



REACTIVOS BIOLABO

www.biolabo.fr

FABRICANTE:

BIOLABO SAS,

Les Hautes Rives

02160, Maizy, France

Factor VIII Plasma Deficiente

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

REF 13308 R1 6 x 1 mL



Made In France

SOPORTE TECNICO Y PEDIDOS

Tel: (33) 03 23 25 15 50

Fax: (33) 03 23 256 256

support@biolabo.fr

Última versión: www.biolabo.fr

I: corresponde a las modificaciones significativas

USO PREVISTO

Este reactivo es destinado a personal cualificado, para un uso en el laboratorio (semiautomático y automático método).

Permite la dosificación del Factor VIII en el plasma humano citratado.

Esta dosificación se realiza con Reactivos BIOLABO:

REF 13560 y 13570: TTPA Caolín

REF 13660 y 13670: TTPA Silicio

REF 13565: Solución CaCl₂ 0.025 M

REF 13883: Tampón Owren Köller para la dilución del plasma de referencia, de los plasmas de control y de pacientes.

GENERALIDADES (1) (5) (7) (8) (10) (11)

El Factor VIII (factor antihemofílico 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 Ca²⁺.

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.

REACTIVOS

R1 F-VIII

Plasma deficiente



Origen humano

Plasma liofilizado citratado desprovisto de Factor VIII por inmunoadsorción específica.

PRECAUCIONES

- La ficha de datos de seguridad puede obtenerse por petición.
 - Cada plasma procedente de un donante humano y utilizado 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.
 - A pesar de eso, 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.
 - Eliminación de los desechos: respetar la legislación en vigor.
- I Todo incidente ocurrido en relación con el dispositivo es objeto de una notificación al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el cual el usuario y/o el paciente está establecido.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

- Abrir un vial con precaución, añadir exactamente el volumen de agua desmineralizada **indicado en la etiqueta**
- Cerrar el tapón y dejar reposar 15 minutos a temperatura ambiente
- Antes del uso, remover suavemente para evitar la espuma.

ESTABILIDAD Y CONSERVACION

Almacenado protegido de la luz, bien cerrado en el vial de origen a 2-8°C, utilizado y conservado en las condiciones indicadas, el plasma es estable:

Antes de abrir:

- Hasta la fecha indicada en la etiqueta de la caja.

Después de abrir:

- R1 debe reconstituirse inmediatamente.

I Después de reconstitución: 8 horas a 2-25°C

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

Plasma citratado: Mezclar la sangre recién 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 2-25°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).

LIMITES (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. Equipamiento de base del laboratorio de análisis médico
2. Analizador de coagulación automático o semi-automático

Fabricante	Fecha de caducidad	Diagnostico In vitro	Temperatura de conservación	Agua desmineralizada	Riesgo biológico
Referencia Producto	Consultar las instrucciones	Número de lote	Almacenar 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 et y de las condiciones de almacenamiento del reactivo.

CONTROL DE CALIDAD

- **REF** 13971: COATROL 1 Nivel 1
- **REF** 13972: COATROL2 Nivel 2
- 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 operación de mantenimiento del analizador.

Cuando un valor de control esta fuera de los límites de confianza, aplicar las siguientes acciones:

- 1.Preparar un suero de control reciente y repetir el test.
- 2.Si el valor obtenido sigue estando fuera de los límites, utilizar otro reciente vial de calibrador
- 3.Si el valor obtenido sigue estando fuera de los límites, calibrar con otro vial de reactivo.

Si el valor obtenido sigue estando 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 %

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

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

Se recomienda a cada laboratorio establecer sus propios valores normales.

PRESTACIONES

Sobre analizador automático SOLEA100, 37°C

Precisión:

Intra-serie N = 20	Nivel 1	Nivel 2	Inter-serie N = 20	Nivel 1	Nivel 2
Media %	127	52	Media %	100	43
S.D. %	6.6	2.9	S.D. %	9.0	2.6
C.V. %	5.2	5.6	C.V. %	9.0	6.2

Límite de detección: 6 % del Factor VIII

Dominio de medida: entre 20% (LQ) y 135%

Interferencias sobre TTPA Silicio (segundos):

Turbidez	No hay interferencia hasta 0,404 abs
Bilirrubina	Interferencia positiva a partir de 133 µmol/L
Hemoglobina	No hay interferencia hasta 261 µmol/L

Otras sustancias son susceptibles de interferir (ver § Limites).

Estabilidad a bordo: el factor deficiente es estable 4 horas.

Estabilidad de la calibración: Calibrar nuevamente cada día.

Efectuar una nueva calibración en caso de cambio de lote de reactivo, si los resultados de los controles están fuera del intervalo establecido, y después de operación de mantenimiento.

MODO OPERATORIO

Método manual sobre semi autómatas BIO SOLEA2, BIO SOLEA 4:

Preparar una gama de dilución 1/10, 1/20, 1/40, 1/80del **REF** 13970 plasma de referencia en tampón Owren.

Pre-incubar PT Reactivo por lo menos 15 minutos a 37°C y homogeneizar.

Determinar los tiempos de coagulación de cada punto como sigue:

Plasma de referencia 1/10 a 1/80	0,1 mL
Plasma deficiente	0,1 mL
Reactivo TTPA:	0,1mL
Incubar 3 minutos a 37°C	
CaCl ₂ 0,025 M:	0,1mL
El descuento automático del tiempo empieza al añadir el reactivo de trabajo y se para en el momento de la formación del coagulo.	

Proceder de la misma forma para los controles y plasmas a testar previamente diluido al 1/10 en el tampón Owren Köller

Controles o plasmas de pacientes (diluido 1/10)	0,1 mL
Plasma deficiente	0,1 mL
Reactivo TTPA:	0,1mL
Incubar 3 minutos a 37°C	
CaCl ₂ 0,025 M:	0,1mL
El descuento automático del tiempo empieza al añadir el reactivo de trabajo y se para en el momento de la formación del coagulo.	

Método automático: Aplicación detallada disponible por petición.

- Prestaciones y estabilidad han sido validados sobre SOLEA100 y Thrombolyzer Compact X (disponibles por petición).
- En método manual y sobre otros analizadores de coagulación, prestaciones y estabilidad deben ser validados por el usuario.
- Otras aplicaciones o propuestas están disponibles.

CALCULO

Método manual:

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 ensayos reportando los tiempos de coagulación sobre el gráfico.

Método automatizado y semi- automatizado:

Los resultados de los pacientes (segundos) serán convertidos automáticamente en % de Factor Deficiente según la curva de calibración

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