

Pefakit® APC-R Factor V Leiden Controls

REF 502-21/502-22

IVD

For *in-vitro* Diagnostic Use



Intended Use and Application

Control plasmas for confirmation of factor V Leiden mutation (FV:Q⁵⁰⁶) in assays for determination of the functional phenotype for activated protein C resistance caused by the factor V Leiden mutation.

Introduction

Pefakit® APC-R Factor V Leiden Controls is a control kit containing two control plasma pools either from donors with the normal wild-type pattern or with the heterozygous factor V Leiden mutation. The phenotype of each blood donor has been checked using Pefakit® APC-R Factor V Leiden.

The controls are intended to be used in combination with Pefakit® APC-R Factor V Leiden (REF 502-01/502-02), a plasma based functional assay for the determination of resistance to activated protein C caused by the factor V Leiden mutation (FV:Q⁵⁰⁶) [1], or an equivalent APC Resistance test.

Contents

| Controls | Content |
|----------|--|
| C1 | FV-L Negative Control (human plasma) 3 vials (lyophilized, to be reconstituted in 1.0 ml of deionized water per vial) |
| C2 | FV-L Heterozygous Control (human plasma) 3 vials (lyophilized, to be reconstituted in 1.0 ml of deionized water per vial) |

Materials required but not provided

- Deionized water
- Calibrated pipette (1000 µl)
- Automated or semi-automated coagulation instruments which employ mechanical or optical detection methods

Note: When using automated or semi-automated coagulation analyzers refer always to manufacturer's operator manual or ask for a detailed adaptation protocol.

Preparation and use of Pefakit® APC-R Factor V Leiden Controls

Prepare controls in the following way:

Reconstitute negative and heterozygous control in 1.0 ml deionized water, incubate in closed vials for 30 min. at room temperature and swirl gently before use. **Attention:** Extended incubation of controls C1 and C2 may – due to their high protein content – cause a phase separation characterized by a clear solution with a fine whitish layer on its surface. This may be erroneously interpreted as coagulation. Therefore, the controls should absolutely be brought in their initial homogeneous and cloudy form just before use.

Storage and Stability

The control kit may be used up to the expiry date given on the label when stored unopened at 2–8 °C.

Stability of the reagents after reconstitution:

| Controls | Stability | |
|----------|-----------|--------------------|
| C1 | –20 °C | 6 months |
| | 15–25 °C | 8 hours (on-board) |
| C2 | –20 °C | 6 months |
| | 15–25 °C | 8 hours (on-board) |

The control plasmas should be thawed at 37 °C and gently mixed before use. Freeze only once.

Certified Ranges

Different clotting times will be obtained with different types of instruments depending on the clot detection principle. The table (see separate certificate) shows the individual ranges of ratios for all instruments where a certification of the controls was carried out (Semi-automatic ball coagulometer (micro), BCS®XP, CS-Line, ACL TOP®-line, STA®-line).

If values outside these ranges are obtained using the controls, the test results are not valid and shall not be used for diagnostic purposes.

When controls are used in combination with another suitable test or instrument, expected ratio values may be different and have to be determined locally under appropriate conditions.

Precautions

Each donor unit used in the preparation of the control plasmas has been tested for antibodies against HIV Type 1 and 2, Hepatitis C-Virus antibodies, Treponema pallidum antibodies as well as Hepatitis B surface-antigen and Hepatitis C genome by PCR. The tests used are all CE certified tests according to list A of the European Directive for IVDs (98/79/EC) and are under supervision by the responsible European governmental authority. The plasmas were found to be negative on the tested parameters.



However, since no test can completely rule out the presence of blood borne diseases these control plasmas have to be handled as potentially infectious material.

Bibliography

1. Greengard JS, Sun X, Xu X, Fernandez JA, Griffin JH, Evatt B. Activated protein C resistance caused by Arg506Gln mutation in factor Va. *Lancet* 1994; 343: 1361-2.



Pentapharm AG, Dornacherstrasse 112
CH-4147 Aesch BL/Switzerland
P +41 61 706 48 48, F +41 61 706 48 00
www.pentapharm.com

Verwendungszweck

Kontrollplasmen für die Bestätigung der durch die Faktor V (FV) Leiden Mutation (FV:Q⁵⁰⁶) bedingten Resistenz von FV gegen aktiviertes Protein C in Methoden für die Bestimmung des funktionellen Phänotyps dieser Resistenz.

Einleitung

Pefakit® APC-R Factor V Leiden Controls ist ein Testkit, der zwei gepoolte Plasmen entweder von Spendern mit dem normalen Wildtyp oder der heterozygoten Factor V Leiden Mutation enthält. Der Phänotyp jedes Blutspenders wurde mittels Pefakit® APC-R Factor V Leiden geprüft.

Die Kontrollen sind bestimmt für den Gebrauch in Verwendung mit Pefakit® APC-R Factor V Leiden (REF 502-01/502-02), einem plasma-basierten funktionellen Test für die Bestimmung der durch die Faktor V Leiden Mutation verursachten Resistenz gegen aktiviertes Protein C [1], oder mit einem äquivalenten APC Resistenztest.

Inhalt

| Kontrollen | Inhalt |
|------------|--|
| C1 | FV-L Negative Control (Humanplasma) 3 Fläschchen (Lyophilisat, aufzulösen mit 1.0 ml entionisiertem Wasser pro Fl.) |
| C2 | FV-L Heterozygous Control (Humanplasma) 3 Fläschchen (Lyophilisat, aufzulösen mit 1.0 ml entionisiertem Wasser pro Fl.) |

Zusätzlich benötigte Materialien

- Entionisiertes oder destilliertes Wasser
- Kalibrierte Pipette (1000 µl)
- Automatisierte oder halbautomatisierte Gerinnungsgeräte, die mechanische oder optische Nachweismethoden verwenden.

Hinweis: bei Verwendung automatisierter oder halbautomatisierter Gerinnungsgeräte beachten Sie bitte die Bedienungsanleitung oder fragen Sie für detaillierte Adaptionsprotokolle.

Vorbereitung und Gebrauch von Pefakit® APC-R Factor V Leiden Controls

Bereiten Sie die Kontrollen wie folgt vor:

Negative und heterozygote Kontrollen werden mit 1.0 ml entionisiertem oder destilliertem Wasser angelöst, für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und vor Gebrauch schonend gemischt. **Achtung:** Bei den Kontrollen C1 und C2 kann es aufgrund des hohen Proteinanteils bei längeren Standzeiten zu einer Phasentrennung kommen, die durch eine feine, weissliche Lage an der Oberfläche und eine klare Lösung gekennzeichnet ist. Sie kann irrtümlich als Gerinnung interpretiert werden. Es ist deshalb unbedingt darauf zu achten, dass die Kontrollen vor der Verwendung durch leichtes Aufmischen wieder in die ursprüngliche homogene und leicht trübe Form gebracht werden.

Lagerung und Stabilität

Der Kontrollkit kann bei Lagerung ungeöffnet bei 2–8 °C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Ablaufdatum verwendet werden.

Stabilität der Kontrollplasmen nach Rekonstitution:

| Kontrollen | Stabilität | |
|------------|------------|----------------------|
| C1 | –20 °C | 6 Monate |
| | 15–25 °C | 8 Stunden (im Gerät) |
| C2 | –20 °C | 6 Monate |
| | 15–25 °C | 8 Stunden (im Gerät) |

Die Kontrollplasmen sollten bei 37°C aufgetaut und vor dem Gebrauch schonend gemischt werden. Nur einmal einfrieren.

Zertifizierte Bereiche

Je nach Detektionsprinzip werden auf verschiedenen Geräten unterschiedliche Gerinnungszeiten gemessen. Die auf separater Seite aufgeführte Tabelle gibt die individuellen Bereiche der Ratios für alle Geräte wieder, an denen eine Zertifizierung der Kontrollen durchgeführt wurde (Semi-automatic ball coagulometer (micro), BCS®XP, CS-Line, ACL TOP®-line, STA®-line).

Werden mit den Kontrollplasmen Werte ausserhalb der angegebenen Bereiche ermittelt, sind die Testergebnisse dieser Serie ungültig und dürfen nicht für Diagnosezwecke verwendet werden.

Werden die Kontrollen zusammen mit anderen geeigneten Tests oder Geräten verwendet, können abweichende Bereiche beobachtet werden. Diese sind unter geeigneten Bedingungen vor Ort zu bestimmen.

Vorsichtsmassnahmen

Jede Spendeinheit, die für die Herstellung der Kontrollplasmen verwendet wurde, ist auf HIV 1 und 2 Antikörper, Hepatitis C-Virus (HCV) Antikörper, Treponema pallidum Antikörper, ebenso wie Hepatitis B Oberflächenantigen und Hepatitis C- und HIV 1-Genom (PCR) getestet und für negativ befunden worden. Die dafür verwendeten Tests sind CE-zertifizierte Tests gemäss Liste A der Europäischen IVD-Richtlinien (98/79/EG) und unterstehen der Kontrolle durch die zuständige Behörde. Trotzdem sollte davon ausgegangen werden, dass bei keinem Test die Anwesenheit von über das Blut übertragenen Erkrankungen mit letzter Sicherheit auszuschliessen ist.



Daher sollten die Kontrollen als potenziell infektiös betrachtet und entsprechend gehandhabt werden.

Bibliographie

1. Greengard JS, Sun X, Xu X, Fernandez JA, Griffin JH, Evatt B. Activated protein C resistance caused by Arg506Gln mutation in factor Va. Lancet 1994; 343: 1361-2



Pentapharm AG, Dornacherstrasse 112
CH-4147 Aesch BL/Switzerland
P +41 61 706 48 48, F +41 61 706 48 00
www.pentapharm.com

Utilisation prévue et application

Plasmas de contrôle servant à confirmer la mutation de facteur V Leiden (FV:Q⁵⁰⁶) dans des tests de détermination du phénotype fonctionnel de la résistance à la protéine C activée provoquée par la mutation du facteur V Leiden.

Introduction

Pefakit® APC-R Factor V Leiden Controls est un kit de contrôle contenant deux pools de plasma provenant soit de donneurs sains soit de donneurs hétérozygotes pour la mutation du facteur V Leiden. Le phénotype de chaque donneur ayant été contrôlé au moyen du Pefakit® APC-R Factor V Leiden.

Les contrôles sont destinés à être utilisés en association avec le Pefakit® APC-R Factor V Leiden (REF 502-01/502-02), un test plasmatique fonctionnel servant à déterminer la résistance à la protéine C activée provoquée par la mutation de facteur V Leiden (FV:Q⁵⁰⁶) [1] ou un test de résistance à l'APC équivalent.

Contenu

| Contrôles | Contenu |
|-----------|---|
| C1 | FV-L Negative Control (plasma humain) 3 flacons (lyophilisat, à reconstituer dans 1.0 ml d'eau déionisée par flacon) |
| C2 | FV-L Heterozygous Control (plasma humain) 3 flacons (lyophilisat, à reconstituer dans 1.0 ml d'eau déionisée par flacon) |

Matériaux requis mais non fournis

- Eau déionisée
- Pipette graduée (1000 µl)
- Instruments de coagulation automatiques ou semi-automatiques employant des méthodes de détection optique ou mécanique.

Remarque: En utilisant des instruments de coagulation automatiques ou semi-automatiques, il faut toujours se référer au manuel d'utilisation du fabricant ou demander un protocole d'adaptation détaillé.

Préparation et utilisation des Pefakit® APC-R Factor V Leiden Controls

Préparez les contrôles de la manière suivante:

Reconstituez les contrôles négatif et hétérozygote dans 1.0 ml d'eau déionisée, incubez dans des flacons fermés pendant 30 min. à température ambiante et agitez délicatement avant utilisation. **Attention:** En cas d'incubation prolongée, les contrôles C1 et C2 peuvent, en raison de leur forte teneur en protéines, montrer une séparation de phases qui se manifeste par une solution transparente à la surface de laquelle se trouve une fine couche blanchâtre. Cela peut être faussement interprété en tant que coagulation. Pour cette raison il faut absolument les rendre homo-gènes et opaques par agitation douce juste avant utilisation.

Stockage et stabilité

La trousse de contrôle fermée et stockée entre 2 et 8 °C peut être utilisée jusqu'à la date de péremption mentionnée sur l'étiquette.

Stabilité des plasmas de contrôle après reconstitution:

| Contrôles | Stabilité | |
|-----------|-----------|---------------------|
| C1 | -20 °C | 6 mois |
| | 15-25 °C | 8 heures (on-board) |
| C2 | -20 °C | 6 mois |
| | 15-25 °C | 8 heures (on-board) |

Les plasmas de contrôle doivent être décongelés à 37 °C et agités délicatement avant utilisation. Ne congeler qu'une fois.

Valeurs limites certifiées

Des temps de coagulation différents sont obtenus selon les différents types d'instruments et le principe de détection du thrombus. Les valeurs limites mentionnées dans le tableau (page séparée) indiquent les limites individuelles des rapports pour tous les instruments, pour lesquelles une certification des contrôles a été exécutée (Semi-automatic ball coagulometer (micro), BCS®XP, CS-Line, ACL TOP®-line, STA®-line).

Si l'on obtient des valeurs en dehors de ces limites, les résultats de cette série de tests ne sont pas valables et ne doivent pas être utilisés à des fins diagnostiques.

Si les contrôles sont utilisés en association avec d'autres tests ou instruments adéquats, les valeurs attendues peuvent être différentes et doivent être déterminées localement dans les conditions appropriées.

Précautions

Chaque unité de donneur utilisée pour la préparation des plasmas de contrôle a été testée quant à la présence d'anticorps contre le HIV 1 et 2, d'anticorps contre le virus de l'hépatite C, d'anticorps contre le tréponème pâle ainsi que de l'antigène de surface de l'hépatite B et le génome de l'hépatite C et HIV 1 (PCR), le résultat du test devant être négatif. Les tests utilisés à cet effet sont des tests certifiés CE selon la liste A des Directives IVD Européennes (98/79/CE) et sont soumises au contrôle des autorités responsables.



Toutefois, comme aucun test ne peut exclure totalement la présence de maladies transmissibles par le sang, ces contrôles doivent être considéré comme potentiellement infectieux et manipulé en conséquence.

Bibliographie

1. Greengard JS, Sun X, Xu X, Fernandez JA, Griffin JH, Evatt B. Activated protein C resistance caused by Arg506Gln mutation in factor Va. *Lancet* 1994; 343: 1361-2.



Uso previsto

Plasmas control para la confirmación de la resistencia del Factor V (FV) Leiden a la proteína C activada debida a una mutación en el FV Leiden (FV:Q⁵⁰⁶) en los métodos para la determinación del fenotipo funcional de dicha resistencia.

Introducción

Pefakit® APC-R Factor V Leiden es un kit control que contiene dos tipos de controles, los cuales están producidos a partir de un fondo común (pool) de donantes que poseen o bien la forma normal silvestre (wild-type), o bien la mutación del factor V Leiden de forma heterocigota. El fenotipo de cada donante de sangre se comprobó mediante Pefakit® APC-R Factor V Leiden.

Los controles están previstos para su uso con Pefakit® APC-R Factor V Leiden (REF 502-01/502-02), una prueba funcional de plasma para la determinación de la resistencia a la proteína C activada provocada por una mutación del Factor V Leiden [1] o con una prueba de resistencia a la APC equivalente.

Contenido

| Controles | Contenido |
|-----------|--|
| C1 | FV-L Negative Control (Plasma humano) 3 viales (lío-filizado que se disuelve con 1,0 ml de agua desionizada por vial) |
| C2 | FV-L Heterozygous Control (Plasma humano) 3 viales (lío-filizado que se disuelve con 1,0 ml de agua desionizada por vial) |

Materiales adicionales

- Agua desionizada o destilada
- Pipeta calibrada (1000 µl)
- Aparatos de coagulación automatizados o semi-automatizados que utilizan métodos de detección mecánicos u ópticos.

Nota: Cuando utilice aparatos de coagulación automatizados o semiautomatizados siga las instrucciones de uso o solicite protocolos de adaptación detallados.

Preparación y uso de Pefakit® APC-R Factor V Leiden Controls

Prepare los controles según se indica a continuación: Los controles negativos y heterocigotos se disuelven con 1,0 ml de agua desionizada o destilada, se incuban durante 30 minutos a temperatura ambiente y se mezclan cuidadosamente antes de su uso. **Atención:** En caso de períodos prolongados de reposo y debido al elevado contenido de proteínas puede producirse en los controles C1 y C2 una separación de fase caracterizada por la formación de una capa fina y blanquecina sobre la superficie y una solución transparente y que puede interpretarse erróneamente como coagulación. Por lo tanto, antes de su uso es imprescindible mezclar suavemente los controles para que éstos vuelvan a su original forma homogénea y ligeramente turbia.

Conservación y estabilidad

El kit de ensayo sin abrir y conservado a una temperatura entre 2 y 8 °C se conserva hasta la fecha impresa en la etiqueta.

Estabilidad de los plasmas control tras la reconstitución:

| Controles | Estabilidad | |
|-----------|--------------------|------------------------------------|
| C1 | -20 °C 15-25 °C | 6 meses 8 horas (en el aparato) |
| C2 | -20 °C 15-25 °C | 6 meses 8 horas (en el aparato) |

Los plasmas control deberán descongelarse hasta 37 °C y mezclar cuidadosamente antes de su uso. Congelar sólo una vez.

Intervalos certificados

Dependiendo del principio de detección, los diferentes tiempos de coagulación se miden en diferentes aparatos. La tabla incluida en otra página aparte muestra los intervalos individuales de los cocientes para todos los aparatos en los cuales se llevó a cabo una certificación de los controles (Semi-automatic ball coagulometer (micro), BCS®XP, CS-Line, ACL TOP®-line, STA®-line).

Si los valores de los plasmas control calculados están fuera de los intervalos indicados, los resultados de los ensayos de esta serie no serán válidos y no se podrán utilizar.

Si los controles se utilizan con otras pruebas u aparatos adecuados, pueden observarse otros intervalos, los cuales se determinarán *in situ* en las condiciones adecuadas.

Advertencias y precauciones

Todos los materiales procedentes de las donaciones utilizados para la preparación de los plasmas control han sido analizados para comprobar la presencia de anticuerpos frente al VIH tipo I y tipo II, al virus de la hepatitis C (VHC), a *Treponema pallidum*, así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B y el genoma del virus de la hepatitis C y del VIH-1 (PCR), obteniéndose resultados negativos. Las pruebas utilizadas son pruebas certificadas con distintivo CE conforme a la Lista A de las directrices IVD (98/79/CE) y han sido sometidas al control de las autoridades competentes.



No obstante y dado que en cualquier prueba es imposible excluir con toda seguridad la posibilidad de transmisión de enfermedades a través de la sangre, este reactivo deberá considerarse como potencialmente infeccioso y manejarlo en consecuencia.

Bibliografía

1. Greengard JS, Sun X, Xu X, Fernandez JA, Griffin JH, Evatt B. Activated protein C resistance caused by Arg506Gln mutation in factor Va. *Lancet* 1994; 343: 1361-2.



Utilizzo

Plasma di controllo per la conferma del fattore V Leiden (FV:Q⁵⁰⁶) nei test per la determinazione del fenotipo di resistenza alla Proteina C attivata (APC) dovuta alla mutazione Leiden del fattore V.

Introduzione

Pefakit® APC-R Factor V Leiden Controls è un kit di controllo che contiene due pool di plasma provenienti da soggetti con forma allelica selvaggia (wild-type) o da portatori eterozigoti della mutazione di Leiden del fattore V.

Il fenotipo di ogni donatore di sangue è stato determinato mediante Pefakit® APC-R Factor V Leiden.

I controlli sono da usare in combinazione con Pefakit® APC-R Factor V Leiden (REF 502-01/502-02) o un test equivalente. Pefakit® APC-R Factor V Leiden è un test per la determinazione della resistenza alla Proteina C attivata, causata dalla mutazione del fattore V:Q⁵⁰⁶ [1].

Contenuto

| Controlli | Contenuto |
|-----------|---|
| C1 | FV-L Negative Control (plasma umano) 3 flaconi (liofilizzati, da ricostituire con 1.0 ml di acqua deionizzata per flacone) |
| C2 | FV-L Heterozygous Control (plasma umano) 3 flaconi (liofilizzati, da ricostituire con 1.0 ml di acqua deionizzata per flacone) |

Altro materiale necessario

- Acqua deionizzata o distillata
- Pipetta di precisione calibrata (1000 µl)
- Strumenti automatici o semiautomatici con metodo di rilevazione ottica o meccanica.

Annotazione: Se si utilizzano analizzatori automatici o semiautomatici riferirsi sempre al Manuale dell'Operatore o richiedere il dettagliato protocollo d'adattamento per ulteriori informazioni.

Preparazione del Pefakit® APC-R Factor V Leiden Controls

Ricostituire il plasma di controllo FV-L Negative Control ed il plasma di controllo FV-L Heterozygous Control con 1.0 ml di acqua deionizzata o distillata ed incubare 30 minuti a temperatura ambiente nel flacone chiuso. Agitare con delicatezza il flacone prima dell'uso. **Avvertenze:** A causa di un'alta concentrazione di proteine dopo lunghi periodi di stasi dei controlli C1 e C2, può avvenire una separazione delle fasi che si caratterizza per uno strato sottile, caliginoso e per una soluzione trasparente. Questo fenomeno può essere erroneamente interpretato come coagulazione. Pertanto, prima dell'uso, bisogna assicurarsi che i controlli vengano mescolati leggermente, affinché ritornino nella forma originaria omogenea e lievemente opaca.

Conservazione e stabilità

Prima dell'apertura, se conservati a 2–8°C i componenti del Pefakit® APC-R Factor V Leiden Controls sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta.

Stabilità dei reagenti dopo ricostituzione:

| Controllo | Stabilità | |
|-----------|-----------|------------------|
| C1 | –20 °C | 6 mesi |
| | 15–25 °C | 8 ore (on board) |
| C2 | –20 °C | 6 mesi |
| | 15–25 °C | 8 ore (on board) |

I plasmi di controllo vanno scongelati a 37°C ed agitati gentilmente prima dell'uso. Congelare il plasma una sola volta.

Intervalli certificati

La tabella riportata sulla pagina allegata, elenca gli intervalli dei ratio individuali per tutti gli strumenti con i quali è stata effettuata una certificazione con materiale di controllo (Semi-automatic ball coagulometer (micro), BC-S®XP, CS-Line, ACL TOP®-line, STA®-line).

Se con il plasma di controllo vengono ottenuti valori al di fuori degli intervalli indicati, i risultati di questa serie non sono validi e non possono essere utilizzati a scopo diagnostico.

Quando il plasma di controllo viene utilizzato in combinazione con altri test o analizzatori possono essere osservati intervalli differenti. Questi devono essere determinati sul posto in condizioni adeguate.

Avvertenze e precauzioni

Ciascuna unità di donazione utilizzata nella preparazione dei plasmi di controllo è stata testata per la presenza di anticorpi anti HIV 1 e 2, di anticorpi contro il virus dell'epatite C (HCV), di anticorpi contro il Treponema pallidum come anche per l'antigene di superficie dell'epatite B e tipizzata mediante amplificazione genetica (PCR) per il genoma virale dell'epatite C e per il genoma virale dell'immunodeficienza umana di tipo 1 (HIV 1). Le unità sono state trovate negative. I test utilizzati per questo scopo sono test certificati «CE» secondo la lista A della Direttiva Diagnostici in Vitro (IVD) 98/79/EC e sono sottoposti al controllo dell'autorità responsabile. Ciononostante ci si deve attendere che nessun test possa escludere con sicurezza assoluta la presenza di malattie trasmesse attraverso il sangue.



Pertanto, si raccomanda di trattare questo reagente come se fosse potenzialmente infettivo e di adottare di conseguenza le necessarie misure di sicurezza.

Bibliografia

1. Greengard JS, Sun X, Xu X, Fernandez JA, Griffin JH, Evatt B. Activated protein C resistance caused by Arg506Gln mutation in factor Va. Lancet 1994; 343: 1361-2.

