Deficitní Plazma pro Faktory II, V, VII, X

CE IVD

REF DP010A / K DP 1 x 1 mL / 6 x 1 mL
REF DP020A / K DP 1 x 1 mL / 6 x 1 mL
REF DP030A / K DP 1 x 1 mL / 6 x 1 mL
REF DP060A / K DP 1 x 1 mL / 6 x 1 mL

HYPHEN BioMed
www.hyphen-biomed.com
155, rue d'Eragny
95000 NEUVILLE SUR OISE
FRANCE
Tel. : +33 (0)1 34 40 65 10
Fax : +33 (0)1 34 48 72 36
info@hyphen-biomed.com

Deficitní plazma ke stanovení faktoru II, V, VII, X koagulační metodou.

Poslední revize: 01-2021

POUŽITÍ:

Prothrombin Deficitní plazma, Faktor V Deficitní plazma, Faktor VII Deficitní plazma a Faktor X Deficitní plazma soupravy jsou navrženy pro kvantitativné měření aktivity Faktoru II (FII nebo Protrombinu), Faktoru V (FV nebo Proaccelerin), Faktoru VII (FVII nebo Proconvertin) nebo Faktoru X (FX nebo Faktor Stuart) v lidské citrátové plazmě použitím koagulační metody a vápenatého tromboplastinu manuální nebo automatickou metodou.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ:

Technické[1]:
Vnejší koagulační cesta je započata tkáňovým faktorem (TF), fosfolipidy a vápníkem, který umožňuje aktivaci FVII (FVIIa). TF-FVIIa komplex aktivuje FX na FXa, který mění protrombin na trombin v přítomnosti jeho kofaktorů (aktivovaný FV).

Klinické[1,2,3]:
Deficit Faktoru VII je vzácná krvácivá porucha, pacienti se symptomy jsou většinou homozygoti, ale krvácení se občas projevuje i u heterozygotů. Molekulární patologie tohoto deficitu často nekoreluje s klinickými projevy u pacientů.
Deficit Faktoru X je velice vzácná. Těžký homozygotní deficit FX může způsobovat závažné klinické krvácivé potíže.
Pacienti s homozygotním Faktor V deficitem mají vážné krvácivé diatézy; pro heterozygoty s hladinami Faktoru V pod normál mohou mít krvácivé tendence.
Deficit protrombinu je vzácná dědičná koagulační porucha. Postižení mohou mít kvantitativní deficit protrombinu nebo mohou zdědit abnormální molekulární variantu protrombinu.
Vrozené nebo získané deficity těchto faktorů vykazují prodloužený Protrombinový čas (PT).

PRINCIP:

Navrhovaný způsob měření je založen na koagulační metodě, kde jsou všechny faktoru přítomny (v určité hladině a přebytku, dodány deficitní plazmou) kromě měřeného faktoru, který je dodán ředěným vzorkem plazmy, a koagulace je spuštěna tromboplastinem vápníku.
Měřený faktor je limitující aspekt a čas koagulace je nepřímo úměrná koncentraci měřeného faktoru.
Je zde inverzní lineární poměr na bilogarytmickém grafu mezi koncentrací měřeného faktoru a odpovídajícímu koagulačnímu času.

REAGENCIE:

DP **Citrátová lidská plazma, deficitní na měřený Faktor (FII, FV, FVII nebo FX),** lyofilizovaná za přítomnosti glycinu jako stabilizátoru. Tato plazma je deficitní na měřené faktory (FII, FV, FVII nebo FX) (<1%), zatímco ostatní koagulační faktory jsou přítomny v normálním rozmezí (> 50%).

Prothrombin Deficient Plasma
REF **DP010A ➔ 1 x 1 ml lahvičky.**
REF **DP010K ➔ 6 x 1 ml lahvičky.**

Factor V Deficient Plasma
REF **DP020A ➔ 1 x 1 ml lahvičky.**
REF **DP020K ➔ 6 x 1 ml lahvičky.**

Factor VII Deficient plasma
REF **DP030A ➔ 1 x 1 ml lahvičky.**
REF **DP030K ➔ 6 x 1 ml lahvičky.**

Factor X Deficient Plasma
REF **DP060A ➔ 1 x 1 ml lahvičky.**
REF **DP060K ➔ 6 x 1 ml lahvičky.**

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ:

- Některé reagencie v soupravách obsahují materiál lidského původu. Kdykoliv je pro přípravu těchto reagencií nutná lidská plazma, je potřebné testovat plazmu na protilátky proti HIV 1, HIV 2 a HCV a pro povrchový antigen hepatitidy B schválenými metody a výsledky musí být negativní. Žádné testy nemohou zcela vyloučit přítomnost infekčních agens. Z tohoto důvodu je třeba při manipulaci s tímto biologickým materiálem učinit veškerá opatření nezbytná při používání potenciálně infekčních produktů.
- Odpad musí být likvidován v souladu s příslušnými místními předpisy.
- Používejte pouze reagencie ze stejné série soupravy.
- Studie stability ukazují, že reagencie mohou být přepravovány při pokojové teplotě bez degradace.
- Toto zařízení pro diagnostické použití *in vitro* je určeno pro odborné použití v laboratoři.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ:

Zátku po vymrazování opatrně vyjměte, aby se zabránilo ztrátám produktu při otevírání lahvičky.

DP Rekonstituujte obsah každé lahvičky přesně s **1 ml destilované vody.**
Intenzivně protřepte až do úplného rozpuštění. Vyhněte se tvorbě pěny. Vložte ji přímo do analyzátoru podle návodu k použití.
Pro manuální metodu nechte stabilizovat 15 minut při pokojové teplotě (18-25°C), před použitím homogenizujte.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA:

Neotevřené reagencie musí být skladovány při teplotě 2-8°C ve svém originálním balení. Za těchto podmínek mohou být používány až do doby exspirace vytištěné na soupravě.

DP Stabilita reagencie po rekonstituci bez jakýchkoli kontaminací nebo vypařování a skladované uzavřené je:

- **24 hodin** při teplotě 2-8°C.
- **8 hodin** při pokojové teplotě (18-25°C).
- **2 měsíce** zmrazená při teplotě -20°C nebo nižší*
- **Stabilita na palubě analyzátoru: viz specifické aplikace.**

*Rozmrazte pouze jednou, co nejrychleji při 37°C a ihned použijte.

POŽADOVANÉ REAGENCIE A MATERIÁL (NEJSOU SOUČÁSTÍ SOUPRAVY):

Reagencie:

- Destilovaná voda.
- Imidazole Buffer (AR021B/AR021K/AR021L/AR021M/AR021N).
- Tromboplastin vápníku.
- Specifické kalibrátory a kontroly se známou titrací, jako jsou:

Název produktu	Reference
BIOPHEN™ Plasma Calibrator	222101
BIOPHEN™ Normal Control Plasma	223201
BIOPHEN™ Abnormal Control Plasma	223301

Také viz specifický návod k použití analyzátoru.

Materiály:

- Elektromagnetická vodní lázeň, semi-automatický nebo automatický přístroj pro koagulační měření.
- Stopky, kalibrované pipety, zkumavky z plastu nebo ze silikonového skla.

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU:

Krev (9 dílů) musí být opatrně odebrána do antikoagulantu citrátu trisodného (1 díl) (0,109 M, 3,2%) přímou venepunkcí. První zkumavku zlikvidujte.
Vzorky by měly být připravovány a skladovány v souladu s místními pokyny a regulacemi.
Informace o skladování plazmy naleznete v referencích[4,5,6].

POSTUP:

Metoda stanovení :

1. Resuspendujte kalibrátory a kontroly jak je uvedeno ve specifických instrukcích.Připravte 2 ml normální citrátové lidské poolové plazmy, **ředěné 1:10** v imidazolovém pufru. Desetinásobné ředění této plazmy odpovídá **100% koncentraci měřeného faktoru**. S 1:10 ředěnou přípravou je získaná kalibrační křivná následovná:

Ředění	1:160	1:80	1:40	1:20	1:10
Faktor II, X, VII nebo X (%)	**6.25***	**12.5**	**25**	**50**	**100**
Směsná plazma 1:10	0.060 mL	0.125 mL	0.250 mL	0.500 mL	1 mL
Imidazolový pufr	0.900 mL	0.875 mL	0.750 mL	0.500 mL	0 mL

**tato doplňková ředění mohou být použita pro nízké rozmezí (≤10%) kde je vyžadována vysoká přesnost.*

Kalibrační řada může být rovněž připravena z BIOPHEN™ Plasma Calibrator (222101) použitím daného faktoru pro měření aktivity (C), která je uvedena v příbalovém letáku pro danou šarži. Kalibrační křivka musí být připravena těsně před měřením.
Kalibrační křivka musí být použita do 2 hodin při pokojové teplotě (18-25°C).

2. Měřené plazmy a kontroly musí být ředěny v imidazolovém pufru, viz níže:

Vzorky	Reference	Ředění
Kontroly	223201/223301	**1:10**
Vzorky	-	**1:10**

3. Do zkumavky nebo kyvety dejte:

	Objem
Deficitní plazmy	100 µL
Kalibrační bod, testovanou plazmu nebo kontroly, ředěné **1:10**	100 µL
Promíchejte a inkubujte při **37°C přesně 1 minutu,** a pak přidejte (zapněte stopky):	
Tromboplastin vápníku předem inkubovaná při **37°C**	200 µL
Zaznamenejte přesný čas koagulace (CT) (sekundy)	

Vytvořte kalibrační křivku a testujte s kontrolami kvality. Pokud jsou ředěné vzorky skladovány při pokojové teplotě (18-25°C), musí být testovány ihned. Pro každou sérii jsou koncentrace kalibrátorů a kontrol uvedené na letáku dodávaném se soupravou.

Pokud je postup změněn, je uživatel odpovědný za validaci jeho vlivu na výsledek.

Pro automatizované metody jsou aplikační návody k dispozici na vyžádání. Viz specifické aplikace a specifická opatření pro každý analyzátor.

KALIBRACE:

Kalibrační plazma pokrývající dynamické rozmezí je dostupná od Hyphen-BioMed (viz reagencire a materiál potřebný, v kitu nepřítomný) a může být použita ke kalibraci.

KONTROLA KVALITY:

Použití kontrol kvality slouží k validaci shody metod spolu s homogenitou testu mezi sériemi pro danou sadu reagencií.
Za účelem validace testu zahrňte kontroly kvality do každé série podle správné laboratorní praxe. Nová kalibrační křivka by měla být definována nejlépe pro každou sérii testů a alespoň pro každou novou sadu reagencií nebo po údržbě analyzátoru, nebo když měřené hodnoty kontroly kvality spadají mimo akceptovatelný rozsah pro danou metodu. Každá laboratoř si musí definovat a ověřovat vlastní akceptovatelné rozsahy v daném analytickém systému.

VÝSLEDKY:

- Pro manuální metodu vyneste kalibrační křivku jako log-log s koagulačním časem na ose Y a koncentrací měřeného faktoru (v %) na ose X.
- Koncentrace měřeného faktoru (%) v testovaném vzorku je pak odečtena přímo z kalibrační křivky, pokud je použito standardní ředění.
- Výsledky by měly být interpretovány podle klinického a biologického stavu pacienta.

OMEZENÍ:

- K zajištění optimálního výkonu testu a splnění specifikací je nutné se řídit technickými instrukcemi ověřenými společností HYPHEN BioMed.
- Jakékoliv reagencie vykazující neobvyklé příznaky nebo známky kontaminace nesmí být použity.
- Jakékoliv podezřelé vzorky nebo ty, které vykazují známky aktivace, nesmí být použity.
- Pro lepší přesnost by vzorky s hodnotami ≤ 10% měly být testovány v ředění 1 : 5 a získaný výsledek pak dělen 2 a vzorky ≥ 100% (nebo C%) v ředění 1 : 20 a výsledek násoben 2.
- Pro deficitní vzorky – zkontrolujte výsledek testu opakováním v ředění vzorku 1 : 5 (získaný výsledek musí být dělen 2), anebo použijte jiný vzorek nebo jinou metodu. Kontrolujte možné faktory spojené s deficitním výsledkem.
- Inhibitory thrombinu přítomné v testovaném vzroku mohou vést k podhodnocení koncentrace Factor to measure.

OČEKÁVANÉ HODNOTY:

Normální hladina Faktoru VII pro dospělého jedince je většinou >60%, pro Faktory II, V a X jsou normální hladniy >70%[7].
Každá laboratoř si musí stanovit vlastní přijatelná rozmezí.

REFERENCE:

1. Mackman N. *et al*. Role of the Extrinsic Pathway of Blood Coagulation in Hemostasis and Thrombosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007.
2. Winter WE. *et al.* Coagulation Testing in the Core Laboratory. Lab Medecine. 2017.
3. Peyvandi F. *et al*. Rare bleeding disorders. Haemophilia. 2008.
4. CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008.
5. Woodhams B. *et al*. Stability of coagulation proteins in frozen plasma. Blood coagulation and Fibrinolysis. 2001.
6. Mauge L. and Alhenc-Gelas M. Stabilité pré-analytique des paramètres de la coagulation: revue des données disponibles. Ann Biol Clin. 2014.
7. Monagle P. *et al.* Impact for clinical haemostasis laboratories. Developmental haemostasis. 2006.

SYMBOLY:

Použité symboly a značky uvedené v normě ISO 15223-1 viz dokument definic symbolů.

Změny ve srovnání s předchozí verzí.