

**IVD**

Deficitní plazma pro faktory VIII:C, IX, XI, XII

REF DP040A/K DP 1 x 1 ml / 6 x 1 ml

REF DP050A/K DP 1 x 1 ml / 6 x 1 ml

REF DP080A/K DP 1 x 1 ml / 6 x 1 ml

Deficitní plazmy pro měření faktorů II, V, VII a X koagulační metodou.



www.hyphen-biomed.com

155, rue d'Eragny
95000 NEUVILLE SUR OISE
FRANCE
Tel. : +33 (0)1 34 40 65 10
Fax : +33 (0)1 34 48 72 36
info@hyphen-biomed.com

Datum Revize: 01_2021

POUŽITÍ:

Faktor VIII:C Deficitní plazma, Faktor IX Deficitní plazma, Faktor XI Deficitní plazma a Faktor XII Deficitní plazma soupravy jsou určeny pro kvantitativní stanovení aktivity Faktoru VIII:C (FVIII:C), Faktoru IX (FIX), Faktoru XI (FXI) a Faktoru XII (FXII) v lidské citrátové plazmě použitím koagulační metody v přítomnosti cephalinu, aktivátoru (aPTT reagentie) a vápníku, manuální nebo automatickou metodou.

SHRNUTÍ:**Technické¹:**

Vnitřní koagulační cesta je započata kontaktní aktivací Faktoru XII, který umožní sekvenční proteolytickou aktivaci FXI a FIX. Aktivovaný FIX tvoří, spolu s jeho kofaktory (aktivovaný FVIII), tenázní komplex na povrchu fosfolipidů, čímž aktivuje Faktor X.

Klinické^{1,2,3}:

Většina pacientů s FXII deficitem nemají symptomy, jen vzácně mohou mít krvácivé tendence.

Krvácivé tendence u lidí s deficitem FXI jsou většinou mírné, i u homozygotů, a symptomy často nekorelují s naměřenými hodnotami FXI.

Vrozená krvácivá porucha způsobená deficitem faktorů FVIII a FIX se nazývají Hemofilie A a B, respektive. Hemofilie je klasifikována podle závažnosti – těžká, střední a lehká forma, dle koncentrací faktorů VIII a IX v plazmě postižených pacientů.

Vrozené a získané deficity vnitřní koagulační cesty se projevují prodlouženým aktivovaným částečným tromboplastinovým časem (aPTT).

PRINCIP STANOVENÍ:

Navrhované měření je založeno na koagulační metodě, kde všechny faktory jsou přítomny (v dané hladině a přebytku, dodané deficitní plazmou), kromě měřeného faktoru, který je dodán měřenou plazmou. Koagulace je začata přidáním cephalinu, aktivátoru (aPTT reagentie) a vápníku.

Měřený faktor limituje reakci a naměřený čas koagulace je nepřímo úměrný koncentraci měřeného faktoru na bi-logaritmičtém grafickém papíře.

REAGENCIE:

DP Citrátová lidská plazma, deficitní na měřený faktor (FVIII:C, FIX, FXI, FXII), lyofilizováno v přítomnosti glycinu a stabilizátorů. Plazma obsahuje měřený faktor (FVIII:C, FIX, FXI, FXII) v koncentraci < 1% a ostatní faktory v normálním rozmezí (> 50%).

Faktor VIII:C Deficitní Plazma

REF DP040A ▶ 1 lahvička po 1 ml.

REF DP040K ▶ 6 lahviček po 1 ml.

Faktor IX Deficitní Plazma

REF DP050A ▶ 1 lahvička po 1 ml.

REF DP050K ▶ 6 lahviček po 1 ml.

Faktor VXI Deficitní Plazma

REF DP070A ▶ 1 lahvička po 1 ml.

REF DP070K ▶ 6 lahviček po 1 ml.

Faktor XII Deficitní Plazma

REF DP080A ▶ 1 lahvička po 1 ml.

REF DP080K ▶ 6 lahviček po 1 ml.

VAROVÁNÍ A UPOZORNĚNÍ:

• Některé reagentie v soupravě obsahují materiál lidského a zvířecího původu. Lidská plazma použitá k přípravě produktu byla restována registrovanou metodou a sledována negativně na přítomnost protilátek HIV 1, HIV 2, HCV a povrchového antigenu Hepatitidy B. I přesto nelze stoprocentně zaručit nepřítomnost infekčních agens a proto musí být s produktem zacházeno jako s potenciálně infekčním se všemi vyplývajícími bezpečnostními opatřeními.

• Odpad likvidujte dle platných místních regulací.

- Používejte pouze reagentie stejné šarže.
- Studie stability ukazují, že produkt může být převážen při pokojové teplotě bez degradace.
- Pouze pro in vitro diagnostiku v profesionální laboratoři.

PŘÍPRAVA REAGENCIE:

Lahvičky otvírejte opatrně, abyste zabránili ztrátě produktu.

DP Rozpusťte obsah každé lahvičky s přesně 1 ml destilované vody.

Dobře promíchejte, dokud se produkt úplně nerozpustí a ihned vložte do analyzátoru dle aplikačního protokolu. Zabraňte tvorbě pěny.

Pro manuální metodu nechte reagentie stabilizovat 30 minut při pokojové teplotě (18 – 25°C), homogenizujte před použitím.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA:

Neotevřené reagentie skladujte při 2 – 8°C v originálním balení. Takto skladované mohou být použity až do data expirace uvedeného na obalu.

DP Stabilita reagentie po rozpuštění, pokud je předejito odpařování a kontaminací, a pokud je produkt skladován uzavřený, je:

- 24 hodin při 2 – 8°C
- 8 hodin při pokojové teplotě (18 – 25°C)
- 2 měsíce při -20°C a méně*
- Stabilita v analyzátoru – viz aplikační protokol.

*Rozmazujte pouze jednou, co nejrychleji, při 37°C a ihned použijte.

REAGENCIE A MATERIÁL POTŘEBNÝ, ALE V KITU NEOBSAŽENÝ:**Reagentie:**

- Destilovaná voda.
- Imidazolový pufr (AR021B/K/L/M/N).
- CaCl₂ 0,025M (AR001B/K/L).
- aPTT reagentie (CEPHEN™, CK511K, CK512K, CK515K/L).
- Specifické kontroly a kalibrátory se známou hladinou:

Jméno produktu	Referenční číslo
BIOPHEN™ Plasma Calibrator	221 101
BIOPHEN™ Normal Control Plasma	223 201
BIOPHEN™ Abnormal Control Plasma	223 301

Odkážete se na aplikační protokol pro Váš analyzátor.

Materiál:

- Elektromagnetická vodní lázeň, polo-automatický nebo automatický koagulometr.
- Stopy; Kalibrované pipety, zkumavky z plastu nebo silikonového skla.

PŘÍPRAVA A ODBĚR VZORKU:

Krev (9 dílů) musí být opatrně odebrána do 0,109 M (3,2%) citrátového antikoagulantia (1 díl), přímou venepunkcí. První odebraná zkumavka by měla být znehodnocena.

Vzorky by měly být připraveny a skladovány dle relevantních řádů.

Pro skladování plazmy se odkážete na reference^{4,5,6}.

PROVEDENÍ TESTU:**Provedení:**

1. Rekonstituuje kalibrátory a kontroly dle jejich specifických instrukcí. Připravte 2 ml normální citrátové lidské poolové plazmy, ředěné 1:10 v Imidazolovém pufru. Dle definice desetinásobné ředění normální plazmy odpovídá 100% koncentraci měřeného faktoru. S 1:10 ředěním je kalibrační křivka získána následovně:

Ředění	1:160	1:80	1:40	1:20	1:10
Faktor II, V, VII, X (%)	6,25*	12,5	25	50	100
Poolová plazma 1:10	0,060 ml	0,125 ml	0,250 ml	0,500 ml	1 ml

Imidazolový pufr	0,900 ml	0,875 ml	0,750 ml	0,500 ml	0 ml
-------------------------	----------	----------	----------	----------	------

*toto dodatečné ředění by mělo být použito, pokud je potřeba větší přesnost pro nízké rozmezí ($\leq 10\%$).

Kalibrační křivka může být stanovena s BIOPHEN Plasma Calibrator (222101) použitím Faktoru k změření aktivity (C) uvedené na přiloženém letáku dané šarže. Kalibrační křivka musí být stanovena těsně před provedením testu.

Kalibrační řada musí být použita do dvou hodin při pokojové teplotě (18-25°C).

2. Měření plazmy a kontroly musí být ředěny v imidazolovém pufru, viz tabulka níže:

Vzorky	Referenční číslo	Ředění
Kontroly	223201/223301	1:10
Vzorky	-	1:10

3. Do testovací zkumavky nebo kvety dejte:

	Objem
Deficitní plazma	100 μ l
Kalibrátor, měřená plazma nebo kontroly ředěné 1:10	100 μ l
Míchejte při 37°C po 1 minutu, pak přidejte:	
aPTT reagensii (cephalin)	100 μ l
Míchejte a inkubujte při 37°C přesně 3 minuty, pak přidejte následující (a zapněte stopky):	
Chlorid vápenatý 0,025M, inkubovaný na 37°C	100 μ l
Měřte přesný čas koagulace (CT) v sekundách	

Stanovte kalibrační křivku a zkontrolujte ji kontrolami kvality. Pokud skladujete vzorky při pokojové teplotě (18-25°C), měřte vzorky rychle. Přesné koncentrace kalibrátorů a kontrol pro danou šarži reagensie jsou uvedeny na jejich přiložených k balení.

Uživatel je zodpovědný za validace jakékoliv změny a jejího dopadu na výsledky.

Pro automatickou metodu odkazujeme na aplikační protokol pro daný analyzátor, který je k dispozici na vyžádání.

KALIBRACE:

Kalibrační plazmy pokrývající dynamické rozmezí testu jsou k dispozici od HYPHEN BioMed (viz REAGENCIE A MATERIÁL POTŘEBNÝ, ALE V SOUPRAVĚ NEPŘÍTOMNÝ) a mohou být použity pro stanovení kalibrační křivky.

KONTROLA KVALITY:

Použitím kontroly kvality validujete shodu metody a homogenitu mezi sériemi pro danou šarži reagensií.

Zahrňte kontrolu kvality do běžného provozu. Nová kalibrační křivka musí být stanovena pro každou novou sérii testů, pro každou novou šarži, po významné údržbě analyzátoru, nebo pokud naměřené hodnoty kontroly kvality jsou mimo přijatelné rozmezí pro danou metodu.

Každá laboratoř se musí stanovit vlastní přijatelné rozmezí a verifikovat předpokládaný výkon na svém analytickém systému.

VÝSLEDKY:

- Pro manuální metodu vykreslete kalibrační křivku bi-logaritmicky, s časem koagulace na ose Y (v sekundách) a koncentrací měřeného faktoru v % na ose X.
- Koncentrace měřeného faktoru (%) ve vzorku je přímo odečtena z kalibrační křivky, pokud je použito standardní ředění.
- Výsledky musí být hodnoceny v souladu s klinickým a biologickým stavem pacienta.

LIMITY:

- Abyste zajistili optimální výkon testu a dostali potřebným specifikacím, technické instrukce validované společností HYPHEN BioMed musí být pozorně dodrženy.
- Jakákoliv reagensie neobvyklého vzhledu nebo jevící známky kontaminace musí být znehodnocena.
- Jakýkoliv vzorek jevící známky aktivace nebo jiné podezřelé znaky, musí být znehodnocen.
- Vzorky naměřené $\leq 10\%$ mohou být měřeny s ředěním 1:5; získaný výsledek musí být dělen 2. Pro vzorky naměřené $>100\%$ (nebo C%) mohou být měřeny s ředěním 1:20 a výsledek musí být vynásoben 2.
- Pro deficitní vzorky zkontrolujte výsledek měřením s 1:5 ředěním (výsledek pak vydělit 2), nebo měřit jiný vzorek, nebo použít jinou metodu. Zkontrolujte potenciační deficitní spojených faktorů.

- Inhibitory trombinu přítomné v měřené plazmě mohou způsobit falešně nižší hodnoty měřeného faktoru.

OČEKÁVANÉ HODNOTY:

Normální hladiny dospělého člověka pro faktor VII je $> 60\%$, pro faktory II, V a X jsou většinou $> 70\%$ ⁷. Každá laboratoř si musí stanovit vlastní přijatelné rozmezí.

REFERENCE:

- Grover SP. And Mackman N. Intrinsic Pathway of Coagulation and Thrombosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2019
- Winter WE. et al. Coagulation Testing in the Core Laboratory. Lab Medecine. 2017.
- Peyvandi F. et al. Rare bleeding disorders. Haemophilia. 2008.
- CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008.
- Woodhams B. et al. Stability of coagulation proteins in frozen plasma. Blood coagulation and Fibrinolysis. 2001.
- Mauge L. and Alhenc-Gelas M. Stabilité pré-analytique des paramètres de la coagulation: revue des données disponibles. Ann Biol Clin. 2014.
- Monagle P. et al. Impact for clinical haemostasis laboratories. Developmental haemostasis. 2006.

SYMBOLY:

Použití symbolů a znaky jsou uvedeny v seznamu ISO 15223-1 standard, viz dokument definice symbolů.