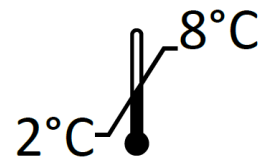


ACTICHROME[®] Heparin (Anti-FXa)

REF 832



Obelis s.a
Boulevard Général Wahis 53, 1030 Brussels, BELGIUM

PRZEZNACZENIE

ACTICHROME® Heparin (Anti-FXa) jest chromogennym testem przeznaczonym do ilościowego pomiaru heparyny terapeutycznej poprzez pomiar aktywności czynnika Xa w osoczu pacjentów poddawanych terapii przeciwkrzepliwej. Test jest przeznaczony do stosowania przez specjalistów laboratoryjnych i może być wykonywany ręcznie lub przy użyciu półautomatycznych lub automatycznych analizatorów krzepliwości. Test jest przeznaczony do diagnostyki in vitro.

OBJAŚNIENIE TESTU

Hamujące działanie antytrombiny III (AT-III) na trombinę, czynnik Xa i inne proteazy serynowe układu krzepnięcia w osoczu jest zwiększane przez heparynę o kilka tysięcy razy. Zahamowanie to odpowiada za przeciwzakrzepowe działanie heparyny. Preparaty heparyny drobnocząsteczkowej (LMWH) wydają się katalizować reakcję między czynnikiem Xa a AT-III łatwiej niż reakcję zachodzącą między trombiną (FIIa) a AT-III. Heparyna niefrakcjonowana (UFH) katalizuje obie reakcje w równym stopniu. To sprawia, że test hamowania działania czynnika Xa jest najbardziej użytecznym badaniem, ponieważ można go stosować do najszerszej gamy preparatów heparyny.

ZASADA METODY

Oznaczenie ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) to wieloetapowy, chromogeny test do pomiaru aktywności heparyny poprzez pomiar aktywności resztkowej czynnika Xa. W pierwszym etapie do osocza pacjenta dodaje się AT-III i inkubuje w temperaturze 37°C. W drugim etapie do mieszaniny dodaje się bydlęcy czynnik Xa i ponownie inkubuje w temperaturze 37°C. Heparyna obecna w próbce pacjenta będzie hamować aktywność czynnika Xa. Na koniec do mieszaniny dodawany jest substrat chromogeny wysoce specyficzny dla czynnika Xa, po czym następuje końcowa inkubacja w temperaturze 37°C. Obecny czynnik Xa hydrolizuje substrat, uwalniając chromofor p-nitroaniliny (pNA), który zmienia barwę mieszaniny na żółtą. Zahamowanie reakcji oznaczenia następuje po dodaniu kwasu octowego, który zmienia barwę mieszaniny na niebieską. Absorbancja pNA w roztworze reakcyjnym przy 405 nm jest mierzona i porównywana z wartościami uzyskanymi z krzywej wzorcowej wygenerowanej przy użyciu znanych poziomów aktywności heparyny. Szybkość hamowania działania czynnika Xa jest wprost proporcjonalna do stężenia heparyny, ponieważ zarówno czynnik Xa, jak i AT-III występują w nadmiarze. Aktywność resztkowa czynnika Xa jest odwrotnie proporcjonalna do stężenia heparyny^{1,2}.

ODCZYNNIKI

Zestaw zawiera odczynniki wystarczające do wykonania 200 testów za pomocą automatycznego analizatora koagulacji i 100 testów w przypadku stosowania ręcznej metody punktu końcowego.

R1 Bovine Factor Xa Reagent: 4 fiołki (liofilizowane).

R2 Human Antithrombin III Reagent: 4 fiołki (liofilizowane).

R3 SPECTROZYME® FXa: 4 fiołki zawierające po 4 µmole substratu (liofilizowanego).




OSTRZEŻENIE

Ten produkt zawiera materiał pochodzenia ludzkiego, który został uznany za niereaktywny dla antygenu powierzchniowego zapalenia wątroby typu B (HBsAg), wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV) i ludzkiego wirusa niedoboru odporności typu 1 oraz typu 2 (HIV-1, HIV-2) przy użyciu zatwierdzonych metod. Ponieważ żadna ze znanych metod badawczych nie może zapewnić całkowitej pewności, że produkty uzyskane z próbek ludzkich nie będą przenosić HBsAg, HCV, HIV-1, HIV-2 lub innych patogenów krwiopochodnych, z odczynnikami tym należy postępować zgodnie z zaleceniami odnoszącymi się do wszelkich potencjalnie zakaźnych próbek materiału pochodzenia ludzkiego.

Ten produkt zawiera materiał pochodzenia zwierzęcego. Ponieważ żadna ze znanych metod badawczych nie może zapewnić całkowitej pewności, że produkty uzyskane z próbek pochodzenia zwierzęcego nie będą przenosić patogenów krwiopochodnych, z odczynnikami tym należy postępować zgodnie z zaleceniami odnoszącymi się do wszelkich potencjalnie zakaźnych próbek pochodzenia ludzkiego.

Zużyty materiał i opakowanie zutylizować zgodnie ze wszystkimi obowiązującymi przepisami lokalnymi.

Jeśli podczas testu ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) dojdzie do jakiegokolwiek poważnego incydentu, należy skontaktować się z firmą BioMedica Diagnostics lub lokalnym dystrybutorem, a następnie zgłosić go właściwym instytucjom lokalnym.

Bydłęcy Czynniki Xa	Ostrzeżenie		<table border="1"><tr><td>Cd.</td><td>Tris-(hydroksymetylo)aminometan</td></tr></table> H315, H319, H335, P261, P264, P280, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P337 + P313	Cd.	Tris-(hydroksymetylo)aminometan
Cd.	Tris-(hydroksymetylo)aminometan				
Ludzka Antytrombina III	Ostrzeżenie		H315, H319, H335, P261, P264, P280, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P337 + P313		
SPECTROZYME® FXa	Ostrzeżenie		<table border="1"><tr><td>Cd.</td><td>Octan N-metoksykarbonylo-D-cykloheksylo-glicylo-glicylo-arginino-para-nitroanilidu</td></tr></table> H315, H319, H335, P261, P264, P280, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P337 + P313	Cd.	Octan N-metoksykarbonylo-D-cykloheksylo-glicylo-glicylo-arginino-para-nitroanilidu
Cd.	Octan N-metoksykarbonylo-D-cykloheksylo-glicylo-glicylo-arginino-para-nitroanilidu				

Zwroty Wskazujące Rodzaj Zagrożenia	H315	Działa drażniąco na skórę.
	H319	Działa drażniąco na oczy.
	H335	Może powodować podrażnienie dróg oddechowych.
Zwroty Wskazujące Środki Ostrożności:	P261	Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy.
	P264	Dokładnie umyć po użyciu.
	P280	Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.
	P302 + P352 W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Umyć dużą ilością wody.	
	P305 + P351 + P338 W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.	
	P337 + P313 W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.	

PRZYGOTOWANIE I PRZECHOWYWANIE ODCZYNNIKA

Odczynniki liofilizowane są stabilne do daty ważności podanej na etykiecie, gdy są przechowywane zgodnie z instrukcją.

- R1 Bovine Factor Xa Reagent:** Odtworzyć przy użyciu 5 ml wody dejonizowanej. Odczynnik po odtworzeniu jest stabilny przez 4 tygodnie w temperaturze -20°C .
- R2 Human Antithrombin III Reagent:** Odtworzyć przy użyciu 5 ml wody dejonizowanej. Odczynnik po odtworzeniu jest stabilny przez 4 tygodnie w temperaturze -20°C .
- R3 SPECTROZYME® FXa:** Odtworzyć przy użyciu 5 ml wody dejonizowanej. Odczynnik po odtworzeniu jest stabilny przez 4 tygodnie w temperaturze -20°C .

POBIERANIE I PRZYGOTOWYWANIE PRÓBEK

Do testu używać wyłącznie osocza ubogopłytkowego pobranego na cytrynian. Nie używać osocza z EDTA. Patrz „Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guidelines-Fifth Edition”, dokument H21-A5 CLSI, tom 28, nr 5, styczeń 2008. Osocze należy pobrać następująco:

1. Pobrać 9 objętości krwi do 1 objętości 3,2% (0,109 M) roztworu antykoagulacyjnego cytrynianu trisodu.
2. Wirować próbkę krwi z prędkością 3.000 x g przez 15 minut.

3. Osocze powinno być przechowywane w temperaturze 2°C – 8°C i oznaczone w ciągu 2 godzin. Alternatywnie, osocze można przechowywać w temperaturze –70°C przez okres do 6 miesięcy.
4. Zamrożone osocze szybko rozmrozić w temperaturze 37°C. Po rozmrożeniu osocze przechowywać w temperaturze 2°C – 8°C i oznaczyć w ciągu 2 godzin.

PROCEDURA

Dostarczone Materiały — Patrz Odczynniki

Materiały Wymagane, Ale Niedostarczone

Automatyczny analizator krzepliwości ustawiony na 405 nm

Spektrofotometr ustawiony na 405 nm i czas laboratoryjny

Woda dejonizowana

Lodowaty kwas octowy, 0,9% NaCl

Pipety 25 µl, 200 µl, 500 µl i 2500 µl

Łaźnia wodna lub sucha o temperaturze 37°C

Plastikowe probówki lub kuwety

Dostępne w handlu osocze prawidłowe

Heparyna — patrz „Kalibracja testu”

Kalibracja Testu

Do przygotowania wzorców heparyny można użyć puli osocza prawidłowego, pobranego od co najmniej 10 zdrowych dawców w taki sam sposób, jak próbki osocza przeznaczone do badania. Do przygotowania wzorców heparyny można użyć puli osocza prawidłowego pobranego od co najmniej 20 zdrowych dawców w taki sam sposób, jak próbki osocza przeznaczone do badania lub osocza prawidłowego dostępnego w handlu. W celu przygotowania wzorców dodać do puli osocza prawidłowego specjalny preparat heparyny stosowany podczas terapii.

Przygotować 8,0 jednostek USP/ml roztworu heparyny w soli fizjologicznej (0,9% NaCl). Rozpoczynając od roztworu podstawowego heparyny o stężeniu 1000 jednostek/ml, przenieść pipetą 40 µl roztworu podstawowego heparyny do 4,96 ml soli fizjologicznej. Następnie przygotować wzorce heparyny, używając roztworu o stężeniu 8,0 jednostek USP/ml zgodnie z tabelą 1.

Tabela 1 — Przygotowanie Wzorców Heparyny

Wzorzec Heparyny	Puła Osocza Prawidłowego	Objętość Wzorca Heparyny
0,8 jednostki/ml	900 µl	100 µl o stężeniu 8,0 USP jednostek/ml
0,4 jednostki/ml	500 µl	500 µl o stężeniu 0,8 USP jednostek/ml
0,2 jednostki/ml	500 µl	500 µl o stężeniu 0,4 USP jednostek/ml
0,0 jednostki/ml	500 µl	Brak

Procedura Testu

Oznaczenie ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) można wykonywać ręcznie lub przy użyciu półautomatycznych bądź automatycznych analizatorów krzepnięcia.

Metoda Uwzględniająca Użycie Automatycznego Analizatora

Firma BioMedica Diagnostics oferuje aplikacje urządzenia do wykonania oznaczenia ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) w kilku analizatorach krzepnięcia. Aplikacje urządzenia mogą obejmować instrukcje programowania specyficzne dla danej platformy oraz dane wydajności różne od zamieszczonych w instrukcji użycia. W takich przypadkach informacje zamieszczone w aplikacji urządzenia mają pierwszeństwo nad informacjami zamieszczonymi w instrukcji użycia. W celu uzyskania pełnych instrukcji postępowania należy zapoznać się z instrukcją obsługi producenta danego urządzenia. Wydajność tego oznaczenia została określona przy użyciu analizatora optycznego MLA ELECTRA 900C™.

Metoda Ręczna Punktu Końcowego

1. Do plastikowej probówki dodać 200 µl AT-III.
2. Dodać 25 µl próbki osocza lub wzorca heparyny. Wymieszać i inkubować przez 2 minuty w temperaturze 37°C.
3. Dodać 200 µl bydlęcego czynnika Xa. Wymieszać i inkubować przez dokładnie 1 minutę w temperaturze 37°C.
4. Dodać 200 µl odczynnika SPECTROZYME FXa. Wymieszać i inkubować przez dokładnie 5 minut w temperaturze 37°C.
5. Dodać 200 µl lodowatego kwasu octowego. Wymieszać.

6. Dodać 200 μ l wody dejonizowanej (opcjonalnie)*.
7. Odczytać absorbancję przy 405 nm w kuwecie o ścieżce optycznej 1 cm względem ślepej przygotowanej w następującej kolejności:

- 200 μ l kwasu octowego
- 200 μ l AT- III
- 25 μ l puli osocza prawidłowego
- 200 μ l czynnika Xa
- 200 μ l SPECTROZYME FXa
- *200 μ l wody (opcjonalnie)

* Niektóre spektrometry wymagają w kuwecie minimalnej objętości 1 ml.

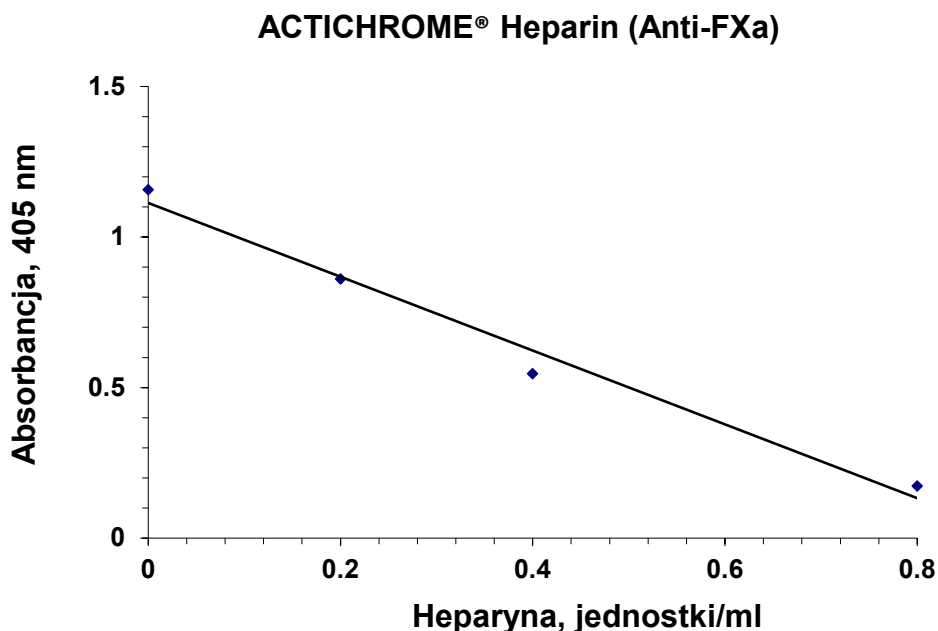
KONTROLA JAKOŚCI

Próbki kontroli jakości powinny być testowane zgodnie z wytycznymi laboratoryjnymi. Próbki kontroli należy testować na świeżo odtworzonych odczynnikach w fiolkach i każdorazowo, gdy wykonywane jest oznaczenie. Do kontroli jakości oznaczenia można użyć dostępnego w handlu osocza kontrolnego z heparyną. Można też przygotować pulę osocza prawidłowego zawierającą 0,5 i 0,25 jednostek/ml heparyny, i używać jako kontroli zewnętrznych. Jeżeli próbki kontroli jakości nie dają w konkretnym teście stężeń heparyny w prawidłowych zakresach, taki test należy powtórzyć ze świeżo odtworzonymi odczynnikami.

WYNIKI

Utworzyć krzywą wzorcową poprzez wykreślenie średniej absorbancji przy długości fali 405 nm dla każdego wzorca heparyny w stosunku do odpowiadającego mu stężenia i wykreślić najlepiej dopasowaną krzywą kalibracji. Interpolować heparynę w nieznanach próbkach bezpośrednio z krzywej wzorcowej. Krzywą wzorcową przygotowywać każdorazowo podczas wykonywania oznaczenia. Poniższa krzywa wzorcowa służy wyłącznie do celów demonstracyjnych.

Reprezentatywna Krzywa Wzorcowa



OGRANICZENIA PROCEDURY

Różne preparaty heparyny mogą dawać różne nachylenia krzywej wzorcowej. Do wygenerowania krzywej wzorcowej użyć tej samej heparyny podawanej pacjentowi.

Zanieczyszczenie płytek krwi w próbkach osocza może spowodować uwolnienie czynnika płytkowego 4 (PF4), silnego neutralizatora heparyny. PF4 uwolniony do osocza może powodować niedoszacowanie stężenia heparyny. Wiadomo, że zamrażanie i rozmrażanie płytek krwi powoduje uwalnianie PF4 z płytek. Jeżeli osocze ma być zamrożone i przed użyciem w teście rozmrożone, musi zostać przygotowane w sposób opisany w części dotyczącej przygotowania próbki, tak aby było ubogopłytkowe.

ZAKŁÓCENIA

Próbki żółtaczkowe, lipemiczne i zhemolizowane mogą zakłócać oznaczenie, dając nieprawidłowe wyniki. Badania wykazały, że próbki te powodują niedoszacowanie stężeń heparyny³.

CHARAKTERYSTYKA SKUTECZNOŚCI

Dokładność

Badanie przeprowadzone przy użyciu automatycznego urządzenia do oceny oznaczenia ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) względem innego dostępnego na rynku chromogenego oznaczenia heparyny (z użyciem heparyny niefrakcjonowanej) dało współczynnik korelacji 0,913 dla 92 badanych próbek, z równaniem regresji $y = 0,84x + 0,003$. Błąd standardowy estymacji = 0,07.

Badanie przeprowadzone przy użyciu automatycznego urządzenia do oceny oznaczenia ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) względem innego dostępnego na rynku chromogenego oznaczenia heparyny (z użyciem heparyny drobnocząsteczkowej) dało współczynnik korelacji 0,895 dla 26 badanych próbek, z równaniem regresji $y = 1,36x - 0,139$. Błąd standardowy estymacji = 0,14.

Precyzja

Zaobserwowano następujące szacunkowe wartości współczynnika zmienności (CV) przy użyciu automatycznego spektrofotometru.

Tabela 2 — Zmienność W Ramach Testu i Pomędzy Testami

Stężenie UFH	Zmienność W Ramach Testu	Zmienność Pomędzy Testami
0,44 jednostki/ml	3,3%	4,1%
0,25 jednostki/ml	5,6%	4,8%

Stężenie LMWH	Zmienność W Ramach Testu	Zmienność Pomędzy Testami
0,48 jednostki/ml	2,9%	6,2%
0,24 jednostki/ml	5,1%	9,3%

Czułość

Oznaczenie ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) służy do uzyskania liniowej krzywej wzorcowej dla poziomów heparyny w zakresie od 0 do 0,8 jednostek/ml.

Swoistość

Swoistość oznaczenia została zapewniona przez zastosowanie oczyszczonego bydlęcego czynnika Xa i oczyszczonego ludzkiego AT-III. Ponadto substrat chromogeny stosowany do pomiaru resztkowej aktywności czynnika Xa jest wysoce specyficzny dla czynnika Xa.

PODSUMOWANIE BEZPIECZEŃSTWA I DZIAŁANIA

Podsumowanie bezpieczeństwa i działania (SSP) jest dostępne w europejskiej bazie danych o wyrobach medycznych (EUDAMED), pod adresem <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> pod podstawowym numerem UDI-DI (GMN) 0062794400265Q lub na żądanie.


LITERATURA

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. Dane własne BioMedica Diagnostics.

MLA jest zarejestrowanym znakiem handlowym Instrumentation Laboratory, SpA.

Zmiany w stosunku do poprzedniej wersji zaznaczono czerwoną linią przerywaną na lewym marginesie.

DEFINICJA SYMBOLI

	Zapoznaj Się Z Instrukcją Użytkowania
	Ostrzeżenie
	Wyrób Medyczny Do Diagnostyki In Vitro
	Producent
	Temperatura Ograniczenie: Przechowywać W Temperaturze Od 2°C Do 8°C
	Kod Partii / Numer Partii
	Termin Ważności
	Numer Katalogu
	Znak CE
	Autoryzowany Przedstawiciel W Europie
	Zawiera Wystarczającą Do <n> Testów
	Zawiera