



REACTIFS BIOLABO

www.biolabo.fr

FABRICANT :

BIOLABO SAS,

Les Hautes Rives

02160, Maizy, France

# Factor IX Plasma Déficiant

Plasma immuno-déplété pour le dosage du Facteur IX dans le plasma humain citraté

REF 13309 R1 6 x 1 mL



IVD USAGE IN VITRO

## SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES

Tel : (33) 03 23 25 15 50

Fax : (33) 03 23 256 256

## INTERET CLINIQUE (1) (2) (3) (4) (5) (7)

Le réactif Factor IX-Plasma Déficiant est utilisé pour la détermination de l'activité du Facteur IX (F.IX) dans le plasma humain par toute méthode de mesure du temps de coagulation sur coagulomètre ou automate d'hémostase.

Le Facteur IX (facteur antihémophilique B) est une glycoprotéine synthétisée dans le foie. Sa synthèse sous une forme biologiquement active (carboxylée) est vitamine K dépendante. Ainsi activé, le F. IX se fixe en présence de  $Ca^{2+}$  sur les phospholipides plaquettaires ou tissulaires.

Il existe 2 voies d'activation du facteur IX :

- par le biais du facteur XI en présence de  $Ca^{2+}$
  - par le complexe FT/F.VIIa qui active soit le F.X soit le F.IX
- Le F.IXa forme avec les phospholipides, le calcium et le F.VIIIa un complexe enzymatique capable d'activer le F.X en F.Xa

On note un déficit en facteur VIII dans les cas suivants :

- Hémophilie B

La sévérité est fonction du taux de facteur IX :C :

- < 1% Hémophilie sévère
- 1 à 5% Hémophilie modérée
- 5 à 25% Hémophilie atténuée
- Hypovitaminose K
- Traitement AVK
- Carence d'apport, trouble d'absorption ou de métabolisme de la vitamine K (maladie hémorragique du nouveau né, rétention biliaire, antibiothérapie)
- Atteintes hépatiques
- Cirrhose
- Hépatite
- Abaissement du taux de F.IX en présence d'un inhibiteur de F.IX

## PRINCIPE (1)

Le principe de la méthode, consiste à déterminer, en présence de céphaline et d'activateur, le temps de coagulation d'un système où tous les facteurs sont présents en excès (apportés par le Factor VIII-Plasma Déficiant) à l'exception du Facteur VIII amené par le plasmas de patient à tester.

Ce dosage peut être réalisé à l'aide des réactifs BIOLABO suivants :

REF 13660 et 13670: BIO-SIL TCA Silice

REF 13560 et 13570: BIO-CK TCA Kaolin

## REACTIFS

Flacon R1

Factor IX Plasma Déficiant

Plasma humain lyophilisé citraté dépourvu de Facteur IX par immuno-adsorption spécifique.

## PREPARATION DES REACTIFS

- Ouvrir un flacon avec précaution, ajouter exactement 1 mL d'eau déminéralisée.
- Refermer le bouchon et laisser reposer 10 à 20 minutes à température ambiante (20-25°C).
- Avant l'emploi, homogénéiser le lyophilisat en remuant doucement pour éviter la formation de mousse.

ATTENTION : NE PAS AGITER. PROTEGER DE LA LUMIERE

## PRECAUTIONS

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro.

- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
  - Utiliser des équipements de protection (blouse, gants, lunettes).
  - Ne pas pipeter avec la bouche.
  - En cas de contact avec la peau ou les yeux, rincer abondamment à l'eau et consulter un médecin.
  - La fiche de données de sécurité est disponible sur simple demande.
  - Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.
  - Chaque plasma provenant d'un donneur humain et utilisé pour la préparation de ce contrôle a été analysé et a donné des résultats négatifs pour l'antigène Hbs et les anticorps de l'hépatite C et du VIH-1, VIH-2. Cependant, aucun test ne peut garantir de façon absolue l'absence de tout agent infectieux
- Par mesure de sécurité, traiter tout spécimen ou réactif d'origine biologique comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

## STABILITE ET CONSERVATION

**Lyophilisats, avant ouverture conservé à 2-8°C ou -20°C:** stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, s'il est utilisé et conservé comme indiqué dans la notice

**Après reconstitution :** stable 4 heures à température ambiante.

Ne pas utiliser le plasma reconstitué après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.

## PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (9) (10)

Plasma (citraté).

Mélanger le sang fraîchement prélevé (9 volumes) avec une solution tamponnée de citrate trisodique 3.2% (1 volume).

Centrifuger 10 min à 3000 g et prélever le surnageant.

Conservation en tube plastique :

- 4h à 20-25°C
- Si congelé rapidement,
- 15 jours à -20°C, 1 mois à -80°C (placer les échantillons à 37°C le temps nécessaire et suffisant à une décongélation complète)

## INTERFERENCES (6)

Les inhibiteurs de la thrombine (ex : hirudine, argatroban...), présents dans le plasma des patients à tester peuvent conduire à une sous-estimation du taux de facteur IX dans ce plasma.

La présence de lupus anticoagulants peut entraîner une sous-estimation du F.IX

Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

## REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

1. Equipement de base du laboratoire d'analyses médicales.
2. Réactif indiqué au § PRINCIPE
3. REF 13565 : Solution  $CaCl_2$  0.25
4. REF 13970 : BIO-CAL, plasma de référence
5. REF 13971 et REF 13972 : COATROL 1 et COTROL 2
6. Papier millimétré

## CALIBRATION

- **REF** 13970 : BIO-CAL, plasma de référence pour la calibration des tests de coagulation

La fréquence de calibration dépend des performances de l'analyseur et des conditions de conservation du réactif.

Il est recommandé de calibrer à nouveau dans les cas suivants :

1. Changement du lot de réactif.
2. Après opérations de maintenance sur l'analyseur.
3. Les valeurs de contrôle obtenues sortent des limites de confiance, même après utilisation d'un deuxième flacon de plasma de contrôle fraîchement reconstitué.

## CONTRÔLE DE QUALITE

- **REF** 13971: COATROL 1 Taux 1
  - **REF** 13972: COATROL 2 Taux 2
  - Tout autre plasma de contrôle titré pour cette méthode.
  - Programme externe de contrôle de la qualité.
- Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :
- Au moins un contrôle par série.
  - Au moins un contrôle par 24 heures.
  - Changement de flacon de réactif.
  - Après opérations de maintenance sur l'analyseur.

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites de confiance indiquées, appliquer les actions suivantes :

1. Répéter le test en utilisant le même contrôle.
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, préparer un plasma de contrôle fraîchement reconstitué et répéter le test.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un autre calibrant ou un calibrant fraîchement reconstitué et répéter le test.
4. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, calibrer à nouveau en utilisant un autre flacon de réactif et répéter le test.
5. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local.

## INTERVALLES DE REFERENCE (2)

**Plasma (chez l'adulte)** Généralement entre 60 - 150 %

Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs normales.

## PERFORMANCES

Les études de performances ont été réalisées sur SOLEA 100:

Intra-série N = 20	Niveau 1	Niveau 2
Moyenne %	158	56
S.D. %	8.2	2.8
C.V. %	5.4	5
Critères	< 7%	< 7%

Inter-série N = 20	Niveau 1	Niveau 2
Moyenne %	132	47
S.D. %	9.7	3.4
C.V. %	7.3	7.1
Critères	< 10%	< 10%

### Limite de détection:

avec une dilution du plasma à tester au 1/10, la limite de détection de la méthode se situe à 5 % de Facteur IX

## LIMITE DE LINEARITE

La réaction est linéaire jusqu'à 200 % avec une dilution au 1/10 des plasmas à tester.

## MODE OPERATOIRE

### Technique manuelle

Préparer une gamme de dilution avec **REF** 13970 : BIO-CAL, plasma de référence dans du tampon Owren Koller comme suit :

Dilutions 1/d	1/10	1/20	1/40	1/80
Plasma de référence (mL)	0,1	0,1	0,1	0,1
Tampon Owren Koller (mL)	0,9	1,9	3,9	8,0

Préincuber CaCl<sub>2</sub> 0.025 M au BM (37°C). Distribuer dans des tubes suivant les indications du tableau

Déterminer les temps de coagulation de chaque point de la gamme comme suit :

Plasma de référence 1/10 à 1/80	0,1 mL
Plasma Déficiant	0,1 mL
Réactif TCA	0,1mL
Incuber 3 minutes à 37°C.	
REF 13565 (CaCl <sub>2</sub> 0,025 M )	0,1mL
Déclencher le chronomètre simultanément.	

Agiter et rechercher le moment de la coagulation en remuant le tube de façon à l'amener presque à l'horizontale, sous un bon éclairage..

Procéder de même pour les contrôles et plasmas à tester préalablement dilué au 1/10 dans le tampon Owren Koller

Contrôles ou plasmas de patients (dilué 1/10)	0,1 mL
Plasma Déficiant	0,1 mL
Réactif TCA	0,1mL
Incuber 3 minutes à 37°C.	
REF 13565 (CaCl <sub>2</sub> 0,025 M )	0,1mL
Déclencher le chronomètre simultanément.	

### Technique automatique

Utiliser de préférence le Réactif BIO SIL (TCA Méthode silice). Se référer au manuel d'utilisation du coagulomètre utilisé

Remarque :

Des procédures spécifiques sont disponibles pour les analyseurs automatiques. Contacter le service technique BIOLABO.

## CALCUL

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

Tracer la courbe de calibration à l'aide des résultats obtenus avec la gamme de calibration

Concentration % = f (temps de coagulation).

Lire les concentrations (%) des contrôles et essais en reportant les temps de coagulation sur le graphe

## REFERENCES

- (1) SOULIER J.P., LARRIEU M.-J.: *Sang*, **24**, 3, 205-215, 1953
- (2) CAEN J., LARRIEU M.-J., SAMAMA M.: *Paris, L'Expansion scientifique*, **181**, 1975
- (3) ORSTAVIK K.H., LAAKE K.: "Factor IX in warfarin treated patients". *Thromb.RES.*, **13**, 2, 207-218, 1978
- (4) PANICUCCI F., SAGRIPANTI A., CONTE B PINORI E., VISPI M., LESCHINI L.: "Characterization of heterogeneity of haemophilia B for detection of carriers". *Haemostasis*, **9**, 310-318, 1980.
- (5) SAMAMA M., CONNARD J., HORELLOU M.H., LECOMTE T.: "physiologie et exploration de l'hémostase" *Paris: Doin*, **81**, 109-112, 1990
- (6) YOUNG D.S., *Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests*, 4<sup>th</sup> Ed. (1995) p.3-254 à 3-257
- (7) SAMPOL J., ARNOUX D., BOUTIERE B.: "manuel d'hémostase" *Paris: Editions scientifiques et médicales ELSEVIER*, 311-336, 379-381, 552-553, 608-609, 1995.
- (8) WHITE G.C., ROSENDAAL F., ALEDORT L.M., LUSHER J.M., ROTSHILD C., INGERSLEV J.: "Definition in haemophilia-Recommendation of the Scientific Subcommittee on factor VIII and factor IX of the Scientific and Standardization Committee of the international society on Thrombosis and haemostasis" *Thromb. Haemostasis*, **85**, 560, 2001
- (9) WOODHAMS B., GIRARDOT O., BLANCO M.J., COLESSE G., GOURMELIN Y.: "Stability of coagulation proteins in frozen plasma" *Blood Coag. Fibrinolysis*, **12**, 229-236, 2001
- (10) CLSI Document H21-A5: 3Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular haemostasis assays; approved guideline". *Fifth edition*, **28**, 5, 2008