.



ВНИМАНИЕ! ВОЗМОЖНАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОПАСНОСТЬ

Содержит материал, полученный от человека.

Каждый донор или проба от донора проверялись и оказались отрицательными при проверке на наличие вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) 1 и 2, вирусов гепатита В (HBV) и гепатита С (HCV) с помощью методик, соответствующих директивам по диагностике In Vitro Евросоюза, или утвержденных FDA. Поскольку ни одна из существующих методик анализа не может абсолютно гарантировать отсутствие инфекционного материала, любые действия с продуктами, полученными от человека, должны выполняться с осторожностью.

Подготовка реагента

Компоненты набора INNOVANCE® Antithrombin находятся в жидком состоянии. Для обеспечения однородности аккуратно и непродолжительно покрутите емкости с реагентами перед использованием, создавая небольшой водоворот. **Не трясите!** Не допускать образования пены!

Температура хранения: от 2 до 8 °С

Срок годности: если набор для исследования хранится нераспечатанным, он может использоваться до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Стабильность после первого вскрытия (в оригинальном контейнере)

Температура	INNOVANCE® Antithrombin REAGENT	INNOVANCE® Antithrombin SUBSTRATE	INNOVANCE® Antithrombin BUFFER
15–25 °С	8 ч.	8 ч.	8 ч.
2–8 °С	4 нед.	4 нед.	4 нед.

Информация по стабильности после загрузки в инструмент указана в справочных руководствах (кратких инструкциях) по каждому отдельному анализатору.

Взятие образца и обращение с ним

Важно! Вся плазма следует рассматривать как потенциальный источник заражения.

Для получения плазмы осторожно смешайте 1 часть раствора цитрата натрия (0,11 М; 3,2 %) с 9 частями свежесобранной венозной крови, не допуская образования пены. Как можно скорее обработайте на центрифуге при 1 500 x g в течение как минимум 15 мин. Снимите пипеткой надосадочную плазму, не затронув тромбоциты. Используйте свежую плазму не позднее чем через 4 ч. при комнатной температуре (от 15 до 25 °С). Если образец нужно будет заморозить, вновь обработайте отделенную плазму на центрифуге и немедленно заморозьте. Подробнее о стабильности и условиях хранения замороженных образцов см. документ CLSI H21-A5².

Размораживать хранимую при ≤ -20 °С плазму нужно быстро, не более чем за 10 мин. при 37 °С (водяная баня), после чего выполнить анализ не позднее, чем через 2 ч. Повторно не замораживать. Использовать плазму неразбавленной.

Процедура

Предоставленные материалы

INNOVANCE® Antithrombin [REF] OPFH03 с:

4 x 2,7 мл INNOVANCE® Antithrombin [REAGENT], реагент
4 x 2,7 мл INNOVANCE® Antithrombin [SUBSTRATE], субстрат
4 x 5,0 мл INNOVANCE® Antithrombin [BUFFER], буфер

INNOVANCE® Antithrombin [REF] OPFH05 с:

6 x 6,5 мл INNOVANCE® Antithrombin [REAGENT], реагент
6 x 6,5 мл INNOVANCE® Antithrombin [SUBSTRATE], субстрат
6 x 12,0 мл INNOVANCE® Antithrombin [BUFFER], буфер

INNOVANCE® Antithrombin [REF] OPFH11 с:

4 x 2,7 мл INNOVANCE® Antithrombin [REAGENT], реагент
4 x 2,7 мл INNOVANCE® Antithrombin [SUBSTRATE], субстрат
4 x 12,0 мл INNOVANCE® Antithrombin [BUFFER], буфер

Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

Standard Human Plasma	[REF] ORKL
Control Plasma N	[REF] ORKE
Control Plasma P	[REF] OUPZ
Cleaner SCS	[REF] OQUB (только на системах BCS® и BCS® XP)

(Также см. краткие инструкции.)

Оценка: анализ производится автоматически в анализаторе гемостаза.

Расчет нормированной кривой

Нормированная кривая рассчитывается автоматически на основе анализа эталона плазмы человека и INNOVANCE® Antithrombin [BUFFER] в разных концентрациях.

Нормированную кривую нужно рассчитать заново, если в инструмент внесены изменения, сменился лот INNOVANCE® Antithrombin или изменились условия выполнения анализа.

Контроль качества

Нормальный диапазон: Control Plasma N (также см. краткие инструкции)

Диапазон патологии: Control Plasma P

Два уровня материала контроля качества (нормальный и патологический диапазоны) необходимо анализировать в начале серии тестов, при каждой калибровке, при смене флаконов с реагентами и как минимум каждые 8 часов каждый день, когда выполняются тесты. В лаборатории должен быть принят свой собственный диапазон контроля качества, либо на основе значений и диапазонов, предлагаемых производителем контрольных материалов, либо на основе контрольных значений, выбранных в самой лаборатории. Если измеренное значение контрольного материала выходит за границы такого заданного диапазона, нужно проверить реагенты, нормированную кривую и анализатор гемостаза. Не включайте в отчет полученные результаты анализа, пока проблема не будет обнаружена, устранена и документирована.

Диапазон измерения

Диапазон измерения – от 0 до 140 % от нормы.

Ограничения процедуры

Терапевтические дозы пероральных прямых ингибиторов фактора Ха могут привести к ложно завышенной активности антитромбина³. В проведенном исследовании

ингибитор пути тканевого фактора (TFPI) и фондапаринукс (натриевый фондапаринукс) не оказывали влияния на результаты анализа INNOVANCE® вплоть до следующих концентраций:

Интерферент	Атрибут	Нет взаимодействия до...	
		SYSMEX CA-1500 System	BCS®/BCS® XP System
Ингибитор пути тканевого фактора (TFPI)	Прямой ингибитор фактора Ха	10 нмоль/л	10 нмоль/л
фондапаринукс (натриевый фондапаринукс)	Непрямой ингибитор фактора Ха	1 мкг/мл (579 нмоль/л)	3 мкг/мл (1,7 мкмоль/л)

Возможное влияние билирубина, гемоглобина и липидов описано в справочных руководствах (кратких инструкциях) к конкретным анализаторам.

Некоторые очень редкие генетические разновидности антитромбина с пониженной функциональной активностью могут выдавать результаты, лежащие в нормированном диапазоне.

В Siemens проведена проверка использования этих реагентов в различных анализаторах на предмет оптимизации работы продукта и удовлетворения заявленных спецификаций. Выполненные пользователем модификации не поддерживаются Siemens, поскольку могут негативно сказаться на работе системы и результатах тестов. Внося изменения в инструкции или используя эти реагенты в других анализаторах, не упомянутых в кратких инструкциях Siemens, пользователь принимает на себя ответственность за их применимость.

Результаты этого теста всегда следует интерпретировать с учетом больничной истории пациента, клинической картины и других соображений.

Ожидаемые значения

На образцах плазмы, полученной от предположительно здоровых доноров (n = 150), был проведен анализ INNOVANCE® Antithrombin на системе BCS®/BCS® XP, и получены следующие результаты (перцентили от 2,5-й до 97,5-й): от 83 до 118 % от нормы (для взрослых). Другие результаты по различным системам приведены в соответствующих справочных руководствах (кратких инструкциях).

Нормированные диапазоны различны для каждой лаборатории и зависят от контингента пациентов, методик и способов анализа, оборудования и лотов реагентов. Поэтому в каждой лаборатории должны быть приняты собственные нормированные интервалы, или проводиться проверки при изменении одного из перечисленных факторов.

Конкретные рабочие характеристики

Точность

На системах BCS®/BCS® XP проводились исследования точности в соответствии с рекомендациями CLSI EP5-A2⁴, в которых использовались препараты Control Plasma N (контрольная плазма нормального диапазона), Control Plasma P (контрольная плазма патологического диапазона) и пул патологической плазмы (пул человеческой плазмы в спорном диапазоне).

Образец	Точность (N = 80)		
	Среднее [% от нормы]	КВ повторяемости [%]	КВ внутри уст-ва/лаб. [%]
Контрольная плазма N	95,8	2,8	3,7
Контрольная плазма P	31,4	2,6	4,5
Пул патологической плазмы	61,7	1,9	3,5

Другие результаты по различным системам приведены в соответствующих справочных руководствах (кратких инструкциях).

Сравнение методов

При сравнении INNOVANCE® Antithrombin с Berichrom® AT III (A) на системах BCS®/BCS® XP System было проанализировано 300 образцов в диапазоне от 4,8 до 131,3 % от нормы. Коэффициент корреляции составил 0,948 (пересечение оси y: 1,96 % от нормы; наклон 1,01). Другие результаты по различным системам приведены в соответствующих справочных руководствах (кратких инструкциях).

Специфичность

Входящий в состав INNOVANCE® Antithrombin **REAGENT** аprotинин блокирует активность любых представленных в образце плазминов⁵. Выделение неспецифического пигментообразующего субстрата любым присутствующим в образце тромбином блокируется тромбин-специфичным ингибитором гирудином, входящим в состав INNOVANCE® Antithrombin **REAGENT**. В проведенном исследовании следующие концентрации интерферирующих веществ не оказывали влияния на результаты анализа INNOVANCE® Antithrombin:

Интерферирующее вещество	Атрибут	Нет взаимодействия до...	
		SYSMEX CA Systems	BCS®/BCS® XP System
Гирудин	Прямой ингибитор тромбина	5 мг/л ^a (716 мкмоль/л)	5 мг/л (716 мкмоль/л)
Кофактор II гепарина	Прямой ингибитор тромбина	400 мг/л ^a (7,0 мкмоль/л)	400 мг/л (7,0 мкмоль/л)
Argatroban	Прямой ингибитор тромбина	200 мкг/мл ^b (380 мкмоль/л)	300 мкг/мл (570 мкмоль/л)
Ингибитор α ₁ -протеиназы (α ₁ -антитрипсин)	Общий ингибитор сериновой протеазы	4 г/л ^a (85,6 мкмоль/л)	4 г/л (85,6 мкмоль/л)
Нефракционированный гепарин (UFH)	Непрямой ингибитор фактора Ха	2 МЕ/мл ^a	4 МЕ/мл
Низкомолекулярный гепарин (LMWH)	Непрямой ингибитор фактора Ха	2,8 МЕ/мл ^b	6 МЕ/мл

^a Система SYSMEX CA-7000

^b Система SYSMEX CA-1500

Аналитическая чувствительность

Зависит от используемого анализатора гемостаза. Предел обнаружения для активности антитромбина примерно 7,6 % от нормы.

Библиография

1. Kottke-Marchant K, Duncan A. Antithrombin deficiency – issues in laboratory diagnosis. Arch Pathol Lab Med. 2002; 126: 1326-36.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays. Approved Guideline - Fifth Edition. CLSI document H21-A5 (ISBN 1-56238-657-3). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2008.
3. Escolar G, Villata J, Casals F, Bozzo J, Serradell N, Bolós J. Rivaroxaban. Drugs of the Future. 2006; 31(6): 484-493.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods. Approved Guideline-Second Edition. CLSI document EP5-A2 (ISBN 1-56238-542-9). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400. Wayne, Pennsylvania 19087-1989 USA, 2004.
5. Wendel HP, Heller W, Gallimore MJ. Aprotinin in therapeutic doses inhibits chromogenic peptide substrate assays for protein C. Thromb Res. 1994; 74:543-8.

Определение символов

На этикетку изделия могут быть нанесены следующие символы:

	Не использовать повторно		Срок годности
	Номер партии		Каталожный номер
	Внимание, обратитесь к сопроводительным документам		Производитель
	Уполномоченный представитель в Европе		Содержит достаточное количество реагентов для анализов
	Биологическая опасность		Медицинское устройство для диагностики <i>In Vitro</i>
	Температурные ограничения		См. инструкцию по пользованию
	Нестерильно		Символ CE
	Содержание		Объем восстановленного раствора
	Уровень		Беречь от солнечных лучей

BCS, Berichrom и INNOVANCE являются товарными знаками компании Siemens Healthcare Diagnostics.

SYSMEX является товарным знаком компании SYSMEX CORPORATION.

© 2010 Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH.

Все права защищены.



Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
35041 Marburg/Germany

Siemens Healthineers Headquarters

Siemens Healthcare GmbH
Henkestraße 127
91052 Erlangen/Германия
Phone: +49 9131 84-0
siemens-healthineers.com