



REACTIVOS BIOLABO

www.biolabo.fr

FABRICANTE:

BIOLABO SAS,

Les Hautes Rives

02160, Maizy, France

Factor IX Plasma Deficiente

Plasma inmune - depletado para la dosificación del Factor IX en el plasma humano citratado

REF 13309 R1 6 x 1 mL

SOPORTE TECNICO Y PEDIDOS

Tel : (33) 03 23 25 15 50

Fax: (33) 03 23 256 256



IVD USO IN VITRO

INTERES CLINICO (1) (2) (3) (4) (5) (7)

El maletín Factor IX-Plasma Deficiente se utiliza para la determinación de la actividad del factor IX (F.IX) en el plasma humano para todo método de medida del tiempo de coagulación sobre coagulometro o autómata de hemostasia.

El Factor IX (factor anti hemofílico B) es una glicoproteína sintetizada en el hígado. Su síntesis bajo una forma biológicamente activa (carboxilada) es vitamina K dependiente. Así activada, el F. IX se fija en presencia de Ca^{2+} sobre los fosfolípidos plaquetarios o tisulares.

Existen 2 vías de activación del factor IX:

- por medio del factor XI en presencia de Ca^{2+}

- por el complejo FT/F.VIIa que activa o bien el F.X o bien el F.IX

El F.IXa forma con los fosfolípidos, el calcio y el F.VIIIa un complejo enzimático capaz de activar el F.X en F.Xa

Se nota un déficit en factor VIII en los siguientes casos:

- Hemofilia B

La severidad es función de la tasa del factor IX: C:

• < 1% Hemofilia severa

• 1 a 5% Hemofilia moderada

• 5 a 25% Hemofilia atenuada

- Hipovitaminosis K

• Tratamiento AVK

• Carencia de aporte, desorden de absorción o de metabolismo de la vitamina K (enfermedad hemorrágica del recién-nacido, retención biliar, antibioterapia)

- Daños hepáticos

• Cirrosis

• Hepatitis

- Disminución de la tasa de F.IX en presencia de un inhibidor de F.IX

PRINCIPIO (1)

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 y en exceso (traídos por el Factor IX-Plasma Deficiente) con excepción del Factor IX 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 Caolin

REF 13660 y 13670: TTPA Silicio

REACTIVOS

Vial R1

Factor IX Plasma Deficiente

Plasma humano liofilizado citratado desprovisto de Factor IX 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 proviniendo 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 conservarse a 2-8°C o -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) (10)

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 IX en este plasma.

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

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 medico.
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 COATROL2
6. Papel milimetrado.



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

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: COATROL1 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)

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

Se recomienda a cada laboratorio establecer sus propios valores normales.

PRESTACIONES

Los estudios de prestaciones han sido realizados sobre SOLEA 100:

Intra-serie N = 20	Nivel 1	Nivel 2	Inter-serie N = 20	Nivel 1	Nivel 2
Media %	158	56	Media %	132	47
S.D. %	8.2	2.8	S.D. %	9.7	3.4
C.V. %	5.4	5	C.V. %	7.3	7.1
Criterios	< 7%	< 7%	Criterios	< 10%	< 10%

Limite de detección:

Con una dilución del plasma a testar al 1/10, el limite de detección del método se sitúa a 5 % de Factor IX

LIMITE DE LINEALIDAD

La reacción es lineal hasta 200 % 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

Pre incubar la Tromboplastina por lo menos 15 minutos a 37°C.

Homogeneizar el reactivo antes de pipetear.

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

Plasma de referencia 1/10 à 1/80	0,1 mL
Plasma Deficiente	0,1 mL
Reactivo TCA:	0,1mL
Incubar 3 minutos a 37°C.	
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 prealablemente diluido al 1/10 en el tampón Owren Koller

Controles o plasmas de pacientes (diluido 1/10)	0,1 mL
Plasma Deficiente	0,1 mL
Reactivo TCA :	0,1mL
Incubar 3 minutos a 37°C.	
CaCl ₂ 0,025 M:	0,1mL
Tromboplastina (pre incubada a 37°C):	0,2 mL

Técnica automática

Las características de sedimentación y la cualidad óptica de esta tromboplastina permiten una detección óptica o mecánica de la formación del coagulo. 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 fórmula:

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 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'Expansion scientifique*, 181, 1975
- (3) ORSTAVIK K.H., LAAKE K.: "Factor IX in wafarin 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., LECOMPTÉ T.: "physiologie et exploration de l'hémotase" *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'hémotase" *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