SIEMENS

Dade® Fibrinogen Calibration Graph Paper

Intended Use

For use with Dade® Fibrinogen Determination Reagents.

Use of Fibrinogen Calibration Graph

For *in vitro* diagnostic use.

The placement of the dilution lines is determined by the assay value (see vial label) for the lot number of Fibrinogen Standard used to establish the calibration curve.

The 1:4 dilution is equal to the assay value multiplied by 2.5. The 1:6.67 dilution is equal to the assay value multiplied by 1.5. The 1:10 dilution is equal to the assay value. The 1:16 dilution is equal to the 1:4 dilution divided by 4. The 1:32 dilution is equal to the 1:16 dilution divided by 2.

The resulting values are then located on the horizontal axis and a vertical line is drawn on the graph. The averaged clotting times for each dilution are then plotted using the five vertical lines calculated for the 1:4, 1:6.67, 1:10, 1:16 and 1:32 dilutions. Connecting the five points usually approximates a straight line.

For example:

If the assay for the Fibrinogen Standard is 240 mg/dL:

1. The 1:4 dilution	=	240 x 2.5	=	600 mg/dL
2. The 1:6.67 dilution	=	240 x 1.5	=	360 mg/dL
3. The 1:10 dilution	=	240 x 1	=	240 mg/dL
4. The 1:16 dilution	=	240 x 0.625	=	150 mg/dL
5. The 1:32 dilution	=	240 x 0.3125	=	75 mg/dL

The vertical lines would be drawn at 600 mg/dL, 360 mg/dL, 240 mg/dL, 150 mg/dL and 75 mg/dL.

Dade is a trademark of Siemens Healthcare Diagnostics.

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

CE

Edition July 2004

Papier zur Darstellung der Kalibration für Dade® Fibrinogen

Anwendungsbereich

Zur Anwendung bei Bestimmungen mit Dade® Fibrinogen-Bestimmungsreagenzien.

Anwendung der Fibrinogen-Kalibrationskurve

Zur *in-vitro*-diagnostischen Anwendung.

Die den Verdünnungen entsprechenden Linien auf der Eichkurve werden durch den (auf dem Fläschchenetikett angegeben) Wert des Fibrinogenstandards jener Charge bestimmt, der zur Ermittlung der Eichkurve benutzt wurde.

Die Verdünnung 1:4 entspricht diesem Wert multipliziert mit 2,5. Die Verdünnung 1:6,67 entspricht dem Wert multipliziert mit 1,5. Die Verdünnung 1:10 entspricht genau diesem Wert. Die Verdünnung 1:16 entspricht der Verdünnung 1:4 dividiert durch 4. Die Verdünnung 1:32 entspricht der Verdünnung 1:16 dividiert durch 2.

Die daraus resultierenden Werte werden auf der horizontalen Achse aufgetragen. Anschließend wird eine vertikale Linie gezogen. Die durchschnittlichen Koagulationszeiten jeder Verdünnung werden danach durch fünf, für die Verdünnungen 1:4, 1:6,67, 1:10, 1:16 und 1:32 berechnete vertikale Linien graphisch dargestellt.

Die Verbindung der fünf Punkte ergibt im Normalfall eine gerade Linie.

Beispiel:

Der Wert des Fibrinogen-Standards beträgt 240 mg/dl:

1. Verdünnung 1:4	=	240 x 2,5	=	600 mg/dl
2. Verdünnung 1:6,67	=	240 x 1,5	=	360 mg/dl
3. Verdünnung 1:10	=	240 x 1	=	240 mg/dl
4. Verdünnung 1:16	=	240 x 0,625	=	150 mg/dl
5. Verdünnung 1:32	=	240 x 0,3125	=	75 mg/dl

Die vertikalen Linien sind bei 600 mg/dl, 360 mg/dl, 240 mg/dl, 150 mg/dl und 75 mg/dl einzuzeichnen.

Dade ist ein Warenzeichen von Siemens Healthcare Diagnostics.

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

CE

Ausgabe Juli 2004

Dade® Papier graphique pour étalonnage du Fibrinogène

Domaine d'utilisation

Pour une utilisation avec les Dade® Réactifs pour le dosage du Fibrinogène.

Mode d'emploi du Papier graphique pour étalonnage du Fibrinogè

Réservé à un usage de diagnostic *in vitro*.

Le placement des lignes de dilution est déterminé par la valeur théorique (cf. quette du flacon) du numéro de lot du Standard Fibrinogène utilisé pour établi courbe d'étalonnage.

La dilution au 1/4 est équivalente à la valeur théorique multipliée par 2,5. La dilut au 1/6,67 est équivalente à la valeur théorique multipliée par 1,5. La dilution au 1 est équivalente à la valeur théorique. La dilution au 1/16 est équivalente à la dilut au 1/4 divisée par 4. La dilution au 1/32 est équivalente à la dilution au 1/16 divi par 2.

Placer les valeurs obtenues sur l'axe horizontal, et tracer des lignes verticales respondant à ces points sur le papier graphique. Reporter les temps moyens coagulation obtenus pour chaque dilution sur les cinq lignes verticales correspond aux dilutions 1/4, 1/6,67, 1/10, 1/16 et 1/32. En reliant les cinq points, on obt généralement une ligne droite.

Exemple :

Pour une valeur théorique du Standard Fibrinogène de 240 mg/dl :

1. dilution au 1/4	=	240 x 2,5	=	600 mg/dl
2. dilution au 1/6.67	=	240 x 1,5	=	360 mg/dl
3. dilution au 1/10	=	240 x 1	=	240 mg/dl
4. dilution au 1/16	=	240 x 0,625	=	150 mg/dl
5. dilution au 1/32	=	240 x 0,3125	=	75 mg/dl

Tracer les lignes verticales à 600 mg/dl, 360 mg/dl, 240 mg/dl, 150 mg/dl et 75 mg

Dade est une marque commerciale de Siemens Healthcare Diagnostics.

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

C

Edition Juillet 2

Carta Grafica per la Calibrazion del Fibrinogeno Dade®

Uso Previsto

Da utilizzare con il kit Dade® Reagenti per la determinazione del fibrinogeno.

Utilizzo del Grafico di Calibrazione del Fibrinogeno

Per uso diagnostico *in vitro*.

Il posizionamento delle linee di diluizione viene determinato dal valore di riferim (vedere etichietta del flacone) del lotto di standard Fibrinogeno utilizzato per def la curva di calibrazione.

La diluizione 1:4 corrisponde al valore dichiarato moltiplicato per 2,5. La diluiz 1:6,67 corrisponde al valore dichiarato moltiplicato per 1,5. La diluizione 1:10 sponde al valore dichiarato. La diluizione 1:16 corrisponde alla diluizione 1:4 per 4. La diluizione 1:32 corrisponde alla diluizione 1:16 divisa per 2.

I valori risultanti vengono posizionati sull'asse orizzontale e una linea verticale tracciata sul grafico. I tempi di coagulazione medi per ciascuna diluizione veng riportati sul grafico utilizzando le cinque linee verticali definite per le diluizioni 1:6,67, 1:10, 1:16 e 1:32. La linea che collega i cinque punti in genere si appros ad una retta.

Esempio:

Se il valore dichiarato per lo Standard Fibrinogeno è 240 mg/dL:

1. la diluizione 1:4	=	240 x 2,5	=	600 mg/dL
2. la diluizione 1:6,67	=	240 x 1,5	=	360 mg/dL
3. la diluizione 1:10	=	240 x 1	=	240 mg/dL
4. la diluizione 1:16	=	240 x 0,625	=	150 mg/dL
5. la diluizione 1:32	=	240 x 0,3125	=	75 mg/dL

Le linee verticali devono essere tracciate a 600 mg/dL, 360 mg/dL, 240 m 150 mg/dL e 75 mg/dL.

Dade è un marchio di Siemens Healthcare Diagnostics.

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

C

Edizione Luglio

Papel para la Gráfica de Calibración del Fibrinógeno Dade®

Uso Propuesto

Para usarlo con el Equipo de Dade® Reactivos para la determinación del Fibrinógeno.

Uso de la Gráfica de Calibración del Fibrinógeno

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Las líneas correspondientes a las diluciones en la curva de calibración se determinan según el valor (impreso en la etiqueta del frasco) que tenga el Estándar de Fibrinógeno en el lote usado para establecer la curva de calibración.

La dilución 1:4 es igual al valor del lote multiplicado por 2,5. La dilución 1:6,67 es igual al valor del lote multiplicado por 1,5. La dilución 1:10 es igual al valor del lote. La dilución 1:16 es igual al valor de la dilución 1:4 dividida por 4. La dilución 1:32 es igual al valor de la dilución 1:16 dividida por 2.

Estos valores obtenidos se colocan en el eje horizontal y se traza una línea vertical en la gráfica. Los tiempos promedios de coagulación para cada dilución se representarán gráficamente usando 5 lineas verticales calculadas para las diluciones 1:4, 1:6,67, 1:10, 1:16, y 1:32. La unión de los cinco puntos normalmente aproximan una línea recta.

Por ejemplo:

Si el valor de la referencia para el Estándar de fibrinógeno, es de 240 mg/dl:

1. La dilución 1:4	=	240 x 2,5	= 600 mg/dl
2. La dilución 1:6,67	=	240 x 1,5	= 360 mg/dl
3. La dilución 1:10	=	240 x 1	= 240 mg/dl
4. La dilución 1:16	=	240 x 0,625	= 150 mg/dl
5. La dilución 1:32	=	240 x 0,3125	= 75 mg/dl

Las lineas verticales han de trazarse a 600 mg/dl, 360 mg/dl, 240 mg/dl, 150 mg/dl y 75 mg/dl.

Dade es una marca comercial de Siemens Healthcare Diagnostics.

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

CE

Edición Julio 2004

Papel gráfico para a Calibração de Fibrinogénio Dade®

Campo de aplicação

Para usar com os Dade® Reagentes para determinação do fibrinogénio.

Uso do papel gráfico para a calibração de fibrinogénio

Para uso diagnóstico *in vitro*.

A colocação das linhas de diluição é determinada pelo valor de ensaio (veja o rótulo o frasco) do número do lote de Fibrinogénio Standard, usado para estabelecer a curva de calibração.

A diluição 1:4 é igual ao valor de ensaio multiplicado por 2,5. A diluição 1:6,67 é igual ao valor de ensaio multiplicado por 1,5. A diluição 1:10 é igual ao valor de ensaio. A diluição 1:16 é igual à diluição 1:4 dividida por 4. A diluição 1:32 é igual à diluição 1:16 dividida por 2.

Os valores resultantes colocam-se no eixo horizontal e traça-se uma linha vertical no gráfico. Os valores médios de coagulação para cada diluição são então registados usando as cinco linhas verticais calculadas para as diluições 1:4, 1:6,67, 1:10, 1:16 e 1:32.

A união dos cinco pontos, normalmente, aproxima-se de uma linha recta.

Por exemplo:

Se o valor de ensaio para o Fibrinogénio Standard é de 240 mg/dL:

1. A diluição 1:4	=	240 x 2,5	= 600 mg/dL
2. A diluição 1:6.67	=	240 x 1,5	= 360 mg/dL
3. A diluição1:10	=	240 x 1	= 240 mg/dL
4. A diluição 1:16	=	240 x 0,625	= 150 mg/dL
5. A diluição 1:32	=	240 x 0,3125	= 75 mg/dL

As linhas verticais deverão ser traçadas a 600 mg/dL, 360 mg/dL, 240 mg/dL, 150 mg/dL e 75 mg/dL.

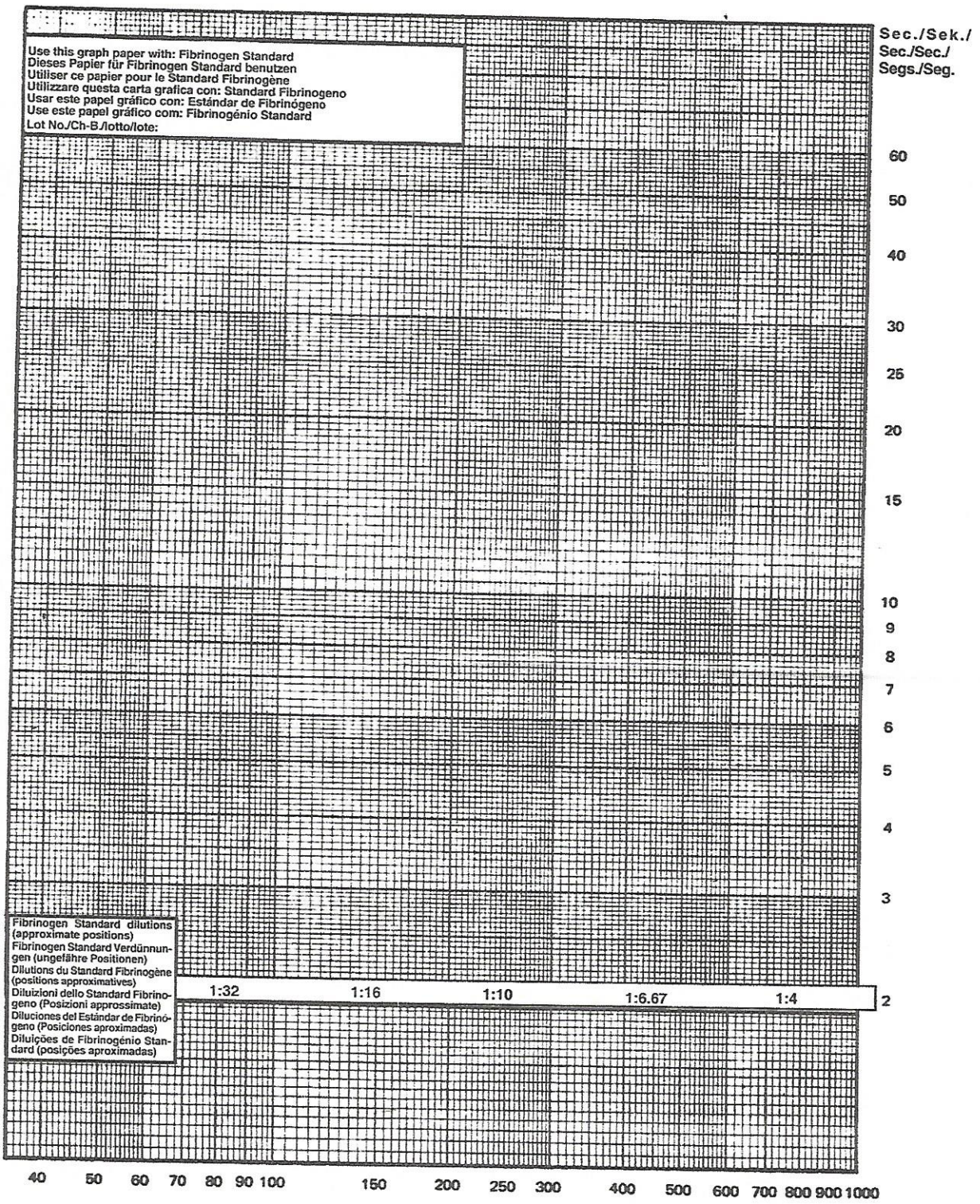
Dade é uma marca comercial da Siemens Healthcare Diagnostics.

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

CE

Edição Julho 2004

See page 1 for instructions for use.
Gebrauchsanleitung siehe Seite 1.
Fiche technique : cf. Page 1.
Vedere pagina 1 per le istruzioni d'uso.
Ver la página 2 para instrucciones de uso.
Veja as instruções de uso na página 2.



Fibrinogen in mg/dL
Fibrinogen in mg/dl
Fibrinogène en mg/dl
Fibrinogeno in mg/dL
Fibrinógeno en mg/dl
Fibrinogénio em mg/dl

SIEMENS

Factor VIII Chromogenic Assay

FACTOR VIII CHROMOGENIC

See shaded sections = updated information versus edition from May 2008

Intended Use

For photometric determination of Factor VIII (antihemophilic factor) activity in human plasma.

Summary and Principle of the Method

Hemophilia is a sex-linked hemorrhagic disease caused by circulating Factor VIII (F. VIII) or Factor IX (F.IX) deficiency. Hemophilia A is the term used for a deficiency of F. VIII, and is five to seven times more common than Hemophilia B, which is due to a deficiency in Factor IX[1-4].

Both diseases are transmitted as X-linked recessive traits and occur almost exclusively in males who receive the defective gene from the X-chromosome of a carrier mother. In Hemophilia A patients, the degree of F. VIII deficiency dictates the severity of the bleeding disorder. Approximately 10 % to 40 % of normal F. VIII activity is required for normal hemostasis; below this range, a tendency towards bleeding is apparent.

Patients are generally classified by their F. VIII activity into three categories: mild, 25 % to 5 % of normal; moderate, 5 % to 1 % of normal; and severe, less than 1 % of normal. In this chromogenic assay, the Factor VIII in the sample is activated by thrombin[5].

Activated Factor VIII (F. VIIIa) then accelerates the conversion of Factor X (F.X) into Factor Xa (F.Xa) in the presence of activated Factor IX (IXa), phospholipids (PL) and calcium ions. The F.Xa activity is assessed by hydrolosis of a p-nitroanilide substrate specific to F.Xa. The initial rate of release of p-nitroaniline (pNA) measured at 405 nm is proportional to the F.Xa activity, thus to the F. VIII activity in the sample. The chemistry of the Factor VIII Chromogenic Assay is illustrated by the following equations:

$$\text{F. VIII} + \text{Thrombin} \longrightarrow \text{F. VIIIa}$$

$$\text{F. X} \xrightarrow[\text{F. IXa. PL, } Ca^{2+}]{\text{F. VIIIa}} \text{F. Xa}$$

$$CH_3OCO\text{-D-CHG-Gly-Arg-pNA} \xrightarrow{\text{F. Xa}} CH_3OCO\text{-D-CHG-Gly-Arg-OH} + \text{pNA (yellow)}$$

Reagents

Note: Factor VIII Chromogenic Assay can be used manually or on automated coagulation analyzers. Siemens Healthcare Diagnostics provides Reference Guides (Application Sheets) for several coagulation analyzers. The Reference Guides (Application Sheets) contain analyzer/assay specific handling and performance information which may differ from that provided in these instructions for Use. In such a case, the information contained in the Reference Guides (Application Sheets) supersedes the information in these Instructions for Use. In addition, please also consult the instruction manual of the instrument manufacturer.

Materials provided

Factor VIII Chromogenic, REF *B4238 with*

2 x → 2 mL REAGENT FX, Factor X Reagent
2 x → 2 mL REAGENT FIX, Factor IXa Reagent
2 x → 1 mL SUBSTRATE, Substrate Reagent
2 x 10 mL SUBSTRATE BUFFER, Stopping Buffer

Composition

Factor X Reagent: lyophilized preparation containing approximately 2 nmol of bovine F.X, tris-(hydroxymethyl)-aminomethan (Tris) Buffer at pH 8 and stabilizers.

Factor IXa Reagent: lyophilized preparation containing approximately 0.6 nmol bovine F.IXa, approximately 0.6 nmol of bovine thrombin, approximately 0.06 mmol of calcium chloride, approximately 0.12 µmol of phospholipids, Tris buffer at pH 8, and stabilizers.

Substrate Reagent: lyophilized preparation containing approximately 3.4 µmol of CH_3OCO-D-CHG-Gly-Arg-pNA.AcOH, a F.Xa substrate, Nα-(2-Naphthylsulfonylglycyl)-D,L amidino-phenylalanine piperidide (α-NAPAP)[6], a thrombin inhibitor, and stabilizers.

Stopping Buffer: solution containing Tris, ethylendiamintetraacetic acid, sodium chloride and 0.02 % sodium azide.

Warnings and Precautions

1. For *in-vitro* diagnostic use only.
2. Contains sodium azide (< 0.1 %) as a preservative. Sodium azide can react with copper or lead pipes in drain lines to form explosive compounds. Dispose of properly in accordance with local regulations.

Preparations of the Reagents

Note: For analyzer-specific information on reagent preparation please refer to the respective Reference Guides (Application Sheet) provided by Siemens.

REAGENT FX and REAGENT FIX:
Dissolve the contents of a vial with 2.0 mL of distilled or deionized water.

SUBSTRATE:
Dissolve the contents of a vial with 1.0 mL of distilled or deionized water.

SUBSTRATE BUFFER:
For use, mix together 1.0 mL of the SUBSTRATE with 10.0 mL of the SUBSTRATE BUFFER in the brown SUBSTRATE container.

Mix the reagents carefully once more before using.

Storage and Stability

The reagents may be used up to the expiry date indicated on the label if stored at +2 to +8 °C.

Stability after reconstitution (REAGENT FX, and REAGENT FIX, SUBSTRATE/SUBSTRATE BUFFER mixture):

at +37 °C	2 hours
at +15 to +25 °C	8 hours
at +2 to +8 °C	3 days

Information about on-board stability is specified in the Reference Guides (Application Sheets) for the different coagulation analyzers.

Signs of deterioration: No evidence of vacuum in vial upon opening; difficulty in reconstituting reagents; extreme turbidity or presence of particulate matter in SUBSTRATE BUFFER.

Specimens

Mix 9 parts of freshly collected patient blood with 1 part of 0.11 mol/L or 0.13 mol/L sodium citrate solution. Centrifuge the blood specimen at 1500 x g for no less than 15 minutes at room temperature. Immediately move plasma into a plastic tube and keep refrigerated until ready to test.

Patient plasma should be tested within 1 hour of blood collection, and can be stored up to 30 days at -20 °C. Due to the instability of Factor VIII, the plasma may be thawed only once and tested within 1 hour.

Materials required, but not provided

Sodium citrate 0.11 mol/L or 0.13 mol/L for blood collection.
Fresh plasma pool (FPP) or Standard Human Plasma (REF ORKL) for calibration.
Coagulation Factor VIII Deficient Plasma (human), REF OTXW.
Distilled or deionized water.
Spectropholometer with the following capabilities:
— Wavelength: 405 nm
— Pathlength: 1 cm
— Measuring temperatures: +25 °C, +30 °C or +37 °C.
Sodium chloride solution, 0.9 %.
For endpoint determination, 20 % acetic acid or 1 mol/L citric acid. (Mix 200 mL glacial acetic acid with 800 mL distilled or deionized water or dissolve 210 g citric acid monohydrate in distilled or deionized water and dilute to 1 liter.)
Stopwatch.
Pipettes for 0.1 mL, 0.5 mL and 3.0 mL.
Plastic tubes and 1 cm semi-micro cuvettes.
Control Plasma N, REF ORKE
Control Plasma P, REF OUPZ
Imidazole Buffer Solution, REF OQAA *or*
Dade® Owren's Veronal Buffer, REF B4234 *or*
Dade® CA System Buffer, REF B4265
Coagulation analyzer

Procedure

Manual:

Endpoint/Kinetic Assay Procedure

The assay can be performed at +25 °C, +30 °C or +37 °C. Set the wavelength of the photometer at 405 nm and zero against 0.9 % sodium chloride solution.

Sample/Calibration Plasma Dilution

The assay is performed on a 1 : 31 dilution of sample or calibration plasma. This dilution is prepared as follows: Mix 0.1 mL of sample or calibration plasma with 3.0 mL of 0.9 % sodium chloride solution in a plastic tube.

Preparation of the Calibration Curve:

The assay can be performed using a single calibration plasma dilution, but a calibration curve should be calculated for greater accuracy. For this, use a calibration plasma with known level of F. VIII (e.g. 100 %) and dilute it with 0.9 % sodium chloride solution as follows:

Dilution of calibration plasma		1 : 21	1 : 31	1 : 62	1 : 124	zero standard
0.9 % NaCl	mL	2.0	3.0	1.0	1.0	1.0
Calibrating plasma	mL	0.1	0.1			-
Mix and transfer	mL		1.0	1.0		
F. VIII*	%	148	100	50	25	0

* When a commercial assayed reference plasma is used, the percent of factor assumed present in the 1 : 31 dilution will be the assay value published. The percent of factor assumed present for the other dilutions must be adjusted accordingly. The F. VIII concentration of the 1 : 21 dilution is calculated as follows: Concentration of F. VIII in 1 : 31 dilution x 1.48 = Concentration of F. VIII in 1 : 21 dilution, e.g. 100 % x 1.48 = 148 %.

Procedure Outline

All reagents as well as the plastic tubes should be preincubated at the selected temperature. The reproducibility is optimal if the measuring temperature does not deviate by more than 0.2 °C from the selected temperature during the reaction.

Step	Kinetic Assay	Endpoint Assay
Diluted sample/calibration plasma 1 : 31**	0.1 mL	0.1 mL
Factor X Reagent	0.1 mL	0.1 mL
Factor IXa Reagent	0.1 mL	0.1 mL
Mix well and incubate	90 seconds at +37 °C***	
Add substrate Reagent and Stopping Buffer	0.5 mL	0.5 mL
Mix and measure the absorbance increase immediately (ΔA/min).	60 sec 405 nm	60 sec
Add 20 % acetic acid or 1 mol/L citric acid	-	0.1 mL
Mix and measure the absorbance against 0.9 % NaCl	-	405 nm

** See chapter titled "Notes on the Assay Procedure"
*** 90 seconds at +37 °C. 120 seconds at +30 °C or 180 seconds at +25 °C.

For the endpoint assay a plasma bank must be prepared for the samples and each calibration plasma dilution.

20 % acetic acid	0.1 mL
Add Factor X Reagent, Mix.	0.1 mL
Add Factor IXa Reagent. Mix.	0.1 mL
Add diluted Sample, Mix.	0.1 mL
Add Substrate Reagent and Stopping Buffer, Mix.	0.5 mL
Mix and measure the absorbance against 0.9 % NaCl.	405 nm

Internal Quality Control

Normal range: Control Plasma N
Pathological range: Control Plasma P

Two controls should be measured with each calibration and at least every 3 to 4 hours during each testing day (one in the normal range and one in the pathological range). The controls should be processed just like the samples. Each laboratory should determine its own quality control range, either by means of the target values and ranges provided by the manufacturer of the controls or by means of its own ranges established in the laboratory. This range is usually based on ± 2.0 to ± 2.5 standard deviations (SD) from the mean control value. If the measured control value lies outside the confidence level previously established, then the coagulation analyzer, the reagents and the calibration should be examined. Do not release patient results until the cause of deviation has been identified and corrected.

Calculation of the Results

a) Using a single calibration factor (F)

Since the calibration curve is linear between 0 - 100 %, the F. VIII activity in the sample can be calculated by using the known value of a calibration plasma (FPP, Standard Human Plasma).

Destilliertes oder entionisiertes Wasser.
Spektrophotometer mit den folgenden Charakteristika:
- Wellenlänge: 405 nm
- Schichtdicke: 1 cm
- Messtemperatur: +25 °C, +30 °C oder +37 °C.

Natriumchlorid-Lösung, 0,9 %.
20 %ige Essigsäure, oder 1 mol/l Citronensäure zur Endpunktbestimmung. (200 ml Eisessig mit 800 ml destilliertem oder entionisiertem Wasser mischen; 210 g Citronensäuremonohydrat in destilliertem oder entionisiertem Wasser lösen und damit auf 1 l auffüllen.)
Stoppuhr.
Pipetten für 0,1 ml, 0,5 ml und 3,0 ml.
Kunststoffröhrchen und 1 cm semi-mikro Kunststoffküvetten.
Kontroll-Plasma N, REF ORKE
Kontroll-Plasma P, REF OUPZ
Imidazol-Pufferlösung, REF OQAA *oder*
Dade® Owren's Veronal-Puffer, REF B4234 *oder*
Dade® CA-System Puffer, REF B4265
Gerinnungsmessgerät

Testdurchführung

Manuell:

Endpunkt/kinetische Messung

Die Messung kann bei +25 °C, +30 °C oder +37 °C durchgeführt werden. Die Wellenlänge des Photometers wird auf 405 nm und der Nullpunkt gegen 0,9 % Natriumchlorid-Lösung eingestellt.

Verdünnung der Probe oder des Kalibrierplasmas

Der Test wird bei einer Verdünnung von 1:31 der Probe oder des Kalibrierplasmas durchgeführt. 0,1 ml der Probe oder des Kalibrierplasmas mit 3,0 ml 0,9 % Natriumchlorid-Lösung in einem Kunststoffröhrchen mischen.

Erstellung der Standardkurve:

Es kann mit nur einer Kalibrator-Verdünnung gearbeitet werden, aber für eine größere Genauigkeit sollte eine Standardkurve erstellt werden. Dazu wird ein Kalibrierplasma mit bekanntem F.VIII-Gehalt (z. B. 100 %) eingesetzt und mit 0,9 % Natriumchlorid-Lösung wie folgt verdünnt:

Verdünnung des Kalibrierplasmas		1 : 21	1 : 31	1 : 62	1 : 124	Nullstandard
0,9 % NaCl	ml	2,0	3,0	1,0	1,0	1,0
Kalibrierplasma	ml	0,1	0,1			-
Mischen und überführen	ml		1,0	1,0		
F. VIII*	%	148	100	50	25	0

* Bei Verwendung eines käuflichen, standardisierten Referenzplasmas werden die deklarierten Sollwerte in Aktivitätsprozent für die Verdünnung 1:31 (Röhrchen 2) eingesetzt. Die Aktivitäten der übrigen Verdünnungen müssen entsprechend berechnet werden. Die F. VIII Konzentration der 1:21 Verdünnung berechnet sich wie folgt: F. VIII-Konzentration in der 1:31 Verdünnung x 1.48 = F.VIII-Konzentration in der 1:21 Verdünnung, z. B. 100 % x 1,48 = 148 %.

Analyse

Alle Reagenzien sowie Kunststoffröhrchen sollten auf die gewählte Temperatur vorgewärmt werden. Die Reproduzierbarkeit ist optimal, wenn die Temperatur während der Reaktion und Messung nicht mehr als 0,2 °C von der gewählten Solltemperatur abweicht.

Schritt	Kinetische Messung	Endpunkt Messung
Verdünnnte Probe/Kalibrierplasma 1:31**	0,1 ml	0,1 ml
Faktor X Reagenz	0,1 ml	0,1 ml
Faktor IXa Reagenz	0,1 ml	0,1 ml
Gut mischen und inkubieren	90 Sekunden bei +37 °C***	
Substrat Reagenz und Stopp-Puffer	0,5 ml	0,5 ml
Mischen und sofort die Extinktionszunahme messen (ΔE/min).	60 sec 405 nm	60 sec
20 %ige Essigsäure oder 1mol/l Citronensäure	-	0,1 ml
Mischen und die Extinktion gegen 0,9 % NaCl messen	-	405 nm

** siehe Kapitel "Anmerkungen zur Testdurchführung"
*** 90 Sekunden bei +37 °C, 120 Sekunden bei +30 °C oder 180 Sekunden bei +25 °C.

Bei der Endpunkt Messung muss für die Probe und jede Kalibrierplasma-Verdünnung ein Plasmaleerwert vorbereitet werden.

20 %ige Essigsäure.	0,1 ml
Faktor X Reagenz. Mischen.	0,1 ml
Faktor IXa Reagenz. Mischen.	0,1 ml
Plasmaverdünnung. Mischen.	0,1 ml
Substrat Reagenz und Stopp-Puffer. Mischen.	0,5 ml
Mischen und die Extinktion gegen 0,9 % NaCl messen.	405 nm

Interne Qualitätskontrolle

Normalbereich: Kontroll-Plasma N
pathologischer Bereich: Kontroll-Plasma P

Bei jeder Kalibration und mindestens alle 3 bis 4 Stunden an jedem Testtag sollten zwei Kontrollen (eine im Normalbereich und eine im pathologischen Bereich) gemessen werden. Das Kontrollmaterial sollte wie die Proben behandelt werden. Jedes Labor sollte seinen Qualitätskontrollbereich entweder anhand der vom Hersteller der Kontrollen angegebenen Sollwerte und -bereiche oder anhand des im Labor bestimmten eigenen Bereichs festlegen. Dieser Bereich basiert gewöhnlich auf ± 2,0 bis ± 2,5 Standardabweichungen (SD) vom mittleren Kontrollwert. Liegt der gemessene Kontrollwert außerhalb des vorher festgelegten Bereichs, sollten Gerinnungsmessgerät, Reagenzien und Kalibration überprüft werden. Die Ergebnisse der Patientenproben dürfen nicht freigegeben werden, bevor der Grund der Abweichung eruiert und korrigiert wurde.

Berechnung der Ergebnisse

a) Mit einem Kalibrationsfaktor (F)

Da die Kalibrationskurve zwischen 0 bis 100 % linear ist, kann die F. VIII-Aktivität der Probe mit Hilfe des bekannten Wertes eines Kalibrierplasmas (FPP, Standard-Human-Plasma) berechnet werden.

I. Für kinetische Messungen

Faktor VIII-Aktivität des Kalibrierplasmas in %	= A
ΔE/min des Kalibrierplasmas	= C
ΔE/min des Reagenzienleerwerts (Nullstandard)	= B
ΔE/min der Probe	= S
Kalibrationsfaktor	= F

$$\frac{A}{C - B} = F$$

Die Faktor VIII-Aktivität in % in der Probe wird nach folgender Gleichung berechnet:
(S - B) x F = Faktor VIII-Aktivität der Probe in %.

II. Für Endpunkt Messungen

Faktor VIII-Aktivität des Kalibrierplasmas in %	= A
Extinktion des Kalibrierplasmas	= C
Extinktion des Kalibrierplasmaleerwerts	= C_b
Extinktion der Probe	= S
Extinktion des Probenleerwerts	= S_b
Extinktion des Nullstandards	= B
Extinktion des Nullstandardleerwerts	= B_b
Kalibrationsfaktor	= F

$$\frac{A}{(C - C_b) - (B - B_b)} = F$$

Die Faktor VIII-Aktivität in % in der Probe wird nach folgender Gleichung berechnet:
$[(S - S_b) - (B - B_b)] \times F$ = Faktor VIII-Aktivität der Probe in %.

b) Berechnung mit Hilfe einer Kalibrationskurve

I. Für kinetische Messungen
Auf der Abszisse wird die %-Aktivität von F. VIII, auf der Ordinate die ΔE/min gemessen bei 405 nm, eingezeichnet. Die Prozente der F.VIII-Aktivität der unbekannten Probe können von der Kurve abgelesen werden.

II. Für Endpunkt Messungen
1. Extinktion des Kalibrierplasmaleerwerts (C_b) von der Extinktion des Kalibrierplasmas (C) subtrahieren.
2. Extinktion des Probenleerwerts (S_b) von der Extinktion der Probe (S) subtrahieren.
3. Extinktion des Nullstandardleerwerts (B_b) von der Extinktion des Nullstandards (B) subtrahieren.
F.VIII-Aktivität in % auf der Abszisse und ($C-C_b$) auf der Ordinate auf graphischem linearem Papier auftragen.
Die F.VIII-Aktivität der unbekannten Probe ($S-S_b$) kann auf der Kalibrationskurve abgelesen werden.

Einschränkungen der Testdurchführung

Siemens hat den Einsatz dieser Reagenzien auf verschiedenen Analysengeräten auf optimale Produktleistung und Einhaltung der Produktspezifikationen überprüft. Vom Benutzer vorgenommene Änderungen werden von Siemens nicht unterstützt, da sie die Leistung des Systems und die Testergebnisse beeinflussen können. Es liegt in der Verantwortung des Benutzers, Änderungen an diesen Anleitungen oder die Verwendung dieser Reagenzien auf anderen als in den Applikationsvorschriften von Siemens oder diesen Gebrauchsanweisungen genannten Analysengeräten zu validieren.

Resultate dieses Tests sollten stets in Verbindung mit der Vorgeschichte des Patienten, dem klinischen Bild und anderen Untersuchungsergebnissen interpretiert werden.

Erwartete Werte

Werte von 50 % - 168 % der Norm wurden in Plasmen von 124 gesunden Spendern mit dem Faktor VIII Chromogen Test am BCS®/BCS® XP bestimmt.

Für die übrigen Gerinnungsmessgeräte liegen die zu erwartenden Werte bei 70 - 150 % der Norm.

Systematische Abweichungen von diesem Bereich können gerätebedingt sein. Gegebenenfalls muss ein eigener Referenzbereich durch das Labor erstellt werden.

Anmerkungen zur Testdurchführung

- Die Richtigkeit der Messung im niedrigen Bereich des F. VIII (0 bis 10 % der Norm) kann verbessert werden, wenn Gerinnungsfaktor VIII-Mangelplasma (human) und FPP oder Standard-Human-Plasma als Kalibrator verwendet werden. Durch Mischen beider Plasmen erstellt man 4 Standards: 100, 50, 25 und 0 % (Gerinnungsfaktor VIII-Mangelplasma (human) allein). In diesem Fall können sowohl Standards wie Proben in 1:31-Verdünnung bestimmt werden.
- Alle Reagenzien sowie die Kunststoffröhrchen sollten auf die gewählte Temperatur vorgewärmt werden. Die Reproduzierbarkeit ist optimal, wenn die Temperatur während der Reaktion und Messung nicht mehr als 0,2 °C von der gewählten Solltemperatur abweicht.
- Für die Endpunktmethode kann an Stelle von 20 %iger Essigsäure Citronensäure, 1 mol/l, verwendet werden.
- Es wird empfohlen, Plastikmaterial für die Probenvorbereitung und Messungen einzusetzen.
- Bei jedem Gerätewechsel und für jede Charge Faktor VIII Chromogen muss die Bezugskurve neu erstellt werden.

Leistungsmerkmale des Tests

In einer Vergleichsstudie wurden 98 Patientenproben sowohl mit dem Faktor VIII Chromogen Test als auch mit dem koagulometrischen Test mit Mangelplasma und Actin® aktiviertem Cephaloplastin Reagenz bestimmt. Der Korrelationskoeffizient war 0,96 und die Regressionsgleichung
y = 1,0 x +1,0 %.

Die Präzision der Methode hängt bis zu einem gewissen Grad von der Qualität der Instrumente und der Fertigkeit der Person ab, die den Test durchführt. Die folgende Beurteilung der Präzision wurde mit der kinetischen Methode bei +37 °C erstellt.

Probe 1	N	Mittelwert (%)	SD (%)	VK (%)
Präzision von Tag zu Tag	11	118	5	4
Präzision in der Serie	11	124	5	4
Probe 2	N	Mittelwert (%)	SD (%)	VK (%)
Präzision von Tag zu Tag	11	25	2,5	10
Präzision in der Serie	11	28	2,6	9

Die Messung wird durch Heparinkonzentrationen in der Probe[7] von bis zu 10 U/ml nicht beeinflusst. Die Faktor VIII Chromogen Methode ist linear von 0-100 % F. VIII[8].

Literatur

Siehe englische Gebrauchsanweisung.

Actin, BCS und Dade sind Warenzeichen von Siemens Healthcare Diagnostics.

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

Ausgabe September 2009

Facteur VIII chromogénique

FACTOR VIII CHROMOGENIC

Paragraphes surlignés - informations mises à jour par rapport à l'édition de mai 2008

Domaine d'utilisation

Pour le dosage photométrique de l'activité Facteur VIII (facteur antihémophile) dans le plasma humain.

Intérêt diagnostique et principe de la méthode

L'hémophilie est un trouble de la coagulation lié au sexe qui est dû à une diminution de l'activité du facteur VIII circulant (F. VIII) ou du facteur IX (F. IX). On appelle hémophilie A un déficit en F. VIII : celui-ci est cinq à sept fois plus fréquent que le déficit en F IX appelé hémophilie B[1-4].

Les deux maladies sont transmises sous forme de caractéristique récessive liée à l'X, et frappent presque exclusivement les hommes, qui héritent du gène défectueux par le chromogène X de leur mère porteuse. Dans l'hémophilie A, la gravité de la maladie dépend du degré de déficit du F. VIII. Pour assurer une hémostase minimale, une activité F. VIII d'env. 10 % à 40 % de la normale est suffisante ; en deça de ce domaine, il y a tendance au saignement.

Selon leur activité en F. VIII, les patients sont généralement classés en trois catégories : légère, de 25 % à 5 % de la normale ; moyenne, de 5 % à 1 % de la normale ; sévère, inférieure à 1 % de la normale. Dans ce test chromogénique, le F. VIII de l'échantillon est activé par de la thrombine[5].

Le facteur VIII activé (F. VIIIa) accélère ensuite la transformation du facteur X (F. X) en facteur Xa (F. Xa) en présence de facteur IX activité (F. Ixa), de phospholipides et d'ions calcium. L'activité F. Xa est mesurée par hydrolyse d'un substrat p-nitroanilide spécifique du F. Xa. La quantité finale de p-nitroaniline libérée (pNA) est proportionnelle à l'activité F. Xa, et donc de l'activité F. VIII de l'échantillon. Le déroulement du test chromogénique pour le dosage du facteur VIII est illustré par les équations suivantes .

Limites du test

Siemens a validé l'utilisation de ces réactifs sur plusieurs analyseurs afin d'optimiser les performances du produit et répondre à ses spécifications. Les modifications apportées par l'utilisateur ne sont pas sous la responsabilité de Siemens dans la mesure où elles peuvent affecter les performances du système et les résultats des dosages. Il est de la responsabilité de l'utilisateur de valider toutes modifications apportées à ces instructions ou à l'utilisation des réactifs sur les analyseurs autres que ceux mentionnés dans les protocoles d'application Siemens ou dans la présente notice d'utilisation.

Les résultats de ce test doivent toujours être interprétés en rapport avec les antécédents médicaux du patient, les signes cliniques et autres constatations.

Valeurs attendues

Des niveaux de F. VIII de 60 % à 168 % de la valeur normale ont été déterminés chez 124 individus apparemment en bonne santé à l'aide d'un test colorimétrique de Facteur VIII sur BCS®/BCS® XP.

Pour d'autres instruments de coagulation, les valeurs attendues se situent entre 70 et 150 % de la valeur normale.

Il peut s'avérer nécessaire de calculer votre propre domaine de référence dans le laboratoire du fait des différences systématiques entre les instruments.

Remarques sur la réalisation du test

- L'exactitude de la mesure dans le domaine inférieur de l'activité F VIII (de 0 à 10 % de la valeur normale) peut être améliorée en utilisant le Plasma exempt de F. VIII de la coagulation (humain) avec un FPP ou avec le Plasma standard humain comme plasma d'étalonnage. Mélanger les deux plasmas pour obtenir 4 standards : 100 %, 50 %, 25 % et 0 % (Plasma exempt de F. VIII de la coagulation (humain) seul). Dans ce cas, utiliser aussi bien les standards que les échantillons dilués au 1/31.
- Préchauffer tous les réactifs ainsi que les tubes en plastique à la température choisie pour le test. On obtient une reproductibilité optimale des résultats lorsque la température au cours de la réaction et pendant la mesure ne varie pas de plus de 0,2 °C par rapport à la température choisie.
- Pour la méthode en point final, on peut utiliser de l'acide citrique 1 mol/l au lieu de l'acide acétique à 20 %.
- Pour la préparation des échantillons et pour la mesure, il est recommandé d'utiliser du matériel en plastique.
- Etablir une nouvelle courbe d'étalonnage à chaque changement d'appareil ainsi qu'à chaque nouveau lot de Facteur VIII chromogénique.

Caractéristiques du test

Dans le cadre d'une étude comparative, 96 échantillons de patients ont été testés avec le test Facteur VIII chromogénique ainsi qu'avec le test coagulométrique utilisant un plasma exempt et l'Actin® Réactif pour Temps de Céphaline Activée. Le coefficient de corrélation a été trouvé à 0,96, et la droite de régression à $y = 1,0\,x + 1,0$ %.

La precision de la méthode dépend jusqu'à un certain point de la qualité des instruments utilisés ainsi que de la compétence technique de la personne qui effectue le test. Les données de précision obtenues ci-dessous ont été déterminées selon la méthode cinétique à +37 °C.

Echantillon 1	N	Valeur moyenne (%)	DS	CV (%)
Reproductibilité	11	118	5	4
Répétabilité	11	124	5	4
Echantillon 2	N	Valeur moyenne (%)	DS	CV (%)
Reproductibilité	11	25	2,5	10
Répétabilité	11	28	2,6	9

La mesure n'est pas influencée par une concentration d'héparine dans l'échantillon allant jusqu'à 10 U/ml. La méthode Facteur VIII chromogénique est linéaire de 0 - 100 % de F VIII[8].

Littérature

Voir la notice d'utilisation en anglais.

Actin, BCS et Dade sont des marques commerciales de Siemens Healthcare Diagnostics.

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

CE

Édition Septembre 2009

Fattore VIII Cromogenico

FACTOR VIII CHROMOGENIC

Vedere sezioni ombreggiate - informazioni aggiornate rispetto all'edizione attuale da maggio 2008

Uso Previsto

Per la determinazione fotometrica dell'attività del Fattore VIII (fattore antiemofilico) nel plasma umano.

Riassunto e Principio del Metodo

L'emofilia è una malattia emorragica legata al sesso, dovuta ad una diminuzione dell'attività del Fattore VIII (F. VIII) o Fattore IX (F.IX) circolante. Emofilia A è il termine usato per indicare una carenza di F. VIII ed è da cinque a sette volte più frequente dell'emofilia B, la quale è dovuta ad una carenza di Fattore IX[1-4].

Entrambe le malattie sono trasmesse come carattere recessivo legato alla X, e colpiscono prevalentemente i maschi, i quali ricevono il gene difettoso con il cromosoma X della madre portatrice. Nei pazienti affetti da emofilia A, la gravità della malattia emorragica è dettata dal grado di carenza di F. VIII. Per assicurare un'emostasi minima, è necessaria un'attività di F. VIII di circa 10 % - 40 % della norma; al di sotto di questo intervallo si riscontra una tendenza all'emorragia.

Generalmente i pazienti sono classificati secondo la loro attività di F. VIII in tre categorie: lieve 25 % - 5 % della norma; moderata 5 % - 1 % della norma e grave, inferiore all'1 % della norma. In questo dosaggio cromogenico, il Fattore VIII nel campione è attivato dalla trombina[5].

Il Fattore VIII attivato (F. VIIIa) accelera quindi la conversione del Fattore X (F.X) a Fattore Xa (F.Xa) in presenza di Fattore IX attivato (F.IXa), fosfolipidi (PL) e ioni calcio. L'attività di F.Xa viene determinata mediante l'idrolisi di un substrato p-nitroanilide specifico per il F.Xa. La velocità iniziale di rilascio della p-nitroanilina (pNA), misurata a 405 nm, è proporzionale all'attività di F.Xa, dunque all'attività di F. VIII nel campione. Il principio del dosaggio cromogenico del Fattore VIII è illustrato nella seguente equazione:

$$\text{F. VIII} + \text{Trombina} \longrightarrow \text{F. VIIIa}$$

$$\text{F. X} \xrightarrow[\text{F. IXa, PL, } Ca^{2+}]{\text{F. VIIIa}} \text{F. Xa}$$

$$CH_3OCO\text{-D-CHG-Gly-Arg-pNA} \xrightarrow{\text{F. Xa}} CH_3OCO\text{-D-CHG-Gly-Arg-OH} + \text{pNA (giallo)}$$

Reagenti

Nota: Il test cromogenico fattore VIII può essere utilizzato manualmente o su analizzatori per coagulazione automatici. Siemens Healthcare Diagnostics fornisce Guide di Riferimento (Protocolli Applicativi) per diversi analizzatori per coagulazione. Le Guide di riferimento (Protocolli Applicativi) contengono informazioni sulla manipolazione e sulle prestazioni specifiche per i diversi analizzatori/test che possono essere diverse da quelle fornite nelle presenti istruzioni per l'uso. In tal caso, le informazioni contenute nelle Guide di riferimento (Protocolli Applicativi) sostituiscono le informazioni contenute nelle presenti istruzioni per l'uso. Consultare anche il manuale di istruzioni del produttore dello strumento.

Materiali forniti

Factor VIII Chromogenic, REF *B4238 con*

2 x ⟶ 2 mL REAGENT FX, Reagente Fattore X
2 x ⟶ 2 mL REAGENT FIX, Reagente Fattore IXa
2 x ⟶ 1 mL SUBSTRATE, Reagente-Substrato
2 x 10 mL SUBSTRATE BUFFER, Tampone bloccante

Composizione

Reagente Fattore X: preparazione liofilizzata contenente circa 2 nmol di F.X bovino, tampone tris (idrossimetil)- aminometano (Tris), pH 8 e stabilizzanti.

Reagente Fattore IXa: preparazione liofilizzata contenente circa 0,6 nmol di F.IXa bovino, circa 0,6 nmol di trombina bovina, circa 0,06 mmol di cloruro di calcio, circa 0,12 µmol di fosfolipidi, tampone Tris pH 8 e stabilizzanti.

Reagente-Substrato: preparazione liofilizzata contenente circa 3,4 µmol di CH_3OCO-CHG-Gly-Arg-pNA.AcOH, un substrato F.XA. Nα-(2-naphtylsulfonylglycyl)-D,L-amidinofenilalanina-piperidide (α-NAPAP)[6], un inibitore della trombina e stabilizzanti.

Tampone bloccante: soluzione contenente Tris, acido etilendiaminetetraacetico, cloruro di sodio e 0,02 % di sodio azide.

Avvertenze precauzioni

1. Solo per uso diagnostico *in vitro*.
2. Contiene sodio azide (< 0,1 %) come conservante. La sodio azide può reagire con le tubazioni in rame o piombo nelle linee di scarico formando composti esplosivi. Provvedere allo smaltimento in modo appropriato e secondo le normative locali.

Preparazione dei reagenti

Nota: Per le informazioni specifiche dell'analizzatore sulla preparazione dei reagenti fare riferimento alle rispettive Guide di riferimento (Protocolli Applicativi) fornite da Siemens.

REAGENT FX e REAGENT FIX:
Ricostituire il contenuto di un flacone con 2,0 mL di acqua distillata o deionizzata.

SUBSTRATE:
Ricostituire il contenuto di un flacone con 1,0 mL di acqua distillata o deionizzata.

SUBSTRATE BUFFER:
Per l'uso, miscelare 1,0 mL di SUBSTRATE con 10,0 mL di SUBSTRATE BUFFER nel flacone marrone del SUBSTRATE.
Miscelare accuratamente ancora una volta prima dell'uso.

Conservazione e stabilità

I reagenti, conservati a +2/+8 °C, sono utilizzabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.

Stabilità dopo ricostituzione (REAGENT FX e REAGENT FIX, miscela SUBSTRATE/SUBSTRATE BUFFER):

a + 37 °C	2 ore
a +15/+25 °C	8 ore
a +2/+8 °C	3 giorni

Le informazioni sulla stabilità on board sono specificate nelle Guide di riferimento (Protocolli Applicativi) per i vari analizzatori per coagulazione.

Indici di deterioramento: Mancanza di vuoto nel flacone al momento dell'apertura; difficoltà nella ricostituzione del reagente; forte torbidità o la presenza di particelle nel SUBSTRATE BUFFER.

Campioni

Miscelare 9 parti di sangue di paziente prelevato di fresco con 1 parte di soluzione di citrato di sodio 0,11 mol/L o 0,13 mol/L. Centrifugare il campione di sangue a 1.500 x g per almeno 15 minuti a temperatura ambiente. Trasferire immediatamente il plasma in una provetta di plastica e conservarlo in frigorifero fino al momento dell'esecuzione del test.

Il plasma di paziente dovrebbe essere analizzato entro 1 ora dal prelievo oppure può essere conservato congelato a -20 °C fino a 30 giorni. A causa dell'instabilità del F. VIII, il plasma deve essere scongelato una sola volta ed analizzato entro 1 ora.

Materiale necessario ma non fornito

Citrato di sodio 0,11 mol/L o 0,13 mol/L per il prelievo del sangue

Pool di plasma normale fresco (FPP) o Plasma umano standard (REF ORKL) per la calibrazione.
Plasma carente di Fattore VIII della coagulazione (umano) REF OTXW
Acqua distillata o deionizzata.
Spettrofotometro con le seguenti caratteristiche:
- Lunghezza d'onda: 405 nm
- Percorso ottico: 1 cm
- Temperatura di misurazione: +25 °C, +30 °C o +37 °C

Soluzione di cloruro di sodio, 0,9 %.
Per la determinazione dell'endpoint, 20 % di acido acetico o 1 mol/L di acido citrico. (Miscelare 200 mL di acido acetico glaciale con 800 mL di acqua distillata o deionizzata o dissolvere 210 g di acido citrico monoidrato in acqua distillata o deionizzata e diluire a 1 litro).
Cronometro.
Pipette per 0,1 mL, 0,5 mL e 3,0 mL
Provette in plastica e cuvette semi-micro da 1 cm
Plasma di controllo N, REF ORKE
Plasma di controllo P, REF OUPZ
Soluzione tampone imidazolo, REF OQAA *oppure*
Dade® Tampone Veronal di Owren, REF B4234 *oppure*
Dade® Tampone Sistema CA, REF B4265
Analizzatore per coagulazione

Procedura

Manuale:

Procedura per il metodo cinetico/endpoint

L'analisi può essere eseguita a +25 °C, + 30 °C o +37 °C. Posizionare la lunghezza d'onda del fotometro a 405 nm e azzerare con cloruro di sodio allo 0,9 %.

Diluizione del campione o del plasma calibrante

L'analisi viene eseguita su una diluizione 1 : 31 del campione o del plasma calibrante preparata nel modo seguente: in una provetta di plastica miscelare 0,1 mL del campione o del plasma calibratore con 3,0 mL di cloruro di sodio allo 0,9 %.

Preparazione della curva di calibrazione

L'analisi può essere eseguita utilizzando una sola diluizione del plasma calibrante. Tuttavia, per una migliore precisione si può preparare una curva di calibrazione diluendo il plasma calibratore nel modo seguente: utilizzare un plasma calibratore con concentrazione di F. VIII (ad es. 100 %) nota e diluirlo con cloruro di sodio allo 0,9 % come segue:

De acuerdo con el Reglamento (CE) nº 1907/2006 (REACH), Anexo II -. Alemania
SEGURIDAD

0,13 M de imidazol Buffer

MSDS no. T01-0389-01

. 1 Sustancia / preparado y de la compañía

Identificación de la sustancia o de la mezcla

nombre del producto	: 0,13 M de imidazol Buffer
código de producto	: T01-0389-01
tipo de producto	: Líquido.
Uso de la sustancia / mezcla	Los agentes de **diagnóstico:**
nombre de compañía	
Fabricado / suministrado	: Siemens Healthcare Diagnostics GmbH Ludwig-Erhard Strasse 12 D-65760 Eschborn Alemania Tel: (49) 6196 - 7713 a 1.111. Fax: (49) 6196 - 7713 hasta 8111 Siemens Healthcare Diagnostics GmbH Siemensstraße 90 1210 Wien Austria Tel.: +43 (0) 5 1707 38274 Fax: +43 (0) 5 1707 56253 Siemens Healthcare Diagnostics AG Rautistrasse 33 CH-8047 Zurich Suiza Tel.: +41 (0) 585 581 150
e-mail	: dx.msds.healthcare@siemens.com
Teléfono de urgencias (con Horas de funcionamiento)	: +49 (6131) 19240; [24x7x365]

. 2 peligros

El producto no está clasificado de acuerdo con la Directiva 1999/45 / CE y sus modificaciones como peligroso.

clasificación	: No clasificado.
peligros adicionales	: No se conoce ninguno.

Consulte la sección 11 para obtener información más detallada sobre los efectos en la salud y síntomas.

. 3 Composición / información sobre los componentes

Sustancia / preparado : preparación

Hay ningún ingrediente que, en el conocimiento actual del proveedor y la concentraciones aplicables están clasificados como peligrosos para la salud o el medio ambiente y por lo tanto en este Sección debe ser indicado.

. 7 Manipulación y almacenamiento

manipulación : Use equipo protector personal adecuado (vea sección 8). Comer, beber y Fumar se almacena en zonas en las que este material o se procesa para prohibir. El inmediata con las personas de sustancias tener antes de comer, beber o fumar en las manos y la cara De lavado. La ropa contaminada y el equipo de protección antes de entrar en el Retire el comedor.

almacenamiento : Conservar de acuerdo con las regulaciones locales. Sólo en el recipiente original Mantener. Proteger de la luz directa del sol. En un lugar seco, fresco y bien Mantenga las áreas ventiladas. De materiales incompatibles (Véase el apartado 10) y no lo guarde con la comida y la bebida. envase hasta su uso bien cerrado y sellado de retención. Los envases que han sido abiertos deben cerrarse perfectamente con cuidado y mantenerse en posición vertical a la expiración prevenir. No almacenar en contenedores sin etiquetar. Con el fin de evitar Utilice la contaminación ambiental recipiente adecuado.

materiales de embalaje recomendado : Utilizar el contenedor original.

Alemania - Código de almacenamiento

8. Controles de exposición y protección personal

Los límites de exposición

Nombre del ingrediente	**límites de exposición ocupacional**
No hay límite de exposición.	

recomendado procedimientos de vigilancia : Si este producto contiene ingredientes con límites de exposición, una personales, (basado en el trabajo) o biológico El control puede ser necesaria para determinar la efectividad de la ventilación o de otro Las medidas de control y / o la necesidad de la utilización de Identificar los respiradores. Una indicación de estándares de monitoreo llevará a cabo, tales como los siguientes: la norma europea EN 689 (Atmósferas lugar de trabajo - Guía para la evaluación de la exposición por inhalación a los agentes químicos para la comparación con los valores límite y estrategia de medición) La norma europea EN 14042 (atmósferas lugar de trabajo - Guía para Aplicación y el uso de métodos y aparatos para la determinación de productos químicos y agentes biológicos) Norma Europea EN 482 (atmósferas lugar de trabajo - Requisitos generales para la realización de Un método para la medición de agentes químicos) Referencia a nacional Documentos de orientación para los métodos para la determinación de sustancias peligrosas También exigido.

Limitación y vigilancia de la exposición

y límite seguimiento de La exposición ocupacional : Una buena ventilación debe ser limitar la exposición de los trabajadores son suficientes para los contaminantes del aire.

medidas de higiene : Lávese las manos después de manejar productos químicos, y al final de Trabajando día, así como antes de comer, fumar y usar el inodoro enjuagar las manos, los antebrazos y la cara. Los métodos adecuados de eliminación Seleccione la ropa contaminada. Lavar la ropa contaminada antes de volver Lavar uso. Asegúrese de que en las proximidades de la zona de trabajo estaciones de lavado de ojos y duchas de seguridad.

8. Controles de exposición y protección personal

protección respiratoria : Use un ajustado apropiadamente, purificador de aire o con suministro de aire y un dispositivo de límites legales cuando el Los riesgos involucrados. La selección de los respiradores deben

mutagenicidad

Nombre del producto / ingrediente	prueba	experimento	resultado
No disponible.			

teratogenicidad

Nombre del producto / ingrediente	resultado	especies	dosificar	exposición
No disponible.				

toxicidad reproductiva

Nombre del producto / ingrediente	maternal toxicidad	Fertilidad	Tóxico para el desarrollo	especies	dosificar	exposición
No disponible.						

Los efectos crónicos : No se conocen efectos significativos o riesgos críticos.

carcinogenicidad : No se conocen efectos significativos o riesgos críticos.

mutagenicidad : No se conocen efectos significativos o riesgos críticos.

teratogenicidad : No se conocen efectos significativos o riesgos críticos.

Efectos sobre la desarrollo : No se conocen efectos significativos o riesgos críticos.

Efectos sobre la fertilidad : No se conocen efectos significativos o riesgos críticos.

Signos / síntomas de sobreexposición

inhalar : Ningún dato específico.

tragar : Ningún dato específico.

piel : Ningún dato específico.

ojos : No hay datos específicos.

12 ecológico

impacto ambiental : No se conocen efectos significativos o riesgos críticos.

ecotoxicidad acuática

conclusión / resumen : No disponible.

biodegradación

conclusión / resumen : No disponible.

otros adversa efectos : No se conocen efectos significativos o riesgos críticos.

AOX El producto no contiene halógenos de enlace orgánico que, en el valor de AOX Las aguas residuales contribuyen.

Fecha de emisión / fecha de la revisión : 03/11/2014.

0,13 M de imidazol Buffer

. 13 disposición

métodos de eliminación : La generación de desechos Se debe evitar o minimizar siempre que sea posible. cantidades de residuos de producto de desecho no debe la alcantarilla ser eliminados, pero en una planta de tratamiento de efluentes adecuado ser tratado. productos excedentes y no reciclables por medio Disponer una empresa autorizado para su eliminación. La eliminación de este Producto, sus soluciones y cualquier derivado deben en todo momento El cumplimiento de la legislación de protección del medio ambiente y eliminación de residuos y los requisitos de los requisitos de las autoridades locales. residuos de envases deben ser reciclado. Incineración o vertedero sólo deben considerarse deben tomarse cuando el reciclaje no es factible. residuos y Los envases deben ser desechados de una manera segura. Los contenedores vacíos y Forros pueden retener residuos del producto. evitar Proliferación y dispersión del material derramado, su contacto con el suelo, el medio acuático, los desagües y las alcantarillas.

Catálogo Europeo de Residuos (CER) Contener productos químicos que consisten en, o contienen, sustancias peligrosas

desechos peligrosos : Según los conocimientos actuales del suministrador, este producto no es tan

inventario de Europa	Todos los componentes están listados o son exentos.
Nivel de riesgo para el agua	: 2 Anexo no. 4
instrucciones técnicas aire	: TA-Luft Clase II - Número 5.2.5: 0,4%

16 de Otras informaciones

historia

Fecha de emisión / fecha de la revisión	: 03/11/2014.
versión	: 3
creado por	: Administración de productos de Siemens Healthcare Diagnostics EHS

Nota al lector

A nuestro entender la información aquí contenida es exacta. Ninguna de las anteriores
Sin embargo, los fabricantes aún sus subsidiarias asumen responsabilidad alguna por los
Exactitud o integridad de la información contenida en el presente documento. La determinación final de la idoneidad de cualquier material es responsabilidad exclusiva del usuario.
Todos los materiales pueden presentar peligros desconocidos y deben usarse con precaución. hay
Aunque se describe aquí ciertos riesgos, pero no podemos garantizar que esta es la
únicos peligros son.

SIEMENS

Von Willebrand Reagent
VWF REAGENT

OUBDG23C0503 (17

For the determination of ristocetin cofactor activity

See shaded sections - updated information versus edition from November 2008

Intended Use and Application

In-vitro diagnostic reagent for determination of the ristocetin cofactor activity of von Willebrand factor in human plasma using the platelet agglutination method.

Summary and Explanation

Diagnosis of von Willebrand's disease and of diseases with changes in the ristocetin cofactor such as lesions and inflammations of the vascular endothelium. Pre-operative screening of hemorrhagic diatheses: in patients with values below 40 % of the norm bleeding complications are to be expected during dental extractions and surgical interventions.

Principle of the Method

Stabilized platelets are agglutinated in the presence of von Willebrand factor and the antibiotic ristocetin A.

Reagents

Materials provided

VWF REAGENT, REF OUBD23

5 x ⟶ 2 mL REAGENT, von Willebrand Reagent

1 glass plate

1 Table of Analytical Values

Composition

The von Willebrand Reagent contains stabilized platelets, ristocetin and EDTA in lyophilized form.

Preservative: sodium azide (≤ 0.5 g/L).

Warnings and Precautions

1. For *in-vitro* diagnostic use only.
2. Contains sodium azide (< 1 g/L) as a preservative. Sodium azide can react with copper or lead pipes in drain lines to form explosive compounds. Dispose of properly in accordance with local regulations.
3. Each donor or donor unit was tested and found to be negative for human immunodeficiency virus (HIV) 1 and 2, hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) using either tests found to be in conformance with the In Vitro Diagnostic Directive in the EU or FDA approved tests. Because no known test can offer complete assurance of the absence of infectious agents, all human derived products should be handled with appropriate caution.

Preparation of the Reagent

Resuspend the reagent with the amount of distilled or deionized water indicated on the label at +15 to +25 °C by mixing (e.g. with an automatic mixer like the Heidolph mixer „Reax control" set in the range of 75 to 100 %, 2 x 5 seconds). The reagent is then immediately ready for use. Be sure to mix the reagent intensively and to an equal extent for each new reconstitution.

Mix briefly once more before using.

Storage and Stability

Store the Reagent unopened at +2 to +8 °C and use by the expiry date given on the label.

Stability after reconstitution:

at +2 to +8 °C	5 days
at +15 to +25 °C	8 hours

Materials required but not provided

Control Plasma N, REF ORKE

Control Plasma P, REF OUPZ

Isotonic saline

Specimens

To separate the plasma mix 1 part sodium citrate solution 0.11 mol/L with 9 parts venous blood, taking care to avoid the formation of foam. Centrifuge the blood specimen immediately at 1500 x g for no less than 15 minutes at room temperature, remove the supernatant plasma and keep at +15 to +25 °C until required in the assay, or store deep-frozen.

Stability of the specimens:

at +15 to +25 °C	6 hours
at ≤ -20 °C	3 months

Method

Agglutination method

Dilute the plasma specimen with isotonic saline as shown in the following scheme:

Specimen or dilution	–	50 µL	500 µL	500 µL	500 µL	250 µL
Isotonic saline	250 µL	950 µL	500 µL	500 µL	250 µL	250 µL
Dilution step	blank	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 120	1 : 160
Titre	–	20	40	80	120	160

Additional dilution ratios between 1 : 80 and 1 : 120 may become necessary order to make control recovery more accurate (1 : 90, 1 : 100, and 1 : 110). Prepa additional dilutions as shown in the following scheme:

Specimen or dilution		100 µL	100 µL	100 µL
Isotonic saline		350 µL	400 µL	450 µL
Dilution step	1 : 20	1 : 90	1 : 100	1 : 110
Titre	20	90	100	110

Onto each of the 6 fields of the enclosed glass plate pipette in succession

50 µL plasma dilution or blank and

50 µL Reagent (shake vigorously before use)

and mix. Then agitate slowly for 1 minute (shaker device or by manual agitation) an then leave to stand for 1 minute. If the plates are shaken manually ensure that th test preparations are well mixed!

Assess the agglutination against a dark background with reference to the blank.

The use of an additional light source and a magnifying glass may improve the accurac of this method significantly.

Evaluation

The titre of the specimen is given by the dilution in which there is distinct agglutinatio compared to the blank. The ristocetin cofactor content in % of the norm is obtaine by multiplying the titre of the specimen with the limit of detection which is state on the enclosed Table of Analytical Values. If the content needs to be determine within narrower limits (e.g. in the decision range of 50 %) the intervals between th dilutions have to be reduced to a corresponding extent.

Internal Quality Control

Normal range: Control Plasma N

Pathological range: Control Plasma P

For each reagent filling, two controls (one in the normal range and one in th pathological range) should be measured. The controls should be treated like th samples. The results obtained must lie within the range indicated for the controls i the lot-specific Table of Assigned Values. If the measured control value lies outsid the allowable range, the reagent should be checked. Do not release patient result until the cause of deviation has been identified and corrected.

Limitations of the Procedure

Results of this test should always be interpreted in conjunction with the patient' medical history, clinical presentation and other findings.

Reference Interval

70 to 150 % of the norm[1].

Each laboratory should determine its own reference range.

Bibliography

1. Schneppenheim R. von Willebrand factor (vWF). In: Thomas L, ed. Clinica Laboratory Diagnostics. Frankfurt: TH Books Verlagsgesellschaft; 1998: 614-6

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

CE

Réactif von Willebrand

VWF REAGENT

Pour la détermination de l'activité du cofacteur de la ristocétine

Paragraphes surlignés - informations mises à jour par rapport à l'édition de novembre 2008

Domaine d'utilisation

Réactif *in vitro* pour le dosage de l'activité cofacteur de la ristocétine du facteur von Willebrand dans le plasma humain, par agglutination des plaquettes.

Intérêt diagnostique

Le Réactif permet le diagnostic de la maladie de von Willebrand et des maladies avec modification de l'activité cofacteur de la ristocétine, comme les lésions de l'endothélium vasculaire ou les inflammations. Il permet également un dépistage pré-opératoire des tendances au saignement : si la valeur trouvée est inférieure à 40 % de la normale, il faut s'attendre à des complications hémorragiques pour une extraction dentaire ou une intervention chirurgicale.

Principe de la méthode

En présence du facteur von Willebrand et de l'antibiotique ristocétine A, il y a agglutination des plaquettes stabilisées.

Réactifs

Conditionnement

VWF REAGENT, REF OUBD23

5 x ⟶ 2 ml REAGENT, von Willebrand-Réactif

1 plaque en verre

1 Tableau des valeurs analytiques

Composition

Le Réactif von Willebrand contient des plaquettes humaines stabilisées, de la ristocétine et de l'EDTA, sous forme lyophilisée.

Agent de conservation : azide de sodium (≤ 0,5 g/l)

Mises en garde et précautions d'emploi

1. Réservé à un usage de diagnostic *in vitro*.
2. Contient de l'azide de sodium (< 1 g/l) comme conservateur. L' azide de sodium peut réagir avec les tuyaux d'évacuation en cuivre ou en plomb et former des composés explosifs. L'évacuer conformément aux réglementations locales.
3. Chaque donneur ou donneur d'unité a été testé et s'est avéré négatif pour le virus d'immunodéficience humaine (HIV) 1 et 2, virus de l'hépatite B (HBV) et virus de l'hépatite C (HCV) en utilisant soit un test en conformité avec la directive diagnostique in vitro en vigueur en Europe ou les tests approuvés par la FDA. Comme aucun test connu ne peut offrir l'assurance complète de l'absence d'agents infectieux, tous les produits d'origine humaine devraient être manipulés avec les précautions appropriées.

Reconstitution du réactif

Hydrater le réactif avec la quantité d'eau distillée ou déionisée indiquée sur l'étiquette, mélanger fortement à température ambiante entre +15 et +25 °C (en utilisant par exemple un mélangeur Heidolph «Reax control» réglé entre 75 et 100 %, pendant 2 à 5 secondes). Le produit est immédiatement prêt pour l'utilisation. Assurez-vous de reproduire cette agitation forte de la même façon à chaque reconstitution.

Agiter une nouvelle fois juste avant l'utilisation.

Stabilités et conditions de conservation

Conserver le réactif dans son emballage fermé entre + 2 et +8 °C. Ne pas utiliser après la date d'expiration mentionnée sur l'étiquette.

Stabilité après reconstitution :

à +2/+8 °C	5 jours
à +15/+25 °C	8 heures

Autres réactifs et matériel nécessaires

Plasma de contrôle N, REF ORKE

Plasma de contrôle P, REF OUPZ

Solution saline isotonique

Échantillons à tester

Pour obtenir les plasmas de patients, mélanger soigneusement 1 volume de solution de citrate de sodium à 0,11 mol/l avec 9 volumes de sang veineux en évitant la formation de mousse. Centrifuger immédiatement l'échantillon sanguin à 1500 x g pendant au moins 15 minutes à température ambiante et retirer le plasma surnageant. Le conserver entre +15 et +25 °C jusqu'au moment de son utilisation pour l'analyse ou le congeler.

Stabilité des échantillons :

+15 à +25 °C	6 heures
≤ -20 °C	3 mois

Méthode

Méthode d'agglutination

Diluer les échantillons plasmatiques en solution saline isotonique selon le schém suivant:

Échantillon ou Dilution	–	50 µl	500 µl	500 µl	500 µl	250 µl
			500 µl	500 µl	500 µl	250 µl
Solution saline isotonique	250 µl	950 µl	500 µl	500 µl	250 µl	250 µl
Dilution	blanc	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 120	1 : 160
Titre	–	20	40	80	120	160

Des rapports de dilution supplémentaires entre 1 : 80 et 1 : 120 peuvent êtr nécessaires pour une récupération mieux contrôlée (1 : 90, 1 : 100 et 1 : 110) Préparer les dilutions supplémentaires comme illustré dans le schéma suivant :

Échantillon ou Dilution		100 µl	100 µl	100 µl
		100 µl	100 µl	
Solution saline isotonique		350 µl	400 µl	450 µl
Dilution	1 : 20	1 : 90	1 : 100	1 : 110
Titre	20	90	100	110

Sur les 6 champs de la plaque en verre jointe au coffret, distribuer successivement 50 µl de dilution plasmatique ou de blanc, puis

50 µl de Réactif (préalablement bien agité),

et mélanger. Agiter ensuite doucement pendant 1 min (à l'aide d'un agitateur o manuellement), puis laisser reposer pendant 1 min. En cas d'agitation manuelle veiller à une bonne homogénéisation des mélanges !

Lire l'agglutination par rapport au blanc, sur un fond sombre.

L'utilisation d'une source de lumière supplémentaire ou d'une loupe peut grandemer améliorer la précision de cette méthode.

Exploitation des résultats

Le titre correspond à la dilution où l'on observe une agglutination nette par rappo au blanc. Le contenu en cofacteur de la ristocétine en % de la norme est obtenu e multipliant le titre du spécimen par la limite de détection indiquée dans le Tableau de valeurs analytiques joint. Si l'activité doit être déterminée dans un domaine plus étro (par ex. dans un domaine de décision de 50 %), choisir des dilutions plus petites.

Contrôle de qualité interne

Domaine normal :	Plasma de contrôle N
Domaine thérapeutique :	Plasma de contrôle P

Introduire deux contrôles (un dans le domaine normal et un dans le domain thérapeutique) à chaque changement de flacon de Réactif. Les traiter comm des échantillons de patients. Les résultats obtenus pour les contrôles doivent s situer dans l'intervalle de confiance indiqué dans les tableaux de valeurs assignée spécifiques des lots. Si le résultat obtenu pour le contrôle se situe en dehors d l'intervalle de confiance, les réactifs doivent être vérifiés. Ne pas valider les valeur obtenues pour l'échantillon de patient tant que l'origine d'une valeur aberrante n' pas été identifiée et corrigée.

Limites du test

Les résultats de ce test doivent toujours être interprétés en rapport avec le antécédents médicaux du patient, les signes cliniques et autres constatations.

Valeurs attendues

70 - 150 % de la normale[1].

Chaque laboratoire doit déterminer son propre domaine de référence.

Littérature

Voir la notice d'utilisation en anglais.

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

CE

Reactivo von Willebrand

VWF REAGENT

Para la determinación de la actividad del cofactor de la ristocetina

Observe las secciones resaltadas - Información actualizada de la edición anterior de noviembre 2008

Campos de aplicación y objetivos

Reactivo de diagnóstico *in vitro* para determinar la actividad del cofactor ristocetina del factor de von Willebrand, en plasma humano mediante la aglutinación de plaquetas .

Resumen y Explicación

Para diagnóstico del síndrome de von Willebrand y de enfermedades con cambios del cofactor ristocetina. como en lesiones del endotelio vascular e inflamaciones. Screening pre operatorios con tendencias a las hemorragias: para valores inferiores al 40 % de la normalidad se pueden esperar complicaciones en extracciones dentales y en intervenciones quirúrgicas.

Principio del método

Las plaquetas estabilizadas se aglutinan en presencia del factor von Willebrand y del antibiótico ristocetina A.

Reactivos

Contenido del envase comercial

VWF REAGENT, REF OUBD23

5 x ⟶ 2 ml REAGENT, Reactivo de von Willebrand

1 placa de vidrio

1 Tabla de Valores analíticos

Composición

El reactivo von-Willebrand contiene plaquetas humanas estabilizadas, ristocetina y EDTA en forma liofilizada.

Agente de conservación: azida sódica (≤ 0,5 g/l).

Advertencias y medidas de seguridad

1. Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.
2. 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. Cuando se eliminen los reactivos, enjuagar con agua abundante para evitar la acumulación de azidas, si la eliminación es a través de los desagües sanitarios de acuerdo con la normativa vigente.
3. Cada donante o unidad de donación, ha sido analizada para detectar la presencia del virus de inmunodeficiencia humana 1 y 2 (VIH), virus de la hepatitis B (VHB) y virus de la hepatitis C (VHC), utilizando las técnicas aprobadas por la directiva de diagnósticos in-vitro de la UE o FDA. Para la elaboración del producto se han utilizado únicamente las donaciones con resultados negativos. Como no hay ninguna prueba que ofrezca la completa seguridad de ausencia de agentes infecciosos, todos los productos obtenidos a partir de material de origen humano, deben ser manipulados con las debidas precauciones.

Preparación del Reactivo

Reconstituir el reactivo con agua destilada o desionizada con la cantidad indicada en la etiqueta y mezclar manteniendo a una tempeartura de +15 a +25 °C (por ejemplo, con el mezclador automático tipo Heidolf con un rango de "Reax control" entre 75 y 100 %. 2 x 5 segundos). El reactivo está listo para su uso de inmediato. Asegurarse que el reactivo se agita activamente y en el mismo grado en cada nueva reconstitución.

Agitar brevemente una vez más antes de su uso.

Estabilidad y almacenaje

El reactivo, en su envase original aún cerrado y conservado entre +2 y +8 °C, es utilizable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Estabilidad después de la reconstitución:

entre +2 y +8 °C	5 días
entre +15 y +25 °C	8 horas

Materiales adicionales necesarios

Plasma de control N, REF ORKE

Plasma P de control. REF OUPZ

Solución salina isotónica

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. Centrifugue de inmediato las muestras de sangre a 1.500 x g durante un mínimo de 15 minutos a temperatura ambiente. Retire el sobrenadante y guárdelo entre +15 y +25 °C hasta que lo necesite en la prueba o congélelo para su almacenamiento.

Estabilidad de las muestras:

entre +15 y +25 °C	6 horas
a ≤ -20 °C	3 meses

Método

Método de aglutinación

Las muestras de plasma se van a diluir con solución salina isotónica de acuerdo al siguiente esquema:

Muestra o dilución	–	50 µl	500 µl	500 µl	500 µl	250 µl
Solución isotónica de cloruro de sodio	250 µl	950 µl	500 µl	500 µl	250 µl	250 µl
Índices de dilución	testigo	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 120	1 : 160
Titulo	–	20	40	80	120	160

Es posible que se requieran intervalos de dilución adicionales 1 : 80 y 1 : 120 para que la reconstitución sea más precisa (1 : 90, 1 : 100 y 1 : 110). Prepare las diluciones adicionales tal y como se indica a continuación.

Muestra o dilución		100 µl	100 µl	100 µl
Solución isotónica de cloruro de sodio		350 µl	400 µl	450 µl
Índices de dilución	1 : 20	1 : 90	1 : 100	1 : 110
Titulo	20	90	100	110

En los 6 campos de la placa de vidrio incluida pipetear seguidamente en cada uno

50 µl de la dilución de plasma o del blanco y

50 µl de Reactivo (antes agitar fuertemente)

y mezclar. Después agitar lentamente (mesa agitadora o usando la mano) durante min. y finalmente dejar 1 min. en reposo. Al agitar manualmente observar que haya una buena mezcla del preparado!

Leer la aglutinación usando un trasfondo oscuro comparando con el blanco.

La utilización de una fuente lumínica adicional y lentes de aumento pueden mejora considerablemente la precisión de este método.

Valoración

El título de la muestra es la etapa de dilución en la cual al comparar con el blanco se ve una aglutinación definida. El % de normalidad del contenido de cofactor de l ristocetina se obtiene multiplicando el valor cuantitativo de la muestra por el límit de detección indicado en la Tabla de valores analíticos adjunta. En caso de que e contenido se tenga que determinar muy cerca del límite (por ej., rango de decisió del 50 %) se deben escoger las etapas de dilución más pequeñas.

Control de calidad interno

Rango normal:	Plasma control N
Rango patológico:	Plasma control P

Con cada frasco del reactivo se deben medir también dos controles (por ej., uno e el rango normal y uno en el rango patológico). Los controles se deben tratar com muestras Los resultados de los controles analizados deben encontrarse dentro de intervalo indicado en el folleto, el cual contiene los valores asignados. específicos d cada lote. Si el valor de control analizado se encuentra fuera del intervalo permitido se debería controlar el estado del reactivo. No validar los resultados del pacient hasta haber identificado y corregido la causa de la desviación.

Limitaciones del Procedimiento

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

Valores esperado

70 y 150 % de normalidad[1].

Cada laboratorio debe determinar su propio rango de referencia.

Bibliografía

Ver instrucciones de utilización en inglés.

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

CE

Symbols Key / Symbolschlüssel / Explication des Symboles / Interpretazione simboli / Clave de los Símbolos / Chave dos Símbolos

	Do not reuse / Nicht zur Wiederverwendung / Ne pas réutiliser / Non riutilizzare / No reutilizar / Não reutilizar
EXP CCYY-MM-DD 	Use By / Verwendbar bis / Utiliser jusque / Utilizzare entro / Fecha de caducidad / Prazo de validade
LOT	Batch Code / Chargenbezeichnung / Code du lot / Codice del lotto / Código de lote / Código do lote
REF	Catalogue Number / Bestellnummer / Référence du catalogue / Numero di catalogo / Número de catálogo / Referência de catálogo
	Caution, consult accompanying documents / Achtung, Begleitdokumente beachten / Attention voir notice d'instructions / Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso / Atención, ver instrucciones de uso / Atenção, consulte a documentação incluída
	Manufacturer / Hersteller / Fabricant / Fabbricante / Fabricante / Fabricante
EC REP	Authorized Representative in the European Community / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft / Mandataire dans la Communauté européenne / Mandatario nella Comunità Europea / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Contains sufficient for <n> tests / Inhalt ausreichend für <n> Tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenido suficiente para <n> ensayos / Conteúdo suficiente para "n" ensaios
IVD	*In Vitro* Diagnostic Medical Device / *In Vitro* Diagnostikum / Dispositif médical de diagnostic *in vitro* / Dispositivo medico-diagnostico *in vitro* / Producto sanitario para diagnóstico *in vitro* / Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
	Temperature Limitation / Temperaturbegrenzung / Limites da température / Limiti di temperatura / Límite de temperatura / Limites de temperatura
	Consult Instructions for Use / Gebrauchsanweisung beachten / Consulter les instructions d'utilisation / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte las instrucciones de uso / Consulte as instruções de utilização
	Non-sterile / Nicht steril / Non stérile / Non sterile / No estéril / Não estéril
CE	CE Mark / CE Zeichen / Marquage CE / Marchio CE / Marca CE
CONTENTS	Contents / Inhalt / Contenu / Contenuto / Contenido / Conteúdo
	Reconstitution Volume / Rekonstitutionsvolumen / Volume de reconstitution / Volume di ricostituzione / Volumen de reconstitución / Volume de reconstituição

SIEMENS

Berichrom* F XIII

See shaded sections - updated information versus edition from November 2005

Intended Use

Photometric determination of Factor XIII activity in plasma samples

Monitoring of substitution therapy with Factor XIII concentrate

Summary and Explanation

The transglutaminase factor XIIIa, produced by the action of thrombin on coagulation factor XIII, produces the covalent cross-link formation in fibrin that stabilizes the fresh fibrin clot. F XIII has been discussed as an essential element in wound healing. The determination of factor XIII allows the assessment of conditions of factor XIII activity deficiency.

Such conditions may be caused by plasma levels that are too low or by functional defects. Decreased plasma levels occur in congenital F XIII deficiency or through the activation of coagulation, as in consumption coagulopathy. Levels of F XIII are typically lower following serious operations. This can lead to reduced resilience of the wound closure with reopening of the wound site.

Principle of the Method

F XIII contained in the sample is converted by the action of thrombin into F XIIIa. Fibrin formed by thrombin also accelerates this reaction. Fibrinogen is not removed prior to testing since this would cause a loss of F XIII. Instead, fibrin produced by the action of thrombin is prevented from forming clots by an aggregation inhibiting peptide and held in solution.

F XIIIa cross-links a specific peptide substrate to glycine ethyl ester, thereby releasing ammonia. The ammonia released is then determined in a parallel enzymatic reaction. The decrease in NADH is measured by monitoring the absorbance at 340 nm[1].

$$\text{fibrinogen} \xrightarrow{\text{thrombin}} \text{fibrin}_{\text{soluble}} \xrightarrow{\text{clot inhibitor}} \text{clot}$$

$$\text{F XIII} \xrightarrow[\text{fibrin}]{\text{thrombin}} \text{F XIIIa}$$

$$\text{glycine ethyl ester + peptide substrate} \xrightarrow{\text{F XIIIa}} \text{conjugate} + NH_3$$

$$NH_3 + \text{NADH} + \alpha\text{-ketoglutarate} \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{NAD} + \text{glutamate}$$

Reagents

Materials provided

Berichrom F XIII. Test Kit,* REF *OWSU with*

3 x → 5 mL ACTIVATOR, Activator Reagent

3 x → 5 mL ACTIVATOR DILUENT, NADH Reagent

3 x → 5 mL DETECTION REAGENT, Detection Reagent

Composition

Activator Reagent: bovine thrombin (10 IU/mL), clot inhibitor (Gly-Pro-Arg-Pro-Ala-amide, 2 g/L), calcium chloride (1.2 g/L), hexadimethrine bromide (10 mg/L), bovine albumin, BICINE buffer (100 mmol/L) pH 8.3

Preservative: sodium azide (maximum 0.5 g/L)

NADH Reagent: NADH (0.5 g/L), bovine albumin

Preservative: sodium azide (maximum 0.5 g/L)

Detection Reagent: GLDH (20 IU/mL), synthetic peptide as F XIII substrate (2.4 g/L), ADP, glycine ethylester (1.4 g/L), α-ketoglutarate (2.7 g/L), bovine albumin, HEPES buffer (10 mmol/L) pH 6.5

Preservative: sodium azide (maximum 1 g/L)

Warnings and Precautions

1. For *in-vitro* diagnostic use only.
2. Contains sodium azide (< 0.1 %) as a preservative. Sodium azide can react with copper or lead pipes in drain lines to form explosive compounds. Dispose of properly in accordance with local regulations.

Preparation of the Reagents

ACTIVATOR DILUENT: Dissolve in 5 mL of distilled or de-ionized water.

ACTIVATOR: Reconstitute with 5 mL ACTIVATOR DILUENT.

DETECTION REAGENT: Dissolve in 5 mL of distilled or de-ionized water.

The further preparation depends on the testing method. For automatic processing with a coagulation analyzer, please refer to the information in the respective Reference Guide/Application Sheet. Manual testing is described in section **Procedure**.

Storage and Stability

The test kit may be used up to the expiry date indicated on the label if stored unopened at +2 to + 8 °C.

Stability after reconstitution:

Temperature	ACTIVATOR	DETECTION REAGENT	Reagent Mixture
+37 °C	8 hours	8 hours	4 hours
+15 to +25 °C	2 days	2 days	8 hours
+2 to +8 °C	1 week	1 week	2 days
-20 °C	6 months	6 months	2 months

Signs of expiry: Absence of vacuum when opening the vial; reagent is difficult to reconstitute; results not reproducible.

Stability of the Reagent Mixture

The stability data for the reagent mixture apply if freshly reconstituted individual reagents are used. If the reagent mixture is made from individual reagents that have already been reconstituted and then stored, it must be used immediately.

Information about on-board stability is specified in the Reference Guides (Application Sheets) for several coagulation analyzers.

Materials required but not provided

Standard Human Plasma, REF ORKL

Control Plasma N, REF ORKE

Control Plasma P, REF OUPZ

Isotonic saline solution

Coagulation analyzer

Equipment

Specimens

To obtain the plasma, carefully mix 1 part sodium citrate solution (0.11 mol/L) with 9 pa venous blood, avoiding the formation of foam. Centrifuge immediately at 1.500 x g for no le than 15 minutes at room temperature[2].

Stability of the samples:

-20 °C	2 months
+2 to +8 °C	24 hours
+15 to +25 °C	8 hours

Procedure

Manual Testing:

For the test, mix the necessary volume of reagent using equal parts of Activator Reagent a Detection Reagent.

Cuvette:	1 cm thickness
Wavelength:	340 nm
Testing temperature:	+37 °C

Prewarm the reagent mixture and the plastic cuvettes or tubes to +37 °C before testing.

Sample	100 µL
Reagent Mixture	1000 µL

Mix, then begin measuring at 340 nm.

To measure, use either a recording instrument connected to the photometer and evaluat using the speed of the change in absorbance (ΔA/min) after reaching the linear phase (afte about 5 minutes) or read the absorbance after exactly 5 and 10 minutes and calculate th change in absorbance per minute.

Results:

The speed of the change in absorbance after reaching the linear phase (after about 5 minutes) proportional to the F XIII activity.

The results can be evaluated either with a factor (F_L) or with a reference curve. To calculate tl factor, Standard Human Plasma is used as a sample in duplicate determination. To calculate tl reference curve, Standard Human Plasma is used in different dilution steps (with isotonic sali solution) in duplicate determination.

Calculation of the factor:

$$F_L = \frac{\text{Target value (\% of the norm)}_{\text{Standard Human Plasma}}}{\Delta A/\text{min}_{\text{Standard Human Plasma}}}$$

Multiply the ΔA/min of the sample by the factor obtained; this indicates F XIII in % of the norm.

$$\text{F XIII}_{\text{sample}} \text{ (\% of the norm)} = F_L \times \Delta A/\text{min}_{\text{sample}}$$

A new laboratory-internal factor F_L or reference curve must be re-calculated each time there is change in the device used or a change in the lot of Berichrom* F XIII.

Internal Quality Control

Normal range:	Control Plasma N
Pathological range:	Control Plasma P

Two levels of quality control material (normal and pathological range) have to be measured at sta of the test run, with each calibration, upon reagent vial changes and at least every 8 hours duri each day of testing. The controls should be treated like the samples. Each laboratory should d termine its own quality control range, either by means of the target values and ranges provided l the manufacturer of the controls or by means of control values determined in the laboratory. If tl measured control value lies outside of the pre-determined confidence range, then the reagents, th laboratory-internal factor F_L or the reference curve and the coagulation analyzer should be checke Do not release patient results until the cause of deviation has been identified and corrected.

Limitations of the Procedure

F XIII content may be underestimated if ammonia or ammonium levels in the samples are hig (> 0.5 mmol/L). If necessary, determine the ammonia concentration and measure for factor X again with the samples diluted in isotonic saline solution, then multiply the results obtained t the dilution factor.

Very low (< 0.8 g/L) and very high (> 6.0 g/L) fibrinogen concentrations may lead to a false lo result for F XIII activity. If the fibrinogen is over 6.0 g/L, the sample must be prediluted 1:2 or 1 with isotonic saline solution.

Unspecific reactivity of sample components can lead to overestimation of F XIII activity[3].

Siemens has validated use of these reagents on various analyzers to optimize product perfo mance and meet product specifications. User defined modifications are not supported by Siemer as they may affect performance of the system and assay results. It is the responsibility of the us to validate modifications to these instructions or use of the reagents on analyzers other than thos included in Siemens Application Sheets or these instructions for use.

Results of this test should always be interpreted in conjunction with the patient's medical histor clinical presentation and other findings.

Reference Interval

70 - 140 % of the norm[4]

Values for healthy individuals vary from laboratory to laboratory depending on the technique use Therefore, each laboratory should establish its own reference intervals based on the procedu and coagulation analyzers used.

Specific Performance Characteristics

Measuring range

The linear measuring range depends on the coagulation analyzer used. Please refer to the r spective Reference Guide (Application Sheet) or manufacturer information.

Precision and Reproducibility

The coefficient of variation within run was 5 % for Control Plasma N and 4 % for Control Plasma P. Th coefficient of variation from day to day was 6 % for Control Plasma N and 4 % for Control Plasma F

Method comparison

For other F XIII determinations (Laurell immunoelectrophoresis, clot stability test), coefficients correlation of 0.8 and 0.82 were obtained[5].

Bibliography

1. Solleder E, Demuth D, Pfeiffer C, et al. Klinische Prüfung eines neues photometrischen Tes 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 Coagu lation Assays; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document H21-A4 (ISBN 1-56238-521-6 CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003

Berichrom* F XIII

Paragraphes surlignés - informations mises à jour par rapport à l'édition de novembre 2005

Domaines d'utilisation

Détermination photométrique de l'activité du Facteur XIII dans les échantillons de plasma
Surveillance des traitements de substitution au concentré de Facteur XIII

Intérêt diagnostique

La transglutaminase F XIIIa, qui se forme sous l'action de la thrombine sur le facteur XIII de la coagulation, provoque la réticulation covalente de la fibrine, entraînant une stabilisation du caillot de fibrine frais. F XIII est considéré comme un élément important de la guérison des blessures.

Le dosage du facteur XIII permet de dépister les déficits en activité de F XIII. Ceux-ci peuvent être dus à des concentrations trop faibles dans le plasma ou à des déficits fonctionnels. Des concentrations plasmatiques diminuées sont observées en cas de déficit en F XIII congénital, d'activation de la coagulation, ou encore de coagulation de consommation. Le F XIII est typiquement diminué après un opération grave ; ceci peut entraîner une moindre capacité à fermer les plaies, et une réouverture de celles-ci.

Principe de la méthode

Le F XIII contenu dans l'échantillon à tester est activé en F XIIIa sous l'action de la thrombine. La fibrine, également formée par la thrombine, accélère cette réaction. Le fibrinogène n'est pas éliminé avant la mesure car cela entraînerait une perte de F XIII. Par contre, la fibrine formée sous l'action de la thrombine est empêchée de participer à la formation d'un caillot par un peptide inhibant l'agrégation, et est maintenue dans la solution.

Le F XIIIa se lie à un substrat peptidique spécifique avec un glycine éthyl ester, en libérant de l'ammoniac. Celui-ci est alors déterminé dans une réaction enzymatique parallèle, qui mesure la baisse de NADH à une densité optique de 340 nm[1].

$$\text{Fibrinogène} \xrightarrow{\text{Thrombine}} \text{Fibrine}_{\text{soluble}} \xrightarrow{\text{Inhibiteur de caillot}} \text{Caillot}$$

$$\text{F XIII} \xrightarrow[\text{Fibrine}]{\text{Thrombine}} \text{F XIIIa}$$

$$\text{Glycine éthyl ester + Substrat peptidique} \xrightarrow{\text{F XIIIa}} \text{Conjugué} + NH_3$$

$$NH_3 + \text{NADH} + \alpha\text{-kétoglutarate} \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{NAD} + \text{Glutamate}$$

Réactifs

Contenu des conditionnements

Coffret Berichrom F XIII*, REF *OWSU, contenant*

3 x ⟶ 5 ml ACTIVATOR, Réactif Activateur
3 x ⟶ 5 ml ACTIVATOR DILUENT, Réactif NADH
3 x ⟶ 5 ml DETECTION REAGENT, Réactif Révélateur

Composition

Réactif Activateur: thrombine bovine (10 UI/ml), inhibiteur de caillot (Gly-Pro-Arg-Pro-Ala-amide, 2 g/l), chlorure de calcium (1,2 g/l), bromure d'hexadiméthrine (10 mg/l), albumine bovine, tampon BICINE (100 mmol/l), pH 8,3

Conservateur: azide de sodium (max. 0,5 g/l)

Réactif NADH: NADH (0,5 g/l), albumine bovine

Conservateur: azide de sodium (max. 0,5 g/l)

Réactif Révélateur: GLDH (20 UI/ml), peptide synthétique comme substrat de F XIII (2,4 g/l), ADP, glycine éthyl ester (1,4 g/l), α-kétoglutarate (2,7 g/l), albumine bovine, tampon Hépès (10 mmol/l) pH 6,5

Conservateur: azide de sodium (max. 0,5 g/l)

Mises en garde et précautions d'emploi

1. Réactifs réservés à un usage de diagnostic *in-vitro*.
2. Contient de l'azite de sodium (< 0,1 %) comme conservateur. L'azite de sodium peut réagir avec les tuyaux d'évacuation en cuivre ou en plomb et former des composés explosifs. L'évacuer conformément aux réglementations locales.

Préparation des réactifs

ACTIVATOR DILUENT : Dissoudre dans 5 ml d'eau distillée ou d'eau déminéralisée.
ACTIVATOR : Reconstituer avec 5 ml d'ACTIVATOR DILUENT.
DETECTION REAGENT : Dissoudre dans 5 ml d'eau distillée ou d'eau déminéralisée.
La suite de la préparation dépend de la méthode de dosage. Pour une réalisation automatique du test sur un automate de coagulation, consulter les informations contenues dans le guide de référence ou la fiche d'application correspondant(e). La réalisation manuelle du test est décrite dans la rubrique Réalisation du test.

Stabilités et conditions de conservation

Dans leur conditionnement d'origine non ouvert, les réactifs du coffret se conservent à +2/+8 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

Stabilités après reconstitution:

Température	ACTIVATOR	DETECTION REAGENT	Mélange Réactif
+37 °C	8 heures	8 heures	4 heures
+15/+25 °C	2 jours	2 jours	8 heures
+2/+8 °C	1 semaine	1 semaine	2 jours
-20 °C	6 mois	6 mois	2 mois

Signes de détérioration: absence de vide en ouvrant le flacon; le réactif se dissout difficilement; les valeurs obtenues ne sont pas reproductibles.

Stabilité du mélange réactif

Les stabilités indiquées pour le Mélange Réactif sont valables à condition que chacun des réactifs ait été reconstitué juste avant le mélange. Si le Mélange Réactif a été préparé à partir de réactifs préalablement reconstitués puis conservés, il faut alors l'utiliser immédiatement.

Les données de stabilité sur les appareils de coagulation sont indiquées dans les manuels de référence (protocoles d'adaptation) des différents appareils.

Autres réactifs et matériel nécessaires

Plasma standard humain, REF ORKL
Plasma de contrôle N, REF ORKE
Plasma de contrôle P, REF OUPZ
Sérum physiologique
Appareil de coagulation

Appareils de coagulation

Berichrom* F XIII peut être utilisé manuellement ou sur des appareils automatiques de coagulation. Siemens Healthcare Diagnostics propose des manuels de référence (protocoles d'adaptation) pour les différents appareils de coagulation. Ceux-ci contiennent des informations spécifiques à l'appareil et au test quant à la réalisation et aux performances du test, qui peuvent être différentes

Échantillons á tester

Pour obtenir les plasmas, prélever 1 volume de solution de citrate de sodium (0,11 mol/l) av 9 volumes de sang veineux, et mélanger avec précaution en évitant la formation de mouss Centrifuger aussitôt pendant 15 min à 1500 x g à la température ambiante[2].

Stabilité de l'échantillon:

-20 °C	2 mois
+2/+8 °C	24 heures
+15/+25 °C	8 heures

Réalisation du test

Réalisation manuelle:

Pour le test, mélanger le volume de réactif nécessaire avec des parts égales de Réactif Activate et de Réactif Révélateur.

Semi-micro-test:

Cuve:	1 cm de trajet optique
Longueur d'onde :	340 nm
Température du test :	+37 °C

Préchauffer le Mélange Réactif ainsi que les cuves ou tubes plastique à +37 °C.

Echantillon	100 µl
Mélange Réactif	1000 µl

Mélanger, puis démarrer la mesure à 340 nm.

Pour la mesure, utiliser soit une imprimante reliée au photomètre et mesurer la vitesse d modification de la densité optique (ΔD.O./min) après atteinte de la phase linéaire (après env 5 min) pour l'exploitation des résultats, soit lire la densité optique après exactement 5 e 10 min puis calculer la différence de densité optique par minute.

Exploitation des résultats:

La vitesse de modification de la densité optique après atteinte de la phase linéaire (après env. 5 mi est proportionnelle à l'activité de F XIII.

L'exploitation peut se faire soit par un facteur (F_L) soit par une courbe d'étalonnage. Pour déte miner le facteur, tester le Plasma standard humain en double comme un échantillon de patie Pour établir la courbe d'étalonnage, tester le Plasma standard humain en double, à différent dilutions (en sérum physiologique).

Calcul du facteur:

$$F_L = \frac{\text{Valeur théorique (\% de la normale)}_{\text{Plasma standard humain}}}{\Delta\text{D.O./min}_{\text{Plasma standard humain}}}$$

Multiplier les ΔD.O./min obtenues pour les échantillons de patients par le facteur calculé : obtient ainsi le F XIII en % de la normale.

$$\text{F XIII}_{\text{échantillon}} \text{ (\% de la normale)} = F_L \times \Delta\text{D.O./min}_{\text{échantillon}}$$

Etablir un nouveau facteur interne au laboratoire F_L ou une nouvelle courbe d'étalonnage à ch que changement d'appareil et à chaque nouveau lot de Berichrom* F XIII.

Contrôle de qualité interne

Domaine normal: Plasma de contrôle N
Domaine thérapeutique: Plasma de contrôle P

Introduire deux contrôles (un dans le domaine normal et un dans le domaine thérapeutique) chaque changement de flacon de réactif, au début de chaque test, à chaque étalonnage et moins toutes les 8 heures sur une journée de travail. Traiter les contrôles comme des échantillo de patients. Chaque laboratoire doit déterminer son propre domaine de confiance soit à par des valeurs théoriques et des domaines de confiance indiqués par le fabricant des contrôl utilisés, soit à partir de domaines de confiance déterminés dans son laboratoire. Si les valeu obtenues pour les contrôles sortent des domaines de confiance préalablement établis, procéd à la vérification des réactifs, du facteur interne F_L ou de la courbe d'étalonnage, et de l'appar de coagulation utilisé. Ne pas valider les valeurs obtenues pour l'échantillon de patient tant qu l'origine d'une valeur aberrante n'a pas été identifiée et corrigée.

Limites du test

En cas de forte concentration en ammoniac ou ammonium de l'échantillon (> 0,5 mmol/l), il pe y avoir sous-estimation de la concentration en Factor XIII. Eventuellement, déterminer la conce tration d'ammoniac, diluer l'échantillon (en sérum physiologique) et refaire un dosage du F XII multiplier alors le résultat obtenu par le facteur de dilution.

En cas de concentration de fibrinogène fortement diminuée (< 0,8 g/l) ou fortement augmente (> 0,6 g/l), on peut obtenir des activités de F XIII diminuées à tort. Si la concentration de fibrin gène est > 6,0 g/l, prédiluer l'échantillon au 1/2 ou au 1/3 en sérum physiologique.

Une réactivité non spécifique des composés de l'échantillon peut entraîner une surestimation d l'activité du F XIII[3].

Siemens a validé l'utilisation de ces réactifs sur plusieurs analyseurs afin d'optimiser les perfo mances du produit et répondre à ses spécifications. Les modifications apportées par l'utilisate ne sont pas sous la responsabilité de Siemens dans la mesure où elles peuvent affecter l performances du système et les résultats des dosages. Il est de la responsabilité de l'utilisate de valider toutes modifications apportées à ces instructions ou à l'utilisation des réactifs sur l analyseurs autres que ceux mentionnés dans les protocoles d'application Siemens ou dans présente notice d'utilisation.

Les résultats de ce test doivent toujours être interprétés en rapport avec les antécédents méd caux du patient, les signes cliniques et autres constatations.

Domaine de référence

70 - 140 % de la normale[4]

Les valeurs des sujets sains varient d'un laboratoire à l'autre selon la méthode utilisée. Aus chaque laboratoire doit-il déterminer son propre domaine de référence en fonction de la techniqu et de l'appareil de coagulation utilisés.

Caractéristiques du test

Domaine de mesure

Le domaine de mesure linéaire dépend de l'appareil de coagulation utilisé. Respecter les protoc les d'adaptation et les informations fournies par le fabricant pour chaque appareil.

Précision et reproductibilité

Le coefficient de variation de répétabilité a été trouvé à 5 % pour le Plasma de contrôle N et à 4 pour le Plasma de contrôle P. Le coefficient de variation de reproductibilité a été trouvé à 6 % pou le Plasma de contrôle N et à 4 % pour le Plasma de contrôle P.

Comparaison avec une autre méthode

Une comparaison avec d'autres méthodes de dosage du F XIII (immunoélectrophorèse de Lau rell, test de stabilité du caillot) a donné des coefficients de corrélation compris entre 0.8 et 0,82

Littérature

Cf. page 1.

* *Berichrom est une marque commerciale de Siemens Healthcare Diagnostics.*

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

CE

Berichrom* F XIII

Observe las secciones resaltadas - Es información actualizada de la edición anterior desde el Noviembre 2005

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].

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

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

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

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

Reactivos

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 (1,4 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

1. Sólo para ser utilizado en diagnósticos *in-vitro*.
2. Contiene azida de sodio (< 0,1 %) como conservante. La azida de sodio puede reaccionar con tuberías de cobre o de plomo en los conductos de drenaje y formar compuestos explosivos. Elimine este producto de forma apropiada conforme a la normativa local.

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 análisis manual se describe en el apartado **Procedimiento**.

Estabilidad y almacenaje

El Testkit conservado, sin abrir. entre +2 y +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 y +25 °C	2 días	2 días	8 horas
entre +2 y +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 fácilmente; 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

Aparatos

Berichrom * F VIII se puede usar en aparatos de medida de la coagulación manuales o automáticos. Siemens Healthcare Diagnostics pone a disposición manuales de referencia (reglamentos

Material a investigar

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

Estabilidad de la muestra:

-20 °C	2 meses
entre +2 y +8 °C	24 horas
entre +15 y +25 °C	8 horas

Procedimiento

Desarrollo manual:

Para la prueba, mezcle a partes iguales Reactivo activador y Reactivo de detección, para obter 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	1000 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 c la velocidad de cambio de la extinción (ΔE/min.) después de alcanzar la fase lineal (después c 5 minutos aprox.) o leer la extinción exactamente a los 5 y a los 10 minutos y calcular luego variación de la extinción por minuto.

Valoración

La velocidad del cambio de la extinción después de alcanzar la fase lineal (aprox. después de 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. Pa obtener el factor debe hacerse una doble determinación usando plasma humano estándar con muestra. Para la elaboración de la curva de referencia se usa plasma humano estándar. en dif rentes etapas de dilución (en solución salina isotónica), en una doble determinación.

Cálculo del factor:

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

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

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

Para cada cambio de aparatos y para cada nuevo lote de Berichrom* F XIII, se deben determin 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 calibr ción y por lo menos cada 8 horas, cada día de trabajo, se deben medir dos controles (uno en rango normal y uno en el rango patológico). Los controles deben tratarse como las muestras investigar. Cada laboratorio debe establecer su propio rango de control de calidad ya sea en bas a los valores teóricos y rangos dados por el fabricante para los controles o en base al rango confianza determinado por el propio laboratorio. Si el valor control medido se encuentra por fue del rango de confianza antes establecido, se deben comprobar los reactivos, el factor interno d laboratorio F_L o la curva de referencia y los aparatos de medida de la coagulación. No valide l 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 pueden obtenerse valores de F XIII inferiores al real. Dado el caso, determinar la concentración amoníaco, diluir las muestras (con solución salina isotónica) y calcular de nuevo el factor XIII. Mul plicar 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 mec actividades bajas falsas del F XIII. Si la concentración de fibrinógeno está por encima de 6,0 g 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 actividad del F XIII[3].

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

Los resultados de esta prueba deberán interpretarse siempre de acuerdo con la historia clínic del paciente, la sintomatología 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 métoc utilizado. Por esta razón cada laboratorio deberá determinar sus propios rangos de referenc basados en los procedimientos y en los aparatos de medida de la coagulación utilizados.

Características del test

Rango de medida

El rango de medida lineal depende del aparato de medida de la coagulación usado. Por fav 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 Plasm control P del 4 %. El coeficiente de variación día a día para el Plasma control N fue del 6 % para el Plasma control P del 4 %.

Comparación de métodos

Al comparar con otros métodos conocidos para la determinación de F XIII (Inmunoelectrofores según Laurell. Test de estabilidad del agregado) se hallaron coeficientes de correlación enti 0.8 y 0,82[5].

Bibliografía

Ver página 1

* Berichrom es una marca comercial de Siemens Healthcare Diagnostics.

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

CE

Symbols Key / Symbolschlüssel / Explication des Symboles / Interpretazione simboli / Clave de los Símbolos / Chave dos Símbolos


Do not reuse / Nicht zur Wiederverwendung / Ne pas réutiliser / Non riutilizzare / No reutilizar / Não reutilizar

Use By / Verwendbar bis / Utiliser jusque / Utilizzare entro / Fecha de caducidad / Prazo de validade



Batch Code / Chargenbezeichnung / Code du lot / Codice del lotto / Código de lote / Código do lote



Catalogue Number / Bestellnummer / Référence du catalogue / Numero di catalogo / Número de catálogo / Referência de catálogo


Caution, consult accompanying documents / Achtung, Begleitdokumente beachten / Attention voir notice d'instructions / Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso / Atención, ver instrucciones de uso / Atenção, consulte a documentação incluída


Manufacturer / Hersteller / Fabricant / Fabbricante / Fabricante / Fabricante



Authorized Representative in the European Community / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft / Mandataire dans la Communauté européenne / Mandatario nella Comunità Europea / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Representante autorizado na Comunidade Europeia


Contains sufficient for <n> tests / Inhalt ausreichend für <n> Tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenido suficiente para <n> ensayos / Conteúdo suficiente para "n" ensaios



in Vitro Diagnostic Medical Device / *In Vitro* Diagnostikum / Dispositif médical de diagnostic *in vitro* / Dispositivo medico-diagnostico *in vitro* / Producto sanitario para diagnóstico *in vitro* / Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

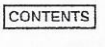

Temperature Limitation / Temperaturbegrenzung / Limites da température / Limiti di temperatura / Límite de temperatura / Limites de temperatura


Consult Instructions for Use / Gebrauchsanweisung beachten / Consulter les instructions d'utilisation / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte las instrucciones de uso / Consulte as instruções de utilização



Non-sterile / Nicht steril / Non stérile / Non sterile / No estéril / Não estéril

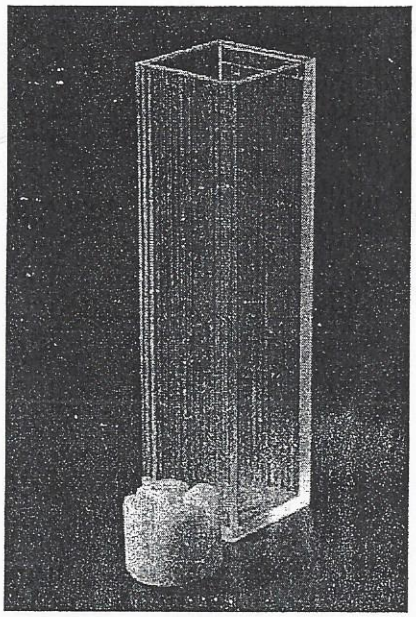

CE Mark / CE Zeichen / Marquage CE / Marchio CE / Marca CE



Contents / Inhalt / Contenu / Contenuto / Contenido / Conteúdo


Reconstitution Volume / Rekonstitutionsvolumen / Volume de reconstitution / Volume di ricostituzione / Volumen de reconstitución / Volume de reconstituição

STIR BAR CUVETTES



Propiedades

Categorias relaciona	Bel-Art, Bel-Art Spectroscopy, Labware, Manufacturer Browser, Spectroscopy Supplies, spectroscopy, UV
Empaque	**pkg of 1 ea**
mfr. no.	**Bel-Art**

Descripción

Descripción General

Dimensionada para ajustarse a cubetas estándar de 10 mm. Proporciona mezcla horizontal y vertical rápida con un mínimo de formación de vórtices y de aireación. revestimiento de PTFE no se rayará la cubeta. 9 mm de diámetro x 8 mm de alto.

STIR BAR

Propiedades

Categorias relacionadas	41mm to 60mm Length Octogonal Stir Bars, Bel-Art, Bel-Art Magnetic Stirring Bars, Bel-Art Spinbar Magnetic Stirring Bars, Labware, Manufacturer Browser, Octogonal stir Bars, Stirrers.
material	**PTFE-coated octagonal**
mfr. no.	**Bel-Art**
size	**1 1/2 in. × 1/2 in.**
color	**Blanco**

Description

Recomendaciones



Z363545
Barra de agitación para cubeta de espectroscopia
Provee un rápido mezclado tanto vertical como horizontal, pkg of 1 ea

SIEMENS

CE

Berichrom® Antitrombina III (A)
Berichrom AT III

Uso Previsto

Para la determinación cuantitativa de la actividad funcional de antitrombina III (AT III) en plasmas utilizando analizadores automáticos así como para el diagnóstico de la reducción de la síntesis de AT III, o un aumento de su consumo y para el control de una tratamiento de sustitución.

Resumen y Explicación

La antitrombina III es un inhibidor plasmático de la trombina y del factor X activado formando de manera irreversible, con estas enzimas, un complejo inactivo. La inactivación de los factores de la coagulación se acelera rápidamente por medio de heparina. El Berichrom® Antitrombina III (A) sirve para la determinación rápida de la antitrombina III fisiológicamente activa y permite el diagnóstico de deficiencias heredadas o adquiridas de antitrombina III, las cuales representan un riesgo elevado de trombosis. Deficiencias adquiridas aparecen frecuentemente como consecuencia por ej., del consumo después de grandes operaciones o como consecuencia de una coagulación intravascular diseminada (CID) en sepsis, nefrosis, daños del parénquima del hígado (hepatitis, intoxicación por drogas, alcoholismo) y por anticonceptivos conteniendo estrógeno[1]. El test permite el reconocimiento precoz de pacientes con un riesgo elevado de trombosis.

Principio del Método

La antitrombina III de la muestra va a ser convertida, por medio de heparina, en un inhibidor instantáneo que inactiva la trombina añadida en exceso. La trombina residual se determina mediante un test cinético, en el cual se mide el aumento de la extinción a 405 nm según el siguiente esquema de reacción.

$$\text{AT III}_{\text{muestra}} + \text{Trombina}_{\text{exceso}} \xrightarrow{\text{Heparina}} [\text{AT III-Trombina}] + \text{Trombina}_{\text{resto}}$$

$$\text{Tos-Gly-Pro-Arg-ANBA-IPA} \xrightarrow{\text{Trombinaresto}} \text{Tos-Gly-Pro-Arg-OH} + \text{ANBA-IPA}$$

El cambio de absorbancia es inversamente proporcional a la actividad de antitrombina III presente en la muestra.

Reactivos

Nota: El Ensayo Berichrom® Antitrombina III (A) se puede utilizarse con métodos manuales o en analizadores de coagulación automáticos. Siemens Healthcare Diagnostics 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.

Materiales necesarios pero no suministrados

Plasma humano estándar, REF ORKL
Plasma Control N, REF ORKE
Plasma Control P, REF OUPZ
Solución tampón imidazol, REF OQAA *o*
Dade® Tampón veronal Owren, REF B4234 *o*
Dade® Sistema tampón CA, REF B4265 *o*
Solución salina isotónica
Agua destilada o desionizada

Muestras

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. Se debe utilizar un sistema de toma cerrado o una jeringa. Por favor para detalles adicionales, refierase al documento CLSI H21-A5[2]. Centrifugar a continuación aprox. a 1.500 x g durante 15 min.

Estabilidad de las muestras:

-20 °C	1 mes
entre +2 y +8 °C	2 días
entre +15 y +25 °C	6 horas

Las muestras almacenadas a -20 °C se deben descongelar en un plazo de 10 min. a +37 °C y se deben medir dentro de las 2 horas siguientes. No congelar varias veces. Usar el plasma sin diluir.

Procedimiento

Esquema de pipeteo (ejemplo)

Plasma citratado	10 µl
REAGENT THR	600 µl
Mezclar e incubar 3 min. a +37 °C	
SUBSTRATE	100 µl
Determinar $\Delta E_{405\,nm}$/min	

Valoración

La valoración se hace automáticamente en los analizadores de coagulación.

Elaboración de la curva de calibración

Se realiza una curva de calibración con diferentes diluciones automáticas de Plasma humano estándar. La curva de calibración deberá realizarse de nuevo si se realiza algún cambio en el instrumento o en el lote de Berichrom® Antitrombina III (A) utilizado, o si se produce algún cambio en las condiciones experimentales.

Control de Calidad Interno

Rango normal:	Plasma control N
Rango patológico:	Plasma control P

Se deben medir dos niveles de control de calidad (intervalo normal e intervalo patológico) al iniciar un ciclo de pruebas, con cada calibración, al cambiar el frasco de reactivo y al menos cada ocho horas de cada jornada de análisis. Cada laboratorio debe establecer su propio rango de control de calidad, ya sea en base los valores teóricos y rangos dados por el fabricante del

coeficiente de correlación fue de 0,99 (Intercepción del eje y: -3,7 % de la normalidad; pendiente: 0,98).

Bibliografía

1. Hathaway WE. Clinical aspects of antithrombin III deficiency. Semin Hematol. 1991; 28: 19-23.
2. CLSI. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline – Fifth Edition. CLSI document H21-A5 (ISBN 1-56238-657-3). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 1908781898 USA, 2008.
3. Wendel HP, Heller W, Gallimore MJ. Aprotinin in therapeutic doses inhibits chromogenic peptide substrate assays for protein C. Thromb Res. 1994; 74: 543-8.
4. Friberger P, Egberg N, Holmer E, et al. Antithrombin assay - the use of human or bovine thrombin and the observation of a „second" heparin cofactor. Thromb Res. 1982; 25: 433-6.

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		

Berichrom®, Dade® y BCS® son marcas comerciales de Siemens Healthcare Diagnostics.
SYSMEX es una marca comercial de SYSMEX CORPORATION.

© 2010 Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH.

Reservados todos los derechos.

2013-07

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

SIEMENS

CE

Berichrom® Heparina
Berichrom HEPARIN

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

Uso Previsto

Berichrom® Heparina es un test cromogénico para determinar la actividad heparínica en plasma y para controlar una terapéutica con heparina.

Resumen y Explicación

La heparina acelera en forma considerable la inactivación del factor Xa de la coagulación y de la trombina, mediante la antitrombina III (AT III). Por esta razón, los preparado heparínicos no fraccionados y de bajo peso molecular son de gran utilidad terapéutica como anticoagulantes. Debido a la influencia de diferentes factores varía el efecto de heparina de paciente a paciente, para una misma dosis. Utilizando Berichrom® Heparina se pueden seguir de cerca terapéuticas tanto con heparina de bajo peso molecular (LMW) como también con preparados de heparina sin fraccionar (UF).

Principio del Método

El factor Xa es inactivado por el reactivo AT III durante la fase de incubación[1]. Esta reacción es catalizada por la heparina. El dextransulfato (DS) libera la heparina ligada a los factores perturbadores y hace posible su determinación. La cantidad del factor Xa excedente después de la fase de incubación se determina en un test cinético, en el cual se mide el aumento de la extinción a 405 nm utilizando un substrato cromógeno.

$$\text{Heparina}_{\text{ligada}} + \text{DS} \longrightarrow \text{DS}_{\text{ligado}} + \text{heparina}_{\text{libre}}$$

$$\text{F Xa} + \text{AT III}_{\text{excedente}} \xrightarrow{\text{heparina}_{\text{muestra}}} [\text{F Xa-AT III}] + \text{F Xa}_{\text{residual}}$$

$$\text{Substrato cromógeno} \xrightarrow{\text{F Xa}_{\text{resto}}} \text{tripéptido} + \text{colorante}$$

Reactivos

Contenido del envase comercial

Berichrom HEPARIN, REF OWLD con

3 x → 10 mL REAGENT FX, Reactivo factor Xa

3 x → 10 mL REAGENT FX DILUENT, Reactivo dextransulfato

3 x → 1 mL REAGENT AT, Reactivo AT III

3 x → 2 mL SUBSTRATE, Reactivo substrato

Composición

Reactivo factor Xa: liofilizado; fracción de plasma (humano) con adición de Tris, cloruro de sodio y EDTA.

Agente de conservación: azida de sodio (< 1 g/L)

Reactivo dextransulfato, liofilizado; concentración en la solución lista para el uso: 0,02 g/L.

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!

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. Centrifugue la muestra de sangre inmediatamente a 1500 x g durante al menos 15 minutos a temperatura ambiente.

Estabilidad de la muestra:

≤ –20 °C	1 mes
entre 15 a 25 °C	8 horas

Las muestras almacenadas a ≤ –20 °C se deben descongelar en un plazo de 10 minutos a 37 °C y se deben medir dentro de las 8 horas siguientes.

Procedimiento

Materiales adicionales necesarios

Calibrador Berichrom® Heparina LMW REF OPCA
Berichrom® Heparina LMW Control 1 REF OPCD
Berichrom® Heparina LMW Control 2 REF OPCB
Calibrador Berichrom® Heparina UF REF OPCC
Berichrom® Heparina UF Control 1 REF OPBY
Berichrom® Heparina UF Control 2 REF OPBZ
Plasma humano estándar, REF ORKL
Plasma de control N, REF ORKE
Dade® Ci-Trol® Control de heparina, bajo, REF B4224-50
Dade® Ci-Trol® Control de heparina, alto, REF B4224-60
Ácido acético al 20 % (sólo para el método de dos puntos)
Solución salina fisiológica (0,9 %)

Método manual:

Cubeta:	trayectoria óptica de 1 cm
Longitud de onda:	405 nm
Temperatura:	37 °C

El Reactivo F Xa, el Reactivo substrato, así como las cubetas o tubos plásticos se deben precalentar a 37 °C y el reactivo AT III a la temperatura ambiente (entre 15 a 25 °C).

Método cinético

Muestra	50 µL
Reactivo AT III	50 µL
Reactivo factor Xa	500 µL
Mezclar e incubar exactamente durante 1 minuto a 37 °C	
Reactivo substrato	100 µL
Mezclar y determinar el $\Delta E_{405\ nm}$/min	

Control de Calidad Interno

Deben medirse dos controles con distintas concentraciones de heparina del mismo tipo (no fraccionada o de bajo peso molecular) en cada calibración, en cada cambio de frasco de reactivo y al menos cada 8 horas durante todas las jornadas de análisis. Los controles deben procesarse como si fueran muestras. Cada laboratorio debe determinar su propio intervalo de aceptabilidad a partir de los valores de los controles obtenidos en el laboratorio. Examine los reactivos, la curva de calibración y el analizador de coagulación si el control medido se encuentra fuera de los intervalos asignados.

Para realizar el control de calidad, puede utilizar:

- Plasma normal libre de heparina (p. ej. plasma control N).
  Esto permite realizar una comprobación de la estabilidad del reactivo y del punto cero de la curva de referencia.
- Plasma normal (p.ej. plasma control N) ajustado con la heparina a analizar a una concentración adecuada (p. ej. 0,5 UI/mL) o controles 1 y 2 Berichrom® Heparin LMW, o controles 1 y 2 Berichrom® Heparin UF, acorde con el calibrador utilizado para el ensayo (Berichrom® Heparin LMW Calibrador o Berichrom® Heparin UF calibrador respectivamente) o un control Dade® Ci-Trol® Heparina bajo y alto.
  Esto permite realizar una comprobación de la sensibilidad y la reproducibilidad.

Limitaciones del procedimiento

Siemens Healthcare Diagnostics 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.

Las muestras deben tener el mismo tipo de heparina (no fraccionada o de bajo peso molecular) que el calibrador utilizado para la curva de calibración.

Berichrom® Heparina no es apropiado para la determinación de heparina en plasmas de pacientes bajo medicación neutralizante de heparina (es decir, sulfato de protamina), ya que los componentes del reactivo van a ser compensados por el efecto neutralizante *in vitro* y de esta manera, se puede llegar a obtener resultados elevados falsos[2].

Los tiempos de incubación deben ser cuidadosamente observados, para así poder obtener resultados reproducibles.

Características del ensayo

Sensibilidad

El límite de detección para una heparina no fraccionada es de 0,05 UI/mL.

Especificidad

El factor plaquetario 4 (PF4) no interfiere la determinación de heparina utilizando el Berichrom® Heparina[3].

Precisión y reproducibilidad

Para concentraciones de heparina de 0,5 UI/mL el coeficiente de variación de la serie se encuentra entre 4,0 a 7,0 % y el de día a día entre 6,9 a 7,1 %.

Comparación de métodos

Al comparar Berichrom® Heparina con otro método cromogénico, en dos sitios diferentes, se encontraron coeficientes de variación de 0,92 y 0,97.

SIEMENS

CE

Plasma deficiente en factor VIII de la coagulación

FACTOR VIII DEFICIENT

Plasma deficiente en factor IX de la coagulación

FACTOR IX DEFICIENT

Plasma deficiente en factor XI de la coagulación

FACTOR XI DEFICIENT

Plasma deficiente en factor XII de la coagulación

FACTOR XII DEFICIENT

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

Campos de aplicación

Reactivos de diagnóstico *in vitro* para la determinación de la actividad de los factores de coagulación VIII, IX, XI y XII en plasma humano por medio de métodos coagulativos.

Significado diagnóstico

La determinación de los factores de coagulación VIII, IX, XI y XII en plasma está indicada en los siguientes casos:

- para clarificar la causa de un tiempo de tromboplastina parcial activada prolongado,
- para el diagnóstico de estados de déficit de factor congénito[1] o adquirido,
- para la diferenciación entre disproteinemias y trastornos en la síntesis de proteínas (junto con métodos inmunoquímicos).

Además, la determinación de la actividad de los factores de coagulación VIII y IX se utiliza para el seguimiento de la terapia de sustitución con concentrados de los factores VIII o IX en hemofilia A o B[2]. La determinación del factor IX también es importante en el diagnóstico de coagulopatías de consumo, cirrosis hepática y para conseguir un seguimiento más exacto del tratamiento anticoagulante oral[3]. La activación de la fase de contacto de coagulación puede detectarse midiendo la actividad de los factores XI y XII[4].

Principio del método

Un plasma con una deficiencia en alguno de los factores que forman parte del sistema intrínseco dará lugar a un tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT) prolongado. El plasma deficiente en factor de coagulación puede utilizarse para confirmar un déficit de factor, en general, y para identificar y cuantificar un déficit de factor de coagulación en el plasma del paciente. Se analiza una mezcla del plasma deficiente en el factor correspondiente y del plasma del paciente con el ensayo APTT, y el resultado se interpreta utilizando una curva de referencia obtenida a partir de diluciones de Plasma humano estándar o de un pool de plasmas

Conservación y estabilidad

El plasma deficiente, sin abrir, conservado a una temperatura entre 2 a 8 °C, es utilizable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Estabilidad después de la reconstitución:

entre 15 a 25 °C	8 horas
a –20 °C	4 semanas

Plasmas deficientes en factor de coagulación puede congelarse y descongelarse tras la reconstitución sin que se produzca una reducción de la actividad de coagulación. El frasco del plasma debe taparse bien y congelarse lo antes posible. La descongelación debe realizarse a 37 °C durante 10 minutos. El plasma descongelado debe utilizarse en un plazo de 2 horas, siempre que se mantenga entre 15 a 25 °C.

Encontrará información específica sobre la estabilidad a bordo de los diferentes analizadores de coagulación en las Hojas de Aplicación.

Materiales necesarios no suministrados

Pathromtin® SL, REF OQGS o
Dade® Actin® Reactivo de cefaloplastina activada, REF B4218-1, -2 ó
Dade® Actin® FS, REF B4218-20, -100 ó
Dade® Actin® FSL, REF B4219
Solución de cloruro de calcio 0,025 mol/L, REF ORHO
Solución tampón de imidazol, REF OQAA o
Dade® Tampón veronal de Owren, REF B4234 o
Dade® Tampón para sistema CA, REF B4265 o
Solución salina fisiológica
Plasma humano estándar, REF ORKL
Plasma control N, REF ORKE
Plasma control P, REF OUPZ
Analizador de coagulación

Material a investigar

Para obtener el plasma, mezcle con cuidado 1 parte de solución de citrato sódico (0,11 mol/L) con 9 partes de sangre venosa, evitando la formación de espuma. Centrifugue la muestra de sangre a 1500 x g al menos 15 minutos a 15 a 25 °C[5].

Estabilidad de las muestras:

entre 15 a 25 °C	3 horas
a –20 °C	4 semanas para la determinación del factor VIII, 2 semanas

El plasma almacenado a –20 °C debe descongelarse en baño María durante 10 minutos a 37 °C. A continuación, deberá mezclarse cuidadosamente y analizarse de inmediato. Si el análisis no puede realizarse inmediatamente, la muestra puede mantenerse un máximo de dos horas a 4 °C hasta ser analizada[5].

Procedimiento

Procedimiento manual

Establecimiento de la curva de referencia:

Utilice Plasma estándar humano o una mezcla de plasmas citratados recién extraidos de un grupo de al menos 10 donantes sanos. Si utiliza la Solución tampón Imidazol, prepare las diluciones tal como se muestra en el siguiente esquema y determine los tiempos de coagulación como se describe en "Flujo de trabajo". Debe realizarse una nueva curva de

de coagulación deberán examinarse. Los resultados de los pacientes no deberán reportarse hasta identificar y corregir la causa de la desviación.

Limitaciones del procedimiento

Las dosis terapéuticas de hirudina u otros inhibidores de trombina pueden dar lugar a una actividad de factor erróneamente más baja[6,7].

Los inhibidores específicos contra los factores de coagulación plasmáticos también pueden modificar la actividad de factor real[8]. La activación parcial de los factores de coagulación debida a una manipulación incorrecta de la muestra puede dar lugar a resultados del factor de coagulación erróneamente elevados. En la dosificación individual de un factor, el anticoagulante lupus puede afectar a la actividad aparente del factor. No habrá paralelismo en la dilución cuando esté presente un anticoagulante lupus en la muestra[9].

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.

Valores Esperados[10]

Factor VIII 70 a 150 % de normalidad

Factor IX 70 a 120 % de normalidad

Factor XI 70 a 120 % de normalidad

Factor XII 70 a 150 % de normalidad

Los intervalos de referencia varían de un laboratorio a otro, dependiendo de la población atendida y de la técnica, el método, el equipo y el lote de reactivos utilizados. Por ello, cada laboratorio debe establecer sus propios intervalos de referencia o verificarlos cada vez que una o más de las variables mencionadas cambie.

Características específicas de rendimiento

Intervalo de medición

El intervalo de medición para la determinación de los factores VIII, IX, XI y XII abarca desde el 1 % hasta aproximadamente el 100 % de normalidad, pudiendo ampliarse hasta aproximadamente el 200 % si se utiliza una dilución de muestra mayor (consulte más arriba).

Comparación de métodos

Se ha realizado un estudio comparativo de la determinación de los factores VIII, IX, XI y XII en el sistema BFA® y en otro analizador de coagulación.

Los resultados de correlación fueron los siguientes:

	n	r	Pendiente	Intercepción del eje y (% de normalidad)
Factor VIII	49	0,92	0,74	+22,6
Factor IX	50	0,96	0,88	+7,0
Factor XI	50	0,95	0,95	+5,2
Factor XII	50	0,95	1,0	-0,9

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

Actin®, BFA®, Dade® y Pathromtin® son marcas comerciales de Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2008 Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH.

Reservados todos los derechos.

2014-06

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

SIEMENS

Dade® Actin® Activated Cephaloplastin Reagent

ACTIN

B4218 G1 E0501 (794)

See shaded sections - updated information versus edition from June 2006

Intended Use

Liquid rabbit brain cephalin with plasma activator for use in the determination of the activated partial thromboplastin time (APTT) and other coagulation procedures requiring an activated partial thromboplastin reagent.

Summary and Explanation

The activated partial thromboplastin time, a global screening procedure[1,2] used primarily to evaluate coagulation abnormalities in the intrinsic pathway, will also detect severe functional deficiencies in factors II, V, X, or fibrinogen. The APTT has also been widely advocated[3-5] as a means to monitor the effectiveness of unfractionated heparin therapy where the clotting time is prolonged in proportion to the level of heparin. In patients receiving oral anticoagulants, the circulating levels of factors II, VII, IX, and X are depressed, therefore the APTT can be expected to be prolonged. The presence of non-specific inhibitors, such as the lupus-like anticoagulant[1,7], may prolong the APTT but this effect is variable and generally recognized as being related more to the nature of the APTT reagent employed. In summary, the APTT is a clinically important screening test with wide applicability for the diagnosis of coagulant disorders and therapeutic monitoring of both hemorrhagic and thrombotic disease.

Principle of the Method

Factors of the intrinsic coagulation system are activated by incubating the plasma with the optimal amount of phospholipids and a surface activator. The addition of calcium ions triggers the coagulation process, and the clotting time is then measured.

Reagents

Materials provided

ACTIN, REF B4218-1
10 x 2 mL, ACTIN, Dade® Actin® Reagent
ACTIN, REF B4218-2
10 x 10 mL, ACTIN, Dade® Actin® Reagent

Composition

Dade® Actin® Activated Cephaloplastin Reagent: Cephalin (extract from dehydrated rabbit brain) in 1.0 x 10^{-4} M ellagic acid, buffered, stabilized and preserved. Standard activity values for rabbit brain cephalin are not available.

Warnings and Precautions

For *in-vitro* diagnostic use only.

Reagent Preparation

Dade® Actin® Reagent must be mixed gently by inversion (5 to 8 times) before use.

Storage and Stability

After use, store the closed container at +2 to +8 °C. Stored unopened at +2 to +8 °C, Dade® Actin® Reagent can be used by the labeled expiry date. Once opened, the reagent is stable for 7 days at +2 to +15 °C. Do not freeze. If the reagent is left to stand, a green deposit may form consisting of ellagic acid and lipids. Before use, mix by inverting. Avoid contamination with plasma.

Information about on-board stability is specified in the Reference Guides (Application Sheets) for the different coagulation analyzers.

Signs of expiry: Deviations from the normal laboratory value in the determination of normal plasma or controls.

Materials required but not provided

Calcium Chloride ($CaCl_2$) Solution 0.025 mol/L

Control Plasma N, or Dade® Ci-Trol® Level 1 as control for the normal range

Control Plasma P, or Dade® Ci-Trol® Level 2, or Dade® Ci-Trol® Level 3 as control for the pathological/therapeutical range

Dade® Ci-Trol® Heparin Control, low

Dade® Ci-Trol® Heparin Control, high

For blood collection, use sodium citrate (0.11 or 0.13 mol/L / 3.2 or 3.8 %) or standard commercial blood collection systems

Distilled or deionized water without preservatives

Plastic tubes

Pipettes for precise measurement of 0.1 mL

Coagulation analyzer (see "Equipment")

Equipment

Dade® Actin® Reagent can be used manually or on automated coagulation analyzers. Siemens Healthcare Diagnostics provides Reference Guides (Application Sheets) for several coagulation analyzers. The Reference Guides (Application Sheets) contain analyzer/assay specific handling and performance information which may differ from that provided in these Instructions for Use. In such a case, the information contained in the Reference Guides (Application Sheets) supersedes the information in these Instructions for Use. Please also consult the instruction manual of the instrument manufacturer!

Specimen Collection and Preparation

Mix nine parts of freshly collected patient blood with one part of 0.11 or 0.13 mol/L (3.2 or 3.8 %) sodium citrate. Evacuated tubes containing the desired anticoagulant are commercially available and may be used with caution in blood coagulation studies. For special studies, syringe technique may be preferred.

Centrifuge the blood specimen at 1500 x g for no less than 15 minutes at room temperature as soon as possible after collection. Store in an unopened tube at room temperature.

If immediate testing is to be done, the plasma may remain on the packed cells. Otherwise plasma should be separated from the cells. To separate the plasma, use a plastic transfer pipette, remove plasma to a plastic tube. Do not store on ice. Non-heparinized plasma should be tested within four (4) hours of blood collection.

Plasma containing unfractionated heparin should be centrifuged within one hour of blood collection, stored at room temperature and tested within four (4) hours.

Platelet-poor plasma may be frozen at ≤ -20 °C for up to two (2) weeks in a non-frost-free freezer. Frozen plasma should be rapidly thawed at +37 °C, gently mixed and tested immediately. Samples should not stand at +37 °C for more than five minutes. Please refer to CLSI document H21-A5[8] for detailed information on sample preparation and storage.

Procedure

Manual Testing:

Prewarm Calcium Chloride Solution at +37 °C		
Prewarm 0.1 mL Dade® Actin® Reagent for one minute at +37 °C. (Mix before use)		
Pipet into coagulation tubes as follows:		
	Test Sample	Control Sample
Dade® Actin® Reagent (prewarmed)	0.1 mL	0.1 mL
Plasma	0.1 mL	-
Control Plasma	-	0.1 mL
	Mix well. Incubate at +37 °C for 3 minutes.	
prewarmed Calcium Chloride Solution	0.1 mL	0.1 mL
	Simultaneously with addition of $CaCl_2$ start stopwatch, mix well. After 20 seconds start to observe for clot formation.	

Note: Incubation times exceeding 5 minutes may cause loss of factors V and VIII and are not recommended.

Each laboratory should determine the optimal heating-activation time for its particular assay system.

Monitoring of Unfractionated Heparin Therapy with APTT

When using the APTT for this purpose, the factors influencing the test should be kept in mind. General considerations are listed below.

A) Time of collection is important since the *in-vivo* half-life of unfractionated heparin is approximately 1.5 hours[5]. When it is administered, it has an immediate anticoagulant effect but the degree of this effect decreases rapidly with time. This is especially apparent with intermittent single intravenous injections.

B) The anticoagulant used for sample collection can alter test results.

C) Platelet factor 4, a heparin neutralizing factor in platelet alpha-granules, can be released by platelet aggregation or damage. To prevent this occurrence *in-vitro*, the specimen should be collected with a minimum of trauma. Cold temperatures are known to induce platelet aggregation and release platelet factor 4; therefore, centrifugation at room temperature is recommended for heparin studies.

D) Using APTT to monitor unfractionated heparin therapy is time-dependent. Delay in testing samples will result in prolonged APTT determinations. Therefore, it is imperative that the testing on all samples be performed as soon as possible.

E) Increased contact activation times may result in prolonged APTT in plasma containing heparin. It is imperative that the optimal heating-activation time of the Dade® Actin® Reagent-plasma mixture be rigidly standardized[9].

F) Different test systems (i.e. manual, photo-optical, etc.) will exhibit variable heparin sensitivity. Interchanging of test systems should be avoided.

G) Baseline data on the APTT of each patient before the start of therapy should be established where feasible to determine the respective patient APTT as it relates to the normal range established for the test in that laboratory.

H) Studies have shown variability in original estimates of the quality of unfractionated heparin from different sources and different manufacturers. *In-vivo* reactivity varies with the type of heparin administered, the metabolism of the individual and other co-administrated medications[5,6].

I) Because the APTT can vary with technique, method, equipment, reagent lot and heparin used, each laboratory must establish its own therapeutic ranges, or verify them whenever one or more of the aforementioned variables is changed. This can be done by simultaneously determining the APTT and the heparin concentration for samples from patients receiving heparin therapy. A dose-response curve can be calculated from the data using regression analysis, and the APTT range corresponding to a heparin concentration of 0.3 - 0.7 U/mL (by a factor Xa inhibition assay) can be derived[4-6].

Internal Quality Control

Normal range:	Dade® Ci-Trol® Level 1, or Control Plasma N
Pathological range:	Dade® Ci-Trol® Level 2, or Dade® Ci-Trol® Level 3, or Control Plasma P
Heparin monitoring:	Dade® Ci-Trol® Heparin Control, low and high

Two controls (one in the normal range and one in the pathological/therapeutical range) must be measured at the start of the test run, after each change of reagent vial, and at least once during an 8-hour shift. The control material should be prepared and processed in the same manner as the patient samples. Each laboratory should establish its own confidence intervals for the controls. This interval is generally ± 2 to ± 2.5 standard deviations (SD) from the mean control value. If the control values are outside of the confidence interval, the controls, reagents and instrument must be checked. Before reporting the patient values, it is recommended that all steps should be documented that were taken to identify and rectify the problem. New control ranges should be defined for each new lot of reagents or controls.

Results

Results of the activated partial thromboplastin time testing should be reported as the APTT in seconds. These results should be related to the normal range for APTT testing in each laboratory. It is suggested that the patient results be reported to the clinician in conjunction with the normal range. Control values for the reagent test system should never be used in place of a normal range. Furthermore, the reporting of APTT results in terms of an upper normal only may result in incorrect interpretation. Shortened APTT results may also indicate some abnormal condition in the patient's coagulation system.

Limitations of the Procedure

APTT testing encompasses the entire clotting process from contact activation to fibrin formation and is therefore more susceptible to variations than specific individual tests. The control and use of APTT is therefore subject to inherent limitations. Control of plasma sample conditions is strictly emphasized. Studies have shown that sample decomposition may occur more rapidly in stored samples that are not refrigerated. Extremely small plasma volumes (prior to testing) are to be avoided since pH changes in the plasma from physiological conditions may be encountered. Such changes may lead to the decomposition of plasma components of the blood coagulation system.

It should be noted that APTT time testing may be affected by a number of commonly administered drugs. Decrease in time of APTT determination in conjugated estrogen therapy in males and oral contraceptive administration in females has been reported[10,11]. Increase in the APTT has been seen in diphenylhydantoin, heparin, warfarin, naloxone and radiographic agent administration[12,13]. Therapeutic doses of hirudin or other direct thrombin inhibitors may prolong clotting times[14]. In addition, the choice of anticoagulant (i.e., citrate vs. oxalate) and the condition of the specimen (e.g. hemolyzed, lipemic, parenteral feeding, etc.) may affect results[4,15,16].

The latter is particularly true of optical instrumentation measurements of the APTT. Blood clotting factor deficiencies which should produce prolonged clotting times may be compensated for or made to appear normal by elevated levels of one or more different clotting factors. Similarly, the presence of active intermediates which would tend to reduce the clotting time may also mask conditions that would normally lead to prolongation of the APTT. Mild or minor deficiencies in several factors may have an additive effect on increasing the APTT. Unexpected abnormal APTT results should always be followed by additional coagulation studies to determine the source of abnormal results.

Action of heparin as an anticoagulant is related to its ability in conjunction with a plasma cofactor to interfere with several aspects of the coagulation mechanism, thus retarding the rate of fibrin formation (see section "Monitoring of Unfractionated Heparin Therapy with APTT").

Siemens has validated use of these reagents on various analyzers to optimize product performance and meet product specifications. User defined modifications are not supported by Siemens as they may affect performance of the system and assay results. It is the responsibility of the user to validate modifications to these instructions or use of the reagents on analyzers other than those included in Siemens Reference Guides (Application Sheets) or these Instructions for Use.

Results of this test should always be interpreted in conjunction with the patient's medical history, clinical presentation and other findings.

Expected Values

Reference intervals vary from laboratory to laboratory depending on the population served and the technique, method, equipment and reagent lot used. Therefore, each laboratory must establish its own reference intervals or verify them whenever one or more of the aforementioned variables are changed. In a study with apparently healthy individuals using a specific lot of Dade® Actin® Reagent the following data were obtained:

	Median (seconds)	90 % Reference Interval (seconds)	
		5th Percentile	95th Percentile
111 individuals Sysmex® CA-1500	26.6	22.7	31.8
111 individuals BCS® System	26.1	22.8	31.0

Reference ranges for other populations such as pediatric groups should also be established where warranted.

Note: CLSI Document C28-A2 (cited in H47-A)[17,18] states that a parametric approach (mean ± 2 SD) can be applied. The assumption of this approach (Gaussian normal distribution) must however be checked.

Ergebnisse
Das Testergebnis sollte als APTT in Sekunden ausgegeben werden und mit dem laboreigenen Normalbereich für APTT-Bestimmungen verglichen werden. Es wird empfohlen, dem behandelnden Arzt die APTT zusammen mit dem Normalbereich zu übermitteln. Für das Reagenziensystem ermittelte Kontrollwerte dürfen nicht als Normalbereich für Patientenproben verwendet werden. Darüber hinaus sind Fehlinterpretationen möglich, wenn lediglich erhöhte APTT-Werte als auffällig ausgegeben werden, da auch eine zu kurze APTT auf Anomalien im Gerinnungssystem hinweisen kann.

Einschränkungen der Testdurchführung
Die Bestimmung der APTT umfasst den gesamten Gerinnungsprozess von der Kontaktaktivierung bis hin zur Fibrinbildung und ist daher gegenüber modifizierten Arbeitstechniken empfindlicher als spezifische Einzeltests, weshalb die Kontrolle und Bestimmung der APTT speziellen Einschränkungen unterliegt. Von besonderer Bedeutung sind die Lagerungsbedingungen der Plasmaproben. Untersuchungen ergaben, dass ungekühlte Proben einer rascheren Zersetzung unterliegen. Da es bei extrem geringen Plasmavolumina zu physiologisch bedingten Veränderungen des pH-Werts und infolge dessen zur Zersetzung der Plasmabestandteile des Blutgerinnungssystems kommen kann, ist von einer Portionierung in sehr kleine Volumina vor der Testung abzuraten.

Zu beachten ist, dass das APTT-Testergebnis durch eine Reihe häufig verordneter Medikamente beeinflusst werden kann. Laut Veröffentlichungen führen die Therapie mit konjugiertem Östrogen bei Männern und die Einnahme oraler Kontrazeptiva bei Frauen zu einer Verkürzung der APTT[9,11]. Eine Verlängerung der APTT wurde bei der Verabreichung von Diphenylhydantoin, Heparin, Warfarin, Naloxon und Röntgenkontrastmitteln beobachtet[12,13]. Therapeutische Dosen von Hirudin oder anderen direkten Thrombininhibitoren können zu verlängerten Gerinnungszeiten führen[14]. Die Ergebnisse können außerdem durch das gewählte Antikoagulans (z. B. Oxalat anstelle von Citrat) beeinflusst werden sowie durch die Beschaffenheit der Probe (z. B. hämolytisch, lipämisch, künstliche Ernährung, usw.), welche insbesondere bei der optischen Bestimmung der APTT von Bedeutung ist[4,15,16].

Ein Mangel an Blutgerinnungsfaktoren, der eine Verlängerung der Gerinnungszeit bewirken würde, kann durch einen erhöhten Spiegel eines oder mehrerer anderer Gerinnungsfaktoren teilweise oder sogar vollständig überlagert werden, so dass u. U. normale Werte gemessen werden. Ebenso können durch das Vorliegen aktiver Intermediate, welche tendenziell die Gerinnungszeit verkürzen, Zustände überlagert werden, die sonst zu einer Verlängerung der APTT führen würden. Ein leichter oder mäßiggradiger Mangel verschiedener Faktoren kann additiv eine Verlängerung der APTT bewirken. Bei fragwürdigen APTT-Werten sollten diese stets durch weitere Gerinnungstests überprüft und die Ursache hierfür ermittelt werden.

Die Wirkung von Heparin als Antikoagulans hängt mit dessen Eigenschaft zusammen, in Verbindung mit Plasmakofaktoren auf verschiedene Teilbereiche des Gerinnungssystems einzuwirken, was letztlich zur einer verzögerten Fibrinbildung führt (siehe Abschnitt "Überwachung der Therapie auf unfraktioniertem Heparin mittels APTT").

Siemens hat den Einsatz der Reagenzien auf verschiedenen Analysengeräten auf optimale Produktleistung und Einhaltung der Produktspezifikationen überprüft. Vom Benutzer vorgenommene Änderungen werden von Siemens nicht unterstützt, da sie die Leistung des Systems und die Testergebnisse beeinflussen können. Es liegt in der Verantwortung des Benutzers, Änderungen an diesen Anleitungen oder die Verwendung dieser Reagenzien auf anderen als in den Referenzhandbüchern (Applikationsvorschriften) von Siemens oder diesen Gebrauchsanweisungen genannten Analysengeräten zu validieren.

Resultate dieses Tests sollten stets in Verbindung mit der Vorgeschichte des Patienten, dem klinischen Bild und anderen Untersuchungsergebnissen interpretiert werden.

Referenzbereiche
Referenzintervalle variieren von Labor zu Labor in Abhängigkeit von der zu untersuchenden Population und den angewendeten Arbeitstechniken, Methoden, Geräten und Reagenzchargen. Daher sollte jedes Labor auf der Grundlage der jeweils angewendeten Arbeitstechniken, Methoden, Geräte und Reagenzchargen eigene Referenzbereiche ermitteln, bzw. die Referenzbereiche nach einem Wechsel der aufgeführten Parameter verifizieren.

In einer Studie an offensichtlich gesunden Probanden wurden mit einer spezifischen Charge Dade® Actin® Reagenz folgende Werte erhalten:

	Median (Sekunden)	90 % Referenzintervall (Sekunden)	
		5. Perzentile	95. Perzentile
111 Probanden Sysmex® CA-1500	26,6	22,7	31,8
111 Probanden BCS® System	26,1	22,8	31,0

Für andere Kollektive, wie z. B. pädiatrische Patienten, sollten gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermittelt werden.

Hinweis: Nach dem CLSI Dokument C28-A2 (zitiert in H47-A)[17,18] kann ein parametrischer Ansatz (Mittelwert ± 2 SD) verwendet werden. Die Annahme dieses Ansatzes (Gauß'sche Normalverteilung) muss jedoch überprüft werden.

Leistungsmerkmale des Tests
Untersuchungen der Präzision mit den aufgeführten Methoden ergaben im Normalbereich eine Standardabweichung (SD), die einem Variationskoeffizienten (VK) von weniger als 5 % entspricht. Aus weiteren Studien zur Reproduzierbarkeit von Doppelbestimmungen geht hervor, dass die Werte im Normalbereich um weniger als 4 % differieren.

Literatur
Siehe englische Gebrauchsanweisung.

BCS ist ein Warenzeichen von Siemens Healthcare Diagnostics. (Die für das BCS® System angegebenen Werte berücksichtigen nicht die in den USA verwendeten Korrekturfaktoren.)
Actin, Ci-Trol und Dade sind Warenzeichen von Siemens Healthcare Diagnostics.
Sysmex ist eine eingetragene Marke der SYSMEX CORPORATION.

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

CE

Ausgabe Juni 2008

Dade® Actin® Réactif pour Temps de Céphaline Activée

ACTIN

Paragraphes surlignés - Informations mises à jour par rapport à l'édition de juin 2006

Domaines d'utilisation
Suspension de céphaline provenant de cervelle de lapin additionnée d'un activateur plasmatique pour la détermination du Temps de Céphaline Activée (TCA) et des tests de coagulation basés sur ce test.

Intérêt diagnostique
La détermination du Temps de Céphaline Activée est un test de dépistage global[1,2], qui permet en premier lieu d'évaluer le système intrinsèque de la coagulation, et qui permet également de révéler un déficit fonctionnel grave en Facteur II, Facteur V, Facteur X ou en fibrinogène. Par ailleurs, le TCA est un test largement reconnu[3-6] pour la surveillance des traitements à l'héparine non fractionnée, l'allongement du temps de coagulation étant proportionnel au taux d'héparine. On observe également des TCA allongés chez les patients sous anticoagulants oraux dans la mesure où ils présentent des facteurs circulants II, VII, IX et X diminués. La présence de facteurs inhibiteurs non spécifiques, comme les substances apparentées au lupus anticoagulant[1,7], peut certes entraîner un allongement du TCA, mais cet effet est variable et généralement plutôt attribué à la composition du réactif TCA utilisé. En résumé, on peut dire que le TCA est un test de dépistage important pour la clinique, qui présente de nombreuses possibilités d'utilisation pour l'exploration des troubles de la coagulation et pour le suivi thérapeutique des patients souffrant de saignement ou de thrombose.

Principe de la méthode
L'incubation d'un plasma avec une quantité optimale de phospholipides et un activateur de surface entraîne l'activation des facteurs du système intrinsèque de la coagulation. L'addition d'ions calcium déclenche le processus de coagulation, et on mesure ensuite le temps écoulé jusqu'à la formation d'un caillot de fibrine.

Réactifs
Contenu des conditionnements
ACTIN, REF B4218-1
10 x 2 ml, ACTIN, Dade® Actin® Réactif
ACTIN, REF B4218-2
10 x 10 ml, ACTIN, Dade® Actin® Réactif

Composition
Dade® Actin® Réactif pour Temps de Céphaline Activée : céphaline (extrait de cervelle de lapin déshydratée) dans 1,0 x 10^{-4} M d'acide ellagique, tamponnée, stabilisée et additionnée de conservateur. Il n'existe pas de valeurs standard pour l'activité de la céphaline de cervelle de lapin.

Mises en garde et précautions d'emploi
Réservé au diagnostic *in-vitro*.

Préparation du réactif
Avant le premier emploi, remettre Dade® Actin® Réactif en suspension en retournant le flacon 5 à 8 fois.

Stabilités et conditions de conservation
Après utilisation, conserver le flacon fermé à +2/+8 °C. Avant ouverture, Dade® Actin® Réactif se conserve +2/+8 °C jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette. Stabilité après ouverture : 7 jours à +2/+15 °C. **Ne pas le congeler.** Si le réactif est resté immobile, il peut se former un précipité vert constitué d'acide ellagique et de lipides. Homogénéiser la solution en imprimant au flacon un mouvement de rotation avant utilisation. Eviter toute contamination avec du plasma.

Les données relatives à la stabilité à bord d'un analyseur sont indiquées dans les guides de référence (protocoles d'application) des différents analyseurs de coagulation.

Lorsque le réactif est périmé, il est possible que les résultats obtenus lors de la détermination d'un plasma normal ou d'un contrôle dévient de façon significative de la valeur normale du laboratoire.

Matériel et autres réactifs nécessaires
Solution de chlorure de calcium ($CaCl_2$) 0,025 mol/l
Plasma de contrôle N ou Dade® Ci-Trol® niveau 1 comme contrôle dans le domaine normal
Plasma de contrôle P ou Dade® Ci-Trol® niveau 2 ou Dade® Ci-Trol® niveau 3 comme contrôle dans le domaine pathologique/thérapeutique
Dade® Ci-Trol® Contrôle Héparine bas
Dade® Ci-Trol® Contrôle Héparine élevé
Pour le prélèvement des échantillons : citrate de sodium (soit 0,11 ou 0,13 mol/l, soit 3,2 ou 3,8 %) ou système de prélèvement sanguin du commerce
Eau distillée ou désionisée sans conservateur
Tubes en plastique
Pipettes pour une distribution exacte de 0,1 ml
Analyseur de coagulation (cf. également paragraphe "Analyseurs")

Analyseurs
Dade® Actin® Réactif peut être utilisé en méthodes manuelles ou sur des analyseurs de coagulation. Siemens Healthcare Diagnostics met à la disposition de ses clients des guides de référence (protocoles d'adaptation) pour différents analyseurs de coagulation. Ces guides contiennent des informations spécifiques à chaque analyseur et aux tests, dont les données de travail et de performance peuvent être différentes de celles indiquées dans cette notice d'utilisation. Dans ce cas-là, utiliser les données du guide de référence (protocole d'adaptation) et non celles de cette notice d'utilisation. En outre, respecter les instructions d'utilisation du fabricant de l'automate utilisé !

Prélèvement et préparation des échantillons
Mélanger neuf volumes de sang de patient fraîchement prélevé avec un volume de citrate de sodium (soit 0,11 ou 0,13 mol/l, soit 3,2 ou 3,8 %). On peut également utiliser des tubes de prélèvement du commerce prévus pour les tests de coagulation et contenant l'anticoagulant désiré. Pour des séries spéciales dans le cadre d'études, il peut être préférable d'effectuer les prélèvements à l'aiguille.

Centrifuger l'échantillon à 1 500 x g pendant au moins 15 minutes à température ambiante le plus tôt possible après le prélèvement. Conserver à température ambiante dans le tube fermé.

Si le test doit être immédiatement réalisé, le plasma peut rester sur les culots globulaires. Sinon, le plasma doit être séparé des culots. Pour séparer le plasma, utiliser une pipette de transfert en plastique, retirer le plasma dans un tube en plastique. Ne pas conserver sur de la glace. Le plasma non hépariné doit être testé dans les quatre (4) heures suivant le prélèvement.

Le plasma contenant de l'héparine non fractionnée doit être centrifugé dans l'heure suivant le prélèvement, conservé à température ambiante et analysé dans les quatre (4) heures.

Le plasma pauvre en plaquettes peut être congelé à ≤ -20 °C pendant un maximum de deux (2) semaines dans un congélateur sans givre. Le plasma congelé doit être rapidement décongelé à +37 °C, soigneusement mélangé et immédiatement analysé. Ne pas conserver les échantillons à +37 °C pendant plus de cinq minutes. Consulter le document CLSI H21-A5[8] pour connaître le détail de la préparation et de la conservation des échantillons.

Réalisation du test
Réalisation manuelle :

Préchauffer la solution de chlorure de calcium à +37 °C		
Préchauffer 0,1 ml de Dade® Actin® Réactif par tube à essai (mélanger avant emploi) à +37 °C.		
Distribuer dans les tubes à essai :		
	Échantillon à tester	Plasma de contrôle
Dade® Actin® Réactif (préchauffé)	0,1 ml	0,1 ml
Plasma	0,1 ml	-
Plasma de contrôle	-	0,1 ml
	Bien mélanger et laisser incuber 3 minutes à +37 °C.	
Solution de chlorure de calcium préchauffée	0,1 ml	0,1 ml
	Ajouter le $CaCl_2$, déclencher le chronomètre et bien mélanger. Vérifier une première fois la coagulation au bout de 20 secondes.	

Remarque : un temps d'incubation de plus de 5 minutes n'est pas recommandé, car il peut entraîner la perte d'activité des Facteurs V et VIII.
Le temps de préchauffage optimum pour l'activation doit être déterminé par chaque laboratoire en fonction du système utilisé.

Surveillance d'un traitement à l'héparine non fractionnée par le TCA
Dans le cadre de la surveillance d'un traitement à l'héparine par le TCA, il faut tenir compte des facteurs qui peuvent influencer le test. Quelques remarques générales sont résumées ci-dessous :

A) Dans la mesure où le temps de demi-vie de l'héparine non fractionnée est d'env. 1,5 heure[5] *in-vivo*, le moment du prélèvement est primordial. L'héparine administrée a un effet inhibiteur de la coagulation immédiat, qui décroît ensuite rapidement. Ceci est particulièrement visible en cas d'injections intraveineuses intermittentes.
B) L'anticoagulant utilisé pour le prélèvement peut influencer le résultat du test.
C) L'agrégation ou l'endommagement des plaquettes peut libérer le facteur plaquettaire 4 des alpha-granules des plaquettes, facteur qui neutralise l'héparine. Pour éviter ce phénomène *in-vitro*, prélever les échantillons avec le plus grand soin. Dans la mesure où on sait qu'une basse température favorise l'agrégation des plaquettes et déclenche ainsi la libération du facteur plaquettaire 4, il est recommandé de centrifuger les échantillons devant être testés pour une surveillance d'héparine à la température ambiante.
D) La surveillance d'un traitement à l'héparine non fractionnée par un TCA est variable dans le temps. Si un échantillon n'est pas testé immédiatement, le TCA peut être allongé. Il est donc recommandé de tester les échantillons le plus rapidement possible après leur prélèvement.
E) Une activation de la phase contact plus longue peut entraîner un allongement du TCA pour les plasmas contenant de l'héparine. Le temps optimal d'incubation du mélange plasma-céphaline doit donc être respecté[9].
F) Les différentes méthodes (manuelle, photo-optique, etc.) ayant une sensibilité différente à l'héparine, éviter de changer de méthode.
G) Pour déterminer un TCA spécifique au patient, il est recommandé de déterminer une valeur de base de TCA pour le patient avant le début du traitement et de la comparer au domaine normal défini par le laboratoire.
H) Des études ont montré que les propriétés des héparines non fractionnées des différents fabricants ou provenant de différentes préparations variaient par rapport aux spécifications initialement indi-

Esecuzione del test

Esecuzione manuale:

Preriscaldare la soluzione di cloruro di calcio a + 37 °C		
Preriscaldare 0,1 mL di Dade® Actin® Reagente per 1 minuto a +37 °C (mescolando prima dell'uso)		
Dispensare nelle provette come segue:		
	Campione in esame	Campione di controllo
Dade® Actin® Reagente (preriscaldato)	0,1 mL	0,1 mL
Plasma	0,1 mL	-
Plasma di controllo	-	0,1 mL
	Miscelare bene. Incubare per 3 minuti a +37 °C.	
Soluzione di cloruro di calcio preriscaldata	0,1 mL	0,1 mL
	Contemporaneamente all'aggiunta di $CaCl_2$ avviare il cronometro e mescolare bene. Dopo 20 secondi iniziare l'osservazione della formazione del coagulo.	

Nota: tempi di incubazione superiori a 5 minuti possono causare perdita dei fattori V e VIII e non sono consigliabili.

Ogni laboratorio deve determinare il tempo di incubazione-attivazione ideale per il proprio sistema di analisi.

Monitoraggio della terapia con eparina non frazionata mediante APTT

Quando si utilizza l'APTT per questo scopo, occorre tenere in considerazione i fattori che influenzano il test. Le considerazioni generali sono elencate qui di seguito.

A) L'orario del prelievo è importante poiché l'emivita *in vivo* dell'eparina non frazionata è di circa 1,5 ore[5]. Quando viene somministrata, ha un immediato effetto anticoagulante, ma il grado di tale effetto diminuisce rapidamente nel tempo. Ciò è particolarmente evidente per singole somministrazioni venose intervallate.

B) L'anticoagulante utilizzato nella raccolta del campione può alterare i risultati del test.

C) Il fattore piastrinico 4, un fattore di neutralizzazione dell'eparina rilasciato dagli alfa-granuli piastrinici, viene rilasciato a seguito di aggregazione o danno piastrinico. Per prevenire tale fenomeno *in vitro*, il campione deve essere raccolto riducendo al minimo il trauma. È noto che le basse temperature inducono aggregazione piastrinica e rilasciano il fattore piastrinico 4; pertanto, per gli studi sull'eparina, si raccomanda di centrifugare il campione a temperatura ambiente.

D) L'utilizzo dell'APTT per monitorare la terapia con eparina non frazionata dipende dal tempo. Un ritardo nell'analisi dei campioni produce risultati di APTT prolungati. Quindi è basilare che le analisi su tutti i campioni siano eseguite il più presto possibile.

E) Aumentati tempi di attivazione da contatto possono produrre APTT allungati nel plasma contenente eparina. È basilare che il tempo di incubazione-attivazione della miscela di Dade® Actin® Reagente/plasma sia rigidamente standardizzato[9].

F) Sistemi analitici diversi (manuale, foto-ottico, ecc.) mostrano sensibilità variabile all'eparina. Evitare quindi di scambiare sistemi analitici diversi.

G) Ove possibile, è consigliabile determinare il valore basale dell'APTT di ogni paziente prima di avviare la terapia, per determinare l'APTT di ogni paziente rispetto all'intervallo di normalità definito per il test nel laboratorio in uso.

H) Degli studi hanno mostrato una variabilità nelle stime originali circa la qualità dell'eparina non frazionata proveniente da fonti e da produttori diversi. La reattività *in vivo* varia in funzione del tipo di eparina somministrata, del metabolismo del soggetto e della somministrazione concomitante di farmaci[5,6].

I) Poiché il valore di APTT può variare secondo la tecnica, il metodo, la strumentazione, il lotto di reagente e l'eparina utilizzati, ogni laboratorio deve stabilire i propri intervalli terapeutici, oppure verificare tali intervalli al variare di una o più delle condizioni citate. Ciò può essere ottenuto determinando simultaneamente l'APTT e la concentrazione di eparina su campioni di pazienti in terapia eparinica. È possibile estrapolare dai dati una curva dose-risposta applicando l'analisi della regressione e determinare l'intervallo di APTT corrispondente a una concentrazione di eparina pari a 0,3 - 0,7 U/mL (tramite un test di inibizione del fattore Xa)[4-6].

Controllo di qualità interno

Intervallo normale: Dade® Ci-Trol® Livello 1 o Plasma di controllo N
Intervallo patologico: Dade® Ci-Trol® Livello 2 o Dade® Ci-Trol® Livello 3 o Plasma di controllo P
Monitoraggio dell'eparina: Dade® Ci-Trol® Controllo eparina, basso e alto

Eseguire due controlli (uno nell'intervallo di normalità e uno nell'intervallo patologico/terapeutico) all'inizio del ciclo di analisi, dopo ogni cambio di flacone di reagente e almeno una volta ogni 8 ore. Il materiale del controllo deve essere preparato e analizzato allo stesso modo dei campioni dei pazienti. Ogni laboratorio deve stabilire i propri intervalli di confidenza per i controlli. Questo intervallo è generalmente da ± 2 a ± 2,5 deviazioni standard (DS) dalla media del valore di controllo. Se i valori di controllo sono al di fuori dell'intervallo di confidenza, occorre verificare i controlli, i reagenti e lo strumento. Prima di refertare i valori dei pazienti, si raccomanda di documentare tutte le azioni intraprese per identificare e correggere il problema. Definire dei nuovi intervalli di controllo per ogni nuovo lotto di reagenti o di controlli.

Calcolo dei risultati

I risultati del test del tempo di tromboplastina parziale attivata devono essere refertati come APTT in secondi. Tali risultati devono essere messi in relazione con l'intervallo di normalità dell'APTT in ogni laboratorio. Si consiglia di refertare i risultati dei pazienti per il clinico insieme all'intervallo di normalità. I valori di controllo del sistema di analisi del reagente non devono mai essere utilizzati al posto dell'intervallo di normalità. Inoltre, refertare i risultati di APTT solo in termini di limite superiore normale potrebbe portare a un'interpretazione non corretta. Risultati di APTT accorciati possono indicare anche una condizione anormale nel sistema coagulativo del paziente.

Limitazioni della esecuzione del test

Il test APTT comprende l'intero processo coagulativo dall'attivazione da contatto alla formazione della fibrina ed è quindi più suscettibile alle variazioni rispetto ai singoli test specifici. Il controllo e l'utilizzo dell'APTT sono quindi soggetti a limitazioni intrinseche. Si raccomanda in particolare il controllo delle condizioni del campione di plasma. Degli studi hanno dimostrato che la decomposizione del campione può verificarsi più rapidamente in campioni non conservati in frigorifero. Evitare volumi di plasma estremamente bassi (prima dell'analisi) poiché si possono verificare delle variazioni nel pH del plasma rispetto alle condizioni fisiologiche. Tali variazioni possono condurre alla decomposizione dei componenti plasmatici deputati alla coagulazione del sangue.

Si noti che il test del tempo dell'APTT può essere influenzato da diversi farmaci di uso comune. È stata riportata una diminuzione del tempo della determinazione di APTT nei maschi in terapia con estrogeni coniugati e nelle donne in terapia contraccettiva orale[10,11]. È stato notato un aumento dell'APTT nella somministrazione di difenildantoina, eparina, warfarina, naloxone e mezzi di contrasto radiografici[12,13]. Dosi terapeutiche di irudina o di altri inibitori diretti della trombina possono prolungare i tempi di coagulazione[14]. Inoltre, la scelta dell'anticoagulante (ad es. citrato rispetto a ossalato) e la condizione del campione (ad es. emolizzato, lipemico, nutrizione parenterale, ecc.) possono influenzare i risultati[6,15,16].

Quest'ultimo è particolarmente importante per le misurazioni di APTT con strumenti ottici. Le carenze di fattori coagulativi che potrebbero produrre tempi di coagulazione prolungati possono essere compensate o rese apparentemente normali da elevati livelli di uno o più diversi fattori della coagulazione. Allo stesso modo, la presenza di intermedi attivi che tenderebbero a ridurre il tempo di coagulazione può mascherare anche condizioni che normalmente condurrebbero a un prolungamento dell'APTT. Carenze lievi o minime di fattori diversi possono avere un effetto aggiuntivo nell'allungamento dell'APTT. Risultati di APTT inaspettatamente anormali devono essere seguiti da ulteriori studi sulla coagulazione per determinare l'origine di tali risultati anormali.

L'azione dell'eparina come anticoagulante è legata alla sua capacità di interferire, unitamente a un cofattore plasmatico, con diversi aspetti del meccanismo coagulativo, ritardando quindi la formazione di fibrina (vedere la sezione "Monitoraggio della terapia con eparina non frazionata mediante APTT").

Siemens ha validato l'uso di questi reagenti su vari analizzatori per ottimizzare le prestazioni e rispettare le specifiche dei prodotti. Le modifiche dell'utente non sono supportate da Siemens poiché possono influire sulle prestazioni del sistema e sui risultati del test. Pertanto è responsabilità dell'utente validare tutte le modifiche apportate a queste istruzioni, l'uso dei reagenti su analizzatori diversi da quelli inclusi nei fogli di istruzioni o nelle istruzioni d'uso fornite da Siemens.

I risultati di questo test devono essere sempre interpretati alla luce della anamnesi del paziente, della presentazione clinica e valutando contestualmente l'esito di altri accertamenti.

Valori attesi

Gli intervalli di riferimento variano da un laboratorio all'altro, in funzione della popolazione servita e della tecnica, del metodo, dell'apparecchiatura e del lotto di reagente utilizzato. Ogni laboratorio deve, quindi, stabilire i propri intervalli di riferimento o verificarli nel caso in cui una o più variabili precedentemente menzionate siano cambiate. In uno studio su individui apparentemente sani, utilizzando un lotto specifico di Dade® Actin® Reagente sono stati ottenuti i seguenti dati:

	Mediana (secondi)	Intervallo di riferimento del 90 % (secondi)	
		5° percentile	95° percentile
111 individui Sysmex® CA-1500	26,6	22,7	31,8
111 individui Sistema BCS®	26,1	22,8	31,0

Definire, ove richiesto, anche gli intervalli di riferimento per altre popolazioni, come i gruppi pediatrici.
Nota: il documento CLSI C28-A2 (citato in H47-A)[17,18] stabilisce che è possibile applicare un approccio parametrico (media ± 2 DS). L'assunzione di tale approccio (distribuzione gaussiana normale) deve tuttavia essere verificata.

Caratteristiche del test

Studi di precisione con l'impiego delle metodologie indicate nel presente foglietto mostrano che i test APTT eseguiti correttamente devono produrre una deviazione standard (DS) che corrisponde a un coefficiente di variazione (CV) di meno del 5 % nell'intervallo di normalità. Ulteriori studi che dimostrano la riproducibilità tra determinazioni in duplicato sullo stesso campione indicano che l'APTT deve concordare entro il 4 % nell'intervallo di normalità, se eseguito correttamente.

Bibliografia

Vedere le istruzioni per l'uso in lingua inglese.

BCS è un marchio di Siemens Healthcare Diagnostics. (I valori dichiarati per il sistema BCS® non considerano i fattori di correzione utilizzati negli Stati Uniti.)
Actin, Ci-Trol e Dade sono marchi di Siemens Healthcare Diagnostics.
Sysmex è un marchio registrato di SYSMEX CORPORATION.

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

CE

Edizione giugno 2008

Dade® Actin® Reactivo de cefaloplastina activada

ACTIN

Observe las secciones resaltadas - Es información actualizada de la edición anterior desde el junio 2006

Campos de aplicación

Suspensión de cefalina de cerebro de conejo con activador plasmático para la determinación del tiempo de tromboplastina parcial activada (aPTT) y otros procesos de coagulación basados en un reactio de tromboplastina parcial activada.

Significado diagnóstico

La determinación del tiempo de tromboplastina parcial activada (aPTT) es una prueba de chequeo global[1,2] la cual se utiliza básicamente para la evaluación del sistema endógeno de la coagulación, pero que igualmente indica una deficiencia funcional grave de los factores II, V, X o del fibrinógeno. La determinación del aPTT es además una prueba reconocida[3-6] para controlar la eficacia de la terapia con heparina no fraccionada, en donde la prolongación del tiempo de coagulación es proporcional al nivel de heparina. En pacientes bajo una terapia con anticoagulantes orales se espera igualmente una prolongación del aPTT, ya que en estos pacientes los niveles circulantes de los factores II, VII, IX y X están disminuidos. La existencia de sustancias inhibidoras no específicas, como sustancias similares al anticoagulante lúpico[1,7], pueden ocasionar una prolongación del aPTT; sin embargo, este efecto es variable y por lo general se va a atribuir, ante todo, a la composición del reactivo de aPTT utilizado. Resumiendo, se puede decir que la determinación del aPTT es una prueba de chequeo de gran valor clínico, con grandes posibilidades de aplicación para el diagnóstico de alteraciones de la coagulación y para el control de las terapias de pacientes con tendencia a las hemorragias o a la trombosis.

Principio del método

La incubación del plasma con una cantidad óptima de fosfolípidos y un activador de superficie conduce a la activación de los factores del sistema endógeno de la coagulación. Al añadir los iones de calcio se desencadena el proceso de coagulación. A continuación, se mide el tiempo transcurrido hasta la formación del coágulo.

Reactivos

Contenido del envase comercial

ACTIN, REF B4218-1
10 x 2 ml, ACTIN Dade® Actin® Reactivo
ACTIN, REF B4218-2
10 x 10 ml, ACTIN Dade® Actin® Reactivo

Composición

Dade® Actin® Reactivo de cefaloplastina activada: Cefalina (extracto obtenido de cerebro de conejo y deshidratado) en 1,0 x 10^{-4} M de ácido elágico, con tampón, estabilizadores y agentes de conservación. No existen valores estándar disponibles para la actividad de la cefalina de cerebro de conejo.

Advertencias y medidas de seguridad

Sólo para uso diagnóstico *in-vitro*.

Preparación del reactivo

El reactivo Dade® Actin® debe mezclarse con cuidado invirtiendo el frasco (de 5 a 8 veces) antes de usarlo por primera vez.

Estabilidad y almacenaje

Una vez utilizado, el reactivo se ha de almacenar con el frasco cerrado entre +2 y +8 °C. Si se guarda sin abrir entre +2 y +8 °C, el Dade® Actin® Reactivo podrá usarse hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Una vez utilizado se ha de almacenar con el frasco tapado entre +2 y +15 °C y su estabilidad es de 7 días. **No congelar.** Si el reactivo se deja en reposo, puede llegarse a producir un precipitado verde de ácido elágico y de lípidos. Antes de usarlo se debe mezclar por inversión. Evite la contaminación del plasma.

Encontrará información sobre la estabilidad dentro del equipo para los distintos analizadores de coagulación en las Guías de Referencia (Hojas de Aplicación).

Indicios de deterioro: Desviación de los valores normales del laboratorio para la determinación del plasma normal o de los controles.

Materiales adicionales necesarios

Solución de cloruro de calcio ($CaCl_2$) 0,025 mol/l
Plasma control N o Dade® Ci-Trol® nivel 1 como control para el intervalo normal
Plasma control P o Dade® Ci-Trol® nivel 2 o Dade® Ci-Trol® nivel 3 como control para el intervalo patológico/terapéutico
Dade® Ci-Trol® Heparina control bajo
Dade® Ci-Trol® Heparina control alto
Para la extracción de sangre, usar citrato sódico (0,11 o 0,13 mol/l o bien al 3,2 o al 3,8 %) o un sistema de extracción de sangre existente en el mercado.
Agua destilada o desionizada sin agentes de conservación
Tubos de plástico
Pipetas para la medida exacta de 0,1 ml
Analizadores de coagulación (véase "Analizadores")

Analizadores

El Dade® Actin® Reactivo puede utilizarse con métodos manuales o en analizadores de coagulación automáticos. Siemens Healthcare Diagnostics pone a 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 y el rendimiento correspondientes a los analizadores/ensayos que puede diferir de la ofrecida en estas instrucciones de utilización. En ese caso, la información contenida en las Guías de

mantém-se estável durante 7 dias entre +2 e +15 °C. **Não congelar.** Se se deixar o reagente em repouso, pode ocorrer a formação de uma precipitação verde de ácido elágico e lípidos. Antes de utilizar, misturar invertendo. Evitar a contaminação com plasma.

A informação acerca da estabilidade no equipamento está especificada nos guias de consulta (folhas de instruções de aplicação) para os diferentes analisadores de coagulação.

Indício de caducidade: Desvios do valor laboratorial normal na determinação de plasma normal ou controlos.

Materiais necessários mas não fornecidos

Solução de cloreto de cálcio ($CaCl_2$) 0,025 mol/l

Plasma de Controlo N ou Dade® Ci-Trol® Level 1 como controlo para o intervalo normal

Plasma de Controlo P ou Dade® Ci-Trol® Level 2 ou Dade® Ci-Trol® Level 3, como controlo para o intervalo patológico/terapêutico

Dade® Ci-Trol® Controlo de heparina, baixa

Dade® Ci-Trol® Controlo de heparina, alta

Utilizar citrato de sódio (0,11 ou 0,13 mol/l / 3,2 ou 3,8 %) para a colheita de sangue ou sistemas de colheita de sangue comerciais.

Água destilada ou desionizada sem conservantes

Tubos de plástico

Pipetas para a medição exacta de 0,1 ml.

Analisador de coagulação (ver "Equipamento")

Equipamento

Dade® Actin® Reagente pode ser utilizado manualmente ou em analisadores de coagulação automatizados. A Siemens Healthcare Diagnostics fornece guias de consulta (folhas de instruções de aplicação) para vários analisadores de coagulação. Os guias de consulta (folhas de instruções de aplicação) contêm informações específicas sobre o manuseamento e desempenho do analisador/teste que podem diferir das fornecidas nestas instruções. Numa situação destas, as informações contidas nos guias de consulta (folhas de instruções de aplicação) substituem as informações nestas instruções. Consulte ainda o manual de instruções do fabricante do aparelho!

Colheita e preparação de amostras

Misturar nove partes de sangue do paciente de uma colheita fresca com uma parte de citrato de sódio (de 0,11 ou 0,13 mol/l; a 3,2 % ou 3,8 % respectivamente). Podem ser utilizados os sistemas correntes de colheita de sangue para testes de coagulação com o anticoagulante pretripulo. Para as séries de estudos especiais, pode ser vantajosa a técnica de colheita com seringa.

Centrifugar a amostra de sangue a 1500 x g durante, nunca menos de 15 minutos, à temperatura ambiente logo que possível a seguir a colheita. Conservar num tubo mao aberto à temperatura ambiente.

Se a análise for efectuada imediatamente o plasma pode ficar no sedimento de eritrócitos. Caso contrário poderá ser separado das células. Para separar o plasma, utilize uma pipeta de transferência de plástico e retire o plasma para um tubo de plástico. Não conservar em gelo. O plasma não heparinizado deve ser testado nas quatro (4) horas seguintes à colheita de sangue.

O plasma contendo heparina não fraccionada deve ser centrifugado no espaço de uma hora a seguir à colheita de sangue, conservado à temperatura ambiente e testado no espaço de quatro (4) horas.

O plasma pobre em plaquetas pode ser congelado a < -20 °C durante um máximo de duas (2) semanas num congelador não frost-free. O plasma congelado deve ser rapidamente descongelado a +37 °C, misturado cuidadosamente e analisado imediatamente. As amostras não devem permanecer durante mais de cinco minutos à temperatura de +37 °C. Consulte o documento CLSI H21-A5 para obter mais informações sobre a preparação e conservação das amostras.

Procedimento

Teste manual:

Aquecer previamente a solução de cloreto de cálcio a +37 °C		
Aquecer previamente 0,1 ml do Dade® Actin® Reagente durante um minuto a +37 °C. (Misturar antes de utilizar)		
Pipetar para tubos de coagulação da seguinte maneira:		
	Amostra a examinar	Amostra de controlo
Dade® Actin® Reagente (pré-aquecido)	0,1 ml	0,1 ml
Plasma	0,1 ml	-
Plasma de Controlo	-	0,1 ml
	Misturar bem. Incubar a +37 °C durante 3 minutos.	
Solução de cloreto de cálcio pré-aquecida	0,1 ml	0,1 ml
	Ao adicionar $CaCl_2$ ligar o cronómetro; misturar bem. Após 20 segundos, comece a observar a formação de coágulos.	

Nota: Não é aconselhável um tempo de incubação superior a 5 minutos, caso contrário pode verificar-se a perda dos factores V e VIII.

O tempo optimizado de pré-aquecimento para a activação deverá ser definido por cada laboratório em função do sistema de teste utilizado.

Monitorização da terapia da heparina não fraccionada com APTT

Para a monitorização da terapia de heparina através da determinação de APTT, é necessário tomar em consideração os factores que podem ter influência no resultado do teste. Seguidamente, apresenta-se o resumo de algumas indicações gerais:

A) Uma vez que o valor de semi-vida da heparina não fraccionada *In-Vivo* é de aprox. 1,5 horas, o momento da colheita de sangue tem uma importância decisiva[4]. A heparina administrada possui um efeito que provoca imediatamente a supressão da coagulação, efeito esse que diminui outra vez, rapidamente. Este efeito pode ser observado com especial evidência nas injecções individuais intravenosas administradas intermitentemente.

B) O anticoagulante usado para a colheita da amostra pode influenciar os resultados do teste.

C) Com a agregação ou deterioração das plaquetas, o factor de plaqueta 4, um factor neutralizador de heparina, pode ser libertado dos grânulos alfa das plaquetas. Para evitar estes processos *in-vitro*, é necessário colher as amostras com o máximo cuidado. Uma vez que, como é sabido, as baixas temperaturas desencadelam a agregação de plaquetas e, por conseguinte, a libertação do factor de plaqueta 4, as amostras para os testes de heparina devem ser centrifugadas à temperatura ambiente.

D) A monitorização da terapia com heparina não fraccionada através da determinação APTT depende do tempo. Os atrasos no processamento das amostras podem provocar um prolongamento do APTT. Por conseguinte, as amostras têm de ser analisadas o mais cedo possível.

E) O prolongamento da activação do contacto no plasma que contém heparina pode provocar o prolongamento do APTT. Por isso, é preciso respeitar o tempo de incubação optimizado da mistura Dade® Actin® Reagente-plasma[9].

F) Uma vez que os diferentes métodos de teste (p. ex., manual, foto-óptico) possuem sensibilidades à heparina diferentes, deverá evitar-se a mudança do método utilizado.

G) Para a determinação do APTT específico do paciente, o valor básico APTT do paciente deverá ser determinado e comparado com o intervalo normal próprio do laboratório, de preferência antes do início da terapia.

H) Estudos demonstraram que as características da heparina não fraccionada proveniente de diferentes fabricantes e fontes divergem das especificações admitidas originalmente. A reactividade *In-Vivo* depende do tipo da heparina administrada, do metabolismo do paciente e dos outros medicamentos utilizados simultaneamente[5,6].

I) Como o APTT pode variar consoante a técnica, método, equipamento, lote de reagentes e heparina utilizados, cada laboratório deve estabelecer os seus próprios intervalos terapêuticos ou verificá-los sempre que uma ou mais das variáveis acima mencionadas for alterada. Isto pode ser feito determinando simultaneamente o APTT e a concentração de heparina em amostras de pacientes em tratamento com heparina. A curva de resposta à dose pode ser calculada a partir dos dados que utilizam a análise de regressão e o intervalo de APTT correspondente a uma concentração de heparina de 0,3 – 0,7 U/ml (por um teste de inibição do factor Xa) pode ser calculado[4,5].

Controlo interno de qualidade

Intervalo normal:	Dade® Ci-Trol® Level 1, ou Plasma de Controlo N
Intervalo patológico:	Dade® Ci-Trol® Level 2, ou Dade® Ci-Trol® Level 3, ou Plasma de Controlo P
Monitorização da heparina:	Dade® Ci-Trol® Controlo de Heparina, baixa e alta

No início de uma série de teste, em cada mudança de frasco de reagente e uma vez, no mínimo, durante um turno de 8 horas, deverão ser medidos dois controlos (um no intervalo normal e um no intervalo patológico/terapêutico). O material de controlo deverá ser tratado como as amostras do paciente. Cada laboratório deverá determinar o seu intervalo de confiança próprio para controlos. Normalmente, este apresenta desvios standard (SD) de ± 2 a ± 2,5 em relação ao valor de controlo médio. Se os valores de controlo se situarem fora do intervalo de confiança, é necessário controlar os controlos, os reagentes e o aparelho. É aconselhável documentar todas as medidas que foram tomadas para a constatação e eliminação do problema antes da divulgação dos valores de pacientes. Para cada lote de reagente ou controlo novo deverão ser definidos intervalos de controlo novos.

Resultados

O resultado do teste APTT deverá ser emitido em segundos e comparado com o intervalo normal do próprio laboratório para as determinações do APTT. Recomenda-se ao médico que faz o tratamento que comunique o APTT juntamente com o intervalo normal. Os valores de controlo obtidos para o sistema de teste de reagentes não devem ser utilizados como intervalo normal para as amostras de pacientes. Além disso, se na emissão de resultados só sobressaírem valores elevados de APTT, tal poderá provocar interpretações incorrectas, uma vez que um APTT curto também pode indiciar anomalias no sistema de coagulação.

Limitações do procedimento

A determinação de APTT abrange o processo de coagulação global desde a activação de contacto, até à formação de fibrina e é, por essa razão, mais sensível em relação às técnicas de trabalho modificadas, do que os testes individuais específicos, pelo que, o controlo e a determinação de APTT estão sujeitos a restrições especiais. As condições de conservação das amostras de plasma revestem-se de uma importância especial. Estudos demonstraram que as amostras não refrigeradas estão sujeitas a uma decomposição mais rápida. Uma vez que os volumes de plasma extremamente diminutos podem provocar alterações fisiológicas do valor do pH e a subsequente decomposição dos componentes de plasma do sistema de coagulação do sangue, não é aconselhável proceder ao doseamento de volumes muito pequenos antes do teste.

Deverá ser tomado em consideração que o resultado do teste APTT pode ser influenciado por uma multiplicidade de medicamentos prescritos frequentemente. De acordo com publicações efectuadas as terapias com estrogénio conjugado nos homens e a toma de contraceptivos orais nas mulheres, provocam uma redução do APTT[10,11]. Foi observado um prolongamento do APTT com a administração de difenildiantoína, heparina, varfarina, naloxona e produtos de contraste radiológico[12,13]. Doses terapêuticas de hirudina ou de outros inibidores directos da trombina podem prolongar os tempos de coagulação[14]. Além disso, os resultados[6,15,16] podem ser influenciados pelo anticoagulante seleccionado (p. ex., oxalato em vez de citrato), assim como pelas características de amostra (p.ex. hemolítica, lipémica, alimentação parenteral etc.) que têm particular significado na determinação óptica do APTT. A deficiência de factores de coagulação do sangue, que provoca um prolongamento do tempo de coagulação, pode ser compensada parcial ou integralmente através de níveis elevados de um ou vários outros factores de coagulação, de forma que, em determinadas circunstâncias, são medidos valores normais. Do mesmo modo, a presença de intermediários activos que encurtam, tendencialmente, o tempo de coagulação, pode compensar situações que provocariam, caso contrário, um prolongamento do APTT. A deficiência leve ou moderada de vários factores pode ter um efeito aditivo no prolongamento do APTT. No caso de os resultados de APTT serem duvidosos, deverão os mesmos ser controlados com mais testes de coagulação e a causa ser detectada.

A eficácia da heparina como anticoagulante está relacionada com as suas características que lhe permitem actuar sobre diversas áreas parciais do sistema de coagulação, em conexão com os factores plasmáticos, o que, em última análise, provoca um retardamento da formação de fibrina (ver secção "Monitorização da terapia da heparina não fraccionada com APTT").

A Siemens validou a utilização destes reagentes em vários analisadores, com o intuito de optimizar o desempenho do produto e satisfazer as especificações do produto. As modificações definidas pelo utilizador não são suportadas pela Siemens, na medida em que podem afectar o desempenho do sistema e os resultados do ensaio. Constitui responsabilidade do utilizador validar as modificações efectuadas nestas instruções ou em relação ao uso dos reagentes noutros analisadores que não os incluídos nas folhas de instruções de aplicação da Siemens ou nestas instruções de utilização.

Os resultados deste teste devem sempre ser interpretados em conjunto com o histórico médico do doente, estado clínico e outros dados de interesse.

Valores esperados

Os intervalos de referência variam de laboratório para laboratório, dependendo da população servida, da técnica, do método, do equipamento e do lote de reagentes utilizados. Por conseguinte, cada laboratório tem que estabelecer os seus próprios intervalos de referência ou verificá-los sempre que uma ou mais das variáveis acima mencionadas sejam alteradas. Num estudo em indivíduos aparentemente saudáveis, com um lote específico de Dade® Actin® Reagente foram obtidos os seguintes dados:

	Mediana (segundos)	Intervalo de referência de 90 % (segundos)	
		Percentil 5	Percentil 95
111 indivíduos Sysmex® CA-1500	26,6	22,7	31,8
111 indivíduos Sistema BCS®	26,1	22,8	31,0

Se for necessário, para os outros grupos de pacientes, tais como, p. ex., os pacientes pediátricos, deverão ser determinados intervalos de referência próprios.

Nota: De acordo com o documento C28-A2 do CLSI (citado em H47-A)[17,18] pode ser usado o princípio paramétrico (valor médio ± 2 SD). Todavia, é necessário verificar o pressuposto deste princípio (distribuição gaussiana normal).

Características do teste

Os estudos de precisão com os métodos descritos demonstram um desvio do standard (s) no intervalo normal que corresponde a um coeficiente de variação (CV) inferior a 5 %. De outros estudos clínicos efectuados sobre a reprodutibilidade das determinações duplas concluiu-se que o CV no intervalo normal é inferior a 4 %.

Bibliografia

Ver Instruções em inglês.

BCS é uma marca comercial da Siemens Healthcare Diagnostics. (Os valores indicados para o sistema BCS® não tomam em consideração os factores de correcção utilizados nos EUA).

Actin, Ci-Trol e Dade são marcas comerciais da Siemens Healthcare Diagnostics.

Sysmex é uma marca registada da SYSMEX CORPORATION

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

CE

Edição Junho 2008

Symbols Key / Symbolschlüssel / Explication des Symboles / Interpretazione simboli / Clave de los Símbolos / Chave dos Símbolos


Do not reuse / Nicht zur Wiederverwendung / Ne pas réutiliser / Non riutilizzare / No reutilizar / Não reutilizar



Use By / Verwendbar bis / Utiliser jusque / Utilizzare entro / Fecha de caducidad / Prazo de validade



Batch Code / Chargenbezeichnung / Code du lot / Codice del lotto / Código de lote / Código do lote



Catalogue Number / Bestellnummer / Référence du catalogue / Numero di catalogo / Número de catálogo / Referência de catálogo


Caution, consult accompanying documents / Achtung, Begleitdokumente beachten / Attention voir notice d'instructions / Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso / Atención, ver instrucciones de uso / Atenção, consulte a documentação incluída


Manufacturer / Hersteller / Fabricant / Fabbricante / Fabricante / Fabricante



Authorized Representative in the European Community / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft / Mandataire dans la Communauté européenne / Mandatario nella Comunità Europea / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Representante autorizado na Comunidade Europeia


Contains sufficient for <n> tests / Inhalt ausreichend für <n> Tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenido suficiente para <n> ensayos / Conteúdo suficiente para "n" ensaios



In Vitro Diagnostic Medical Device / *In Vitro* Diagnostikum / Dispositif médical de diagnostic *in vitro* / Dispositivo medico-diagnostico *in vitro* / Producto sanitario para diagnóstico *in vitro* / Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*


Temperature Limitation / Temperaturbegrenzung / Limites da température / Limiti di temperatura / Límite de temperatura / Limites de temperatura


Consult Instructions for Use / Gebrauchsanweisung beachten / Consulter les instructions d'utilisation / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte las instrucciones de uso / Consulte as instruções de utilização



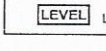
Non-sterile / Nicht steril / Non stérile / Non sterile / No estéril / Não estéril


CE Mark / CE Zeichen / Marquage CE / Marchio CE / Marca CE



Contents / Inhalt / Contenu / Contenuto / Contenido / Conteúdo


Reconstitution Volume / Rekonstitutionsvolumen / Volume de reconstitution / Volume di ricostituzione / Volumen de reconstitución / Volume de reconstituição



Level / Konzentration / Niveau / Livello / Nivel / Nível

2006-09_EFIGSP

© 2008 Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH
All rights reserved.

SIEMENS

ORHOG37E0503 (1549)

Calcium Chloride Solution
$CaCl_2$ SOLUTION

Intended Use
Calcium Chloride Solution is used as Supplementary Reagent for various coagulation assays.

Reagent
Materials provided
Calcium Chloride Solution, REF *ORHO37*
10 x 15 mL $CaCl_2$ SOLUTION, Calc[illegible] Chloride Solution
Composition
$CaCl_2$ solution 0.025 mol[illegible]
Warnings and Precautions
For *in-vitro* diagnostic use only
Storage and Stability
Storage at 2 to 25 °C:
The expiry date is indicated on the label.
Stability once opened:
8 weeks at 2 to 25 °C
Information about on-board stability is specified in the Reference Guides (Application Sheets) for the different coagulation analyzers.
Materials required, but not provided
Coagulation Analyzer
Reagents and associated materials according to the respective Instructions for Use of the coagulation assays to be used with Calcium Chloride Solution REF ORHO37.

Procedure
- Calcium Chloride Solution is added automatically by the respective coagulation analyzer when performing the respective assay.
- Please refer to the respective Instructions for Use and Application Sheets for the assays to be used with Calcium Chloride Solution.

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

U.S.A. Distributor
Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
Newark, DE 19714 U.S.A.

CE

Calciumchlorid-Lösung
$CaCl_2$ SOLUTION

Anwendungsbereich
Calciumchlorid-Lösung wird als Zusatzreagenz für verschiedene Gerinnungsteste verwendet.

Reagenzien
Inhalt der Handelspackung
Calcium Chloride Solution, REF *ORHO37*
10 x 15 mL $CaCl_2$ SOLUTION, Calciumchlorid-Lösung
Zusammensetzung
$CaCl_2$-Lösung, 0,025 mol/L
Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen
Nur zur *in-vitro*-diagnostischen Anwendung.
Haltbarkeit und Lagerungsbedingungen
Lagerung bei 2 bis 25 °C:
Das Verfallsdatum ist auf dem Etikett angegeben.
Stabilität nach Öffnen:
8 Wochen bei 2 bis 25 °C
Die Angaben zur Stabilität auf dem Gerät sind in den Referenzhandbüchern (Applikationsvorschriften) für die einzelnen Gerinnungsmessgeräte aufgeführt.
Zusätzlich benötigte Materialien
Gerinnungsmessgerät
Reagenzien und die benötigten Zusatzreagenzien gemäß entsprechender Gebrauchsanweisung der Gerinnungsteste, bei denen Calciumchlorid-Lösung REF ORHO37 Verwendung findet.

Durchführung
- Die Calciumchlorid-Lösung wird automatisch vom entsprechenden Gerinnungsmessgerät während der Testabarbeitung zugefügt.
- → Bitte beachten Sie auch die entsprechenden Gebrauchsanweisungen und Applikationsvorschriften der Gerinnungsteste, bei denen Calciumchlorid-Lösung benötigt wird.

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

CE

Solution de chlorure de calcium
$CaCl_2$ SOLUTION

Domaines d'utilisation
La Solution de chlorure de calcium est utilisée comme Réactif complémentaire pour divers tests de coagulation.

Réactifs
Contenu des conditionnements
Solution de chlorure de calcium, REF *ORHO37*
10 x 15 ml $CaCl_2$ SOLUTION, Solution de chlorure de calcium
Compositon
Solution $CaCl_2$ 0,025 mol/l
Mises en garde et précautions d'emploi
Réservé à un usage de diagnostic *in-vitro*.
Stabilités et conditions de conservation
Stabilité après ouverture:
8 semaines entre 2 à 25 °C
Les données relatives à la stabilité à bord d'un analyseur sont indiquées dans les guides de référence (fiches d'application) des différents analyseurs de coagulation.
Matériel et autres réactifs nécessaires
Automate de coagulation
Réactifs et matériels associés mentionnés dans les notices d'utilisation respectives des tests de coagulation à utiliser avec la Solution de chlorure de calcium REF ORHO37.

Réalisation du test
- La Solution de chlorure de calcium est automatiquement ajoutée par l'automate de coagulation correspondant au moment de chaque test.
- Se référer à la notice d'utilisation et aux fiches d'application respectives pour connaître les tests utilisant la Solution de chlorure de calcium.

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

CE

Soluzione di cloruro di calcio
$CaCl_2$ SOLUTION

Uso Previsto
La soluzione di cloruro di calcio viene utilizzata come Reagente supplementare per vari test di coagulazione.

Reagenti
Materiali forniti
Soluzione di cloruro di calcio, REF *ORHO37*
10x15 mL $CaCl_2$ SOLUTION, Soluzione di cloruro di calcio
Composizione
Soluzione $CaCl_2$ 0,025 mol/L
Avvertenze e precauzioni
Solo per uso diagnostico *in-vitro*.
Conservazione e Stabilità
Conservazione a 2 – 25 °C:
La data di scadenza è riportata sull'etichetta.
Stabilità della soluzione una volta aperta:
8 settimane a 2 – 25 °C
Le informazioni sulla stabilità on board sono specificate nelle Guide di riferimento (Protocolli Applicativi) per i vari analizzatori per coagulazione.
Materiale necessario ma non fornito
Analizzatore per coagulazione
Reagenti e materiali associati secondo le rispettive Istruzioni d'uso dei test di coagulazione da utilizzare con la Soluzione di cloruro di calcio REF ORHO37.

Procedura
- La Soluzione di cloruro di calcio viene aggiunta automaticamente dal rispettivo analizzatore di coagulazione durante l'esecuzione del test rispettivo.
- Per i test da utilizzare con la Soluzione di cloruro di calcio, vedere le rispettive Istruzioni d'uso e i Fogli di istruzioni.

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

CE

Solución de Cloruro de Calcio
$CaCl_2$ SOLUTION

Uso Previsto
La Solución de Cloruro del Calcio se utiliza como Reactivo complementario en diversos ensayos de coagulación.

Reactivos
Materiales suministrados
Solución de Cloruro de Calcio, REF *ORHO37*
10 x 15 mL $CaCl_2$ SOLUTION, Solución de Cloruro de Calcio
Composición
$CaCl_2$ solución 0,025 mol/L
Advertencias y Medidas de Seguridad
Sólo para uso diagnóstico *in-vitro*.
Estabilidad y Condiciones de Almacenaje
Almacenamiento entre 2 a 25 °C:
La fecha de caducidad está indicada en la etiqueta.
Estabilidad una vez abierto:
8 semanas entre 2 a 25 °C
La información sobre la estabilidad en cada instrumento se especifica en las Guías de Referencia (Hojas de Aplicación) para los distintos analizadores de coagulación.
Materiales necesarios pero no suministrados
Coagulómetro
Reactivos y materiales utilizados con la Solución de Cloruro de Calcio REF ORHO37, según las correspondientes Instrucciones de uso de las pruebas de coagulación.

Procedimiento
- Al llevar a cabo la prueba, el coagulómetro correspondiente añade la Solución de Cloruro de Calcio de forma automática.
- Consulte las Instrucciones de Uso y las Hojas de aplicación de las pruebas en las que se va a utilizar la Solución de Cloruro de Calcio.

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

CE

Solução de Cloreto de Cálcio
$CaCl_2$ SOLUTION

Campo de aplicação
A Solução de Cloreto de Cálcio é utilizada como Reagente Suplementar para vários ensaios de coagulação.

Reagentes
Material fornecido
Solução de Cloreto de Cálcio, REF *ORHO37*
10 x 15 mL $CaCl_2$ SOLUTION, Solução de Cloreto de Cálcio

Composição
Solução $CaCl_2$ 0,025 mol/L

Advertências e medidas de precaução
Apenas para utilização em diagnóstico *in-vitro*.

Estabilidade e condições de armazenamento
Conservação entre 2 a 25 °C:
A data de validade está indicada no rótulo.
Estabilidade após a abertura:
8 semanas a uma temperatura entre 2 a 25 °C
A informação acerca da estabilidade no equipamento está especificada nos guias de consulta (folhas de instruções de aplicação) para os diferentes analisadores de coagulação.

Materiais necessários mas não fornecidos
Analisador de coagulação
Reagentes e materiais associados de acordo com as respectivas Instruções de utilização dos ensaios de coagulação a serem usados com a Solução de Cloreto de Cálcio REF ORHO37.

Procedimento
- A Solução de Cloreto de Cálcio é adicionada automaticamente pelo respectivo analisador de coagulação ao realizar o ensaio.
- Consulte as respectivas Instruções de utilização e as folhas de instruções de aplicação para saber os ensaios a utilizar com a Solução de Cloreto de Cálcio.

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

CE

Definition of Symbols / Bedeutung der Symbole / Définition des symboles / Definizione dei simboli / Definición de símbolos / Definição de símbolos

	Do not reuse / Nicht zur Wiederverwendung / Ne pas réutiliser / Non riutilizzare / No reutilizar / Não reutilizar
YYYY-MM-DD	Use By / Verwendbar bis / Utiliser jusque / Utilizzare entro / Fecha de caducidad / Prazo de validade
LOT	Batch Code / Chargenbezeichnung / Code du lot / Codice del lotto / Código de lote / Código do lote
REF	Catalogue Number / Bestellnummer / Référence du catalogue / Numero di catalogo / Número de catálogo / Referência de catálogo
	Caution, consult accompanying documents / Achtung, Begleitdokumente beachten / Attention voir notice d'instructions / Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso / Atención, ver instrucciones de uso / Atenção, consulte a documentação incluída
	Manufacturer / Hersteller / Fabricant / Fabbricante / Fabricante / Fabricante
EC REP	Authorized representative in the European Community / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft / Mandataire dans la Communauté européenne / Mandatario nella Comunità Europea / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Representante autorizado na Comunidade Europeia
Σ	Contains sufficient for <n> tests / Inhalt ausreichend für <n> Tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenido suficiente para <n> ensayos / Conteúdo suficiente para "n" ensaios
	Biological Risks / Biogefährdung / Risques biologiques / Rischio biologico / Riesgos biológicos / Riscos biológicos
IVD	*In Vitro* Diagnostic Medical Device / *In Vitro* Diagnostikum / Dispositif médical de diagnostic *in vitro* / Dispositivo medico-diagnostico *in vitro* / Producto sanitario para diagnóstico *in vitro* / Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
	Temperature Limitation / Temperaturbegrenzung / Limites de température / Limiti di temperatura / Límite de temperatura / Limites de temperatura
	Consult instruction for Use / Gebrauchsanweisung beachten / Consulter les instructions d'utilisation / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte las instrucciones de uso / Consulte as instruções de utilização
NON STERILE	Non-sterile / Nicht steril / Non stérile / Non sterile / No estéril / Não estéril
CE	CE mark / CE Zeichen / Marquage CE / Marchio CE / Marca CE / Marca CE
CONTENTS	Contents / Inhalt / Contenu / Contenuto / Contenido / Conteúdo
	Reconstitution volume / Rekonstitutionsvolumen / Volume de reconstitution / Volume di ricostituzione / Volumen de reconstitución / Volume de reconstituição
LEVEL	Level / Konzentration / Niveau / Livello / Nivel / Nível
	Keep away from sunlight and heat / Vor Sonneneinstrahlung und Hitze schützen / Maintenir hors de portée de la lumière du soleil et de la chaleur / Non esporre alla luce del sole e al calore / Mantener protegido de la luz solar y del calor / Manter protegido da luz solar e do calor

© 2018 Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH.