



## BIOPHEN™ Heparin LRT

IVD

REF 221011 R1 R2 4 lahvičky x 7,5 ml

REF 221013 R1 R2 3 lahvičky x 3 ml

REF 221015 R1 R2 4 lahvičky x 5 ml

Anti-Xa



# HYPHEN BioMed

155 rue d'Eragny, 95000 Neuville-sur-Oise, France

Tél : +33 (0)1 34 40 65 10

Fax : +33 (0)1 34 48 72 36

www.hyphen-biomed.com

info@hyphen-biomed.com

Poslední revize: 01-2025

### POUŽITÍ:

Chromogenní metoda anti-Xa pro kvantitativní stanovení *in vitro* inhibitorů faktoru Xa (FXa) v lidské citrátové plazmě použitím automatizované metody. Tato metoda slouží k monitorování pacientů léčených heparinem (UFH/LMWH), Arixtra®, Orgaran®, a k monitorování antikoagulačního stavu v rámci specifických klinických situací u pacientů léčených perorálními antikoagulanty (Apixaban, Rivaroxaban a Edoxaban). Tato pomůcka pro diagnostické použití *in vitro* je určena pro profesionální používání v laboratořích.

### SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ:

**Technické**<sup>1,2, 4-7, 12-14</sup>:

Heparin je sulfátovaný polysacharid s vysokou afinitou k antitrombinu (AT). Když je v komplexu s heparinem, vykazuje AT rychle působící a silnou inhibiční aktivitu pro koagulační serin-esterázy: IXa, Xa a trombin. Nízkomolekulární heparin (LMWH) a analogy heparinu, jako je danaparoid sodný, inhibují FXa účinněji než trombin. Testy anti-Xa lze pak zvolit pro měření heparinů a jejich analogů.

BIOPHEN™ Heparin LRT je anti-Xa chromatogenní metody vyvinuté pro měření homogenně nefrakčních heparinů (UFH) a LMWH pomocí stejné kalibrační křivky. Tato metoda je užitečná i pro stanovení anti-Xa aktivity nepřímých inhibitorů Orgaran® (danaparoid sodný) a Arixtra® (Fondaparinux), jejichž aktivita je zprostředkována plazmovým AT, a pro stanovení přímých anti-Xa inhibitorů (Rivaroxaban, Apixaban a Edoxaban) pomocí specifických kalibrací.

**Klinické**<sup>4-9, 12-14</sup>:

Heparinové antikoagulanty (UFH a LMWH) se aktuálně používají pro léčebnou nebo preventivní indikaci. Ve specifických případech lze použít alternativní terapii pomocí antikoagulantů (Orgaran® a Arixtra®). Měření koncentrace těchto léků v plazmě pacienta umožňuje monitorování léčby a úpravu dávkování léků.

Rivaroxaban, Apixaban a Edoxaban jsou přímé orální antikoagulanty (DOAC) používané pro stejné indikace. Ačkoli u léčených pacientů není monitorování nutné, může být v některých případech užitečné měření v lidské plazmě, zejména v případě urgentního chirurgického zákroku nebo podezření na předávkování (riziko krvácení).

### PRINCIP:

Metoda BIOPHEN™ Heparin LRT je jednofázovým chromogenním testem založeným na inhibici konstantního množství a nadměrného množství FXa heparinem (nebo jinou anti-Xa látkou) určeným k testu za přítomnosti endogenního AT. Reziduální FXa hydrolyzuje specifický chromogenní substrát (CS-11(32)) uvolňováním paranitroanilinu (pNA)<sup>3</sup>. Množství uvolněného pNA (měřené absorbcí při vlnové délce 405 nm) je nepřímě úměrné koncentraci heparinu (nebo jiné anti-Xa látky) přítomného v reakčním médiu.

### REAGENCIE:

**R1 chromogenní substrát specifický pro faktor Xa (CS-11(32))** v koncentraci přibližně 2 mg/ml, kapalná forma. Obsahuje 5-chloro-2-metyl-2H-izotiazol-3-jedna a 2-metyl-2H-izotiazol-3-jedna. Obsahuje konzervanty a stabilizátory.  
**Upozornění!** H317: Může způsobovat alergickou reakci kůže.

**R2 bovin faktor Xa** v koncentraci přibližně 4,5 U/ml, kapalná forma. Obsahuje BSA a sulfát dextranu<sup>10</sup>. Obsahuje konzervanty a stabilizátory.

Je-li to nutné, koncentrace faktoru Xa se upraví pro každou dávku, aby se dosáhlo optimální reaktivity a linearitu pro test.

### UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ:

- Toto zařízení obsahuje materiál živočišného původu a mělo by se s ním zacházet jako s možným nosičem a přenosem nemoci.
- Používejte pouze reagenty ze stejné série soupravy.
- Odpad musí být likvidován v souladu s příslušnými místními předpisy.
- Jakýkoli závažný incident, ke kterému došlo v souvislosti s prostředkem, musí být nahlášen výrobcí a příslušnému orgánu členského státu, ve kterém sídlí uživatel nebo pacient.
- Souhrn bezpečnosti a výkonu (SSP) je k dispozici v evropské databázi zdravotnických prostředků (viz veřejný web Eudamed: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> nebo na vyžádání u společnosti HYPHEN BioMed).
- Přečtěte si bezpečnostní list (BL), který je k dispozici na stránce [www.hyphen-biomed.com](http://www.hyphen-biomed.com).
- P261: Zabraňte vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/páry/aerosolu.
- P280: Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí / ochranu obličeje.
- P333 + P313: Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/péči.

### PŘÍPRAVA REAGENCIÍ:

**R1 R2** Reagenty je připravená k použití; homogenizujte, zabraňte vytváření pěny, a vložte ji přímo do analyzátoru podle instrukcí uvedených v návodu k použití.

### SKLADOVÁNÍ A STABILITA:

Neotevřené reagenty musí být skladovány při teplotě 2-8 °C ve svém originálním balení. Za těchto podmínek mohou být používány až do doby expirace vytištěné na soupravě.

**R1 R2** Stabilita reagenty po rekonstituci bez jakýchkoli kontaminací nebo vypařování a skladované uzavřené je:

- 90 dní při teplotě 2-8 °C.
- Stabilita v analyzátoru: viz příslušný návod k použití.

Žluté zbarvení značí kontaminovaný substrát. Lahvičku zlikvidujte a použijte novou.

### POŽADOVANÉ REAGENCIE A MATERIÁL (NEJSOU SOUČÁSTÍ SOUPRAVY):

- Isotonic Sample Diluent (AR034K/AR034L) nebo Fyziologický slaný roztok (0,9 % NaCl).
- Volitelně: Pufr Tris-NaCl-EDTA, pH 7,85 (AR032A/AR032K), speciální ředící pufr potlačující rušení heparinu, v běžných koncentracích, v testech přímých inhibitorů FXa.
- Specifické kalibrátory a kontroly se známou titrací, jako jsou:

Kalibrátory	BIOPHEN™ Apixaban Calibrator / Calibrator Low	BIOPHEN™ Rivaroxaban Plasma Calibrator / Calibrator Low	BIOPHEN™ Edoxaban Calibrator / Calibrator Low
Reference	226201 / 226101	222701 / 226001	226501 / 226401
Kontroly	BIOPHEN™ Apixaban Control / Control Low	BIOPHEN™ Rivaroxaban Control Plasma / Control Low	BIOPHEN™ Edoxaban Control / Control Low
Reference	225301 / 225201	224501 / 225101	225501 / 225401

Kalibrátory	BIOPHEN™ UFH Calibrator	BIOPHEN™ Heparin Calibrator	BIOPHEN™ Orgaran™ Calibrator	BIOPHEN™ Arixtra™ Calibrator
Reference	222301	222001	222201	222501
Kontroly	BIOPHEN™ UFH Control	BIOPHEN™ LMWH Control / Control Low	BIOPHEN™ Orgaran™ Control	BIOPHEN™ Arixtra™ Control Plasma
Reference	223101 / 224101 / 223901	223001 / 223801 / 224201 / 223701 / 224301 / 224401	223501	224001

- Automatický analyzátor pro chromatické testy, jako např.: řada CS, Řada STA-R®, skupina ACL-TOP®, řada CN.
- Laboratorní materiál.

Vezměte prosím na vědomí, že aplikace na jiných analyzátoch mohou být ověřeny výrobcem přístroje v souladu s požadavky NAŘÍZENÍ (EU) č. 2017/746 na jeho odpovědnost, pokud není změněn účel použití.

### NÁVAZNOST:

Certifikáty sledovatelnosti a návody k použití výše uvedených kalibrátorů a kontrol jsou k dispozici na webových stránkách společnosti HYPHEN BioMed. Další informace naleznete v návodu k použití výše uvedených kalibrátorů a kontrol.

### ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU:

Odběr, příprava a skladování plazmy chudé na trombocyty (PPP) by měly být prováděny podle laboratorních nebo jiných validovaných metod<sup>16-18,21</sup>. Krev (9 dílů) musí být opatrně odebrána do antikoagulantu citrátového (1 díl) (0,109 M, 3,2 %) přímou venepunkcí. CLSI H21-A5<sup>15</sup> a studie<sup>21</sup>:

- Plazma by neměla zůstat při pokojové teplotě déle než 4 hodiny.
- Pokud nebudou testy dokončeny do 4 hodin, měla by být plazma zmrazena při teplotě -20 °C nebo nižší.
- Vzorky plazmy by měly být rozmrazeny při 37 °C, a to pouze jednou.

### POSTUP:

Společnost HYPHEN BioMed poskytuje aplikační příručky pro definované skupiny koagulačních analyzátorů. Aplikační příručky obsahují specifické informace o manipulaci a výkonu analyzátorů/zkoušky a doplňují informace uvedené v tomto návodu k použití.

### KONTROLA KVALITY:

Použití kontrol kvality slouží k validaci shody metod spolu s homogenitou testu mezi sériemi pro danou sadu reagentů.

Za účelem validace testu zahrňte kontroly kvality do každé série podle správné laboratorní praxe. Nová kalibrační křivka by měla být definována nejlépe pro každou sérii testů a alespoň pro každou novou sérii reagentů nebo po údržbě analyzátoru, nebo když měřené hodnoty kontroly kvality spadají mimo akceptovatelný rozsah pro danou metodu. Každá laboratoř si musí definovat a ověřovat vlastní akceptovatelný rozsah v daném analytickém systému.

### VÝSLEDKY:

- Koncentrace heparinu (nebo jiné anti-Xa molekuly) v testovaném vzorku je odvozena přímo z kalibrační křivky, pokud je použita standardní diluce.
- Výsledky jsou vyjádřeny v mezinárodních jednotkách / ml (IU/ml) pro heparin, v U/ml pro Orgaran®, v µg/ml pro Arixtra® nebo v ng/ml pro Rivaroxaban, Apixaban a Edoxaban.
- Variabilita mezi šaržemi měřená na 3 šaržích je: % CV < 1,0 %
- Výsledky by měly být interpretovány podle klinického a biologického stavu pacienta.

### OMEZENÍ:

- K zajištění optimálního výkonu testu a splnění specifikací je nutné se řídit technickými instrukcemi ověřenými společnostmi HYPHEN BioMed.
- Jakákoli reagenty, která nevykazuje čirý vzhled nebo vykazuje známky kontaminace, musí být odmítnuta.
- Jakékoliv podezřelý vzorek nebo ty, které vykazují známky aktivace, nesmí být použity.

- Vysoce koncentrované vzorky mohou být předředy ve směsi normálních plazmat. Naměřené koncentrace by pak měly být vynásobeny doplňkovým ředícím faktorem.
- U některých pacientů s amyloidózou bylo hlášeno podhodnocení koncentrace heparinu a rezistence na heparin<sup>11</sup>.
- Pokud se používá jedinečná křivka (LMWH/UFH), zkontrolujte, zda použitý přístroj a návod k použití umožňují superpozici mezi kalibrací LMWH a UFH podle kritéria návodu k použití.
- Uživatelem definované úpravy nejsou společností HYPHEN BioMed podporovány, protože mohou ovlivnit výkon systému a výsledky testu. Je odpovědností uživatele ověřit úpravy těchto pokynů nebo použití reagentů v analyzátoch jiných, než které jsou uvedeny v návodech k použití HYPHEN BioMed nebo v těchto pokynech k použití.
- Aktivace krve během odběru a přípravy plazmy může vyvolat uvolnění destiček faktoru 4 (PF4).
- V případě podávání antidota andexanetu alfa se uvádí, že komerční testy aktivity anti-FXa nejsou vhodné pro měření aktivity anti-FXa<sup>20</sup>. V těchto testech dochází k disociaci inhibitoru FXa od andexanetu alfa. To má za následek detekci chybně zvýšených hladin aktivity anti-FXa a následně značné podhodnocení reverzní aktivity andexanetu alfa. Údaje za použití testu BIOPHEN™ Heparin LRT nebyly stanoveny.

#### OČEKÁVANÉ HODNOTY:

Anti-Xa léky nejsou v běžné plazmě přítomné. Pro každý anti-Xa lék by měl být běžný rozsah, terapeutický rozsah a rozsah s rizikem krvácení definován podle aktuálních místních doporučení.

#### CHARAKTERISTIKA:

Výkonové studie byly provedeny podle popisu ve směrnici CLSI. Následující výkonová data představují typické výsledky a nejsou považovány za specifikace pro BIOPHEN™ Heparin LRT. Matematické analýzy jsou provedeny pomocí validovaného statistického softwaru vytvořeného v souladu se směrnici CLSI. Všechny výkony jsou zdokumentovány v příslušných aplikačních příručkách jednotlivých analyzátorů.

#### Analytická charakteristika

##### Měřicí rozsah

Měřicí rozsah je definován použitým systémem analyzátoru a je zdokumentován v příslušných návodech k použití analyzátorů.

##### Přesnost

Studie přesnosti byly posouzeny pomocí laboratorních kontrol a špičkových směsných plazmat. Variační koeficient (CV) pro všechny vzorky je menší než 10,0 % pro opakovatelnost, menší než 10,0 % pro reprodukovatelnost a menší než 10,0 % pro vnitrolaboratorní měření. Přesnost je zdokumentována v příslušných návodech k použití přístrojů.

##### Interferující látky

Interference jsou definovány použitým systémem analyzátoru a jsou zdokumentovány v příslušných návodech k použití analyzátorů.

Na základě principu testu se očekává interference léku anti-IIa.

S puřem Tris-NaCl-EDTA, pH 7,85, se neočekává žádná interference heparinu (UFH, LMWH) v testu přímých inhibitorů FXa až do koncentrace 2 IU/ml.

PF4 je inhibitor heparinu a tento test byl navržen k omezení interference PF4 až do koncentrace 0.1 µg/ml.

Pokud je koncentrace antitrombinu (AT) v testované plazmě ≤ 50 %, může být heparin (UFH a LMWH), Arixtra® nebo Orgaran® podhodnocen. Vysoké koncentrace AT (> 170 %) interferují s tímto testem.

#### Klinické charakteristiky

##### Shoda

Skupina ACL-TOP®				
Analyt	n	Lineární regrese	r	Reference / srovnávací metoda
UFH	145	y = 1,06x + 0,08	0,978	HemosIL® kapalný anti-Xa
LMWH	142	y = 1,28x + 0,03	0,992	HemosIL® kapalný anti-Xa
Orgaran®	163	y = 1,08x - 0,01	0,995	HemosIL® kapalný anti-Xa
Arixtra®	153	y = 1,00x + 0,05	0,992	HemosIL® kapalný anti-Xa
Apixaban	150	y = 0,90x + 10,72	0,994	HemosIL® kapalný anti-Xa
Rivaroxaban	153	y = 1,20x + 0,66	0,995	HemosIL® kapalný anti-Xa

##### Řada STA-R®

Analyt	n	Lineární regrese	r	Reference / srovnávací metoda
Edoxaban	152	y = 0,82x + 4,11	0,966	STA® – kapalný Anti-Xa

##### řada CS

Analyt	n	Lineární regrese	r	Reference / srovnávací metoda
UFH/LMWH (vs Heparin Calibrator)	182	y = 1,09x + 0,06	0,959	INNOVANCE® Anti-Xa

#### Citlivost/specifičnost

Skupina ACL-TOP®					
Analyt	n	Citlivost	Specifičnost	Plocha pod křivkou	
UFH	145	0,939	1,000	0,999	
LMWH	142	0,970	0,991	0,998	
Orgaran®	163	0,970	0,969	0,991	
Arixtra®	153	0,970	1,000	1,000	
Apixaban	150	1,000	0,966	0,995	
Rivaroxaban	153	1,000	0,996	0,996	
Analyt	n	PPV	NPV	LR+	LR-
UFH	145	100%	100%	+∞	0,000
LMWH	142	99%	97%	32,7	0,009
Orgaran®	163	99%	87%	31,7	0,040
Arixtra®	153	99%	97%	32,7	0,009
Apixaban	150	100%	89%	+∞	0,034
Rivaroxaban	153	100%	89%	+∞	0,033

Řada STA-R® family					
Analyt	n	Sensitivity	Specificity	Area under the curve ROC	
Edoxaban	152	1.000	0.958	1.000	
Analyt	n	PPV	NPV	LR+	LR-
Edoxaban	152	100%	85%	+∞	0,050

PPV: Prediktivní hodnota pozitivního výsledku LR+: Poměr pravděpodobností+  
NPV: Prediktivní hodnota negativního výsledku LR-: Poměr pravděpodobností-

#### REFERENCE:

1. Hemker HC and Beguin S. The mode of action of heparin In-vitro and in-vivo. Adv Exp Med Biol (1992).
2. Berry L. et al. Investigation of the anticoagulant mechanism of a covalent antithrombin-heparin complex J Biol Chem (1998).
3. Marlowe CK et al. Design synthesis and structure activity relationship of a series of arginine aldehydes factor Xa Inhibitors. Part 1: structures based on the (D)-Arg-Gly-Arg tripeptide sequence. Bioorg Med Chem Lett (2000).
4. Gosselin, R. C et al. An update on laboratory assessment for direct oral anticoagulants (DOACs). Int J Lab Hematol. (2019).
5. Samuelson, B. T. et al. Laboratory Assessment of the Anticoagulant Activity of Direct Oral Anticoagulants: A Systematic Review. Chest. (2017).
6. Douxfils J. et al. Laboratory testing in patients treated with direct oral anticoagulants: a practical guide for clinicians. J Thromb Haemost. (2018).
7. Cuker A. Laboratory measurement of the non-vitamin K antagonist oral anticoagulants: selecting the optimal assay based on drug, assay availability, and clinical indication. J Thromb Thrombolysis (2016).
8. Witt D. M. et al. American Society of Hematology 2018 guidelines for management of venous thromboembolism: optimal management of anticoagulation therapy. Blood (2018).
9. Levy J. H. et al. When and how to use antidotes for the reversal of direct oral anticoagulants: guidance from the SSC of the ISTH. J Thromb Haemost (2016).
10. Lyon SG et al. Modification of an Amidolytic Heparin Assay to Express Protein-Bound Heparin and to Correct for the Effect of Antithrombin III Concentration. Thromb Hemost (1987).
11. Christiansen J and Lindqvist B. Heparin resistance in amyloidosis. Acta Med Scand (1967).
12. Bhatt M. D. et al. How to use unfractionated heparin to treat neonatal thrombosis in clinical practice. Blood Coagul Fibrinolysis (2016).
13. Babin J. L. et al. Laboratory Monitoring of Low-Molecular-Weight Heparin and Fondaparinux. Semin Thromb Hemost (2017).
14. Gray E. et al. Heparin and low-molecular-weight heparin. Thromb Haemost. (2008)
15. CLSI Document H21-A5: „Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline“ (2008).
16. Douxfils J. et al. Non-VKA Oral Anticoagulants: Accurate Measurement of Plasma Drug. BioMed Research International. (2015).
17. Mauge L. and Alhenc-Gelas M. Stabilité pré-analytique des paramètres de la coagulation: revue des données disponibles. Ann Biol Clin. (2014)
18. Birri N et al. Stability of low molecular weight heparin anti-factor Xa activity in citrated whole blood and plasma. Br J Haematol (2011).
19. Commercial anti-FXa activity assays are unsuitable for measuring anti-FXa activity following administration of andexanet alfa. European Medicine Agency [Internet]. 2020 Jun [cited 2020 Jun 17]. Available from <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/dhpc/ondexxya-andexanet-alfacommercial-anti-fxa-activity-assays-are-unsuitable-measuring-anti-fxa>
20. Tomoda H. et al. Andexanet Alfa for Bleeding with Factor Xa Inhibitors. NEngl J Med. (2019).
21. Ieko M. et al. Expert consensus regarding standardization of sample preparation for clotting time assays. Int J Hematol. 2020.

Elektronická verze návodu (jiné jazyky) je k dispozici na webových stránkách [www.hyphen-biomed.com](http://www.hyphen-biomed.com).

Informace o zákaznické podpoře nebo aplikačních příručkách získáte od místního poskytovatele nebo distributora (viz [www.hyphen-biomed.com](http://www.hyphen-biomed.com)).

Změny ve srovnání s předchozí verzí.

Na označení výrobku se mohou objevit následující symboly:

<b>REF</b>	Katalogové číslo	<b>LOT</b>	Kód šarže	<b>IVD</b>	Diagnostický zdravotnický prostředek in-vitro
<b>Rx</b>	Číselná <x> identifikace reagentie		Viz návod k použití	<b>WHO STD</b>	Kód normy WHO
	Omezení teploty		Výrobce		RRRR-MM-DD Použijte do
<b>CE</b> XXXX	Označení shody CE s identifikačním číslem certifikačního orgánu.		Rekonstituční objem	<b>CONTENTS</b>	Obsah
<b>Cx</b>	Číselná <x> identifikace kontroly		Viz pokyny v příručce pro metody aplikace	<b>CONTAINS</b>	Obsahuje
<b>EXP</b>	Datum expirace		Obsah postačuje pro <n> testů	<b>UNIT</b>	Měrná jednotka
<b>TARGET VALUE</b>	Cílová hodnota		Uchovávejte mimo dosah slunečního záření a zdrojů tepla	<b>CALx</b>	Číselná <x> identifikace kalibrátoru
<b>UDI</b>	Jedinečná identifikátor prostředku		Obsahuje biologický materiál živočišného původu		Obsahuje lidskou krev nebo deriváty plazmy
<b>DANGER</b>	Nebezpečí	<b>WARNING</b>	Upozornění	<b>UK CA</b>	Označení shody UKCA
	Biologická rizika	<b>ACCEPTANCE RANGE</b>	Akceptační rozsah		