



# Chrom ATIII

Para a determinação quantitativa de antitrombina III por método cromogênico

## SIGNIFICADO CLÍNICO

A antitrombina III (ATIII) é um inibidor fisiológico do sistema de coagulação pertencente à família das serpinas, inibidores de serina-proteases. Embora seja o principal inibidor da trombina (FIIa), também inibe o fator X ativado (FXa), fator IX ativado (FIXa), calicreínas, plasmina e o complexo Factor VIIa/Fator tissular. A heparina acelera a inativação de IIa e Xa pela ATIII, ação conhecida como atividade de cofator de heparina. A deficiência de ATIII pode ser adquirida ou hereditária e está associada com um risco aumentado de trombose venosa profunda, embolia pulmonar e trombose arterial. Como uma proteína de fase aguda reagente, pode ser observado aumento dos níveis de ATIII durante processos inflamatórios, infecções e em presença de tumores.

## FUNDAMENTOS DO MÉTODO

A antitrombina III na amostra, inibe o excesso de trombina adicionada em presença de heparina durante a primeira fase da reação. A trombina residual medida na segunda fase da reação, através da sua atividade amidolítica sobre um substrato cromogênico específico a 405 nm, é inversamente proporcional à concentração de ATIII na amostra.

## REAGENTES FORNECIDOS

- A. Reagente A:** frasco contendo ~ 43 UI trombina/frasco. Liofilizado.  
**B. Reagente B:** substrato cromogênico específico para trombina contendo 10 umol substrato/frasco. Liofilizado.  
**C. Reagente C:** solução de ClNa 0,9%.

## REAGENTES NÃO FORNECIDOS

- Água destilada
- Coagulation Control N e Coagulation Control P de Wiener lab.
- Coagulation Calibrator de Wiener lab.)

## INSTRUÇÕES DE USO

**Reagente A:** reconstituir com 20 ml de água destilada. Deixar repousar pelo menos 10 minutos (preferivelmente 30 minutos) a temperatura ambiente antes de usar.

**Reagente B:** reconstituir com 8 ml de água destilada. Deixar repousar pelo menos 10 minutos (preferivelmente 30 minutos) a temperatura ambiente antes de usar.

**Reagente C:** pronto para uso.

## PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro". Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

## ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Os Reagentes Fornecidos são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem. Uma vez reconstituídos são estáveis:

Reagente	37°C	TA (<25°C)	2-10°C	-20°C
Reagente A	1 dia	4 semanas	4 meses	6 meses
Reagente B	1 dia	4 semanas	6 meses	1 ano

## AMOSTRA

Plasma citratado

**a) Coleta:** obter sangue cuidadosamente (evitando estase ou trauma), e colocar num tubo com anticoagulante na proporção 9 + 1 exata (exemplo: 4,5 ml de sangue + 0,5 ml de anticoagulante). Misturar suavemente. Centrifugar durante 15 minutos e separar o plasma antes de 30 minutos.

**b) Aditivos:** para obter o plasma deve-se utilizar citrato de sódio 130 mmol/l (3,8%) ou 109 mmol/l (3,2%).

**c) Estabilidade e instruções de armazenamento:** o plasma deve ser conservado a temperatura ambiente até o momento de realizar a prova. Este período não deve prolongar-se mais que 3 horas. Caso não seja possível realizar a prova na hora, o plasma pode ser conservado por até 1 mês a -20°C.

## INTERFERÊNCIAS

Não deve ser utilizado EDTA ou heparina para obter plasma. Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

## MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Tubos de hemólise.
- Pipetas e micropipetas para medir os volumes indicados.
- Banho-maria a 37°C.
- Cronômetro.
- Espectrofotômetro ou analisador de coagulação.

## CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Longitude de onda: 405 nm
- Temperatura de reação: 37°C
- Tempo de reação: 270 segundos
- Volume final: 800 ul (técnica de ponto final) ou 600 ul (técnica cinética).

## PROCEDIMENTO

Pré-diluir as amostras de plasma na proporção 1:80 com Reagente C (25 µl de amostra + 2,0 ml de Reagente C). Manter a temperatura ambiente até o momento de realizar a prova.

Pré-aquecer os Reagentes A e B reconstituídos a 37°C. Em um tubo de hemólise colocar D (Desconhecido) ou C (Calibrador):

### Técnica cinética

	D ou C
--	--------

<b>Amostra pré-diluída</b>	200 µl
----------------------------	--------

<b>Reagente A</b>	200 µl
-------------------	--------

Misturar e incubar exatamente 90 segundos a 37°C. Depois adicionar:

<b>Reagente B</b>	200 µl
-------------------	--------

Misturar e incubar exatamente 180 segundos a 37°C. Misturar e ler a absorbância a 405 nm durante 3 minutos ( $\Delta A/\text{min}$ ) registrando as absorbâncias cada minuto. Calcular a atividade de antitrombina III (%) utilizando a mudança de absorbância por minuto e interpolando na curva de calibração.

## CURVA DE CALIBRAÇÃO

Pré-diluir o calibrador de coagulação (ex. Coagulation Calibrator) na proporção 1:80 com Reagente C da mesma maneira que as amostras. A partir do Coagulação Calibrador pré-diluído preparar as seguintes diluições em série: 1/1, 1/2, 1/4, também com Reagente C e usando o último como um valor de 0%.

Traçar uma gráfica com a mudança da absorbância obtida para cada calibrador versus a % de antitrombina III. A concentração de antitrombina III é determinada por interpolação na curva de calibração.

## VALORES DE REFERÊNCIA

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

Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores de referência de acordo com as técnicas e equipamento utilizado.

## MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Coagulation Control N e Coagulation Control P da Wiener lab.

## LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Estabilidade e instruções de armazenamento em AMOSTRA e INTERFERÊNCIAS.

Uma nova calibração é necessária para cada lote de reagentes e para cada instrumento utilizado.

## DESEMPENHO

**a) Reprodutibilidade:** a precisão foi determinada com diferentes amostras (em série e dia a dia). Os seguintes resultados foram obtidos:

## Precisão intra-ensaio

Nível	D.P.	C.V.
105,5%	2,21%	2,12%
54,7%	1,61%	2,95%

## Precisão inter-ensaio

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

**b) Faixa de medição:** 0 - 130%

**c) Sensibilidade:** o limite de detecção é 4.0%

## PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Vide as adaptações específicas para cada tipo de analisador.

## APRESENTAÇÃO

1 x → 20 ml Reagente A

1 x → 8 ml Reagente B

2 x 25 ml Reagente C



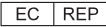


















(Cód. 1705012)

## REFERÊNCIAS

- 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, 4<sup>th</sup> ed., 2001.

# Símbolos

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.

	Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"		Elaborado por:
	Representante autorizado na Comunidade Europeia		Nocivo
	Uso médico-diagnóstico "in vitro"		Corrosivo / Caústico
	Conteúdo suficiente para <n> testes		Irritante
	Data de validade		Consultar as instruções de uso
	Limite de temperatura (conservar a)		Calibrador
	Não congelar		Controle
	Risco biológico		Controle Positivo
	Volume após a reconstituição		Controle Negativo
	Conteúdo		Número de catálogo
	Número de lote		