



REACTIFS BIOLABO

www.biolabo.fr

FABRICANT :

BIOLABO SAS,

Les Hautes Rives

02160, Maizy, France

Factor IX Plasma Déficiant

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

REF 13309 R1 6 x 1 mL



Made In France

SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES

Tel : (33) 03 23 25 15 50

Fax : (33) 03 23 256 256

support@biolabo.fr

Dernière révision : www.biolabo.fr

I : correspond aux modifications significatives

USAGE PREVU

I Ce réactif est réservé pour un usage professionnel en laboratoire (méthode semi-automatisée ou automatisée).

Il permet détermination quantitative du Facteur IX dans le plasma humain citraté.

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

REF 13660 et 13670 : BIO-SIL (TCA Silice)

REF 13560 et 13570 : BIO-CK (TCA Kaolin)

REF 13565 : Solution CaCl₂ 0.025M

REF 13883 : Tampon Owren Köller pour la dilution du plasma de référence, des plasmas de contrôle et de patients.

GENERALITES (1) (2) (3) (4) (5) (7) (8)

Le Facteur IX (facteur anti hémophilique 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 Ca²⁺ sur les phospholipides plaquettaires ou tissulaires.

Il existe 2 voies d'activation du facteur IX :

- par le biais du facteur XI en présence de Ca²⁺

- par le complexe FT/F. VIIIa 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 IX dans les cas suivants :

- Hémophilie B (sa sévérité est fonction du taux de F. 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 Plasma Factor IX Déficiant) à l'exception du Facteur IX amené par le plasma de patient à tester.

REACTIFS

R1 F-IX Plasma Déficiant



Origine humaine

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

PRECAUTIONS

- La fiche de données de sécurité peut être obtenue sur simple demande.
 - 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.
 - Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.
- I Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif fait l'objet d'une notification au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

PREPARATION DES REACTIFS

- Ouvrir un flacon avec précaution, ajouter exactement 1 mL d'eau déminéralisée.
- Refermer le bouchon et laisser 15 minutes à température ambiante.
- Avant l'emploi, agiter doucement pour éviter la mousse.

STABILITE ET CONSERVATION

Stocké à l'abri de la lumière, bien bouché dans le flacon d'origine à 2-8°C, utilisé et conservé dans les conditions indiquées, le plasma est stable :

Avant ouverture :

- Jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette du coffret

Après ouverture :

- R1 doit être reconstitué immédiatement
- | Après reconstitution : stable 8 heures à 2-25°C.

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 2-25°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).

LIMITES (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 entrainer 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. Analyseur de coagulation automatique ou semi-automatique

Fabricant	Date de péremption	In vitro diagnostic	Température de conservation	Eau déminéralisée	Risque biologique
REF		LOT			→
Référence Produit	Consulter la notice	Numéro de lot	Stocker à l'abri de la lumière	Suffisant pour	diluer avec

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.

CONTRÔLE DE QUALITE

- [REF] 13971: COATROL 1 Taux 1
- [REF] 13972: COATROL 2 Taux 2

- 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, appliquer les actions suivantes :

1. Préparer un sérum de contrôle frais et répéter le test.
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un flacon de calibrant frais.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, répéter le test en utilisant un autre flacon de réactif.

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

Sur analyseur automatique SOLEA 100, à 37°C

Précision :

Intra-série N = 20	Niveau 1	Niveau 2	Inter-série N = 20	Niveau 1	Niveau 2
Moyenne %	158	56	Moyenne %	132	47
S.D. %	8,2	2,8	S.D. %	9,4	3,3
C.V. %	5,4	5,0	C.V. %	7,1	7,0

Limite de détection : équivalente à 6 % de Facteur IX

Domaine de mesure : de 12% (LQ) à 200%

Interférences sur TCA Silice (secondes) :

Turbidité	Pas d'interférence jusqu'à 0,404 abs
Bilirubine	Interférence positive à partir de 133 µmol/L
Hémoglobine	Pas d'interférence jusqu'à 261 µmol/L

D'autres substances peuvent interférer (voir § Limites)

Stabilité à bords : Le plasma déficient est stable 4 heures

Stabilité de la calibration : Recalibrer chaque jour

Effectuer une nouvelle calibration en cas de changement de lot de réactif, si les résultats des contrôles sont hors critères, et après opération de maintenance.

MODE OPERATOIRE

Méthode manuelle sur semi-automate BIO SOLEA2, BIOSOLEA 4 :

Préparer une gamme de dilution 1/10, 1/20, 1/40, 1/80 de [REF] 13970 : BIO-CAL Plasma de référence dans du tampon Owren Köller

Pré incuber le réactif de travail au moins 15 min à 37° et homogénéiser.

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

Dilution 1/10 à 1/80 du plasma de référence	0,1 mL
Plasma Déficient	0,1 mL
Réactif TCA	0,1mL
Incuber 3 minutes à 37°C.	
CaCl ₂ 0,025 M	0,1mL
Le décompte automatique du temps démarre à l'ajout du réactif de travail et s'arrête lors de la formation du caillot.	

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

Contrôles ou plasmas de patients (dilué 1/10)	0,1 mL
Plasma Déficient	0,1 mL
Réactif TCA	0,1mL
Incuber 3 minutes à 37°C.	
CaCl ₂ 0,025 M	0,1mL
Le décompte automatique du temps démarre à l'ajout du réactif de travail et s'arrête lors de la formation du caillot.	

Méthode automatique : Application détaillée disponible sur demande

- Performances et stabilité ont été validés sur SOLEA100 et Thrombolyzer Compact X (disponibles sur demande).
- En méthode manuelle et sur autres analyseurs de coagulation, performances et stabilité doivent être validés par l'utilisateur.
- D'autres applications ou propositions sont disponibles.

CALCUL

Méthode manuelle

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

Méthode automatisée et semi-automatisée :

Les résultats des patients (secondes) seront convertis automatiquement en % de Facteur Déficient par le système d'après la courbe de calibration.

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., 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) 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