

# ACTICHROME® Heparin (Anti-FXa)

**REF 832**

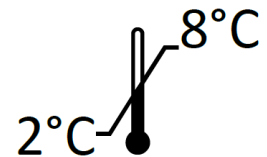
**IVD**

**CE**

**Σ**  
200



2°C — 8°C

An icon of a thermometer with a vertical line indicating a temperature range from 2°C to 8°C.

**EC REP**

Obelis s.a  
Boulevard Général Wahis 53, 1030 Bruselas, BÉLGICA

## USO PREVISTO

ACTICHROME® Heparin (Anti-FXa) es una prueba cromogénica destinada a la medición cuantitativa de la heparina terapéutica, mediante la medición de la actividad del factor Xa, en plasma de pacientes sometidos a terapia anticoagulante. La prueba está destinada a los profesionales del laboratorio y puede realizarse manualmente, o mediante el uso de analizadores de coagulación semiautomáticos o automatizados. La prueba es para uso diagnóstico in vitro.

## EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El efecto inhibitorio de la antitrombina III (AT-III) sobre la trombina, el factor Xa y otras serina proteasas de coagulación en plasma aumenta miles de veces por la heparina. Esta inhibición es la responsable del efecto anticoagulante de la heparina. Parece ser que las preparaciones de heparina de bajo peso molecular (LMWH, por sus siglas en inglés) catalizan la reacción entre el factor Xa y la AT-III más fácilmente que entre la trombina (FIIa) y la AT-III. La heparina no fraccionada (UFH, por sus siglas en inglés) cataliza ambas reacciones por igual. Por tanto, la prueba de inhibición del factor Xa es la prueba más útil ya que cubre la más amplia variedad de preparaciones de heparina.

## PRINCIPIO DEL MÉTODO

ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) es una prueba cromogénica de varios pasos para medir la actividad de la heparina mediante la medición de la actividad residual del factor Xa. En el primer paso, se añade AT-III al plasma del paciente y se incuba a 37°C. En el segundo paso, se añade el factor Xa bovino a la mezcla y se incuba de nuevo a 37°C. La heparina presente en la muestra del paciente inhibirá la actividad del factor Xa. Por último, se añade a la mezcla un sustrato cromogénico, altamente específico para el factor Xa, seguido de una incubación final a 37°C. La actividad del factor Xa presente hidroliza el sustrato, liberando un cromóforo de p-nitroanilina (pNA) que vuelve la mezcla amarilla. La reacción de la prueba se detiene añadiendo ácido acético, que vuelve la mezcla azul. Se mide la absorbancia del pNA en la solución de reacción a 405 nm y se compara con los valores obtenidos de una curva estándar generada utilizando niveles conocidos de actividad de la heparina. El índice de inhibición del factor Xa es directamente proporcional a la concentración de heparina ya que hay un exceso tanto del factor Xa como de la AT-III. La actividad residual del factor Xa es inversamente proporcional a la concentración de heparina.<sup>1,2</sup>

## REACTIVOS

El kit contiene reactivos suficientes para realizar 200 pruebas utilizando un analizador de coagulación automatizado, 100 pruebas si se utiliza un método de punto final manual.

**R1 Reactivo del Factor Xa Bovino:** 4 viales (liofilizados).

**R2 Reactivo de Antitrombina Humana III:** 4 viales (liofilizados)

**R3 SPECTROZYME® FXa:** 4 viales con 4 µmoles de sustrato (liofilizado) cada uno.




## ADVERTENCIA

Este producto contiene material de origen humano que se ha encontrado que no es reactivo para el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), del virus de la hepatitis C (VHC) y del virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 y tipo 2 (VIH-1, VIH-2) utilizando métodos registrados. Como ningún método de prueba conocido puede proporcionar una garantía completa de que los productos derivados de muestras humanas no transmitirán HBsAg, VHC, VIH-1, VIH-2 u otros patógenos transmitidos por la sangre, este reactivo debe manipularse como se recomienda para cualquier muestra humana potencialmente infecciosa.

Este producto contiene material de origen animal. Como ningún método de prueba conocido puede proporcionar una garantía completa de que los productos derivados de muestras de animales no transmitirán patógenos transmitidos por la sangre, este reactivo debe manipularse como se recomienda para cualquier muestra humana potencialmente infecciosa.

Elimine el material y el embalaje desechado de acuerdo con la normativa local vigente.

Si se produce algún incidente grave al utilizar la ACTICHROME Heparin (Anti-FXa), póngase en contacto con BioMedica Diagnostics o con su distribuidor local, e informe a la autoridad local competente.

Factor Xa Bovino	Advertencia		<table border="1"> <tr> <td>CONT</td> <td>Tris-(hidroximetil) aminometano</td> </tr> </table> <p>H315, H319, H335, P261, P264, P280, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P337 + P313</p>	CONT	Tris-(hidroximetil) aminometano
CONT	Tris-(hidroximetil) aminometano				
Antitrombina III Humana	Advertencia		<p>H315, H319, H335, P261, P264, P280, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P337 + P313</p>		
SPECTROZYME® FXa	Advertencia		<table border="1"> <tr> <td>CONT</td> <td>Acetato de N-metoxicarbonil-D-ciclohexil-glicil-glicil-arginina-para-nitroanilida</td> </tr> </table> <p>H315, H319, H335, P261, P264, P280, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P337 + P313</p>	CONT	Acetato de N-metoxicarbonil-D-ciclohexil-glicil-glicil-arginina-para-nitroanilida
CONT	Acetato de N-metoxicarbonil-D-ciclohexil-glicil-glicil-arginina-para-nitroanilida				

**Declaraciones de peligro**

- H315 Provoca irritación cutánea.
- H319 Provoca irritación ocular grave.
- H335 Puede provocar irritación respiratoria.

<b>Declaraciones cautelares:</b>	P261	Evitar respirar polvo/humo/gas/niebla/vapores/aerosol
	P264	Lavarse exhaustivamente después de la manipulación.
	P280	Usar guantes protectores, ropa protectora, protección ocular, protección facial.
	P302 + P352	EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con abundante agua.
	P305 + P351 + P338	EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuague cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quítese los lentes de contacto, si los hay y es fácil quitárselos. Continúe enjuagando.
	P337 + P313	Si persiste la irritación ocular: Obtenga asesoramiento/atención médica.

## PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE REACTIVOS

Los reactivos liofilizados son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta cuando se almacenan según las instrucciones.

**R1 Reactivo del Factor Xa Bovino:** Reconstituya con 5 ml de agua desionizada. El reactivo reconstituido es estable durante 4 horas a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

**R2 Reactivo de Antitrombina Humana III:** Reconstituya con 5 ml de agua desionizada. El reactivo reconstituido es estable durante 4 horas a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

**R3 SPECTROZYME® FXa:** Reconstituya con 5 ml de agua desionizada. El reactivo reconstituido es estable durante 4 horas a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

## RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Para esta prueba solo se puede usar plasma pobre en plaquetas recolectado con citrato. No utilice plasma recolectado con EDTA. Consulte "Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guidelines-Fifth Edition" (Recolección, transporte y procesamiento de muestras de sangre para pruebas de coagulación basadas en plasma y pruebas de hemostasia molecular; Directrices aprobadas-Quinta edición), documento CLSI H21-A5, vol. 28, N° 5, enero de 2008. La recolección de plasma se debe realizar de la siguiente manera:

1. Recoja 9 partes de sangre en 1 parte de solución anticoagulante de citrato trisódico al 3,2% (0,109 M).
2. Centrifugue la muestra de sangre a  $3.000 \times g$  durante 15 minutos.

3. El plasma debe almacenarse a 2°-8°C y evaluarse en un lapso de 2 horas. Opcionalmente, el plasma puede almacenarse a -70°C durante hasta 6 meses
4. El plasma congelado debe descongelarse rápidamente a 37°C. Los plasmas descongelados deben almacenarse de 2°-8°C y evaluarse en un lapso de 2 horas.

## **PROCEDIMIENTO**

**Materiales Suministrados** – Ver reactivos

### **Materiales Requeridos, Pero No Suministrados**

Analizador automatizado de coagulación configurado a 405 nm  
Espectrofotómetro configurado a 405 nm y temporizador de laboratorio  
agua desionizada  
ácido acético glacial, 0,9% de NaCl  
Pipetas de 25 µl, 200 µl, 500 µl y 2500 µl  
Baño de agua o seco a 37°C  
tubos de ensayo de plástico o cubetas  
plasma normal disponible comercialmente  
Heparina, consulte 'Calibración de la prueba'

### **Calibración de la Prueba**

Para la preparación de los estándares de heparina se puede usar plasma humano normal conjunto (de al menos 10 donantes normales) que se haya recolectado de la misma forma que los plasmas a analizar. Para la preparación de los estándares de heparina se debe usar plasma humano normal conjunto (de al menos 20 donantes normales) que se haya recolectado de la misma forma que los plasmas a analizar o plasma normal disponible comercialmente. Para preparar los estándares se debe agregar la preparación específica de heparina utilizada durante la terapia al plasma normal conjunto.

Prepare una solución de heparina de 8,0 USP unidad/ml en solución salina (0,9% de NaCl). Cuando inicie con una solución de referencia de heparina de 1000 unidades/ml, pipetee 40 µl de la solución de referencia de heparina en 4,96 ml de solución salina. A continuación, prepare los estándares de heparina usando la solución de 8,0 USP unidad/ml como se muestra en la Tabla 1.

**Tabla 1 - Preparación de Estándares de Heparina**

<b>Estándar de Heparina</b>	<b>Plasma Normal Conjunto</b>	<b>Volumen de Estándar de Heparina</b>
0,8 unidades/ml	900 µl	100 µl de 8,0 USP unidad/ml
0,4 unidades/ml	500 µl	500 µl de 0,8 USP unidad/ml
0,2 unidades/ml	500 µl	500 µl de 0,4 USP unidad/ml
0,0 unidades/ml	500 µl	Nulo

### **Procedimiento de Ensayo**

ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) puede realizarse manualmente, o utilizando analizadores de coagulación semiautomáticos o automatizados.

### **Método de Instrumentación Automatizada**

BioMedica Diagnostics ofrece aplicaciones instrumentales para realizar el ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) varios analizadores de coagulación. Estas aplicaciones de los instrumentos pueden contener datos de programación y rendimiento específicos de la plataforma que difieren de los que se proporcionan en estas instrucciones de uso. En estos casos, la información contenida en la aplicación del instrumento sustituye a la información de la presente instrucción de uso. Por favor, consulte el manual del instrumento del fabricante específico para obtener las instrucciones de funcionamiento completas. El desempeño de esta prueba se determinó en un analizador óptico MLA ELECTRA 900C™.

### **Método de Punto Final Manual**

1. Añada 200 µl de AT-III a un tubo de ensayo de plástico.
2. Agregue 25 µl de muestra de plasma o de estándar de heparina. Mezcle e incube a 37°C durante 2 minutos.
3. Añada 200 µl de Factor Xa Bovino. Mezcle e incube a 37°C durante exactamente 1 minuto.
4. Añada 200 µl de SPECTROZYME FXa. Mezcle e incube a 37°C durante exactamente 5 minutos.
5. Añada 200 µl de ácido acético glacial. Mezcle.
6. Añada 200 µl de agua desionizada (opcional).\*

7. Tome la lectura de la absorbancia a 405 nm en una cubeta de 1 cm contra un blanco preparado en el siguiente orden:

- 200 µl de ácido acético
- 200 µl de AT-III
- 25 µl de plasma normal conjunto
- 200 µl de factor Xa
- 200 µl de SPECTROZYME FXa
- \*200 µl de agua (opcional)

\*Algunos espectrofotómetros requieren un volumen mínimo de 1 ml en la cubeta.

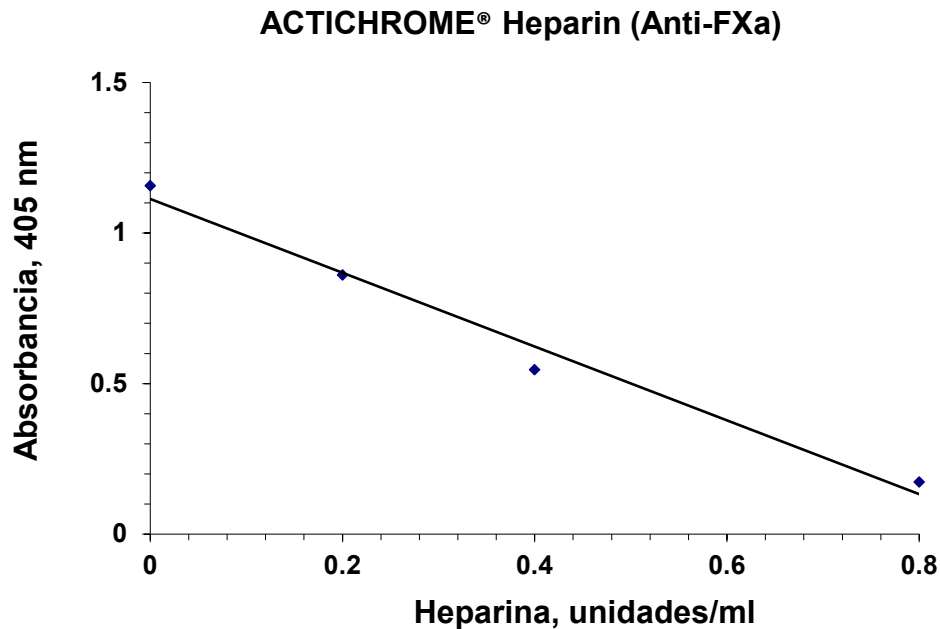
## **CONTROL DE CALIDAD**

Las muestras de control de calidad deben procesarse de acuerdo con las pautas de laboratorio. Las muestras de control se deben procesar en viales de reactivos recién reconstituidos y cada vez que se ejecuta la prueba. El plasma de control de la heparina comercial puede usarse para el control de calidad de la prueba. De manera alternativa, se puede preparar plasma normal conjunto con un contenido de 0,5 y 0,25 unidades/ml de heparina y usarse como control interno. Si las muestras de control de calidad no producen concentraciones de heparina dentro de los rangos correctos en cualquiera de las pruebas, se debe repetir la prueba con reactivos recién reconstituidos.

## **RESULTADOS**

Construya una curva estándar trazando la absorbancia media a una longitud de onda de 405 nm para cada estándar de heparina versus su concentración correspondiente y dibuje la curva de calibración que mejor se ajuste. Interpole la heparina en las muestras desconocidas directamente de la curva estándar. Se debe generar una curva estándar cada vez que se realiza la prueba. La siguiente curva es solo para fines de demostración.

## Curva Estándar Representativa



### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Las diferentes preparaciones de heparina pueden suscitar diferentes pendientes en la curva estándar. La misma heparina administrada al paciente debe usarse para generar la curva estándar.

La contaminación de las plaquetas en las muestras de plasma puede provocar la liberación del factor plaquetario 4 (PF4, por sus siglas en inglés), un potente neutralizador de heparina. El PF4 liberado en plasma puede dar lugar a una subestimación de la concentración de heparina. Se sabe que la congelación y descongelación de plaquetas libera PF4 de las plaquetas. Si el plasma debe congelarse y descongelarse antes de su uso en la prueba, entonces debe prepararse como se describe en la sección de preparación de muestras para que sea pobre en plaquetas.

### INTERFERENCIAS

Las muestras ictericas, lipémicas y hemolizadas pueden interferir con los resultados de la prueba. Los estudios han demostrado que estas muestras dan como resultado una subestimación de la concentración de heparina<sup>3</sup>.

### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

#### Exactitud

Un estudio realizado con un instrumento automatizado para evaluar ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) contra otra prueba de heparina cromogénica disponible comercialmente (utilizando heparina

no fraccionada), dio un coeficiente de correlación de 0,913 para 92 muestras analizadas, con una ecuación de regresión de  $y = 0,84x + 0,003$ . El error estándar de estimación = 0,07.

Un estudio realizado con un instrumento automatizado para evaluar ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) contra otra prueba de heparina cromogénica disponible comercialmente (utilizando heparina de bajo peso molecular), dio un coeficiente de correlación de 0,895 para 26 muestras analizadas, con una ecuación de regresión de  $y = 1,36x - 0,139$ . El error estándar de estimación = 0,14.

## Precisión

Las siguientes estimaciones del coeficiente de variación (CV) se observaron utilizando un espectrofotómetro automatizado.

**Tabla 2 - Variaciones Intrapueba e Interprueba**

Concentración de UFH	Variación Intrapueba	Variación Interprueba
0,44 unidades/ml	3,3%	4,1%
0,25 unidades/ml	5,6%	4,8%

Concentración de LMWH	Variación Intrapueba	Variación Interprueba
0,48 unidades/ml	2,9%	6,2%
0,24 unidades/ml	5,1%	9,3%

## Sensibilidad

ACTICHROME Heparin (anti-FXa) está diseñado para proporcionar una curva estándar lineal para niveles de heparina de entre 0 y 0,8 unidades/ml.

## Especificidad

La especificidad de la prueba se ha asegurado mediante el uso del factor Xa bovino purificado y AT-III humana purificada. Además, el sustrato cromogénico utilizado para medir la actividad residual del factor Xa es altamente específico para el factor Xa.

## RESUMEN DE SEGURIDAD Y DESEMPEÑO

El Resumen de Seguridad y Desempeño (SSP) está disponible en la Base de Datos Europea de Productos Sanitarios (Eudamed), en <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> bajo el UDI-DI básico (GMN) 0062794400265Q, o bajo petición.

## REFERENCIAS

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

MLA es una marca registrada de Instrumentation Laboratory, SpA

Los cambios con respecto a la revisión anterior se señalan con líneas de puntos rojas en el margen izquierdo.

## DEFINICIÓN DE SÍMBOLOS

	Consultar Instrucciones de Uso
	Advertencia
	Dispositivo Médico de Diagnóstico In Vitro
	Fabricante
	La Temperatura Limitación: Conservar entre 2°C y 8°C
	Código de Lote / Número de Lote
	Fecha de Caducidad
	Numero de Catalogo
	Marca CE
	Representante Autorizado Europeo
	Contiene Suficiente Para <n> Pruebas
	Contiene