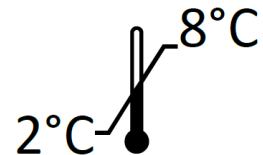


ACTICHROME[®] Heparina (Anti-FXa)

REF 832



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

USO PRETENDIDO

ACTICHROME® Heparina (Anti-FXa) é um ensaio cromogénico destinado à medição quantitativa da heparina terapêutica, por medição da actividade do factor Xa, no plasma de pacientes submetidos a terapia anticoagulante. O ensaio é para utilização por profissionais de laboratório e pode ser realizado manualmente, ou utilizando analisadores de coagulação semi-automatizados ou automatizados. O ensaio destina-se ao uso diagnóstico *in vitro*.

EXPLICAÇÃO DO TESTE

O efeito inibitório da antitrombina III (AT-III) na trombina, factor Xa e outras serinas proteases de coagulação no plasma é aumentado em vários milhares de vezes pela heparina. Esta inibição é responsável pelo efeito anticoagulante da heparina. As preparações de heparina de baixo peso molecular (LMWH) parecem catalisar a reacção entre o factor Xa e AT-III mais rapidamente do que a reacção entre a trombina (FIIa) e AT-III. A heparina não fracionada (UFH) catalisa igualmente ambas as reacções. Isto torna o teste de inibição do factor Xa o ensaio mais útil, uma vez que é aplicável à mais ampla variedade de preparações de heparina.

PRINCÍPIO DO MÉTODO

A Heparina ACTICHROME (Anti-FXa) é um ensaio cromogénico em várias etapas para medir a actividade da heparina através da medição da actividade residual do factor Xa. No primeiro passo, AT-III é adicionado ao plasma do paciente e incubado a 37°C. Na segunda etapa, o factor bovino Xa é adicionado à mistura e novamente incubado a 37°C. A heparina presente na amostra do doente inibirá a actividade do factor Xa. Por último, um substrato cromogénico, altamente específico para o factor Xa, é adicionado à mistura, seguido de uma incubação final a 37°C. A actividade do factor Xa hidrolisa o substrato, libertando um cromóforo de p-nitroanilina (pNA) que torna a mistura amarela. A reacção do ensaio é interrompida pela adição de ácido acético, que torna a mistura azul. A absorvância do pNA na solução de reacção a 405 nm é medida e comparada com os valores obtidos a partir de uma curva padrão gerada utilizando níveis conhecidos de actividade da heparina. A taxa de inibição do factor Xa é directamente proporcional à concentração de heparina, uma vez que tanto o factor Xa como a AT-III estão em excesso. A actividade residual do fator Xa é inversamente proporcional à concentração de heparina.^{1,2}

REAGENTES

O kit contém reagentes suficientes para realizar 200 testes usando um analisador de coagulação automático, 100 testes se um método manual de ponto final for usado.

R1 Reagente Bovino Factor Xa: 4 frascos (liofilizado).

R2 Reagente Humano Antitrombina III: 4 frascos (liofilizado)

R3 SPECTROZYME® FXa: 4 frascos com 4 µmoles de substrato (liofilizado) cada um.




AVISO

Este produto contém material de origem humana que foi considerado não reativo para o Antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg), Vírus da hepatite C (VHC) e Vírus da imunodeficiência humana tipo 1 e tipo 2 (VIH-1, VIH-2) usando métodos registrados. Uma vez que nenhum método de teste conhecido pode fornecer uma garantia total de que as amostras humanas não transmitirão HBsAg, VHC, VIH-1, VIH-2 ou outros agentes patogênicos sanguíneos, esse reagente deverá ser manuseado conforme recomendado para quaisquer amostras humanas potencialmente infecciosas.

Este produto contém material de origem animal. Uma vez que nenhum método de teste conhecido pode fornecer uma garantia total de que os produtos derivados de amostras animais não transmitirão agentes patogênicos sanguíneos, esse reagente deverá ser manuseado conforme recomendado para quaisquer amostras humanas potencialmente infecciosas.

Eliminar o material descartado e a embalagem em conformidade com todos os regulamentos locais aplicáveis.

Se ocorrer qualquer incidente grave ao utilizar ACTICHROME Heparin (Anti-FXa), contacte a BioMedica Diagnostics ou o seu distribuidor local, e informe a sua autoridade local competente.

Factor Bovino Xa	Aviso		<table border="1"> <tr> <td>CONT</td> <td>Tris-(hidroximetil)aminometano</td> </tr> </table> H315, H319, H335, P261, P264, P280, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P337 + P313	CONT	Tris-(hidroximetil)aminometano
CONT	Tris-(hidroximetil)aminometano				
Humano Antitrombina III	Aviso		H315, H319, H335, P261, P264, P280, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P337 + P313		
SPECTROZYME® FXa	Aviso		<table border="1"> <tr> <td>CONT</td> <td>N-Metoxicarbonil-D-ciclohexil-glicil-glicil-argina-para-nitroanilida acetato</td> </tr> </table> H315, H319, H335, P261, P264, P280, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P337 + P313	CONT	N-Metoxicarbonil-D-ciclohexil-glicil-glicil-argina-para-nitroanilida acetato
CONT	N-Metoxicarbonil-D-ciclohexil-glicil-glicil-argina-para-nitroanilida acetato				

Declarações de Perigo

- H315 Provoca irritação à pele.
- H319 Provoca irritação ocular grave.
- H335 Pode causar irritação respiratória.

- Declarações de** P261 Evite respirar pó/fumaça/gás/névoa/vapores/spray.
Precaução: P264 Lave as mãos cuidadosamente após o manuseio.
P280 Use luvas de proteção/roupas de proteção/proteção ocular/proteção facial.
P302 + P352 EM CASO DE CONTATO COM A PELE: Lave com água em abundância.
P305 + P351 + P338 EM CASO DE CONTATO COM OS OLHOS: Enxágue cuidadosamente com água durante vários minutos. No caso de uso de lentes de contato, remova-as, se for fácil. Continue enxaguando.
P337 + P313 Se a irritação ocular persistir: Consulte um médico.

PREPARAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE REAGENTES

Os reagentes liofilizados são estáveis até a data de vencimento indicada no rótulo quando armazenados conforme as instruções.

- R1 Reagente Bovino Factor Xa:** Reconstituir com 5 mL de água desionizada. O reagente reconstituído é estável durante 4 semanas a -20°C .
- R2 Reagente Humano Antitrombina III:** Reconstituir com 5 mL de água desionizada. O reagente reconstituído é estável durante 4 semanas a -20°C .
- R3 SPECTROZYME® FXa:** Reconstituir com 5 mL de água desionizada. O reagente reconstituído é estável durante 4 semanas a -20°C .

COLETA E PREPARO DE AMOSTRAS

Para este ensaio, somente pode ser usado plasma pobre em plaquetas recolhido de citratos. Não Usar plasma recolhido por EDTA. Consulte "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. A coleta de plasma deve ser feita da seguinte forma:

1. Recolher 9 partes de sangue em 1 parte de 3,2% (0,109 M) de solução anticoagulante de citrato trissódico.
2. Centrifugar a amostra de sangue a $3.000 \times g$ durante 15 minutos.
3. O plasma deve ser armazenado entre 2°C - 8°C e analisado em 2 horas. Alternativamente, o plasma pode ser armazenado a -70°C por até 6 meses

4. O plasma congelado deve ser descongelado rapidamente a 37°C. Os plasmas descongelados devem ser armazenados de 2° a 8°C e doseados em 2 horas.

PROCEDIMENTO

Materiais Fornecidos – Consultar Reagentes

Materiais Necessários, Mas Não Fornecidos

Analizador de coagulação automatizado definido a 405 nm
Espectrofotômetro regulado para 405 nm e tempo de laboratório
água desionizada
ácido acético glacial, 0,9% NaCl
25 µL, 200 µL, 500 µL e 2.500 µL pipetas
37°C de água ou banho seco
tubos de ensaio ou cuvetes de plástico
plasma normal disponível comercialmente
Heparina - Ver 'Calibração do ensaio'

Calibração de Ensaio

Pool de plasma humano normal (pelo menos 10 doadores normais) que foi coletado da mesma forma que os plasmas a serem testados pode ser usado na preparação dos padrões de heparina. O pool de plasma humano normal (de pelo menos 20 doadores normais) que foi coletado da mesma maneira que os plasmas a serem testados ou o plasma normal disponível comercialmente pode ser usado na preparação de padrões de heparina. A preparação específica de heparina utilizada durante a terapia deve ser adicionada ao plasma normal combinado para preparar os padrões.

Preparar uma unidade 8.0 USP/mL de heparina em solução salina (0,9% NaCl). Ao começar com uma solução de reserva de heparina de 1000 unidades/mL, pipetar 40 µL da reserva de heparina para 4,96 mL da solução salina. Depois preparar as normas de heparina usando a unidade 8.0 USP/mL de solução, como se mostra na Tabela 1.

Quadro 1 - Preparação das Normas de Heparina

Norma de Heparina	Plasma Normal Pool	Volume de Heparina Padrão
0,8 unidade/mL	900 µL	100 µL de unidade 8.0 USP/mL
0,4 unidade/mL	500 µL	500 µL de USP 0,8 unidade/mL
0,2 unidade/mL	500 µL	500 µL de USP 0,4 unidade/mL
0,0 unidade/mL	500 µL	Nenhum

Procedimento de Ensaio

O ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) pode ser realizado manualmente ou por meio de analisadores de coagulação semiautomatizados ou automatizados.

Método de Instrumentação Automatizada

A BioMedica Diagnostics oferece aplicações do instrumento para executar o ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) em vários analisadores de coagulação. Essas aplicações do instrumento podem conter dados de programação e desempenho específicos da plataforma que diferem dos dados fornecidos nestas Instruções de uso. Nesses casos, as informações contidas na aplicação do instrumento substituem as informações desta Instrução de uso. Consulte o manual do instrumento do fabricante específico para obter as instruções de operação completas. O desempenho deste ensaio foi determinado num analisador óptico MLA ELECTRA 900C™.

Método de Ponto Final Manual

1. Adicionar 200 µL de AT-III a um tubo de ensaio de plástico.
2. Adicionar 25 µL de amostra de plasma ou padrão de heparina. Misture e incube a 37°C por 2 minutos.
3. Adicione 200 µL de Factor Xa Bovino. Misture e incube a 37°C por exatamente 1 minuto.
4. Adicione 200 µL de SPECTROZYME FXa. Misture e incube a 37°C por exatamente 5 minutos.
5. Adicione 200 µL de ácido acético glacial. Misture.
6. Adicione 200 µL de água desionizada (opcional).*
7. Leia a absorvância a 405 nm em uma cubeta de 1 cm contra um branco preparado na seguinte ordem:

200 µL de ácido acético
200 µL AT-III
25 µL de plasma normal combinado
200 µL Factor Xa
200 µL SPECTROZYME FXa
* 200 µL de água (opcional)

* Alguns espectrofotômetros requerem um volume mínimo de 1 mL na cubeta

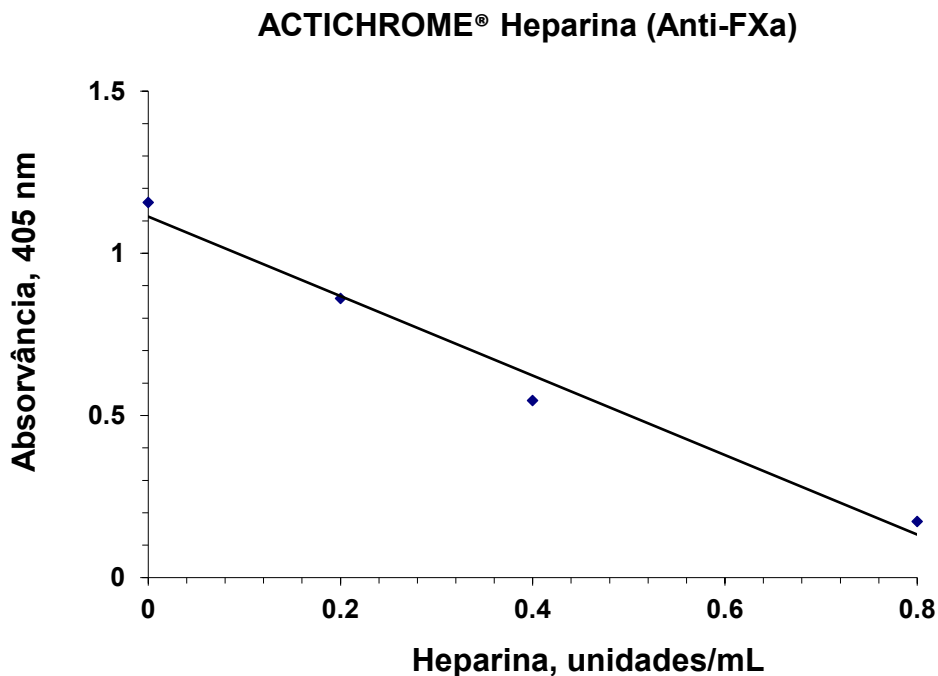
CONTROLE DE QUALIDADE

Amostras de controlo de qualidade devem ser executadas de acordo com as Directrizes de Laboratório. As amostras de controlo devem ser colocadas em frascos de reagentes recentemente reconstituídos e cada vez que o ensaio for realizado. O plasma comercial de controlo de heparina pode ser utilizado para o controlo de qualidade do ensaio. Em alternativa, o plasma normal combinado contendo 0,5 e 0,25 unidades/mL de heparina pode ser feito e utilizado como controlo interno. Se as amostras de controlo de qualidade não produzirem concentrações de heparina dentro das gamas correctas em qualquer teste, o teste deve ser repetido com reagentes recentemente reconstituídos.

RESULTADOS

Construir uma curva padrão traçando a absorvância média a um comprimento de onda de 405 nm para cada padrão de heparina versus a sua concentração correspondente e traçar a curva de calibração mais adequada. Interpolares a heparina nas amostras desconhecidas directamente a partir da curva padrão. Uma curva padrão deve ser gerada cada vez que o ensaio é realizado. A seguinte curva destina-se apenas para fins de demonstração.

Curva Padrão Representativa



LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Diferentes preparações de heparina podem provocar diferentes declives na curva padrão. A mesma heparina administrada ao paciente deve ser utilizada para gerar a curva padrão.

A contaminação plaquetária em amostras de plasma pode resultar na libertação do factor 4 plaquetário (PF4), um potente neutralizador de heparina. O PF4 libertado no plasma pode resultar numa subestimação da concentração de heparina. O congelamento e descongelamento das plaquetas é conhecido por libertar o PF4 das plaquetas. Se o plasma tiver de ser congelado e descongelado antes de ser utilizado no ensaio, então o plasma deve ser preparado como descrito na secção de preparação de amostras, de modo a que seja pobre em plaquetas.

INTERFERÊNCIAS

Amostras de natureza ictérica, lipêmica e hemolítica podem interferir nos resultados do ensaio. Estudos demonstraram que estas amostras resultam numa subestimação da concentração de heparina³.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Precisão

Um estudo realizado utilizando um instrumento automatizado para avaliar a Heparina ACTICHROME (Anti-FXa) contra outro ensaio de heparina cromogénica disponível comercialmente (utilizando heparina não fracionada) deu um coeficiente de correlação de 0,913 para 92 amostras testadas, com uma equação de regressão de $y = 0,84x + 0,003$. O Erro Padrão de Estimativa = 0,07.

Um estudo realizado utilizando um instrumento automatizado para avaliar a Heparina ACTICHROME (Anti-FXa) contra outro ensaio de heparina cromogénica disponível comercialmente (utilizando heparina de baixo peso molecular) deu um coeficiente de correlação de 0,895 para 26 amostras testadas, com uma equação de regressão de $y = 1,36x - 0,139$. O Erro Padrão de Estimativa = 0,14.

Precisão

As seguintes estimativas do coeficiente de variação (CV) foram observadas utilizando um espectrofotómetro automático.

Tabela 2 - Variações intraensaio e interensaio

Concentração UFH	Varição Intraensaio	Varição Interensaio
0,44 unidades/mL	3,3%	4,1%
0,25 unidades/mL	5,6%	4,8%

Concentração LMWH	Varição Intraensaio	Varição Interensaio
0,48 unidades/mL	2,9%	6,2%
0,24 unidades/mL	5,1%	9,3%

Sensibilidade

ACTICHROME Heparina (Anti-FXa) foi concebida para dar uma curva padrão linear para níveis de heparina entre 0 e 0,8 unidades/mL.

Especificidade

A especificidade do ensaio foi assegurada pela utilização do factor bovino Xa purificado e do factor humano AT-III purificado. Além disso, o substrato cromogénico utilizado para medir a actividade residual do factor Xa é altamente específico para o factor Xa.

RESUMO DA SEGURANÇA E DO DESEMPENHO

O Resumo de Segurança e Desempenho (SSP) está disponível na Base de Dados Europeia sobre Dispositivos Médicos (Eudamed), em <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> ao abrigo da UDI-DI básica (GMN) 0062794400265Q, ou a pedido.







REFERÊNCIAS

1. Teien, A. N., Lie, M. e Abildgaard, U. Ensaio de heparina em plasma usando um substrato cromogénico. *Investigação da Trombose* **8**: 413-416, 1976.
2. Teien, A. N. e Lie, M. Avaliação de um método de ensaio amidolítico de heparina: Aumento da sensibilidade através da adição de antitrombina III purificada. *Investigação da Trombose* **10**: 399-410, 1977.
3. Dados em arquivo da BioMedica Diagnostics.

MLA é uma marca registada do Laboratório de Instrumentação, SpA

As alterações em relação à revisão anterior são assinaladas por linhas pontilhadas a vermelho na margem esquerda.

DEFINIÇÃO DE SÍMBOLOS

	Consulte As Instruções De Uso
	Aviso
	Dispositivo Médico Para Diagnóstico In Vitro
	Fabricante
	Temperatura Limitação: Armazenar a 2°C a 8°C
	Código do Lote / Número do Lote
	Data de Validade
	Número de Catálogo
	Marca CE
	Representante Autorizado Europeu
	Contém o Suficiente Para <n> Testes
	Contém