

****REPRESENTATIVE DATASHEET****
VisuDep™-F Frozen Factor IX Deficient Plasma
Product #: FRDP090125
FRDP090105


Store at -60°C or lower.

 For *in vitro* diagnostic use.

Intended Use

ENGLISH

The VisuDep-F Frozen Factor IX Deficient Plasma is intended for use as a substrate plasma in the quantitative determination of Factor IX activity in citrated plasmas using a clot-based assay.

Summary and Principle

 Factor IX (Christmas Factor) is a vitamin K-dependent glycoprotein that circulates in plasma at a concentration of 5 µg/ml.¹ Factor IX contains two EGF-like domains and an amino-terminal domain containing 12 γ-carboxy-glutamic acid (Gla) residues. These Gla residues allow Factor IX to bind divalent metal ions and participate in calcium-dependent binding interactions.¹ Factor IX can be activated by limited proteolysis in the presence of calcium by activated factor XI and/or through the extrinsic coagulation pathway by a complex of VII^a/tissue factor/phospholipid and activated Factor X.^{1,2} Activated Factor IX, along with Factor VIIIa, calcium ions and a phospholipid membrane, converts Factor X into Xa eventually leading to the formation of a fibrin clot.³

 The biological importance of Factor IX is demonstrated in Haemophilia B (Christmas disease), an X-linked congenital bleeding disease resulting from a quantitative (low activity and low antigen) or qualitative (low activity and normal antigen) defect in Factor IX function.⁴ The congenital deficiency of Factor IX may be classified as severe (<1% Factor IX activity), moderate (between 1 and 5% Factor IX activity) or mild (between 5 and 40% Factor IX activity).⁵

 Factor IX activity in patient plasma is determined *in vitro* through the use of a modified activated partial thromboplastin time test (APTT). Patient plasma is diluted, mixed with plasma deficient in Factor IX and an APTT test performed. The result is interpolated using a reference curve generated with dilutions of calibrator plasma mixed with the Factor IX deficient plasma. Correction of the clotting time of the deficient plasma is proportional to the activity level of Factor IX in the patient plasma.

Reagents
A. Description:

Frozen Factor IX immune-depleted plasma with residual Factor IX activity of <1%. Remaining coagulation factors have activities of ≥50% and fibrinogen is ≥1.5 g/L.

Box containing 25 x 1 ml vials of frozen Factor IX deficient plasma,

Product # FRDP090125

OR

Box containing 5 x 1 ml vials of frozen Factor IX deficient plasma,

Product # FRDP090105
B. Precautions and Warnings:

This product is intended for use by personnel trained in laboratory procedures and universal precautions for the use of potentially biohazardous substances. This product contains human source material. Each unit of source plasma used in the preparation of this product has been tested by FDA approved methods and found non-reactive for Hepatitis B surface antigen (HbsAg), syphilis and antibodies to HIV and HCV and non-reactive for HIV-1 rNA and HCV rNA. As no test can offer complete assurance that

products derived from human blood will not transmit infectious diseases, this product should be handled as potentially infectious material. The disposal of materials must be carried out according to current local regulations.

C. Reagent Preparation/Handling:

Thaw each 1 mL vial for 5 minutes in a 37°C ± 1°C waterbath. Invert gently before use.

D. Storage and Stability:

Vials are stable until the expiration date stated on the vial when stored at -60°C or lower. Once thawed, plasma is stable for 4 hours on-board (15-19°C) or 8 hours at 2-8°C in original vial. Thawed material should be discarded after use and should not be refrozen.

Specimen Collection and Preparation

 Blood is collected into 3.2% sodium Citrate anticoagulant tubes at a ratio of 9 volumes blood to 1 volume anticoagulant and gently mixed by inversion. Refer to CLSI Guideline H21-A5 "Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays" for further information on specimen collection, handling and storage.⁶
Procedure
A. Materials Required (but not provided)

Waterbath

Coagulation Instrument or assay system

Assay reagents e.g. APTT reagent, calcium chloride, Owren's buffer

Calibrator Plasma (e.g. VisuCal-F Frozen Calibrator Plasma)

Control Plasmas (e.g. VisuCon-F Frozen Normal and Abnormal Control Plasmas)

Common clinical laboratory equipment and material (pipettes, plastic tubes etc.)

B. Assay Procedure (Manual Method)
Preparation of Calibration Curve Dilutions

i) Prepare calibrator plasma, APTT reagent and assay buffer according to manufacturer's instructions.

ii) Prepare dilutions of the calibrator plasma in plastic tubes using assay buffer to generate a 5-point calibration curve corresponding to 100% to 6.25%, as illustrated in the following table:

Dilution	% Factor IX *	Calibrator Plasma Volume	Buffer Volume
1/10	100%	100 µl	900 µl
1/20	50%	500 µl of 1/10 dilution	500 µl
1/40	25%	500 µl of 1/20 dilution	500 µl
1/80	12.5%	500 µl of 1/40 dilution	500 µl
1/160	6.25%	500 µl of 1/80 dilution	500 µl

*Refer to manufacturer's Certificate of Analysis for the lot-specific Factor IX activity level of the calibrator plasma.

Preparation of Test Plasma Dilutions

 Dilute all test plasma samples 1/10 and 1/20 in plastic tubes using assay buffer. Additional dilutions may be required if the reported results are outside the readable range of the calibration curve or if the test results are not parallel with the calibration curve.⁷
Test Method (Manual)

All calibration plasma and test plasma dilutions should be tested immediately after preparation. Add the following to a test tube or cuvette warmed to 37°C ± 1°C:

- 100 µl of VisuDep-F Factor IX deficient plasma
- 100 µl of calibrator plasma dilution or diluted test sample

Mix and incubate for 1 minute at 37°C ± 1°C then add:

- 100 µl of APTT reagent (pre-warmed to 37°C ± 1°C)

Mix and incubate for 3-5 minutes at 37°C ± 1°C then add:

- 100 µl of calcium chloride (pre-warmed to 37 °C ± 1 °C)

Start a timing device the instant the calcium chloride is added to the plasma mixture and record the time to clot formation.

Results

Using log-log graph paper, plot clot times for the calibrator plasma dilutions on the y-axis against the corresponding percent Factor IX activity on the x-axis. Draw the best-fit calibration line. Interpolate the Factor IX levels of the test samples from this calibration curve and multiply by the appropriate dilution factor. Under the conditions described here, a test sample diluted 1/10 will have a dilution factor of 1 and a dilution of 1/20 will have a dilution factor of 2. Additionally, if the Factor IX value for the calibrator plasma is not 100%, the test sample result will need to be multiplied by the appropriate correction factor. For example, if the Factor IX level of the calibrator plasma is 105%, multiply the test sample results by 1.05 to obtain the corrected result.

Automatic Test Method

Factor activity assays may be performed using semi-automated or automated coagulation instruments with built in programs for generating the calibration curve and calculating test plasma results. Refer to the coagulation instrument's Operator's Manual for specific assay procedure instructions.

Quality Control

In order to ensure accuracy of the results, normal and abnormal control plasmas such as the VisuCon-F Frozen Normal and Abnormal Controls, should be analyzed regularly. Each laboratory should establish and maintain its own quality control ranges for each particular instrument-reagent system used. If appropriate control values are not obtained, assess the components of the assay system including reagents, substrate plasmas, calibrator plasma or instrumentation to try and identify potential sources of error.

Results

Results for test samples and control plasmas can be calculated as described above or using the software program of the coagulation instrument. Ensure values obtained for the control plasmas are within established ranges. If control results are out of range, the Factor IX activity values obtained for test samples should be considered suspect.

Limitations of the Procedure

Incorrect sample handling such as insufficient filling of collection tubes, contamination of collection tubes or incorrect type of anticoagulant can lead to erroneous sample results. Use only plasma samples that have been collected into sodium citrate anticoagulant.⁶ Samples that have clotted or are hemolyzed, icteric or lipemic should be avoided. Do not use glass tubes to prepare plasma dilutions as glass may cause activation of the coagulation cascade.⁷⁻⁸ The presence of lupus anticoagulant in test plasmas can affect the reported factor activity.

Expected Values

The normal range for Factor IX as reported in the literature is typically 55-163%⁹, however, each laboratory should determine a normal range independently. Results measured in 100 healthy individuals indicate a Factor IX normal reference range of 75 - 159%.

Performance Characteristics

PRECISION:

Within-run, between day, between-run and within device precision were assessed for three lots of the VisuDep-F Frozen Factor IX Deficient Plasma using STA® PTT-Automate on an STA Compact. Normal and abnormal control plasmas were tested in duplicate 2 times per day for 20 days as per CLSI guideline EP5-A2¹⁰. The coefficients of variation (% CV) obtained in these precision studies are presented in the table below.

	Within Run	Between Day	Between Run	Within Device
Normal	6.0 - 7.4%	5.1 - 6.4%	4.1 - 6.8%	8.8 - 11.9%
Abnormal	4.0 - 5.1%	5.2 - 5.9%	7.0 - 7.8%	9.6 - 10.7%

METHOD COMPARISON:

In a method comparison study, 120 test samples containing Factor IX ranging from <1% to normal levels were tested using the VisuDep-F Frozen Factor IX Deficient Plasma and Precision Biologic's Factor IX Deficient Plasma as the reference method. The correlation co-efficient (r) reported in this study was 0.991 (R² = 0.982, y = 0.956x + 2.589).

VisuDep™-F Plasma congelé déficient en facteur IX

Réf. produit: FRDP090125
FRDP090105



Conserver à une température inférieure à -60° C.

Conçu pour une utilisation diagnostique *in vitro* exclusivement.

Usage prévu

FRANÇAIS

Le plasma congelé déficient en facteur IX VisuDep-F est destiné à être utilisé comme plasma substrat lors de la détermination quantitative par méthode coagulante de l'activité du facteur IX présent dans des échantillons de plasma citraté.

Résumé et principe

Le facteur IX (également appelé facteur Christmas ou facteur antihémophilique B) est une glycoprotéine vitamine K-dépendante qui circule dans le plasma à une concentration de 5 µg/ml.¹ Le facteur IX est constitué de deux domaines proches du EGF et d'un domaine amino-terminal renfermant 12 résidus d'acide gamma-carboxy-glutamique (GLA). Ces résidus GLA permettent au facteur IX de lier des cations divalents et contribuent aux interactions de liaison calcium dépendantes.¹ Le facteur IX peut être activé par protéolyse limitée en présence de calcium par facteur XI activé et/ou à travers la séquence de coagulation extrinsèque par un complexe de VII^a/facteur tissulaire/phospholipide et facteur X activé.^{1,2} Avec le facteur VIIIa, des ions calcium et une membrane phospholipidique, le facteur IX activé convertit le facteur X en facteur Xa pour aboutir finalement à la formation d'un caillot de fibrine.³

L'importance biologique du facteur IX est démontrée en cas d'hémophilie B (appelée maladie de Christmas), hémophilie congénitale liée au chromosome X, résultant d'un trouble quantitatif (activité faible et antigènes faibles) ou qualitatif (activité faible et antigènes normaux) de la fonction du facteur IX.⁴ Cette carence congénitale en facteur IX peut être classée comme sévère (activité du facteur IX < 1 %), modérée (activité du facteur IX entre 1 et 5 %, ou légère (activité du facteur IX entre 5 et 40 %).⁵

L'activité du facteur IX dans le plasma du patient est déterminée *in vitro* en mesurant le temps de céphaline activée (test APTT). Le plasma du patient est dilué, mélangé à du plasma déficient en facteur IX et soumis à un test APTT. Le résultat est déduit en utilisant une courbe de référence obtenue à partir de dilutions de plasma étalon mélangé au plasma déficient en facteur IX. La correction du temps de coagulation du plasma déficient est proportionnelle au niveau d'activité du facteur IX dans le plasma du patient.

Réactifs

A. Description:

Plasma congelé déficient en facteur IX avec activité résiduelle du facteur IX < 1 %. Les facteurs de coagulation restants ont des activités ≥50 % et le fibrinogène est ≥1,5 g/L.

Boîte contenant 25 flacons de 1 ml de plasma congelé déficient en facteur IX,

Réf. produit FRDP090125

OU

Boîte contenant 5 flacons de 1 ml de plasma congelé déficient en facteur IX,

Réf. produit FRDP090105

B. Précautions et avertissements :

Ce produit est conçu pour être utilisé par un personnel formé pour les procédures en laboratoire et les précautions universelles concernant l'utilisation de substances potentiellement nocives pour l'organisme. Ce produit contient des matériels humains. Chaque unité de plasma source utilisée dans la préparation de ce produit a été testée par les méthodes agréées de la FDA et testée négative pour l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (AgHBS), pour le virus d'immunodéficience humaine (VIH) de type I et de type II et ADNr, ainsi que pour l'hépatite C (HCV). Étant donné qu'aucun test ne permet de garantir complètement que les produits dérivés du sang humain ne transmettront pas de maladies infectieuses, ce produit doit être manipulé comme un matériel potentiellement infectieux. L'élimination des déchets doit être effectuée en accord avec la réglementation locale.

C. Préparation/manipulation du réactif :

Faire décongeler chaque flacon de 1 mL pendant 5 minutes dans un bain-marie à 37 °C ± 1 °C. Agiter doucement le flacon avant utilisation.

D. Stockage et stabilité :

Les flacons sont stables jusqu'à la date d'expiration mentionnée sur le flacon lorsqu'ils sont stockés à une température inférieure à -60 °C. Une fois décongelé, le plasma reste stable pendant encore 4 heures sur l'instrument (entre 15 et 19 °C) ou 8 heures dans son flacon d'origine à une température comprise entre 2 et 8 °C. Tout matériel décongelé doit être jeté après utilisation et ne doit en aucun cas être recongelé.

Collecte et préparation des spécimens

Le sang est prélevé dans des tubes d'anticoagulants de citrate de sodium à 3,2 %, selon un rapport de 9 volumes de sang pour 1 volume d'anticoagulant, et mélangé délicatement par inversion. Se référer à la directive CLSI réf. H21-A5 « Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays » pour plus d'informations sur la collecte, la manipulation et le stockage des spécimens.⁶

Procédure

A. Matériel requis (mais non fourni)

Bain-marie

Appareil de coagulation ou système d'étalonnage

Réactifs d'étalonnage (ex. : réactif APTT, chlorure de calcium, solution tampon de Owren-Koller)

Plasma étalon (ex. : plasma étalon congelé VisuCal-F)

Plasmas de contrôle (ex. : plasmas de contrôle normaux et anormaux congelés VisuCon-F)

Équipement et matériel de base de laboratoire clinique (pipettes, éprouvettes en plastique, etc.)

B. Procédure de dosage (méthode manuelle)

Préparation des dilutions de la courbe d'étalonnage

i) Préparer le plasma étalon, le réactif APTT et la solution tampon en suivant les instructions du fabricant.

ii) Préparer des dilutions de plasma étalon dans des éprouvettes en plastique en utilisant une solution tampon pour générer une courbe d'étalonnage à 5 points correspondant à 100 % à 6,25 %, tel qu'indiqué dans le tableau suivant:

Dilution	% facteur IX*	Volume de plasma étalon	Volume de solution tampon
1/10	100 %	100 µl	900 µl
1/20	50 %	500 µl d'une dilution à 1/10	500 µl
1/40	25 %	500 µl d'une dilution à 1/20	500 µl
1/80	12,5 %	500 µl d'une dilution à 1/40	500 µl
1/160	6,25 %	500 µl d'une dilution à 1/80	500 µl

* Se référer au certificat d'analyse fourni par le fabricant pour connaître le niveau d'activité du facteur IX présent dans le plasma étalon spécifique au lot.

Préparation des dilutions de plasma à tester

Diluer tous les échantillons de plasma étalon à 1/10 et à 1/20 dans des éprouvettes en plastique en utilisant une solution tampon. Des dilutions

supplémentaires peuvent être nécessaires si les résultats obtenus sont en dehors de la plage lisible de la courbe d'étalonnage ou si les résultats du test ne sont pas parallèles à la courbe d'étalonnage.⁷

Procédure de test (manuelle)

Toutes les dilutions de plasma étalon et de plasma de test doivent être testées immédiatement après avoir été préparées. Ajouter ce qui suit dans une éprouvette ou une cuvette réchauffée à 37 °C ± 1 °C :

- 100 µl de plasma déficient en facteur IX VisuDep-F
- 100 µl de dilution de plasma étalon ou d'échantillon de plasma dilué

Mélanger, laisser incuber pendant 1 minute à une température de 37 °C ± 1 °C, puis ajouter :

- 100 µl de réactif APTT (préchauffé à 37 °C ± 1 °C)

Mélanger, laisser incuber pendant 3 à 5 minutes à une température de 37 °C ± 1 °C, puis ajouter :

- 100 µl de chlorure de calcium (préchauffé à 37 °C ± 1 °C)

Déclencher un minuteur immédiatement après avoir ajouté le chlorure de calcium dans le mélange de plasma et noter le temps de coagulation.

Résultats

Sur du papier millimétré, reporter les temps de coagulation des dilutions de plasma étalon sur l'axe Y et le pourcentage d'activité du facteur IX correspondant sur l'axe X. Tracer la courbe d'étalonnage. Déduire les niveaux de facteur IX des échantillons testés à partir de cette courbe d'étalonnage, puis multiplier par le facteur de dilution approprié. Dans les conditions décrites ici, un échantillon dilué à 1/10 aura un facteur de dilution de 1 et une dilution à 1/20 aura un facteur de dilution de 2. Si le niveau de facteur IX du plasma étalon n'est pas égal à 100 %, le résultat obtenu pour l'échantillon devra être multiplié par le facteur de correction approprié. Par exemple, si le niveau de facteur IX du plasma étalon est de 105 %, multiplier les résultats obtenus pour l'échantillon par 1,05 pour obtenir le résultat correct.

Méthode de test automatique

Les tests de mesure de l'activité des facteurs de coagulation peuvent être réalisés en utilisant des appareils de mesure du temps de coagulation automatiques ou semi-automatiques dotés de logiciels permettant de générer la courbe d'étalonnage et de calculer les résultats de l'échantillon de plasma. Se référer au manuel d'utilisation de l'appareil de mesure des temps de coagulation pour obtenir des instructions spécifiques concernant la procédure de test.

Contrôle qualité

Afin de garantir la précision des résultats, des plasmas de contrôle normaux et anormaux tels que les plasmas de contrôle normaux et anormaux congelés VisuCon-F doivent être analysés régulièrement. Chaque laboratoire doit établir et maintenir ses propres plages de contrôle de qualité pour chaque système instrument réactif spécifique utilisé. Si des valeurs de contrôles appropriées ne sont pas disponibles, il convient d'évaluer les différents composants du système d'étalonnage, notamment les réactifs, les substrats plasmatiques, les plasmas étalons ou les instruments de façon à tenter d'identifier les sources d'erreur potentielles.

Résultats

Les résultats des échantillons et des plasmas de contrôle peuvent être calculés comme décrit ci-dessus ou en utilisant le logiciel de l'appareil de mesure des temps de coagulation. S'assurer que les valeurs obtenues pour les plasmas de contrôle se situent dans les plages de valeurs établies. Si les résultats des plasmas de contrôle sont en dehors de ces plages, les valeurs de l'activité du Facteur IX obtenues pour les échantillons doivent être considérées comme suspectes.

Limites de la procédure

Une mauvaise manipulation de l'échantillon (remplissage insuffisant des éprouvettes, contamination des éprouvettes ou utilisation d'un anticoagulant incorrect) peut conduire à des résultats erronés. N'utiliser que des

échantillons de plasma collectés dans un anticoagulant constitué de citrate de sodium.⁶ Les échantillons coagulés ou hémolysés, ictériques ou lipémiques, doivent être évités. Ne pas utiliser d'éprouvettes en verre pour préparer les dilutions de plasma, car le verre peut causer l'activation de la cascade de coagulation.⁷⁻⁸ La présence de lupus anticoagulant dans le plasma de test peut affecter l'activité du facteur rapporté.

Valeurs attendues

La plage normale pour le facteur IX telle qu'indiquée dans la documentation est comprise entre 55 et 163 %⁹. Toutefois, chaque laboratoire doit déterminer une plage normale indépendamment. Les résultats mesurés chez 100 sujets sains indiquent une plage de référence normale pour le facteur IX comprise entre 75 et 159 %.

Caractéristiques de performance

PRÉCISION:

La précision intra-essai, inter-jour, inter-essai et intra-appareil a été évaluée pour trois lots de plasma congelé déficient en facteur IX VisuDep-F en utilisant STA® PTT-Automate sur un STA Compact. Des plasmas de contrôle normaux et anormaux ont été testés en duplicat deux fois par jour pendant vingt jours, conformément à la directive CLSI EP5-A2¹⁰. Les coefficients de variation (% CV) obtenus dans ces études sur la précision sont présentés dans le tableau ci-dessous.

	Précision du test	Précision inter-jour	Précision inter-essai	Précision intra-appareil
Normale	6,0 - 7,4 %	5,1 - 6,4 %	4,1 - 6,8 %	8,8 - 11,9 %
Anormale	4,0 - 5,1 %	5,2 - 5,9 %	7,0 - 7,8 %	9,6 - 10,7 %

COMPARAISON DES MÉTHODES:

Dans une étude comparative de méthode, 120 échantillons contenant du facteur IX présentant une activité allant de <1 % à des niveaux normaux ont été testés en utilisant du plasma congelé déficient en facteur IX VisuDep-F et un plasma déficient en facteur IX de Precision Biologic comme méthode de référence. Le coefficient de corrélation (r) indiqué dans cette étude était de 0,991 ($R^2 = 0,982$, $y = 0,956x + 2,589$).

VisuDep™-F Plasma con carenza di Fattore IX congelato

N. prodotto: FRDP090125
FRDP090105



Conservare a -60 °C o meno.

Per uso diagnostico *in vitro*.

Uso previsto

ITALIANO

Il plasma con carenza di Fattore IX congelato VisuDep-F è destinato all'uso come substrato nella determinazione quantitativa dell'attività del Fattore IX nel plasma citrato tramite un dosaggio basato su coagulazione.

Riepilogo e principio

Il Fattore IX (Fattore di Christmas) è una glicoproteina dipendente dalla vitamina K che circola nel plasma a una concentrazione di 5 µg/ml.¹

Il Fattore IX contiene due domini simili a EGF e un dominio amino terminale che contiene 12 residui di acido γ-carbossi-glutamico (Gla). Questi residui Gla consentono al Fattore IX di legare gli ioni metallici divalenti e partecipare alle interazioni leganti che dipendono dal calcio.¹

Il Fattore IX può essere attivato tramite proteolisi limitata in presenza di calcio dal fattore XI attivato e/o attraverso il percorso di coagulazione estrinseco tramite un complesso di VII^a/fattore tissutale/fosfolipidi e Fattore X attivato.^{1,2} Il Fattore IX attivato, insieme al Fattore VIIIa, agli ioni di calcio e alla membrana di fosfolipidi, converte il Fattore X in Xa portando alla fine alla formazione di un coagulo di fibrina.³

L'importanza biologica del Fattore IX è dimostrata nell'Emofilia B (malattia di Christmas), una patologia emorragica congenita legata a X che risulta da un difetto quantitativo (bassa attività e scarso antigene) o qualitativo (bassa attività e antigene normale) nella funzione del Fattore IX.⁴ La deficienza congenita del Fattore IX può essere classificata come grave (<1% attività del Fattore IX), moderata (attività del Fattore IX tra 1 e 5%) o lieve (attività del Fattore IX tra 5 e 40%).⁵

L'attività del Fattore IX nel plasma dei pazienti è determinata *in vitro* mediante l'uso di un test temporale con tromboplastina parziale attivata modificata (APTT). Il plasma del paziente viene diluito, miscelato con plasma con carenza del Fattore IX e viene eseguito il test APTT. Il risultato viene interpolato sfruttando una curva di riferimento generata con le diluizioni del plasma calibratore miscelato con il plasma con carenza di Fattore IX. La correzione del tempo di coagulazione del plasma con carenza è proporzionale a livello di attività del Fattore IX nel plasma del paziente.

Reagenti

A. Descrizione

Plasma immunodepleto di Fattore IX congelato con attività residua del Fattore IX inferiore all'1%. I fattori di coagulazione rimanenti hanno attività ≥50% e il fibrinogeno è ≥1,5 g/l.

Confezione contenente 25 fiale da 1 ml di plasma congelato, con carenza di Fattore IX

Prodotto n. FRDP090125

OPPURE

Confezione contenente 5 fiale da 1 ml di plasma congelato, con carenza di Fattore IX

Prodotto n. FRDP090105

B. Precauzioni e avvertenze:

Il prodotto deve essere utilizzato da personale addestrato in procedure di laboratorio e precauzioni universali per l'utilizzo di sostanze potenzialmente pericolose dal punto di vista biologico. Questo prodotto contiene materiali di origine umana. Ogni unità di plasma originario utilizzata nella preparazione di questo prodotto è stata sperimentata con metodi approvati dalla FDA ed è risultata non reattiva per l'antigene superficiale dell'epatite B (Hb_sAg), negativa per la presenza di virus da immunodeficienza umana (HIV-1/2, rDNA) e per l'epatite C (HCV). Dal momento che nessun test può fornire una garanzia assoluta che questi prodotti ricavati da sangue umano non trasmettano malattie infettive, questo prodotto deve essere gestito come materiale potenzialmente infettivo. Lo smaltimento dei rifiuti deve essere svolto in conformità alle normative locali in vigore.

C. Manipolazione/preparazione dei reagenti:

Scongelare ogni fiala da 1 ml a 37 °C (+/- 1 °C) in un bagno d'acqua per 5 minuti. Capovolgere delicatamente prima dell'uso.

D. Conservazione e stabilità:

Se conservate a una temperatura di -60 °C o inferiore, le fiale sono stabili fino alla data di scadenza indicata sulla fiala. Una volta scongelato, il plasma è stabile per 4 ore sul sistema (15-19 °C) o per 8 ore a 2-8 °C nella fiala originaria. Dopo l'uso, il materiale scongelato deve essere scartato e non ricongelato.

Raccolta e preparazione del campione

Il sangue viene raccolto in provette con anticoagulante citrato di sodio al 3,2% presente in un rapporto di 9 volumi di sangue e 1 volume di anticoagulante e miscelato delicatamente per inversione. Per ulteriori informazioni sulla raccolta, la gestione e la conservazione dei campioni, fare riferimento alle linee guida CLSI H21-A5 "Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays" (Raccolta, trasporto e lavorazione di campioni di sangue per i dosaggi dei test di coagulazione basati su plasma e dosaggi sull'emostasi molecolare).⁶

Procedura

A. Materiali necessari (ma non forniti)

Bagno d'acqua

Strumento di coagulazione o sistema di dosaggio

Reagenti per analisi, ad esempio reagente APTT, cloruro di calcio, tampone Owren-Koller
 Plasma calibratore (ad es. plasma calibratore congelato VisuCal-F)
 Plasma di controllo (ad esempio, plasma di controllo normale e anormale congelato VisuCon-F)
 Strumenti e materiali clinici comuni di laboratorio (pipette, provette di plastica e così via)

B. Procedura di dosaggio (Metodo manuale)

Preparazione delle diluizioni della curva di calibrazione

i) Preparare il plasma del calibratore, il reagente APTT e il tampone di dosaggio seguendo le istruzioni del produttore.

ii) Preparare le diluizioni del plasma calibratore in provette di plastica usando il tampone di dosaggio per generare una curva di calibrazione a 5 punti che corrisponde al 100% fino al 6,25%, come illustrato nella tabella riportata di seguito:

Diluizione	% Fattore IX*	Volume plasma calibratore	Volume tampone
1/10	100%	100 µl	900 µl
1/20	50%	500 µl di 1/10 diluizione	500 µl
1/40	25%	500 µl di 1/20 diluizione	500 µl
1/80	12,5%	500 µl di 1/40 diluizione	500 µl
1/160	6,25%	500 µl di 1/80 diluizione	500 µl

*Fare riferimento al Certificato di analisi per il livello di attività del Fattore IX specifico del lotto del plasma calibratore.

Preparazione delle diluizioni del plasma di test

Diluire tutti i campioni di plasma di test 1/10 e 1/20 in provette di plastica usando tampone di dosaggio. Diluizioni aggiuntive possono essere necessarie se i risultati riportati non rientrano nell'intervallo leggibile della curva di calibrazione oppure se i risultati del test non sono paralleli alla curva di calibrazione.⁷

Metodo di test (manuale)

Tutto il plasma di calibrazione e le diluizioni del plasma di test deve essere testato immediatamente dopo la preparazione. Aggiungere quanto riportato di seguito a una provetta di test o a una cuvetta riscaldata a 37 °C ± 1 °C:

- 100 µl di plasma con carenza di Fattore IX VisuDep-F
- 100 µl di diluizione del plasma calibratore o di campione di test diluito

Miscelare e incubare per 1 minuto a 37 °C ± 1 °C quindi aggiungere:

- 100 µl di reagente APTT (preriscaldato a 37 °C ± 1 °C)

Miscelare e incubare per 3-5 minuti a 37 °C ± 1 °C quindi aggiungere:

- 100 µl di cloruro di calcio (preriscaldato a 37 °C ± 1 °C)

Avviare un dispositivo di temporizzazione nel momento in cui il cloruro di calcio viene aggiunto alla miscela di plasma e registrare il tempo di coagulazione.

Risultati

Usando una carta per grafici log-log, tracciare i tempi di coagulazione per le diluizioni del plasma calibratore sull'asse y contro l'attività del Fattore IX percentuale corrispondente sull'asse x. Tracciare la migliore linea di calibrazione. Interpolare i livelli del Fattore IX dei campioni di test da questa curva di calibrazione e moltiplicare per il fattore di diluizione appropriato. Nelle condizioni qui descritte, un campione di test diluito 1/10 presenterà un fattore di diluizione di 1 e una diluizione di 1/20 presenterà un fattore di diluizione di 2. Se il valore del Fattore IX per il plasma calibratore non è il 100%, il risultato del campione di test dovrà essere moltiplicato per il fattore di correzione appropriato. Ad esempio, se il livello del Fattore IX del plasma calibratore è 105%, moltiplicare i risultati del campione di test per 1,05 per ottenere il risultato corretto.

Metodo di test automatico

I dosaggi di attività del fattore devono essere eseguiti usando strumenti di coagulazione semiautomatici o automatici con programmi interni per la generazione della curva di calibrazione e il calcolo dei risultati del plasma del test. Fare riferimento al Manuale dell'operatore dello strumento di coagulazione per le istruzioni specifiche della procedura del dosaggio.

Controllo qualità

Per assicurare l'accuratezza dei risultati, i plasma di controllo, normale e anormale come i controlli normale e anormale congelato VisuCon-F, devono essere analizzati regolarmente. Ogni laboratorio deve predisporre propri intervalli di controllo qualità per ogni particolare sistema strumento-reagente utilizzato. Se non sono disponibili valori di controllo appropriati, valutare i componenti del sistema di dosaggio, compresi reagenti, plasma substrato, plasma calibratore o strumentazione, per identificare eventuali cause di errore.

Risultati

I risultati dei campioni di test e dei plasma di controllo possono essere calcolati nel modo descritto in precedenza o usando il programma software dello strumento di coagulazione. Assicurarsi che i valori ottenuti per i plasma di controllo rientrino negli intervalli stabiliti. Se i risultati dei controlli non rientrano nell'intervallo, i valori dell'attività del Fattore IX ottenuti per i campioni di test devono essere considerati sospetti.

Limiti della procedura

La gestione non corretta dei campioni, come le provette di raccolta riempite non a sufficienza, la contaminazione delle provette di raccolta o il tipo errato di anticoagulante possono portare a risultati dei campioni errati. Usare solo campioni di plasma che sono stati raccolti in un anticoagulante di citrato di sodio.⁶ I campioni che sono stati coagulati o emolizzati, con ittero o lipemici devono essere evitati. Non usare provette di vetro per preparare diluizioni di plasma in quanto possono causare l'attivazione della coagulazione.⁷⁻⁸ La presenza di anticoagulante lupico nel plasma di test può alterare l'attività riportata del fattore.

Valori previsti

L'intervallo normale per il Fattore IX, come riportato in letteratura, è in genere del 55-163%⁹, tuttavia, ciascun laboratorio deve determinare un intervallo normale in modo indipendente. I risultati misurati in 100 adulti sani indicano un intervallo di riferimento del Fattore IX normale del 75-159%.

Prestazioni metodologiche

PRECISIONE

La precisione nel ciclo, tra i giorni, tra i cicli ed entro la precisione del dispositivo va valutata per i tre lotti del plasma con carenza di Fattore IX congelato VisuDep-F usando STA® PTT-Automate su uno STA Compact. I plasma di controllo normali e anormali sono stati testati in duplicato 2 volte al giorno per 20 giorni in base alle linee guida CLSI EP5-A2¹⁰. I coefficienti di variazione (% CV) ottenuti in questi studi di precisione sono presentati nella tabella riportata di seguito.

	Nel ciclo	Tra i giorni	Tra i cicli	Nel dispositivo
Normale	6,0 – 7,4 %	5,1 – 6,4 %	4,1 – 6,8 %	8,8 – 11,9 %
Anormale	4,0 – 5,1 %	5,2 – 5,9 %	7,0 – 7,8 %	9,6 – 10,7 %

CONFRONTO TRA METODI

In uno studio di confronto tra metodi, sono stati testati 120 campioni di test contenenti Fattore IX da <1% a livelli normali usando plasma con carenza di Fattore IX congelato VisuDep-F e plasma con carenza di Fattore IX Precision Biologic come metodo di riferimento. Il coefficiente di correlazione (r) riportato in questo studio era 0,991 (R² = 0,982, y = 0,956x + 2,589).

VisuDep™-F Gefrorenes Faktor IX-Mangelplasma

Produktnr.: FRDP090125
FRDP090105



Bei -60 °C oder niedriger lagern.

Für *In-vitro*-Diagnose.

Bestimmungsgemäßer Gebrauch DEUTSCH

Das VisuDep-F gefrorene Faktor IX-Mangelplasma ist vorgesehen zur Verwendung als Substratplasma bei der quantitativen Bestimmung der Faktor-IX-Aktivität in Citratplasmen unter Verwendung eines gerinnungs-basierten Tests.

Zusammenfassung und Prinzip

Faktor IX (Christmas-Faktor) ist ein Vitamin K-abhängiges Glykoprotein, das in einer Konzentration von 5 µg/ml im Plasma zirkuliert.¹ Faktor IX enthält zwei EGF-artige Domänen und eine aminoterminal Domäne mit 12 γ-Carboxylglutamatresten (Gla-Reste). Mit diesen Gla-Resten kann Faktor IX divalente Metallionen binden und sich an kalziumabhängigen Bindungswechselwirkungen beteiligen.¹ Faktor IX kann durch limitierte Proteolyse in Gegenwart von Kalzium durch aktivierten Faktor XI und/oder über den extrinsischen Gerinnungsweg durch einen Komplex aus VIIIa/Gewebefaktor/Phospholipid und aktivierten Faktor X aktiviert werden.^{1,2} Aktivierter Faktor IX wandelt zusammen mit Faktor VIIIa, Kalziumionen und einer Phospholipidmembran Faktor X zu Xa um, was schließlich zur Bildung eines Fibringerinnsels führt.³

Die biologische Bedeutung von Faktor IX zeigt sich bei Hämophilie B (Christmas-Krankheit), einer X-chromosomal vererbten Blutungs-krankheit infolge eines quantitativen (niedrige Aktivität und niedrige Antigenmenge) oder qualitativen (niedrige Aktivität und normale Antigenmenge) Defektes der Funktion von Faktor IX.⁴ Der angeborene Mangel an Faktor IX wird als schwer (Faktor IX-Aktivität < 1 %), moderat (Faktor IX-Aktivität zwischen 1 und 5 %) oder leicht (Faktor IX-Aktivität zwischen 5 und 40 %) klassifiziert.⁵

Die Faktor-IX-Aktivität in Patientenplasma wird *in vitro* mittels eines modifizierten Tests der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (APTT) bestimmt. Das Patientenplasma wird verdünnt, mit Faktor-IX-Mangelplasma vermischt, und ein APTT-Test wird durchgeführt. Das Ergebnis wird mit einer Referenzkurve interpoliert, die mittels Verdünnungen von Kalibratorplasma, gemischt mit Faktor-IX-Mangelplasma, erstellt wird. Die Korrektur der Gerinnungszeit des Mangelplasmas ist proportional zum Aktivitätsspiegel von Faktor IX im Patientenplasma.

Reagenzien

A. Beschreibung:

Gefrorenes, immundepletiertes Faktor-IX-Plasma mit verbleibender Faktor-IX-Aktivität von < 1 %. Verbleibende Gerinnungsfaktoren weisen Aktivitäten von ≥ 50 % auf; der Fibrinogenwert liegt bei ≥ 1,5 g/l.

Packung mit 25 1-ml-Ampullen mit gefrorenem Faktor-IX-Mangelplasma,

Produktnr. FRDP090125

ODER

Packung mit 5 1-ml-Ampullen mit gefrorenem Faktor-IX-Mangelplasma,

Produktnr. FRDP090105

B. Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise:

Dieses Produkt ist zur Verwendung durch geschultes Personal im Labor vorgesehen. Es sind die allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen beim Umgang mit potenziell infektiösen Stoffen einzuhalten. Dieses Produkt enthält Material humanen Ursprungs. Jede Quelle des Ausgangsplasmas, das bei der Herstellung dieses Produkts verwendet wurde, wurde gemäß den von der FDA zugelassenen Verfahren getestet, und es wurden keine Oberflächenantigene für Hepatitis B (HBsAg), keine HIV-Erreger (HIV-Typ I und II, rDNA) sowie keine Nachweise für Hepatitis C (HCV) festgestellt. Da kein Test mit absoluter Sicherheit gewährleisten kann, dass Produkte, die aus humanem Blut gewonnen wurden, nicht doch Infektionskrankheiten

übertragen, sollte dieses Produkt als potenziell infektiöses Material behandelt werden. Die Entsorgung von Abfallmaterialien muss entsprechend den geltenden lokalen Vorschriften erfolgen.

C. Vorbereitung/Handhabung der Reagenzien:

Die einzelnen 1-ml-Ampullen 5 Minuten lang im Wasserbad bei 37 °C ± 1 °C auftauen. Vor Gebrauch vorsichtig invertieren.

D. Aufbewahrung und Stabilität:

Der Inhalt der Ampullen ist bei Lagerung bei -60 °C oder niedriger bis zu dem auf der Ampulle angegebenen Verfallsdatum stabil. Nach dem Auftauen bleibt das Plasma im Testsystem (15–19 °C) 4 Stunden lang oder in der Originalampulle bei 2–8 °C 8 Stunden lang stabil. Aufgetautes Material sollte nach Gebrauch entsorgt und nicht wieder eingefroren werden.

Probennahme und Vorbereitung

Das Blut wird in Antikoagulans-Röhrchen mit 3,2 % Natriumcitrat mit einem Verhältnis von 9 Teilen Blut auf 1 Teil Antikoagulansmittel gesammelt und durch Umdrehen vorsichtig gemischt. Weitere Informationen über Probennahme, Handhabung und Lagerung sind zu finden in der CLSI-Richtlinie H21-A5: „Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays“⁶.

Ablauf

A. Benötigte Materialien (nicht im Lieferumfang enthalten)

Wasserbad

Koagulationsinstrument oder Testsystem

Testreagenzien wie APTT-Reagenz, Kalziumchlorid, Owren-Koller-Puffer

Kalibratorplasma (z. B. VisuCal-F gefrorenes Kalibratorplasma)

Kontrollplasmen (z. B. VisuCon-F gefrorene normale und abnormale Kontrollplasmen)

Übliche klinische Laborgeräte und -materialien (Pipetten, Kunststoffröhrchen usw.)

B. Ablauf des Tests (Manuelle Methode)

Vorbereitung der Kalibrierungskurvenverdünnungen

i) Kalibratorplasma, APTT-reagenz und Testpuffer nach Anweisung des Herstellers vorbereiten.

ii) Verdünnungen des Kalibratorplasmas in Kunststoffröhrchen unter Verwendung eines Testpuffers vorbereiten, um entsprechend unten abgebildeter Tabelle eine Kalibrierungskurve mit 5 Punkten von 100 % bis 6,25 % zu erstellen:

Verdünnung	% Faktor IX*	Kalibratorplasma-Volumen	Puffervolumen
1/10	100 %	100 µl	900 µl
1/20	50 %	500 µl von 1/10 Verdünnung	500 µl
1/40	25 %	500 µl von 1/20 Verdünnung	500 µl
1/80	12,5 %	500 µl von 1/40 Verdünnung	500 µl
1/160	6,25 %	500 µl von 1/80 Verdünnung	500 µl

* Die chargenspezifischen Faktor-IX-Aktivitätsspiegel des Kalibratorplasmas sind im Analysenzertifikat des Herstellers angegeben.

Vorbereitung der Testplasmaverdünnungen

Sämtliche Testplasmaproben mit Verhältnis 1/10 und 1/20 in Kunststoffröhrchen unter Verwendung von Testpuffern verdünnen. Eventuell sind zusätzliche Verdünnungen erforderlich, wenn die angezeigten Ergebnisse außerhalb des lesbaren Bereichs der Kalibrierungskurve liegen oder wenn die Testergebnisse keine Parallelität zur ihr aufweisen.⁷

Testmethode (Manuell)

Sämtliche Verdünnungen von Kalibratorplasma und Testplasma sollten umgehend nach der Vorbereitung getestet werden. Folgendes ist einem Teströhrchen oder einer Küvette, auf 37 °C ± 1 °C erwärmt, hinzuzufügen:

- 100 µl VisuDep-F Faktor-IX-Mangelplasma
- 100 µl Kalibratorplasmaverdünnung oder verdünnte Testprobe

Vermischen und 1 Minute lang bei 37 °C ± 1 °C inkubieren, anschließend Folgendes hinzuzufügen:

- 100 µl APTT-Reagenz (auf 37 °C ± 1 °C vorgewärmt)

Vermischen und 3–5 Minuten bei 37 °C ± 1 °C inkubieren, anschließend Folgendes hinzufügen:

- 100 µl Kalziumchlorid (auf 37 °C ± 1 °C vorgewärmt)

Messuhr im Moment der Zugabe des Kalziumchlorids zur Plasmamixtur starten und Zeit bis zur Gerinnungsbildung stoppen.

Ergebnisse

Auf doppellogarithmischem Papier die Gerinnungszeiten für die Kalibratorplasmaverdünnungen auf der y-Achse gegenüber dem entsprechenden Prozentwert der Faktor-IX-Aktivität auf der x-Achse darstellen. Ausgleichsgerade der Kalibrierung zeichnen. Die Faktor-IX-Spiegel der Testproben von dieser Kalibrierungsgeraden interpolieren und mit dem passenden Verdünnungsfaktor multiplizieren. Unter den hier beschriebenen Bedingungen weist eine Testprobe mit einem Verdünnungsverhältnis von 1/10 einen Verdünnungsfaktor von 1 auf, bei 1/20 einen Verdünnungsfaktor von 2. Liegt der Faktor-IX-Wert für das Kalibratorplasma nicht bei 100 %, so muss das Testprobenergebnis mit dem passenden Korrekturfaktor multipliziert werden. Liegt beispielsweise der Faktor-IX-Spiegel des Kalibratorplasmas bei 105 %, so sind die Testprobenergebnisse für ein korrektes Ergebnis mit 1,05 zu multiplizieren.

Automatische Testmethode

Faktoraktivitätstests können auch mithilfe halb automatischer oder automatischer Koagulationsinstrumente durchgeführt werden, die integrierte Programme zur Erstellung einer Kalibrierungskurve und der Berechnung von Testplasmaergebnissen beinhalten. Anweisungen zu bestimmten Testabläufen sind im Bedienerhandbuch zu dem jeweiligen Koagulationsinstrument zu finden.

Qualitätskontrolle

Zur Sicherstellung der Messgenauigkeit der Ergebnisse sollten normale und abnormale Kontrollplasmen, wie z. B. das VisuCon-F gefrorene normale und abnormale Kontrollplasma, regelmäßig analysiert werden. Jedes Labor sollte eigene Wertebereiche hinsichtlich der Qualitätskontrolle für das jeweilige verwendete Instrument-Reagenz-System aufstellen und einhalten. Wenn keine angemessenen Kontrollwerte erzielt werden, prüfen Sie die Komponenten des Testsystems (Reagenzien, Substratplasmen, Kalibratorplasma, Instrumentenausrüstung), um mögliche Fehlerquellen aufzudecken.

Ergebnisse

Ergebnisse für Testproben und Kontrollplasmen können entsprechend oben aufgeführter Beschreibung oder mit dem Softwareprogramm des Koagulationsinstruments berechnet werden. Es ist sicherzustellen, dass die für die Kontrollplasmen gewonnenen Werte innerhalb bereits etablierter Grenzen liegen. Liegen Kontrollergebnisse außerhalb dieser Grenzwerte, sind die erzielten Faktor-IX-Aktivitätswerte der Testproben als fragwürdig anzusehen.

Einschränkungen

Eine falsche Handhabung der Proben, wie etwa unzureichendes Füllen der Sammelröhrchen, deren Kontamination oder ein falsches Antikoagulans, kann zu fehlerhaften Testergebnissen führen. Es sind nur Plasmaproben zu verwenden, die in Antikoagulans-Röhrchen mit Natriumcitrat gesammelt wurden.⁶ Geronnene, hämolysierte, ikterische oder lipämische Proben sollten vermieden werden. Glasröhrchen sind zur Vorbereitung der Plasmaproben nicht zu verwenden, da Glas die Aktivierung der Koagulationskaskade auslösen kann.⁷⁻⁸ Das Vorhandensein von Lupus-Antikoagulant im Testplasma kann die angegebene Faktoraktivität beeinträchtigen.

Erwartete Werte

Der Normalbereich für Faktor IX liegt laut Literatur in der Regel bei 55–163 %⁹. Jedes Labor sollte jedoch einen eigenen Normalbereich festlegen. Ergebnisse aus Messungen an 100 gesunden Personen weisen einen normalen Referenzbereich für Faktor IX von 75–159 %.

Leistungsmerkmale

WIEDERHOLGENAUIGKEIT:

Innerhalb des Testdurchlaufs, während des Tages sowie zwischen den Testdurchläufen und innerhalb des Geräts wurde die Wiederholgenauigkeit des Geräts für drei Chargen des VisuDep-F gefrorenen Faktor-IX-Mangelplasmas unter Verwendung von STA[®] PTT-Automate in einem STA Compact beurteilt. Normale und abnormale Kontrollplasmen wurden gemäß der CLSI-Richtlinie EP5-A2¹⁰ zweifach 2 x täglich über einen Zeitraum von 20 Tagen getestet. Die in dieser Untersuchung zur Wiederholgenauigkeit festgestellten Variationskoeffizienten sind in folgender Tabelle dargestellt:

	Innerhalb des Testdurchlaufs	Während des Tages	Zwischen Testdurchläufen	Innerhalb des Geräts
Normal	6,0 – 7,4 %	5,1 – 6,4 %	4,1 – 6,8 %	8,8 – 11,9 %
Abnormal	4,0 – 5,1 %	5,2 – 5,9 %	7,0 – 7,8 %	9,6 – 10,7 %

METHODENVERGLEICH:

In einer Untersuchung zum Methodenvergleich wurden 120 Testproben mit einem Faktor IX von < 1 % bis hin zu einem normalen Spiegel getestet. Dies geschah mit gefrorenem Faktor-IX-Mangelplasma von VisuDep-F sowie von Precision Biologic als Referenzmethode. Der Korrelationskoeffizient (r) in dieser Untersuchung betrug 0,991 (R² = 0,982; y = 0,956x – 2,589).

VisuDep[™]-F Plasma deficiente en factor IX congelado

Referencia de producto:

FRDP090125

FRDP090105



Conservar a una temperatura de -60 °C o inferior.

Para diagnóstico *in vitro*.

Uso

ESPAÑOL

El plasma deficiente en factor IX congelado VisuDep-F está destinado al uso como sustrato para la determinación cuantitativa de la actividad del factor IX en plasmas citratados mediante ensayo de coagulación.

Resumen y principios

El factor IX (factor Christmas) es una glicoproteína dependiente de la vitamina K que circula por el plasma en una concentración de 5 µg/ml.¹ Este factor contiene dos dominios que son factores de crecimiento epidérmicos (EGF-like) y un dominio aminoterminal que contiene residuos de ácido 12 γ-carboxi-glutámico (Gla). Estos residuos de Gla permiten que el factor IX se una a iones metálicos divalentes y participe en las interacciones de conjugación calciodependientes.¹ El factor IX se puede activar mediante proteólisis limitada, en presencia de calcio, por factor XI activado y/o mediante la vía de coagulación extrínseca por un complejo de VIIa/tejido factor/fosfolípido y factor X activado.^{1,2} El factor IX activado, junto con el factor VIIIa, los iones de calcio y una membrana fosfolipídica, convierte el factor X en Xa, ocasionando eventualmente la formación de un coágulo de fibrina.³

La importancia biológica del factor IX se demuestra en la hemofilia de tipo B (enfermedad de Christmas), una enfermedad hemorrágica ligada al cromosoma X que resulta de un defecto cuantitativo (baja actividad y bajo nivel de antígeno) o cualitativo (baja actividad y nivel de antígeno normal) en la función del factor IX⁴. La deficiencia congénita de factor IX se puede clasificar como grave (actividad del factor IX <1%), moderada (actividad del factor IX entre 1 y 5%) o leve (actividad del factor IX entre 5 y 40%)⁵.

La actividad del factor IX en plasma del paciente se determina *in vitro* mediante el uso de una prueba de tiempo de tromboplastina parcial activada (TPPA) modificada. El plasma del paciente se diluye, se mezcla con plasma deficiente en factor IX y, a continuación, se realiza una prueba de TPPA. El resultado se interpola mediante una curva de referencia generada con diluciones de plasma calibrador mezclado con plasma deficiente en factor IX. La corrección del

tiempo de coagulación del plasma deficiente es proporcional al nivel de actividad del factor IX en el plasma del paciente.

Reactivos

A. Descripción:

Plasma con inmunodepleción de factor IX congelado con una actividad residual de factor IX inferior al 1%. Los factores de coagulación restantes tienen actividades de $\geq 50\%$ y el fibrinógeno es $\geq 1,5$ g/l.

Envase con 25 viales de 1 ml de plasma deficiente en factor IX,

Ref. de producto FRDP090125

O

Envase con 5 viales de 1 ml de plasma deficiente en factor IX,

Ref. de producto FRDP090105

B. Precauciones y advertencias:

El uso de este producto está destinado a personal con formación en procedimientos de laboratorio y seguridad en el uso de sustancias con riesgo biológico potencial. Este producto contiene material de origen humano. Todas las unidades de plasma utilizadas en la preparación de este producto han sido analizadas mediante métodos aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA), y se ha comprobado que no son reactivas para el antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg) y que son negativas para la presencia del virus de inmunodeficiencia humana (VIH-1/2, ADNr), así como para la hepatitis C (HCV). Dado que no existe ninguna prueba que pueda asegurar totalmente que los productos derivados de sangre humana no transmitan enfermedades infecciosas, este producto se debe manipular como material potencialmente infeccioso. El desecho de materiales se debe realizar de acuerdo a la normativa local vigente.

C. Preparación y manipulación de los reactivos:

Descongele cada vial de 1 ml sumergiéndolo en un baño de agua a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 5 minutos. Inviértalo con suavidad antes de utilizarlo.

D. Conservación y estabilidad:

Cuando se conservan a una temperatura de $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ o inferior, los viales permanecen estables hasta la fecha de caducidad indicada. Una vez descongelado, el plasma es estable durante 4 horas sobre el mostrador ($15\text{ }^{\circ}\text{C}$ - $19\text{ }^{\circ}\text{C}$) u 8 horas entre $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ en el vial original. El material descongelado se debe desechar después de su utilización y no se debe volver a congelar.

Toma y preparación de muestras

La sangre se recoge mediante tubos anticoagulantes que contienen citrato sódico al 3,2% en una proporción de 9 volúmenes de sangre por cada volumen de anticoagulante, y se mezcla suavemente mediante inversión. Si desea obtener más información sobre la toma de muestras y su manipulación y conservación, consulte las indicaciones H21-A5 de CLSI "Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays".⁶

Procedimiento

A. Material necesario (no suministrado)

Baño de agua

Instrumental de coagulación o sistema de pruebas

Reactivos del análisis, como reactivo TPPA, cloruro cálcico, tampón de Owren-Koller

Plasma calibrador (por ejemplo, plasma congelado calibrador VisuCal-F)

Plasmas de control (por ejemplo, plasmas congelados de control normal y anormal VisuCon-F)

Equipo y materiales comunes de laboratorio clínico (pipetas, tubos de plástico, etc.).

B. Procedimiento de ensayo (método manual)

Preparación de las diluciones de la curva de calibración

i) Prepare el plasma calibrador, el reactivo TPPA y el tampón del ensayo de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

ii) Prepare diluciones del plasma calibrador en tubos de plástico utilizando tampón de ensayo para generar una curva de calibración de 5 puntos

Page 8 of 12

correspondiente a valores de 100% a 6,25%, como se indica en la tabla siguiente:

Dilución	% de factor IX*	Volumen de plasma calibrador	Volumen de tampón
1/10	100%	100 μl	900 μl
1/20	50%	500 μl de dilución 1/10	500 μl
1/40	25%	500 μl de dilución 1/20	500 μl
1/80	12,5%	500 μl de dilución 1/40	500 μl
1/160	6,25%	500 μl de dilución 1/80	500 μl

*Consulte en certificado de análisis del fabricante el nivel de actividad de factor IX específico del lote de plasma calibrador.

Preparación de las diluciones de plasma del análisis

Diluya todas las muestras de plasma del análisis en una proporción 1/10 y 1/20 en tubos de plástico utilizando tampón de ensayo. Es posible que se necesiten diluciones adicionales si los resultados se encuentran fuera del rango de lectura de la curva de calibración, o si los resultados del análisis no son paralelos a ella.⁷

Método de análisis (manual)

Todas las diluciones de plasma de análisis y de calibración se deben analizar inmediatamente después de su preparación. En una cubeta o un tubo de ensayo calentados a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, añada lo siguiente:

- 100 μl de plasma deficiente en factor IX VisuDep-F
- 100 μl de dilución de plasma calibrador o muestra de análisis diluida

Mezcle e incube durante 1 minuto a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ y, a continuación, añada:

- 100 μl de reactivo TPPA (precalentada a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$)

Mezcle e incube durante 3-5 minutos a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ y, a continuación, añada:

- 100 μl de cloruro cálcico (precalentada a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$)

Ponga en marcha un temporizador en el mismo momento de añadir el cloruro cálcico a la mezcla de plasma y registre el tiempo que tarda en formarse el coágulo.

Resultados

Utilice papel de gráficos de registro para trazar los tiempos de coagulación de las diluciones de plasma calibrador en el eje y en relación a la actividad del factor IX correspondiente en el eje x. Trace la línea de calibración que mejor se ajuste. Interpole los niveles de factor IX de las muestras de análisis de esta curva de calibración y multiplique por el factor de dilución correspondiente. En las condiciones descritas aquí, una muestra diluida en una proporción 1/10 tendrá un factor de dilución de 1, y una dilución de 1/20 tendrá un factor de dilución de 2. Si el valor de factor IX del plasma calibrador no es el 100%, será necesario multiplicar el resultado del análisis por el factor de corrección correspondiente. Por ejemplo, si el nivel de factor IX del plasma calibrador es 105%, multiplique los resultados del análisis de la muestra por 1,05 para obtener el resultado correcto.

Método de análisis automático

Los ensayos de actividad de factor se pueden realizar mediante instrumental de coagulación semiautomático o automático con programas integrados para generar la curva de calibración y calcular los resultados del análisis del plasma. Consulte las instrucciones específicas para el procedimiento de ensayo en el manual del usuario del instrumental de coagulación.

Control de calidad

Para asegurar la exactitud de los resultados, se deben analizar periódicamente los plasmas de control normal y anormal, como los controles normal y anormal congelados VisuCon-F. Cada laboratorio debe determinar y mantener sus propios parámetros de control de calidad para cada sistema de reactivos/instrumental concreto utilizado. Si no se obtienen valores de control adecuados, evalúe los componentes del sistema de ensayo como, por ejemplo, reactivos, plasma sustrato, plasma calibrador o instrumental, para identificar posibles fuentes de error.

Resultados

Los resultados de las muestras de análisis y los plasmas de control se pueden calcular de la manera indicada anteriormente o mediante el programa de software del instrumental de coagulación. Compruebe que los valores obtenidos de los plasmas de control se encuentran dentro de los rangos establecidos. Si los resultados de control están fuera del rango, los valores de actividad de factor IX obtenidos de las muestras del análisis se deberán considerar sospechosos.

Limitaciones del procedimiento

Una manipulación incorrecta de las muestras, como un llenado insuficiente de los tubos de recogida, la contaminación de los tubos de recogida o el uso de un tipo de anticoagulante incorrecto, puede falsear los resultados del análisis. Utilice solo muestras de plasma recogidas en tubos anticoagulantes con citrato sódico⁶. Se debe evitar el uso de muestras coaguladas, hemolizadas, ictéricas o lipémicas. No utilice tubos de cristal para preparar diluciones de plasma, ya que el cristal puede activar la cascada de coagulación⁷⁻⁸. La presencia del anticoagulante de lupus en el plasma de análisis puede afectar a la actividad del factor indicado.

Valores esperados

El rango normal de factor IX publicado en la literatura es generalmente 55-163%⁹, aunque cada laboratorio debe determinar un rango normal de manera independiente. Los resultados medidos en 100 individuos sanos indican un rango de referencia normal de factor IX de 75-159%.

Características de rendimiento

PRECISIÓN:

Se evaluó la precisión dentro de cada tanda, entre días, entre tandas y dentro del dispositivo, de tres lotes de plasma deficiente en factor IX congelado VisuDep-F mediante STA[®] PTT-Automate en un sistema STA Compact. Se analizaron plasmas de control normal y anormal por duplicado 2 veces al día durante 20 días, de acuerdo a las indicaciones EP5-A2¹⁰ de CLSI. Los coeficientes de variación (% CV) obtenidos en estos estudios de precisión se indican en la tabla siguiente.

	Dentro de cada tanda	Entre días	Entre tandas	Dentro del dispositivo
Normal	6,0 – 7,4 %	5,1 – 6,4 %	4,1 – 6,8 %	8,8 – 11,9 %
Anormal	4,0 – 5,1 %	5,2 – 5,9 %	7,0 – 7,8 %	9,6 – 10,7 %

COMPARACIÓN DE MÉTODOS:

En un estudio comparativo de métodos, se analizaron 120 muestras con factor IX entre <1% y niveles normales utilizando plasma deficiente en factor IX congelado VisuDep-F y plasma deficiente en factor IX de Precision Biologic como método de referencia. El coeficiente de correlación (r) de este estudio fue 0,991 ($R^2 = 0,982$, $y = 0,956x + 2,589$).

VisuDep™-F Bevroren factor IX-deficiënt plasma

Productnummer: FRDP090125
FRDP090105



Bewaren bij of beneden -60°.

Voor *in-vitro*diagnostiek.

Beoogd gebruik

NEDERLANDS

Het VisuDep-F bevroren factor IX-deficiënte plasma is bedoeld voor gebruik bij de kwantitatieve bepaling van factor IX-activiteit in citraatplasma met een op stolselvorming berustende test.

Samenvatting en principe

Factor IX (Christmasfactor) is een vitamine K-afhankelijke glycoproteïne die circuleert in plasma met een concentratie van 5 µg/ml.¹ Factor IX bevat twee EGF-achtige domeinen en een aminoterminaal domein met 12 γ-carboxyglutaminezuurrestiduen (Gla). Deze Gla-residuen stellen Factor IX in staat om divalente metaalionen te binden en deel te nemen aan calciumafhankelijke bindingsinteracties.¹ Factor IX kan worden geactiveerd via beperkte proteolyse bij aanwezigheid van calcium door geactiveerde Factor XI en/of via het extrinsieke coagulatiep道 door een complex van VII^a/weefsel factor/fosfolipide en geactiveerde Factor X.^{1,2} Geactiveerde Factor IX, samen met Factor VIIIa, calciumionen en een fosfolipidemembraan, converteert Factor X naar Xa, waardoor uiteindelijk een fibrinestolsel wordt gevormd.³ Het biologische belang van Factor IX wordt aangetoond bij hemofilie B (Christmasziekte), een aan het X-chromosoom gekoppelde aangeboren bloedingsziekte die ontstaat door een kwantitatieve (geringe activiteit en weinig antigenen) of kwalitatieve (geringe activiteit en normaal antigenen) verstoring van de werking van Factor IX.⁴ Het aangeboren tekort aan Factor IX kan worden geclassificeerd als ernstig (<1% Factor IX-activiteit), middelernstig (tussen 1 en 5% Factor IX-activiteit) of licht (tussen 5 en 40% Factor IX-activiteit).⁵ Factor IX-activiteit in patiëntenplasma wordt *in vitro* vastgesteld via het gebruik van een aangepaste APTT-test (geactiveerde partiële tromboplastinetijd). Patiëntenplasma wordt verdund en gemengd met plasma met een tekort aan Factor IX, waarna een APTT-test wordt uitgevoerd. Het resultaat wordt geïnterpoleerd met behulp van een referentiecurve die wordt gegenereerd met verdunningen van kalibratieplasma dat is gemengd met het plasma dat een tekort aan Factor IX vertoont. Correctie van de stollingstijd van het deficiënte plasma is evenredig aan het activiteitsniveau van Factor IX in het patiëntenplasma.

Reagentia

A. Beschrijving:

Bevroren plasma dat immunologisch is ontdaan van factor IX met een restactiviteit van factor IX van < 1%. De activiteit van de overige stollingsfactoren is ≥ 50% en de concentratie van fibrinogeen is ≥ 1,5 g/l.

Een doos met 25 x 1 ml flacon met bevroren factor IX-deficiënt plasma,

Productnummer FRDP090125

OF

Een doos met 5 x 1 ml flacon met bevroren factor IX-deficiënt plasma,

Productnummer FRDP090105

B. Voorzorgsmaatregelen en waarschuwingen:

Dit product is bedoeld voor gebruik door personeel dat is opgeleid in laboratoriumprocedures en algemeen geldende voorzorgsmaatregelen voor het gebruik van stoffen die mogelijk een biologisch risico inhouden. Dit product bevat materiaal van menselijke oorsprong. Elke eenheid bronplasma die wordt gebruikt bij de vervaardiging van dit product is getest met door de FDA goedgekeurde methoden en vertoont geen reactie met het hepatitis B-oppervlakte-antigeen (HbsAg), bleek negatief op de aanwezigheid van het humaan immunodeficiëntievirus (HIV-1/2, rDNA) alsook voor hepatitis C (HCV). Aangezien geen enkele test volledige zekerheid kan geven dat producten die afkomstig zijn van menselijk bloed geen infectieziekten zullen overdragen, moet dit product worden behandeld als mogelijk infectieus materiaal. De verwijdering van afvalstoffen, moet worden uitgevoerd volgens de geldende lokale voorschriften.

C. Klaarmaken/behandeling van het reagens:

Ontdooi elke 1 ml flacon gedurende 5 minuten in een waterbad van 37°C ± 1°C. Voorzichtig omkeren voor gebruik.

D. Bewaring en stabiliteit:

De flacons zijn stabiel tot de erop vermelde uiterste gebruiksdatum wanneer ze worden bewaard bij of beneden -60°C. Na ontdooiing is plasma 4 uur land stabiel bij kamertemperatuur (15-19°C) of 8 uur bij 2-8°C in de oorspronkelijke flacon. Ontdooid materiaal moet na ingebruikname worden weggedaan en moet niet opnieuw worden bevroren.

Afname en preparatie van het monster

Het bloed wordt afgenomen in een buis met 3,2% natriumcitraat als antistollingsmiddel in een verhouding van 9 volume-eenheden bloed op 1 volume-eenheid oplossing met antistollingsmiddel en wordt gemengd door voorzichtige omkering. Raadpleeg de CLSI-richtlijn H21-A5 "Afname, vervoer en verwerking van bloedmonsters voor het uitvoeren van op plasma gebaseerde stollingstesten en moleculaire hemostasetesten" voor verdere informatie over het afnemen, behandelen en bewaren van monsters.⁶

Procedure

A. Benodigd materiaal (maar niet meegeleverd)

Waterbad

Instrument of testsysteem voor de stollingsbepaling

Testreagentia, bijv. APTT-reagens, calciumchloride, Owren-Koller buffer

Kalibratieplasma (bijv. VisuCal-F bevroren kalibratieplasma)

Controleplasma (bijv. VisuCon-F bevroren normaal en afwijkend controleplasma)

Gebruikelijke klinische laboratoriumbenodigdheden en materiaal (pipetten, kunststof buizen, etc.)

B. Testprocedure (handmatige methode)

Klaarmaken van de verdunningen voor de kalibratiecurve

i) Maak het kalibratieplasma, het APTT-reagens en de testbuffer klaar volgens de instructies van de fabrikant.

ii) Maak in kunststof buizen met de testbuffer verdunningen van het kalibratieplasma klaar om op basis daarvan een 5-punts kalibratiecurve te construeren die correspondeert met factor IX percentages van 100% tot 6,25%, zoals aangegeven in de volgende tabel:

Verdunning	% factor IX *	Hoeveelheid kalibratieplasma	Hoeveelheid buffer
1/10	100%	100 µl	900 µl
1/20	50%	500 µl van een verdunning van 1/10	500 µl
1/40	25%	500 µl van een verdunning van 1/20	500 µl
1/80	12,5%	500 µl van een verdunning van 1/40	500 µl
1/160	6,25%	500 µl van een verdunning van 1/80	500 µl

*Raadpleeg het analysecertificaat van de fabrikant voor de mate van factor IX-activiteit van het kalibratieplasma die specifiek is voor de partij.

Klaarmaken van de testplasmaverdunningen

Verdin in kunststof buizen alle testplasmamonsters 1/10 en 1/20 met de testbuffer. Er kunnen aanvullende verdunningen nodig zijn als de gerapporteerde resultaten buiten het afleesbare bereik van de kalibratiecurve liggen of als de testuitslagen niet corresponderen met de kalibratiecurve.⁷

Testmethode (handmatig)

Alle kalibratieplasma- en testplasmaverdunningen moeten onmiddellijk nadat ze zijn klaargemaakt worden getest. Voeg het volgende toe aan een testbuis of cuvette die is opgewarmd tot 37 °C ± 1 °C:

- 100 µl VisuDep-F Factor IX-deficiënt plasma
- 100 µl van een kalibratieplasmaverdunning of verdund testmonster

Meng en incubeer gedurende 1 minuut op 37 °C ± 1 °C; voeg toe:

- 100 µl APTT-reagens (voorverwarmd tot 37 °C ± 1 °C)

Meng en incubeer gedurende 3-5 minuten op 37 °C ± 1 °C; voeg toe:

- 100 µl calciumchloride (voorverwarmd tot 37 °C ± 1 °C)

Start een timinginstrument op het moment dat de calciumchloride wordt toegevoegd aan het plasmamengsel en registreer hoe lang het duurt voordat er propvorming optreedt.

Resultaten

Pas op dubbellogaritmisch papier de stollingstijden voor de kalibratieplasmaverdunningen af op de y-as en de corresponderende percentages voor de factor IX-activiteit op de x-as. Trek de best passende kalibratielij. Interpoleer op basis van deze kalibratiecurve de mate van factor IX-activiteit van de testmonsters en vermenigvuldig die met de aangewezen verdunningsfactor. Onder de hier beschreven condities heeft een testmonster dat 1/10 is verdund een verdunningsfactor van 1 en een verdunning van 1/20 een verdunningsfactor van 2. Daarnaast moet het testmonsterresultaat als de factor IX-waarde voor het kalibratieplasma niet 100% is, worden vermenigvuldigd met de aangewezen correctiefactor. Als het percentage factor IX van het kalibratieplasma bijvoorbeeld 105% is, vermenigvuldig de testmonsterresultaten dan met 1,05 om het gecorrigeerde resultaat te verkrijgen.

Automatische testmethode

Testen voor factoractiviteit kunnen worden verricht met semi-automatische of automatische instrumenten voor stollingsbepaling die zijn uitgerust met programma's voor het construeren van de kalibratiecurve en het berekenen van testplasmaresultaten. Raadpleeg de gebruikershandleiding van het instrument voor de stollingsbepaling voor specifieke instructies voor de testprocedure.

Kwaliteitscontrole

Ter verzekering van de nauwkeurigheid van de resultaten moet regelmatig normaal en afwijkend controleplasma, zoals VisuCon-F bevroren normaal en afwijkend controleplasma, worden getest. Elk laboratorium moet voor elk individueel instrument-reagenssysteem dat wordt gebruikt de eigen normaalwaarden voor kwaliteitscontrole vaststellen en onderhouden. Als er geen juiste controlewaarden worden verkregen, onderzoek dan de componenten van het testsysteem, inclusief reagentia, substraatplasma, kalibratieplasma of instrumentatie om te proberen mogelijke bronnen van fouten op te sporen.

Resultaten

De resultaten voor de testmonsters en controleplasma kunnen als hierboven beschreven worden berekend of anders door het softwareprogramma van het instrument voor de stollingsbepaling. Zorg ervoor dat de waarden die voor het controleplasma worden verkregen zich bevinden binnen de vastgestelde normaalwaarden. Als de controleresultaten buiten de normaalwaarden vallen, moeten de waarden voor de factor IX-activiteit die zijn verkregen voor de testmonsters als verdacht worden beschouwd.

Beperkingen van de procedure

Onjuiste behandeling van monsters, zoals onvoldoende vulling van afnamebuizen, verontreiniging van afnamebuizen of een onjuist type stollingsmiddel, kan leiden tot foutieve monsterresultaten. Gebruik alleen plasmamonsters die zijn afgenomen in een buis met natriumcitraat als antistollingsmiddel.⁶ Monsters waarin stolling of hemolyse is opgetreden, die icterisch of lipemisch zijn, moeten niet worden gebruikt. Gebruik geen glazen buizen voor het klaarmaken van de plasmaverdunningen omdat glas de stollingscascade kan activeren.⁷⁻⁸ De aanwezigheid van lupus antistollingsmiddel in testplasma kan van invloed zijn op de gerapporteerde factoractiviteit.

Verwachte waarden

Naar wordt vermeld in de literatuur liggen de normaalwaarden voor factor IX gewoonlijk tussen 55 en 163%,⁹ ieder laboratorium moet echter onafhankelijk de normaalwaarden bepalen. De resultaten die zijn gevonden bij 100 gezonde personen geven aan dat de referentiewaarden voor factor IX normaliter tussen 75 en 159% liggen.

Betrouwbaarheidskenmerken

REPRODUCEERBAARHEID:

De reproduceerbaarheid binnen runs, tussen dagen, tussen runs en binnen instrument zijn onderzocht voor drie partijen van VisuDep-F bevroren factor IX deficiënt plasma bij gebruik van STA[®] PTT-Automate op een STA Compact. Normaal en afwijkend controleplasma werd 2 keer per dag gedurende 20

dagen in tweevoud getest in overeenstemming met de CLSI-richtlijn EP5-A2¹⁰. De variatiecoëfficiënten (% CV) die in dit reproduceerbaarheidsonderzoek zijn verkregen, zijn in de tabel hieronder weergegeven.

	Binnen runs	Tussen dagen	Tussen runs	Binnen instrument
Normaal	6,0 - 7,4 %	5,1 - 6,4 %	4,1 - 6,8 %	8,8 - 11,9 %
Afwijkend	4,0 - 5,1 %	5,2 - 5,9 %	7,0 - 7,8 %	9,6 - 10,7 %


METHODEVERGELIJKING:


In een methodevergelijkingsonderzoek zijn 120 testmonsters met factor IX, waarvan de percentages varieerden tussen <1% en normaal, getest met behulp van VisuDep-F bevroren factor IX-deficiënt plasma en factor IX-deficiënt plasma van Precision Biologics als referentiemethode. De in dit onderzoek genoemde correlatiecoëfficiënt bedroeg 0,991 ($R^2 = 0,982$, $y = 0,956x + 2,589$).


**Bibliography/ Bibliographie /
Bibliografia / Bibliographie /
Bibliografía / Bibliografie**


1. Limentani SA, Furie BC, Furie B, in Hemostasis and Thrombosis, 3rd Edition, eds. RW Colman, J Hirsh, VJ Marder and EW Salzman, pp. 94-108, J.B. Lippincott Co., Philadelphia PA, USA, 1994.
2. Lawson JH, Mann KG; Cooperative Activation of Human Factor IX by the Human Extrinsic Pathway of Coagulation; JBC 266 pp11317-11327, 1991.
3. van Hylckama Vlieg A, van der Linden IK, Bertina RM, Rosendaal FR. High levels of Factor IX increase the risk of venous thrombosis, *Blood*, 2000, 95:12, pp. 3678-3682.
4. Brettler DB, Levine PH, "Clinical Manifestations and Therapy of Inherited Coagulation Factor Deficiencies" in Hemostasis and Thrombosis, 3rd Edition, eds. RW Colman, J Hirsh, VJ Marder and EW Salzman, pp. 169-183, J.B. Lippincott Co., Philadelphia PA, USA, 1994.
5. White GC, Rosendaal F, Aledort LM, Lusher JM, Rothschild C, Ingerslev J. Definitions in Hemophilia, 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, *Thrombosis and Haemostasis*, 2001, 85, p. 560.
6. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and General performance of Coagulation Assays; Approved Guideline—Fifth Edition. CLSI Document H21-A5, Vol. 28, No. 5. 2008.
7. "Determination of Coagulation Factor Activities Using the One-Stage Clotting Assay", H48, 2nd edition, CLSI, March 2016.
8. "One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test", Approved Guideline, Second Edition, H47-A2, CLSI, Vol. 28, No. 20, 2008.
9. Andrew, M, Schmidt, B, in Hemostasis and Thrombosis, 3rd Edition, eds. RW Colman, J Hirsh, VJ Marder and EW Salzman, pp. 991-992, J.B. Lippincott Co., Philadelphia, 1994.
10. "Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods" Approved Guideline, Second Edition, EP5-A2, CLSI, Vol. 24, No. 25, 2004.
11. "Medical Devices. Symbols to be used with medical device labels, labeling and information to be supplied. General Requirements", EN ISO 15223-1:2016, European Committee for Standardization, 2016.


**SYMBOL LEGEND/ LEGENDE DES SYMBOLES/ LEGENDA DEI
SIMBOLI/ SYMBOL LEGENDE/ LEYENDAS DE SÍMBOLOS /
VERKLARING VAN DE SYMBOLEN 11**


 For in vitro diagnostic use / Pour utilisation diagnostique in vitro / Per uso diagnostico in vitro / für In-Vitro-Diagnose / Para uso en diagnóstico in vitro / Voor in-vitrodiagnostiek


 Batch code / Code du lot / Codice lotto / Chargencode / Código de lote / Partnummer


 Authorized Representative / Représentant agréé / Rappresentante autorizzato / Autorisierter Vertreter / Representante autorizado / Gemachtigde Vertegenwoordiger


 Expiry date / Date d'expiration / Data di scadenza / Verfallsdatum / Fecha de caducidad / Vervaldatum

 Catalogue Number / Référence du catalogue / Numero di catalogo/ Katalognummer / Número de catálogo / Catalogusnummer

 Upper limit of temperature / Limite supérieure de température / Limite superiore di temperatura / Oberer Temperaturgrenwert / Limite superior de temperatura / Bovenste temperatuurbegrenzing

 Manufacturer/ Fabricant / Produttore / Hersteller / Fabricante / Fabrikant

 Consult instructions for use / Consulter le mode d'emploi / Consultare le istruzioni per l'uso / Gebrauchsanleitung konsultieren / Consultar las instrucciones de uso / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing

 Biological Risks / Risques biologiques / Rischio Biologico / Biologische Risiken / Riesgos biológicos / Biologisch risico

Limited Warranty:

This product is warranted to perform in accordance with its labeling and literature. Affinity Biologicals Inc. disclaims any implied warranty of merchantability or fitness for any other purposes, and in no event will Affinity Biologicals Inc. be liable for any consequential damages arising out of aforesaid express warranty.

Limite de garantie : ce produit est garanti pour une utilisation conforme à son étiquetage et à la documentation qui l'accompagne. Affinity Biologicals Inc. n'offre aucune garantie implicite quant à l'adéquation de ce produit à tout autre usage ou à la commercialisation, et Affinity Biologicals Inc. ne pourra en aucun cas être tenue responsable de dommages indirects survenant dans le cadre de la garantie expresse susmentionnée.

Limiti della garanzia: le prestazioni di questo prodotto sono garantite in base a quanto indicato sull'etichetta e in letteratura. Affinity Biologicals Inc. non riconosce alcuna garanzia implicita di commerciabilità o idoneità per altri scopi e in nessun caso sarà responsabile per eventuali danni conseguenti derivanti da cause non espressamente specificate nella garanzia.

Eingeschränkte Gewährleistung: Für dieses Produkt wird eine Gewährleistung entsprechend Kennzeichnung und Fachliteratur zugesichert. Affinity Biologicals Inc. lehnt jede indirekte Haftung für die Eignung zu einem bestimmten Zweck oder die Handelbarkeit ab; in keinem Fall haftet Affinity Biologicals Inc. für Folgeschäden, die aus der oben erwähnten ausdrücklichen Gewährleistung entstehen.

Garantía limitada: Se garantiza el rendimiento de este producto de conformidad con su etiquetado y bibliografía. Affinity Biologicals Inc. renuncia a cualquier garantía implícita de comercialización o adaptación para cualquier otro fin, y no se responsabilizará bajo ninguna circunstancia de daño consecucional alguno, excepto en los casos recogidos en la garantía expresa anterior.

Beperkte garantie: Bij dit product wordt de garantie afgegeven dat het zal functioneren in overeenstemming met de betreffende etikettering en documentatie. Affinity Biologicals Inc. wijst elke geïmpliceerde garantie van verkoopbaarheid of geschiktheid voor een ander doel van de hand en Affinity Biologicals Inc. zal in geen geval juridisch aansprakelijk zijn voor enige vorm van gevolgschade die ontstaat onder de eerder vermelde uitdrukkelijke garantie.



AFFINITY BIOLOGICALS INC.
1348 Sandhill Drive
Ancaster, ON, CANADA L9G 4V5
Tel: (905) 304-9896
(800) 903-6020
Fax: (905) 304-9897
info@affinitybiologicals.com



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands