

AT**Antitrombina****cobas®**

REF	CONTENT	SYSTEM
06589332190	R1 , 6 x 7 mL R2 , 6 x 2 mL	cobas t 411

Italiano**Finalità d'uso**

Test *in vitro* per la determinazione quantitativa dell'attività di antitrombina nel plasma umano sugli analizzatori **cobas t** indicati.

Sommario

L'antitrombina (AT) è una glicoproteina a catena singola, sintetizzata nel fegato, dal peso molecolare di ca. 58200 Da.¹

Da inibitore progressivo, l'AT inattiva non soltanto la trombina (fattore II attivato (FIIa)) ma anche altre serina-proteasi: soprattutto il fattore X attivato (FXa) e, in misura minore, il fattore IX attivato (FIXa), FXIa, FXIIa nonché la plasmina e la callicreina.¹ L'eparina accelera di molte volte l'inattivazione della trombina e del FXa.² Le concentrazioni di AT nonché di proteina C e di proteina S svolgono tutte un ruolo importante nel mantenimento dell'equilibrio emostatico.^{1,3}

Nel 1965 è stato riferito, per la prima volta, di una carenza ereditaria di AT congiunta con complicanze tromboemboliche.³

La carenza ereditaria di AT viene trasmessa per eredità in forma autosomica dominante, in misura più o meno uguale sia dagli uomini che dalle donne. Se ne distinguono due tipi:

- carenza di tipo I:
 - a causa di una sintesi epatica ridotta, le concentrazioni e le attività di AT sono diminuite in misura uguale.
- carenza di tipo II:
 - la concentrazione di AT rimane normale; al contempo, però, la sua attività biologica è ridotta a causa di una struttura molecolare modificata.¹

La carenza di AT acquisita è molto più frequente della carenza di AT congenita, ma comporta, a differenza di questa, molto più raramente un aumento del rischio di trombosi. La concentrazione e l'attività di AT sono ridotte in misura uguale. Una carenza di AT può essere dovuta a:

- sintesi ridotta a causa di un funzionamento epatico danneggiato (malattia del fegato) o immaturo (neonati, prematuri). Di regola, tutti i fattori della coagulazione e tutti gli inibitori dipendenti dal fegato si riducono in pari misura. Grazie all'emostasi complessivamente equilibrata non si registra un'elevata tendenza alla trombosi.
- perdita di AT intravascolare a causa del suo peso molecolare relativamente basso:
 - perdita renale in caso di sindrome nefrosica
 - perdita enterale nelle enteropatie con perdita di proteine
 - aumento della perdita nello spazio extravascolare in seguito ad un aumento della permeabilità vascolare.^{2,4}
- aumento del consumo in seguito ad un aumento dell'attività di coagulazione o ad un'attività di coagulazione prolungata, ad es.
 - dopo interventi chirurgici
 - terapia intravenosa continua a base di eparina
 - coagulopatia da consumo, coagulazione intravascolare disseminata (CID)^{5,6}
- nelle infezioni settiche, la perdita dell'attività di AT è in relazione diretta alla gravità dell'infezione oppure al suo decorso settico. Se sussiste il sospetto clinico di un quadro patologico settico, sono indicati la determinazione precoce ed il monitoraggio dell'attività di AT per rilevare tempestivamente una CID.^{7,8}

Principio del test

Al campione si aggiungono eparina e una quantità predefinita di trombina in eccesso. Tutta l'AT presente viene legata, formando un complesso inattivo. La trombina non inibita rilascio di p-nitroanilina dal substrato cromogeno MeOCO-gli-pro-arg-pNA. Poiché la quantità residua di trombina è inversamente proporzionale alla concentrazione di AT nel campione, l'aumento dell'assorbanza a 405 nm permette di calcolare l'attività di AT.

Reattivi – soluzioni pronte all'uso

- R1** Reattivo di trombina. 6 flaconi, ciascuno contenente un volume di 7 mL
 Tampone TRIS[®]/HCl: 100 mmol/L, pH 8.1; eparina (mucosa porcina): 2 U/mL; aprotinina (polmone bovino): 6.5 U/mL; NaCl: 270 mmol/L; trombina (plasma bovino): 0.38 U/mL
- R2** Substrato (reattivo starter). 6 flaconi, ciascuno contenente un volume di 2 mL
 MeOCO-gli-pro-arg-pNA · AcOH: 1.8 mmol/L

a) 2-Amino-2-idrossimetilpropano-1,3-diolo

Precauzioni e avvertenze

Per uso diagnostico *in vitro* per i professionisti del settore sanitario. Osservare le precauzioni normalmente adottate durante la manipolazione dei reagenti di laboratorio.

Rifiuti infettivi e microbici:

Avvertenza: trattare i rifiuti come materiale a potenziale rischio biologico. Smaltire i rifiuti a seconda delle istruzioni e procedure di laboratorio riconosciute.

Rischi ambientali:

Per garantire lo smaltimento sicuro, applicare tutte le normative locali rilevanti in materia di rifiuti.

Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.

Questa confezione contiene componenti classificati, secondo il Regolamento (CE) N. 1272/2008, come segue:

**Avvertenza**

H317 Può provocare una reazione allergica cutanea.

Prevenzione

P261 Evitare di respirare la nebbia o i vapori.

P272 Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro.

P280 Indossare guanti protettivi.

Reazione

P333 + P313 In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.

P362 + P364 Togliersi di dosso gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

Smaltimento rifiuti

P501 Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento rifiuti approvato.

L'etichettatura relativa alla sicurezza del prodotto è conforme al regolamento GHS UE.

Contatto telefonico: per tutti i paesi: +49-621-7590

Evitare la formazione di schiuma in tutti i reattivi e tipi di campione (campioni, calibratori e controlli).

Utilizzo dei reattivi

I reattivi sono pronti all'uso. Richiudere il tappo, agitare leggermente ogni flacone e lasciarlo riposare 30 minuti a 15-25 °C. Appena prima dell'uso,

agitare con cautela ogni flacone per assicurarne l'omogeneità. Evitare la formazione di schiuma.

Conservazione e stabilità

Conservare a 2-8 °C.

Stabilità dei reagenti integri: fino alla data di scadenza indicata.

Conservare i reattivi nel flacone originale.

Stabilità dei reattivi aperti nei flaconi originali:

Stabilità:	
sull'analizzatore cobas t	5 giorni
a 2-8 °C	14 giorni (tappo chiuso)

Viste le numerose combinazioni di condizioni di conservazione (in parte a bordo, in parte a 2-8 °C), ogni laboratorio deve stabilire durate di stabilità proprie in base alla propria prassi se il reattivo viene conservato in parte a 2-8 °C. Tali durate non devono essere superiori a quelle riportate sopra, che sono state determinate a condizioni controllate.

Non congelare.

Prelievo e preparazione dei campioni

Solo i tipi di campione elencati di seguito sono stati testati e risultano accettabili.

Plasma umano citratato al 3.2 %.

Impiegare provette standard per prelievi di campioni in materiale plastico o in vetro siliconato. Il rapporto tra sangue (9 parti) e soluzione di citrato di sodio (0.11 M; 1 parte) deve essere esattamente rispettato.^{9,10}

I tipi di campione elencati sono stati testati impiegando una selezione di provette per il prelievo di campioni disponibili in commercio al momento dell'analisi; non sono, quindi, state testate tutte le provette disponibili di tutte le case produttrici. Alcuni sistemi per il prelievo di campioni di vari produttori possono contenere diversi materiali e in alcuni casi possono interferire sui risultati del test. Quando si trattano i campioni in provette primarie (sistemi per il prelievo di campioni), seguire le istruzioni del produttore delle provette.

Centrifugare 15 minuti a 2500 g oppure finché il conteggio delle piastrine è < 10000 piastrine/μL, quindi testare i campioni entro il periodo di stabilità indicato.

Stabilità:	
a 15-25 °C	2 giorni
a 2-8 °C	14 giorni
a -20 °C (± 5 °C)	28 giorni

Le aliquote del plasma congelato devono essere scongelate entro 5 minuti a 37 °C a bagnomaria ed omogeneizzate agitandole con cautela ed evitando la formazione di schiuma. Analizzare i campioni scongelati entro 2 ore. Non ricongelare i campioni.

Materiali a disposizione

Vedere la sezione "Reattivi – soluzioni pronte all'uso".

Materiali necessari (ma non forniti)

- [REF] 07149131190, Global Cal, 5 x 1 mL
- [REF] 07128029190, Con N, 20 x 1 mL
- [REF] 07137826190, Con P, 20 x 1 mL
- [REF] 06488846190, Imid Buff, 20 x 20 mL
- [REF] 07204736190, Day Clean, 12 x 11 mL
- [REF] 06765815001, Calibration cup, 16 mm
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale attrezzatura da laboratorio
- Analizzatore di coagulazione **cobas t**. Per ulteriori materiali necessari consultare il manuale d'uso del relativo analizzatore.

Esecuzione

Per una performance ottimale del test, attenersi alle indicazioni riportate in questo documento. Per le istruzioni specifiche dell'analizzatore relative all'esecuzione del test, consultare il manuale d'uso dello strumento.

Roche non risponde delle performance delle applicazioni che non sono state validate dalla stessa Roche – tali performance devono quindi essere definite dall'utilizzatore.

Collocare i reattivi, i controlli ed il calibratore (come richiesto) nei loro flaconi originali nelle posizioni appropriate sull'analizzatore.

Calibrazione

Per la calibrazione, impiegare la confezione di calibratori indicata nella sezione "Materiali necessari (ma non forniti)".

Con il bianco: Imid Buff

Frequenza di calibrazione:

Si consiglia di eseguire una calibrazione a 2 punti:

- al cambio del lotto
 - se richiesto dai procedimenti del controllo di qualità
- Eseguire una calibrazione con il bianco (Imid Buff)
- ogni giorno
 - al collocamento di un nuovo flacone di reattivo sul sistema

Tracciabilità: questo metodo è stato standardizzato contro lo standard internazionale dell'OMS/NIBSC.

Controllo di qualità

Per la verifica dell'accuratezza e della riproducibilità dei risultati è necessario l'impiego di controlli.

Per il controllo di qualità, impiegare le confezioni di controlli indicate nella sezione "Materiali necessari (ma non forniti)".

Gli intervalli ed i limiti del controllo dovranno essere conformi alle esigenze individuali di ogni laboratorio. I valori ottenuti devono rientrare nei limiti definiti. Ogni laboratorio deve definire delle misure correttive da attuare nel caso che alcuni valori siano al di fuori dei limiti definiti.

Per il controllo di qualità, attenersi alle normative vigenti e alle linee guida locali.

Limiti del metodo – interferenze

È stato testato l'effetto delle seguenti sostanze endogene e dei seguenti composti farmaceutici sulla performance del test. Non è stata osservata alcuna influenza sui risultati fino alle concentrazioni elencate:

Sostanze endogene

Composto	Concentrazione
Bilirubina coniugata	60 mg/dL
Bilirubina non coniugata	60 mg/dL
Emoglobina	1100 mg/dL
Intralipid	800 mg/dL

Criterio di valutazione: recupero entro ± 10% del valore iniziale.

Le interferenze da lipemia, emoglobina e bilirubina sono state testate secondo Glick.¹¹

Farmaci: non si è osservata alcuna interferenza a concentrazioni terapeutiche impiegando le più comuni famiglie di farmaci.^{12,13}

La presenza di inibitori diretti della trombina, quali l'argatroban, il dabigatran e la bivalirudina, nel campione influenza i risultati del test (aumento dell'attività di AT misurata), il che può essere importante dal punto di vista clinico.

In casi molto rari, la gammopatia, particolarmente di tipo IgM (macroglobulinemia di Waldenström), può causare risultati inaffidabili.

Ai fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati congiuntamente con la storia clinica del paziente, con gli esami clinici e con altre evidenze cliniche.

Limiti ed intervalli**Intervallo di misura**

20-120 %

Limiti inferiori di misura

Limite del bianco = 5 %

Limite di sensibilità = 10 %

Il limite del bianco ed il limite di sensibilità sono stati determinati in conformità ai requisiti EP17-A del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*).

Il limite del bianco corrisponde al valore del 95° percentile ottenuto in n = 60 misurazioni di campioni privi di analiti in varie serie indipendenti l'una dall'altra. Il limite del bianco corrisponde alla concentrazione al di sotto della quale si riscontrano campioni privi di analiti con una probabilità del 95 %.

Il limite di sensibilità viene determinato in base al limite del bianco e alla deviazione standard dei campioni con concentrazioni basse. Il limite di sensibilità corrisponde alla concentrazione minima dell'analita che può essere rilevata (valore superiore al limite del bianco con una probabilità del 95 %).

Valori di riferimento

80-120 %¹⁴

Ogni laboratorio deve controllare l'applicabilità dei valori di riferimento alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare intervalli di riferimento propri.

Dati specifici sulla performance del test

Qui di seguito sono riportati i dati rappresentativi delle prestazioni sugli analizzatori. I risultati dei singoli laboratori possono differire da questi.

Precisione

La ripetibilità e la precisione intermedia sono state determinate usando campioni umani e controlli, eseguiti in conformità ai requisiti EP05 del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) (2 aliquote per serie, 2 serie al giorno, 21 giorni). Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Campione	Media (%)	Ripetibilità		Precisione intermedia	
		DS (%)	CV (%)	DS (%)	CV (%)
Con N	89.4	1.3	1.5	3.3	3.7
Con P	36.0	1.8	4.9	2.5	6.8
Plasma 1	105	2.1	2.0	3.3	3.1
Plasma 2	60.3	1.7	2.7	2.4	4.1
Plasma 3	41.6	2.2	5.4	2.9	6.9

Confronto tra metodi

Il confronto del test AT eseguito su un analizzatore **cobas t 411 (y)** con il test AT eseguito su un analizzatore **cobas c 501 (x)** ha prodotto le seguenti correlazioni (%):

Numero di campioni misurati: 102

Passing/Bablok¹⁵ Regressione lineare

$y = 0.974x - 1.81$ $y = 0.969x - 1.82$

$\tau = 0.927$ $r = 0.991$

Impiegando il reagente AT, le attività dell'antitrombina erano comprese tra il 21.2 ed il 115 %.

Letteratura

- 1 Patnaik MM and Moll S. Inherited antithrombin deficiency: a review. *Haemophilia*. 2008;14:1229-39.
- 2 Iba T, Levy JH, et al. Diagnosis and management of sepsis-induced coagulopathy and disseminated intravascular coagulation. *J Thromb Haemost*. 2019;17:1989-1994.
- 3 Giannotta M, Tapete G, et al. Thrombosis in inflammatory bowel diseases: what's the link? *Thromb J*. 2015;13:14.
- 4 Mann KG, Whelihan MF, et al. Citrate anticoagulation and the dynamics of thrombin generation. *J Thromb Haemost*. 2007;5:2055-61.
- 5 Levy JH, Montes F, et al. The in vitro effects of antithrombin III on the activated coagulation time in patients on heparin therapy. *Anesth Analg*. 2000;90:1076-9.
- 6 Beyer JT, Schoeppler KE, et al. Antithrombin Administration During Intravenous Heparin Anticoagulation in the Intensive Care Unit: A Single-Center Matched Retrospective Cohort Study. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2018;24:145-150.

- 7 Wüst T, Beeser H, Lang HR. Diagnostik und Therapie der Verbrauchskoagulopathie. *Intensivmed*. 1990;27:177-82.
- 8 Papageorgiou C, Jourdi G, et al. Disseminated Intravascular Coagulation: An Update on Pathogenesis, Diagnosis, and Therapeutic Strategies. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2018;24:8S-28S.
- 9 CLSI Document H21-A5, Vol.28, No.5, 2008. Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline, 5th edition.
- 10 CLSI Document H3-A6. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard - Sixth Edition, vol. 27, No. 26, 2007.
- 11 Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470-475.
- 12 Breuer J. Report on the Symposium "Drug Effects in Clinical Chemistry Methods". *Eur J Clin Biochem* 1996;34:385-386.
- 13 Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. *Ann Clin Biochem* 2001;38:376-385.
- 14 Bain B, Bates I, Laffan M et al. *Dacie and Lewis Practical Haematology*, Edition 11 2011, p453
- 15 Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988 Nov;26(11):783-790.

In questa metodica, per separare la parte intera da quella frazionaria in un numero decimale si usa sempre il punto. Il separatore delle migliaia non è utilizzato.

Per ulteriori informazioni, consultare il manuale d'uso appropriato per il relativo analizzatore e le metodiche di tutti i componenti necessari.

Esiste la necessità di segnalare qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo, sia al fabbricante che all'autorità competente dello Stato membro in cui l'utilizzatore e/o il paziente è stabilito.

Simboli

Oltre a quelli indicati nello standard ISO 15223-1, Roche Diagnostics impiega i seguenti simboli (per gli USA: per la definizione dei simboli impiegati, vedere dialog. Roche.com):

	Contenuto della confezione
	Analizzatori/strumenti su cui i reagenti possono essere usati
	Reagente
	Calibratore
	Volume per la ricostituzione
	Global Trade Item Number

Le aggiunte, cancellazioni o modifiche sono indicate mediante una linea verticale posizionata al margine.

© 2023, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www. Roche.com

+800 5505 6606

