

Aplicación

Test Cromogénico automatizado para la determinación cuantitativa de la Antitrombina en plasma humano citrado para los Sistemas de Coagulación IL.

Principio

La Antitrombina (AT) o Cofactor de la Heparina es el principal inhibidor fisiológico de la coagulación sanguínea y es esencial para que la terapia anticoagulante con Heparina sea efectiva. La AT mediante su acción inhibitoria de las proteasas de la coagulación, especialmente Trombina, F Xa y F IXa, evita procesos incontrolados de la coagulación. Los déficits de AT están asociados a un alto riesgo de enfermedades tromboembólicas.^{1,2,3}

El kit Antitrombina puede ser utilizado para descartar o diagnosticar su déficit congénito^{4,5} en pacientes con trombofilia, estados preoperatorios, antes de la prescripción de contraceptivos orales, CID⁶, síndromes nefróticos, hepatopatías⁷ y terapia con Heparina o concentrados de Antitrombina.^{8,9}

El kit Antitrombina es una técnica basada en un sustrato cromogénico sintético y una inactivación del F Xa.^{10,11} El método es como consecuencia específico y no es alterado por el Cofactor II de la Heparina.

El nivel de AT en el plasma de pacientes es medido automáticamente en los sistemas de coagulación IL en dos etapas:

1. Incubación del plasma con el reactivo Factor Xa en presencia de un exceso de Heparina.
2. Cuantificación de la actividad del Factor Xa residual con un sustrato cromogénico sintético. La Paranitroanilina liberada es medida clínicamente a 405 nm siendo su nivel inversamente proporcional a la actividad de la AT de la muestra.

Composición

El kit **Antithrombin** consta de:

[S] Chromogenic substrate (Nº Cat. 0020008910): 2 x 2 mL viales de sustrato cromogénico liofilizado S-2785, N- α -Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA-2HCl (6 mg/ml) y estabilizantes.

[E] Factor Xa reagent (Nº Cat. 0020008920): 2 x 2,5 mL viales de una preparación liofilizada que contiene Factor bovino Xa (26 nkat/ml), heparina y Albúmina de suero bovino.

PRECAUCIÓN:

Indicaciones de Peligro: **Ninguna**

Frases de Riesgo: **Ninguna**

Frases de Seguridad: **Ninguna**

Este reactivo es para diagnóstico *in vitro*.

Preparación

Chromogenic substrate: Disolver el contenido de cada vial con 2 mL de agua destilada tipo CLR de acuerdo a CLSI.¹² Cerrar el vial y homogeneizar suavemente. Asegurarse de la completa disolución del producto. Mantener el reactivo entre 15 y 25°C durante 30 minutos. Mezclar suavemente por inversión del vial antes de su uso.

Factor Xa reagent: Disolver el contenido de cada vial con 2,5 mL de agua destilada tipo CLR de acuerdo a CLSI.¹² Cerrar el vial y homogeneizar suavemente. Asegurarse de la completa disolución del producto. Mantener el reactivo entre 15 y 25°C durante 30 minutos. Mezclar suavemente por inversión del vial antes de su uso.

Conservación y estabilidad de los reactivos

Los reactivos que no hayan sido abiertos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el vial si se mantienen a 2-8°C.

Chromogenic substrate - Estabilidad después de la reconstitución: 7 días a 15°C, 3 meses a 2-8°C, 6 meses a -20°C en el vial original, 24 horas a 15-25°C en los sistemas ACL ELITE[®] ELITE PRO/8/9/10000 ó 48 horas a 15°C en los sistemas ACL Futura y ACL Advance.

Factor Xa reagent - Estabilidad después de la reconstitución: 7 días a 15°C, 3 meses a 2-8°C, 6 meses a -20°C en el vial original, 24 horas a 15°C en los sistemas ACL ELITE/ELITE PRO/8/9/10000 ó 48 horas a 15°C en los sistemas ACL Futura y ACL Advance.

Para obtener una estabilidad óptima del reactivo reconstituido, sugerimos que acabado el trabajo, conserve el reactivo en su vial original almacenado en nevera entre 2 y 8°C.

Método de Ensayo

Seguir las Instrucciones de la técnica de acuerdo al Manual del Operador de los Instrumentos IL o bien al Manual de Aplicaciones.

Recolección y Preparación de las muestras

Recoger nueve partes de sangre recién extraída por punción venosa y una parte de anticoagulante citrato trisódico. Para la recolección, manejo y conservación del plasma seguir las recomendaciones del documento H21-A5 de la CLSI.¹³

Reactivos adicionales y plasmas de control

Los siguientes reactivos no se suministran con el kit y deberán pedirse por separado.

	Americas and Pacific Rim Nº Cat.	Europa Nº Cat.
Plasma de Calibración	0020003700	0020003700
Control Normal	0020003120/0020003110	0020003110
Special Test Control Level 1	0020011000	0020011000
Special Test Control Level 2	0020012000	0020012000
Control Anormal Bajo	0020003220/0020003210	0020003210
Diluyente de Factores	0009757600	0009757600
Solución Descontaminante	0009831700	0009831700
Agente de limpieza	0009832700	0009832700

Control de Calidad

Se recomienda el uso de los controles de plasma normales y anormales de IL para realizar un completo programa de Control de Calidad.¹⁴ Tanto el Plasma Control Normal, como el Control Anormal Bajo y los Controles de Técnicas Especiales Nivel 1 y 2 están diseñados específicamente para este programa. Cada laboratorio debe establecer su propia media y desviación estándar, asimismo establecer un programa de Control de Calidad para monitorizar los resultados de su laboratorio. Los controles deben ser usados como mínimo una vez dentro del turno de 8 horas, de acuerdo a la normativa de Buenas Prácticas en el Laboratorio. Referirse al Manual del Operador para información adicional. Consultar la publicación de Westgard y col. para una identificación y resolución de situaciones anormales del Control de Calidad.¹⁵

Resultados

Los resultados de la Antitrombina se informan en actividad (%). Referirse al Manual del Operador para información adicional.

Limitaciones/Interferencias

Concentraciones de Heparina (Heparina no fraccionada o Heparina de bajo peso molecular) hasta 2 U/ml, α_1 -antitripsina hasta 2 mg/ml, α_2 -macroglobulina hasta 7 mg/ml, Cofactor II de la Heparina hasta 3 U/ml, Hemoglobina hasta 200 mg/dL, Bilirrubina hasta 20 mg/dL y Triglicéridos hasta 1000 mg/dL no alteran los resultados de la Antitrombina en los Sistemas de Coagulación IL.

Valores esperados

Los niveles de actividad de Antitrombina en individuos sanos están aproximadamente entre el 83 – 128 %. Los niveles de Antitrombina son bajos en neonatos y recién nacidos, y aumentan hasta niveles propios del adulto cuando se llega a 1 año de edad; en este momento los niveles de Antitrombina son ligeramente superiores a los del adulto, niveles que se normalizan al llegar a la edad de 16 años.¹⁶

Debido a la existencia de múltiples variables que pueden afectar a los resultados, se aconseja que cada laboratorio establezca su propio rango de normalidad.

Características técnicas

Precisión:

La precisión intraserie y total (serie a serie y día a día) fue realizada en diferentes series y utilizando muestras normales y anormales en modelos representativos de las siguientes familias de Instrumentos.

ACL Classic (100-7000)	Media (actividad %)	CV % (Intraserie)	CV % (Total)
Control Normal	110	2,10	4,80
Control Anormal Bajo	35,5	4,14	5,44
Control Anormal Alto	20,3	5,13	8,89

ACL Futura/ACL Advance	Media (actividad %)	CV % (Intraserie)	CV % (Total)
Control Normal	113	0,88	2,64
Control Anormal Bajo	35,4	5,60	8,20
Control Anormal Alto	22,8	9,90	10,74

ACL 8/9/10000/ ELITE/ELITE PRO	Media (actividad %)	CV % (Intraserie)	CV % (Total)
Control Normal	112	2,33	4,18
Control de Técnicas Especiales Nivel 1	58,3	3,23	3,59
Control de Técnicas Especiales Nivel 2	25,7	3,42	9,04

Correlación:

Sistema	Pendiente	Intersección	r	Método de Comparación
ACL Classic (100-7000)	0,96	-1,20	0,992	COAMATIC [®] Antitrombina, Chromogenix
ACL Futura/ ACL Advance	1,02	0,29	0,991	COAMATIC [®] Antitrombina, Chromogenix

Estos resultados de precisión y correlación se obtuvieron utilizando kits específicos de reactivos y controles.

Linealidad:

Sistema

ACL Classic (100-7000) y ACL Futura/ACL Advance 10-150 (actividad %)