



## Immunodepleted Factor VIII Deficient Plasma (Human)

### I. Intended Use

Pacific Hemostasis® Immunodepleted Factor VIII Deficient Plasma is intended for use as a substrate in the quantitative determination of Factor VIII activity in citrated plasma.

### II. Summary and Principles

Factor VIII activity in plasma is assayed by the amount of Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) correction produced by the test plasma, when mixed with factor deficient plasma. The correction of the unknown is compared to that produced by a reference plasma of known normal factor activity, such as Pacific Hemostasis Universal Coagulation Reference Plasma (UCRP™).

### III. Reagent

For *in vitro* diagnostic use.

#### Composition:

A lyophilized plasma containing stabilizer depleted of Factor VIII by immobilized highly specific antibodies. Factor VIII activity is less than 1% of normal levels; all other coagulation factors are within the normal range. Store unopened vials at 2-8°C. Each reagent is stable at 2-8°C until the expiration date printed on the vial label. Reconstitute with 1.0 mL of distilled water. Agitate gently until solution is complete. **Do not freeze reconstituted plasma.** The reconstituted plasma is stable for 8 hours when stored stoppered at 2-8°C. Erratic values, product color variations, or lack of vacuum in the vials could indicate product deterioration.

**CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD:** Contains human source material. While each human serum or plasma donor unit used in the manufacture of this product was tested by FDA-approved methods and found nonreactive for hepatitis B surface antigen (HBsAg), antibody to hepatitis C (HCV), and antibody to HIV-1/2, all products manufactured using human source material should be handled as potentially infectious. Because no test method can offer complete assurance that hepatitis B or C viruses, HIV, or other infectious agents are absent, these products should be handled according to established good laboratory practices.

### IV. Specimen Collection

3.2% (0.109M) trisodium citrate anticoagulant is recommended for coagulation assays. Avoid hemolysis and contamination by tissue fluids. Samples that have less than 90% of the expected fill volume should be rejected. Centrifuge blood for 15 minutes at 2500 x g. Test within 2 hours if samples are held at 22-24°C. For more details on specimen collection and storage, see NCCLS Document H21-A3.1

### V. Test Procedure

This product is suitable for use with manual, mechanical, photo-optical or nephelometric methods for clot detection. Consult instrument manufacturer for more specific guidelines. The following procedural outline assumes use of a manual method.

#### Materials Provided:

Immunodepleted Factor VIII Deficient Plasma (Human, Dried), 10x1 mL

#### Materials Required but Not Provided:

- Pacific Hemostasis APTT reagent.
- Pacific Hemostasis Calcium Chloride reagent.
- Pacific Hemostasis Diluting Fluid (Barbital Buffered Saline).
- Pacific Hemostasis Universal Coagulation Reference Plasma.
- Plastic test tubes. Precision pipettes.
- Distilled water. Log-log graph paper.

#### Notes on Procedure:

- Perform all testing in duplicate. Duplicates should agree within 5%, repeat if necessary.
- Prepare dilutions immediately prior to testing.
- A new standard curve must be prepared each time testing is performed.

#### Preparation of Factor Activity Reference Curve:

- Reconstitute one vial of Pacific Hemostasis UCRP. See package insert accompanying this reagent for reconstitution instructions, storage, and stability.
- Reconstitute and pool sufficient vials of the Immunodepleted Factor Deficient Plasma to allow 0.2 mL for each dilution to be tested.
- To construct the standard curve, label 5 plastic test tubes and pipet Pacific Hemostasis Diluting Fluid (Barbital Buffered Saline) and UCRP into each tube according to the chart below. Cap and mix gently.

Tube#	Diluting Fluid	UCRP	Dilution	Dilution Factor	% Factor Activity in Dilution*
1	0.9 mL	0.1 mL	1:10	1	110
2	1.9 mL	0.1 mL	1:20	2	55
3	3.9 mL	0.1 mL	1:40	4	27.5
4	3.95 mL	0.05 mL	1:80	8	13.8
5	1.0 mL	1.0 mL tube #4	1:160	16	6.9

\*Chart is example only. Based on assigned value of 110% for UCRP factor activity.

#### Test Standards, Controls and Test Samples:

- Prepare dilutions of patient and control samples. At least three different dilutions of the patient samples should be tested, beginning with the same dilution as the first point of the curve (i.e. 1:10, 1:20, 1:40).
- Prewarm Pacific Hemostasis Calcium Chloride reagent to 37°C. Refer to package insert with APTT reagent for information on the appropriate Calcium Chloride to use.
  - Pipet 0.1 mL APTT reagent into a cuvette. Incubate at least 3 minutes, but no longer than 20 minutes.
  - Add 0.1 mL Factor Deficient Plasma and 0.1 mL of standard, control or patient plasma dilution to the cuvette. Mix well. Refer to APTT reagent package insert for length of activation.
  - Add 0.1 mL prewarmed Calcium Chloride and time clot formation.

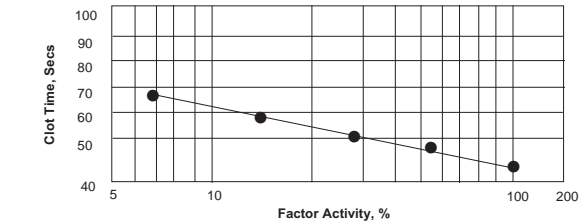
### VI. Results

#### Reference Curve

- For each dilution of the UCRP, calculate the mean of the duplicate clotting times to the nearest 0.1 second.
- Calculate the factor activity present in each dilution of the UCRP. The first dilution (1:10 in the example) corresponds to 100% factor activity; therefore the factor activity of this dilution is equal to the assay value of the UCRP. The dilution factor represents the relationship between the first dilution and subsequent dilutions. Divide the assay value of the standard by the dilution factor to determine the percent activity for each dilution. Refer to the table in section V.
- Plot the mean clotting time of each dilution against its percent activity using log-log graph paper. Construct a straight line of best fit.

#### Test Specimens and Controls

- For each dilution of the test specimen, calculate the mean of the duplicate clotting times to the nearest 0.1 second.
- Locate the mean clotting time on the vertical axis of the reference curve. Find the corresponding point on the reference line and read the percent activity of the dilution on the horizontal axis of the graph. Clotting times outside the curve boundaries should not be used.
- Multiply the percent activity from the graph by the appropriate dilution factor to determine the actual percent activity for each dilution. If the values recovered for the individual dilutions do not agree with each other, new dilutions should be made and the testing repeated. If they still do not agree, you should consider the possibility of an inhibitor.



Sample Calculation. Using the above reference curve, a 1:10 dilution of patient plasma that yields 60.0 seconds would have a calculated factor activity of 10%. A 1:20 dilution that yields 60.0 seconds would have a factor activity of 20%. (Dilution factor x activity = final result).

### VII. Quality Control

Assayed reference plasmas, such as Pacific Hemostasis Abnormal Coagulation Reference Plasma (ACRP™) and an additional lot number of UCRP should be tested to validate the reference curve. ACRP is assigned values for coagulation factors in the abnormal range. Each lot of ACRP will vary, but the values are expected to be approximately 30-50% of normal. Use of this plasma provides an excellent quality control check on the accuracy of factor determinations at the low end of the reference curve. Testing an additional lot of UCRP (other than the one used for the standard curve) should be used as a control in the normal range. Actual values recovered depend on individual technique, instrument, standard, and reagent used.

### VIII. Limitations

Variables such as temperature, reagent stability, plasma sample conditions, instrument performance, as well as individual technique can influence factor activity results. Since there are many variables contributing to assay performance, each laboratory must establish their own reference range, as well as acceptable limits of quality control. Discrepant results between dilutions may be indicative of the presence of an inhibitor.

### IX. Expected Values

Normal plasma will yield factor activity values between 50-150% of normal.<sup>4,5</sup>

### X. Performance Characteristics

Pacific Hemostasis Immunodepleted Factor VIII Deficient Plasma will perform according to the limitations of the procedure described herein when tested with Pacific Hemostasis reagents. Precision and accuracy of the deficient plasma was assessed by preparing standard curves on 8-10 days, and determining the recovery of Factor VIII activity contained in five frozen control plasmas. The FVIII values recovered were within 2% of the expected control values. The results are shown below: <sup>1-3</sup>

	Day-to-Day Recovery of FVIII Activity (%) Contained in Control Plasmas*				
	Control #1	Control #2	Control #3	Control #4	Control #5
mean	130.9	95.5	65.6	33.6	18.0
1 SD	6.46	4.63	1.82	2.13	1.32
% CV	4.9	4.8	2.8	6.3	7.3
days of testing	8	8	10	8	8

\*Testing with Pacific Hemostasis APTT-LS reagent on the MLA®-1000C™. Standard curve R<sup>2</sup> = 0.99 on all days of testing.

### XI. References

- NCCLS. *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays*. 3rd edition, Approved guideline. NCCLS Document H21-A3. Wayne, PA, 1998.
- Powers, L.W. *Technical Hematology*. In: Diagnostic Hematology. 1989. Bircher S. (Ed.). The C.V. Mosby Co., St. Louis, MO, p.484.
- Stability data found in DHF.
- 4-5. Data found in 510K file.

Ordering Information		
Cat. No.	Description	Contents
100806	Immunodepleted FVIII Deficient Plasma	10 x 1 mL
100644	Diluting Fluid (Barbital Buffered Saline)	2 x 100 mL
100301	UCRP	10 x 1 mL
100603	ACRP	10 x 1 mL

### FISHER DIAGNOSTICS® LIMITED WARRANTY

Fisher Diagnostics (FD) warrants to the purchaser only that FD products will perform as described on their labeling and product literature. Purchaser must determine the suitability of FD products for their specific applications. FD's sole obligation will be, at its option, to either replace a non-conforming or defective product, or return the purchase price. FD DISCLAIMS ALL OTHER WARRANTIES, EXPRESSED OR IMPLIED, INCLUDING THE WARRANTIES OF MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR ANY PARTICULAR PURPOSE. Neither FD nor its affiliates shall, in any event, be liable for incidental or consequential loss or damage.

Pacific Hemostasis® is a registered trademark of Fisher Scientific Company L.L.C. Fisher Diagnostics® is a registered trademark of Fisher Scientific Company L.L.C. MLA®-1000C™ is a registered trademark of Instrumentation Laboratory. UCRP™ is a registered trademark of Fisher Scientific Company L.L.C. ACRP™ is a registered trademark of Fisher Scientific Company L.L.C.



MDCI Ltd.  
Arundel House  
1 Liverpool Gardens  
Worthing, West Sussex BN11 1SL  
UK



Fisher Diagnostics®  
Fisher Scientific Company L.L.C.  
8365 Valley Pike  
Middletown, VA 22645-0307, USA  
1-(800) 528-0494 USA only



## Immunodepleted Factor VIII Deficient Plasma (Human)

### I. Verwendungszweck

Pacific Hemostasis® Immunodepleted Factor VIII Deficient Plasma ist für die Verwendung als Substrat bei dem quantitativen Nachweis der Factor VIII-Aktivität in Citrat-Plasma vorgesehen.

### II. Zusammenfassung und Prinzipien

Die Factor VIII-Aktivität in Plasma wird durch die aus dem Testplasma produzierte Korrektur der Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) ermittelt, wenn es mit faktordefizientem Plasma gemischt wird. Die Korrektur der Unbekannten wird mit der von einem Referenzplasma mit bekannter normaler Faktoraktivität verglichen, z. B. Pacific Hemostasis Universal Coagulation Reference Plasma (UCRP™).

### III. Reagenz

Für die Verwendung in der *in-vitro*-Diagnostik.

#### Zusammensetzung:

Ein einen Stabilisator enthaltendes, lyophilisiertes Plasma, das mittels immobilisierter, hochspezifischer Antikörper Factor VIII-angereichert wurde. Die Factor VIII-Aktivität beträgt weniger als 1 % des Normalen, alle anderen Koagulationsfaktoren befinden sich im normalen Bereich. Ungeöffnete Phiolen bei 2-8 °C lagern. Bei korrekter Lagerung bei 2-8 °C sind die Reagenzien bis zum Ablauf des auf dem Phiolenetikett angegebenen Verfallsdatums stabil. Mit 1,0 mL destilliertem Wasser rekonstituieren. Vorsichtig schütteln, bis die Lösung vollständig ist. **Das rekonstituierte Plasma nicht einfrieren.** Das rekonstituierte Plasma ist bei verschlossener Lagerung bei 2-8 °C 8 Stunden stabil. Fehlerhafte Werte, Abweichungen in der Farbe oder fehlendes Vakuum in den Flaschen können auf einer verschlechterten Produktqualität hinweisen.

**VORSICHT! POTENZIELL INFEKTIÖSES MATERIAL:** Menschliches Ausgangsmaterial. Das für die Herstellung dieses Produkt verwendete menschliche Serum oder Plasma ist durch FDA-anerkannte Nachweisverfahren geprüft und als nicht-reaktiv auf Hepatitis B Oberflächen-Antigen (HBsAg), Antikörper auf Hepatitis C (HCV) und Antikörper HIV-1/2 befunden worden. Alle unter Verwendung menschlichen Materials hergestellten Produkte müssen als potenziell infektiös gehandhabt werden. Da allerdings keine Testmethode das Vorhandensein von Hepatitis B- oder C-Viren, HIV- oder anderen infektiösen Agzien vollständig ausschließen kann, sollten diese Produkte stets entsprechend den üblichen Laborroutinen und Sicherheitsverfahren gehandhabt werden.

### IV. Probennahme

Für Koagulationsversuche werden 3,2 % (0,109 M) des Thrombininhibitors Trinitriumcitrat empfohlen. Hämolyse und Kontamination durch Gewebeflüssigkeiten vermeiden. Proben mit weniger als 90 % des erwarteten Füllvolumens sollten abgelehnt werden. Blut für 15 Minuten bei 2500 x g zentrifugieren. Innerhalb von zwei Stunden testen, wenn die Proben bei 22-24 °C gehalten werden. Weitere Informationen zur Entnahme und Lagerung von Proben finden Sie im NCCLS-Dokument H21-A3.1

### V. Testverfahren

Dieses Produkt eignet sich für manuelle, mechanische, photo-optische oder nephelometrische Bestimmungsmethoden für die Gerinnelbildung. Die Anweisungen der Geräte- und Reagenzhersteller sind immer zu beachten. Der folgende Verfahrensoberblick setzt das Verwenden einer manuellen Methode voraus.

#### Im Lieferumfang enthaltene Materialien:

Immunodepleted Factor VIII Deficient Plasma (Human, Dried), 10 x 1 mL

#### Nicht im Lieferumfang enthaltene erforderliche Materialien:

- Pacific Hemostasis APTT Reagent.
- Pacific Hemostasis Calcium Chloride Reagent.
- Pacific Hemostasis Verdünnungspuffer (Barbital Buffered Saline).
- Pacific Hemostasis Universal Coagulation Reference Plasma.
- Teströhrchen aus Kunststoff. Präzisionspipetten.
- Destilliertes Wasser. Log/log-Papier.

#### Anmerkungen zum Testverfahren:

- Alle Tests doppelt ausführen. Die Übereinstimmung der doppelt ausgeführten Test sollte bei 5 % liegen, ggf. wiederholen.
- Verdünnungen direkt vor dem Test vorbereiten.
- Bei jeder Testausführung muss eine neue Standardkurve vorbereitet werden.

#### Vorbereitung der Referenzkurve für die Faktoraktivität:

- Eine Flasche Pacific Hemostasis UCRP rekonstituieren. Anweisungen zur Rekonstituierung, Lagerung und Handhabung dieses Reagens finden Sie in der Packungsbeilage.
- Eine ausreichende Menge an Flaschen Immunodepleted Factor Deficient Plasma rekonstituieren und poolen, um 0,2 mL für jede Verdünnung zu testen.
- Zum Erstellen der Standardkurve 5 Teströhrchen aus Kunststoff mit einem Etikett versehen und Pacific Hemostasis Verdünnungspuffer (Barbital Buffered Saline) sowie UCRP in jedes Röhrchen entsprechend der folgenden Abbildung pipettieren. Verschließen und leicht schütteln.

Röhrchen#	Verdünnung Flüssigkeit	UCRP	Verdünnung	Verdünnung Faktor	% Faktor Aktivität in Verdünnung*
1	0,9 mL	0,1 mL	1:10	1	110
2	1,9 mL	0,1 mL	1:20	2	55
3	3,9 mL	0,1 mL	1:40	4	27,5
4	3,95 mL	0,05 mL	1:80	8	13,8
5	1,0 mL	1,0 mL Röhrchen #4	1:160	16	6,9

\*Abbildung dient nur als Beispiel. Basiert auf einem zugewiesenen Wert von 110 % für die UCRP-Faktoraktivität.

#### Teststandards, Kontrollen und Testproben:

- Verdünnung der Patienten- und Kontrollproben vorbereiten. Es sollten mindestens drei verschiedene Verdünnungen der Patientenproben getestet werden, dabei mit derselben Verdünnung wie am ersten Kurvenpunkt beginnen (d. h. 1:10, 1:20, 1:40).
- Das Pacific Hemostasis Calcium Chloride Reagent auf 37 °C vorwärmen. Weitere Informationen darüber, welches Calcium Chloride zu verwenden ist, sind in der Packungsbeilage des APTT Reagent enthalten.
  - 0,1 mL APTT Reagent in eine Küvette pipettieren. Mindestens 3 Minuten, aber nicht länger als 20 Minuten inkubieren.
  - 0,1 mL Factor Deficient Plasma und 0,1 mL Standard-, Kontroll- oder Patientenplasmaverdünnung zur Küvette zugeben. Gut mischen. Informationen zur Aktivierungsdauer finden Sie in der APTT Reagent Packungsbeilage.
  - 0,1 mL vorgewärmtes Calcium Chloride hinzufügen und mit einer Stoppuhr messen, wann der Gerinnungsvorgang beginnt.

### VI. Ergebnisse

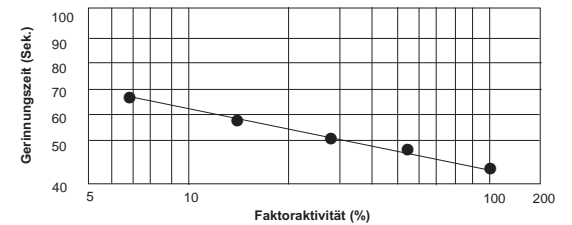
#### Referenzkurve

- Den Mittelwert der doppelten Gerinnungszeiten für jede Verdünnung des UCRP bis auf 0,1 Sekunden genau berechnen.
- Die in jeder Verdünnung des UCRP vorhandene Faktoraktivität berechnen. Die erste Verdünnung (1:10 im Beispiel) entspricht einer Faktoraktivität von 100 %, daher ist die Faktoraktivität dieser Verdünnung gleich dem Test-Wert des UCRP. Der Verdünnungsfaktor stellt die Relation zwischen der ersten und den nachfolgenden Verdünnungen dar. Der Testwert des Standards wird durch den Verdünnungsfaktor dividiert, um die prozentuale Aktivität für jede Verdünnung zu ermitteln. Siehe Tabelle in Abschnitt V.
- Die durchschnittliche Gerinnungszeit jeder Verdünnung sowie die prozentuale Aktivität in das Log/log-Papier einzeichnen. Ausgleichsgerade ziehen.

#### Testproben und Kontrollen

- Den Mittelwert der doppelten Gerinnungszeiten für die Testprobe bis auf 0,1 Sekunden genau berechnen.
- Den Mittelwert der Gerinnungszeit auf der vertikalen Achse der Referenzkurve ermitteln. Den entsprechenden Punkt auf der Referenzlinie suchen und die prozentuale Aktivität der Verdünnung auf der horizontalen Achse ablesen. Gerinnungszeiten außerhalb der Kurvengrenzen sollten nicht verwendet werden.

- Die prozentuale Aktivität mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multiplizieren, um die tatsächliche Aktivität für jede Verdünnung zu ermitteln. Wenn die für die einzelnen Verdünnungen ermittelten Werte nicht übereinstimmen, sollten neue Verdünnungen erstellt und die Tests wiederholt werden. Falls sie anschließend weiter voneinander abweichen, sollte die Möglichkeit eines Inhibitors in Betracht gezogen werden.



Probenberechnung. Unter Verwendung der o. g. Referenzkurve hätte eine 1:10-Verdünnung von Patiententplasma, das 60,0 Sekunden aufgezeichnet wird, eine berechnete Faktoraktivität von 10 %. Eine 1:20-Verdünnung über 60,0 Sekunden hätte eine Faktoraktivität von 20 %. (Verdünnungsfaktor x Aktivität = Endergebnis).

### VII. Qualitätskontrolle

Zum Validieren der Referenzkurve sollten Test-Referenzplasmen, z. B. Pacific Hemostasis Abnormal Coagulation Reference Plasma (ACRP™), und eine zusätzliche Chargennummer von UCRP getestet werden. ACRP wurde Werte für Koagulationsfaktoren im abnormalen Bereich zugewiesen. Jede ACRP-Charge wird variieren, aber die Werte sollten sich erwartungsgemäß 30-50 % des Normalen betragen. Das Verwenden dieses Plasma bietet eine ausgezeichnete Qualitätskontrolle der Genauigkeit der Faktorerkennung im unteren Bereich der Referenzkurve. Das Testen einer zusätzlichen UCRP-Charge (einer anderen als der für die Standardkurve verwendeten Charge) sollte als Kontrolle im Normalbereich verwendet werden. Die tatsächlich ermittelten Werte sind abhängig von den einzelnen Techniken, Geräten, Standards und Reagenzien abhängig.

### VIII. Beschränkungen

Variablen, z. B. Temperatur, Reagenzstabilität, Plasmaprobenbedingungen, Geräteleistung sowie einzelne Techniken können sich auf die Ergebnisse der Faktoraktivität auswirken. Da das Testergebnis-Leistung von vielen Variablen abhängig ist, muss jedes Labor seinen eigenen Referenzbereich sowie akzeptable Grenzen der Qualitätskontrolle festlegen. Abweichende Ergebnisse bei den Verdünnungen können ein Hinweis auf einen Inhibitor sein.

### IX. Erwartungswerte

Normalplasma weist Faktoraktivitätswerte zwischen 50-150 % des Normalen auf.<sup>4,5</sup>

### X. Leistungsmerkmale

Pacific Hemostasis Immunodepleted Factor VIII Deficient Plasma erfüllt seine Leistung entsprechend den hier beschriebenen Beschränkungen des Verfahrens, wenn es mit Pacific Hemostasis Reagents getestet wird. Die Präzision und Genauigkeit des Mischplasmas wurde mittels Vorbereitung von Standardkurven an 8-10 Tagen und durch Feststellen der Wiederherstellung der Factor VIII-Aktivität in fünf gekühlten Kontrollplasmen ermittelt. Die ermittelten FVIII-Werte lagen innerhalb von 2 % der erwarteten Kontrollwerte. Die Ergebnisse sind im Folgenden aufgeführt: <sup>1-3</sup>

	Tägliche Wiederherstellung der in Kontrollplasmen enthaltenen FVIII-Aktivität (%) <sup>1</sup>				
	Kontrolle #1	Kontrolle #2	Kontrolle #3	Kontrolle #4	Kontrolle #5
Mittel	130,9	95,5	65,6	33,6	18,0
1 SD	6,46	4,63	1,82	2,13	1,32
% CV	4,9	4,8	2,8	6,3	7,3
Testtage	8	8	10	8	8

\* Test mit dem Pacific Hemostasis APTT-LS Reagent auf dem MLA®-1000C™. Standardkurve R<sup>2</sup> = 0,99 an allen Testtagen.

### XI. Referenzen

- NCCLS. *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays*. 3rd edition, Approved guideline. NCCLS Document H21-A3. Wayne, PA, 1998.
- Powers, L.W. *Technical Hematology*. In: Diagnostic Hematology. 1989. Bircher S. (Ed.). The C.V. Mosby Co., St. Louis, MO, p.484.
- Stabilitätsdaten aus DHF.
- 4-5. Daten aus 510 (K)-Datei.

Bestellinformationen		
Kat. Nr.	Beschreibung	Inhalt
100806	Immunodepleted FVIII Deficient Plasma	10 x 1 mL
100644	Diluting Fluid (Barbital Buffered Saline)	2 x 100 mL
100301	UCRP	10 x 1 mL
100603	ACRP	10 x 1 mL

### FISHER DIAGNOSTICS® GEWÄHRLEISTUNGS-AUSSCHLUSS

Fisher Diagnostics (FD) garantiert dem Käufer nur, dass die FD-Produkte die Angaben auf den Etiketten und in der entsprechenden Produktdokumentation erfüllen. Der Käufer muss die spezifische Anwendungstauglichkeit der FD-Produkte selbst ermitteln. FD verpflichtet sich nach eigenem Ermessen ein fehlerhaftes oder unbrauchbares Produkt zu ersetzen oder die Anschaffungskosten zu ersetzen. FD SCHLIESST ALLE ANDEREN GEWÄHRLEISTUNGEN, AUSDRÜCKLICH ODER STILLSCHWEIGEND, EINSCHLIESSLICH DER GEWÄHRLEISTUNGEN DER MARKTGÄNGIGKEIT UND TAUGLICHKEIT FÜR BESTIMMTE ZWECKE AUS. Weder FD noch dessen Vertreter haften in irgendeinem Fall für zufällige oder nachfolgende Schäden oder Verluste.

Pacific Hemostasis® ist ein eingetragenes Warenzeichen der Fisher Scientific Company L.L.C. Fisher Diagnostics® ist ein eingetragenes Warenzeichen der Fisher Scientific Company L.L.C. MLA®-1000C™ ist ein eingetragenes Warenzeichen von Instrumentation Laboratory. UCRP™ ist ein eingetragenes Warenzeichen der Fisher Scientific Company L.L.C. ACRP™ ist ein eingetragenes Warenzeichen der Fisher Scientific Company L.L.C.



MDCI Ltd.  
Arundel House  
1 Liverpool Gardens  
Worthing, West Sussex BN11 1SL  
Großbritannien



Fisher Diagnostics®  
Fisher Scientific Company L.L.C.  
8365 Valley Pike  
Middletown, VA 22645-0307, Vereinigten Staaten  
1-(800) 528-0494 nur USA

### Immunodepleted Factor VIII Deficient Plasma (Human)

#### I. Utilisation prévue

Le Pacific Hemostasis® Immunodepleted Factor VIII Deficient Plasma a été conçu pour être utilisé comme substrat pour la détermination quantitative de l'activité du facteur VIII dans le plasma citraté.

#### II. Résumé et principes

L'activité du Facteur VIII dans le plasma est déterminé par la variation de correction du Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) produite par le dosage du plasma, lorsqu'il est mélangé au plasma déficient en facteur. La correction de l'échantillon est comparée à celle qui a été produite par un plasma de référence dont l'activité du facteur est connue pour être normale, comme le Pacific Hemostasis Universal Coagulation Reference Plasma (UCRP™).

#### III. Réactif

Pour utilisation diagnostique *in vitro*.

#### Composition :

Plasma lyophilisé contenant un stabilisateur approuvé en Factor VIII par des anticorps fortement *spécifiques* immobilisés. L'activité du Factor VIII est inférieure à 1 % des niveaux normaux; tous les autres facteurs de coagulation sont compris dans l'intervalle normal.

Conservé les flacons non ouverts entre 2 et 8 °C. Chaque réactif reste stable entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette du flacon. Reconstituer avec 1 mL d'eau distillée. Secouer doucement jusqu'à dissolution complète. **Ne pas congeler un plasma reconstitué.** Le plasma reconstitué est stable pendant 8 heures lorsqu'il est conservé entre 2 et 8 °C.\* Les valeurs aberrantes, les variations de couleurs ou l'absence de vide dans les flacons peuvent indiquer une détérioration du produit.

**ATTENTION ! DANGERS BIOLOGIQUES POTENTIELS :** Contient des substances d'origine humaine. Bien que chaque composant provenant d'un donneur de plasma ou de sérum humain qui est utilisé dans la production soit analysé par des méthodes approuvées par la FDA et qu'il soit apparu négatif aux antigènes de surface du virus de l'hépatite B (HBsAg), aux anticorps de l'hépatite C (HCV) et aux anticorps du VIH 1/2, tout produit fabriqué à base de substances d'origine humaine doit être traité comme potentiellement infectieux. Aucune méthode de test ne pouvant garantir totalement l'absence des virus de l'hépatite B ou C, du VIH ou d'autres agents infectieux, ces produits doivent être manipulés selon les bonnes pratiques de laboratoire en vigueur.

#### IV. Prélèvement des échantillons

Un anticoagulant à base de citrate trisodique à 3,2 % (0,109 M) est recommandé pour les dosages de coagulation. Éviter l'hémolyse et la contamination par des liquides tissulaires. Les échantillons qui atteignent moins de 90 % du volume de remplissage escompté doivent être éliminés. Centrifuger le sang pendant 15 minutes à 2500 x g. Effectuer le dosage dans les 2 heures si les échantillons sont conservés entre 22 et 24 °C. Pour plus de détails sur le prélèvement et le stockage des échantillons, consulter le document H21-A3\* du NCCLS.

#### V. Mode opératoire

Ce produit peut être utilisé à l'aide de méthodes manuelles, mécaniques, photoélectriques de détection des caillots. Consulter le fabricant de l'instrument pour obtenir des instructions plus précises. La procédure ci-dessous est décrite pour une méthode manuelle.

#### Matériel fourni :

Immunodepleted Factor VIII Deficient Plasma (Human, Dried), 10 x 1 mL

#### Matériel nécessaire mais non fourni :

Pacific Hemostasis APTT Reagent.  
Pacific Hemostasis Calcium Chloride Reagent.  
Pacific Hemostasis Diluting Fluid (Barbital Buffered Saline).  
Pacific Hemostasis Universal Coagulation Reference Plasma.  
Tubes de test en plastique. Pipettes de précision.  
Eau distillée. Papier logarithmique.

#### Remarques sur la procédure :

- Exécuter tous les tests en double. Si les doubles ne coïncident pas à 5 % près, ils doivent être renouvelés.
- Préparer les dilutions immédiatement avant le dosage.
- Une nouvelle courbe standard doit être préparée chaque fois qu'un dosage est exécuté.

#### Préparation de la courbe de référence de l'activité du facteur :

- Reconstituer un flacon de Pacific Hemostasis UCRP. Se reporter à la notice jointe au réactif concernant les instructions de reconstitution, de stockage et de stabilité.
- Reconstituer et réunir un nombre de flacons d'Immunodepleted Factor Deficient Plasma suffisant sachant que 0,2 mL sont nécessaires pour chaque dilution.
- Pour préparer la courbe standard, étiqueter 5 tubes en plastique et pipeter le Diluting Fluid Pacific Hemostasis (Barbital Buffered saline) et l'UCRP dans chaque tube conformément aux indications du tableau suivant. Mettre le couvercle et mélanger doucement.

N° du tube	Liquide de dilution	UCRP	Diluant	Facteur de dilution	% Facteur Activité en dilution*
1	0,9 mL	0,1 mL	1:10	1	110
2	1,9 mL	0,1 mL	1:20	2	55
3	3,9 mL	0,1 mL	1:40	4	27,5
4	3,95 mL	0,05 mL	1:80	8	13,8
5	1,0 mL	1,0 mL tube N° 4	1:160	16	6,9

\* Le tableau ne donne qu'un exemple. Basé sur la valeur attribuée de 110 % pour l'activité du facteur de l'UCRP

#### Normes de test, contrôles et échantillons de test :

Préparer les dilutions du patient et des échantillons de contrôle. Tester au moins trois dilutions différentes de l'échantillon du patient, en commençant par la même dilution que le premier point de la courbe (c.-à-d. : 1/10, 1/20, 1/40).

- Préchauffer le Pacific Hemostasis Calcium Chloride Reagent à 37 °C. Se reporter à la notice jointe au réactif APTT pour connaître le Calcium Chloride à utiliser.
- Pipeter 0,1 mL de APTT Reagent dans une cuvette. Incuber pendant 3 minutes minimum, mais pas plus de 20 minutes.
- Ajouter à la cuvette 0,1 mL de Factor Deficient Plasma ainsi que 0,1 mL de dilution de plasma standard, de contrôle ou de l'échantillon du patient. Bien mélanger. Se reporter à la notice jointe au APTT Reagent pour connaître la durée d'activation.
- Ajouter 0,1 mL de Calcium Chloride préchauffé et chronométrer la formation des caillots.

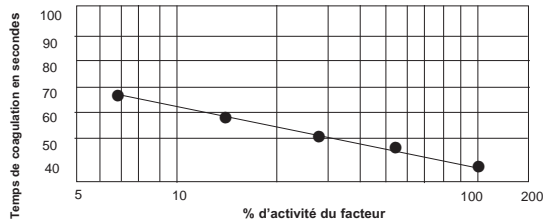
#### VI. Résultats

##### Courbe de référence

- Pour chaque dilution d'UCRP, calculer la moyenne des temps de coagulation en double, arrondie au dixième de seconde.
- Calculer l'activité du facteur pour chaque dilution de l'UCRP. La première dilution (1/10 dans l'exemple) correspond à une activité du facteur de 100 %; l'activité du facteur de cette dilution est donc égale à la valeur d'analyse de l'UCRP. Le facteur de dilution représente la relation entre la première dilution et les suivantes. Diviser la valeur d'analyse de l'échantillon standard par le facteur de dilution pour déterminer le pourcentage d'activité de chaque dilution. Se reporter au tableau de la section V.
- Noter la moyenne du temps de coagulation de chaque dilution par rapport au pourcentage d'activité à l'aide de papier logarithmique. Tracer une ligne droite au plus juste.

#### Échantillons et contrôles

- Pour chaque dilution de l'échantillon du test, calculer la moyenne des temps de coagulation en double, arrondie au dixième de seconde.
- Repérer la moyenne du temps de coagulation sur l'axe vertical de la courbe de référence. Trouver le point correspondant sur la ligne de référence et lire le pourcentage d'activité de la dilution sur l'axe horizontal du graphique. Les temps de coagulation situés au-delà des limites de la courbe ne doivent pas être utilisés.
- Multiplier le pourcentage d'activité obtenu à partir du graphique par le facteur de dilution approprié afin de déterminer le pourcentage d'activité réel de chaque dilution. Si les valeurs obtenues pour chaque dilution ne concordent pas les unes avec les autres, il est nécessaire de préparer de nouvelles dilutions et de renouveler les tests. Si elles ne concordent toujours pas, envisager la possibilité de la présence d'un inhibiteur.



Calcul de l'échantillon. D'après la courbe de référence ci-dessus, une dilution à 1/10 du plasma du patient qui demande 60 secondes devrait avoir une activité de facteur de 10 %. Une dilution à 1/20 qui demande 60 secondes devrait avoir une activité du facteur de 20 % (Facteur de dilution x activité = résultat final).

#### VII. Contrôle de qualité

Les plasmas de référence titrés, tels le Pacific Hemostasis Abnormal Coagulation Reference Plasma (ACRP™) et un numéro de lot supplémentaire d'UCRP, doivent être testés pour valider la courbe de référence. Des valeurs sont attribuées à l'ACRP pour que les facteurs de coagulation soient compris dans l'intervalle anormal.

Chaque lot d'ACRP varie ; cependant, on s'attend à ce que les valeurs soient d'environ 30 à 50 % de la normale. L'utilisation de ce plasma permet un excellent contrôle de qualité quant à l'exactitude de la détermination de facteur à l'extrémité inférieure de la courbe de référence. Le dosage d'un autre lot d'UCRP (différent de celui qui a été utilisé pour la courbe standard) doit être utilisé comme contrôle dans l'intervalle normal. Les valeurs obtenues sont fonction de la technique de l'utilisateur, de l'instrument, du standard et du réactif employé.

#### VIII. Limites

Ces variables comme la température, la stabilité du réactif, les conditions de l'échantillon de plasma, le fonctionnement de l'instrument, ainsi que la technique de l'utilisateur peuvent influencer les résultats de l'activité du facteur. Étant donné que de nombreuses variables contribuent au fonctionnement de l'analyse, chaque laboratoire doit établir son propre intervalle de référence, ainsi que les limites acceptables de contrôle qualité. Les différences de résultats entre les dilutions peuvent signaler la présence d'un inhibiteur.

#### IX. Valeurs escomptées

Le plasma normal fournira des valeurs d'activité du facteur comprises entre 50 et 150 % de la normale.\*

#### X. Caractéristiques des performances

Le Pacific Hemostasis Immunodepleted Factor VIII Deficient Plasma fonctionne dans les limites de la procédure décrites ici lorsqu'ils sont dosés avec les Pacific Hemostasis Reagents. La précision et l'exactitude du Deficient Plasma ont été vérifiées en préparant des courbes standard sur 8 à 10 jours et en déterminant la récupération de l'activité du Facteur VIII au sein de cinq plasmas de contrôle congelés. Les valeurs du F VIII obtenues se situaient au niveau des valeurs de contrôle attendues +/- 2 %. Les résultats sont présentés ci-dessous\* :

	Récupération jour après jour de l'activité du F VIII (%) dans les plasmas de contrôle*				
	Contrôle #1	Contrôle #2	Contrôle #3	Contrôle #4	Contrôle #5
moyenne	130,9	95,5	65,6	33,6	18,0
1 SD	6,46	4,63	1,82	2,13	1,32
% CV	4,9	4,8	2,8	6,3	7,3
jours de test	8	8	10	8	8

\*Test avec le Pacific Hemostasis APTT-LS Reagent sur le MLA®-1000C™. Courbe standard R<sup>2</sup> = 0,99 chaque jour du test.

#### XI. Références

- NCCLS. *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays*. 3rd edition, Approved guideline. NCCLS Document H21-A3. Wayne, PA, 1998.
- Powers, L.W. *Technical Hematology*. In: Diagnostic Hematology. 1989. Bircher S. (Ed.). The C.V. Mosby Co., St. Louis, MO, p.484.
- Données de stabilité provenant du DHF.
- Données figurant dans le dossier 510(k).

Pour commander		
N° de cat.	Description	Contenu
100806	Immunodepleted FVIII Deficient Plasma	10 x 1 mL
100644	Diluting Fluid (Barbital Buffered Saline)	2 x 100 mL
100301	UCRP	10 x 1 mL
100603	ACRP	10 x 1 mL


#### LIMITES DE GARANTIE DE FISHER DIAGNOSTICS®

Fisher Diagnostics (FD) garantit à l'acquéreur le bon fonctionnement des produits FD, tel que décrit sur l'étiquette et dans les modes d'emploi. Il revient à l'acquéreur de s'assurer que les produits FD sont adaptés à ses besoins spécifiques. La seule obligation de FD consiste soit à remplacer un produit non conforme ou défectueux, soit à rembourser le prix d'achat, à sa discrétion. FD DÉCLINE TOUTE RESPONSABILITÉ QUANT AUX AUTRES GARANTIES, EXPLICITES OU IMPLICITES, Y COMPRIS LES GARANTIES DE COMMERCIALITÉ, ET L'ADÉQUATION DU PRODUIT À TOUTE AUTRE UTILISATION. FD, ni aucune de ses filiales, ne peut en aucun cas être tenue pour responsable d'un incident entraînant une perte ou un dommage quelconque.

Pacific Hemostasis® est une marque déposée de Fisher Scientific Company L.L.C.  
Fisher Diagnostics® est une marque déposée de Fisher Scientific Company L.L.C.  
MLA®-1000C™ est une marque déposée d'Instrumentation Laboratory.  
UCRP™ est une marque déposée de Fisher Scientific Company L.L.C.  
ACRP™ est une marque déposée de Fisher Scientific Company L.L.C.



MDCI Ltd.  
Arundel House  
1 Liverpool Gardens  
Worthing, West Sussex BN11 1SL  
Royaume Uni



Fisher Diagnostics®  
Fisher Scientific Company L.L.C.  
8365 Valley Pike  
Middletown, VA 22645-0307, États-Unis  
1-(800)528-0494 États-Unis uniquement

### Immunodepleted Factor VIII Deficient Plasma (Human)

#### I. Uso previsto

El producto Pacific Hemostasis® Immunodepleted Factor VIII Deficient Plasma se utiliza como sustrato en la determinación cuantitativa de la actividad del Factor VIII en plasma citratado.

#### II. Resumen y fundamento

La actividad del Factor VIII en plasma se analiza mediante el nivel de corrección del Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) producido por el plasma problema al mezclarlo con el plasma deficiente en el factor. La corrección del plasma problema se compara con la producida por un plasma de referencia con actividad normal conocida del factor, tal como Pacific Hemostasis Universal Coagulation Reference Plasma (UCRP™).

#### III. Reactivo

Para uso diagnóstico *in vitro*.

#### Composición:

Plasma liofilizado que contiene estabilizador y está empobrecido en Factor VIII mediante anticuerpos inmovilizados muy *específicos*. La actividad del Factor VIII es menor del 1% de los niveles normales; todos los demás factores de coagulación están dentro del intervalo normal.

Conservar los frascos sin abrir a 2–8 °C. Todos los reactivos son estables a 2–8 °C hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del frasco. Reconstituir con 1,0 mL de agua destilada. Agitar suavemente hasta su completa disolución. **No congelar el plasma reconstituído.** El plasma reconstituído es estable durante 8 horas si se conserva tapado a 2–8 °C.\* Los valores erróneos, las variaciones de color del producto o la ausencia de vacío en los frascos pueden ser indicativos del deterioro del producto.

**¡PRECAUCIÓN! PELIGRO BIOLÓGICO:** Contiene material de origen humano. Aunque todas las unidades de donantes de suero humano o de plasma utilizadas en la fabricación de este producto fueron analizadas con métodos aprobados por la FDA, resultando no reactivas para el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), los anticuerpos de la hepatitis C (VHC) y los anticuerpos del VIH-1/2, todos los productos fabricados con material de origen humano deben manipularse como potencialmente infecciosos. Dado que ningún método de prueba puede ofrecer la seguridad completa de la ausencia de virus de hepatitis B o C, VIH, u otros agentes infecciosos, estos productos deben manipularse de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio establecidas.

#### IV. Recogida de muestras

Se recomienda utilizar como anticoagulante, citrato trisódico al 3,2 % (0,109 M) para las pruebas de coagulación. Evitar la hemólisis y la contaminación por los fluidos tisulares. Rechazar las muestras con volumen de llenado inferior al 90 % del volumen esperado. Centrifugar la sangre durante 15 minutos a 2500 g. Realizar la prueba antes de las 2 horas de la extracción si las muestras han sido conservadas a 22–24 °C. Para más información sobre la recogida y conservación de las muestras, consultar el documento H21-A3 del NCCLS\*.

#### V. Procedimiento de la prueba

Este producto puede utilizarse con métodos manuales, mecánicos, fotográficos o nefelométricos, para la detección de coágulos. Para obtener información específica, consultar con el fabricante del instrumento. El siguiente procedimiento presupone el uso de un método manual.

#### Materiales suministrados:

Immunodepleted Factor VIII Deficient Plasma (Human, Dried), 10 x 1 mL.

#### Material necesario pero no suministrado:

Pacific Hemostasis APTT Reagent.  
Pacific Hemostasis Calcium Chloride Reagent.  
Pacific Hemostasis Diluting Fluid (Barbital Buffered Saline).  
Pacific Hemostasis Universal Coagulation Reference Plasma.  
Tubos de ensayo de plástico. Pipetas de precisión.  
Agua destilada. Papel de gráficos log-log.

#### Notas sobre el procedimiento:

- Realizar todas las pruebas por duplicado. Entre ambas pruebas sólo puede haber una discrepancia del 5 %; repetir las si es necesario.
- Preparar las diluciones inmediatamente antes de la prueba.
- Debe prepararse una curva de calibración nueva cada vez que se realice una prueba.

#### Preparación de la curva de referencia de la actividad del factor:

- Reconstituir un frasco de Pacific Hemostasis UCRP. Consultar el prospecto que acompaña a este reactivo para ver las instrucciones sobre reconstitución, almacenamiento y estabilidad.
- Reconstituir y mezclar suficientes frascos de Immunodepleted Factor Deficient Plasma para disponer de 0,2 mL para cada dilución a analizar.
- Para trazar la curva de calibración, etiquetar 5 tubos de plástico y pipetear el Pacific Hemostasis Diluting Fluid (Barbital Buffered Saline) y UCRP en cada una de ellas, según el gráfico siguiente. Tapar y mezclar

Tubo n°	Diluyente Líquido	UCRP	Dilución	Factor de dilución	% Actividad del factor
1	0,9 mL	0,1 mL	1:10	1	110
2	1,9 mL	0,1 mL	1:20	2	55
3	3,9 mL	0,1 mL	1:40	4	27,5
4	3,95 mL	0,05 mL	1:80	8	13,8
5	1,0 mL	1,0 mL Probeta n° 4	1:160	16	6,9

con cuidado.

\* El gráfico es sólo un ejemplo. Basado en un valor asignado del 110 % para la actividad del factor en el UCRP

#### Estándares, controles y muestras problema:

Preparar diluciones de las muestras de paciente y de control. Deben analizarse al menos tres diluciones diferentes de las muestras del paciente, empezando por la misma dilución que el punto inicial de la curva (p.ej., 1:10, 1:20, 1:40).

- Precalentar Pacific Hemostasis Calcium Chloride Reagent a 37 °C. Consultar el prospecto del APTT Reagent para obtener información sobre el cloruro de calcio que debe utilizarse.
- Pipetear 0,1 mL de APTT Reagent en una cubeta. Incubar entre 3 y 20 minutos.
- Añadir a la cubeta 0,1 mL de Factor Deficient Plasma y 0,1 mL de dilución de estándar de control o del plasma de paciente. Mezclar bien. Consultar el prospecto del APTT Reagent para ver el tiempo de activación.
- Añadir 0,1 mL de Calcium Chloride precalentado y cronometrar la formación del coágulo.

#### VI. Resultados

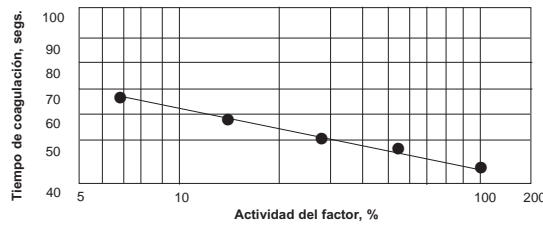
##### Curva de referencia

- Para cada dilución de UCRP, calcular la media de los tiempos de coagulación duplicados en el 0,1 de segundo más próximo.
- Calcular la actividad del factor presente en cada dilución de UCRP. La primera dilución (1:10 en el ejemplo) corresponde a un 100 % de actividad del factor; por lo tanto, la actividad del factor de esta dilución es igual al valor de ensayo del UCRP. El factor de dilución representa la relación entre la primera dilución y las siguientes. Dividir el valor de ensayo del estándar por el factor de dilución, para determinar el porcentaje de actividad de cada dilución. Consultar la tabla en la sección V.
- Representar el tiempo de coagulación medio de cada dilución frente al porcentaje de actividad utilizando papel de gráficos log-log. Trazar la línea recta que mejor se ajuste a los puntos.

##### Muestras y controles:

- Para cada dilución de la muestra, calcular la media de los tiempos de coagulación duplicados en el 0,1 de segundo más próximo.

- Localizar el tiempo de coagulación medio en el eje vertical de la curva de referencia. Buscar el punto correspondiente en la línea de referencia y leer el porcentaje de actividad de la dilución en el eje horizontal del gráfico. Los tiempos de coagulación que se salgan de los límites de la curva no deben utilizarse.
- Multiplicar el porcentaje de actividad del gráfico por el factor de dilución adecuado, para determinar el porcentaje de actividad real de cada dilución. Si los valores recuperados para las diluciones individuales no coinciden, deberán realizarse nuevas diluciones y repetirse las pruebas. Si siguen sin coincidir, deberá considerarse la posibilidad de que exista un inhibidor.



Cálculo de la muestra. Utilizando la curva de referencia indicada, una dilución 1:10 del plasma del paciente de 60,0 segundos, tendría una actividad de factor calculada del 10 %. Una dilución de 1:20 que da como resultado 60,0 segundos, tendría una actividad de factor del 20 %. (Dilución del factor x actividad = resultado final).

#### VII. Control de calidad

Para validar la curva de referencia deben analizarse plasmas de referencia valorados, como el Pacific Hemostasis Abnormal Coagulation Reference Plasma (ACRP™) y un número de lote distinto de UCRP Al ACRP se le han asignado valores de los factores de coagulación dentro del intervalo considerado anormal. Cada lote de ACRP variará, pero se espera que los valores se encuentren aproximadamente dentro del 30–50 % de lo considerado normal. El uso de este plasma proporciona una excelente comprobación del control de calidad de la exactitud de las determinaciones de factores en la parte más inferior de la curva de referencia. Debe analizarse un lote adicional de UCRP (que no sea el utilizado para la curva estándar) como control dentro del intervalo normal. Los valores reales obtenidos dependen de la técnica individual, del instrumento, del estándar y del reactivo utilizados.

#### VIII. Limitaciones

Las variables tales como la temperatura, la estabilidad del reactivo, las condiciones de la muestra de plasma, el funcionamiento del instrumento y la técnica individual, pueden influir en los resultados de la actividad del factor. Dado que existen muchas variables que contribuyen al funcionamiento del ensayo, cada laboratorio debe establecer su propio intervalo de referencia, así como límites aceptables de control de calidad. Los resultados discrepantes entre diluciones pueden ser indicativos de la presencia de un inhibidor.

#### IX. Valores esperados

El plasma normal producirá valores de actividad del factor entre el 50 y el 150 % de lo considerado normal\*\*.

#### X. Características de funcionamiento

El producto Pacific Hemostasis Immunodepleted Factor VIII Deficient Plasma actuará según las limitaciones del procedimiento aquí descrito, siempre que se utilice conjuntamente con Pacific Hemostasis Reagents. La precisión y exactitud del plasma deficiente se evaluaron preparando curvas estándar durante 8–10 días, y determinando la recuperación de la actividad del Factor VIII contenida en cinco plasmas control congelados. Los valores del FVIII recuperados se encontraban dentro del 2 % de los valores de control esperados. Los resultados se indican a continuación\*:

	Récuperação día a día de la actividad del FVIII (%) contenida en los plasmas control*				
	Control n° 1	Control n° 2	Control n° 3	Control n° 4	Control n° 5
media	130,9	95,5	65,6	33,6	18,0
1 SD	6,46	4,63	1,82	2,13	1,32
% CV	4,9	4,8	2,8	6,3	7,3
días de pruebas	8	8	10	8	8

\*Pruebas con Pacific Hemostasis APTT-LS Reagent en el MLA®-1000C™. Curva estándar R<sup>2</sup> = 0,99 en todos los días de pruebas.

#### XI. Bibliografía

- NCCLS. *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays*. 3rd edition, Approved guideline. NCCLS Document H21-A3. Wayne, PA, 1998.
- Powers, L.W. *Technical Hematology*. In: Diagnostic Hematology. 1989. Bircher S. (Ed.). The C.V. Mosby Co., St. Louis, MO, p.484.
- Los datos de estabilidad proceden de DHF.
- Información procedente de un archivo de 510(K).

### Immunodepleted Factor VIII Deficient Plasma (Human)

#### I. Uso previsto

Il Pacific Hemostasis® Immunodepleted Factor VIII Deficient Plasma è destinato ad essere utilizzato come substrato nella determinazione quantitativa dell'attività del Fattore VIII nel plasma citrato.

#### II. Riepilogo e principi del test

L'attività del Factor VIII nel plasma viene valutata in base al livello di correzione dell'APTT (Activated Partial Thromboplastin Time) prodotta dal plasma da testare miscelata con il plasma carente di fattore. La correzione della porzione sconosciuta viene confrontata con quella prodotta da un plasma di riferimento con una normale attività del fattore, come ad esempio il Pacific Hemostasis Universal Coagulation Reference Plasma (UCRP™).

#### III. Reagente

Per la diagnostica *in vitro*.

##### Composizione:

Plasma liofilizzato contenente uno stabilizzante carente di Factor VIII per opera di anticorpi immobilizzati altamente *specifici*. L'attività del Factor VIII è inferiore all'1 % dei livelli normali, tutti gli altri fattori di coagulazione rientrano nel range normale.

Conservare le fiale chiuse a 2-8 °C. Ogni reagente è stabile a 2-8 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del fiasco. Ricostituire con 1,0 mL di acqua distillata. Agitare delicatamente fino a soluzione completa. **Non congelare il plasma ricostituito.** Il plasma ricostituito è stabile per 8 ore se conservato ben tappato a 2-8 °C. Valori errati, variazioni di colore del prodotto o la perdita di vuoto nelle fiale possono essere indice di un deterioramento del prodotto.

**CAUTELA! POTENZIALE BIORISCHIO:** Contiene materiale di origine umana. Nonostante ogni unità dei donatori di siero o plasma umano utilizzata nella realizzazione di questo prodotto sia stata testata secondo i metodi approvati dalla FDA e sia risultata non reattiva per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg), gli anticorpi dell'epatite C (HCV) e gli anticorpi HIV-1/2, tutti i prodotti ottenuti utilizzando materiale di origine umana devono essere trattati come fossero potenzialmente infetti. Poiché non esiste nessun metodo di controllo in grado di garantire in modo completo l'assenza del virus dell'epatite B o C, dell'HIV o di altre malattie infettive, questi prodotti devono essere trattati secondo le buone pratiche di laboratorio.

#### IV. Raccolta dei campioni

Per il test sulla coagulazione si raccomanda l'uso dell'anticoagulante al citrato trisodico al 3,2 % (0,109 M). Evitare l'emolisi e la contaminazione da parte dei liquidi tissutali. Non utilizzare i campioni con un volume di riempimento previsto inferiore al 90 %. Centrifugare il sangue per 15 minuti a 2500 x g. Verificare entro 2 ore se la temperatura dei campioni è costante sui 22-24 °C. Per maggiori informazioni sulla raccolta e sulla conservazione dei campioni vedere il documento NCCLS H21-A3.

#### V. Procedura del test

Questo prodotto è indicato per l'uso con metodi di rilevazione del coagulo manuale, meccanico, foto-ottico oppure nefelometrico. Per informazioni più specifiche, rivolgersi al produttore dello strumento. La procedura descritta di seguito è basata sull'esecuzione del metodo manuale.

##### Materiali in dotazione:

Immunodepleted Factor VIII Deficient Plasma (Human, Dried), 10 x 1 mL

##### Materiali necessari, ma non in dotazione:

Reagente APTT Pacific Hemostasis.  
Reagente Pacific Hemostasis Calcium Chloride.  
Pacific Hemostasis Diluting Fluid (Barbital Buffered Saline).  
Pacific Hemostasis Universal Coagulation Reference Plasma.  
Provette di plastica. Pipette di precisione.  
Acqua distillata. Carta millimetrata a doppia scala logaritmica.

##### Note sulla procedura:

- Eseguiare tutti i controlli in doppio. Le coppie dovranno coincidere entro un livello di tolleranza del 5 %, ripetere se necessario.
- Preparare le diluizioni immediatamente prima dell'esecuzione dell'analisi.
- Preparare una nuova curva standard ogni volta che viene eseguito il controllo.

##### Preparazione della curva di riferimento dell'attività del fattore:

- Ricostituire una fiala di Pacific Hemostasis UCRP. Per le istruzioni sulla ricostituzione, conservazione e stabilità vedere l'insero nella confezione fornito con questo reagente.
- Ricostituire e riunire un numero di fiale di Immunodepleted Factor Deficient Plasma sufficiente a permettere di testare 0,2 mL per ciascuna diluizione.
- Per ottenere una curva standard, etichettare 5 provette e pipettare Pacific Hemostasis Diluting Fluid (Barbital Buffered Saline) e UCRP in ciascuna provetta come indicato nel grafico in basso. Chiudere e miscelare delicatamente.

Provetta n.	In diluizione Liquido	UCRP	Diluizione	Diluizione Fattore	% fattore Attività in diluizione*
1	0,9 mL	0,1 mL	1:10	1	110
2	1,9 mL	0,1 mL	1:20	2	55
3	3,9 mL	0,1 mL	1:40	4	27,5
4	3,95 mL	0,05 mL	1:80	8	13,8
5	1,0 mL	1,0 mL Provetta n.4	1:160	16	6,9

\*Il grafico è a titolo esemplificativo. Basato sul valore assegnato pari al 110 % di attività del fattore UCRP.

##### Standard di verifica, controlli e campioni:

Preparare le diluizioni del paziente ed i campioni di controllo. Dovranno essere sottoposti al controllo almeno tre diversi campioni di diluizione del paziente, partendo dalla stessa diluizione prevista come primo punto della curva (ovvero 1:10, 1:20, 1:40).

- Preiscaldare il reagente Pacific Hemostasis Calcium Chloride a 37 °C. Per maggiori informazioni sul Calcium Chloride adatto da utilizzare, vedere l'insero del reagente APTT.
- Versare 0,1 mL di reagente APTT in una cuvetta. Incubare per più di 3 minuti, ma meno di 20 minuti.
- Aggiungere 0,1 mL di Factor Deficient Plasma e 0,1 mL di diluizione standard di controllo o di plasma del paziente nella cuvetta. Miscelare bene. Per la durata dell'attivazione, vedere le indicazioni nell'insero della confezione del reagente APTT.
- Aggiungere quindi 0,1 mL di Calcium Chloride preriscaldato e cronometrare il tempo di formazione del coagulo.

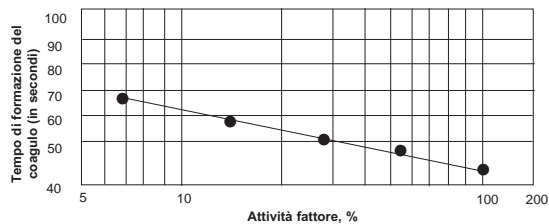
#### VI. Risultati

##### Curva di riferimento

- Per ciascuna diluizione di UCRP, calcolare la media delle coppie dei tempi di coagulazione allo 0,1 secondi più vicino.
- Calcolare l'attività del fattore presente in ciascuna diluizione dell'UCRP. La prima diluizione (1:10 nell'esempio) corrisponde al 100 % dell'attività del fattore, quindi l'attività del fattore di questa diluizione è pari al valore di prova dell'UCRP. Il fattore di diluizione rappresenta il rapporto tra la prima diluizione e quelle successive. Dividere il valore di analisi dello standard per il fattore di diluizione per determinare l'attività in percentuale per ciascuna diluizione. Vedere la tabella nella sezione V.
- Riportare il tempo di coagulazione medio di ciascuna diluizione rispetto alla sua attività in percentuale utilizzando la carta millimetrata a doppia scala logaritmica. Realizzare una linea dritta la più adeguata possibile.

##### Campioni di prova e controlli

- Per ciascuna diluizione di campione di prova, calcolare la media dei tempi di coagulazione in doppio arrotondando allo 0,1 secondi più vicino.
- Riportare l'intervallo di coagulazione medio sull'asse verticale della curva di riferimento. Trovare il punto corrispondente sulla linea di riferimento e leggere l'attività in percentuale della diluizione sull'asse orizzontale del grafico. Gli intervalli di coagulazione esterni ai limiti della curva non devono essere riportati.
- Moltiplicare la percentuale di attività del grafico per il fattore di diluizione adeguato per determinare l'attività in percentuale per ciascuna diluizione. Se i valori ottenuti per le singole diluizioni non dovessero concordare tra loro, eseguire delle nuove diluizioni e ripetere le prove. Se dovessero continuare a non concordare, considerare la possibilità della presenza di un inibitore.



Calcolo di un campione. Utilizzando la curva di riferimento di cui sopra, una diluizione di 1:10 di plasma del paziente che abbia 60,0 secondi avrebbe un'attività calcolata del fattore del 10 %. Una diluizione di 1:20 che abbia 60,0 secondi avrebbe un'attività del fattore del 20 %. (Fattore di diluizione x attività = risultato finale).

#### VII. Controllo della qualità

Plasma di riferimento, tra cui il Pacific Hemostasis Abnormal Coagulation Reference Plasma (ACRP™) ed un lotto supplementare di UCRP dovranno essere testati per convalidare la curva di riferimento. All'ACRP vengono assegnati i valori per i fattori di coagulazione nel range anormale. Ogni lotto di ACRP varia, ma i valori devono essere pari circa al 30-50 % del normale. L'impiego di questo plasma consente di disporre di un controllo di qualità eccellente in termini di precisione per la determinazione dei fattori in corrispondenza dell'estremità inferiore della curva di riferimento. Il controllo di un lotto di UCRP supplementare (diverso da quello utilizzato per la curva standard) dovrà essere utilizzato come controllo nel range normale. I valori attuali ottenuti dipendono dalla singola tecnica, dagli strumenti, dallo standard e dal reagente utilizzato.

#### VIII. Limitazioni

Variabili quali la temperatura, la stabilità del reagente, le condizioni dei campioni di plasma, le prestazioni degli strumenti e la tecnica individuale possono influenzare i risultati relativi all'attività del fattore. Poiché esistono numerose variabili che contribuiscono ai risultati della prova, ogni laboratorio deve stabilire il proprio range di riferimento ed i propri limiti accettabili di controllo della qualità. Eventuali risultati discrepanti tra le diluizioni possono essere indice della presenza di un inibitore.

#### IX. Valori attesi

Un plasma normale riporterà valori di attività del fattore compresi tra il 50 ed il 150 % del normale.<sup>2,4</sup>

#### X. Caratteristiche delle prestazioni

Il Pacific Hemostasis Immunodepleted Factor VIII Deficient si comporterà conformemente ai limiti della procedura descritta nel presente documento quando testato con i Pacific Hemostasis Reagents. La precisione e l'accuratezza del plasma carente sono state determinate preparando alcune curve standard di 8 - 10 giorni e determinando il recupero dell'attività del Fattore VIII contenuto in cinque plasmi di controllo congelati. I valori FVIII ottenuti rientravano nel 2 % dei valori di controllo previsti. I risultati sono riportati di seguito:

	Recupero di giorno in giorno dell'attività FVIII (%) nei plasma di controllo*				
	Controllo #1	Controllo #2	Controllo #3	Controllo #4	Controllo #5
Media	130,9	95,5	65,6	33,6	18,0
1 SD	6,46	4,63	1,82	2,13	1,32
% CV	4,9	4,8	2,8	6,3	7,3
Giornate di prova	8	8	10	8	8

\*La verifica con il reagente Pacific Hemostasis APTT-L è stata eseguita con lo strumento MLA-1000C™. Curva standard R<sup>2</sup> = 0,99 su tutti i giorni di prova.

#### XI. Bibliografia

- NCCLS. *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays*. 3a Edizione, Approved guideline. NCCLS Document H21-A3. Wayne, PA, 1998.
  - Powers, L.W. *Technical Hematology*. In: *Diagnostic Hematology*. 1989. Bircher S. (Ed.). The C.V. Mosby Co., St. Louis, MO, p.484.
  - I dati relativi alla stabilità sono stati ottenuti da DHF.
- 4-5. Dati ottenute dal file 510(k).

Notizie utili per effettuare l'ordine		
Cat. N.	Descrizione	Contenuto
100806	Immunodepleted FVIII Deficient Plasma	10 x 1 mL
100644	Diluting Fluid (Barbital Buffered Saline)	2 x 100 mL
100301	UCRP	10 x 1 mL
100603	ACRP	10 x 1 mL

#### GARANZIA LIMITATA FISHER DIAGNOSTICS®

Fisher Diagnostics (FD) garantisce all'acquirente esclusivamente che i prodotti FD avranno prestazioni conformi a quanto descritto nell'etichetta e nella documentazione del prodotto. L'acquirente è tenuto ad accertare l'idoneità dei prodotti FD alle applicazioni specifiche. In caso di un prodotto non conforme o difettoso, l'unico obbligo di FD è rappresentato, a sua discrezione, dalla sostituzione oppure dal rimborso del prezzo di acquisto. FD RIFIUTA QUALSIASI ALTRA GARANZIA, ESPRESSA O IMPLICITA, INCLUSO LE GARANZIE DI COMMERCIALITÀ ED IDONEITÀ A QUALSIASI SCOPO PARTICOLARE. Né la FD né le sue affiliate sarà in alcun caso ritenuta responsabile di perdite o danni incidentali o indiretti.












Pacific Hemostasis® è un marchio registrato di Fisher Scientific Company L.L.C.  
Fisher Diagnostics® è un marchio registrato di Fisher Scientific Company L.L.C.  
MLA®-1000C™ è un marchio registrato di Instrumentation Laboratory.  
UCRP™ è un marchio registrato di Fisher Scientific Company L.L.C.  
ACRP™ è un marchio registrato di Fisher Scientific Company L.L.C.



MDCI Ltd.  
Arundel House  
1 Liverpool Gardens  
Worthing, West Sussex BN11 1SL  
Regno Unito

 **Fisher Diagnostics®**  
Fisher Scientific Company L.L.C.  
8365 Valley Pike  
Middletown, VA 22645-0307,  
Stati Uniti  
1-(800) 528-0494 solo per gli USA



Symbols Key	
	Manufacturer Hersteller Fabricant Fabricante Fabbricante
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device Medizinprodukt für die <i>in-vitro</i> -Diagnostik Matériel médical pour utilisation diagnostique <i>in vitro</i> Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i> Dispositivo medico per diagnosi <i>in vitro</i>
	Lot Number Chargennummer Numéro de lot Número de lote Numero di lotto
	Use By Verfallsdatum Utiliser jusque Fecha de caducidad Da utilizzare entro
	Temperature Limitation Temperatureinschränkungen Limite de température Limite de temperatura Limiti di temperatura
	CE Mark CE-Markierung Marquage CE Marca CE Marchio CE
	Catalogue Number Katalognummer Référence catalogue Número de catálogo Numero di catalogo
	Consult Instructions for Use Bedienungsanleitung lesen Consulter le manuel d'utilisation Consultar las instrucciones de uso Consultare le istruzioni per l'uso
	Pack Date Verpackungsdatum Date d'emballage Fecha de envasado Data di confezionamento
	Authorized Representative in the European Community Autorisierte Vertretung in der Europäische Gemeinschaft Représentant agréé pour la Communauté européenne Representante autorizado en la Comunidad Europea Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
	Biological Risks Biologische Risiken Risques biologiques Riesgos biológicos Rischi biologici