SIEMENS

CE

Berichrom® F XIII

La barra de revisión indica una actualización de la versión anterior.

Campos de aplicación

Determinación fotométrica de la actividad del Factor XIII en muestras de plasma

Control de la terapéutica de sustitución con concentrados de Factor XIII

Significado diagnóstico

La transglutaminasa Factor XIIIa, que se forma mediante la acción de la trombina sobre el factor de coagulación XIII, cataboliza la formación de enlaces covalentes en la fibrina, contribuyendo así a estabilizar el coágulo fresco. La importancia de Factor XIII como elemento fundamental en la cicatrización es aún discutida.

La determinación del factor XIII permite detectar estados deficitarios de actividad de este factor. Estos pueden ser causados por concentraciones muy bajas en el plasma o por defectos de funcionamiento. Las concentraciones plasmáticas bajas se presentan en deficiencias congénitas de F XIII o en estados de activación de la coagulación como sucede en las coagulopatías de consumo. La disminución de F XIII es típica después de operaciones graves. Esto puede conducir a un debilitamiento de las cicatrices y nueva apertura de las heridas.

Principio del método

El F XIII contenido en la muestra es activado a F XIIIa por influencia de la trombina. La fibrina, igualmente formada por la trombina, acelera esta reacción. Al efectuar la prueba no hay que eliminar el fibrinógeno porque ello implicaría una pérdida de F XIII. En lugar de esto, por la acción de la fibrina producida por influencia de la trombina, mediante un péptido inhibidor de la agregación, se inhibe la formación del coagulo y se mantiene en solución.

El factor XIIIa acopla un substrato peptídico específico con el éster glicinoetílico, liberando amoníaco. Éste se determina simultáneamente en una reacción enzimática paralela. Se mide la disminución de NADH por medio de la extinción a 340 nm[1].

$$\text{Fibrinógeno} \xrightarrow{\text{trombina}} \text{fibrina}_{\text{soluble}} \xrightarrow[//]{\text{inhibidor de la agregación}} \text{coágulo}$$

$$\text{F XIII} \xrightarrow[\text{Fibrina}]{\text{trombina}} \text{F XIIIa}$$

$$\text{aéster glicinoetílico + substrato peptídico} \xrightarrow{\text{F XIIIa}} \text{conjugado + } NH_3$$

$$NH_3 + \text{NADH + α-cetoglutarato} \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{NAD + glutamato}$$

Reactivos

Nota: Berichrom® F XIII puede utilizarse en analizadores de coagulación automáticos. Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH pone a su disposición Guías de Referencia (hojas de aplicación) para varios analizadores de coagulación. Las Guías de Referencia (hojas de aplicación) contienen información específica sobre el manejo de los analizadores y la realización del ensayo que puede ser diferente de la proporcionada en estas Instrucciones de uso. En ese caso, la información contenida en las Guías de Referencia (hojas de aplicación)

reemplaza a la proporcionada en estas Instrucciones de uso. Por favor, consulte también el Manual de Instrucciones del fabricante del equipo.

Contenido del envase comercial

Berichrom® F XIII, Testkit, REF *OWSU con*

3 x → 5 mL **ACTIVATOR**, Reactivo activador

3 x → 5 mL **ACTIVATOR DILUENT**, Reactivo NADH

3 x → 5 mL **DETECTION REAGENT**, Reactivo de detección

Composición

Reactivo activador: Trombina bovina (10 UI/mL), inhibidor de la agregación (Gly-Pro-Arg--Ala-amida, 2 g/L), cloruro de calcio (1,2 g/L), hexadimetrilbromuro (10 mg/L), albúmina bovina, tampón BICINE (100 mmol/L), pH 8,3

Medio de conservación: Azida de sodio (max. 0,5 g/L)

Reactivo NADH: NADH (0,5 g/L), albúmina bovina.

Medio de conservación: Azida de sodio (max. 0,5 g/L).

Reactivo de detección: glutamato-dehidrogenasa GLDH (20 UI/mL), péptido sintético como substrato de F XIII (2,4 g/L), ADP, éster glicinoetílico (<4,0 g/L), α-cetoglutarato (2,7 g/L), albúmina bovina, tampón HEPES (10 mmol/L), pH 6,5

Medio de conservación: Azida de sodio (max. 1 g/L).

Advertencias y Medidas de Seguridad

Sólo para ser utilizado en diagnósticos *in-vitro*.

Contiene azida sódica (< 1 g/L) como conservante. La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de cobre y plomo y formar azidas metálicas explosivas. Deseche de acuerdo con la normativa local vigente.

Preparación de Reactivos

ACTIVATOR DILUENT: Reconstituir con 5 mL de agua destilada o desionizada.

ACTIVATOR: Reconstituir con 5 mL de **ACTIVATOR DILUENT**.

DETECTION REAGENT: Reconstituir con 5 mL de agua destilada o desionizada.

La posterior preparación depende del método de análisis. Para el procesamiento automático con un analizador de coagulación, consulte la información en la correspondiente Guía de referencia/Hoja de aplicación. Para el l análisis manual se describe en el apartado **Procedimiento**.

Estabilidad y almacenaje

El Testkit conservado, sin abrir, entre 2 a 8 °C se puede usar hasta la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta.

Estabilidad después de la reconstitución:

Temperatura	ACTIVATOR	DETECTION REAGENT	Mezcla de reactivos
37 °C	8 horas	8 horas	4 horas
entre 15–25 °C	2 días	2 días	8 horas
entre 2–8 °C	1 semana	1 semana	2 días
–20 °C	6 meses	6 meses	2 meses

Señales de vencimiento: Falta de vacío al abrir el frasco; el reactivo no se disuelve facílmente; no se pueden obtener resultados reproducibles.

Estabilidad de la mezcla de reactivos

Los datos de estabilidad de la mezcla de reactivos, son válidos cuando se utilizan diluciones frescas de cada uno de los reactivos. Si la mezcla de reactivos se prepara con reactivos reconstituidos ya almacenados, se debe usar inmediatamente.

Las indicaciones sobre la estabilidad en el aparato vienen dadas en los manuales de referencia (reglamentos de aplicación) para cada uno de los aparatos de medida de la coagulación.

Materiales adicionales necesarios

Plasma humano estándar, REF ORKL

Plasma control N, REF ORKE

Plasma control P, REF OUPZ

Solución salina isotónica

Aparatos de medida de la coagulación

Material a investigar

Para obtener el plasma, mezclar cuidadosamente 1 parte de solución de citrato de sodio (0,11 mol/L) con 9 partes de sangre venosa, evitando la formación de espuma. Centrifugar inmediatamente a 1500 x g, por lo menos durante 15 minutos a temperatura ambiente[2].

Estabilidad de la muestra:

–20 °C	2 meses
entre 2 a 8 °C	24 horas
entre 15 a 25 °C	8 horas

Procedimiento

Desarrollo manual:

Para la prueba, mezcle a partes iguales Reactivo activador y Reactivo de detección, para obtener el volumen de reactivo necesario para realizar las pruebas.

Cubeta: trayectoria óptica de 1 cm

Longitud de onda: 340 nm

Temperatura: 37 °C

La mezcla reactiva así como las cubetas o tubos plásticos se deben precalentar a 37 °C.

Muestra	**100 µL**
Mezcla de reactivos	**1 000 µL**

Mezclar y comenzar la medición a 340 nm. Para medir emplear o un registrador conectado al fotómetro y usar en la evaluación el valor de la velocidad de cambio de la extinción (ΔE/min.) después de alcanzar la fase lineal (después de 5 minutos aprox.) o leer la extinción exactamente a los 5 y a los 10 minutos y calcular luego la variación de la extinción por minuto.

Valoración

La velocidad del cambio de la extinción después de alcanzar la fase lineal (aprox. después de 5 minutos) es proporcional a la actividad del F XIII.

La valoración se puede efectuar con el factor (F_L) o por medio de una curva de referencia. Para obtener el factor debe hacerse una doble determinación usando plasma humano estándar como muestra. Para la elaboración de la curva de referencia se usa plasma humano estándar, en diferentes etapas de dilución (en solución salina isotónica), en una doble determinación.

Cálculo del factor:

$$F_L = \frac{\text{Valor teórico (\% del valor normal)}_{\text{plasma humano estándar}}}{\Delta E/\text{min.}_{\text{plasma humano estándar}}}$$

El factor obtenido se multiplica por los ΔE/min. de las muestras. El valor de F XIII se obtiene en % del valor normal.

$F\ XIII_{muestra}$ (% del valor normal) = F_L x $\Delta E/min._{muestra}$

Para cada cambio de aparatos y para cada nuevo lote de Berichrom® F XIII, se deben determinar nuevamente el factor F_L y la curva de referencia.

Control de calidad interno

Rango normal: Plasma de control N

Rango patológico: Plasma de control P

Para cada cambio de frasco de reactivo, al comienzo de cada marcha del test, con cada calibración y por lo menos cada 8 horas, cada día de trabajo, se deben medir dos controles (uno en el rango normal y uno en el rango patológico). Los controles deben tratarse como las muestras a investigar. Cada laboratorio debe establecer su propio rango de control de calidad ya sea en base a los valores teóricos y rangos dados por el fabricante para los controles o en base al rango de confianza determinado por el propio laboratorio. Si el valor control medido se encuentra por fuera del rango de confianza antes establecido, se deben comprobar los reactivos, el factor interno del laboratorio F_L o la curva de referencia y los aparatos de medida de la coagulación. No valide los resultados del paciente hasta haber identificado y corregido la causa de la desviación.

Limitaciones del Procedimiento

Cuando las muestras contienen concentraciones elevadas de amoníaco o de amonio (>0,5 mmol/L) pueden obtenerse valores de F XIII inferiores al real. Dado el caso, determinar la concentración de amoníaco, diluir las muestras (con solución salina isotónica) y calcular de nuevo el factor XIII. Multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

Para concentraciones de fibrinógeno muy bajas (<0,8 g/L) y muy altas (>6,0 g/L) se pueden medir actividades bajas falsas del F XIII. Si la concentración de fibrinógeno está por encima de 6,0 g/L, las muestras se deben prediluir 1:2 o 1:3 con solución salina isotónica.

Una reactividad no específica de los componentes de la muestra puede llevar a sobrestimar la actividad del F XIII[3].

Siemens ha validado el uso de los reactivos en varios analizadores para optimizar el rendimiento del producto y cumplir con las especificaciones del mismo. Las modificaciones definidas por el usuario no están garantizadas por Siemens dado que pueden afectar al rendimiento del sistema y a los resultados del ensayo. Es responsabilidad del usuario validar las modificaciones realizadas a estas instrucciones o el uso de los reactivos en analizadores distintos a los incluidos en las hojas de aplicaciones de Siemens o en estas instrucciones de uso.

Los resultados de esta prueba deberán interpretarse siempre de acuerdo con la historia clínica del paciente, la sintomatologia clínica y otras observaciones.

Rango de referencia

70 - 140 % del valor normal[4]

Los valores para personas sanas varían de laboratorio a laboratorio dependiendo del método utilizado. Por esta razón cada laboratorio deberá determinar sus propios rangos de referencia basados en los procedimientos y en los aparatos de medida de la coagulación utilizados.

Características del ensayo

Rango de medida

El rango de medida lineal depende del aparato de medida de la coagulación usado. Por favor consulte el correspondiente reglamento de aplicación o la información del fabricante.

Precisión y reproducibilidad

El coeficiente de variación de la serie para el Plasma control N fue del 5 % y para el Plasma control P del 4 %. El coeficiente de variación día a día para el Plasma control N fue del 6 % y para el Plasma control P del 4 %.

Comparación de métodos

Al comparar con otros métodos conocidos para la determinación de F XIII (Inmunoelectroforesis según Laurell, Test de estabilidad del agregado) se hallaron coeficientes de correlación entre 0,8 y 0,82[5].

Bibliografía

1. Solleder E, Demuth D, Pfeiffer C, et al. Klinische Prüfung eines neues photometrischen Tests zur Bestimmung der Faktor XIII-Aktivität im Plasma. Lab Med. 1992; 16: 48–53.
2. CLSI. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document H21-A4 (ISBN 1-56238-521-6). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 190878-1898 USA, 2003.
3. Ajzner É, Muszbek L. Prophylactic and perioperative replacement therapy for acquired factor XIII deficiency: a rebuttal. J Thromb Haemost. 2004; 2: 2075-7.
4. Fickenscher K. Factor XIII (F XIII). In: Clinical and Laboratory Diagnostics, Thomas L, ed. Frankfurt/Main, Germany: TH Books Verlagsgesellschaft, 1998: 612-3.
5. Fickenscher K, Aab A, Stüber W: A Photometric Assay for Blood Coagulation Factor XIII. Thromb Haemostas. 1991; 65: 535-40.

Definición de símbolos

	No reutilizar		Fecha de caducidad
LOT	Código de lote	REF	Número de catálogo
	Atención, ver instrucciones de uso		Fabricante
EC REP	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Contenido suficiente para <n> ensayos
	Riesgos biológicos	IVD	Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*
	Límite de temperatura		Consulte las instrucciones de uso
	No estéril	CE	Marca CE
CONTENTS	Contenido	→	Volumen de reconstitución
LEVEL	Nivel		Mantener protegido de la luz solar y del calor

Berichrom® es una marca comercial de Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2008 Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH.

Reservados todos los derechos.

2014-12

Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
35041 Marburg/Germany
www.siemens.com/diagnostics