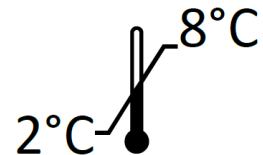


ACTICHROME[®] Heparin (Anti-FXa)

REF 832



Obelis s.a
Boulevard Général Wahis 53, 1030 Bruxelles, BELGIO

USO PREVISTO

ACTICHROME® Heparin (Anti-FXa) è un test cromogenico destinato alla misurazione quantitativa dell'eparina terapeutica, attraverso la misurazione dell'attività del fattore Xa, nel plasma di pazienti sottoposti a terapia anticoagulante. Il test è destinato ai professionisti di laboratorio e può essere eseguito manualmente o utilizzando analizzatori di coagulazione semiautomatici o automatici. Il test è per uso diagnostico in vitro.

SPIEGAZIONE DEL TEST

L'effetto inibitorio dell'antitrombina III (AT-III) sulla trombina, sul fattore Xa e su altre serin-proteasi della coagulazione nel plasma è aumentato di diverse migliaia di volte dall'eparina. Questa inibizione spiega l'effetto anticoagulante dell'eparina. I preparati di eparina a basso peso molecolare (LMWH) sembrano catalizzare la reazione tra il fattore Xa e l'AT-III più facilmente della reazione fra la trombina (FIIa) e l'AT-III. L'eparina non frazionata (UFH) catalizza entrambe le reazioni in egual misura. Ciò rende il test di inibizione del fattore Xa il test più utile, in quanto è applicabile alla più ampia varietà di preparati eparinici.

PRINCIPIO DEL METODO

ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) è un test cromogenico a più fasi per la misurazione dell'attività dell'eparina attraverso la misurazione dell'attività residua del fattore Xa. Nella prima fase, l'AT-III viene aggiunto al plasma del paziente e incubato a 37°C. Nella seconda fase, alla miscela viene aggiunto il fattore Xa bovino e nuovamente incubata a 37°C. L'eparina presente nel campione del paziente inibisce l'attività del fattore Xa. Infine, alla miscela viene aggiunto un substrato cromogenico, altamente specifico per il fattore Xa, seguito da un'incubazione finale a 37°C. L'attività del fattore Xa presente idrolizza il substrato, rilasciando un cromoforo di p-nitroanilina (pNA) che colora di giallo la miscela. La reazione di test viene interrotta con l'aggiunta di acido acetico, che colora la miscela di blu. L'assorbanza del pNA nella soluzione di reazione a 405 nm viene misurata e confrontata con i valori ottenuti da una curva standard generata utilizzando livelli noti di attività dell'eparina. La velocità di inibizione del fattore Xa è direttamente proporzionale alla concentrazione di eparina, poiché sia il fattore Xa che l'AT-III sono in eccesso. L'attività residua del fattore Xa è inversamente proporzionale alla concentrazione di eparina.^{1,2}

REAGENTI

Il kit contiene reagenti sufficienti a eseguire 200 test con un analizzatore di coagulazione automatico, 100 test se è impiegato un metodo end-point manuale.

R1 Reagente Fattore Xa Bovino: 4 fiale (liofilizzate).

R2 Reagente Antitrombina III Umana: 4 fiale (liofilizzate)

R3 SPECTROZYME® FXa: 4 fiale contenenti ciascuna 4 µmoli di substrato (liofilizzato).




AVVERTENZA

Questo prodotto contiene materiale di origine umana ed è risultato non reattivo per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg), il virus dell'epatite C (HCV) e il virus dell'immunodeficienza umana di tipo 1 e 2 (HIV-1, HIV-2) con metodi registrati. Poiché nessun metodo di analisi conosciuto può fornire una garanzia completa che i prodotti derivati da campioni umani non trasmettano HBsAg, HCV, HIV-1, HIV-2 o altri agenti patogeni trasmessi per via ematica, questo reagente deve essere maneggiato come raccomandato per qualsiasi campione umano potenzialmente infettivo.

Questo prodotto contiene materiale di origine animale. Poiché nessun metodo di analisi conosciuto può fornire una garanzia completa che i prodotti derivati da campioni animali non trasmettano agenti patogeni trasmessi per via ematica, questo reagente deve essere maneggiato come raccomandato per qualsiasi campione umano potenzialmente infettivo.

Smaltire il materiale e l'imballaggio scartati in conformità a tutte le normative locali vigenti.

Se si verifica un incidente grave durante l'uso di ACTICHROME Heparin (Anti-FXa), contattare BioMedica Diagnostics o il distributore locale e segnalarlo alle autorità locali competenti.

Fattore Xa Bovino	Avvertenza		<table border="1"> <tr> <td>CONT</td> <td>Tris-(idrossimetil)aminometano</td> </tr> </table> <p>H315, H319, H335, P261, P264, P280, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P337 + P313</p>	CONT	Tris-(idrossimetil)aminometano
CONT	Tris-(idrossimetil)aminometano				
Antitrombina III Umana	Avvertenza		<p>H315, H319, H335, P261, P264, P280, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P337 + P313</p>		
SPECTROZYME® FXa	Avvertenza		<table border="1"> <tr> <td>CONT</td> <td>N-metossicarbonil-D-cicloesil-glicil-arginina-para-nitroanilide acetato</td> </tr> </table> <p>H315, H319, H335, P261, P264, P280, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P337 + P313</p>	CONT	N-metossicarbonil-D-cicloesil-glicil-arginina-para-nitroanilide acetato
CONT	N-metossicarbonil-D-cicloesil-glicil-arginina-para-nitroanilide acetato				

Dichiarazioni di pericolo

- H315 Provoca irritazione cutanea.
- H319 Provoca grave irritazione oculare.
- H335 Può causare irritazione respiratoria.

- Dichiarazioni precauzionali:**
- P261 Evitare di respirare polvere/fumi/gas/nebbia/vapori/spruzzi
 - P264 Lavare accuratamente dopo la manipolazione.
 - P280 Indossare guanti protettivi/indumenti protettivi/protezioni oculari/protezioni per il viso.
 - P302 + P352 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: Lavare con abbondante acqua.
 - P305 + P351 + P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: Sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
 - P337 + P313 Se l'irritazione degli occhi persiste: Consultare un medico.

PREPARAZIONE E CONSERVAZIONE DEI REAGENTI

I reagenti liofilizzati sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, se conservati come indicato.

- R1 Reagente Fattore Xa Bovino:** Ricostituire con 5 mL di acqua deionizzata. Il reagente ricostituito è stabile per 4 settimane a -20°C.
- R2 Reagente Antitrombina III Umana:** Ricostituire con 5 mL di acqua deionizzata. Il reagente ricostituito è stabile per 4 settimane a -20°C.
- R3 SPECTROZYME® FXa:** Ricostituire con 5 mL di acqua deionizzata. Il reagente ricostituito è stabile per 4 settimane a -20°C.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Per questo test può essere utilizzato solo plasma povero di piastrine raccolto con citrato. Non utilizzare plasma raccolto con EDTA. Vedere "Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guidelines-Fifth Edition", CLSI Document H21-A5, Vol. 28, No. 5, January 2008. La raccolta del plasma deve essere eseguita come segue:

1. Raccogliere 9 parti di sangue in 1 parte di soluzione anticoagulante di citrato trisodico al 3,2% (0,109 M).
2. Centrifugare il campione di sangue a 3.000 x g per 15 minuti.
3. Il plasma deve essere conservato a 2-8°C e testato entro 2 ore. In alternativa, il plasma può essere conservato a -70°C per un massimo di 6 mesi

4. Il plasma congelato deve essere scongelato rapidamente a 37°C. Il plasma scongelato deve essere conservato a 2-8°C e testato entro 2 ore.

PROCEDURA

Materiali Forniti - Vedere Reagenti

Materiali Richiesti Ma Non Forniti

Analizzatore di coagulazione automatico impostato a 405 nm
Spettrofotometro impostato a 405 nm e tempo di laboratorio
acqua deionizzata
acido acetico glaciale, 0,9% NaCl
pipette da 25 µL, 200 µL, 500 µL e 2500 µL
37°C in bagno d'acqua o a secco
cuvette o provette per test in plastica
plasma normale disponibile in commercio
Eparina - Vedere 'Calibrazione del test'

Calibrazione del Test

Per la preparazione degli standard di eparina si può utilizzare plasma umano normale in pool (almeno 10 donatori normali), raccolto nello stesso modo del plasma da analizzare. Per la preparazione degli standard di eparina si può utilizzare plasma umano normale in pool (da almeno 20 donatori normali) raccolto con le stesse modalità del plasma da testare o plasma normale disponibile in commercio. La preparazione specifica di eparina utilizzata durante la terapia deve essere aggiunta al plasma normale in pool per preparare gli standard.

Preparare una soluzione di 8,0 unità/mL di eparina USP in soluzione fisiologica (0,9% NaCl). Quando si inizia con una soluzione madre di eparina da 1000 unità/mL, pipettare 40 µL di eparina madre in 4,96 mL di soluzione fisiologica. Preparare quindi gli standard di eparina utilizzando la soluzione 8,0 unità USP/mL come indicato nella Tabella 1.

Tabella 1 - Preparazione Degli Standard di Eparina

Standard di Eparina	Plasma Normale in Pool	Volume di Standard di Eparina
0,8 unità/mL	900 µL	100 µL di 8,0 unità USP/mL
0,4 unità/mL	500 µL	500 µL di 0,8 unità USP/mL
0,2 unità/mL	500 µL	500 µL di 0,4 unità USP/mL
0,0 unità/mL	500 µL	Nessuno

Procedura di Test

ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) può essere eseguito manualmente o utilizzando analizzatori di coagulazione semiautomatici o automatici.

Metodo di Strumentazione Automatico

BioMedica Diagnostics offre applicazioni per l'esecuzione di ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) su diversi analizzatori di coagulazione. Queste applicazioni possono contenere dati di programmazione ed esecuzione specifici della piattaforma che differiscono da quelli forniti nelle presenti Istruzioni per l'uso. In questi casi, le informazioni contenute nell'applicazione dello strumento sostituiscono quelle contenute nelle presenti Istruzioni per l'uso. Per le istruzioni d'uso complete consultare il manuale dello strumento specifico del produttore. Le prestazioni di questo test sono state determinate su un analizzatore ottico MLA ELECTRA 900C™.

Metodo End-Point Manuale

1. Aggiungere 200 µL di AT-III in una provetta di test di plastica.
2. Aggiungere 25 µL di campione di plasma o di standard di eparina. Mescolare e incubare a 37°C per 2 minuti.
3. Aggiungere 200 µL di Fattore Xa bovino. Mescolare e incubare a 37°C per 1 minuto esatto.
4. Aggiungere 200 µL di SPECTROZYME FXa. Mescolare e incubare a 37°C per 5 minuti esatti.
5. Aggiungere 200 µL di acido acetico glaciale. Mescolare.
6. Aggiungere 200 µL di acqua deionizzata (opzionale).*
7. Leggere l'assorbanza a 405 nm in una cuvetta da 1 cm contro un bianco preparato nel seguente ordine:

200 µl di acido acetico
200 µL di AT-III
25 µL di plasma normale in pool
200 µL di fattore Xa
200 µL di SPECTROZYME FXa
* 200 µL di acqua (opzionale)

* Alcuni spettrofotometri richiedono un volume minimo di 1 mL nella cuvetta.

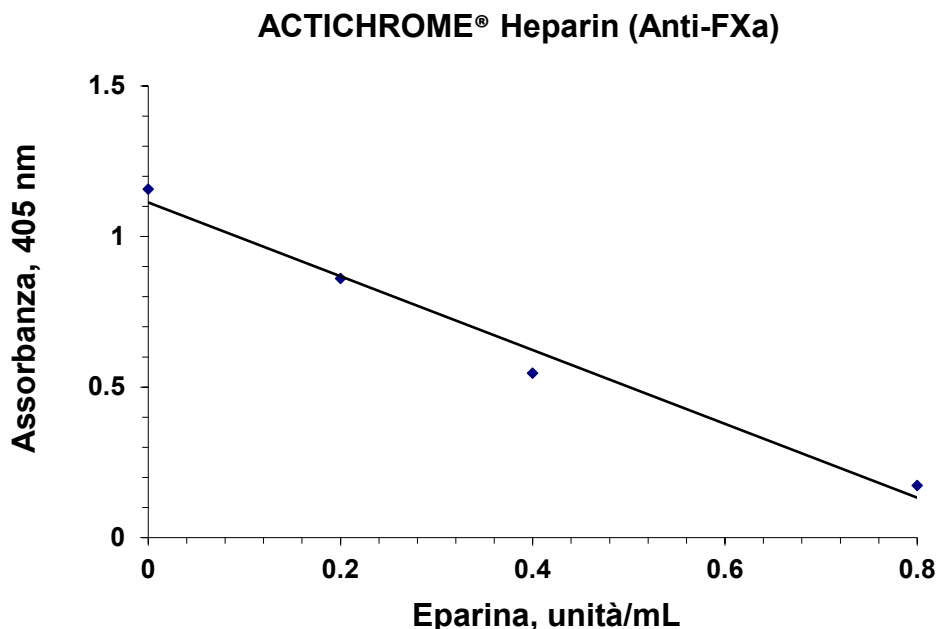
CONTROLLO DI QUALITÀ

I campioni di controllo della qualità devono essere eseguiti secondo le linee guida del laboratorio. I campioni di controllo devono essere eseguiti su fiale di reagente appena ricostituite e ogni volta che si esegue il test. Per il controllo di qualità del test si può utilizzare plasma di controllo eparinico commerciale. In alternativa, è possibile preparare un pool di plasma normale contenente 0,5 e 0,25 unità/mL di eparina e utilizzarlo come controllo interno. Se i campioni di controllo qualità non producono concentrazioni di eparina entro gli intervalli corretti in un determinato test, il test deve essere ripetuto con reagenti appena ricostituiti.

RISULTATI

Costruire una curva standard tracciando l'assorbanza media alla lunghezza d'onda di 405 nm per ogni standard di eparina rispetto alla concentrazione corrispondente e tracciare la curva di calibrazione più adatta. Interpolare l'eparina nei campioni sconosciuti direttamente dalla curva standard. Ogni volta che si esegue il test è necessario generare una curva standard. La curva seguente è solo a scopo dimostrativo.

Curva Standard Rappresentativa



LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Diverse preparazioni di eparina possono generare pendenze diverse nella curva standard. Per generare la curva standard deve essere utilizzata la stessa eparina somministrata al paziente.

La contaminazione delle piastrine nei campioni di plasma può provocare il rilascio del fattore piastrinico 4 (PF4), un potente neutralizzatore dell'eparina. Il PF4 rilasciato nel plasma può

determinare una sottostima della concentrazione di eparina. È noto che il congelamento e lo scongelamento delle piastrine rilasciano PF4 dalle piastrine stesse. Se il plasma deve essere congelato e scongelato prima dell'uso nel test, deve essere preparato come descritto nella sezione di preparazione del campione in modo che sia povero di piastrine.

INTERFERENZE

I campioni itterici, lipemici ed emolizzati possono interferire con i risultati del test. Alcuni studi hanno dimostrato che questi campioni comportano una sottostima della concentrazione di eparina³.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Accuratezza

Uno studio condotto utilizzando uno strumento automatizzato per valutare ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) rispetto a un altro test cromogenico dell'eparina disponibile in commercio (che utilizza eparina non frazionata) ha fornito un coefficiente di correlazione di 0,913 per 92 campioni testati, con un'equazione di regressione di $y = 0,84x + 0,003$. Errore di stima standard = 0,07.

Uno studio eseguito utilizzando uno strumento automatizzato per valutare ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) rispetto a un altro test cromogenico dell'eparina disponibile in commercio (che utilizza eparina a basso peso molecolare) ha fornito un coefficiente di correlazione di 0,895 per 26 campioni testati, con un'equazione di regressione di $y = 1,36x - 0,139$. Errore di stima standard = 0,14.

Precisione

Le seguenti stime del coefficiente di variazione (CV) sono state osservate utilizzando uno spettrofotometro automatico.

Tabella 2 - Variazioni Intra-Test e Inter-Test

Concentrazione di UFH	Variazione Intra-Test	Variazione Inter-Test
0,44 unità/mL	3,3%	4,1%
0,25 unità/mL	5,6%	4,8%

Concentrazione di LMWH	Variazione Intra-test	Variazione Inter-test
0,48 unità/mL	2,9%	6,2%
0,24 unità/mL	5,1%	9,3%

Sensibilità

ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) è progettato per fornire una curva standard lineare per livelli di eparina compresi tra 0 e 0,8 unità/mL.

Specificità

La specificità del test è stata assicurata dall'uso di fattore Xa bovino purificato e AT-III umano purificato. Inoltre, il substrato cromogenico utilizzato per misurare l'attività residua del fattore Xa è altamente specifico per il fattore Xa.

RIEPILOGO DELLA SICUREZZA E DELLE PRESTAZIONI

Il riepilogo della sicurezza e delle prestazioni (SSP) è disponibile nel Database europeo sui dispositivi medici (Eudamed), all'indirizzo <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> con l'UDI-DI di base (GMN) 0062794400265Q o su richiesta.





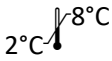






RIFERIMENTI

1. Teien, A. N., Lie, M. and Abildgaard, U. Assay of heparin in plasma using a chromogenic substrate. *Thrombosis Research* **8**: 413-416, 1976.
2. Teien, A. N. and Lie, M. Evaluation of an amidolytic heparin assay method: Increased sensitivity by adding purified antithrombin III. *Thrombosis Research* **10**: 399-410, 1977.
3. Dati archiviati presso BioMedica Diagnostics.

MLA è un marchio registrato di Instrumentation Laboratory, SpA

Le modifiche rispetto alla revisione precedente sono segnalate da linee tratteggiate rosse sul margine sinistro.

DEFINIZIONE DI SIMBOLI

	Consulta Le Istruzioni Per l'Uso
	Avvertimento
	Dispositivo Medico Diagnostico In Vitro
	Produttore
	Temperatura Limitazione: Conservare A Una Temperatura Compresa Tra 2°C e 8°C
	Codice Lotto / Numero Lotto
	Data di Scadenza
	Numero di Catalogo
	Marchio CE
	Rappresentante Autorizzato Europeo
	Contiene Sufficiente Per <n> Test
	Contiene