



BIOPHEN™ Factor XIII

Ref 227005

R1 3 x 4 ml R2 3 x 5 ml

Chromogenní metoda pro stanovení Faktoru XIII.



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

Revize:02_2022

POUŽITÍ:

BIOPHEN™ Faktor XIII je chromogenní metoda určená pro In Vitro kvantitativní stanovení Faktoru XIII v lidské citrátové plazmě.

SOUHRN:

Technický:

Faktor XIII (FXIII) protransglutamináza cirkuluje v plazmě jako A₂B₂ tetramer v plazmatické koncentraci 14 až 28 mg/l²; podjednotka A je funkční formou. Po aktivaci trombinem s vápníkem na FXIIIa zprostředkuje tento faktor poslední krok v koagulační kaskádě a zpevňuje koagulum.

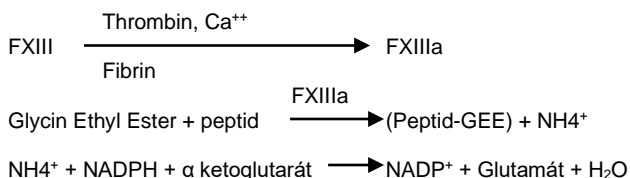
Klinický:

Deficit FXIII může být vrozený nebo získaný – jako důsledek nadměrné konzumpce nebo přítomností autoprotilátek. Nízké hladiny FXIII jsou spojeny s krvácivými komplikacemi např. při traumatech nebo chirurgických výkonech. FXIII je také součástí různých procesů jako je hojení ran a udržení těhotenství^{1,2,3}.

Test na aktivitu FXIII v lidské plazmě mohou pomoci při stanovení diagnózy vrozeného nebo získaného deficitu.

PRINCIP:

Faktor XIII (FXIII) v testovaném vzorku je převeden na aktivní FXIIIa (FXIIIa) trombinem za přítomnosti kalcia⁴. Solubilní fibrin, vznikající též touto interakcí reakcí urychluje, zatímco anti-polymerizační peptid brání tvorbě koagula. FXIIIa transglutaminasová aktivita mezi syntetickým peptidovým substrátem a ethylesterem glycinu (GEE) vede k tvorbě amoniaku (NH₄⁺). Amoniak se pak testuje reakcí glutamátdehydrogenázy (GLDH), která konvertuje NADPH na NADP⁺, v přítomnosti amoniaku a alfa-ketoglutarátu. Konverze NADPH na NADP⁺ může být detekována při 340 nm a směrnice klesající křivky absorbance při 340 nm je přímo úměrná koncentraci FXIII v testovaném vzorku.



REAGENCIE:

R1: Trombinová reagenzie: lyofilizovaný, obsahuje BSA
3 lahvičky po 4 ml

R2: Detekční reagenzie: lyofilizovaný, obsahuje BSA a GEE
3 lahvičky po 5 ml.

UPOZORNĚNÍ A VAROVÁNÍ:

- Některé reagenzie v této soupravě obsahují materiál zvířecího původu. S reagenziemi zacházejte jako s potencionálně infekčními se všemi náležitými bezpečnostními opatřeními.
- Odpadní materiál zlikvidujte dle lokálních směrnic o zacházení s odpadem.
- Pro testování užívejte pouze reagenzie stejné šarže.
- Studie stability prokázaly, že reagenzie může být přepravována za pokojové teploty bez degradace.
- Pouze pro použití In Vitro v laboratoři vyškoleným personálem.

PŘÍPRAVA REAGENCIE:

Reagenzie jsou lyofilizovány ve vakuu v jejich vlastních lahvičkách. Vyvarujte se ztráty lyofilizátu při otevírání lahvičky s lyofilizovanou reagenzií. Zátku odstraňte opatrně.

R1 Rekonstituujte obsah lahvičky přesně 4 ml destilované vody. Promíchejte, dokud se obsah plně nerozpuští. Zbraňte tvorbě pěny. Ihned vložte do analyzátoru dle aplikačního protokolu.

Pro manuální metodu nechte stabilizovat 30 minut při pokojové teplotě (18-25°C), homogenizujte před použitím.

Distributor: Diagnostica s.r.o., Za Tráti 686, Praha 9, Česká republika, tel.+420 266 315 909, Fax.+420 266 316 000, e-mail: info@diagnostica.cz, www.diagnostica.cz

R2 Rekonstituujte obsah lahvičky přesně 5 ml destilované vody. Řádně promíchejte do úplného rozpuštění, vyvarujte se tvorbě pěny. Ihned vložte do analyzátoru dle aplikačního protokolu.

Pro manuální metodu nechte reagenzii stabilizovat 30 minut při pokojové teplotě (18-25°C), homogenizujte před použitím.

a poté promíchejte, dokud se obsah plně nerozpuští. Při míchání se vyvarujte napěnění reagenzie. Nechte stabilizovat za pokojové teploty (18-25°C) po dobu 30 minut za občasných promíchání.

Před každým použitím opět promíchejte.

Stabilita reagentu po otevření, pokud je v originální lahvičce a je zabráněno jakémukoliv odpařování a kontaminaci během použití:

- 1 týden v 2-8°C
- 48 hodin za pokojové teploty (18-25°C)
- 2 měsíce zamrazený na -20°C nebo méně

Zamrazené reagenzie rozpouštějte co nejrychleji při 37°C, dobu rozpouštění přizpůsobte objemu reagenzie. Stabilita takto rozmrazené reagenzie by měla být zkontrolována v konkrétních laboratorních podmínkách. Rozmrazenou reagenzii znovu nemrazte.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA:

Neotevřené reagenzie musí být skladovány v teplotě 2-8°C, v jejich originálních obalech v krabičkách. Pak jsou stabilní až do data expirace vytištěného na obalu.

R1 R2 Stabilita reagenzie po otevření, pokud je skladována uzavřená v originální lahvičce a je zabráněno jakémukoliv odpařování a kontaminaci, je:

- 1 týden při 2-8°C
- 48 hodin za pokojové teploty (18-25°C)
- 6 měsíců zamrazený na -20°C nebo méně*
- Stabilita v analyzátoru: Viz aplikační protokol pro daný analyzátor.

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

REAGENCIE POTŘEBNÉ, V KITU NEPŘÍTOMNÉ:

Reagenzie:

- Destilovaná voda.
- Fyziologický roztok (0,9% NaCl).
- Plazmatické kalibrátory se známou koncentrací FXIII s návazností na mezinárodní standard pro FXIII v plazmě, jako jsou:

Název produktu	Katalogové číslo
BIOPHEN™ Plasma Calibrator	222 101
BIOPHEN™ Normal Control Plasma	233 201
Biophen™ Abnormal Control Plasma	223 301

Materiál:

- Spektrofotometr nebo automatický přístroj pro chromogenní testy s vlnovou délkou 340 nm.
- Stopy, Kalibrované pipety, plastové zkumavky.

ODBĚR VZORKU A PŘÍPRAVA:

Krev (9 dílů) musí být odebrána do 0,109 M citrátového antikoagulantia (1 díl; 0,109M, 3,2%), přímou venepunkcí. První odebraná zkumavka by měla být znehodnocena.

Vzorky by měly být připraveny a skladovány dle relevantních řádů⁵. Pro skladování plazmy viz reference⁵.

PROVEDENÍ:

Souprava je určena pro kinetickou metodu. Test je měřen při 37°C a rozvoj změny barvy je měřen při 340 nm.

Metodika:

1. Rekonstruuje kalibrátory a kontroly dle jejich instrukcí a poté naředte dle níže uvedené tabulky. Pro přípravu kalibrační řady ředte kalibrátor fyziologickým roztokem, aby bylo možné kalibrovat v rozmezí 0 až 150% FXIII. Ředění kalibrátorů a kontrol v poměru 1:2 ve fyziologickém roztoku je vstupním ředěním a odpovídá 100% normální poolované plazmy, nebo C% FXIII komerčního kalibrátoru.

Kalibrátor %FXIII	C	C:2	C:4	C:8	0
Objem kalibrátoru	500 µl	250 µl	125 µl	60 µl	0 µl
Objem FR	0 µl	250 µl	375 µl	420 µl	500 µl

Bod 3C/2 (nebo 150% při použití poolované plazmy) se získá přidáním 30 µl kalibrátoru a 10 µl FR v tabulce níže.

2. Sestavte kalibrační křivku a ověřte správnost kontrolními plazmami. Přesné hodnoty kalibrátoru a kontrol jsou uvedeny na letáčích přiložených k soupravám.

3. Tabulka níže ukazuje schéma pro aplikaci na koagulometr CS-série. Pipetování dle následující tabulky do zkumavek předehřátých na 37°C (zajišťuje analyzátor):

	Objem
Testovaná plazma, kalibrátor nebo kontroly	20 µl
Fyziologický roztok (FR)	20 µl
R1 : Thrombinový reagent Předehřátý na 37°C	80 µl
Promíchat a inkubovat v 37°C 110 sec, potom přidat	
R2 : Detekční reagent, předehřátý na 37°C	100 µl
Promíchat a inkubovat v 37°C, měření (kinetická metoda) optické hustoty OD/min při 340 nm mezi 200 a 500 sekundou.	

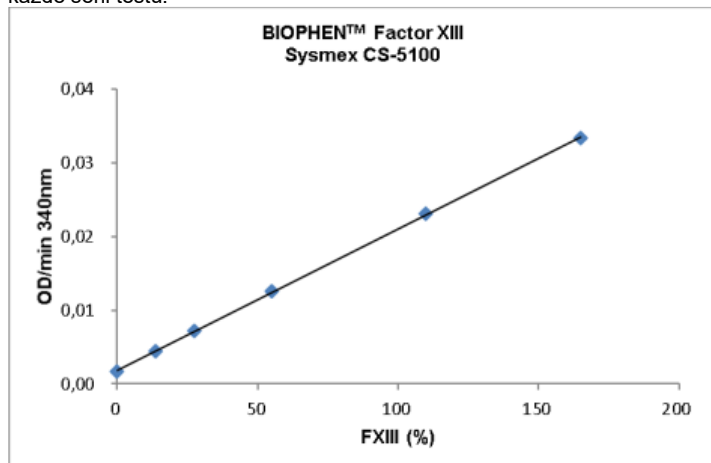
Pokud jsou použity jiné reakční objemy než výše uvedené, je nutné dodržet striktně poměr objemů reagentů pro správnost provedení. Uživatel je zodpovědný za validaci každé změny v provedení testu, která může ovlivnit výsledek.

Pro automatickou metodu jsou k dispozici aplikační protokoly na vyžádání. Viz specifický aplikační protokol na použitý analyzátor.

KALIBRACE:

BIOPHEN™ Factor XIII může být kalibrován pro stanovení aktivity FXIII v plazmě.

Kalibrační křivka uvedená níže byla získána na přístroji Sysmex CS-5100, a je pouze příkladem. Kalibrační křivka musí být znovu provedena při každé sérii testů.



KONTROLA KVALITY:

Užití kontrolních plazem umožňuje ověření kalibrační křivky stejně tak jako homogenity reaktivity testu mezi sériemi při použití stejné šarže reagentů. Začleňte kontrolu kvality do každé série testů dle doporučení správné odborné laboratorní práce. Nová kalibrace musí být provedena nejméně pro každou novou šarži reagentů, po každé významné opravě či údržbě přístroje, nebo když výsledek kontrol je mimo přijatelné meze. Každá laboratoř by si měla definovat přijatelné rozmezí pro vlastní analytický systém.

VÝSLEDKY:

- Na analyzátoru Sysme CS série je pro kalibraci použit výpočet Lin-Lin s OD/min při 340 nm na ose Y a koncentrací FXIII % na ose X.
- Koncentrace FXIII (%) v testovaném vzorku je přímo odečtena z kalibrační křivky, pokud je použito standardní ředění.
- Výsledek by měl být interpretován ve shodě s pacientovým klinickým stavem a biologickými podmínkami.

LIMITY:

- Pro optimální průběh testu by měly být dodrženy technické instrukce validované výrobcem Hyphen-BioMed.
- Reagencie neobvyklého vzhledu nebo jevící známky kontaminace nesmí být použita.
- Vzorek neobvyklého vzhledu nebo jevící známky kontaminace musí být vyřazen z testování.

OČEKÁVANÉ HODNOTY:

Referenční meze byly stanoveny měřením zdravých osob (n=120) za použití analyzátoru Sysmex CS-5100, 95 percentil – 60 až 146%. Přesto by si každá laboratoř měla určit normální rozmezí dle lokálních laboratorních podmínek.

CHARAKTERISTIKA:

- Meze detekce je závislá na analytickém systému (<0,5% pro Sysmex CS-5100).
- Rozmezí měření záleží na analyzátoru (přibližně 5 až 300% FXIII na Sysmex CS-sérii, kdy test je lineární od 5 do 150%, bez přidavných ředění).
- Studie výkonu byly provedeny interně na Sysmex CS-5100 laboratorními kontrolami po dobu 5 dní, 2 série denně, 3 opakování v sérii pro každou kontrolní hladinu. Následující data byla získána:

Kontrola	Intra assay				Inter assay			
	n	Prům	CV%	SD	n	Prům	CV%	SD
Normální	40	102,3	2,7	2,8	30	102,6	1,5	1,5
Patologická	40	28,8	4,9	1,4	30	31,2	1,9	0,6

- Korelace s referenční metodou (Berichrom FXIII, Siemens) vs BIOPHEN™ Factor XIII na Sysmex CS-2500:
 $N = 102$ $y = 0,90x - 5,84$ $r = 0,989$

Interference:

Žádné interference na Sysmex CS-5100 nebyly vyzorovány do následujících koncentrací:

Hemoglobin	Bilirubin (F/C)	Intralipidy	Fibrinogen	Hepariny (UFH/LMWH)
250 mg/dl	60 mg/dl	250 mg/dl	0,8 – 6 g/l	2 IU/ml
Ammonium	Dabigatran	Rivaroxaban	Apixaban	Edoxaban
0,5 mM	400 ng/ml	400 ng/ml	400 ng/ml	400 ng/ml

Viz aplikační protokol pro použitý analyzátor.

REFERENCE:

- Menegatti et al., Minimal factor XIII activity level to prevent major spontaneous bleeds. J Thromb Haemost, 15:1728-1736, 2017.
- Komaromi et al., Factor XIII, novel structural and functional aspects. J Thromb Haemost 2011; 9:9-20.
- Schroeder V, Kohler HP. New developments in the area of factor XIII. J Thromb Haemost 2013; 11: 234–44.
- Karpati L. et al. A modified, optimized kinetic photometric assay for the determination of blood coagulation factor XIII activity in plasma. Clin Chem. 2000.
- CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008.

SYMBOLY:

Použité symboly jsou dle ISO 15223-1 standardu, viz dokument definice symbolů.

R2 H318: Způsobuje vážné poškození očí.