SIEMENS

OTXWG17E0501A (426)

Coagulation Factor VIII, IX, XI and XII Deficient Plasmas

FACTOR VIII DEFICIENT, FACTOR IX DEFICIENT, FACTOR XI DEFICIENT, FACTOR XII DEFICIENT

See shaded sections - updated information versus edition from August 2003

Intended Use

In vitro diagnostic reagents for the determination of the activity of coagulation factors VIII, IX, XI and XII in human plasma by coagulometric methods.

Summary and Explanation

The determination of coagulation factors VIII, IX, XI and XII in plasma is indicated in the following cases:

- for clarifying the cause of a prolonged partial thromboplastin time,
- for diagnosing congenital[1] or acquired factor deficiency states,
- for distinguishing between dysproteinemias and protein synthesis disorders (in conjunction with immunochemical methods).

Furthermore, the determination of the activity of coagulation factors VIII and IX is employed for monitoring substitution therapy with Factor VIII or Factor IX concentrates in hemophilia A or B[2]. The determination of Factor IX is also of importance in the diagnosis of consumption coagulopathy, hepatic cirrhosis and to achieve more precise monitoring of oral anticoagulant therapy[3]. Detection of an activation of the contact phase of blood coagulation can be achieved by measuring the activity of Factors XI and XII[4].

Principle of the Method

A plasma deficient in any of the factors comprising the intrinsic pathway will result in a prolonged partial thromboplastin time (APTT). Coagulation factor deficient plasma can be used to confirm a factor deficiency, in general, and to identify and quantify coagulation factor deficiency in patient plasma. A mixture of the respective factor deficient plasma and the patient plasma is tested in the APTT assay, and the result is interpreted using a reference curve obtained with dilutions of Standard Human Plasma or a normal plasma pool mixed with the deficient plasma. A patient plasma deficient in a specific factor will not be able to compensate for the absence of the factor in the corresponding coagulation factor deficient plasma and therefore result in a prolonged APTT.

Reagents

Materials provided

Coagulation Factor VIII Deficient Plasma, REF *OTXW,*
8 x ⟶ 1 mL FACTOR VIII DEFICIENT, Coagulation Factor VIII Deficient Plasma or
Coagulation Factor IX Deficient Plasma, REF, *OTXX,*
8 x ⟶ 1 mL FACTOR IX DEFICIENT, Coagulation Factor IX Deficient Plasma or
Coagulation Factor XI Deficient Plasma, REF, *OSDF,*
3 x ⟶ 1 mL FACTOR XI DEFICIENT, Coagulation Factor XI Deficient Plasma or
Coagulation Factor XII Deficient Plasma, REF, *OSDG,*
3 x ⟶ 1 mL FACTOR XII DEFICIENT, Coagulation Factor XII Deficient Plasma

Composition

Coagulation Factor Deficient Plasmas are lyophilized human plasmas with a residual Factor VIII, IX, XI or XII activity of ≤ 1 %. The deficient plasmas are manufactured by immunoadsorption from normal plasma and are free from antigen of the respective factor. Fibrinogen is present in a quantity of at least 1 g/L, and the remaining coagulation factors are present in an activity greater than 40 % of the norm. The plasmas contain mannitol (20 g/L) as a stabilizer.

Warnings and Precautions

1. For *in vitro* diagnostic use only.
2. 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.

Preparations of the Reagents

Deficient Plasmas: Dissolve the contents of a vial with 1 mL of distilled or deionized water. Before use, let stand at least 15 minutes at +15 to +25 °C, then shake carefully to mix (without foam formation). Mix carefully once more before using.

APTT reagents: Use according to the respective Instructions for Use.

Calcium chloride solution 0.025 mol/L: warm to +37 °C (not required for automated coagulation systems with heated reagent probes).

Storage and Stability

If stored unopened at +2 to +8 °C, Coagulation Factor Deficient Plasmas can be used up to the expiry date indicated on the label.

Stability after reconstitution:

at +15 to +25 °C	8 hours
at -20 °C	4 weeks

Coagulation Factor Deficient Plasmas can be frozen and thawed once after reconstitution without a loss of coagulation activity. The plasma must be well sealed and frozen as quickly as possible. Thawing should be accomplished at +37 °C within 10 minutes. Thawed plasma should be used within 2 hours when held at +15 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

Pathromtin* SL, REF OQGS or
Dade® Actin® Activated Cephaloplastin Reagent, REF B4218-1, -2 or
Dade® Actin® FS, REF B4218-20, -100 or
Dade® Actin® FSL, REF B4219
Calcium chloride solution 0.025 mol/L, REF ORHO
Imidazole Buffer Solution, REF OQAA or
Dade® Owren's Veronal Buffer, REF B4234 or
Dade® CA System Buffer, REF B4265 or
Physiological Saline Solution
Standard Human Plasma, REF ORKL
Control Plasma N, REF ORKE
Control Plasma P, REF OUPZ

Equipment

Coagulation Factor Deficient Plasmas 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 this 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!

Specimens

To obtain the plasma, carefully mix 1 part sodium citrate solution (0.11 mol/L) with 9 parts venous blood, avoiding the formation of foam. Centrifuge the blood specimen at 1500 x g for no less than 15 minutes at room temperature[5].

Stability of the samples:

+15 to +25 °C	3 hours
-20 °C	4 weeks, for Factor VIII determination, 2 weeks

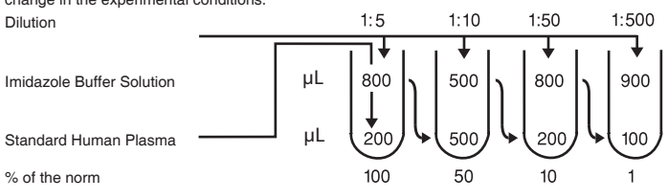
Plasma stored at -20 °C is to be thawed in a water bath within 10 minutes at +37 °C, mixed gently and then tested immediately. If testing cannot be performed immediately, the specimen may be held for a maximum of two hours at +4 °C until tested[5].

Procedure

Manual Testing (For Automated Testing see „Equipment")

Establishment of the reference curve:

Use either Standard Human Plasma or fresh citrated pooled plasma from no less than 10 healthy donors. Using Imidazole Buffer Solution, prepare dilutions as shown in the following scheme and determine the coagulation times as described under "Work flow". The reference curve must be re-generated if there is a change in the instrument or in the lot of reagent used, or if there is any change in the experimental conditions.



Additional dilutions can be prepared if necessary. Plot the measured coagulation times (ordinate) on log graph paper against the corresponding percentage factor activities (abscissa). The coagulation times are dependent on the measurement principle and thus also on the coagulation analyzer used. Therefore, each laboratory must establish its own reference curve.

Work flow:

Dilute the plasma sample 1:5 in Imidazole Buffer Solution (bring to room temperature (+15 to +25 °C)) immediately before the measurement.

Pipette into a test tube prewarmed to +37 °C:

Deficient Plasma	100 µL
Sample dilution	100 µL
APTT reagent	100 µL
Incubate at +37 °C	2 minutes
Calcium chloride solution (prewarmed to +37 °C)	100 µL

On adding the calcium chloride solution, start the stopwatch or timer on the coagulometer and determine the coagulation time.

Results

Read the coagulation factor content from the reference curve in % of the norm. If the given nominal value of the Standard Human Plasma is not 100 % of the norm, but e.g. only 95 %, multiply the result read from the curve by 0.95. In the case of coagulation times which correspond to a coagulation factor content of more than 100 % of the norm, further determination will be required using higher dilutions of specimen (e.g. 1:10). The percentage of norm value read from the reference curve for such a higher dilution must be multiplied by a correction factor corresponding to the dilution; e.g. for a dilution of 1:10 by a correction factor of 2.

Internal Quality Control

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

Two levels of quality control material (normal and pathologic range) have to be measured at start of the test run, with each calibration, upon reagent vial changes and at least every eight hours on each day of testing.The controls should be processed just like the samples. Each laboratory should establish 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 confidence ranges established in the laboratory. If the control values lie outside the confidence range determined beforehand, then the reagent, calibration curve and coagulation analyzer should be checked. Patient results must not be released until the cause of the deviation is identified and corrected.

Limitations of the Procedure

Therapeutic doses of hirudin or other direct thrombin inhibitors lead to an erroneously lower factor activity[6,7].

Specific inhibitors against plasmatic coagulation factors may also modify the real factor activity[8].

Partial activation of the coagulation factors due to incorrect sample handling can lead to falsely elevated single factor results. In single factor determination, lupus anticoagulant can affect the apparent factor activity. Non-parallelism upon dilution may occur when a lupus anticoagulant is present in the test sample[9].

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 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[10]

Factor VIII:	70 – 150 % of the norm
Factor IX:	70 – 120 % of the norm
Factor XI:	70 – 120 % of the norm
Factor XII:	70 – 150 % of the norm

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.

Specific Performance Characteristics

Measuring range

The measuring range for the determination of coagulation factors VIII, IX, XI and XII extends from 1 to approximately 100 % of the norm, and can be increased to approximately 200 % by using a higher dilution of sample (see above).

Method comparison
In a study, the determination of factors VIII, IX, XI and XII on the BFA* System was compared to another coagulation analyzer. The correlations resulted in the following:

	n	r	slope	y-axis intercept (% of the norm)
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

Reproducibility
Reproducibility studies for the determination of coagulation factors VIII, IX, XI and XII were run on the BFA* System with samples both in the normal and pathological range. Samples were run in 8-fold determinations over 5 days with stored calibration curves. The reproducibility studies resulted in coefficients of variation of 2 to 14 % for all factors.

Bibliography

1. Mannucci PM, Duga S, Peyvandi F. Recessively inherited coagulation disorders. Blood 2004; 104: 1243-52.
2. Levine PH. Clinical manifestations and therapy of hemophilias A and B. In: Colman RW, et al., eds. Hemostasis and Thrombosis. Philadelphia: Lippincott, 1987: 97–111.
3. Sucker C, Wenzel F, Zotz RB, et al. Monitoring oral anticoagulation may require determination of single coagulation factor activities in patients with antiphospholipid syndrome. J Rheumatol 2006; 33: 1881-2.
4. Schmaier AH, Silverberg M, Kaplan AP, Colman RW. Contact activation and its abnormalities. In: Colman RW, et al., eds. Hemostasis and Thrombosis. Philadelphia: Lippincott, 1987: 18–38.
5. CLSI. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays; Approved Guideline - Fourth Edition. CLSI document H21-A4 [ISBN 1-56238-521-6]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.
6. Boogen C, Niederau C, Reinauer H. Assessment of the influence of r-hirudin on coagulometric factor assays. Ann Hematol 1999; 78 (Suppl): 73 (Abstract).
7. Walenga JM, Drenth A, Mayuga M, et al. Effects of Argatroban alone and combined with oral anticoagulation on coagulation parameters. Blood 2002; 100: Abstract 4006.
8. Feinstein DI. Immune coagulation disorders. In: Colman RW, et al., eds. Hemostasis and Thrombosis. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2001: 1003-20.
9. Brandt JT, Triplett DA, Rock WA, et al. Effect of lupus anticoagulants on the activated partial thromboplastin time. Arch Pathol Lab Med 1991; 115: 109–14.
10. Fickenscher K. Analysis of individual coagulation factors. In: Thomas L, ed. Clinical Laboratory Diagnostics. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998: 607-9.

Dade and Actin are trademarks of Siemens Healthcare Diagnostics.

* Pathromtin and BFA are trademarks of Siemens Healthcare Diagnostics.

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

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

Edition May 2007

Gerinnungsfaktor VIII-, IX-, XI- und XII-Mangelplasmen

FACTOR VIII DEFICIENT, FACTOR IX DEFICIENT, FACTOR XI DEFICIENT, FACTOR XII DEFICIENT

Schattierte Abschnitte - Aktualisierte Informationen gegenüber der Ausgabe August 2003

Anwendungsbereich
In-vitro-Diagnostika zur Bestimmung der Aktivität der Gerinnungsfaktoren VIII, IX, XI bzw. XII in Humanplasma durch koagulometrische Methoden.

Diagnostische Bedeutung
Die Bestimmung der Gerinnungsfaktoren VIII, IX, XI und XII im Plasma ist indiziert zur:
– Abklärung der Ursache einer verlängerten partiellen Thromboplastinzeit,
– Aufdeckung von kongenitalen[1] oder erworbenen Faktoren-Mangelzuständen,
– Unterscheidung von Dysproteinämien und Protein-Bildungsstörungen (in Kombination mit immunchemischen Methoden).

Die Bestimmung der Aktivität von Gerinnungsfaktor VIII und IX dient außerdem zur Überwachung einer Substitutionstherapie mit Faktor VIII- bzw. Faktor IX-Konzentraten bei der Hämophilie A bzw. B[2]. Die Faktor IX-Bestimmung ist zusätzlich von Bedeutung bei der Diagnose einer Verbrauchskoagulopathie, Leberzirrhose und einer genaueren Überwachung der oralen Antikoagulanzientherapie[3]. Zur Feststellung einer Aktivierung der Kontaktphase der Blutgerinnung kann die Aktivität von Faktor XI und XII gemessen werden[4].

Prinzip der Methode
Der Mangel an einem der Faktoren des intrinsischen Systems führt zu einer verlängerten partiellen Thromboplastinzeit (APTT). Zur Einzelfaktor-Bestimmung wird die APTT einer Mischung des entsprechenden Mangelplasmas mit dem Patientenplasma gemessen. Ein Patientenplasma, dem der betreffende Gerinnungsfaktor fehlt, ist nicht in der Lage, die Abwesenheit dieses Faktors im Mangelplasma auszugleichen, woraus eine Verlängerung der APTT resultiert. Die Aktivität des Gerinnungsfaktors in % der Norm wird über eine Bezugskurve ermittelt, die mit Verdünnungen von Standard-Human-Plasma oder einem Normalplasma-Pool in Mischung mit dem entsprechenden Mangelplasma erstellt wird.

Reagenzien
Inhalt der Handelspackungen
Coagulation Factor VIII Deficient Plasma, REF *OTXW,*
8 x ⟶ 1 ml FACTOR VIII DEFICIENT, Gerinnungsfaktor VIII-Mangelplasma oder
Coagulation Factor IX Deficient Plasma, REF *OTXX,*
8 x ⟶ 1 ml FACTOR IX DEFICIENT, Gerinnungsfaktor IX-Mangelplasma oder
Coagulation Factor XI Deficient Plasma, REF, *OSDF,*
3 x ⟶ 1 ml FACTOR XI DEFICIENT, Gerinnungsfaktor XI-Mangelplasma oder
Coagulation Factor XII Deficient Plasma, REF, *OSDG,*
3 x ⟶ 1 ml FACTOR XII DEFICIENT, Gerinnungsfaktor XII-Mangelplasma.

Zusammensetzung
Gerinnungsfaktor-Mangelplasmen sind lyophilisierte Humanplasmen mit einer Restaktivität an Faktor VIII, IX, XI bzw. XII von ≤ 1 %. Die Mangelplasmen werden durch Immunadsorption aus Normalplasma hergestellt und sind frei von Antigen des betreffenden Faktors. Der Fibrinogen-Gehalt liegt über 1 g/l, die Aktivität der übrigen Gerinnungsfaktoren über 40 % der Norm. Die Plasmen enthalten Mannit (20 g/l) zur Stabilisierung.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen
1. Nur zur *in vitro* diagnostischen Anwendung.
2. Jede individuelle Blutspende wurde mit negativem Befund auf humane Immundefizienz-Viren (HIV) 1 und 2, Hepatitis B-Viren (HBV) und Hepatitis C-Viren (HCV) getestet. Die eingesetzten Teste entsprachen entweder den Anforderungen der EU Richtlinie über In-vitro-Diagnostika oder waren von der FDA zugelassen. Da kein Test mit völliger Sicherheit die Abwesenheit von Infektionserregern garantieren kann, sollten alle Produkte mit humanen Bestandteilen mit angemessener Sorgfalt behandelt werden.

Vorbereitung der Reagenzien
Mangelplasmen: Inhalt eines Fläschchens mit 1 ml destilliertem oder entionisiertem Wasser lösen. Mindestens 15 Minuten bei +15 bis +25 °C stehenlassen, danach durch vorsichtiges Schütteln (ohne Schaumbildung) mischen. Vor Gebrauch noch einmal vorsichtig schütteln.
APTT-Reagenzien: Anwendung nach jeweiliger Gebrauchsanweisung.
Calciumchlorid-Lösung 0,025 mol/l: auf +37 °C erwärmen (nicht nötig bei automatischen Gerinnungssystemen mit beheizten Pipettornadeln).

Haltbarkeit und Lagerungsbedingungen
Die Gerinnungsfaktor-Mangelplasmen sind, ungeöffnet bei +2 bis +8 °C gelagert bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum verwendbar.
Stabilität nach Rekonstitution:

bei +15 bis +25 °C	8 Stunden
bei -20 °C	4 Wochen

Die Gerinnungsfaktor-Mangelplasmen können nach Rekonstitution einmal eingefroren und wieder aufgetaut werden, ohne dass sie an Gerinnungsaktivität verlieren. Das Plasma muss gut verschlossen und möglichst schnell eingefroren werden. Das Auftauen ist bei +37 °C in max. 10 Minuten zu vollziehen. Das Plasma soll dann nicht länger als 2 Stunden bei +15 bis +25 °C stehen. Die Angaben zur Stabilität auf dem Gerät sind in den Referenzhandbüchern (Applikationsvorschriften) für die einzelnen Gerinnungsmessgeräte aufgeführt.

Zusätzlich benötigte Materialien
Pathromtin* SL, REF OQGS oder
Dade® Actin® Aktiviertes Cephaloplastinreagenz, REF B4218-1, -2 oder
Dade® Actin® FS, REF B4218-20, -100 oder
Dade® Actin® FSL, REF B4219
Calciumchlorid-Lösung 0,025 mol/l, REF ORHO
Imidazol-Pufferlösung, REF OQAA oder
Dade® Owren's Veronal-Puffer, REF B4234 oder
Dade® CA-System Puffer, REF B4265 oder
Physiologische Kochsalzlösung
Standard-Human-Plasma, REF ORKL
Kontroll-Plasma N, REF ORKE
Kontroll-Plasma P, REF OUPZ

Geräte
Die Gerinnungsfaktor-Mangelplasmen können manuell oder an automatischen Gerinnungsmessgeräten verwendet werden. **Siemens Healthcare Diagnostics stellt für verschiedene Gerinnungs**messgeräte Referenzhandbücher (Applikationsvorschriften) zur Verfügung. Diese enthalten geräte-/ testspezifische Informationen zur Abarbeitung und zu Leistungsdaten, die von den Informationen in dieser Gebrauchsanweisung abweichen können. In diesem Fall ersetzen die Informationen in den Referenzhandbüchern (Applikationsvorschriften) die Informationen in dieser Gebrauchsanweisung. Bitte auch die Bedienungsanleitung des Geräteherstellers beachten!

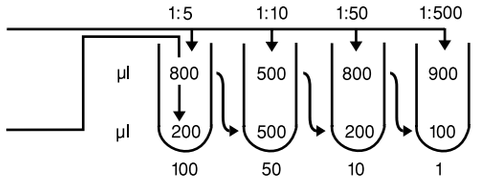
Untersuchungsmaterial
Zur Plasmagewinnung 1 Teil Natriumcitrat-Lösung 0,11 mol/l mit 9 Teilen Venenblut sorgfältig unter Vermeidung von Schaumbildung mischen. Die Blutprobe soll bei 1500 x g für nicht weniger als 15 Minuten bei Raumtemperatur zentrifugiert werden[5].
Stabilität der Proben:

+15 bis +25 °C	3 Stunden
-20 °C	4 Wochen, für die FVIII-Bestimmung 2 Wochen

Bei -20 °C gelagertes Plasma innerhalb von 10 Minuten bei +37 °C im Wasserbad auftauen, vorsichtig durchmischen und die Bestimmung dann sofort durchführen. Falls die Bestimmung nicht sofort durchgeführt werden kann, kann die Probe für maximal zwei Stunden bei +4 °C gelagert werden[5].

Testdurchführung
Manuelle Testdurchführung (Für Automatisierte Testdurchführung siehe „Geräte")

Erstellen der Bezugskurve:
Es kann wahlweise Standard-Human-Plasma oder frisches Citrat-Mischplasma von mindestens 10 gesunden Spendern benutzt werden. Mit Imidazol-Pufferlösung werden entsprechend dem nachfolgenden Schema Verdünnungen hergestellt und die Gerinnungszeiten entsprechend "Durchführung" bestimmt: Bei jedem Gerätewechsel und mit jeder neuen Charge des verwendeten Reagenzes sowie bei Änderung der experimentellen Bedingungen muss die Bezugskurve neu erstellt werden.



Bei Bedarf können weitere Verdünnungen angesetzt werden. Die gemessenen Gerinnungszeiten (Ordinate) werden auf logarithmischem Papier den in Prozent angegebenen Faktorenaktivitäten (Abszisse) zugeordnet. Die Gerinnungszeiten sind abhängig vom Messprinzip und damit vom verwendeten Gerinnungsmessgerät. Daher ist es erforderlich, dass jedes Labor eine eigene Bezugskurve erstellt.

Durchführung:
Unmittelbar vor der Messung wird die Plasmaprobe 1:5 in Imidazol-Pufferlösung (auf Raumtemperatur +15 bis +25 °C bringen!) verdünnt. In ein auf +37 °C vorgewärmtes Teströhrchen pipettieren:

Mangelplasma	100 µl
Probenverdünnung	100 µl
APTT-Reagenz	100 µl
Inkubation bei +37 °C	2 Minuten
Calciumchlorid-Lösung (auf +37 °C temperiert)	100 µl

Mit Zugabe der Calciumchlorid-Lösung Stoppuhr bzw. Messstelle am Gerinnungsmessgerät starten und die Gerinnungszeit bestimmen.

Ergebnisse
Der Gehalt an Gerinnungsfaktor wird anhand der Bezugskurve in % der Norm abgelesen. Beträgt der angegebene Analysenwert im Standard-Human-Plasma nicht 100 % der Norm, sondern z. B. nur 95 %, so wird das abgelesene Ergebnis mit 0,95 multipliziert. Bei Gerinnungszeiten, die einem Faktoren-Gehalt von mehr als 100 % der Norm entsprechen, sind weitere Bestimmungen mit höheren Probenverdünnungen (z. B. 1:10) erforderlich. Bei der Auswertung sind die an der Bezugskurve abgelesenen %-Werte entsprechend der Verdünnung mit einem Korrekturfaktor zu multiplizieren, z. B. bei einer Verdünnung 1:10 mit dem Korrekturfaktor 2.

Interne Qualitätskontrolle
Normalbereich: Kontroll-Plasma N
Pathologischer Bereich: Kontroll-Plasma P

Bei jedem Wechsel der Reagenzfläschchen, zu Beginn eines Testlaufes, bei jeder Kalibration und mindestens alle 8 Stunden an jedem Testtag müssen zwei Kontrollen (eine im Normalbereich und eine im pathologischen Bereich) gemessen werden. Die Kontrollen sollten 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 Vertrauensbereiches festlegen. Liegen die gemessenen Kontrollwerte außerhalb des vorher festgelegten Vertrauensbereiches, sollten Reagenz, Kalibrationskurve und Gerinnungsmessgerät überprüft werden. Patientenergebnisse dürfen erst freigegeben werden, wenn die Ursache der Abweichung identifiziert und behoben wurde.

Einschränkungen der Testdurchführung

Therapeutische Dosen von Hirudin oder anderen direkten Thrombin-Inhibitoren führen zu einer fälschlich erniedrigten Faktoren-Aktivität[6,7].

Spezifische Inhibitoren gegen plasmatische Gerinnungsfaktoren können ebenfalls die tatsächliche Faktor-Aktivität verändern[8]. Eine partielle Aktivierung von Gerinnungsfaktoren durch unsachgemäße Probenhandhabung kann zu fälschlich erhöhten Einzelfaktor-Resultaten führen. Lupus Antikoagulans kann bei der Einzelfaktor-Bestimmung die tatsächliche Faktor-Aktivität verändern. Es können nicht-parallele Verdünnungskurven erhalten werden, falls sich Lupus Antikoagulans in der Untersuchungsprobe befindet[9].

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.

Referenzbereiche[10]

Faktor VIII: 70 - 150 % der Norm
Faktor IX: 70 - 120 % der Norm
Faktor XI: 70 - 120 % der Norm
Faktor XII: 70 - 150 % der Norm

Die Werte gesunder Personen, wie auch die von Patienten, können von Labor zu Labor in Abhängigkeit von den angewendeten Arbeitstechniken, Methoden, Geräten und Reagenzchargen variieren. Daher sollte jedes Labor auf der Grundlage der jeweils angewendeten Arbeitstechniken, Methoden, Geräten und Reagenzchargen eigene Normalbereiche ermitteln, bzw. die Normalbereiche nach einem Wechsel der aufgeführten Parameter verifizieren.

Leistungsmerkmale

Messbereich

Der Messbereich für die Bestimmung von Gerinnungsfaktor VIII, IX, XI und XII liegt zwischen 1 und etwa 100 % der Norm, kann aber bei Bedarf durch eine höhere Probenvorverdünnung auf ca. 200 % ausgedehnt werden (s. o.).

Methodenvergleich

In einer Studie wurde die Bestimmung von Faktor VIII, IX, XI und XII am BFA* System und einem anderen Gerinnungsmessgerät verglichen.

Folgende Korrelationen wurden erhalten:

	n	r	Steigung	y-Achsenabschnitt (% der Norm)
Faktor VIII	49	0,92	0,74	+22,6
Faktor IX	50	0,96	0,88	+7,0
Faktor XI	50	0,95	0,95	+5,2
Faktor XII	50	0,95	1,0	-0,9

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit der Bestimmung von Faktor VIII, IX, XI und XII wurde am BFA* System sowohl mit normalen als auch mit pathologischen Proben überprüft. Die Proben wurden je 8 mal an 5 Tagen gemessen und an gespeicherten Bezugskurven ausgewertet. Es ergaben sich Variationskoeffizienten von 2 bis 14 % für alle Faktoren.

Literatur

Siehe englische Gebrauchsanweisung.

Dade und Actin sind Warenzeichen von Siemens Healthcare Diagnostics.

* Pathromtin und BFA sind Warenzeichen von Siemens Healthcare Diagnostics.

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

Ausgabe Mai 2007

Plasma exempt de facteur VIII, IX, XI et XII de la coagulation

FACTOR VIII DEFICIENT, FACTOR IX DEFICIENT, FACTOR XI DEFICIENT, FACTOR XII DEFICIENT

Paragraphes surlignés - informations mises à jour par rapport à l'édition de Août 2003

Domaine d'utilisation

Réactifs de diagnostic *in vitro* pour la détermination de l'activité des facteurs VIII, IX, XI et XII de la coagulation dans le plasma humain par des méthodes coagulométriques

Intérêt diagnostique

La détermination des facteurs VIII, IX, XI et XII de la coagulation dans le plasma est indiquée dans les cas suivants :

- pour expliquer la cause d'un allongement du temps de céphaline,
- pour diagnostiquer des états de déficit congénital[1] ou acquis,
- pour établir un diagnostic différentiel entre une dysprotéinémie et un trouble de la protéosynthèse (en association avec des méthodes immunologiques).

Par ailleurs, la détermination de l'activité des facteurs VIII et IX de la coagulation est utilisée dans le cadre du suivi d'un traitement substitutif par concentrés de facteur VIII ou de facteur IX dans l'hémophilie A ou B[2]. La détermination du facteur IX présente également un intérêt pour le diagnostic de coagulopathie de consommation, de cirrhose hépatique ou pour obtenir un suivi plus précis d'un traitement par anticoagulants oraux[3]. L'activation de la phase contact de la coagulation sanguine peut être détectée en mesurant l'activité des facteurs XI et XII[4].

Principe de la méthode

Si le plasma de patient présente un déficit de l'un des facteurs faisant intervenir la voie intrinsèque de la coagulation, le temps de céphaline activée (TCA) sera allongé. Le plasma exempt en facteur de la coagulation peut être utilisé de façon générale pour confirmer un déficit, ainsi que pour identifier et quantifier le déficit dans le plasma du patient. Le TCA est mesuré sur un mélange composé d'un plasma exempt du facteur recherché et du plasma de patient. Le résultat est interprété à l'aide d'une courbe d'étalonnage établie avec les dilutions d'un Plasma standard humain ou d'un pool de plasmas normaux mélangé au plasma exempt du facteur de la coagulation. Un plasma de patient présentant un déficit en un facteur donné de la coagulation est incapable de compenser l'absence de ce facteur dans le plasma exempt du facteur de la coagulation recherché : en conséquence, le TCA sera allongé.

Réactifs

Contenu des conditionnements

Coagulation Factor VIII Deficient Plasma, REF *OTXW,*
8 x ⟶ 1 ml FACTOR VIII DEFICIENT, Plasma exempt de facteur VIII de la coagulation, ou
Coagulation Factor IX Deficient Plasma, REF *OTXX,*
8 x ⟶ 1 ml FACTOR IX DEFICIENT, Plasma exempt de facteur IX de la coagulation, ou
Coagulation Factor XI Deficient Plasma, REF, *OSDF,*
3 x ⟶ 1 ml FACTOR XI DEFICIENT, Plasma exempt de facteur XI de la coagulation, ou
Coagulation Factor XII Deficient Plasma, REF, *OSDG,*
3 x ⟶ 1 ml FACTOR XII DEFICIENT, Plasma exempt de facteur XII de la coagulation.

Composition

Les plasmas exempts en facteur de la coagulation sont des plasmas humains lyophilisés présentant une activité résiduelle du facteur VIII, IX, XI ou XII ≤ 1 %. Le plasma exempt de facteur est fabriqué par immunoadsorption à partir d'un plasma normal, et il est exempt de l'antigène du facteur correspondant. Le fibrinogène est présent à une quantité d'au moins 1 g/l, et les facteurs de la coagulation restants présentent une activité supérieure à 40 % de la norme. Les plasmas contiennent du mannitol (20 g/l) utilisé comme stabilisateur.

Mises en garde et précautions d'emploi

1. Réactif réservé à un usage de diagnostic *in vitro.*
2. Chaque donneur ou donneur d'unité a été testée avérée négative 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 le FDA. Comme aucun test connu ne peut offrir l'assurance complète de l'absence des agents infectieux, tous les produits dérivés humains devraient être manipulés avec les précautions appropriées.

Préparation des réactifs

Plasmas exempts: Dissoudre le contenu d'un flacon dans 1 ml d'eau distillée ou déminéralisée. Avant utilisation, laisser reposer pendant au moins 15 minutes entre + 15 et + 25 °C, puis agiter doucement (en évitant la formation de mousse). Mélanger soigneusement une nouvelle fois avant utilisation.

Réactifs TCA : Se référer à la fiche technique correspondante.

Solution de chlorure de calcium à 0,025 mol/l : préchauffer à + 37 °C (le préchauffage n'est pas nécessaire pour les appareils automatisés de coagulation sur lesquels les seringues servant au pipetage sont chauffées).

Stabilités et conditions de conservation

Conservé dans l'emballage fermé entre + 2 et + 8 °C, les plasmas exempts en facteur de la coagulation peut être utilisé jusqu'à la date d'expiration mentionnée sur l'étiquette.

Stabilité après reconstitution :

entre + 15 et + 25 °C	8 heures
à -20 °C	4 semaines

Après reconstitution, les plasmas exempts en facteur de la coagulation peut être congelé et décongelé une seule fois sans risque de diminution de l'activité du facteur de coagulation. Le plasma doit être bien scellé et congelé aussi vite que possible. Le plasma doit être décongelé à + 37 °C en 10 minutes au maximum. Le plasma doit être utilisé dans les 2 heures suivant la décongélation s'il est conservé entre + 15 et + 25 °C. Les informations relatives à la stabilité du produit dans l'automate sont mentionnées dans les fiches d'application de l'automate de coagulation utilisé.

Matériel et autres réactifs nécessaires

Pathromtin* SL, REF OQGS ou
Dade® Actin® Réactif pour Temps de Céphaline Activée, REF B4218-1, -2 ou
Dade® Actin® FS, REF B4218-20, -100 ou
Dade® Actin® FSL, REF B4219
Solution de chlorure de calcium 0,025 mol/l, REF ORHO
Solution tampon imidazole, REF OQAA ou
Dade® Tampon véronal d'Owren, REF B4234 ou
Dade® Tampon pour système CA, REF B4265 ou
Solution saline physiologique
Plasma humain standard, REF ORKL
Plasma de contrôle N, REF ORKE
Plasma de contrôle P, REF OUPZ

Matériel

Les plasmas exempts en facteur de la coagulation peut être utilisé manuellement ou sur un appareil automatisé de coagulation. Siemens Healthcare Diagnostics propose des Guides de référence (fiches d'application) pour plusieurs analyseurs de coagulation. Les Guides de référence (fiches d'application) contiennent des informations sur les performances et l'utilisation des différents appareils / dosages, qui peuvent différer de celles mentionnées dans la présente notice. Le cas échéant, les informations fournies dans les Guides de référence (fiches d'application) annulent et remplacent celles contenues dans la présente notice d'utilisation. En outre, veuillez consulter le manuel de formation du fabricant de l'appareil !

Échantillons à tester

Pour obtenir le plasma, mélanger soigneusement 1 part de solution de citrate de sodium (0,11 mol/l) avec 9 parts de sang veineux, en évitant la formation de mousse. Centrifuger l'échantillon sanguin à 1500 x g pendant au moins 15 minutes à température ambiante[5].

Stabilité des échantillons :

+15 à +25 °C	3 heures
-20 °C	4 semaines, et 2 semaines pour la détermination du facteur VIII

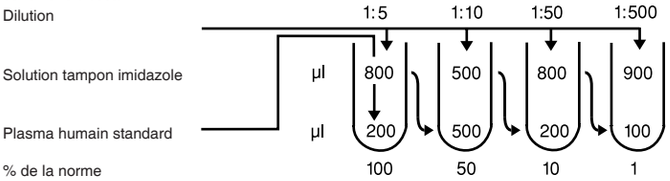
Décongeler le plasma conservé à -20 °C en le plaçant dans un bain-marie à + 37 °C en 10 minutes, le mélanger doucement et procéder immédiatement au test. Si l'échantillon ne peut pas être testé immédiatement, il peut être conservé pendant deux heures au maximum à + 4 °C jusqu'à la réalisation du test[5].

Réalisation du test

Réalisation manuelle du test (Réalisation automatique du test : voir la rubrique « Matériel nécessaire »)

Établissement de la courbe d'étalonnage :

Utiliser du plasma humain standard ou du plasma frais en pool prélevé sur citrate provenant d'au moins 10 donneurs sains. Procéder aux dilutions avec la solution tampon imidazole, conformément au diagramme suivant. Déterminer les temps de coagulation selon la procédure mentionnée dans la rubrique « Flux de travail ». Une nouvelle courbe d'étalonnage doit être établie à chaque changement d'instrument ou à chaque changement de lot de réactif ou en cas de changement des conditions d'essai.



Si nécessaire, des dilutions supplémentaires peuvent être préparées. Sur un papier logarithmique, reporter sur l'axe des ordonnées les temps de coagulation mesurés et sur l'axe des abscisses les pourcentages d'activité du facteur correspondants. Les temps de coagulation dépendent du principe de mesure et donc également de l'appareil de coagulation utilisé. En conséquence, chaque laboratoire doit établir sa propre courbe d'étalonnage.

Flux de travail :
Immédiatement avant le test, diluer l'échantillon plasmatique au 1/5 en solution tampon imidazole (les porter à température ambiante +15 à +25 °C). Pipeter dans le tube à essai préchauffé à +37 °C :

Plasma exempt	100 µl
Dilution de l'échantillon	100 µl
Réactifs TCA	100 µl
Incuber à + 37 °C	2 minutes
Solution de chlorure de calcium (préchauffée à + 37 °C)	100 µl

Au moment de l'addition de la solution de chlorure de calcium, déclencher le chronomètre ou le minuteur du coagulomètre et déterminer le temps de coagulation.

Calcul des résultats d'analyse
Lire le taux du facteur de la coagulation sur la courbe d'étalonnage, exprimé en % de la norme. Si la valeur nominale donnée pour le plasma humain standard n'est pas de 100 % de la norme, mais, par ex., de 95 % seulement, multiplier par 0,95 le résultat lu sur la courbe. Si des temps de coagulation correspondent à un taux de facteur la coagulation de plus de 100 % de la norme, il y a lieu de procéder à une nouvelle mesure après avoir dilué l'échantillon à un rapport de dilution plus élevé (par ex. à 1:10). Le pourcentage lu sur la courbe d'étalonnage doit être multiplié par un facteur de correction choisi en fonction du rapport de dilution utilisé, par ex. un facteur de correction de 2 pour un rapport de dilution de 1:10.

Contrôle de qualité interne
Domaine normal : Plasma de contrôle N
Domaine pathologique : Plasma de contrôle P

Deux contrôles (domaine normal et domaine pathologique) doivent être mesurés au début de chaque série de test, à chaque étalonnage, à chaque changement de flacon de réactif et au moins toutes les 8 heures sur une journée de travail. Les contrôles doivent être manipulés comme les échantillons. Chaque laboratoire doit établir son propre domaine de contrôle qualité, soit en utilisant les valeurs cibles et les domaines de valeurs fournis par le fabricant des contrôles, soit en utilisant son propre intervalle de confiance établi dans le laboratoire. Si la valeur d'un contrôle n'est pas comprise dans l'intervalle de confiance prédéfini, il y a lieu de contrôler le réactif, la courbe d'étalonnage et l'appareil de coagulation. Les résultats de patient ne doivent pas être validés tant que l'origine des valeurs aberrantes n'a pas été identifiée et corrigée.

Limites du test
Les doses thérapeutiques d'hirudine ou des autres inhibiteurs directs de la thrombine entraînent une activité faussement diminuée du facteur[6,7].

Des inhibiteurs spécifiques des facteurs plasmatiques de la coagulation peuvent également modifier l'activité réelle du facteur[8]. L'activation partielle des facteurs de la coagulation à la suite d'une mauvaise manipulation de l'échantillon peut donner lieu à des résultats faussement élevés de l'activité du facteur. Dans la détermination de l'activité d'un facteur isolé, les lupus anticoagulants peuvent influer sur l'activité apparente du facteur. Les courbes de dilution peuvent ne pas être parallèles en cas de présence d'un lupus anticoagulant dans l'échantillon à tester[9].

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 normales[10]
Facteur VIII 70 à 150 % de la norme
Facteur IX 70 à 120 % de la norme
Facteur XI 70 à 120 % de la norme
Facteur XII 70 à 150 % de la norme

Les intervalles de référence varient d'un laboratoire à l'autre en fonction de la population ainsi que de la technique, de la méthode, du matériel et du lot de réactif utilisés. En conséquence, chaque laboratoire doit déterminer ses propres intervalles de référence ou les vérifier chaque fois que l'une ou plusieurs des variables mentionnées ci-dessus sont modifiées.

Caractéristiques du (des) test(s)
Domaine de mesure
Le domaine de mesure pour le dosage du facteur VIII, IX, XI et XII sont compris entre 1 et environ 100 % de la norme, et il peut être augmenté à environ 200 % si l'échantillon est dilué à un rapport de dilution plus élevé (voir ci-dessus).

Comparaison avec une autre méthode
Une étude a été réalisée afin de comparer les résultats de la détermination des facteurs VIII, IX, XI et XII sur le système BFA* à ceux obtenus sur un autre automate de coagulation. Les corrélations obtenues étaient les suivantes :

	n	r	Pente	Segment sur l'axe y (% de la norme)
Facteur VIII	49	0,92	0,74	+22,6
Facteur IX	50	0,96	0,88	+7,0
Facteur XI	50	0,95	0,95	+5,2
Facteur XII	50	0,95	1,0	-0,9

Reproductibilité
Des études de reproductibilité pour le dosage du facteur VIII, IX, XI et XII sont été réalisées sur le système BFA* avec des échantillons à la fois dans le domaine normal et le domaine pathologique. Les échantillons ont été soumis à 8 dosages sur 5 jours et exploités avec des courbes d'étalonnage mémorisées. Les coefficients de variation obtenus dans les études de reproductibilité étaient compris entre 2 et 14 % pour tous les facteurs.

Bibliographie
Voir mode d'emploi anglais.

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

* Pathromtin et BFA 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

Edition Mai 2007

Plasma carente di Fattore VIII, IX, XI e XII della coagulazione

FACTOR VIII DEFICIENT, FACTOR IX DEFICIENT, FACTOR XI DEFICIENT, FACTOR XII DEFICIENT

Vedere sezioni ombreggiate – informazioni aggiornate rispetto all'edizione di Agosto 2003

Settore d'impiego
Reagenti per uso diagnostico *in vitro* per la determinazione dell'attività dei fattori di coagulazione VIII, IX, XI e XII nel plasma umano tramite metodi coagulometrici.

Significato diagnostico
Le determinazioni dei fattori di coagulazione VIII, IX, XI e XII nel plasma sono indicate per:
- ricercare la causa dell' allungamento del tempo di tromboplastina parziale,
- diagnosticare stati di carenza congenita[1] o acquisita del fattore,
- distinguere tra disproteinemie e disordini nella sintesi proteica (unitamente a metodi immunochimici),

La determinazione dell'attività dei fattori VIII e IX serve inoltre a monitorare la terapia sostitutiva con concentrati del fattore VIII o IX in caso di emofilia A o B[2]. La determinazione del fattore IX è importante anche nella diagnosi della coagulopatia da consumo, cirrosi epatica e come controllo più accurato della terapia anticoagulante orale[3]. L'attività dei fattori XI e XII[4] può essere determinata per accertare l'attivazione della fase di contatto della coagulazione

Principio del metodo
La carenza di uno dei fattori della via intrinseca porta a un prolungamento del tempo di tromboplastina parziale (APTT). Per la determinazione del singolo fattore viene misurato l' APTT di una miscela del relativo plasma carente con il plasma del paziente. Il plasma di un paziente carente del fattore di coagulazione in questione non è in grado di compensare l'assenza di questo fattore nel plasma carente, quindi risulta un prolungamento dell'APTT. L'attività del fattore della coagulazione in % della norma viene indicata su una curva di riferimento ottenuta con diluizioni di plasma umano standard o di un pool di plasma normale miscelato con plasma carente.

Reagenti
Contenuto della confezione
Coagulation Factor VIII Deficient Plasma, REF *OTXW,*
8 x ⟶ 1 mL FACTOR VIII DEFICIENT, Plasma carente del fattore di coagulazione VIII oppure
Coagulation Factor IX Deficient Plasma, REF, *OTXX,*
8 x ⟶ 1 mL FACTOR IX DEFICIENT, Plasma carente del fattore di coagulazione IX oppure
Coagulation Factor XI Deficient Plasma, REF, *OSDF,*
3 x ⟶ 1 mL FACTOR XI DEFICIENT, Plasma carente del fattore di coagulazione XI oppure
Coagulation Factor XII Deficient Plasma, REF, *OSDG,*
3 x ⟶ 1 mL FACTOR XII DEFICIENT, Plasma carente del fattore di coagulazione XII oppure.

Composizione
I Plasmi Carenti di Fattori della Coagulazione sono plasmi umani liofilizzati con un'attività residua del fattore VIII, IX, XI o XII ≤ 1 %. I plasmi carenti sono prodotti per immunoassorbimento dal plasma normale e sono privi dell'antigene del rispettivo fattore. Il fibrinogeno è presente in quantità pari almeno a 1 g/L, mentre i fattori della coagulazione restanti sono presenti con attività superiore al 40 % della norma. I plasmi contengono mannitolo (20 g/L) come stabilizzante.

Avvertenze e precauzioni
1. Solo per uso diagnostico *in vitro.*
2. Ogni donatore o unità di sangue da donatore è stato analizzato e trovato negativo per il virus dell'immunodeficienza umana (HIV) 1 e 2, per il virus dell'epatite B (HBV) e per il virus dell'epatite C (HCV) utilizzando test conformi alla Direttiva per Diagnostici In Vitro in ambito europeo oppure test approvati dalla FDA. Poiché nessun test noto può garantire la totale assenza di agenti infettivi, tutti i prodotti di derivazione umana devono essere manipolati con adeguate precauzioni.

Preparazione dei reagenti
Plasmi Carenti: Sciogliere il contenuto di un flacone in 1 mL di acqua distillata o deionizzata. Lasciare il prodotto a +15 - +25 °C per almeno 15 minuti prima di utilizzarlo, quindi agitare accuratamente (senza formare schiuma). Mescolare accuratamente di nuovo prima dell'uso.
Reagenti APTT: Utilizzare come da rispettive Istruzioni per l'uso.
Soluzione di cloruro di calcio da 0,025 mol/L riscaldare a +37 °C (non è necessario nel caso di sistemi di coagulazione automatica che utilizzano sonde riscaldate per i reagenti).

Conservazione e stabilità
I Plasmi Carenti di Fattori della Coagulazione possono essere utilizzati fino alla data di scadenza indicata in etichetta, se conservati chiusi a +2 - +8 °C.
Stabilità dopo la ricostituzione:
a +15 - +25 °C, 8 ore
a -20 °C 4 settimane

I Plasmi Carenti di Fattori della Coagulazione possono essere congelato e scongelato una volta dopo la ricostituzione, senza perdita dell'attività coagulante. Il plasma deve essere accuratamente sigillato e congelato il più presto possibile. Scongelare a +37 °C entro 10 minuti. Il plasma scongelato deve essere utilizzato entro 2 ore, se conservato a +15 - +25 °C. Le informazioni relative alla stabilità on board sono specificate nei Protocolli Applicativi per i vari analizzatori per coagulazione.

Materiali necessario ma non fornito
Pathromtin* SL, REF OQGS oppure
Dade® Actin® reagente a base di cefaloplastina attivata, REF B4218-1, -2 oppure
Dade® Actin® FS, REF B4218-20, -100 oppure
Dade® Actin® FSL, REF B4219
Soluzione di cloruro di calcio da 0,025 mol/L, REF ORHO
Soluzione tampone Imidazolo, REF OQAA oppure
Dade® Tampone Veronal di Owren, REF B4234 oppure
Dade® CA Tampone per Sistemi, REF B4265 oppure
Soluzione fisiologica salina
Plasma umano standard, REF ORKL
Plasma di controllo N, REF ORKE
Plasma di controllo P, REF OUPZ

Strumentazione
I Plasmi Carenti di Fattori della Coagulazione possono essere utilizzato manualmente o su analizzatori per coagulazione automatici. Siemens Healthcare Diagnostics fornisce Guide di riferimento (Schede informative) per diversi analizzatori per coagulazione. Le Guide di riferimento (Schede informative) 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 questo caso, le informazioni contenute nelle Guide di riferimento (Schede informative) sostituiscono le informazioni delle presenti Istruzioni per l'uso. Consultare anche il manuale di istruzioni del produttore dello strumento.

Campioni in esame

Per ottenere il plasma, miscelare accuratamente 1 parte di soluzione di citrato di sodio (0,11 mol/L) con 9 parti di sangue venoso, evitando di formare schiuma. Centrifugare il campione di sangue a 1500 x g per almeno 15 minuti a temperatura ambiente[5].

Stabilità dei campioni:

+15 - +25 °C	3 ore
-20 °C	4 settimane, per la determinazione del fattore VIII, 2 settimane

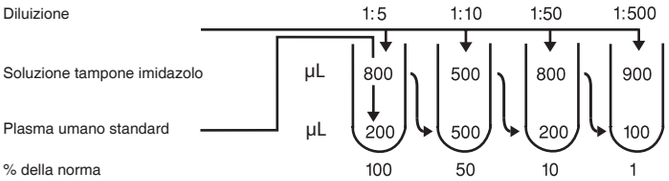
Scongelare il plasma conservato a -20 °C in un bagnomaria a +37 °C per 10 minuti, miscelare delicatamente e utilizzare immediatamente per il test. Se il test non può essere eseguito immediatamente, il campione deve essere conservato per un massimo di 2 ore a +4 °C fino al momento del test[5].

Esecuzione del test

Test manuale (per il test automatico, vedere la sezione "Strumentazione")

Allestimento della curva di riferimento:

Utilizzare plasma umano standard o un pool di plasmi citratati freschi di almeno 10 donatori sani. Preparare le diluizioni con la Soluzione tampone Imidazolo come indicato nel seguente schema e determinare i tempi di coagulazione descritti nella sezione "Procedura". Qualora si cambi lo strumento o il lotto di reagente utilizzato o in caso si verifichi qualsiasi modifica delle condizioni sperimentali, sarà necessario rigenerare la curva di riferimento.



Se necessario, è possibile preparare ulteriori diluizioni. Tracciare su un grafico i tempi di coagulazione misurati (ordinate) rispetto alla percentuale di attività del Fattore corrispondente (ascisse). I tempi di coagulazione dipendono dal principio di misurazione, quindi anche dall'analizzatore per coagulazione impiegato. Di conseguenza, ogni laboratorio deve stabilire la propria curva di riferimento.

Procedura:

Diluire il campione di plasma 1:5 con tampone imidazolo (portare a temperatura ambiente (tra +15 e +25 °C)) immediatamente prima di eseguire la misurazione. Pipettare in una provetta preriscaldata a +37 °C.

Plasma Carente	100 µL
Diluizione campione	100 µL
Reagenti APTT	100 µL
Incubare a +37 °C	per 2 minuti
Soluzione di cloruro di calcio (preriscaldata a +37 °C)	100 µL
Aggiungere la soluzione di cloruro di calcio e avviare simultaneamente il cronometro o il timer sul coagulometro e determinare il tempo di coagulazione.	

Calcolo dei risultati

Leggere il contenuto di fattore della coagulazione dalla curva di riferimento in % della norma. Se il valore nominale dato del Plasma umano standard non è il 100 % della norma, ma ad es. solo il 95 %, moltiplicare il risultato letto nella curva per 0,95. Nel caso in cui i tempi di coagulazione che corrispondono al contenuto di Fattore della coagulazione fossero più del 100 % della norma, sarà necessario eseguire ulteriori determinazioni usando diluizioni maggiori del campione (ad es. 1:10). La percentuale del valore della norma letta dalla curva di riferimento per queste diluizioni più elevate deve essere moltiplicata per un fattore di correzione corrispondente alla diluizione. Ad esempio per una diluizione di 1:10 il fattore di correzione è 2.

Controllo di Qualità Interno

Intervallo normale: Plasma di controllo N
Intervallo patologico: Plasma di controllo P

È necessario misurare due livelli di materiale di controllo di qualità (intervallo normale e patologico) all'inizio del test, con ogni calibrazione, al cambio del flacone di reagente, e almeno ogni 8 ore di ogni giorno di utilizzo. I controlli devono essere elaborati esattamente come i campioni. Ogni laboratorio deve stabilire i propri intervalli di controllo di qualità, tramite i valori e gli intervalli target forniti dal produttore dei controlli, oppure per mezzo di intervalli di confidenza stabiliti nel laboratorio. Se i valori di controllo sono fuori dall'intervallo di controllo precedentemente determinato, verificare il reagente, la curva di calibrazione e l'analizzatore per coagulazione. Non refertare i risultati dei pazienti finché non è stata individuata e corretta la causa della deviazione.

Limitazioni della esecuzione del test

Dosi terapeutiche di irudina o di altri inibitori diretti della trombina conducono a un fattore di attività erroneamente basso[6,7].

Anche alcuni specifici fattori inibitori della coagulazione plasmatica possono modificare l'attività effettiva del fattore[8]. Una parziale attivazione di fattori della coagulazione dovuta a manipolazione inadeguata dei campioni può condurre a valori falsamente elevati del Fattore della coagulazione. Nel corso della determinazione del singolo fattore , l'anticoagulante Lupus può influenzare l'attività apparente del fattore. Nel corso della diluizione si può verificare un'assenza di parallelismo se l'anticoagulante Lupus è presente nel campione di prova[9].

Siemens ha validato l'utilizzo di questi reagenti su vari analizzatori per ottimizzare i risultati e conformarsi alle specifiche del prodotto. Siemens non supporta modifiche introdotte dall'utente, poiché queste potrebbero influire sulle prestazioni del sistema e sui risultati analitici. È responsabilità dell'utente validare le modifiche apportate a queste istruzioni o l'impiego dei reagenti su analizzatori diversi da quelli indicati nei Protocolli Analitici di Siemens o nelle presenti istruzioni per l'uso.

I risultati di questo test devono essere sempre interpretati unitamente all'anamnesi del paziente, al quadro clinico e valutando contestualmente l'esito di altri accertamenti.

Valori attesi[10]

Fattore VII	Tra il 70 e il 150 % della norma
Fattore IX	Tra il 70 e il 120 % della norma
Fattore XI	Tra il 70 e il 120 % della norma
Fattore XII	Tra il 70 e il 150 % della norma

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.

Caratteristiche del test

Intervallo di misurazione

L'intervallo di misurazione per la determinazione dei fattori VIII, IX, XI e XII va da 1 a circa il 100 % della norma e può essere aumentato fino a circa il 200 % utilizzando una diluizione maggiore del campione (vedere sopra).

Confronto tra metodi

In uno studio sono state confrontate le determinazioni dei fattori VIII, IX, XI e XII ottenute con il Sistema BFA* rispetto a un altro analizzatore per coagulazione. Sono state ottenute le seguenti correlazioni:

	n	r	Slope	intercetta asse y (% della norma)
Fattore VIII	49	0,92	0,74	+22,6
Fattore IX	50	0,96	0,88	+7,0
Fattore XI	50	0,95	0,95	+5,2
Fattore XII	50	0,95	1,0	-0,9

Riproducibilità

Gli studi di riproducibilità per la determinazione dei fattori VIII, IX, XI e XII sono stati eseguiti sul Sistema BFA* con campioni sia nell'intervallo normale che in quello patologico. La determinazione è stata eseguita 8 volte nell'arco di 5 giorni con curve di calibrazione conservate. Gli studi di riproducibilità hanno dato dei coefficienti di variazione tra il 2 e l'14 % per tutti i fattori.

Bibliografia

Vedi testo Inglese.

Dade e Actin sono marchi di Siemens Healthcare Diagnostics.

* Pathromtin e BFA sono marchi di Siemens Healthcare Diagnostics.

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

Edizione Maggio 2007

Plasma deficiente en factor VIII, IX, XI y XII de la coagulación

FACTOR VIII DEFICIENT, FACTOR IX DEFICIENT, FACTOR XI DEFICIENT, FACTOR XII DEFICIENT

Observe las secciones resaltadas - Es información actualizada de la edición anterior desde el Agosto de 2003

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 coagulométricos.

Significado diagnóstico

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

- para aclarar la causa de un tiempo de tromboplastina parcial activado 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 coagulopatía de consumo, cirrosis hepática y para conseguir un seguimiento más exacto del tratamiento anticoagulante oral[3]. La activación de la fase de contacto de la coagulación puede detectarse midiendo la actividad de los factores XI y XII[4].

Principio del método

Un plasma deficiente en alguno de los factores que forman parte del sistema intrínseco dará lugar a un tiempo de tromboplastina parcial activado (APTT) prolongado. El plasma deficiente en factor de la 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 normal mezclado con plasma deficiente. Un plasma de paciente deficiente en un factor específico no será capaz de compensar la ausencia del factor en el correspondiente plasma deficiente en el factor de la coagulación y, por lo tanto, dará como resultado un APTT prolongado.

Reactivos

Materiales suministrados

Coagulation Factor VIII Deficient Plasma, REF *OTXW,*
8 x ⟶ 1 ml FACTOR VIII DEFICIENT, Plasma deficiente en factor VIII de la coagulación, o
Coagulation Factor IX Deficient Plasma, REF *OTXX,*
8 x ⟶ 1 ml FACTOR IX DEFICIENT, Plasma deficiente en factor IX de la coagulación, o
Coagulation Factor XI Deficient Plasma, REF, *OSDF,*
3 x ⟶ 1 ml FACTOR XI DEFICIENT, Plasma deficiente en factor XI de la coagulación, o
Coagulation Factor XII Deficient Plasma, REF, *OSDG,*
3 x ⟶ 1 ml FACTOR XII DEFICIENT, Plasma deficiente en factor XII de la coagulación.

Composición

Los plasmas deficientes en los factores de la coagulación son plasmas humanos, liofilizados, con una actividad residual de los factores VIII, IX, XI o XII ≤ 1 %. Los plasmas deficientes van a ser preparados por inmunoadsorción de plasmas normales y están libres de antígenos del factor respectivo. El contenido de fibrinógeno se encuentra sobre 1 g/l y la actividad de los otros factores de la coagulación está sobre el 40 % de la normalidad. Los plasmas contienen manitol (20 g/l) como estabilizador.

Advertencias y medidas de seguridad

1. Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.
2. 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 de reactivos

Plasmas deficientes: Disuelva el contenido de un frasco con 1 ml de agua destilada o desionizada. Antes de usar, déjelo reposar al menos 15 minutos entre +15 y +25 °C. A continuación, agítelo suavemente de manera que se mezcle, pero sin formar espuma. Vuelva a mezclarlo cuidadosamente antes de usar.

Reactivos APTT: Utilícelos según el correspondiente manual de instrucciones.

Solución de cloruro de calcio 0,025 mol/l: atemperado a +37 °C (no es necesario para los sistemas de coagulación automáticos con pipetas de reactivos termostatizadas).

Conservación y estabilidad

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

Estabilidad después de la reconstitución:

entre +15 y +25 °C	8 horas
a -20 °C	4 semanas

Plasmas deficientes en factor de la 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 y +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

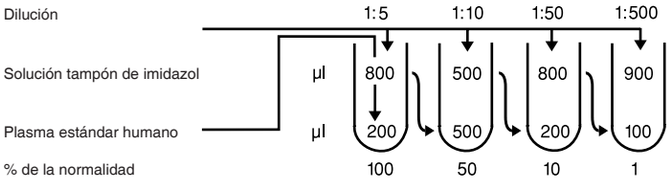
Equipo
Plasmas deficientes en factor de la coagulación puede emplearse en procedimientos manuales o en analizadores de coagulación automatizados. Siemens Healthcare Diagnostics tiene a su disposición Guías de referencia (Hojas de aplicación) para varios analizadores de coagulación. Las Guías de referencia (Hojas de aplicación) contienen información específica sobre el manejo y el rendimiento de los analizadores/ensayos que puede diferir de la ofrecida en este manual de instrucciones. En ese caso, la información contenida en las Guías de referencia (Hojas de aplicación) reemplaza la información del presente manual de instrucciones. Le rogamos consulte también el manual de instrucciones del fabricante del instrumento.

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 durante al menos 15 minutos a temperatura ambiente[5].
Estabilidad de las muestras:

entre +15 y +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
Prueba manual (Para el análisis automatizado, consulte „Equipo“)
Establecimiento de la curva de referencia:
Utilice Plasma humano estándar o una mezcla de plasmas citratados recién extraidos de un grupo de al menos 10 donantes sanos. Si utiliza la solución tampón de 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“. La curva de referencia debe volver a realizarse si se produce algún cambio en el instrumento o en el lote de reactivos empleados, o si se produce algún cambio en las condiciones experimentales.



En caso necesario, pueden prepararse diluciones adicionales. Trazar la gráfica sobre papel logarítmico de los tiempos de coagulación encontrados (ordenadas) frente al correspondiente porcentaje de actividad del factor (abscisa). Los tiempos de coagulación son dependientes del principio de medida y por lo tanto del aparato de medida de la coagulación utilizado. Por este motivo, cada laboratorio debe establecer su propia curva de referencia.
Flujo de trabajo:
Diluya la muestra de plasma en una proporción de 1:5 en solución tampón de imidazol (a temperatura ambiente, entre +15 y +25 °C) inmediatamente antes de la medición. Pipetee lo siguiente en un tubo de ensayo precalentado a +37 °C:

Plasma deficiente	100 µl
Muestra diluida	100 µl
Reactivos APTT	100 µl
Incube a +37 °C	2 minutos
Solución de cloruro de calcio (precalentado a +37 °C)	100 µl

Al añadir la solución de cloruro de calcio, ponga en marcha el cronómetro o el temporizador del coagulómetro y determine el tiempo de coagulación.

Cálculo de los resultados del análisis
El contenido de factor de la coagulación se obtiene leyendo en la curva de referencia en % de la normalidad. Si el valor nominal dado para el plasma humano estándar no corresponde al 100 % de la normalidad, si no por ej., al 95 %, el resultado leído se debe multiplicar por 0,95. Para tiempos de coagulación, los cuales correspondan a un contenido de factor de más del 100 % de la normalidad, se necesitan otras determinaciones con diluciones mayores de las muestras (por ej., 1:10). En la valoración de estas muestras, el valor en % leído en la curva de referencia para esta dilución, se debe multiplicar por un factor de corrección, por ej., para una dilución de 1:10 por el factor de corrección 2.

Control de calidad interno

Intervalo normal:	Plasma de Control N
Intervalo patológico:	Plasma de control P

Hay que medir un control de nivel normal y otro de nivel patológico al inicio de cada serie de pruebas, tras un cambio de frasco de reactivo, con cada calibración y al menos cada ocho horas mientras se esté realizando la prueba. Los controles deben procesarse como si fueran muestras. Cada laboratorio debe establecer su propio intervalo de control de calidad, ya sea por medio de valores objetivo e intervalos proporcionados por el fabricante de los controles o por medio de sus propios intervalos de confianza establecidos en el laboratorio. Si los valores de control se encuentran fuera del intervalo de confianza determinado previamente, el reactivo, la curva de calibración y el analizador de coagulación deberán examinarse. Los resultados de los pacientes no deberán validarse 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 la 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 la normalidad
Factor IX	70 a 120 % de la normalidad
Factor XI	70 a 120 % de la normalidad
Factor XII	70 a 150 % de la 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 la 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 la 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

Reproducibilidad
Los estudios de reproducibilidad para la determinación de los factores VIII, IX, XI y XII se realizaron en un sistema BFA* con muestras tanto en el intervalo normal como en el patológico. Las muestras se procesaron en determinaciones por octuplicado durante 5 días con curvas de calibración almacenadas. Los estudios de reproducibilidad dieron como resultado coeficientes de variación de 2 a 14 % para todos los factores.

Bibliografía
Ver texto en inglés.

Dade e Actin son marcas comerciales de Siemens Healthcare Diagnostics.
* Pathromtin e BFA son marcas comerciales de Siemens Healthcare Diagnostics.

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

Edición Mayo 2007

Plasma com deficiência de factor de coagulação VIII, IX, XI e XII

FACTOR VIII DEFICIENT, FACTOR IX DEFICIENT, FACTOR XI DEFICIENT, FACTOR XII DEFICIENT

Secções sombreadas - Informações actualizadas versus a edição de Agosto de 2003

Campo de aplicação
Reagentes de diagnóstico *in vitro* para a determinação da actividade dos factores de coagulação VIII, IX, XI e XII em plasma humano, por meio de métodos coagulométricos.

Resumo e Explicação
A determinação de factores de coagulação VIII, IX, XI e XII no plasma está indicada nos seguintes casos:
- para clarificar a causa de um tempo de tromboplastina parcial prolongado,
- para diagnosticar estados deficitários de factores congénitos[1] ou adquiridos,
- para distinguir entre disproteinemias e perturbações na síntese proteica (em conjugação com métodos imunoquímicos),

Adicionalmente, a determinação da actividade dos factores de coagulação VIII e IX é empregue para monitorizar a terapêutica de substituição com concentrados de Factor VIII ou Factor IX em casos de hemofilia A ou B[2]. A determinação do Factor IX também é importante no diagnóstico de coagulopatia de consumo, cirrose hepática e para obter uma monitorização mais precisa da terapêutica por anticoagulantes orais[3]. Pode obter-se a detecção de uma activação da fase de contacto da coagulação sanguínea, medindo a actividade dos Factores XI e XII[4].

Princípo do método
Um plasma que apresente deficiência de qualquer dos factores que incluam o percurso intrínseco, vai originar um tempo de tromboplastina parcial prolongado (APTT). O plasma com deficiência de factor de coagulação pode ser utilizado para confirmar, de um modo geral, uma deficiência de factor e para identificar e quantificar a deficiência do factor de coagulação no plasma do doente. Uma mistura do respectivo plasma com deficiência de factor e do plasma do doente é testada na análise de APTT, e o resultado é interpretado utilizando uma curva de referência obtida com diluições de Plasma humano Standard ou um "pool" de plasma normal misturado com o plasma deficiente. O plasma de um doente com deficiência de um factor específico não será capaz de compensar a ausência do factor no plasma com deficiência de factor de coagulação correspondente, resultando assim num APTT prolongado.

Reagentes
Conteúdo da embalagem
Coagulation Factor VIII Deficient Plasma, REF *OTXW,*
8 x ⟶ 1 ml FACTOR VIII DEFICIENT, Plasma deficiente em Factor de Coagulação VIII ou
Coagulation Factor IX Deficient Plasma, REF *OTXX,*
8 x ⟶ 1 ml FACTOR IX DEFICIENT, Plasma deficiente em Factor de Coagulação IX ou
Coagulation Factor XI Deficient Plasma, REF, *OSDF,*
3 x ⟶ 1 ml FACTOR XI DEFICIENT, Plasma deficiente em Factor de Coagulação XI ou
Coagulation Factor XII Deficient Plasma, REF, *OSDG,*
3 x ⟶ 1 ml FACTOR XII DEFICIENT, Plasma deficiente em Factor de Coagulação XII ou.

Composição
Os plasmas com deficiência de factor de coagulação são plasmas humanos liofilizados com uma actividade residual de Factor VIII, IX, XI ou XII de ≤ 1 %. Os plasmas com deficiência são fabricados por imunoadsorção a partir de plasma normal e estão isentos do antigénio do respectivo factor. O fibrinogénio está presente numa quantidade de pelo menos 1 g/l, e os factores de coagulação restantes estão presentes numa actividade superior a 40 % em relação à norma. Os plasmas contêm manitol (20 g/l) como estabilizador.

Advertências e medidas de precaução
1. Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.
2. Cada doador ou unidade de doação foi testada para detectar a presença de vírus de imunodeficiências humana 1 e 2 (VIH), vírus de hepatite B (VHB) e vírus de hepatite C (VHC) de acordo com as técnicas aprovadas pelas directivas de diagnóstico in-vitro da EU ou FDA. Para a elaboração deste produto foram utilizadas unicamente as unidades com resultados negativos. Como não existe nenhum teste que ofereça a garantia completa de ausência de agentes infecciosos, todos os materiais obtidos a partir de material de origem humana deverão ser manipulados com as devidas precauções.

Preparação dos reagentes

Plasmas com deficiência: Dissolver o conteúdo de um frasco com 1 ml de água destilada ou desionizada. Antes de utilizar, deixar durante, pelo menos, 15 minutos a uma temperatura de +15 a +25 °C; depois, agitar com cuidado para misturar (sem formação de espuma). Misturar cuidadosamente mais uma vez antes de usar.

Reagentes APTT: Utilizar de acordo com as respectivas Instruções de Utilização. Solução de cloreto de cálcio a 0,025 mol/l: aquecer a +37 °C (não necessário para sistemas de coagulação automatizados com pipetas de reagentes aquecidas).

Estabilidade e condições de conservação

Se for guardado por abrir a uma temperatura de +2 a +8 °C, o plasmas com deficiência de factor de coagulação pode ser utilizado até à data indicada no prazo de validade impresso no rótulo.

Estabilidade após reconstituição

de +15 a +25 °C,	8 horas
a -20 °C	4 semanas

Plasmas com deficiência de factor de coagulação pode ser congelado e descongelado uma vez após a reconstituição, sem perda de actividade de coagulação. O plasma tem que ser bem selado e congelado o mais rapidamente possível. A descongelação deve ser feita a +37 °C num período de 10 minutos. O plasma descongelado deve ser utilizado nas 2 horas seguintes quando mantido a uma temperatura entre +15 a +25 °C. A informação acerca da estabilidade no equipamento é especificada nas folhas de instruções de aplicação para os diferentes analisadores de coagulação.

Materiais necessários mas não fornecidos

Pathromtin* SL, REF OQGS ou

Dade® Actin® Activated Cephaloplastin, REF B4218-1, -2 ou

Dade® Actin® FS, REF B4218-20, -100 ou

Dade® Actin® FSL, REF B4219

Solução de cloreto de cálcio a 0,025 mol/l, REF ORHO

Solução tamponada de Imidazole, REF OQAA ou

Dade® Owren's Veronal Buffer, REF B4234 ou

Dade® CA System Buffer, REF B4265 ou

Soro fisiológico

Plasma Humano Padrão, REF ORKL

Plasma de Controlo N, REF ORKE

Plasma de Controlo P, REF OUPZ

Equipamento

Plasmas com deficiência de factor de coagulação pode ser utilizado manualmente ou em analisadores de coagulação automatizados. A Siemens Healthcare Diagnostics fornece guias de consulta (folhas de instruções de aplicação) para diversos 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. Nesse caso, as informações contidas nos guias de consulta (folhas de instruções de aplicação) substituem as informações dadas nestas instruções. Consulte ainda o manual de instruções do fabricante do aparelho.

Amostras

Para obter o plasma, misture cuidadosamente 1 parte de solução de citrato de sódio (0,11 mol/l) com 9 partes de sangue venoso, evitando a formação de espuma. Centrifugar a amostra de sangue a 1500 x g durante nunca menos de 15 minutos, à temperatura ambiente[5].

Estabilidade das amostras:

+15 a +25 °C	3 horas
-20 °C	4 semanas, para determinação do Factor VIII, 2 semanas

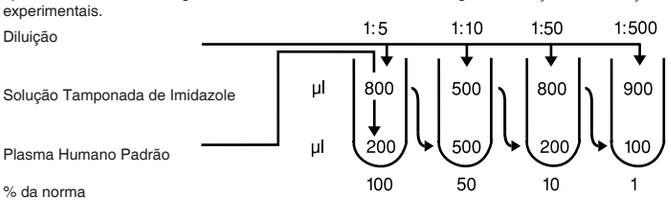
O plasma conservado a -20 °C deve ser descongelado num período de 10 minutos em banho de água a +37 °C, misturado com cuidado e, depois, testado imediatamente. Se não for possível realizar imediatamente o teste, a amostra pode ser mantida por um máximo de duas horas a +4 °C até ser testada[5].

Execução do teste

Teste manual (Teste automatizado: ver "Equipamento")

Definição da curva de referência:

Utilizar Plasma Humano Padrão ou plasma citrado recém-misturado de nunca menos de 10 dadores saudáveis. Utilizando Solução Tamponada de Imidazole, preparar as diluições conforme indicado no esquema seguinte e determinar os tempos de coagulação conforme descrito em "Sequência de trabalho". A curva de referência tem que ser redefinida se houver uma alteração no aparelho ou no lote de reagente utilizado ou ainda se se verificar alguma alteração nas condições experimentais.



Se necessário, podem preparar-se soluções adicionais. Traçar o gráfico dos tempos de coagulação medidos (ordenar) em papel milimétrico, relativamente às correspondentes percentagens de actividade do Factor (abcissa). Os tempos de coagulação dependem do princípio de medição e, por isso, também do analisador de coagulação utilizado. Por isso, cada laboratório tem que estabelecer a sua própria curva de referência.

Sequência de trabalho:

Diluir a amostra de plasma a 1:5 em solução tamponada de imidazole (deixar atingir a temperatura ambiente (+15 a +25 °C)), imediatamente antes da medição. Pipetar para um tubo de ensaio previamente aquecido a +37 °C:

Plasma com deficiência	100 µl
Diluição de amostra	100 µl
Reagentes APTT	100 µl
Incubar a +37 °C	2 minutos
Solução de cloreto de cálcio (previamente aquecida a +37 °C)	100 µl
Depois de adicionar a solução de cloreto de cálcio, iniciar o cronómetro ou temporizador no coagulómetro e determinar o tempo de coagulação.	

Resultados

Fazer a leitura do teor de factor de coagulação na curva de referência em % da norma. Se o valor nominal resultante para o plasma humano padrão não for 100 % da norma mas, por exemplo, apenas 95 %, multiplicar o resultado lido na curva por 0,95. No caso de tempos de coagulação que correspondam a um teor de factor de coagulação de mais de 100 % da norma, será necessário fazer novas determinações, utilizando maiores diluições da amostra (por exemplo, 1:10). O valor da percentagem da norma, lido na curva de referência para tais diluições mais elevadas, tem que ser multiplicado por um factor de correcção correspondente à diluição; por exemplo, para uma diluição de 1:10, por um factor de correcção de 2.

Controlo interno de qualidade

Intervalo normal: Plasma de controlo N

Intervalo patológico: Plasma de controlo P

É necessário medir dois níveis de material de controlo de qualidade (intervalo normal e intervalo patológico), no início de cada processamento de teste, com cada calibração, depois da troca de frascos de reagentes e, pelo menos, de oito em oito horas em cada dia de realização de testes. Os controlos devem ser processados exactamente como as amostras. Cada laboratório deverá estabelecer o seu próprio intervalo de controlo de qualidade, quer por meio de valores alvo e intervalos fornecidos pelo fabricante dos controlos quer por meio do seus próprios intervalos de confiança, definidos no laboratório. Se os valores de controlo se situarem fora do intervalo de confiança previamente determinado, deve então verificar-se o reagente, a curva de calibração e o analisador de coagulação. Os resultados dos pacientes não devem ser transmitidos até a causa do desvio ter sido identificada e corrigida

Limitações do procedimento

Doses terapêuticas de hirudina ou de outros inibidores directos da trombina, conduzem a uma actividade do factor erroneamente mais baixa[6,7].

Inibidores específicos contra factores plasmáticos de coagulação também podem modificar a actividade real do factor[8]. A activação parcial dos factores de coagulação, devido ao manuseamento incorrecto das amostras, pode conduzir a resultados de factor de coagulação falsamente elevados. Na determinação de um único factor, a presença de anticoagulante lúpico pode afectar a actividade aparente do factor. Pode ocorrer um não paralelismo após a diluição quando está presente anticoagulante lúpico na amostra a analisar[9].

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 previstos[10]

Factor VIII	70 a 150 % da norma
Factor IX	70 a 120 % da norma
Factor XI	70 a 120 % da norma
Factor XII	70 a 150 % da norma

Os intervalos de referência variam de laboratório para laboratório, dependendo da população servida e da técnica, método, equipamento e lote de reagentes utilizados. Por conseguinte, cada laboratório deve estabelecer os seus próprios intervalos de referência, sempre que uma ou mais das variáveis acima mencionadas forem alteradas.

Características específicas de desempenho

Limites de medição

Os limites de medição para determinação de factores de coagulação VIII, IX, XI e XII vão de 1 a aproximadamente 100 % da norma e podem ser aumentados até aproximadamente 200 %, utilizando uma maior diluição da amostra (ver acima).

Método de comparação

Num estudo, a determinação dos factores VIII, IX, XI e XII no sistema BFA* foi comparada com outro analisador de coagulação. As correlações resultaram no seguinte:

	n	r	Declive	Intercepção do eixo y (% da norma)
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

Reprodutibilidade

Foram realizados, no sistema BFA*, estudos de reprodutibilidade para a determinação de factores de coagulação VIII, IX, XI e XII com amostras tanto no intervalo normal como no intervalo patológico. As amostras foram processadas, tendo as determinações sido feitas 8 vezes ao longo de 5 dias com curvas de calibração memorizadas. Os estudos de reprodutibilidade resultaram em coeficientes de variação de 2 a 14 % para todos os factores.

Bibliografia

V. Folheto Informative em inglês.

Dade e Innovin são marcas comerciais da Siemens Healthcare Diagnostics.

* Pathromtin e BFA são marcas comerciais da Siemens Healthcare Diagnostics.

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

CE

Edição Maia 2007

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 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
LEVEL	Level / Konzentration / Niveau / Livello / Nivel / Nível

2006-09_EFIGSP

© 2008 Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH.
All rights reserved.