



REACTIVOS BIOLABO

www.biolabo.fr

FABRICANTE:

BIOLABO SAS,

Les Hautes Rives

02160, Maizy, France

Factor VIII Plasma Deficiente

Plasma inmunodepletado para la dosificación del Factor VIII en plasma humano citratado

REF 13308 R1 6 x 1 mL



IVD USO IN VITRO

SOPORTE TECNICO Y PEDIDOS

Tel : (33) 03 23 25 15 50

Fax: (33) 03 23 256 256

SIGNIFICACION CLINICA (1) (5) (7) (8) (10) (11)

El reactivo Factor VIII-Plasma Deficiente se utiliza para la determinación de la actividad del Factor VIII (F.VIII) en el plasma humano por cualquier método o automática de hemostasia.

El Factor VIII (factor anti hemofílico A) es una glicoproteína que está presente en el hígado, el bazo, los riñones y los linfocitos. Circula en el plasma bajo la forma de un complejo no covalente con el factor de Von Willebrand. El F.VIII está activado por la trombina y el F.Xa; el F.VIII acelera la activación del F.X por el F.IXa en presencia de fosfolípidos y de Ca^{2+} .

Se observa variaciones patológicas del F.VIII en los siguientes casos:

- Hemofilia A:

La gravedad de la hemofilia se evalúa en función de la concentración de F.VIII:C.

Hemofilia grave	< 0.1% (0.01 UI/mL)
Hemofilia moderada	1 a 5% (0.01 – 0.05 UI /mL)
Hemofilia atenuada	5 a 40% (0.05-0.40 UI/mL)

- Enfermedad de Willebrand:

Disminución más o menos pronunciada de la tasa de F.VIII

- La elevación de la tasa de F.VIII es un factor de riesgo de trombosis, notablemente venosa. Se observa esta elevación en el caso de complicaciones tromboembólicas, de aterosclerosis coronaria, de insuficiencia renal, diabetes, síndrome inflamatorio...

-Se observa una disminución de la tasa de F.VIII en presencia de inhibidor de F.VIII.

PRINCIPIO (1) (3)

El principio del método, consiste en determinar, en presencia de Cefalina y de activador, el tiempo de coagulación de un sistema donde todos los factores están presentes en exceso (traídos por el Factor VIII-Plasma Deficiente) con excepción del Factor VIII traído por el plasma de paciente a testar.

Esta dosificación puede realizarse con la ayuda de los siguientes reactivos BIOLABO:

REF 13560 y 13570: TTPA Caolín

REF 13660 y 13670: TTPA Silicio

REACTIVOS

Vial R1

Factor VIII Plasma Deficiente

Plasma humano liofilizado citratado desprovisto de Factor VIII por inmunoadsorción específica.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

- Abrir un vial con precaución, añadir exactamente 1 mL de agua desmineralizada.
- Cerrar el tapón y dejar reposar 10 a 20 minutos a temperatura ambiente (20-25°C).
- Antes del uso, homogeneizar el liofilizado removiendo suavemente para evitar la formación de espuma.

CUIDADO: NO AGITAR. PROTEGER DE LA LUZ.

PRECAUCIONES

Los reactivos BIOLABO están destinados a un personal cualificado, para uso in vitro.

- Verificar la integridad de los reactivos antes de su utilización.
- Utilizar equipamiento de protección (bata, guantes, gafas).
- No pipetear con la boca.
- En caso de contacto con la piel o los ojos, enjuagar con agua abundante y consultar con un medico.
- La ficha de datos de seguridad puede obtenerse sobre simple demanda.
- Eliminación de los desechos: respetar la legislación en vigor.
- Cada plasma proveniente de un donante humano y utilizado para la preparación de este control ha sido analizado y ha dado resultados negativos para el antígeno Hbs y los anticuerpos de la hepatitis C y del VIH-1, VIH-2. Sin embargo, ningún test puede garantizar de forma absoluta la ausencia de todo agente infeccioso.
- Por medida de seguridad, tratar toda muestra o reactivo de origen biológico como potencialmente infeccioso. Respetar la legislación en vigor.

ESTABILIDAD Y CONSERVACION

Liofilizados, antes de abrir conservado a 2-8°C ó -20°C : estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, si es utilizado y almacenado en las condiciones indicadas en las instrucciones de uso.

Después de reconstitución:

Estable 4 horas a temperatura ambiente.

No utilizar el plasma reconstituido después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del maletín.

TOMA Y PREPARACION DE LA MUESTRA (9) (12)

Plasma (citratado).

Mezclar la sangre recientemente extraída (9 volúmenes) con una solución tamponada de citrato trisódico 3.2% (1 volumen).

Centrifugar 10 min a 3000 g y extraer el sobrenadante.

Conservación en tubo de plástico:

- 4h a 20-25°C

Si congelado rápidamente,

- 15 días a -20°C

- 1 mes a -80°C (poner las muestras a 37°C el tiempo necesario y suficiente a una descongelación completa).

INTERFERENCIAS (6)

Los inhibidores de la trombina (ej.: hirudina, argatroban...), presentes en el plasma de los pacientes a testar pueden conducir a una subestimación de la tasa de factor VIII en este plasma.

La presencia de lupus anticoagulantes puede conllevar una subestimación del F.VIII

Young D.S. a publicado una lista de las sustancias que interfieren con la dosificación.

REACTIVOS Y MATERIAL COMPLEMENTARIOS

1. Material de base del laboratorio de análisis médico.
2. Reactivos (ver § PRINCIPIO).
3. REF 13565: Solución $CaCl_2$ 0.25 M.
4. REF 13970: BIO-CAL Plasma de referencia
5. REF 13971 y REF 13972: COATROL 1 y COATROL 2
6. Papel milimetrado.



Fabricante Fecha de caducidad Uso "In vitro" Temperatura de conservación Referencia Producto Consultar las instrucciones Numero de lote Almacenar protegido de la luz Suficiente para diluir

Made in France

Ultima Versión: www.biolabo.fr

Versión: 26/03/2015

CALIBRACION

- **REF** 13970: BIO-CAL Plasma de referencia para la calibración de los tests de coagulación.

La frecuencia de calibración depende de las prestaciones del analizador y de las condiciones de conservación del reactivo.

Se recomienda calibrar de nuevo en los siguientes casos:

1. Cambio de lote del reactivo.
2. Después de una operación de mantenimiento sobre el analizador.
3. Los valores de control obtenidos se salen de los límites de confianza, incluso después de la utilización de un segundo vial de plasma de control recientemente reconstituido.

CONTROL DE CALIDAD

- **REF** 13971: COATROL 1 Tasa 1
- **REF** 13972: COATROL 2 Tasa 2
- Cualquier otro plasma de control titulado para este método.
- Programa externo de control de calidad.

Se recomienda controlar en los siguientes casos:

- Por lo menos un control por serie.
- Por lo menos un control cada 24 horas.
- Cambio de vial de reactivo.
- Después de una operación de mantenimiento sobre el analizador.

Cuando un valor de control se encuentra fuera de los límites de confianza, aplicar las siguientes acciones correctivas:

1. Repetir la operación utilizando el mismo control.
2. Si el valor obtenido sigue fuera de los límites, preparar un plasma de control recientemente reconstituido y repetir el test.
3. Si el valor obtenido sigue fuera de los límites, utilizar otro calibrador o un calibrador recientemente reconstituido y repetir el test.
4. Si el valor obtenido sigue fuera de los límites, calibrar de nuevo utilizando otro vial de reactivo y repetir el test.
5. Si el valor obtenido sigue fuera de los límites, contactar el servicio técnico BIOLABO o el distribuidor local.

INTERVALOS DE REFERENCIA (2) (7)

Plasma (en el adulto) Generalmente entre 60 - 150 %

Se recomienda a cada laboratorio establecer sus propios valores normales.

Entre los factores susceptibles de influir en la tasa de Factor VIII: C, se encuentran:

- estroprogestativos, embarazo
- AVK, corticoides,
- esfuerzo físico, estrés...

PRESTACIONES

Los estudios de prestaciones han sido realizados sobre Thrombolyzer:

Intra-serie N = 20	Nivel 1	Nivel 2
Media %	127	52
S.D. %	6.6	2.9
C.V. %	5.2	5.6
Criterios	< 7%	< 6%

Inter-serie N = 20	Nivel 1	Nivel 2
Media %	100	43
S.D. %	9.2	2.7
C.V. %	9.2	6.3
Criterios	< 10%	< 10%

Limite de detección:

Con una dilución del plasma a testar al 1/10, el límite de detección del método se sitúa a 6.5 % de Factor VIII

LIMITE DE LINEALIDAD

La reacción es lineal hasta 150 % con una dilución al 1/10 de los plasmas a testar.

MODO OPERATORIO

Técnica manual

Preparar una gama de dilución del **REF** 13970: BIO-CAL Plasma de referencia en tampón Owren Koller como sigue:

Diluciones 1/d	1/10	1/20	1/40	1/80
Plasma de referencia (mL)	0,1	0,1	0,1	0,1
Tampón Owren Koller (mL)	0,9	1,9	3,9	8,0

Preincubar CaCl_2 0.025 M al bm (37°C). Distribuir en tubos siguiendo las indicaciones de la tabla

Determinar los tiempos de coagulación de cada punto de la gama como sigue:

Plasma de referencia 1/10 a 1/80	0,1 mL
Plasma deficiente	0,1 mL
REF 13560 Reactivo TCA:	0,1mL
Incubar 3 minutos a 37°C	
REF 13565 CaCl_2 0,025 M :	0,1mL
Poner en marcha el cronometro simultáneamente.	

Agitar y buscar el momento de la coagulación removiendo el tubo de forma a llevarlo casi al horizontal, bajo una buena iluminación.

Proceder de la misma forma para los controles y plasmas a testar de previamente.

Controles o plasmas de pacientes (diluido 1/10)	0,1 mL
Plasma deficiente	0,1 mL
REF 13560 Reactivo TCA :	0,1mL
Incubar 3 minutos a 37°C	
REF 13565 CaCl_2 0,025 M:	0,1mL
Poner en marcha el criómetro de forma simultanea	0,2 mL

Técnica automática

Utilizar de preferencia el Reactivo BIO SIL (TCA Método silicio). Referirse al manual de utilización del coagulometro utilizado.

Nota:

Procedimientos específicos están disponibles para los analizadores automáticos. Contactar con el servicio técnico BIOLABO.

CALCULO

El resultado se determina según la siguiente formula:

Trazar la curva de calibración con la ayuda de los resultados obtenidos con la gama de calibración

Concentración % = f (tiempo de coagulación).

Leer las concentraciones (%) de los controles y pruebas reportando los tiempos de coagulación sobre el grafico.

REFERENCIAS

- (1) SOULIER J.P., LARRIEU M.-J.: *Sang.* **24**, 3, 205-215, 1953
- (2) CAEN J., LARRIEU M.-J., SAMAMA M.: *Paris, L'Exp. Scient.*, 181, 1975
- (3) ZACHARSKIL.R. ROSENSTEIN R.: "Standardisation of the one stage assay for F.VIII (antihemolytic factor)". *Am. J. Clin. Pathol.*, **70**, 280-286, 1978
- (4) MARDER V.J., MANNUCCI P.M., FIRKIN B.G., HOYER L.W., MEYER D.: "Standard nomenclature for F.VIII and Von Willebrand Factor: a recommendation by the international Committee on thrombosis and haemostasis". *Thromb. Haemostasis*, **54**, 4, 871-872, 1985.
- (5) SAMAMA M., CONARD J., HORELLOU M.H., LECOMPTE T.: "physiologie et exploration de l'hémostase" *Paris: Doin*, **81**, 109-112, 1990
- (6) YOUNG D.S., *Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests*, 4th 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) KAMPHUINSEN P.W., EIKENBOOM J.C.J., BERTINA R.M.: "Elevated F.VIII levels and the risk of thrombosis". *Arthroscl. Thromb. Vasc. Biol.*, **21**, 731-738, 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) 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 VIII of the Scientific and Standardization Committee of the international society on Thrombosis and haemostasis" *Thromb. Haemostasis*, **85**, 560, 2001
- (11) FRESSINAUD E., MEYER D.: "La maladie de Willebrand: du diagnostic au traitement". *Rev. Prat.*, **55**, 2209-2218, 2005
- (12) CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular haemostasis assays; approved guideline". Fifth edition, **28**, 5, 2008