

VisuDep™-F Frozen Factor X Deficient Plasma

Product #: FRDP100125
FRDP100105



Store at -60°C or lower.

For *in vitro* diagnostic use.

Intended Use

ENGLISH

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

Summary and Principle

Factor X (FX) is a vitamin K-dependent glycoprotein produced in the liver with a plasma concentration of approximately 170 nM. Factor X is expressed as a two-chain molecule with a molecular weight of 59 kDa. The light chain contains a calcium-binding domain consisting of one hydroxy-aspartic acid and 11 γ-carboxyglutamic acid (gla) residues. These residues allow FX to bind to membranes that contain acidic phospholipids in a calcium dependent manner. The heavy chain consists of the catalytic domain, carbohydrate and the activation peptide. Activation of FX to the active enzyme, FXa, results from cleavage at residue Arg⁵² in the heavy chain by a complex of F.IXa, cofactor VIIIa, calcium and negatively charged phospholipid surface (the tenase complex), or by the F.VIIa-tissue factor complex. The FXa generated is a serine protease responsible for the activation of prothrombin to thrombin in the presence of a phospholipid membrane, calcium and cofactor Va. The activity of FXa in plasma is inhibited by antithrombin (ATIII), α₂antitrypsin, α₂macroglobulin and tissue factor pathway inhibitor (TFPI).¹⁻³

Congenital deficiencies of Factor X are rare and are characterized by prolonged prothrombin (PT) and partial thromboplastin times (APTT). Reduced plasma levels of Factor X are observed in patients receiving oral anticoagulant therapy such as warfarin or in patients with vitamin K deficiency or liver disease.⁴

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

Reagents

A. Description:

Frozen Factor X immune-depleted plasma with residual Factor X 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 X deficient plasma,

Product # FRDP100125

OR

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

Product # FRDP100105

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 8 hours on-board (15-19°C) or at 2-8°C in the 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.⁵

Procedure

A. Materials Required (but not provided)

Waterbath

Coagulation Instrument or assay system

Assay reagents e.g. thromboplastin with added calcium chloride, Owren-Koller 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, thromboplastin 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 X*	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 X 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.⁶

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 X deficient plasma
 - 100 µl of calibrator plasma dilution or diluted test sample
- Mix and incubate for 2 minutes at 37°C ± 1°C then add:
- 200 µl of thromboplastin (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 X activity on the x-axis. Draw the best-fit calibration line. Interpolate the Factor X 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 X 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 X 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 X 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.⁵ 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.⁶⁻⁷

Expected Values

The normal range for Factor X as reported in the literature is typically 70-152%⁸, however, each laboratory should determine a normal range independently. Results measured in 100 healthy individuals indicate a Factor X normal reference range of 80 – 161% (Mean 114%, SD = 20.5).

Performance Characteristics

PRECISION:

Within-run, between day, between-run and within device precision were assessed for three lots of the VisuDep-F Frozen Factor X Deficient Plasma using STA[®] Neoplastine CI+ 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-A2⁹. 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	3.0 – 5.4%	2.7 – 4.4%	0 – 2.6%	5.0 – 7.0%
Abnormal	2.4 – 2.9%	2.4 – 3.4%	2.0 – 3.2%	4.2 – 5.2%

METHOD COMPARISON:

In a method comparison study, 161 test samples containing Factor X ranging from <1% to normal levels were tested using the VisuDep-F Frozen Factor X Deficient Plasma and Precision Biologic's Factor X Deficient Plasma as the reference method. The correlation co-efficient (r) reported in this study was 0.997 (R² = 0.994, y = 1.0086x + 0.2044).

VisuDep™-F Plasma congelé déficient en facteur X

Réf. produit: FRDP100125
FRDP100105



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

Résumé et principe

Le facteur X (FX) est une glycoprotéine vitamine K-dépendante produite dans le foie et dont la concentration plasmatique est de l'ordre de 170 nM. Le facteur X se présente sous la forme d'une molécule à deux chaînes d'un poids moléculaire de 59 kDa. La chaîne légère contient un domaine de liaison au calcium constitué d'un résidu d'acide hydroxy-aspartique et de 11 résidus d'acide gamma-carboxyglutamique (gla). Ces résidus permettent la liaison calcium-dépendante du facteur FX aux membranes qui contiennent des phospholipides acides. La chaîne lourde est constituée du domaine catalytique, d'hydrate de carbone et du peptide d'activation. L'activation du facteur FX en enzyme active FXa est le résultat de la segmentation au niveau du résidu Arg⁵² dans la chaîne lourde par un complexe facteur IXa/cofacteur VIIIa/calcium/surface phospholipide chargée négativement (complexe tenase) ou par le complexe facteur VIIa/facteur tissulaire. La FXa produite est une protéase sérine responsable de l'activation de la prothrombine en thrombine en présence d'une membrane phospholipide, de calcium et du cofacteur Va. L'activité de la FXa dans le plasma est inhibée par l'antithrombine (ATIII), l' α 1-antitrypsine, l' α 2-macroglobuline et l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI).¹⁻³

La carence congénitale en facteur X est très rare et se caractérise par une prolongation du temps de Quick (PT) et du temps de céphaline activée (APTT). On observe une réduction du taux plasmatique de facteur X chez les patients qui suivent un traitement anticoagulant par voie orale tel que la warfarine ou chez les patients présentant une carence en vitamine K ou une maladie hépatique.⁴

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

Réactifs

A. Description:

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

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

Réf. produit FRDP100125

OU

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

Réf. produit FRDP100105

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-aphérese destiné au fractionnement utilisée dans la préparation de ce produit a été

testée par des méthodes approuvées par la FDA et confirmée négative pour l'HBsAg, la syphilis et les anticorps dirigés contre les virus HIV et HCV et non réactive à l'ARN du HIV-1 et à l'ARN du 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 8 heures sur l'instrument (entre 15 et 19 °C) ou 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.⁵

Procédure

A. Matériel requis (mais non fourni)

Bain-marie

Appareil de coagulation ou système d'étalonnage

Réactifs d'étalonnage (ex. : thromboplastine additionnée de 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 à la thromboplastine 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 X*	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 X 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.⁶

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 X VisuDep-F
- 100 µl de dilution de plasma étalon ou d'échantillon de plasma dilué

Mélanger, laisser incuber pendant 2 minutes à une température de 37 °C ± 1 °C, puis ajouter :

- 200 µl de thromboplastine (préchauffée à 37 °C ± 1 °C)

Déclencher un minuteur immédiatement après avoir ajouté le réactif à la thromboplastine 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 X correspondant sur l'axe X. Tracer la courbe d'étalonnage. Déduire les niveaux de facteur X 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 X 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 X 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 X 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.⁵ 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.⁶⁻⁷

Valeurs attendues

La plage normale pour le facteur X telle qu'indiquée dans la documentation est comprise entre 70 et 152 %⁸. 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 X comprise entre 80 et 161 % (moyenne 114 %, écart-type = 20,5).

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 X VisuDep-F en utilisant STA® Neoplastine Cl+ 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-A2⁹. 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	3,0 - 5,4%	2,7 - 4,4%	0 - 2,6%	5,0 - 7,0%
Anormale	2,4 - 2,9%	2,4 - 3,4%	2,0 - 3,2%	4,2 - 5,2%

COMPARAISON DES MÉTHODES:

Dans une étude comparative de méthode, 161 échantillons contenant du facteur X présentant une activité allant de <1 % à des niveaux normaux ont été testés en utilisant du plasma congelé déficient en facteur X VisuDep-F et un plasma déficient en facteur X de Precision Biologic comme méthode de référence. Le coefficient de corrélation (r) indiqué dans cette étude était de 0,997 ($R^2 = 0,994$, $y = 1,0086x + 0,2044$).

VisuDep™-F Plasma con carenza di Fattore X congelato

N. prodotto: FRDP100125
FRDP100105



Conservare a -60 °C o meno.

Per uso diagnostico *in vitro*.

Uso previsto

ITALIANO

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

Riepilogo e principio

Il Fattore X (FX) è una glicoproteina vitamina-K dipendente sintetizzata dal fegato e caratterizzata da una concentrazione del plasma pari a circa 170 nM. Il Fattore X è espresso come una molecola a doppia catena con un peso molecolare di 59 kDa. La catena leggera contiene un dominio legante-calco formato da un acido idrodico-aspartico e da 11 residui di acido γ -carbossilglutammico (Gla). Tali residui consentono a FX di legarsi alle membrane che contengono fosfolipidi acidi in maniera dipendente dal calcio. La catena pesante è costituita dal dominio catalitico, dal carboidrato e dal peptide di attivazione. L'attivazione di FX per l'enzima attivo, FXa, deriva dal cleavage effettuato all'Arg⁵² residuo nella catena pesante mediante un complesso di F.IXa, cofattore VIIIa, calcio e una superficie fosfolipidica caricata negativamente (il complesso della tenasi) o mediante il complesso del fattore tissutale F.VIIa. Il FXa generato è una serin proteasi responsabile dell'attivazione della protrombina per la trombina in presenza di una membrana fosfolipidica, di calcio e di un cofattore Va. L'attività di FXa nel plasma è inibita dall'antitrombina (ATIII), dall' α_1 antitripsina, dall' α_2 macroglobulina e dall'inibitore del fattore tissutale (TFPI).¹⁻³

Le patologie congenite del Fattore X sono rare e sono caratterizzate da tempo prolungato di protrombina (PT) e tempo di tromboplastina parziale attivata (APTT). I livelli ridotti di plasma nel Fattore X si osservano nei

pazienti sottoposti a terapia anticoagulante orale quale il warfarin o nei pazienti affetti da carenza della vitamina K o patologie al fegato.⁴

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

Reagenti

A. Descrizione

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

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

Prodotto n. FRDP100125

OPPURE

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

Prodotto n. FRDP100105

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. Ciascuna delle unità di plasma utilizzate per la preparazione del prodotto è stata testata ed è risultata negativa per la sifilide, HbsAg e per gli anticorpi dell'HIV e dell'HCV e non reattiva per l'HIV-1-rNA e HCV rNA, secondo i metodi approvati dalla FDA. 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 rimane stabile per 8 ore nel sistema a 2-8 °C o 15-19 °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).⁵

Procedura

A. Materiali necessari (ma non forniti)

Bagno d'acqua

Strumento di coagulazione o sistema di dosaggio

Reagenti per analisi, ad esempio tromboplastina con aggiunta di 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 con tromboplastina 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 X*	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 X 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.⁶

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 X VisuDep-F
- 100 µl di diluizione del plasma calibratore o di campione di test diluito

Miscelare e incubare per 2 minuti a 37 °C ± 1 °C quindi aggiungere:

- 200 µl di tromboplastina (preriscaldata a 37 °C ± 1 °C)

Avviare un dispositivo di temporizzazione nel momento in cui il reagente con tromboplastina 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 X percentuale corrispondente sull'asse x. Tracciare la migliore linea di calibrazione. Interpolare i livelli del Fattore X 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 X 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 X 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, il plasma di controllo, normale e anomalo come i controlli normale e anomalo 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 del 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 il plasma di controllo rientrino negli intervalli stabiliti. Se i risultati dei controlli non rientrano nell'intervallo, i valori dell'attività del Fattore X 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.⁵ 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.⁶⁻⁷

Valori previsti

L'intervallo normale per il Fattore X, come riportato in letteratura, è in genere del 70-152%⁸, 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 X normale del 80-161% (media 114%, DS = 20,5).

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 X congelato VisuDep-F usando STA[®] Neoplastine Cl+ su uno STA Compact. I plasma di controllo normali e anomali sono stati testati in duplicato 2 volte al giorno per 20 giorni in base alle linee guida CLSI EP5-A2⁹. 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	3,0 - 5,4%	2,7 - 4,4%	0 - 2,6%	5,0 - 7,0%
Anomalo	2,4 - 2,9%	2,4 - 3,4%	2,0 - 3,2%	4,2 - 5,2%

CONFRONTO TRA METODI

In uno studio di confronto tra metodi, sono stati testati 161 campioni di test contenenti Fattore X da <1% a livelli normali usando plasma con carenza di Fattore X congelato VisuDep-F e plasma con carenza di Fattore X Precision Biologic come metodo di riferimento. Il coefficiente di correlazione (r) riportato in questo studio era 0,997 (R² = 0,994, y = 1,0086x + 0,2044).

VisuDep™-F Gefrorenes Faktor X-Mangelplasma

Produktnr.: FRDP100125
FRDP100105



Bei -60 °C oder niedriger lagern.

Für *In-vitro*-Diagnose.

Bestimmungsgemäßer Gebrauch

DEUTSCH

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

Zusammenfassung und Prinzip

Faktor X (FX) ist ein Vitamin K-abhängiges Glykoprotein, das in der Leber gebildet wird und in einer Plasmakonzentration von durchschnittlich 170 nM vorliegt. Faktor X wird als zweikettiges Molekül mit einer Masse von 59 kDa exprimiert. Die leichte Kette enthält eine Calcium-bindende Domäne, bestehend aus einer Hydroxyasparaginsäure und 11 γ -Carboxyglutaminsäure (GLA)-Resten. Mit diesen Resten kann sich FX kalziumabhängig an Membranen binden, die saure Phospholipide enthalten. Die schwere Kette besteht aus der katalytischen Domäne, Kohlenhydrat und Aktivierungspeptid. Die Aktivierung von FX zum aktiven Enzym FXa erfolgt aufgrund der Spaltung am Rest Arg⁵² in der schweren Kette durch einen Komplex aus Faktor IXa, Kofaktor VIIIa, Kalzium und negativ geladener Phospholipidoberfläche (Tenasekomplex) oder durch den Tissue Factor/Faktor VIIa-Komplex. Der erzeugte FXa ist eine Serinprotease, die für die Aktivierung von Prothrombin zu Thrombin bei Vorhandensein von Phospholipidmembran, von Kalzium und dem Kofaktor Va verantwortlich ist. Die Aktivität von FXa im Plasma wird durch Antithrombin (ATIII), α_1 -Antitrypsin, α_2 -Makroglobulin und den Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI) gehemmt.¹⁻³

Ein angeborener Mangel an Faktor X ist eine seltene Störung, die durch eine verlängerte Prothrombinzeit (PT) und eine verlängerte aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) charakterisiert ist. Verringerte Plasmaspiegel des Faktors X sind bei Patienten zu beobachten, die mit oralen Antikoagulanzen wie beispielsweise Warfarin behandelt werden, bei Patienten mit Vitamin-K-Mangel oder bei Lebererkrankungen.⁴

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

Reagenzien

A. Beschreibung:

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

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

Produktnr. FRDP100125

ODER

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

Produktnr. FRDP100105

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 erwies sich als negativ auf Oberflächenantigene für Hepatitis B (HBSAg), Syphilis-Erreger und Antikörper gegen HIV und HCV und als nicht-reaktiv auf HIV-1 rNA und HCV rNA. 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 $37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ auftauen. Vor Gebrauch vorsichtig invertieren.

D. Aufbewahrung und Stabilität:

Der Inhalt der Ampullen ist bei Lagerung bei $-60 \text{ }^\circ\text{C}$ oder niedriger bis zu dem auf der Ampulle angegebenen Verfallsdatum stabil. Nach dem Auftauen bleibt das Plasma im Testsystem ($15\text{--}19 \text{ }^\circ\text{C}$) oder in der Originalampulle bei $2\text{--}8 \text{ }^\circ\text{C}$ 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“⁵.

Ablauf

A. Benötigte Materialien (nicht im Lieferumfang enthalten)

Wasserbad

Koagulationsinstrument oder Testsystem

Testreagenzien wie Thromboplastin mit beigefügtem 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, Thromboplastinreagenz 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 X*	Kalibratorplasma-Volumen	Puffervolumen
1/10	100 %	100 μ l	900 μ l
1/20	50 %	500 μ l von 1/10 Verdünnung	500 μ l
1/40	25 %	500 μ l von 1/20 Verdünnung	500 μ l
1/80	12,5 %	500 μ l von 1/40 Verdünnung	500 μ l
1/160	6,25 %	500 μ l von 1/80 Verdünnung	500 μ l

* Die chargenspezifischen Faktor-X-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.⁶

Testmethode (Manuell)

Sämtliche Verdünnungen von Kalibratorplasma und Testplasma sollten umgehend nach der Vorbereitung getestet werden. Folgendes ist einem Teströhrchen oder einer Küvette, auf $37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ erwärmt, hinzuzufügen:

- 100 μ l VisuDep-F Faktor-X-Mangelplasma
- 100 μ l Kalibratorplasmaverdünnung oder verdünnte Testprobe

Vermischen und 2 Minuten bei $37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ inkubieren, anschließend Folgendes hinzuzufügen:

- 200 μ l Thromboplastin (auf $37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ vorgewärmt)

Messuhr im Moment der Zugabe des Thromboplastinreagenz 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-X-Aktivität auf der x-Achse darstellen. Ausgleichsgerade der Kalibrierung zeichnen. Die Faktor-X-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-X-Wert für das Kalibratorplasma nicht bei 100 %, so

muss das Testprobenergebnis mit dem passenden Korrekturfaktor multipliziert werden. Liegt beispielsweise der Faktor-X-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-X-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.⁵ 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.⁶⁻⁷

Erwartete Werte

Der Normalbereich für Faktor X liegt laut Literatur in der Regel bei 70-152 %⁸. Jedes Labor sollte jedoch einen eigenen Normalbereich festlegen. Ergebnisse aus Messungen an 100 gesunden Personen weisen einen normalen Referenzbereich für Faktor X von 80-161 % auf (Mittelwert 114 %, SD = 20,5).

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-X-Mangelplasmas unter Verwendung von STA[®] Neoplastine CI+ in einem STA Compact beurteilt. Normale und abnormale Kontrollplasmen wurden gemäß der CLSI-Richtlinie EP5-A2⁹ 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	3,0 - 5,4%	2,7 - 4,4%	0 - 2,6%	5,0 - 7,0%
Abnormal	2,4 - 2,9%	2,4 - 3,4%	2,0 - 3,2%	4,2 - 5,2%

METHODENVERGLEICH:

In einer Untersuchung zum Methodenvergleich wurden 161 Testproben mit einem Faktor X von < 1 % bis hin zu einem normalen Spiegel getestet. Dies geschah mit gefrorenem Faktor-X-Mangelplasma von VisuDep-F sowie von Precision Biologic als Referenzmethode. Der Korrelationskoeffizient (r) in dieser Untersuchung betrug 0,997 (R² = 0,994; y = 1,0086x + 0,2044).

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

Referencia de producto: FRDP100125
FRDP100105



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

Para diagnóstico *in vitro*.

Uso

ESPAÑOL

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

Resumen y principios

El factor X (FX) es una glicoproteína dependiente de la vitamina K producida en el hígado con una concentración plasmática de aproximadamente 170 nM. El Factor X se expresa como una molécula de dos cadenas con un peso molecular de 59 kDa. La cadena ligera incluye un dominio de unión al calcio que está formado por el ácido hidroxil aspártico y 11 residuos de ácido γ -carboxiglutámico. Estos residuos permiten que el FX se una a las membranas que contienen fosfolípidos ácidos que dependen del calcio. La cadena pesada está formada por el dominio catalítico, por carbohidratos y por péptidos de activación. La activación del FX en la enzima activa, FXa, se produce a partir de la escisión del residuo Arg⁵² de la cadena pesada mediante un complejo de FIXa, el cofactor VIIIa, calcio y la superficie fosfolipídica cargada negativamente (el compuesto "tenase"), o mediante el complejo del factor tisular FVIIa. El FXa generado es una serín proteasa responsable de la activación de protrombina a trombina en presencia de una membrana fosfolipídica, de calcio y del cofactor Va. La actividad del FXa en plasma es inhibida por la antitrombina (ATIII), α_1 -antitripsina, α_2 -macroglobulina y el inhibidor de la ruta del factor tisular (TFPI).¹⁻³ Las deficiencias congénitas del Factor X son poco frecuentes y se caracterizan por un tiempo de tromboplastina parcial (APTT) y de protrombina (TP) prolongados. Se han observado niveles reducidos de Factor X en plasma en pacientes que reciben tratamiento anticoagulante oral como, por ejemplo, warfarina, o en pacientes con deficiencia de vitamina K o que sufren una enfermedad hepática.⁴

La actividad del factor X en plasma del paciente se determina *in vitro* mediante el uso de una prueba de tiempo de protrombina (TP) modificada. El plasma del paciente se diluye, se mezcla con plasma deficiente en factor X y, a continuación, se realiza una prueba de TP. El resultado se interpola mediante una curva de referencia generada con diluciones de plasma calibrador mezclado con plasma deficiente en factor X. La corrección del tiempo de coagulación del plasma deficiente es proporcional al nivel de actividad del factor X en el plasma del paciente.

Reactivos

A. Descripción:

Plasma con inmunodepleción de factor X congelado con una actividad residual de factor X 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 X,

Ref. de producto FRDP100125

0

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

Ref. de producto FRDP100105

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. Cada unidad de plasma utilizada en la preparación de este producto ha sido analizada según los métodos aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA), y se ha comprobado que son negativas para el antígeno de superficie de hepatitis B (HbsAg), la sífilis y los anticuerpos del VIH y la HCV y que no son reactivas al ARN del HIV-1 y al ARN del 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 °C ± 1 °C durante 5 minutos. Inviértalo con suavidad antes de utilizarlo.

D. Conservación y estabilidad:

Cuando se conservan a una temperatura de -60 °C o inferior, los viales permanecen estables hasta la fecha de caducidad indicada. Una vez descongelado, el plasma permanece estable durante 8 horas sobre la placa (15 - 19 °C) o entre 2 y 8 °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".⁵

Procedimiento

A. Material necesario (no suministrado)

Baño de agua
Instrumental de coagulación o sistema de pruebas
Reactivos del análisis, como tromboplastina con cloruro cálcico añadido, 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 de tromboplastina 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 correspondiente a valores de 100% a 6,25%, como se indica en la tabla siguiente:

Dilución	% de factor X*	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 X 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.⁶

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 °C ± 1 °C, añada lo siguiente:

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

Mezcle e incube durante 2 minutos a 37 °C ± 1 °C y, a continuación, añada:

- 200 µl de tromboplastina (precalentada a 37 °C ± 1 °C)

Ponga en marcha un temporizador en el mismo momento de añadir el reactivo de tromboplastina 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 X correspondiente en el eje x. Trace la línea de calibración que mejor se ajuste. Interpole los niveles de factor X 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 X 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 X 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 X 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 sódico⁵. Se debe evitar el uso de muestras coaguladas, hemolizadas, ictericas o lipémicas. No utilice tubos de cristal para preparar diluciones de plasma, ya que el cristal puede activar la cascada de coagulación⁶⁻⁷.

Valores esperados

El rango normal de factor X publicado en la literatura es generalmente 70-152%⁸, 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 X de 80-161% (media 114%, SD = 20,5).

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 X congelado VisuDep-F mediante STA[®] Neoplastine CI+ 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-A2⁹ 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	3,0 – 5,4%	2,7 – 4,4%	0 – 2,6%	5,0 – 7,0%
Anormal	2,4 – 2,9%	2,4 – 3,4%	2,0 – 3,2%	4,2 – 5,2%

COMPARACIÓN DE MÉTODOS:

En un estudio comparativo de métodos, se analizaron 161 muestras con factor X entre <1% y niveles normales utilizando plasma deficiente en factor X congelado VisuDep-F y plasma deficiente en factor X de Precision Biologic como método de referencia. El coeficiente de correlación (r) de este estudio fue 0,997 (R² = 0,994, y = 1,0086x + 0,2044).

VisuDep™-F Bevroren factor X-deficiënt plasma

Productnummer: FRDP100125
FRDP100105



Bewaren bij of beneden -60°.

Voor *in-vitro*diagnostiek.

Beoogd gebruik

NEDERLANDS

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

Samenvatting en principe

Factor X (FX) is een vitamine K-afhankelijke glycoproteïne die in de lever wordt geproduceerd met een plasmaconcentratie van ongeveer 170 nM. Factor X wordt uitgedrukt als een tweeketenige molecule met een molecuulgewicht van 59 kDa. De lichte keten bevat een calciumbindingsdomein dat bestaat uit 1 residu hydroxy-asparaginezuur en 11 residuen γ -carboxyglutaminezuur (gla). Dankzij deze residuen kan FX binden met membranen die op een calciumafhankelijke wijze zuurhoudende fosfolipiden bevatten. De zware keten bestaat uit het katalytisch domein, koolhydraat en het activatiepeptide. FX wordt in het actieve enzym, FXa, omgezet doordat een geheel van F.IXa, cofactor VIIIa, calcium en negatief geladen fosfolipidenoppervlak (het tenase complex), of het F.VIIa-weefselfactorcomplex, de zware keten bij residu Arg⁵² splitst. De gegeneerde FXa is een serineprotease die verantwoordelijk is voor de omzetting van protrombine in trombine in aanwezigheid van een fosfolipidenmembraan, calcium en cofactor Va. De omzetting van FXa in plasma wordt belemmerd door antitrombine (ATIII), α_1 antitrypsine, α_2 macroglobuline en Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI).¹⁻³ Aangeboren tekorten van Factor X zijn zeldzaam en worden gekenmerkt door een lange protrombine- (PT) en geactiveerde partiële tromboplastintijd (APTT). Lagere plasmaniveaus van Factor X worden vastgesteld bij patiënten

die worden behandeld met orale antistollingsmiddelen, zoals warfarine, of bij patiënten met een vitamine D-tekort of leveraandoening.⁴

De activiteit van factor X in het plasma van de patiënt wordt *in vitro* bepaald met behulp van een aangepaste test voor de protrombinetijd (PT). Het plasma van de patiënt wordt verdund, gemengd met plasma waarin factor X ontbreekt en er wordt een PT-test verricht. Het resultaat wordt geïnterpoleerd met behulp van een referentiecurve die is geconstrueerd op basis van verdunningen van een kalibratieplasma dat is gemengd met het factor X-deficiënte plasma. De correctie van de stollingstijd van het deficiënte plasma is evenredig aan de mate van activiteit van factor X in het plasma van de patiënt.

Reagentia

A. Beschrijving:

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

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

Productnummer FRDP100125

OF

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

Productnummer FRDP100105

B. Voorzorgsmaatregelen en waarschuwingen:

Dit product is bedoeld voor gebruik door personeel dat is getraind in laboratoriumprocedures en universele voorzorgsmaatregelen voor het gebruik van potentieel biologisch gevaarlijke stoffen. Dit product bevat menselijk bronmateriaal. Elke eenheid bronplasma die in de bereiding van dit product wordt gebruikt, is getest volgens door FDA goedgekeurde methoden en is ongevoelig bevonden voor Hepatitis B-oppervlakteantigeen (HbsAg), syfilis en antilichamen tegen HIV en HCV en is ongevoelig bevonden voor HIV-1 rNA en HCV rNA. Omdat geen enkele test volledig kan garanderen dat producten afgeleid van menselijk bloed geen infectieziekten zullen overdragen, moet dit product als potentieel geïnfecteerd materiaal worden behandeld. Het materiaal moet volgens de huidige lokale regelgeving worden verwijderd.

C. Klaarmaken/behandeling van het reagens:

Ontdooi elke 1 ml flacon gedurende 5 minuten in een waterbad van 37°C \pm 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. Nadat het plasma is ontdooit, is het gedurende 8 uur stabiel bij ingebruikname (15-19°C) of bij 2-8°C in de oorspronkelijke flacon. Ontdooit 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.⁵

Procedure

A. Benodigd materiaal (maar niet meegeleverd)

Waterbad

Instrument of testsysteem voor de stollingsbepaling

Testreagentia, bijv. tromboplastinereagens met 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 tromboplastinereagens 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 X percentages van 100% tot 6,25%, zoals aangegeven in de volgende tabel:

Verdunning	% factor X*	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 X-activiteit van het kalibratieplasma die specifiek is voor de partij.

Klaarmaken van de testplasmaverdunningen

Verdun 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.⁶

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 X-deficiënt plasma
- 100 µl van een kalibratieplasmaverdunning of verdund testmonster

Meng en incubeer gedurende 2 minuten bij 37 °C ± 1 °C; voeg toe:

- 200 µl tromboplastinereagens (voorverwarmd tot 37 °C ± 1 °C)

Start op het moment dat het tromboplastinereagens wordt toegevoegd aan het plasmamengsel onmiddellijk een tijdmeter om de tijd vast te leggen tot de vorming van een stolsel.

Resultaten

Pas op dubbellogaritmisch papier de stollingstijden voor de kalibratieplasmaverdunningen af op de y-as en de corresponderende percentages voor de factor X-activiteit op de x-as. Trek de best passende kalibratielijne. Interpoleer op basis van deze kalibratiecurve de mate van factor X-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 X-waarde voor het kalibratieplasma niet 100% is, worden vermenigvuldigd met de aangewezen correctiefactor. Als het percentage factor X 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 testplasmare resultaten. 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 X-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.⁵ 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.⁶⁻⁷

Verwachte waarden

Naar wordt vermeld in de literatuur liggen de normaalwaarden voor factor X gewoonlijk tussen 70 en 152%⁸, ieder laboratorium moet echter onafhankelijk de normaalwaarden bepalen. De resultaten die zijn gevonden bij 100 gezonde personen geven aan dat de referentiewaarden voor factor X normaliter tussen 80 en 161% liggen (gemiddelde = 114%, sd = 20,5).

Betrouwbaarheidskenmerken

REPRODUCEERBAARHEID:

De reproduceerbaarheid binnen runs, tussen dagen, tussen runs en binnen instrument zijn onderzocht voor drie partijen van VisuDep-F bevroren factor X-deficiënt plasma bij gebruik van STA[®] Neoplastine CI+ 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-A2⁹. De variatiecoëfficiënten (% CV) die in dit reproduceerbaarheidsonderzoek zijn verkregen, zijn in de tabel hieronder weergegeven.

	Binnen runs	Tussen dagen	Tussen runs	Binnen instrument
Normaal	3,0 - 5,4%	2,7 - 4,4%	0 - 2,6%	5,0 - 7,0%
Afwijkend	2,4 - 2,9%	2,4 - 3,4%	2,0 - 3,2%	4,2 - 5,2%

METHODEVERGELIJKING:

In een methodevergelijkingsonderzoek zijn 161 testmonsters met factor X, waarvan de percentages varieerden tussen <1% en normaal, getest met behulp van VisuDep-F bevroren factor X-deficiënt plasma en factor X-deficiënt plasma van Precision Biologics als referentiemethode. De in dit onderzoek genoemde correlatiecoëfficiënt bedroeg 0,997 (R² = 0,994, y = 1,0086x + 0,2044).

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

1. Ichinose A, Davie EW; The Blood Coagulation Factors: Their cDNAs, Genes, and Expression; in Hemostasis and Thrombosis, 3rd Edition, eds. RW Colman, J Hirsh, VJ Marder and EW Salzman, pp 19-54, J.B. Lippincott Co., Philadelphia PA, USA, 1994.
2. Steinberg M, Nemerson Y; The Activation of Factor X; in Hemostasis and Thrombosis, eds. RW Colman, J Hirsh, VJ Marder and EW Salzman, pp 91-99, J.B. Lippincott Co., Philadelphia PA, USA, 1982.
3. Ellis V, Scully M, MacGregor I, Kakkar V; Inhibition of Human Factor Xa by Various Plasma Protease Inhibitors; Biochimica et Biophysica Acta 701, pp 24-31, 1982.
4. Roberts, HR, Lefkowitz, JB; Inherited Disorders of Prothrombin Conversion; in Hemostasis and Thrombosis, 3rd Edition, eds. RW Colman, J Hirsh, VJ Marder and EW Salzman, pp. 200 - 218, J.B. Lippincott Co., Philadelphia, PA, USA, 1994.
5. "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.
6. "Determination of Coagulation Factor Activities Using the One-Stage Clotting Assay", H48, 2nd edition, CLSI, March 2016.
7. "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.
8. 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.
9. "Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods" Approved Guideline, Second Edition, EP5-A2, CLSI, Vol. 24, No. 25, 2004.
10. "Medical Devices. Symbols to be used with medical device labels, labeling and information to be supplied. General Requirements", EN ISO 15223-1:2012, European Committee for Standardization, 2012.

**SYMBOL LEGEND/ LEGENDE DES SYMBOLES/ LEGENDA DEI
SIMBOLI/ SYMBOL LEGENDE/ LEYENDAS DE SÍMBOLOS /
VERKLARING VAN DE SYMBOLEN¹⁰**



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 / Límite 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

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 consecuencial 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