



TriniCLOT™ Factor VIII, IX, XI, XII

REF	T1508	10 x 1 ml
REF	T1509	10 x 1 ml
REF	T1511	10 x 1 ml
REF	T1512	10 x 1 ml
ESPAÑOL		

USO PREVISTO

TriniCLOT Factor VIII, IX, XI o XII Deficient Human Plasma se emplea para la determinación cuantitativa de factores en plasma humano por ensayo de coagulación.

TriniCLOT Factor VIII también se puede utilizar como control negativo en ensayos de Factor vonWillebrand, puesto que carece del Factor VIII vWF.

RESUMEN Y PRINCIPIO

El Factor VIII es un cofactor en la activación del Factor X de coagulación por el Factor IXa.

El Factor IX es un factor coagulante que, al activarse y convertirse en el Factor IXa, produce a su vez la activación del Factor X en presencia del Factor VIIIa, calcio y fosfolípidos.

El Factor XI es un factor de coagulación que, tras su activación por el Factor XIIa durante la activación de contacto, produce la activación rápida del Factor IX a Factor IXa, que depende de la presencia de calcio.

El Factor XII es un factor de coagulación que se activa al entrar en contacto con vidrio o caolín. El Factor XII activado, en combinación con el Factor XI, puede causar la activación del Factor IX.

Las muestras de plasma con deficiencia severa del Factor VIII, IX, X o XII tienen Tiempos de Tromboplastina Parcial Activado (TTPA) mucho más prolongados. Cuando el plasma de un paciente se mezcla con otro plasma con una deficiencia conocida en un factor específico (congénito o inmunodeprimido), se produce una corrección en el tiempo de coagulación proporcional al nivel de dicho factor en el plasma del paciente.

REACTIVO

Para uso diagnóstico *in vitro*.

DESCRIPCIÓN DEL REACTIVO

TriniCLOT Factor VIII, 10 x 1 ml, T1508A
TriniCLOT Factor IX, 10 x 1 ml, T1509A
TriniCLOT Factor XI, 10 x 1 ml, T1511A
TriniCLOT Factor XII, 10 x 1 ml, T1512A

Cada vial contiene 1 ml de plasma humano liofilizado, del que se ha eliminado el factor diana por inmovilización en una columna de IgG policlonal inmovilizada de origen caprino específico para el factor humano diana. Se ha determinado que la actividad del factor diana es inferior al 1%, mientras que los otros factores de coagulación están dentro de los límites normales.

Nota: se ha eliminado el Factor VIII (FVIIIc y FVIII vWF).

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reconstituir cada vial con 1 ml de agua purificada. Mezclar cuidadosamente y dejar reposar 20 minutos a temperatura ambiente (18-25°C) para garantizar una completa disolución. Conservar a 2-8°C hasta su uso.

MATERIALES ADICIONALES NECESARIOS

Agua purificada o equivalente
Plasma normal mezclado o plasma de referencia comercial
Tampón de ensayo del factor
Reactivo TTPA y cloruro de calcio adecuado
Pipetas de distintas capacidades: 10-100, 100-1000 y 1000-5000 µl
Tubos de ensayo (plástico)
Instrumental de hemostasia
Papel logarítmico

MATERIALES DISPONIBLES

- Tampón de ensayo del factor: tampón imidazol
- Reactivo TTPA
- Cloruro de calcio
- Material de referencia y control
- Instrumental de hemostasia

INSTRUMENTOS

Existen adaptadores de método/aplicaciones para analizadores específicos bajo pedido. Para solicitar uno, póngase en contacto con su comercial local.

El número de pruebas obtenidas con instrumentos concretos puede variar.

ALMACENAJE Y ESTABILIDAD

Todos los reactivos no reconstituidos se mantienen estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas de la caja y del vial si se conservan a una temperatura comprendida entre 2-8°C.

El plasma reconstituido es estable durante ocho horas si se conserva a 2-8°C.

OBTENCIÓN Y ALMACENAJE DE MUESTRAS

Se deben obtener nueve volúmenes de sangre en un volumen de citrato de sodio al 3,2% (0,109 M). Inmediatamente después de obtener las muestras de sangre, las muestras se centrifugan a 1500 x g durante 15 minutos. No se recomienda su almacenaje a 2-8°, pues podría causar una activación en frío del Factor VII. Consulte la versión más reciente del documento H21 de CLSI para obtener instrucciones adicionales sobre la obtención y el almacenaje de muestras.¹

PROCEDIMIENTO

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Todas las unidades originales de plasma utilizadas en esta preparación se han comprobado con un método aprobado por la FDA para la detección de anticuerpos del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) Tipos I y II, antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg) y hepatitis C (HCV), resultando negativas a todas ellas (no fueron repetidamente reactivas). No obstante, ninguna prueba puede garantizar completamente la ausencia de transmisión de infecciones en productos derivados de la sangre humana. Al igual que los demás materiales de origen humano, este producto debe manipularse como material potencialmente infeccioso. Todos los residuos que contengan material biológico deben marcarse adecuadamente y almacenarse por separado de otros residuos. Deseche todo el material de residuo de acuerdo con la legislación internacional, nacional y local aplicable.

La prueba debe utilizarse en combinación con observaciones clínicas y con los resultados de otras pruebas de laboratorio.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Prepare patrones de plasma según se detalla en la sección «Calibración del ensayo».

1. Reconstituir el reactivo TTPA según las instrucciones del fabricante. Transfiera la cantidad necesaria para realizar el ensayo a un baño de agua a 37°C o a una cubeta de reactivos con calor controlado en el coagulómetro. No devuelva al vial la porción no utilizada.
2. Transfiera el reactivo de cloruro de calcio a un baño de agua a 37°C o a una cubeta de reactivos con calor controlado en el coagulómetro.
3. En una cubeta de coagulación :
 - Añada 0,1 ml de plasma deficiente del factor diana + 0,1 ml de disolución patrón de plasma
 - Mezcle e incúbelo a 37°C durante 2 minutos
 - Añada 0,1 ml de reactivo TTPA
 - Mezcle e incúbelo a 37°C durante 3-5 minutos
 - Añada 0,1 ml de cloruro de calcio
 - Encienda el coagulómetro y anote el tiempo de coagulación
 - Obtenga determinaciones duplicadas para cada dilución de plasma

Nota: siga las instrucciones del fabricante relativas al tiempo óptimo de activación del reactivo TTPA.
4. Repita el paso 3 para las diluciones de plasma del paciente, por duplicado.
5. Prepare como mínimo dos diluciones de plasma de prueba (1:10 y 1:20). Los resultados obtenidos deben estar dentro de la parte sensible (lineal) de la curva. Si no lo están, prepare diluciones adecuadas.

Calibración del ensayo

Para la preparación de las diluciones patrón de plasma también puede utilizarse un plasma de referencia para el que se haya determinado el factor diana, por ejemplo TriniCAL Reference Plasma (n° cat. T5102) o un plasma mezclado normal que se haya recogido de la misma forma que los plasmas a analizar. Prepare diluciones en serie (1:5 a 1:40) del plasma de referencia (mezcla normal o preparado comercial) en tampón como sigue:

% de actividad del factor	Dilución	Volumen de plasma	Volumen de tampón
Valor específico del lote del calibrador	1:5	0,4 ml de plasma de pacientes o de referencia	1,6 ml
Valor específico del lote del calibrador dividido por 2	1:10	1,0 ml de dilución patrón 1:5	1,0 ml
Valor específico del lote del calibrador dividido por 4	1:20	1,0 ml de dilución patrón 1:10	1,0 ml
Valor específico del lote del calibrador dividido por 8	1:40	1,0 ml de dilución patrón 1:20	1,0 ml

Si se requiere una curva patrón ampliada para cuantificar una deficiencia de factor más severa en la muestra de un paciente, se pueden realizar diluciones patrón adicionales del plasma de referencia como sigue:

% de actividad del factor	Dilución	Volumen de plasma	Volumen de tampón
Valor específico del lote del calibrador dividido por 32	1:80	1,0 ml de dilución patrón 1:40	1,0 ml
Valor específico del lote del calibrador dividido por 16	1:160	1,0 ml de dilución patrón 1:80	1,0 ml

INFORMACIÓN SOBRE EL PEDIDO

Individual Reagents

Catalogue No.	Item	Quantity
T1508	TriniCLOT Factor VIII	10 x 1 ml
T1509	TriniCLOT Factor IX	10 x 1 ml
T1511	TriniCLOT Factor XI	10 x 1 ml
T1512	TriniCLOT Factor XII	10 x 1 ml

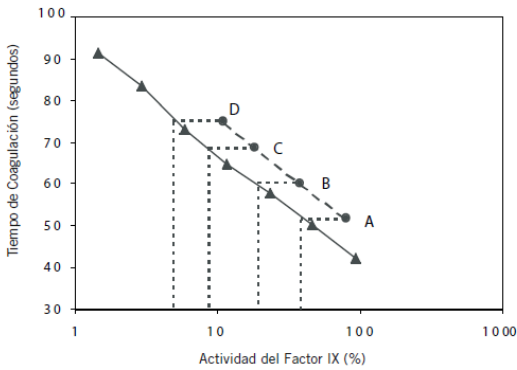
OPTIONAL REAGENTS

Catalogue No.	Item	Quantity
T5102	TriniCAL Reference Plasma	10 x 1 ml
T4101	TriniCHECK Control 1 (assayed)	10 x 1 ml
T4102	TriniCHECK Control 2 (assayed)	10 x 1 ml
T4103	TriniCHECK Control 3 (assayed)	10 x 1 ml
T1201	TriniCLOT aPTT S	5 x 10 ml
T1202	TriniCLOT aPTT S	5 x 3 ml
T1203	TriniCLOT aPTT HS	10 x 10 ml
T1204	TriniCLOT aPTT HS	10 x 3 ml
T1205	TriniCLOT Automated aPTT	10 x 6 ml
T1206	TriniCLOT Automated aPTT	10 x 3 ml
T1901	TriniCLOT Imidazole Buffer	6 x 20 ml
T1902	TriniCLOT Calcium Chloride	10 x 10 ml

Curva de calibración

Represente en papel logarítmico los tiempos de coagulación obtenidos con cada dilución patrón de plasma frente al % de factor.

Se indica sólo a título de ejemplo: no utilizar para interpolación



CONTROL DE CALIDAD

Se puede utilizar TriniCHECK Control 1, 2 y 3 para el control de calidad del ensayo. Los controles deben incluirse a intervalos adecuados siguiendo las recomendaciones de su agencia de acreditación. El nivel de factor diana obtenido para cada control debe estar dentro de los límites especificados en la información proporcionada para ese lote concreto. Si las muestras de control de calidad no producen concentraciones del factor diana dentro de dichos límites en una serie dada, debe repetirse la serie con viales de reactivos recién reconstituidos. Si los controles siguen sin producir niveles de concentración del factor diana dentro de los límites de aceptabilidad especificados, póngase en contacto con Tcoag.

RESULTADOS

Lea el porcentaje de actividad del factor en la curva patrón hallando el punto en que el tiempo de coagulación de la dilución del plasma del paciente corta la curva patrón. El valor calculado para cada dilución subsiguiente se debe multiplicar por el factor de dilución. El porcentaje corregido de la actividad del factor obtenido en cada dilución se debe promediar para obtener el porcentaje de actividad del factor relativo al patrón de referencia.

Los puntos A, B, C y D del gráfico anterior representan respectivamente los resultados de las diluciones del plasma al 1:5, 1:10, 1:20, y 1:40 de la muestra de plasma del paciente.

A continuación se ilustra un ejemplo de cálculo para cuantificar el % de Factor II en una muestra de paciente.

Punto del gráfico	Intersección con el eje x		Factor de dilución		% final concentración Factor II
A	39,0	X	1	=	39,0
B	18,9	X	2	=	37,8
C	8,71	X	4	=	34,8
D	4,78	X	8	=	38,2

% Medio final de concentración

$$\frac{39,0 + 37,8 + 34,8 + 38,2}{4} = 37,5\% \text{ de Factor}$$

LIMITACIONES

Las diluciones de plasma del paciente y las diluciones patrón deben producir líneas paralelas. La ausencia de líneas paralelas puede indicar la presencia de un inhibidor en el plasma del paciente.

REFERENCIAS

1. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline—Fifth Edition*. CLSI document H21-A5 Vol. 28, No. 5, 2008.



Tcoag Ireland Limited,
IDA Business Park,
Southern Cross Road,
Bray, Co. Wicklow,
Ireland.
Tel. + 353 1 2743200
Fax +.353 1 2746678
www.tcoag.com
info@tcoag.com



T1508-T1509-T1511-T1512-29
Rev B 03/2011