

## Determinación cuantitativa de Antitrombina III (ATHROM-III) IVD

Conservar a 2 - 8°C.

### USO RECOMENDADO

Ensayo turbidimétrico para la cuantificación de antitrombina III en suero o plasma humano.

### PRINCIPIO DEL METODO

Los anticuerpos antitrombina III forman compuestos insolubles cuando se combinan con la antitrombina III de la muestra del paciente, ocasionando un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de antitrombina III en la muestra, y que puede ser cuantificada por comparación con un calibrador de antitrombina III de concentración conocida.

### SIGNIFICADO CLINICO

La antitrombina III es una proteína sintetizada en el hígado, normalmente presente en el plasma humano. Es el inhibidor más importante de la trombina, e inhibe la coagulación y limita la formación de coágulos sanguíneos. La antitrombina III activa otros componentes de la cascada de coagulación (ej, factor Xa), así como la plasmina.

El déficit de antitrombina III puede causar o conducir a la trombosis, la formación de coágulos en los vasos sanguíneos. Los coágulos que se forman en las extremidades inferiores y el embolismo pulmonar son ejemplos típicos. La deficiencia de antitrombina III es normalmente hereditaria y afecta tanto a hombres como mujeres. Todos los miembros de una misma familia afectada por esta enfermedad deberían controlarse.

La deficiencia de antitrombina III adquirida puede aparecer como resultado de otras condiciones tales enfermedades hepáticas, tratamientos de quimioterapia, o el uso de contraceptivos orales.

### REACTIVOS

<b>Diluyente (R1)</b>	Tampón tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azida sódica 0,95 g/L.
<b>Anticuerpo (R2)</b>	Suero de cabra, anti-antitrombina III humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
<b>Opcional:</b>	Ref: 1102003PROT CAL.

### CALIBRACION

Debe utilizarse el PROT CAL para la Calibración. El reactivo (tanto monoreactivo como bireactivo) se debe recalibrar cada semana, cuando los controles están fuera de especificaciones, y cuando el lote de reactivo o la configuración del instrumento cambia.

### PREPARACION

**Reactivos:** Listos para el uso.

**Curva de Calibración:** Preparar las siguientes diluciones del PROT CAL en C1Na 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución de antitrombina III, multiplicar la concentración de antitrombina III del calibrador por el factor correspondiente indicado en la tabla:

Dilución calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (µL)	--	10	25	50	75	100
C1Na 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0,25	0,5	0,75	1,0

### CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad.

**Indicadores de deterioro:** La presencia de partículas y turbidez.

No congelar; la congelación del Anticuerpo o Diluyente puede afectar la funcionalidad de los mismos.

### MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.

- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatable a 37°C para lecturas a 340 nm (320-360 nm).

### MUESTRAS

Suero o plasma fresco, recogido con citrato sódico como anticoagulantes. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C.

No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

### PROCEDIMIENTO

1. Calentar los reactivos y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.

2. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 340 nm

Temperatura: 37°C

Paso de luz de la cubeta: 1 cm

3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

4. Pipetear en una cubeta:

Reactivo R1 (µL)	800
Muestra o Calibrador (µL)	20

5. Mezclar y leer la absorbancia ( $A_1$ ) después de la adición de la muestra.

6. Inmediatamente después, pipetear en la cubeta:

Reactivo R2 (µL)	200
------------------	-----

7. Mezclar y leer la absorbancia ( $A_2$ ) exactamente después de 5 minutos de añadir el reactivo R2.

**Spinreact dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de analizadores automáticos del mercado. Solicite la información a su distribuidor.**

### CALCULOS

Calcular la diferencia de absorbancias ( $A_2 - A_1$ ) obtenidas para los distintos calibradores, y construir la curva de calibración de los valores obtenidos frente a las concentraciones de antitrombina III de cada dilución del Calibrador. La concentración de antitrombina III en la muestra se calcula por interpolación de su diferencia ( $A_2 - A_1$ ) en la curva de calibración.

### CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Spinreact dispone del PROT CONTROL Ref: 1102004.

Cada laboratorio debería establecer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

### VALORES DE REFERENCIA

Entre 17 - 30 mg/dL. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

### CARACTERISTICAS DEL METODO

1. **Rango de medida:** hasta 70 mg/dL en las condiciones descritas del ensayo. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 con C1Na 9 g/L y ensayarse de nuevo. El intervalo de medida depende de la relación muestra/reactivo. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior del intervalo de medida, aunque se reduce la sensibilidad.

2. **Límite de detección:** valores por debajo de 7,4 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.

3. **Sensibilidad:** 7,5 mA / mg/dL.

4. **Efecto prozona:** No se observa hasta valores de 200 mg/dL.

5. **Precisión:** El reactivo ha sido probado durante 20 días con dos niveles diferentes de suero en un estudio basado en las normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)	
	17.85 mg/dl	35.93 mg/dl
Total	3.2%	3.5%
Within Run	0.8%	1%
Between Run	2.4%	2.4%
Between Day	2%	2.3%

6. **Exactitud:** El comportamiento de este método fue comparado con reactivos de referencia. Los resultados obtenidos no muestran diferencias significativas. Los detalles del estudio están disponibles bajo solicitud.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

### INTERFERENCIAS

Bilirrubina ( hasta 25 mg/dL), no interfiere. La hemoglobina ( $\geq 9$  g/L), lípidos ( $\geq 6$  g/L) y factores reumatoides ( $\geq 200$  UI/mL), interfieren. Otras sustancias pueden interferir<sup>5,6</sup>.

### NOTAS

1. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

### BIBLIOGRAFIA

- Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
- Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
- Buller HR et al. Critical care Medicine 1982; 10: 311.
- Kauffman et al. Am J Med 1978; 65: 607.
- Frieg DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACCPres, 1995.
- Young M and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACCPres, 1997.

### PRESENTACION

Ref.: 1102016	Cont.	R1. Diluyente: 1 x 40 mL
		R2. Anticuerpo: 1 x 10 mL