



Chrom ATIII

Para la determinación cuantitativa de antitrombina III
por método cromogénico

SIGNIFICACION CLINICA

La antitrombina III (ATIII) es un inhibidor fisiológico del sistema de coagulación perteneciente a la familia de las serpinas, inhibidores de serinoproteasas. Si bien es el principal inhibidor de la trombina (FIIa), también inhibe al factor X activado (FXa), factor IX activado (FIXa), factor XI activado (FXIa), factor XII activado (FXIIa), calicreínas, plasmina y el complejo Factor VIIa/Factor tisular. La heparina acelera la inactivación del IIa y Xa por la ATIII, acción conocida como actividad de cofactor de heparina.

La deficiencia de ATIII puede ser adquirida o hereditaria y está asociada con riesgo incrementado de trombosis venosa profunda, tromboembolismo pulmonar y trombosis arterial. Por ser una proteína reactante de fase aguda, pueden observarse niveles aumentados de ATIII durante procesos inflamatorios, infecciones y en presencia de tumores.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La antitrombina III presente en la muestra inhibe un exceso de trombina agregada en presencia de heparina durante la primera fase de reacción. La trombina residual medida en la segunda fase de la reacción, a través de su actividad amidolítica sobre un sustrato cromogénico específico a 405 nm, es inversamente proporcional a la concentración de ATIII en la muestra.

REACTIVOS PROVISTOS

- A. Reactivo A:** vial conteniendo ~43 UI trombina/vial. Liofilizado.
B. Reactivo B: sustrato cromogénico específico para trombina conteniendo 10 µmol sustrato/vial. Liofilizado.
C. Reactivo C: solución de NaCl 0,9%

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Agua destilada
- Coagulation Control N y Coagulation Control P de Wiener lab.
- Coagulation Calibrator de Wiener lab.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A: reconstituir con 20 ml de agua destilada. Dejar reposar, no menos de 10 minutos (preferentemente 30 minutos) a temperatura ambiente antes de su uso.

Reactivo B: reconstituir con 8 ml de agua destilada. Dejar reposar no menos 10 minutos (preferentemente 30 minutos) a temperatura ambiente antes de su uso.

Reactivo C: listo para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro". Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Los Reactivos Provistos son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Una vez reconstituidos son estables:

Reactivo	37°C	TA (<25°C)	2-10°C	-20°C
Reactivo A	1 día	4 semanas	4 meses	6 meses
Reactivo B	1 día	4 semanas	6 meses	1 año

MUESTRA

Plasma citratado

a) Recolección: obtener sangre cuidadosamente (evitando estasis o trauma) y colocar en un tubo con anticoagulante en proporción 9 + 1 exacta (ejemplo: 4,5 ml de sangre + 0,5 ml de anticoagulante). Mezclar suavemente. Centrifugar durante 15 minutos a 2500 g separando el plasma antes de los 30 minutos.

b) Aditivos: para obtener el plasma debe emplearse Anti-coagulante TP de Wiener lab. o citrato de sodio 130 mmol/l (3,8%) o 109 mmol/l (3,2%).

c) Sustancias interferentes conocidas: no debe emplearse EDTA o heparina para obtener plasma. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: el plasma debe mantenerse a temperatura ambiente hasta el momento de efectuar la prueba. Este período no debe prolongarse más de 3 horas. En caso de no poder procesarse en este lapso, el plasma puede congelarse hasta 1 mes a -20°C.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Tubos de hemólisis
- Pipetas o micropipetas para medir los volúmenes indicados
- Cronómetro
- Baño de agua termostático a 37°C
- Espectrofotómetro o analizador de coagulación

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 405 nm
- Temperatura de reacción: 37°C
- Tiempo de reacción: 270 segundos
- Volumen final: 800 µl (técnica de punto final) o 600 µl (técnica cinética)

PROCEDIMIENTO

Prediluir las muestras plasmáticas en una proporción 1:80 con Reactivo C (25 µl de muestra + 2,0 ml de Reactivo C). Mantener a temperatura ambiente hasta el momento de efectuar el ensayo.

Precalentar los reactivos A y B reconstituidos a 37°C.

Técnica cinética

En un tubo marcado D (Desconocido) o C (Calibrador) colocar:

	D o C
--	-------

Muestra prediluida	200 µl
---------------------------	--------

Reactivo A	200 µl
-------------------	--------

Mezclar en incubar exactamente 90 segundos a 37°C. Luego agregar:

Reactivo B	200 µl
-------------------	--------

Mezclar en incubar exactamente 180 segundos a 37°C.

Mezclar y leer la absorbancia a 405 nm durante 3 minutos ($\Delta A/\text{min}$) registrando las absorbancias cada minuto. Calcular la actividad de antitrombina III (%) utilizando el cambio de absorbancia por minuto e interpolando en la curva de calibración.

CURVA DE CALIBRACION

Prediluir el calibrador de coagulación (ej. Coagulation Calibrator) en una proporción 1:80 con Reactivo C del mismo modo en que se diluyen las muestras. A partir del Coagulation Calibrator prediluido preparar las siguientes diluciones seriadas: 1/1, 1/2, 1/4 también con Reactivo C y empleando este último como punto de valor 0%. Graficar el cambio de absorbancia obtenida para cada dilución en función del % de actividad de antitrombina III. La concentración de antitrombina III se determina por interpolación en la curva de calibración.

VALORES DE REFERENCIA

80-120% (0,80-1,20 UI ATIII/ml)

Cada laboratorio debe establecer sus propios valores de referencia a partir de las técnicas e instrumental empleado.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Coagulation Control N y Coagulation Control P de Wiener lab.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas y Estabilidad e instrucciones de almacenamiento en MUESTRA.

Se requiere una nueva calibración para cada lote de reactivos y para cada instrumento utilizado.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: se determinó con diferentes muestras (en series y día a día). Se obtuvieron los siguientes resultados:

Precisión intraensayo

Nivel	D.S.	C.V.
104,2%	2,21%	2,12%
54,7%	1,61%	2,95%

Precisión interensayo

Nivel	D.S.	C.V.
103,3%	1,75%	1,69%
53,9%	1,275%	2,37%

b) Rango de medición: 0 - 130%

c) Sensibilidad: el límite de detección es 4.0%

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Referirse a las adaptaciones específicas de cada analizador.

PRESENTACION

1 x → 20 ml Reactivo A

1 x → 8 ml Reactivo B

2 x 25 ml Reactivo C

(Cód. 1705012)

BIBLIOGRAFIA

- Odegard, O. R., Lie, M. and Ablidgaard, U. Thrombosis Research 1975, 6: 287-294.
- Tolefsen, D. M. and Blank, M. K. Journal of Clinical Investigations 1981, 68: 589-596.
- Friberger, P., Egberg, N., Holmer, E., Hellgren, M. and Blomback, M. Thrombosis Research 1982, 25: 433-436.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control




Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-104



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina