

# Anti-Xa

Anti-Xa

**cobas**<sup>®</sup>

REF	CONTENT	SYSTEM
08083576190	▽ 100	N. d'ident. 07 2006 4 <b>cobas t 511</b> <b>cobas t 711</b>

**Italiano****Informazioni relative al sistema**

Nome abbreviato	ACN ( <i>application code number</i> – codice di applicazione)
Anti-Xa	28340

**Finalità d'uso**

Test *in vitro* per la determinazione quantitativa dell'attività anti-Xa dell'eparina non frazionata (*unfractionated heparin*: UFH) e dell'eparina a basso peso molecolare (*low molecular weight heparin*: LMWH) nel plasma citratato sugli analizzatori **cobas t** indicati. Il test è destinato all'uso come aiuto nella gestione della terapia con eparina anti-Xa.

**Sommario**

Le UFH e LMWH vengono impiegate per la prevenzione ed il trattamento di malattie tromboemboliche.<sup>1,2,3</sup> I test per l'anti-Xa sono richiesti per il monitoraggio e l'adattamento delle concentrazioni di UFH e LMWH nei pazienti. I risultati misurati riflettono l'attività dell'eparina biodisponibile e dell'antitrombina endogena del paziente.

**Principio del test**

In assenza di eparina, l'antitrombina è un inibitore lento del fattore X attivato (FXa). L'eparina induce un cambio conformazionale nel loop centrale attivo dell'antitrombina. Questo cambio conformazionale potenzia la capacità di inibizione dell'antitrombina rispetto all'FXa di almeno tre ordini di grandezza.<sup>4,5</sup>

Il reagente Anti-Xa, con una quantità costante di FXa in eccesso rispetto all'antitrombina endogena, viene aggiunto al campione. Una parte dell'FXa aggiunto è inibita dall'antitrombina attivata dall'eparina, mentre l'FXa rimanente dissocia il substrato Xa cromogenico suc-Ile-glu(piperidina-1-il)-gli-arg-pNA-HCl. La formazione di p-nitroanilina, misurata a 408 nm, è inversamente proporzionale all'attività dell'eparina nel campione.

**Reattivi – soluzioni pronte all'uso****cobas t pack**

**SR<sup>a)</sup>** Reagente di fattore Xa bovino, liquido.

**R1** Reagente di substrato cromogenico, liquido.

a) *Start reagent*: reagente starter

R1 si trova nella posizione B e SR nella posizione C.

**Precauzioni e avvertenze**

Per uso diagnostico in vitro per i professionisti del settore sanitario. Osservare le precauzioni normalmente adottate durante la manipolazione dei reagenti di laboratorio.

Rifiuti infettivi e microbici:

Avvertenza: trattare i rifiuti come materiale a potenziale rischio biologico. Smaltire i rifiuti a seconda delle istruzioni e procedure di laboratorio riconosciute.

Rischi ambientali:

Per garantire lo smaltimento sicuro, applicare tutte le normative locali rilevanti in materia di rifiuti.

Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.

Questa confezione contiene componenti classificati, secondo il Regolamento (CE) N. 1272/2008, come segue:

EUH 210 Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta.

EUH 208 Contiene una miscela di 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one e 2-metil-2H-isotiazol-3-one (3:1). Può provocare una reazione allergica.

Contatto telefonico: per tutti i paesi: +49-621-7590

L'etichettatura relativa alla sicurezza del prodotto è conforme al regolamento GHS UE.

Evitare la formazione di schiuma in tutti i reattivi e tipi di campione (campioni, calibratori e controlli).

Il produttore ha validato il test esclusivamente per la determinazione dell'attività di UFH e LMWH e non per la quantificazione di altri anticoagulanti (ad es. eparinoidi, pentasaccaridi sintetici, inibitori diretti del fattore Xa).

**Utilizzo dei reattivi**

I reattivi contenuti nella cassetta sono stati assemblati in un'unità pronta all'uso (**cobas t pack**).

Tutte le informazioni necessarie per l'utilizzo corretto sono disponibili tramite **cobas link**.

**Conservazione e stabilità**

Conservare a 2-8 °C.

Conservare il **cobas t pack** in posizione verticale.

Stabilità del **cobas t pack** integro: fino alla data di scadenza indicata.

Stabilità del <b>cobas t pack</b> aperto:	
sull'analizzatore <b>cobas t</b>	14 giorni dopo la foratura

Non congelare.

**Prelievo e preparazione dei campioni**

Solo i tipi di campioni elencati di seguito sono stati testati e risultano accettabili.

Plasma umano citratato al 3.2%.

Impiegare provette standard per prelievi di campioni in materiale plastico o in vetro siliconato. Il rapporto tra sangue (9 parti) e soluzione di citrato di sodio (0.11 M; 1 parte) deve essere esattamente rispettato.<sup>6,7</sup>

I tipi di campione elencati sono stati testati impiegando una selezione di provette per il prelievo di campioni disponibili in commercio al momento dell'analisi; non sono, quindi, state testate tutte le provette disponibili di tutte le case produttrici. Alcuni sistemi per il prelievo di campioni di vari produttori possono contenere diversi materiali e in alcuni casi possono interferire sui risultati del test. Quando si trattano i campioni in provette primarie (sistemi per il prelievo di campioni), seguire le istruzioni del produttore delle provette.

Centrifugare 15 minuti a 2500 g oppure finché il conteggio delle piastrine è < 10000 piastrine/ $\mu$ L, quindi testare i campioni entro il periodo di stabilità indicato.

Il fattore piastrinico 4 (PF4) si lega all'eparina con elevata affinità. Viene rilasciato durante l'aggregazione piastrinica e in caso di rottura delle piastrine. Nel caso del monitoraggio di una terapia eparinica, un rilascio del PF4 a causa di un prelievo non corretto del campione può provocare risultati erranei.

Stabilità:	
a 15-25 °C	2 ore
a -20 °C ( $\pm$ 5 °C)	14 giorni

Le aliquote del plasma congelato devono essere scongelate entro 5 minuti a 37 °C a bagnomaria ed omogeneizzate agitandole con cautela ed evitando la formazione di schiuma. Analizzare i campioni scongelati entro 2 ore. Non ricongelare i campioni.

**Materiali a disposizione**

Vedere la sezione "Reattivi – soluzioni pronte all'uso".

**Materiali necessari (ma non forniti)**

- [REF] 08093709190, Hep Cal Set, 5 x 1 x 1 mL
- [REF] 08093466190, LMW Hep Con, 2 x 5 x 1 mL
- [REF] 08093571190, UF Hep Con, 2 x 5 x 1 mL
- Normale attrezzatura da laboratorio
- Acqua distillata o deionizzata

Analizzatore di coagulazione **cobas t**. Per ulteriori materiali necessari consultare l'Assistenza Clienti del relativo analizzatore.

# Anti-Xa

Anti-Xa

cobas®

## Esecuzione

Per una performance ottimale dei test, attenersi alle indicazioni riportate in questo documento. Per le istruzioni specifiche dell'analizzatore relative all'esecuzione del test, consultare l'Assistenza Clienti dello strumento.

Roche non risponde delle performance delle applicazioni che non sono state validate dalla stessa Roche – tali performance devono quindi essere definite dall'utilizzatore.

## Calibrazione

Per la calibrazione, impiegare la confezione di calibratori indicata nella sezione "Materiali necessari (ma non forniti)".

Frequenza di calibrazione: è richiesta una calibrazione completa

- 1 volta per ogni lotto di reagente.
- se richiesto dai procedimenti del controllo di qualità.

Tracciabilità: questo metodo è stato standardizzato mediante diluizione degli standard del NIBSC per LMWH e UFH in un pool di plasma normale.

## Controllo di qualità

Per la verifica dell'accuratezza e della riproducibilità dei risultati è necessario l'impiego di controlli.

Per il controllo di qualità, impiegare le confezioni di controlli indicate nella sezione "Materiali necessari (ma non forniti)".

Gli intervalli ed i limiti del controllo dovranno essere conformi alle esigenze individuali di ogni laboratorio. I valori ottenuti devono rientrare nei limiti definiti. Ogni laboratorio deve definire delle misure correttive da attuare nel caso che alcuni valori siano al di fuori dei limiti definiti.

Per il controllo di qualità, attenersi alle normative vigenti e alle linee guida locali.

## Calcolo

Gli analizzatori **cobas t** effettuano il calcolo automatico dell'attività dell'analita di ogni campione.

## Limiti del metodo – interferenze

È stato testato l'effetto delle seguenti sostanze endogene e dei seguenti composti farmaceutici sulla performance del test. Non è stata osservata alcuna influenza sui risultati fino alle concentrazioni elencate:

### Sostanze endogene

Composto	Concentrazione
Bilirubina coniugata	10 mg/dL
Bilirubina non coniugata	10 mg/dL
Emoglobina	100 mg/dL
Intralipid	200 mg/dL

Criterio di valutazione: deviazione consentita  $\leq 0.45$  IU/mL:  $\leq 0.045$  IU/mL;  $> 0.45$  IU/mL:  $\leq 10\%$

Le interferenze da lipemia, emoglobina e bilirubina sono state testate secondo Glick.<sup>8</sup>

Farmaci: non si è osservata alcuna interferenza a concentrazioni terapeutiche impiegando le più comuni famiglie di farmaci.<sup>9,10</sup>

La presenza di dabigatran, streptochinasi, danaparoid sodico, oritavancina (Orbactiv), metotrexato o inibitori diretti dell'anti-Xa (per es. apixaban, edoxaban, rivaroxaban e fondaparinux) nel campione influenza i risultati del test.

Ai fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati congiuntamente con la storia clinica del paziente, con gli esami clinici e con altre evidenze cliniche.

**Cicli di lavaggio extra:** l'uso dei lavaggi extra è obbligatorio quando certe combinazioni di test vengono eseguite insieme sugli analizzatori **cobas t**. Per ulteriori istruzioni, consultare la versione più recente dell'elenco dei possibili carry-over allegato alle metodiche CLEAN e Deproteinizer e rivolgersi all'Assistenza Utente. Se richiesto, i cicli di lavaggio extra/evasione del carryover devono essere implementati prima di generare i report dei risultati con questo test.

## Limiti ed intervalli

### Intervallo di misura

UFH: 0.10-2.0 IU/mL

LMWH: 0.10-2.0 IU/mL

### Limiti inferiori di misura

Limite del bianco (LdB) = 0.08 IU/mL (UFH, LMWH)

Limite di sensibilità (LdS) = 0.09 IU/mL (UFH, LMWH)

Limite di quantificazione (LdQ) = 0.10 IU/mL (UFH, LMWH)

L'LdB e l'LdS sono stati determinati in conformità ai requisiti EP17-A2 del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*).<sup>11</sup>

Il limite del bianco corrisponde al valore del 95° percentile ottenuto in n = 60 misurazioni di campioni privi di analiti in varie serie indipendenti l'una dall'altra. Il limite del bianco corrisponde alla concentrazione al di sotto della quale si riscontrano campioni privi di analiti con una probabilità del 95 %.

Il limite di sensibilità viene determinato in base al limite del bianco e alla deviazione standard dei campioni con concentrazioni basse. Il limite di sensibilità corrisponde alla concentrazione minima dell'analita che può essere rilevata (valore superiore al limite del bianco con una probabilità del 95 %).

Il limite di quantificazione è definito come la quantità minima dell'analita in un campione che può essere accuratamente quantificata con un errore relativo totale consentito  $\leq 30\%$ .

### Dati specifici sulla performance del test

Qui di seguito sono riportati i dati rappresentativi delle prestazioni sugli analizzatori. I risultati dei singoli laboratori possono differire da questi.

### Precisione

La ripetibilità e la precisione intermedia sono state determinate usando campioni umani e controlli, eseguiti in conformità ai requisiti EP05 del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) (2 aliquote per serie, 2 serie al giorno, 21 giorni). Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Campione	Ripetibilità			Precisione intermedia	
	Media (IU/mL)	DS (IU/mL)	CV (%)	DS (IU/mL)	CV (%)
LMWH HepCon L	0.355	0.0104	2.9	0.0156	4.4
LMWH HepCon H	0.930	0.0124	1.3	0.0225	2.4
UF HepCon L	0.262	0.00714	2.7	0.0132	5.0
UF HepCon H	0.613	0.00798	1.3	0.0171	2.8
Plasma con LMWH 1	0.195	0.00997	5.1	0.0129	6.6
Plasma con LMWH 2	0.489	0.0116	2.4	0.0147	3.0
Plasma con LMWH 3	0.819	0.0136	1.7	0.0181	2.2
Plasma con LMWH 4	1.21	0.0140	1.2	0.0198	1.6
Plasma con LMWH 5	1.42	0.0176	1.2	0.0240	1.7
Plasma con LMWH 6	1.75	0.0152	0.9	0.0217	1.2
Plasma con UFH 1	0.148	0.00721	4.9	0.0161	10.9
Plasma con UFH 2	0.308	0.00728	2.4	0.0149	4.8
Plasma con UFH 3	0.625	0.00949	1.5	0.0196	3.1
Plasma con UFH 4	0.982	0.0106	1.1	0.0170	1.7
Plasma con UFH 5	1.34	0.0127	0.9	0.0213	1.6

# Anti-Xa

Anti-Xa

**cobas**<sup>®</sup>

Campione	Ripetibilità			Precisione intermedia	
	Media (IU/mL)	DS (IU/mL)	CV (%)	DS (IU/mL)	CV (%)
Plasma con UFH 6	1.55	0.0160	1.0	0.0240	1.6

**Confronto tra metodi**

Il confronto del test Anti-Xa sull'analizzatore **cobas t 711** (y) con un test di coagulazione automatico (x) ha prodotto le seguenti correlazioni (IU/mL): Numero dei campioni misurati: 101 (UFH), 106 (LMWH)

**UFH**Deming<sup>12</sup>

$$y = 0.934x - 0.0527 \text{ IU/mL}$$

$$r = 0.998$$

I livelli di UFH impiegando il reagente Anti-Xa erano compresi fra 0.114 e 1.35 IU/mL.

**LMWH**Deming<sup>12</sup>

$$y = 1.004x - 0.0754 \text{ IU/mL}$$

$$r = 0.996$$

I livelli di LMWH impiegando il reagente Anti-Xa erano compresi fra 0.108 e 1.50 IU/mL.

**Letteratura**

- 1 Van den Besselaar AMHP, Sturk A, Reijnerse GLA. Monitoring of unfractionated heparin with the activated partial thromboplastin time: determination of therapeutic ranges. *Thrombosis Research* 2002; 107: 235-240.
- 2 Büller HR, Agnelli G, Hull RD et al. Antithrombotic Therapy for Venous Thromboembolic Disease: The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 2004; 126 (3): 401S-428S.
- 3 King CS, Holley AB, Jackson JL et al. Twice vs three times daily heparin dosing for thromboembolism prophylaxis in the general medical population: A meta analysis. *Chest* 2007; 131 (2): 507-516.
- 4 Johnson DJ, Langdown J, Li W et al. Crystal structure of monomeric native antithrombin reveals a novel reactive center loop conformation. *J. Biol. Chem.* 2006;281(46):35478-35486.8.
- 5 Olson ST, Chuang YJ. Heparin Activates Antithrombin Anticoagulant Function by Generating New Interaction Sites (Exosites) for Blood Clotting Proteinases *Trends Cardiovasc Med.* 2002;12: 331-338.
- 6 CLSI Document H21-A5, Vol.28, No.5, 2008. Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline, 5th edition.
- 7 CLSI Document H3-A6. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard - Sixth Edition, vol. 27, No. 26, 2007.
- 8 Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470-475.
- 9 Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996;34:385-386.
- 10 Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. *Ann Clin Biochem* 2001;38:376-385.
- 11 CLSI Document EP17-A2. Evaluation of Detection Capability for Clinical. Laboratory Measurement Procedures. Vol. 32, No. 8, 2012. Approved standard, 2nd Edition.
- 12 Martin RF. General Deming Regression for Estimating Systematic Bias and its Confidence Interval in Method Comparison Studies. *Clinical Chemistry* 2000; 46(1): 100-104.

In questa metodica, per separare la parte intera da quella frazionaria in un numero decimale si usa sempre il punto. Il separatore delle migliaia non è utilizzato.

Per ulteriori informazioni, consultare l'Assistenza Clienti appropriata per il relativo analizzatore e le metodiche di tutti i componenti necessari.

Esiste la necessità di segnalare qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo sia al fabbricante che all'autorità competente dello Stato membro in cui l'utilizzatore e/o il paziente è stabilito.

Il riassunto del rapporto su sicurezza e prestazioni (*Summary of Safety & Performance Report: SS&PR*) è disponibile nel seguente sito web: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

**Simboli**

Oltre a quelli indicati nello standard ISO 15223-1, Roche Diagnostics impiega i seguenti simboli (per gli USA: per la definizione dei simboli impiegati, vedere [dialog.roche.com](http://dialog.roche.com)):

	Contenuto della confezione
	Analizzatori/strumenti su cui i reagenti possono essere usati
	Reagente
	Calibratore
	Volume per la ricostituzione
	Global Trade Item Number

Le aggiunte, cancellazioni o modifiche sono indicate mediante una linea verticale posizionata al margine.

© 2023, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim  
[www.roche.com](http://www.roche.com)

+800 5505 6606

