

Heparin - 0020009400

Aplicação Prevista

Teste cromogénico automático para a determinação quantitativa de Heparina não fraccionada (HNF) ou Heparina de baixo peso molecular (HBPM) em plasma humano citratado, nos Sistemas de Coagulação IL.

Resumo e Princípio

A heparina é o fármaco antitrombótico mais frequentemente utilizado. A actividade biológica deste glicosaminoglicano sulfatado consiste na capacidade de acelerar (até 2000 vezes) o efeito inibidor da Antitrombina nas proteases da coagulação. Actualmente tem-se verificado que a HBPM, para além de ser terapêuticamente útil tal como a HNF, também tem uma maior semi-vida.

O kit Heparina é um ensaio da heparina baseado num substrato cromogénico sintético e na inactividade do Factor Xa. Os níveis de Heparina existentes no plasma do doente são medidos automaticamente no Sistema de Coagulação da IL em duas etapas:

1. A Heparina é analisada como um complexo com a Antitrombina presente na amostra. A concentração deste complexo está dependente da Antitrombina disponível. Para obter uma maior estabilidade de concentração da Antitrombina, ao plasma é adicionada a Antitrombina humana purificada.

O Factor Xa é adicionado em excesso e neutralizado pelo complexo Antitrombina-Heparina.

2. O Factor Xa residual é quantificado utilizando um substrato cromogénico sintético. A para-nitroanilina libertada é monitorizada cineticamente a 405 nm e é inversamente proporcional ao nível de Heparina existente na amostra.

Uma vez que os diferentes tipos de Heparinas HNF e HBPM possuem uma actividade específica do Factor anti-Xa, a mesma Heparina que é utilizada na amostra do doente também deve ser usada para a calibração da curva padrão.

Composição

O kit Heparin (Heparina) é composto por:

S Chromogenic substrate (Núm. Cat. 00020009410): recipiente 1 x 4 mL de substrato cromogénico liofilizado S-2765, N- α -Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA·2HCL (3 mg/recipiente) e estabilizadores.

E Factor Xa reagent (Núm. Cat. 00020009420): recipiente 1 x 5 mL de preparação liofilizada contendo Factor Xa bovino purificado (68 nkat/recipiente), Tampão-Tris, EDTA, cloreto de sódio e albumina de sorbo bovino.

A Antithrombin (Núm. Cat. 00020009430): recipiente 1 x 3 mL de preparação liofilizada contendo antitrombina humana (3 UI/recipiente), Tampão-Tris, EDTA, cloreto de sódio e albumina de sorbo bovino.

B Buffer (Núm. Cat. 00020009440): recipiente 1 x 8 mL de solução concentrada contendo Tampão Tris, pH 8,4, EDTA, cloreto de sódio, detergente e albumina de sorbo bovino.

AVISOS E PRECAUÇÕES:

O material utilizado neste produto foi analisado com testes aprovados pela FDA e verificou-se a ausência de reacção ao Antígeno de Superfície da Hepatite B (HBsAg), aos anticorpos para anti-HCV e anti-HIV 1/2. No entanto, deve-se manipular com precaução, como potencialmente infeccioso.

Evitar o contacto com a pele e os olhos (S 24/25). Não deitar os resíduos no esgoto (S 29). Usar vestuário de protecção adequado (S 36).

Todos os produtos de origem animal devem ser tratados como potencialmente infecciosos.

Para uso em diagnóstico *in vitro*.

Preparação

Chromogenic substrate: Dissolver o conteúdo de cada recipiente em 4 mL de água tipo CLRW segundo o CLSI ou equivalente. Fechar o recipiente e homogeneizar suavemente. Verificar se o produto fica completamente dissolvido. Conservar o reagente entre 15 e 25°C durante 30 minutos. Misturar invertendo o recipiente, antes de utilizar.

Factor Xa reagent: Dissolver o conteúdo de cada recipiente em 5 mL de água tipo CLRW segundo o CLSI ou equivalente. Fechar o recipiente e homogeneizar suavemente. Verificar se o produto fica completamente dissolvido. Conservar o reagente entre 15 e 25°C durante 30 minutos. Misturar invertendo o recipiente, antes de utilizar.

Antithrombin: Dissolver o conteúdo de cada recipiente em 3 mL de água tipo CLRW segundo o CLSI ou equivalente. Fechar o recipiente e homogeneizar suavemente. Verificar se o produto fica completamente dissolvido. Conservar o reagente entre 15 e 25°C durante 30 minutos. Misturar invertendo o recipiente, antes de utilizar.

Buffer (Tampão): Diluir a quantidade necessária de tampão concentrado 1:10 (1+9) com água tipo CLRW segundo o CLSI ou equivalente. Misturar antes de utilizar.

Working buffer (Tampão de trabalho): Para 24 mL de tampão diluído juntar 1 mL de reagente Antitrombina reconstituído.

Nota: Nos reagentes liofilizados pode ocorrer opalescência mas desaparecerá ao fim de 2 minutos.

Conservação e estabilidade do reagente

Os reagentes fechados, que ainda não foram utilizados, são estáveis até ao final do prazo de validade, que consta no rótulo, desde que conservados entre 2-8°C.

Chromogenic substrate - Estabilidade depois da reconstituição: 7 dias a 15°C, 3 meses a 2-8°C dentro do recipiente original, ou 48 horas a 15°C nos Sistemas ACL Futura, ACL Advance e Família ACL TOP.

Factor Xa reagent - Estabilidade depois da reconstituição: 7 dias a 15°C, 3 meses a 2-8°C dentro do recipiente original, ou 48 horas a 15°C nos Sistemas ACL Futura, ACL Advance e Família ACL TOP.

Antithrombin - Estabilidade depois da reconstituição: 3 meses a 2-8°C dentro do recipiente original.

Buffer (Tampão) - Depois de aberto, o reagente é estável durante 3 meses entre 2-8°C.

Working buffer (Tampão de trabalho) - Estabilidade depois da preparação:

7 dias entre 15°C e 2-8°C num contentor selado, ou 48 horas a 15°C nos Sistemas ACL Futura, ACL Advance e Família ACL TOP.

Para obter uma estabilidade óptima retire os reagentes do aparelho e conserve-os entre 2-8°C, nos recipientes originais.

Método de ensaio

Seguir as instruções da técnica de acordo com o Manual do Operador dos aparelhos IL ou com o Manual de Aplicações dos Aparelhos IL.

Nota: Recomenda-se um ciclo de limpeza depois de efectuar a análise com o ensaio da Heparina nos sistemas ACL Classic (100-7000).

Recolha e preparação da amostra

Adicionar nove partes de sangue extraído recentemente por punção venosa a uma parte de citrato trissódico. Para efectuar a recolha, o manuseamento e a conservação da amostra devem seguir-se as recomendações referidas no documento H21-A4 da CLSI.

Padronização

Para preparação do padrão 0.8 U/mL utiliza a mesma heparina, utilizada na terapêutica do doente.

Por favor note que: Quando preparar o padrão 0.8 U/mL, dependendo do instrumento que está ser utilizado, deve utilizar-se plasma de calibração ou um Pool de Plasma Normal (NPP).

ACL TOP Family: Deve utilizar-se um Pool de Plasma Normal (NPP) na preparação do padrão 0.8 U/mL.

ACL Futura/ACL Advance: Conforme indicado no Manual do Operador, deve ser utilizado o plasma de calibração, na preparação do padrão 0.8 U/mL.

ACL ELITE/ELITE PRO/8/9/10000: Conforme indicado no Manual do Operador, deve ser utilizado o plasma de calibração, na preparação do padrão 0.8 U/mL.

ACL Classic (100-7000): Conforme indicado no Manual do Operador, deve ser utilizado o Pool de Plasma Normal (NPP) na preparação do padrão 0.8 U/mL.

Reagentes adicionais e plasmas de controlo

Este kit não inclui os produtos abaixo mencionados, pelo que deverão ser pedidos em separado:

	Américas e Pacífico Núm. Cat.	Europa Núm. Cat.
Plasma de Calibração	0020000000	0008467300
Controle baixo de Heparina*	20004900	N/A
Controle alto de Heparina*	20004100	N/A
Solução de limpeza	0009831700	0009831700
Solução de limpeza	0009832700	0009832700

*Nota: Não deve ser utilizado nos ensaios com Heparina de baixo peso molecular (HBPM).

Controlo de Qualidade

Para realizar um programa completo de controlo de qualidade recomenda-se a utilização de dois níveis de controlos. Os controlos adequados para este programa são o controlo Baixo* e o controlo Alto* de Heparina.

Cada laboratório deve estabelecer a sua própria média e desvio padrão e deve efectuar um programa de controlo de qualidade para monitorizar os seus resultados. Os controlos devem ser analisados uma vez em cada turno de 8 horas, de acordo com a norma vigente no Laboratório. Ver Manual do Operador para mais informações. Consultar a publicação de Westgard e col. para identificar e solucionar situações anormais do Controlo de Qualidade.

Resultados

Os resultados de Heparina são expressos em U/mL. Para mais informações consultar o Manual do Operador do Aparelho.

Limitações/interferências

Concentrações de Hemoglobina até 200 mg/dL, Bilirrubina até 20 mg/dL e Triglicéridos até 700 mg/dL não alteram os resultados de Heparina nos Sistemas ACL Futura/ACL Advance.

Concentrações de Hemoglobina até 375 mg/dL, Bilirrubina até 25 mg/dL e Triglicéridos até 1630 mg/dL não alteram os resultados de Heparina na Família ACL TOP.

Valores Esperados

Para obter um efeito óptimo do reagente, evitando hemorragias ou complicações tromboembólicas, é necessário que a actividade de Heparina esteja dentro dos limites recomendados pelo fabricante.

Características técnicas

Precisão:

A precisão entre análises e total (análise a análise e dia a dia) foi avaliada ao longo de múltiplas análises, com dois níveis de heparina não fraccionada e de heparina de baixo peso molecular.

Família ACL	Média (U/mL)	CV% (Intra-série)	CV% (Total)
HNF	0,77	1,84	2,18
HNF	0,23	7,76	8,23
HBPM	0,79	2,68	3,09
HBPM	0,23	7,99	9,69

ACL Futura/ACL Advance	Média (U/mL)	CV% (Intra-série)	CV% (Total)
HNF	0,79	3,0	6,6
HNF	0,52	5,7	7,3
HNF	0,26	9,1	10,0
HBPM	0,76	4,1	4,5
HBPM	0,42	6,2	7,9
HBPM	0,22	10,7	11,9

Família ACL TOP	Média (U/mL)	CV% (Intra-série)	CV% (Total)
HNF	0,82	1,8	6,4
HNF	0,53	3,4	4,3
HNF	0,25	4,6	8,5
HBPM	0,86	2,4	4,4
HBPM	0,49	6,1	8,2
HBPM	0,25	5,7	11,3

Correlação:

Sistema	declive	intersecção	r	Método Comparativo
Família ACL	0,968	0,014	0,988	IL Heparina (Xa)
ACL Futura/ACL Advance	0,944	0,035	0,989	IL Heparina (Xa)
Família ACL TOP	1,012	-0,005	0,992	HemosIL Heparina (Xa) em ACL Advance

Estes resultados de precisão e de correlação foram obtidos utilizando lotes específicos, de reagente e de controlo.

Linearidade:

Sistema	
Família ACL e ACL Futura/ACL Advance	0 - 1,0 U/mL
Família ACL TOP	0 - 1,1 U/mL

Bibliography / Literatur / Bibliografía / Bibliographie / Bibliografia / Bibliografia

<p>1. Teien AN, Lie M. Evaluation of an Amidolytic Heparin Assay Method: Increased Sensitivity by Adding Purified Antithrombin III, <i>Thromb. Res.</i> 1977; 10: 399-410.</p> <p>2. Teien AN, <i>et al.</i> Assay of Heparin in Plasma using a Chromogenic Substrate, <i>Thromb. Res.</i> 1976; 8: 413-416.</p> <p>3. Fareed J, Hoppenstadt D, Jeske W, Clarizio R, Waleng JM, Bick RL. The Available Low Molecular Weight Heparin Preparations Are Not the Same, <i>Clin. Appl. Thrombosis/Hemostasis.</i> 1997; 3 (suppl. 1): s38-s52.</p> <p>4. Holmer E, Kurachi K, Söderström. The Molecular-Weight Dependence of the Rate-Enhancing Effect of Heparin on the Inhibition of Thrombin, Factor Xa, Factor IXa and Kallikrein by Antithrombin, <i>Biochem J.</i> 1981: 193: 395-400.</p>	<p>5. Richmond JY, McKinney RW eds. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, U. S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, 4th Edition, 1999.</p> <p>6. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Preparation and Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory, Fourth Edition, CLSI/NCCLS Document C3-A3; Vol. 26 No. 22.</p> <p>7. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays, Fourth Edition, CLSI/NCCLS Document H21-A4; Vol. 23 No. 35.</p> <p>8. Zucker S, Cathey MH, West B. Preparation of Quality Control Specimens for Coagulation, <i>Am J. Clin. Pathol.</i> 1970; 53: 924-927.</p>	<p>9. Westgard JO, and Barry PL. Cost-Effective Quality Control: Managing the Quality and Productivity of Analytical Process, AACC Press 1986.</p> <p>10. Holm HA, Abildgaard U, Kalvenes S. Heparin Assays and Bleeding Complications in Deep Venous Thrombosis with Particular Reference to Retroperitoneal Bleeding, <i>Thromb. Haemost.</i> 1985; 53: 278-281.</p> <p>ACL, ACL Futura and ACL TOP are trademarks of Instrumentation Laboratory ©1998 Instrumentation Laboratory Issued September 2007</p>
---	--	---

Symbols used / Verwendete Symbole / Símbolos utilizados / Symboles utilisés / Simboli impiegati / Símbolos utilizados

IVD	LOT				CONTROL			EC REP
<i>In vitro</i> diagnostic medical device <i>In-vitro</i> Diagnostikum De uso diagnóstico <i>in vitro</i> Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> Per uso diagnostico <i>in vitro</i> Dispositivo médico para utilização em diagnóstico <i>in vitro</i>	Batch code Chargen-Bezeichnung Identificación número de lote Désignation du lot Numero del lotto Número de lote	Use by Verwendbar bis Caducidad Utilizable jusqu'à Da utilizzare prima del Data límite de utilização	Temperature limitation Festgelegte Temperatur Temperatura de Almacenamiento Températures limites de conservation Limiti di temperatura Límite de temperatura	Consult instructions for use Beilage beachten Consultar la metódica Lire le mode d'emploi Vedere istruzioni per l'uso Consultar as instruções de utilização	Control Kontrollen Control Contrôle Controllo Controlo	Biological risks Biologisches Risiko Riesgo biológico Risque biologique Rischio biologico Risco biológico	Manufacturer Hergestellt von Fabricado por Fabricant Prodotto da Fabricado por	Authorised representative Bevollmächtigter Representante autorizado Mandataire Rappresentanza autorizzata Representante autorizado