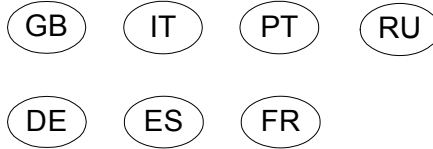


# TECHNOCHROM® F VIII:C



REF 5344101 TECHNOCHROM® F VIII:C



symbols key / Symbolschlüssel / interpretazione dei simboli / explicación de símbolos / explicação dos símbolos / clé des symboles / Symbolnyckel / symbolforklaring / Tegnforklaring / Κλειδί συμβόλων / Използвани символи / символы / Ključova slova / Značenje simbola			
	manufacturer / Hersteller / fabbricante / fabricante / fabricant / Tillverkaren / Fabrikanten / Produzent / Κατασκευαστής / Производитель / Производител / výrobc / Proizvođač		expiry date / Verfallsdatum / data di scadenza / fecha de caducidad / data de validade / date d'expiration / utgångsdatum / udløbsdato / Utløpsdato / Ημερομηνία λήξης / срок на годност / datum expirace/ срок годности / datum expirace / Rok trajanja
	storage temperature / Lagertemperatur / temperatura di conservazione / temperatura de conservación / temperatura de conservação / température de stockage / lagringstemperatur / orbevaringstemperatur / Oppbevaringstemperatur / θερμοκρασία αποθήκευσης / съхранение на / teplota skladování / температура хранения / teplota skladování / Temperatura lagerovanja		consult instructions for use / Gebrauchsanweisung beachten / consultare le istruzioni per l'uso / consulte las instrucciones de uso / consultar o manual de instruções / instruction d'utilisation / se användarinstruktioner / følg brugsvejledning / Følg bruksanvisningen / συμβουλευθείτε τις οδηγίες για τη χρήση / прочетете инструкцията за работа / potřeba řídit se instrukcemi / перед использованием читайте инструкцию / sledujte návod k použití / Pročitaj uputstvo pre upotrebu
	CE-mark / CE-Kennzeichnung / marchio CE / marca de CE / Simbolo da CE / marquage CE / CE-märkning / CE-mærket / CE-merke / CE-σημάδι / CE марка / CE-označení / маркировка CE / značka CE / CE-marka		determinations / Bestimmungen / determinazioni / determinaciones / determinações / déterminations / bestämmingar / bestemmelser / Bestemmelser / προσδιορισμοί / брой тестове / stanovení / определний / počet stanovení / Definicija
<b>AQUA</b>	distilled water / destilliertes Wasser / acqua distillata / agua destilada / água destilada / eau distillée / destillerat vatten / destilleret vand / Destillert vann / απεσταγμένο νερό / destilirana voda / destilovaná voda / дистиллированная вода / destilovaná voda / Destilovaná Voda	<b>LOT</b>	lot / Charge / lotto / lote / lote / lot / sats / serie / Parti / παρτίδα / партида номер / šarže / lot / šarže / Serija
<b>BUF</b>	Reaction buffer / Reaktionspuffer / tampone di reazione / tampón de reacció / Tampão de reação / tampon de réaction / Reaktionsbuffert / Reaktionsbuffer / Reaktionsbuffer / διάλυμα αντίδρασης / Реакционен буфер / Рабочий буферный раствор / Reakční pufr / Reakcioni pufer	<b>MTP</b>	microtiter plate / Mikrotiterplatte / placa microtiter / microplaca / microplaca / microplaques sensibilisées / Mikrotiterplatta / Mikrotiterplade / mikrotiterplate / πλάκα μικροπιλοδότησης / Микротитерная плака / Микропланшет / Mikrotitrační destička / Mikrotitracione ploče
<b>CAL</b>	Calibrator / Kalibrator / Calibratore / calibrador / calibrador / calibreur / Kalibrator / Kalibrator / Kalibrator / Βαθμονομητής / Калибратор / калибратор / kalibrátor / Kalibrator	<b>REF</b>	catalogue number / Katalognummer / numero di catalogo / numéro de catálogo / número de referência / réf. de catalogue / katalognummer / Katalognummer / αριθμός καταλόγων / каталожен номер / katalogové číslo / каталожный номер / katalogové číslo / Kataloški broj
<b>CONJ</b>	Conjugate / Konjugat / Coniugato / conjugado / conjugado / conjugaté / Konjugerad / Konjugat / Konjugat / συνδεδετικό / Конюгат / Конъюгат / Konjugát / Konjugat	<b>RTU</b>	ready to use / gebrauchsfertig / pronto all'uso / listo para usar / pronto a usar / prêt à l'emploi / færdig att användas / færdig til brug / klar til bruk / έτοιμο προς χρήση / Готов за употреба / готов к использованию / k přímému použití / Razrediti ili rastvoriti
<b>CONT</b>	Control / Kontrolle / controllo / control / control / contrôle / Kontroll / Kontroll / Kontroll / διάλυμα ελέγχου / Контрол / Контрольный образец / Kontrola / Kontrola	<b>STOP</b>	stop solution / Stopplösung / Soluzione di arresto / solución de parada / solução de paragem / solution d'arrêt / Stopplösning / Stop-opløsning / Stoppløsning / διάλυμα παύσης / Стоп разтвор / Стоп-раствор / Zastavovací roztok / Stop solucija
<b>DIL</b>	dilute or dissolve in / verdünnen oder lösen in / diluire o dissolvere in / diluir o dissolver / diluir ou dissolver em / diluer ou dissoudre dans / späd eller upplös i / fortyndes eller opløses i / Fortyndes eller opløses i / αραίωση ή διάλυση σε / разтворете или разрежете с / zředit nebo rozpustit v / разбавить или растворить в / naředte nebo rozpustte v / razrediti ili rastvoriti u	<b>SUB</b>	substrate / Substrat / substrato / substrato / substrato / substrat / Substrat / Substrat / Substrat / υπόστρωμα / Субстрат / Субстрат / Substrát / Substrat
<b>INC</b>	incubation buffer / Inkubationspuffer / tampone di incubazione / tampón de incubación / tampão de incubação / tampon d'incubation / Inkubationsbuffert/ Inkubationsbuffer/ Vaskebufferkonsentrat / διάλυμα επώασης / Инкубационен буфер / Буфер для инкубации / Inkubací pufr / Inkubacioni pufer	<b>WASH</b>	washing solution concentrate / Waschlösungskonzentrat / concentrado de solución de lavado / solución de lavado concentrada / tampão de lavagem concentrado / Tampon de lavage concentré / Vattenlösningkoncentrat / Vaskeopløsningskoncentrat / vaskeløsningskoncentrat / συμπυκνωμένο διάλυμα πλύσης / Концентриран миеш разтвор / Концентрат промывочного раствора / Koncentrat promývavého roztoku / Koncentrat solucije za ispiranje
<b>RUO</b>	for research use only		

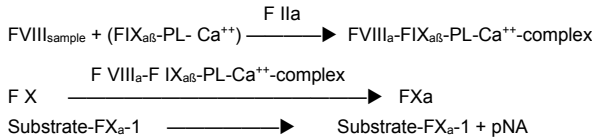


**PRODUCT DESCRIPTION**

**INTENDED USE**

TECHNOCHROM® F VIII:C contains reagents for the photometric determination of Factor VIII activity in plasma and for plasma derivatives. It can be used for assaying Factor VIII deficiencies as well as monitoring Factor VIII substitution therapies.

**TEST PRINCIPLE**



**COMPOSITION**

Reagent kit for 2x20 photometric FVIII:C determinations

mL	reagent	other data
2 x 2	Substrate FXa-1+ αNAPAP	10 μmol / vial F Xa-1, 0.012 μmol / vial αNAPAP
2 x 2	Reagent A	Phospholipid, albumin
2 x 2	Reagent B	F IX <sub>a8</sub> , F X, Ca <sup>++</sup> , albumin, thrombin
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 1	~ 130 % or 1.30 IU FVIII / mL
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 2	~ 70 % or 0.70 IU FVIII / mL
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 3	~ 10 % or 0.1 IU FVIII / mL
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 4	≤ 0.5 % or 0.005 IU FVIII / mL
3 x 30	F VIII dilution buffer	3.4 g/L Imidazole, 5.85 g/L NaCl, 0.2% Albumin, pH 7.4
2 x 8	F VIII reaction buffer	6.06 g/L Tris, 3.03 g/L Na <sub>2</sub> EDTA, 25 g/L NaCl, pH 8.3

**MATERIAL REQUIRED** (not supplied with the kit)

- Pipettes - Distilled water
- For the endpoint method: 20 % acetic acid.
- Control Plasma Normal and Abnormal

<b>REF</b>	5020040	Coagulation Control N	5 x 1 mL
<b>REF</b>	5021055	Coagulation Control A	5 x 1 mL

**WARNING AND PRECAUTIONS**

- RUO for research use only
- All blood and plasma samples and products have to be regarded as potentially infectious and handled with appropriate care and in compliance with the biosafety regulations in force and must be disposed of in the same way as hospital waste.
- Each single donor plasma and each lot of Reference Standards are tested and found negative for Hb<sub>s</sub>Ag, HIV 1/2 Ab and HCV Ab. However, universal precautions (treating all human source materials as if potentially infectious) should be exercised.

**STABILITY AND STORAGE**

The expiry date printed on the labels applies to storage of the unopened bottles at +2... 8 °C.

Stability after reconstitution:

Stability	+37°C	+20°C	+15°C	+4°C	-20°C
substrate	8 hours	1 month	1 month	6 months	1 year
Reagent A	-	17 hours	24 hours	2 days	14 days
Reagent B	-	8 hours	24 hours	2 days	14 days
Ref. Standards F VIII	-	8 hours	8 hours	2 days	1 month
substrate-buffer-mixture	8 hours	8 hours	-	-	-

**TEST PROCEDURE**

**PREPARATION OF PLASMA SAMPLES**

Plasma separation:

Mix 9 parts of venous blood and 1 part sodium citrate solution (0.11 mol/L) and centrifuge for 15 minutes at a RCF of at least 2500 g (corresponding to DIN 58905). The plasma sample may not be stored at room temperature for more than three hours; otherwise the sample has to be frozen immediately after centrifugation. Stability at -20°C is 1 month.

Sample preparation:

Before testing the plasma samples are diluted with FVIII dilution buffer at a ratio of 1:41 (0.05 ml sample + 2.00 ml FVIII dilution buffer). For plasma samples with F VIII activity of 0 – 20% the samples should be dissolved 1:10 (100 μL plasma and 900 μL FVIII dilution buffer).

**PREPARATION OF REAGENT**

All reagents including distilled water should have reached room temperature before use. The lyophilized reagents are dissolved in the volume of distilled water indicated on the vial and are ready for use after 10 minutes. For standardization test a reconstitution time of 30 min is recommended. The reconstituted substrate (2 mL) is diluted with 8 mL FVIII reaction buffer (1+4).

**PERFORMANCE OF THE TEST**

Wavelength: 405 nm

Reagent A and B and the diluted sample are kept at room temperature, the substrate-buffer-mixture at + 37°C. Measurements are done at + 37°C using air as blank.

Pipetting scheme: Pipette into plastic tubes or cuvettes.

Kinetic determination		Endpoint determination
100 μL	Reagent A	100 μL
100 μL	Reagent B	100 μL
100 μL	diluted sample	100 μL
5 minutes	incubation 37°C Substrate-buffer-mixture	5 minutes
500 μL		500 μL
Record the increase of absorption at 405 nm per minute at 37°C. The reaction is linear for 3min.	incubation 37°C Acetic acid 20%	5 minutes 200 μL
		The extinction is measured at 405 nm against blank.

Pipetting scheme: microtiter plates

Kinetic determination		Endpoint determination
25 μL 25 μL 25 μL	Reagent A Reagent B diluted sample	25 μL 25 μL 25 μL
5 Minuten 125 μL	incubation 37°C Substrate-buffer-mixture	5 minutes 125 μL
Record the increase of absorption at 405 nm per minute at 37°C. The reaction is linear for 3min.	incubation 37°C Acetic acid 20%	5 minutes 50 μL

**LIMITATION OF THE TEST**

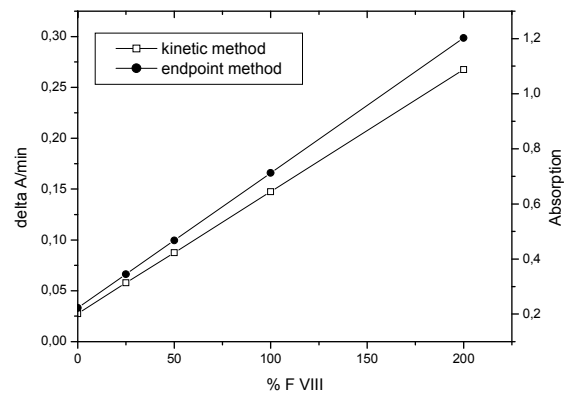
- The values found when testing Coagulation Control N and Coagulation Control A should be compared to the value given on the data-key for the corresponding lot of Control plasma.
- If the results obtained are outside the recommended range, avoid measuring patient samples until the problem is solved.
- A new calibration is required for each batch of TECHNOCHROM® F VIII:C and for each instrument used. Also a new calibration is recommended, if software changes are introduced or following a major service of either instruments or equipment.

**ANALYSES RESULTS**

**CALCULATION OF THE RESULTS**

To establish a calibration curve each Reference Standard is dissolved in the volume of distilled water indicated on the vial, diluted 1:41 (0.05 mL plasma + 2.00 mL F VIII dilution buffer) and tested in the same way as a patient sample in the assay. The increasing absorption (ΔA/min) in the kinetic method or the absorptions (A) in the endpoint method are plotted on linear graph paper against the % F VIII values indicated on the label of the respective Reference Standard to give a calibration curve. The blank reading may be used in the reference curve as the 0 % F VIII value.

Example: manual method (kinetic and endpoint):



All samples diluted 1:41 can be directly read off from the calibration curve. For samples diluted other than 1:41, the % activity read off from the calibration curve has to be converted as follows:

$$\frac{\% F VIII (\text{calibration curve})}{41} \times \text{actual dilution ratio} = \% F VIII \text{ sample}$$

**NORMAL RANGE**

0.6 – 1.5 IU F VIII (60 - 150% of normal)<sup>1</sup>

**STANDARDIZATION**

The Reference Standards F VIII were calibrated against the WHO plasma standard. Concentrations are lot-dependent, consult the label on the vials.

**PERFORMANCE CHARACTERISTICS**

Performance data are given below. Results obtained in individual laboratories may differ.

**PRECISION**

Reproducibility was determined with different samples (in series and day to day). The following results were obtained:

Sample	Intra assay		Inter assay	
	Sample 1	Sample 2	Sample 1	Sample 2
n	29	18	8	5
MV	42.2 Ext	81.0 Ext	90.3 %	22.5%
SD (%)	1.87	1.69	2.786	1.46
CV (%)	2.5%	2.1%	3.08	6.5%

**COMPARISON OF METHODS OR CORRELATION**

Following correlation (%) was obtained in comparing TECHNOCHROM® FVIII:C (Technoclone) with the FVIII deficient Plasma Imidazole buffer method

$$n=42 \quad y = 1,1071x - 5,9113 \quad R^2 = 0,957$$

**LINEARITY**

0.0 – 144 (Activity %)

**DETECTION LIMIT**

0% (Activity %)

**LITERATURE**

Please contact Technoclone or your local distributor for literature or technical applications for the test.

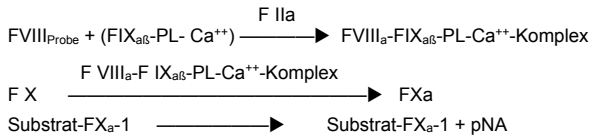
(1) H.Lang, M. Oberreiter, B. Moritz: A new Chromogenic Factor VIII:C-Assay Based on a System of Human Proteins. Thromb. Haemostas. Abstracts XIII<sup>th</sup> Congress ISTH, Th 65 (6), 943 (1991).

**PRODUKTBESCHREIBUNG**

**ANWENDUNG**

TECHNOCHROM® F VIII:C enthält Reagenzien zur photometrischen Bestimmung der FVIII Aktivität in Plasma und Plasmaderivaten. Damit können FVIII Mangelzustände bestimmt werden bzw. die FVIII Substitutionstherapie kontrolliert werden.

**TESTPRINZIP**



**ZUSAMMENSETZUNG**

Reagenziensatz für 2x20 photometrische FVIII:C Bestimmungen:

mL	Reagenz	sonstige Angaben
2 x 2	Substrat FXa-1+ αNAPAP	10 µmol / Fl. F Xa-1; 0,012 µmol / Fl. αNAPAP
2 x 2	Reagenz A	Phospholipide, Albumin
2 x 2	Reagenz B	F IX <sub>a6</sub> , F X, Ca <sup>++</sup> , Albumin, Thrombin
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 1	~ 130 % bzw. 1,30 IE FVIII / mL
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 2	~ 70 % bzw. 0,70 IE FVIII / mL
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 3	~ 10 % bzw. 0,1 IE FVIII / mL
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 4	≤ 0,5 % bzw. 0,005 IE FVIII / mL
3 x 30	F VIII Verdünnungspuffer	3,4 g/L Imidazol; 5,85 g/L NaCl; 0,2% Albumin; pH 7,4
2 x 8	F VIII Reaktionspuffer	6,06 g/L Tris; 3,03 g/L Na <sub>2</sub> EDTA; 25 g/L NaCl; pH 8,3

**BENÖTIGTES MATERIAL** (nicht im Testkit enthalten)

- Pipetten - Destilliertes Wasser
- Für die Endpunktmethode zusätzlich erforderlich: 20%-Essigsäure
- Kontrollplasma Normal und Abnormal

REF	5020040	Coagulation Control N	5 x 1 mL
REF	5021055	Coagulation Control A	5 x 1 mL

**WARNHINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN**

- Nur zur Anwendung als *in vitro* Diagnostikum
- Alle Blut- bzw. Plasmaprodukte und Proben müssen als potentiell infektiös angesehen werden. Sie sind mit der notwendigen Sorgfalt und entsprechend den Sicherheitsvorschriften zu behandeln und wie Krankenhausmüll zu entsorgen.
- Die Referenzstandards und jedes hierzu verwendete Einzelplasma ist HbsAg, HIV 1/2 Ak and HCV Ak negativ. Alle humanen Blut- bzw. Plasmaprodukte und Proben müssen als potenziell infektiös angesehen werden. Sie sind mit der notwendigen Sorgfalt und entsprechend den Sicherheitsvorschriften zu behandeln.

**LAGERUNG UND STABILITÄT**

Die Reagenzien sind ungeöffnet bei +2...+8°C zu lagern und bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Datum verwendbar. Stabilität nach Rekonstitution:

Stabilität	+37°C	+20°C	+15°C	+4°C	-20°C
Substrat	8 Std.	1 Monat	1 Monat	6 Monate	1 Jahr
Reagenz A	-	17 Std.	24 Std.	2 Tage	14 Tage
Reagenz B	-	8 Std.	24 Std.	2 Tage	14 Tage
Ref. Standards F VIII	-	8 Std.	8 Std.	2 Tage	1 Monat
Substrat-Puffer-Gemisch	8 Std.	8 Std.	-	-	-

**TESTDURCHFÜHRUNG**

**VORBEREITUNG DER PLASMAPROBE**

Plasmagewinnung:  
9 Teile Venenblut mit 1 Teil Natrumcitratlösung (0.11 mol/L) mischen und 15 min. bei einer RZB von mind. 2500 g zentrifugieren (entspr. DIN 58905). Die Plasmaprobe kann 3 Stunden bei Raumtemperatur aufbewahrt werden, andernfalls muss die Probe sofort nach Zentrifugation eingefroren werden. Haltbarkeit bei -20°C: 1 Monat.

Probenvorbereitung:  
Plasmaproben werden vor der Testdurchführung mit dem F VIII Verdünnungspuffer 1:41 (50 µL Probe + 2000 µL F VIII Verdünnungspuffer) verdünnt.  
Für Plasmaproben mit einer F VIII Aktivität von 0 – 20% sollten die Proben 1:10 (100 µL Plasma und 900 µL FVIII Verdünnungspuffer) verdünnt werden.

**VORBEREITUNG DER REAGENZIEN**

Alle Reagenzien einschließlich Aqua dest. sollen vor Gebrauch Raumtemperatur erreicht haben. Die lyophilisierten Reagenzien werden mit Aqua dest. im angegebenen Volumen gelöst und können nach 10 min verwendet werden. Für Standardisierungsuntersuchungen empfiehlt sich eine Rekonstitutionszeit von 30 min. Das Substrat wird mit 2 mL Aqua dest. gelöst und durch Zugabe von 8 mL Reaktionspuffer 1 + 4 verdünnt.

**TESTVERFAHREN**

Wellenlänge: 405 nm  
Die Reagenzien A und B sowie die verdünnte Probe werden bei Raumtemperatur verwendet, das Substrat-Puffer-Gemisch wird auf 37°C vorgewärmt. Die Messung erfolgt bei 37°C unter Verwendung von Luft als Leerwert.

Pipettierschema: In Kunststoffröhrchen bzw. Kunststoffküvetten pipettieren.

Kinetische Methode		Endpunkt Methode
100 µL 100 µL 100 µL	Reagenz A Reagenz B verdünnte Probe	100 µL 100 µL 100 µL
5 Minuten 500 µL	Inkubation bei 37°C Substrat-Puffer-Gemisch	5 Minuten 500 µL
Messung der Extinktionszunahme pro Minute bei 405 nm und 37°C. Die Reaktion verläuft 3 Minuten lang linear.	Inkubation bei 37°C Essigsäure 20%	5 Minuten 200 µL
		Messung der Extinktion bei 405 nm gegen den Leerwert

Pipettierschema: Mikrotiterplatten

Kinetische Methode		Endpunkt Methode
25 µL 25 µL 25 µL	Reagenz A Reagenz B verdünnte Probe	25 µL 25 µL 25 µL
5 Minuten 125 µL	Inkubation bei 37°C Substrat-Puffer-Gemisch	5 Minuten 125 µL
Messung der Extinktionszunahme pro Minute bei 405 nm und 37°C. Die Reaktion verläuft 3 Minuten lang linear.	Inkubation bei 37°C Essigsäure 20%	5 Minuten 50 µL

**EINSCHRÄNKUNG DER TESTDURCHFÜHRUNG**

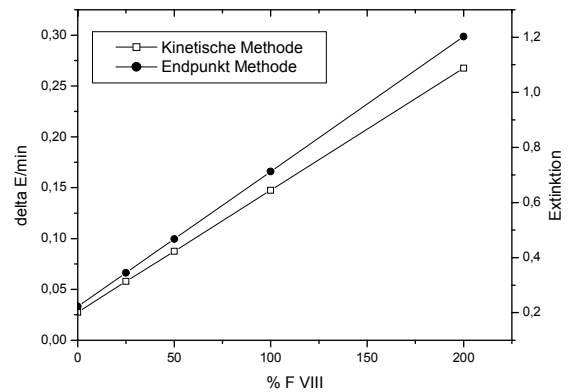
- Die mit dem Coagulation Control N und Coagulation Control A gefundenen Werte sollten mit den angegebenen, lotspezifischen Werten des Kontrollplasmas verglichen werden.
- Sollten Sie ein Ergebnis erhalten, das sich außerhalb des angegebenen Vertrauensbereiches befindet, so sollten Sie die Messung von Patientenproben so lange unterbrechen, bis das Problem gelöst ist.
- Für jedes Lot TECHNOCHROM® F VIII:C für jedes verwendete Gerät muss eine Kalibrierung durchgeführt werden. Bei Software Änderungen und nach größeren Instrumentenwartungen bzw. Gerätereperaturen empfiehlt sich ebenfalls eine neue Kalibrierung.

**ANALYSENERGEBNISSE**

**BERECHNUNG DER ERGEBNISSE**

Zur Erstellung der Bezugskurve wird jeder Referenz Standard im angegebenen Volumen Aqua. dest. gelöst und wie eine Plasmaprobe 1:41 (0,05 mL Plasma + 2,00 mL F VIII Verdünnungspuffer) verdünnt und getestet. Die Extinktionen (E) (Endpunkt Methode) bzw. die Extinktionszunahmen (ΔE/min) (kinetischen Methode), der Referenz Standards werden gegen die auf den Etiketten der Referenz Standards angegebenen % F VIII auf Millimeterpapier aufgetragen und linear verbunden. Der Reagenzienleerwert kann für die Bezugskurve als 0% F VIII Wert verwendet werden.

Beispiel: Manuelle Methode (Kinetische- und Endpunktmethode)



Alle 1:41 verdünnten Proben können direkt auf der Bezugskurve abgelesen werden. Bei anderen Probenverdünnungen als 1:41 können die auf der Bezugskurve abgelesenen Aktivitäten in % wie folgt umgerechnet werden:

$$\frac{\% F VIII \text{ (Bezugskurve)}}{41} \times \text{gewählte Verdünnung} = \% F VIII \text{ der Probe}$$

**NORMALBEREICHE**

0,6 – 1,5 IE F VIII / mL (60 - 150% der Norm)<sup>1</sup>

**STANDARDISIERUNG**

Die Kalibrierung der Referenz Standards F VIII erfolgte gegen den WHO-Plasmastandard. Die chargenabhängigen Konzentrationen entnehmen Sie bitte den Flaschenetiketten.

**SPEZIFISCHE LEISTUNGSDATEN**

Nachstehend werden repräsentative Leistungsdaten angezeigt. Die Ergebnisse des einzelnen Labors können davon abweichen.

**PRÄZISION**

Die Reproduzierbarkeit wurde mit verschiedenen Proben (in der Serie und von Tag zu Tag) bestimmt. Die Resultate gehen aus nachstehender Tabelle hervor:

Probe	Intra assay		Inter assay	
	Probe 1	Probe 2	Probe 1	Probe 2
n	29	18	8	5
MV	42,2 Ext	81,0 Ext	90,3 %	22,5%
SD (%)	1,87	1,69	2,786	1,46
CV (%)	2,5%	2,1%	3,08	6,5%

**METHODENVERGLEICH ODER KORRELATION**

Ein Vergleich des TECHNOCHROM® FVIII:C (Technoclon) mit dem FVIII Mangelplasma Imidazolpuffer Methode ergab folgende Korrelation (%):

$$n=42 \quad y = 1,1071x - 5,9113 \quad R^2 = 0,957$$

**LINEARITÄT**

0 – 144 (Aktivität %)

**BESTIMMUNGSGRENZE**

0% (Aktivität %)

**LITERATUR**

Bitte wenden Sie sich an Technoclon oder an Ihren Distributor für Literatur oder Testapplikationen.

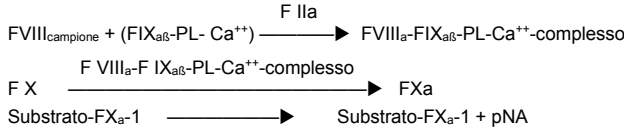
(1) H.Lang, M. Oberreiter, B. Moritz: A new Chromogenic Factor VIII:C-Assay Based on a System of Human Proteins. Thromb. Haemostas. Abstracts XIII<sup>th</sup> Congress ISTH, Th 65 (6), 943 (1991).

**DESCRIZIONE DEL PRODOTTO**

**APPLICAZIONE**

TECHNOCHROM® F VIII:C contiene i reagenti per la determinazione fotometrica di attività di fattore VIII in plasma e per i derivati del plasma. Posso essere usato per le mancanze analizzanti di fattore VIII così come il controllo delle terapie della sostituzione di fattore VIII.

**PRINCIPIO DEL TEST**



**COMPOSIZIONE**

Kit di reattivi per 2x20 determinazioni fotometriche del FVIII:C

mL	reagenti	altre indicazioni
2 x 2	Substrato FXa-1 + αNAPAP	10 μmol / Fl. F Xa-1; 0,012 μmol / Fl. αNAPAP
2 x 2	Reagente A	Phospholipide, Albumina
2 x 2	Reagente B	F IX <sub>as</sub> , F X, Ca <sup>++</sup> , Albumina, Thrombin
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 1	~ 130 % (1,30 IU FVIII / mL)
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 2	~ 70 % (0,70 IU FVIII / mL)
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 3	~ 10 % (0,1 IU FVIII / mL)
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 4	≤ 0,5 % (0,005 IU FVIII / mL)
3 x 30	tampone di diluizione F VIII	3,4 g/L Imidazol; 5,85 g/L NaCl; 0,2% Albumina; pH 7,4
2 x 8	tampone di reazione FVIII	6,06 g/L Tris; 3,03 g/L Na <sub>2</sub> EDTA; 25 g/L NaCl; pH 8,3

**MATERIALI ADDIZIONALI NECESSARI** (non inclusi nel kit)

- Pipette
- Acqua distillata
- Necessario per la determinazione punto finale: acido acetico 20%
- Plasma di controllo normale e abortivo
- REF 5020040 Coagulation Control N 5 x 1 mL
- REF 5021055 Coagulation Control A 5 x 1 mL

**AVVERTENZE E PRECAUZIONI**

- Da usare solamente come diagnostico *in vitro*
- Tutti i derivati da sangue o plasma umano come pure i campioni di sangue o plasma devono essere considerati potenzialmente infettivi e devono essere maneggiati con la dovuta attenzione e in accordo con le norme di sicurezza specifiche e devono essere smaltiti nello stesso modo dei rifiuti ospedalieri.
- Questo lotto di reattivi prodotto da sangue umano come pure ogni singolo campione di plasma utilizzato per tale scopo risultano negativi ai test per l'HbsAg e gli anticorpi anti-HIV 1/2 e anti-HCV. Tutti i derivati di sangue o plasma umano come pure i campioni di sangue o plasma devono essere considerati potenzialmente infettivi e devono essere maneggiati con la dovuta attenzione e in accordo con le norme di sicurezza specifiche.

**CONSERVAZIONE E STABILITÀ**

Le provette possono essere conservate in stato chiuso ad una temperatura di +2...8°C e devono essere utilizzate entro la data di scadenza riportata sull'etichetta.

Stabilità dopo ricostituzione:

Stabilità	+37°C	+20°C	+15°C	+4°C	-20°C
Substrati	8 ore	1 mese	1 mese	6 mesi	1 anno
Reagente A	-	17 ore	24 ore	2 giorni	14 giorni
Reagente B	-	8 ore	24 ore	2 giorni	14 giorni
Ref. Stand. F VIII	-	8 ore	8 ore	2 giorni	1 mese
miscela substrato-tampone	8 ore	8 ore	-	-	-

**ESECUZIONE DEL TEST**

**PREPARAZIONE DEI CAMPIONI DI PLASMA**

Separazione del plasma:  
Miscelare 9 parti di sangue venoso con una parte di soluzione di sodio citrato (0,11 mol/L) e centrifugare per 15 min. a almeno 2500 gpm (DIN 58905). Il campione di plasma può essere conservato a temperatura ambiente fino a 3 ore, altrimenti bisogna congelare il campione subito dopo la centrifugazione. Stabilità a -20°C: 1 mese.  
Preparazione dei campioni di plasma:  
Diluire i campioni di plasma, prima di eseguire il test, con il tampone di diluizione F VIII in rapporto di 1:41 (0,05 mL di campione + 2,00 mL di tampone di diluizione F VIII).  
Per i campioni di plasma con attività di F VIII da 0 a 20% , i campione devono essere diluiti 1: 10 ( 100 ul di plasma e 900 ul di tampone di diluizione F VIII)

**PREPARAZIONE DEI REATTIVI**

Tutti i reagenti, compresa l'acqua distillata, prima dell'uso devono aver raggiunto la temperatura ambiente. I reagenti liofilizzati vengono dissolti in acqua distillata nel volume indicato e possono essere utilizzati dopo 10 minuti. Per le analisi standardizzate, si raccomanda un tempo di ricostituzione di 30 minuti. Il substrato ricostituito (2 mL) è diluito con 8 mL tampone di reazione FVIII (1+4).

**PROCEDIMENTO DI TEST**

Lunghezza d'onda: 405 nm  
Tenere Reagente A e B ed il campione diluito a temperatura ambiente, la miscela substrato-tampone a 37°C. La misurazione viene effettuata a 37°C usando aria come valore bianco.

Schema di pipettaggio: pipettare in provette o cuvette di plastica.

Determinazione cinetica		Determinazione punto finale
100 μL	Reagente A	100 μL
100 μL	Reagente B	100 μL
100 μL	campione diluito	100 μL
5 minuti	incubare a 37°C	5 minuti
500 μL	miscela substrato-tampone	500 μL
Misurare l'aumento di estinzione a 405 nm ed a 37°C. La reazione ha un decorso lineare per 3 minuti.	incubare a 37°C acido acetico 20%	5 minuti 200 μL
		Misurare l'aumento di estinzione a 405 nm contro bianco.

Schema di pipettaggio: piastre microtitolo

Determinazione cinetica		Determinazione punto finale
25 μL	Reagente A	25 μL
25 μL	Reagente B	25 μL
25 μL	campione diluito	25 μL
5 minuti	incubare a 37°C	5 minuti
125 μL	miscela substrato-tampone	125 μL
Misurare l'aumento di estinzione a 405 nm ed a 37°C. La reazione ha un decorso lineare per 3 minuti.	incubare a 37°C acido acetico 20%	5 minuti 50 μL

**LIMITAZIONE DEL TEST**

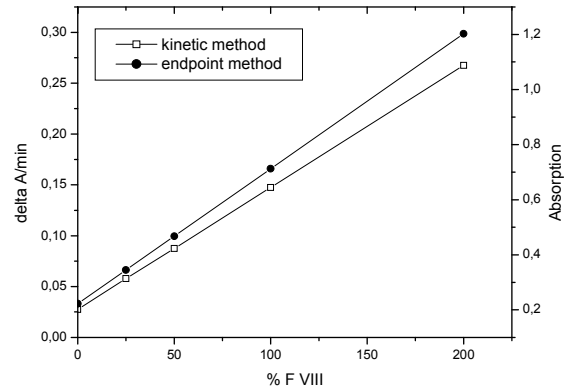
- I valori hanno trovato quando il Coagulation Control N ed il Coagulation Control A dovrebbero essere confrontati al valore dato sulla dato-chiave per il lotto corrispondente del plasma di controllo.
- Se i risultati ottenuti sono parte esterna la gamma suggerita, eviti di misurare i campioni pazienti fino a risolvere il problema.
- Una nuova calibratura è richiesta per ogni serie di TECHNOCHROM® la F VIII:C e per ogni strumento utilizzato. Inoltre una nuova calibratura è suggerita, se i cambiamenti di software sono introdotti o dopo un servizio importante degli strumenti o delle attrezzature.

**INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI**

**CALCOLAZIONE DEI RISULTATI**

Per eseguire la curva di calibratura ogni Ref. Stand. è dissolto nel volume di acqua distillata indicata sulla fiala, diluita 1:41 (0,05 mL di plasma + 2,00 mL tampone di diluizione F VIII) ed esaminata nello stesso senso come campione paziente nell'analisi. L'estinzione (A) nel metodo di punto finale risp. l'aumento di estinzione (ΔA/min) nel metodo cinetico è tracciato sulla carta da grafico lineare contro i % di valori di F VIII indicati sull'etichetta del campione rispettivo di riferimento per dare una curva di calibratura. Il valore del bianco del reattivo può essere utilizzato per la curva di calibratura come valore di 0% FVIII.

Esempio: metodo manuale (determinazione cinetico e determinazione punto finale)



Todas las muestras diluidas 1:41 se leen directamente en la curva de calibración. En las muestras diluidas distintas a 1:41 el porcentaje de actividad se lee en la curva de calibración y es representado de la siguiente manera:

$$\frac{\% F VIII \text{ (curva de calibratura)}}{41} \times \text{diluizione scelta} = \% F VIII \text{ del campione}$$

**VALORI NORMALI**

0,6 – 1,5 IU F VIII / mL (60 - 150% del normale)<sup>1</sup>

**STANDARDIZZAZIONE**

I campioni la Ref. Stand. F VIII sono stati calibrati contro il campione del plasma del WHO. Le concentrazioni sono lotto-dipendenti, consultano l'etichetta sulle fiale.

**PARAMETRI DI RIFERIMENTO**

Di seguito sono riportati i parametrici di riferimento. I risultati ottenuti possono differire da un laboratorio all'altro.

**PRECISIONE**

La riproducibilità è stata determinata analizzando diversi campioni (in serie e giorno per giorno). Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Campione	Intra assay		Inter assay	
	Campione 1	Campione 2	Campione 1	Campione 2
n	29	18	8	5
MV	42,2 Ext	81,0 Ext	90,3 %	22,5%
SD (%)	1,87	1,69	2,786	1,46
CV (%)	2,5%	2,1%	3,08	6,5%

**CONFRONTO TRA METODICHE O CORRELAZIONE**

Le correlazioni (%) seguenti sono state ottenute mettendo a confronto Technochrom® FVIII:C (Technoclone) con FVIII Deficient Plasma 'tampone Imidazolo' metodo.

n=42      y = 1,1071x - 5,9113      R<sup>2</sup> = 0,957

**LINEARITÀ**

0,0 – 144 (Attività %)

**LIMITE DI RILEVAZIONE**

0% (Attività %)

**BIBLIOGRAFIA**

Per favore rivolgersi a Technoclone o alla concessionaria.

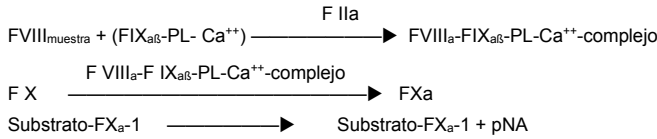
(1) H.Lang, M. Oberreiter, B. Moritz: A new Chromogenic Factor VIII:C-Assay Based on a System of Human Proteins. Thromb. Haemostas. Abstracts XIII<sup>th</sup> Congress ISTH, Th 65 (6), 943 (1991).

**DESCRIPCION DEL PRODUCTO**

**APLICACIÓN**

TECHNOCHROM® F VIII:C contiene los reactivos para la determinación fotométrica de la actividad del factor VIII en plasma y para los derivados del plasma. Puedo ser utilizado para las deficiencias de prueba del factor VIII así como la supervisión de terapias de la sustitución del factor VIII.

**PRINCIPIO DE LA PRUEBA**



**COMPOSICIÓN**

Kit reactivo para 2x20 determinaciones fotométricas del FVIII:C

mL	reactivo	otros datos
2 x 2	Substrato FXa-1+ αNAPAP	10 μmol / Fl. F Xa-1; 0,012 μmol / Fl. αNAPAP
2 x 2	Reactivo A	Phospholipide, Albúmina
2 x 2	Reactivo B	F IX <sub>a8</sub> , F X, Ca <sup>++</sup> , Albúmina, Thrombin
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 1	~ 130 % (1,30 IU FVIII / mL)
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 2	~ 70 % (0,70 IU FVIII / mL)
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 3	~ 10 % (0,1 IU FVIII / mL)
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 4	≤ 0,5 % ( 0,005 IU FVIII / mL)
3 x 30	tampón de dilución F VIII	3,4 g/L Imidazol; 5,85 g/L NaCl; 0,2% Albúmina; pH 7,4
2 x 8	tampón de reacción F VIII	6,06 g/L Tris; 3,03 g/L Na <sub>2</sub> EDTA; 25 g/L NaCl; pH 8,3

**MATERIAL NECESARIO** (no se suministra con el kit)

- Pipetas
- Agua destilada
- Para la determinación del punto final: 20% ácido acético
- Plasma de control normal y anormal

REF	5020040	Coagulation Control N	5 x 1 mL
REF	5021055	Coagulation Control A	5 x 1 mL

**ADVERTENCIA Y PRECAUCIONES**

- Sólo para su uso en el diagnóstico *in vitro*
- Todos los productos sanguíneos y plasmáticos de origen humano se deben considerar como potencialmente infecciosos. Deben tratarse con las debidas precauciones siguiendo los reglamentos vigentes relativos a la seguridad biológica. Los desechos deberán eliminarse de la misma manera que se eliminan los desechos en los hospitales.
- Toda muestra de plasma así como los controles de coagulación son analizados para Hbs-Ag, HIV 1/2 Ac, HCV Ac y encontrados negativos. De conformidad con las normas de seguridad vigentes, deberán tomarse todo tipo de precauciones con respecto a los productos plasmáticos y considerarse potencialmente infecciosos.

**ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN**

Los reactivos se deben conservar a una temperatura de entre 2...8° C y utilizar antes de la fecha indicada en las etiquetas. Estabilidad después de la reconstitución:

Estabilidad	+37°C	+20°C	+15°C	+4°C	-20°C
Substrato	8 horas	1 mes	1 mes	6 meses	1 año
Reactivo A	-	17 horas	24 horas	2 días	14 días
Reactivo B	-	8 horas	24 horas	2 días	14 días
Ref. Stand. F VIII	-	8 horas	8 horas	2 días	1 mes
Substrato-mezcla de tampón	8 horas	8 horas	-	-	-

**PROCEDIMIENTO PARA REALIZAR LA PRUEBA**

**PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PLASMÁTICAS**

Separación del plasma:  
Mezclar 9 partes de sangre venosa y 1 parte de solución de citrato sódico (0.11 mol/L) y centrifugar durante 15 minutos a más de 2500 FCR (DIN 58905). La muestra plasmática no se debe conservar a temperatura ambiente durante más de 3 horas, en caso contrario la muestra se deberá congelar inmediatamente después de la centrifugación. Estabilidad a una temperatura de -20° C: 1 mes.

Preparación de la muestra:  
Antes de llevar a cabo la prueba se diluyen las muestras plasmáticas con tampón de dilución F VIII en una proporción de 1:41 (0.05 mL muestra + 2.00 mL de tampón de dilución F VIII).  
Para muestras de plasma con un % de actividad de FVIII entre 0 - 20 %, diluir la muestra 1:10 (100 ul de plasma en 900 ul de buffer de dilución)

**PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS**

Todos reactivos incluida el agua destilada deberán alcanzar la temperatura ambiente antes de ser utilizados. Los reactivos liofilizados se diluyen en el volumen indicado de agua destilada y pueden utilizarse después de transcurridos 10 minutos. En las pruebas de estandarización se recomienda un tiempo de reconstitución de 30 minutos. El substrato reconstituido (2 mL) se diluye con 8 mL tampón de reacción F VIII (1+4).

**REALIZACIÓN DE LA PRUEBA**

Longitud de onda: 405 nm  
Reactivo A y B y la muestra diluida deberán mantenerse a temperatura ambiente, el substrato preparado con el tampón a 37° C. Las determinaciones se realizan a 37° C. Y no se utilizará ningún reactivo como blanco.

Esquema de pipeteado: Pipetea en un tubo o cubeta de plástico...

Determinación cinética		Determinación del punto final
100 μL	Reactivo A	100 μL
100 μL	Reactivo B	100 μL
100 μL	muestra diluida	100 μL
5 minutos	incubación 37°C	5 minutos
500 μL	Substrato-mezcla de tampón	500 μL
El incremento en la extinción se mide a 405 nm a 37°C. Durante 3 minutos la reacción es lineal.	incubación 37°C ácido acético 20%	5 minutos
		La extinción se mide a 405 nm contra el blanco

Esquema de pipeteado: placas de microtitulación

Determinación cinética		Determinación del punto final
25 μL	Reactivo A Reactivo B muestra diluida	25 μL
25 μL		25 μL
25 μL		25 μL
5 minutos	incubación 37°C	5 minutos
125 μL	Substrato-mezcla de tampón	125 μL
El incremento en la extinción se mide a 405 nm a 37°C. Durante 3 minutos la reacción es lineal.	incubación 37°C	5 minutos
	ácido acético 20%	50 μL

**LIMITACIÓN DE LA PRUEBA**

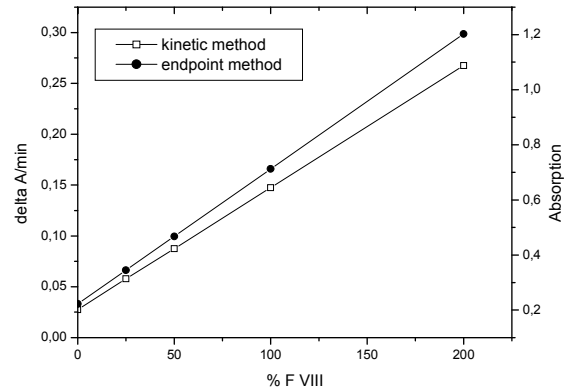
- Los valores encontrados con el Control de Coagulación N y el Control de Coagulación A deben ser comparados con los valores específicos del lote del plasma control.
- Si los resultados obtenidos están fuera del rango recomendado, evite cuantificar muestras problema hasta que se solucione el problema.
- Es necesaria una nueva calibración para cada lote de TECHNOCHROM® F VIII:C y para cada instrumento usado. También se recomienda una nueva calibración si se introducen cambios en el software o después de reparaciones importantes del equipo o instrumentos..

**INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

**CÁLCULO DE LOS RESULTADOS**

Para establecer una curva de calibración cada estándar de la referencia se disuelve en el volumen de agua destilada indicada en el frasco, diluida 1:41 (0.05 ml de plasma de + 2.00 ml tampón de dilución F VIII) y probada de la misma manera que una muestra paciente en el análisis. La absorción de aumento (ΔA/min) en el método cinético o las absorciones (A) en el método del punto final se traza en el papel de gráfico lineal contra los % de los valores de F VIII indicados en la etiqueta del estándar respectivo de la referencia para dar una curva de calibración. El valor del reactivo blanco se puede utilizar en la curva de referencia como valor de 0% de FVIII.

Ejemplo: Método manual (cinética y punto final)



Todas las muestras diluidas 1:41 se leen directamente en la curva de calibración. En las muestras diluidas distintas a 1:41 el porcentaje de actividad se lee en la curva de calibración y es representado de la siguiente manera:

$$\frac{\% FVIII \text{ (curva de calibración)}}{41} \times \text{dilución elegida} = \% F VIII \text{ en la muestra}$$

**LÍMITES DE REFERENCIA**

0,6 - 1,5 IU F VIII / mL (60 - 150% de la norma)<sup>1</sup>

**ESTANDARIZACIÓN**

Los estándares F VIII de la referencia fueron calibrados contra el estándar del plasma del WHO. Las concentraciones son lote-dependientes, consultan la etiqueta en los frascos.

**CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO**

Los datos de funcionamiento del kit se presentan abajo. Los resultados obtenidos en laboratorios independientes pueden diferir.

**PRECISIÓN**

La reproducibilidad se determinó con diferentes muestras (en series y día a día). Se obtuvieron los siguientes resultados:

Muestra	Intra assay		Inter assay	
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 1	Muestra 2
n	29	18	8	5
MV	42,2 Ext	81,0 Ext	90,3 %	22,5%
SD (%)	1,87	1,69	2,786	1,46
CV (%)	2,5%	2,1%	3,08	6,5%

**COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS Y CORRELACIÓN**

La siguiente correlación (%) se obtuvo comparando Technochrom® FVIII:C (Technoclone) con FVIII Deficient Plasma buffer de Imidazol método.

$$n=42 \quad y = 1,1071x - 5,9113 \quad R^2 = 0,957$$

**LINEALIDAD**

0,0 - 144 (Activity %)

**LÍMITE DE DETECCIÓN**

0% (Activity %)

**BIBLIOGRAFÍA**

Sírvase dirigirse a Technoclone o a su distribuidor local para obtener la bibliografía al respecto o las aplicaciones técnicas de las pruebas.

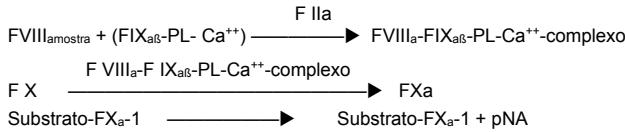
(1) H.Lang, M. Oberreiter, B. Moritz: A new Chromogenic Factor VIII:C-Assay Based on a System of Human Proteins. Thromb. Haemostas. Abstracts XIII<sup>th</sup> Congress ISTH, Th 65 (6), 943 (1991).

**DESCRIÇÃO DO PRODUTO**

**APLICAÇÃO**

O TECHNOCHROM® F VIII:C contém reagentes para a determinação fotométrica da actividade do Factor VIII no plasma e para derivados do plasma. Este pode ser usado para testar deficiências de Factor VIII bem como para monitorizar terapias de substituição de Factor VIII.

**PRINCÍPIO DO TESTE**



**COMPOSIÇÃO**

Conjunto de reagentes para 2x20 determinações fotométricas do FVIII:C

mL	reagente	outros dados
2 x 2	Substrato FXa-1 + αNAPAP	10 µmol / Fl. F Xa-1; 0,012 µmol / Fl. αNAPAP
2 x 2	Reagent A	Fosfolípido, Albumina
2 x 2	Reagent B	F IX <sub>a8</sub> , F X, Ca <sup>++</sup> , Albumina, Trombina
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 1	~ 130 % (1,30 IU FVIII / mL)
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 2	~ 70 % (0,70 IU FVIII / mL)
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 3	~ 10 % (0,1 IU FVIII / mL)
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 4	≤ 0,5 % (0,005 IU FVIII / mL)
3 x 30	Tampão de diluição FVIII	3,4 g/L Imidazol; 5,85 g/L NaCl; 0,2% Albumina; pH 7,4
2 x 8	Tampão de reacção FVIII	6,06 g/L Tris; 3,03 g/L Na <sub>2</sub> EDTA; 25 g/L NaCl; pH 8,3

**MATERIAL NECESSÁRIO** (não fornecido com o kit)

- Pipetas
- Água destilada
- Para o método de ponto final: Ácido acético a 20%
- Plasma de Controlo Normal e Anormal

REF	5020040	Coagulation Control N	5 x 1 mL
REF	5021055	Coagulation Control A	5 x 1 mL

**ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES**

- Apenas para uso no diagnóstico *in vitro*
- Todas as amostras de sangue ou plasma e produtos têm que ser considerados como potencialmente infecciosos e manuseados com o cuidado adequado e em cumprimento com as normas de biosegurança em vigor e têm que ser eliminados da mesma forma que o lixo hospitalar.
- Cada plasma individual e cada lote de Padrões de Referência utilizado foram testados e considerados Ag HB<sub>s</sub>, Ac HIV 1/2 e Ac HCV negativos. No entanto, devem postas em prática precauções universais (tratar todos os materiais de origem humana como potencialmente infecciosos).

**ESTABILIDADE E ARMAZENAMENTO**

A data de validade impressa nos rótulos aplica-se ao armazenamento dos frascos fechados entre +2 e 8°C. Estabilidade após a reconstituição:

Estabilidade	+37°C	+20°C	+15°C	+4°C	-20°C
Substrato	8 hrs	1 mês	1 mês	6 meses	1 ano
Reagent A	-	17 hrs	24 hrs	2 dias	14 dias
Reagent B	-	8 hrs	24 hrs	2 dias	14 dias
Ref. Standards F VIII	-	8 hrs	8 hrs	2 dias	1 mês
mistura de tampão com substrato	8 hrs	8 hrs	-	-	-

**PROCEDIMENTO DO TESTE**

**PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS DE PLASMA**

Separação do plasma:  
Misturar 9 partes de sangue venoso com 1 parte de solução de citrato de sódio (0,11 mol/L) e centrifugar durante 15 minutos a pelo menos 2500 de FCR (correspondente à DIN 58905). A amostra de plasma não pode ser armazenada à temperatura ambiente durante mais que 3 horas; caso contrário, a amostra tem que ser congelada imediatamente após a centrifugação. A estabilidade a -20°C é de 1 mês.  
Preparação da amostra:

Antes do teste as amostras de plasma são diluídas com tampão de diluição FVIII numa proporção de 1:41 (0,05 mL de amostra + 2,00 mL do tampão de diluição FVIII). As amostras de plasma com uma actividade de 0-20% de F VIII devem ser diluídas 1:10 (100µL de plasma e 900µL de tampão de diluição de FVIII).

**PREPARAÇÃO DOS REAGENTES**

Todos os reagentes, incluindo a água destilada devem estar à temperatura ambiente antes da sua utilização. Os reagentes liofilizados são dissolvidos no volume de água destilada indicado no frasco e estão prontos a ser usados após 10 minutos. Para os testes de padronização recomenda-se um tempo de reconstituição de 30 min. O substrato reconstituído (2 mL) é diluído com 8 mL de tampão de reacção FVIII (1+4).

**REALIZAÇÃO DO TESTE**

Comprimento de onda: 405 nm

Os "Reagent A" e B e a amostra diluída são mantidos à temperatura ambiente, a mistura tampão-substrato a +37°C. As medições serão feitas a 37°C usando o ar como branco.

Esquema de pipetagem: Pipetar em tubos ou cuvetes de plástico.

Determinação cinética		Determinação de ponto final
100 µL	Reagent A	100 µL
100 µL	Reagent B	100 µL
100 µL	amostra diluída	100 µL
5 minutos	Incubação a 37°C	5 minutos
500 µL	Mistura tampão-substrato	500 µL
Registrar o aumento da absorção a 405 nm por minuto a 37°C. A reacção é linear durante 3 min.	Incubação a 37°C Acético ácido a 20%.	5 minutos 200 µL
		A extinção é medida a 405 nm contra o branco.

Esquema de pipetagem: placas do microtitre

Determinação cinética		Determinação do ponto final
25 µL	Reagent A	25 µL
25 µL	Reagent B	25 µL
25 µL	amostra diluída	25 µL
5 minutos	Incubação a 37°C	5 minutos
125 µL	Mistura tampão-substrato	125 µL
Registrar o aumento da absorção a 405 nm por minuto a 37°C. A reacção é linear durante 3 min.	Incubação a 37°C Acético ácido a 20%.	5 minutos 50 µL

**LIMITAÇÕES DO TESTE**

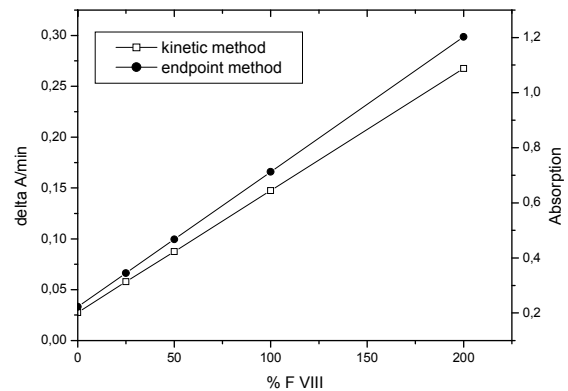
- Os valores obtidos ao testar o Coagulation Control N e o Coagulation Control A devem ser comparados com o valor de referência dado para o lote correspondente do plasma de controlo.
- Se os resultados obtidos estiverem fora do intervalo recomendado, evitar fazer determinações de amostras de pacientes até que o problema esteja resolvido.
- É necessária uma nova calibração para cada grupo de TECHNOCHROM® F VIII:C e para cada instrumento usado. Também se recomenda uma nova calibração se forem introduzidas alterações no software ou após grandes intervenções nos instrumentos ou equipamentos.

**RESULTADOS DAS ANÁLISES**

**CÁLCULO DOS RESULTADOS**

Para estabelecer uma curva de calibração cada Padrão de Referência é dissolvido no volume da água destilada indicado no frasco, diluído 1:41 (0,05 mL de plasma + 2,00 mL de tampão de diluição FVIII) e testado da mesma forma que uma amostra de um paciente no ensaio. Os aumentos de absorção (ΔA/min) no método cinético ou as absorções (A) no método de ponto final são registados em papel gráfico linear contra os valores da % de F VIII indicados no rótulo do respectivo Padrão de Referência para obter uma curva de calibração. A leitura do branco pode ser usada na curva de referência como o valor de 0% de FVIII.

Exemplo: Método manual (cinético e ponto final):



Todas as amostras diluídas a 1:41 podem ser interpretadas directamente a partir da curva de calibração. Para amostras com uma diluição diferente de 1:41, a % de actividade lida a partir da curva de calibração tem de ser convertida como se segue:

$$\frac{\% FVIII \text{ (curva de calibração)}}{41} \times \text{diluição utilizada} = \% F VIII \text{ da amostra}$$

**INTERVALO NORMAL**

0,6 – 1,5 IU F VIII / mL (60 - 150% do normal)<sup>1</sup>

**PADRONIZAÇÃO**

Os padrões de referência de F VIII foram calibrados por comparação com o padrão de plasma da WHO. As concentrações dependem do lote, por favor consultar a etiqueta nos frascos.

**CARACTERÍSTICAS DE REALIZAÇÃO**

Os dados de realização são dados em baixo. Os resultados obtidos em laboratórios individuais podem diferenciar.

**PRECISÃO**

A reproduzibilidade foi determinada com amostras diferentes (em série e dia a dia). Os resultados seguintes foram obtidos:

	Intra assay		Inter assay	
	amostra 1	amostra 2	amostra 1	amostra 2
n	29	18	8	5
MV	42,2 Ext	81,0 Ext	90,3 %	22,5%
SD (%)	1,87	1,69	2,786	1,46
CV (%)	2,5%	2,1%	3,08	6,5%

**COMPARAÇÃO DE MÉTODOS OU CORRELAÇÃO**

A correlação seguinte (%) foi obtida na comparação TECHNOCHROM® FVIII:C (Technoclone) com o plasma deficiente FVIII método de buffer de Imidazole:

$$n=42 \quad y = 1,1071x - 5,9113 \quad R^2 = 0,957$$

**LINEARIDADE**

0,0 – 144 (Atividade %)

**DETERMINAÇÃO LIMITE**

0% (Atividade %)

**LITERATURA**

Por favor contactar a Technoclone ou o seu distribuidor local.

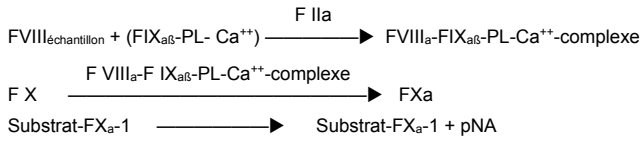
(1) H.Lang, M. Oberreiter, B. Moritz: A new Chromogenic Factor VIII:C-Assay Based on a System of Human Proteins. Thromb. Haemostas. Abstracts XIII Congress ISTH, Th 65 (6), 943 (1991).

**DESCRIPTION DU PRODUIT**

**APPLICATION**

TECHNOCHROM® FVIII:C contient des réactifs pour la détermination photométrique de l'activité du facteur VIII dans le plasma et pour les dérivés de plasma. Insuffisances du facteur VIII ainsi que thérapie de substitution du facteur VIII peut être surveillée.

**PRINCIPE DU TEST**



**COMPOSITION**

Pour 2x20 déterminations photométriques de F VIII :C

mL	réactif	autres indications
2 x 2	Substrat FX <sub>α</sub> -1+ αNAPAP	10 μmol / Fl. F Xa-1; 0,012 μmol / Fl. αNAPAP
2 x 2	Réactif A	Phospholipide, Albumine
2 x 2	Réactif B	F IX <sub>αβ</sub> , F X, Ca <sup>++</sup> , Albumine, Thrombin
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 1	~ 130 % (1,30 IU FVIII / mL)
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 2	~ 70 % (0,70 IU FVIII / mL)
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 3	~ 10 % (0,1 IU FVIII / mL)
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 4	≤ 0,5 % ( 0,005 IU FVIII / mL)
3 x 30	Tampon de dilution F VIII	3,4 g/L Imidazol; 5,85 g/L NaCl; 0,2% Albumine; pH 7,4
2 x 8	Tampon de réaction FVIII	6,06 g/L Tris; 3,03 g/L Na <sub>2</sub> EDTA; 25 g/L NaCl; pH 8,3

**MATÉRIEL NÉCESSAIRE** (non fourni avec le kit)

- Pipettes - Eau distillée
- Pour la détermination au point final : acide acétique 20%
- Plasma de contrôle normal et anormal

REF	5020040	Coagulation Control N	5 x 1 mL
REF	5021055	Coagulation Control A	5 x 1 mL

**AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS**

- IVD pour l'usage diagnostique *in vitro*
- Tous les produits sanguins ou plasmatiques d'origine humaine, ainsi que les échantillons de sang ou de plasma, doivent être considérés comme potentiellement infectieux et manipulés avec les précautions nécessaires relatives aux règles de sécurité.
- Tout don de sang individuel prévu pour la préparation de plasma est soumis à des tests de l'antigène des surface de l'hépatite B, de l'anticorps anti-VIH 1 et de l'anticorps anti VIH 2. Seuls les dons trouvés négatifs ont été utilisés. Néanmoins, toutes les préparations obtenues à partir de sang humain doivent être manipulées avec les précautions nécessaires en cas de risque biologique, dans la mesure où l'on ne peut exclure totalement un risque infection.

**STABILITÉ ET CONSERVATION**

Les réactifs, conservés dans leur flacon non ouvert et à 2...8 °C, peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Stabilité après reconstitution :

Stabilité	+37°C	+20°C	+15°C	+4°C	-20°C
Substrat	8 hrs	1 mois	1 mois	6 mois	1 an
Réactif A	-	17 hrs	24 hrs	2 jours	14 jours
Réactif B	-	8 hrs	24 hrs	2 jours	14 jours
Ref. Stand. F VIII	-	8 hrs	8 hrs	2 jours	1 mois
Mélange substrat-tampon	8 hrs	8 hrs	-	-	-

**REALISATION DU TEST**

**PREPARATION DU PLASMA**

Séparation du plasma:

Pour l'obtention du plasma, prélever 1 volume de solution de citrate sodium (0.11 mol/L) avec 9 volumes de sang veineux, et mélanger avec précaution en évitant la formation de mousse. Centrifuger aussitôt pendant au moins 15 min à au moins 2500 FCR (DIN 585905). L'échantillon de plasma peut être gardé pendant 3 heures avec la température ambiante, sinon l'échantillon doit être gelé immédiatement après des centrifugation. Stabilité à -20°C: 1 mois.

Préparation d'échantillon:

Les échantillon de plasma sont dilués avec la réalisation du test 1:41 avec le tampon de dilution F VIII (0,05 mL échantillon + 2,00 mL tampon de dilution F VIII). Pour des échantillons de plasma avec une activité F VIII de 0-20 % une dilution des échantillons de 1:10 (100 μL plasma et 900 μL tampon de dilution F VIII) est nécessaire.

**RECONSTITUTION DU RÉACTIF**

Tous les réactifs y compris eau distillée doivent avoir atteint la température ambiante avant l'utilisation. Les réactifs lyophilisés sont à dissoudre avec d'eau distillée dans le volume indiqué et peuvent être reconstitués au bout de 10 minutes. Pour les tests de standardisation un temps de reconstitution de 30 min. est recommandé. Le substrat est reconstitué avec 2 mL d'eau distillée et dilué 1 + 4 par addition de 8 mL de tampon de réaction au substrat.

**RÉALISATION DU TEST**

Longueur d'ondes: 405 nm

Réactif A et B et l'échantillon dilué sont tenus à température ambiante, le mélange substrat-tampon à 37°C. La mesure est effectuée à 37°C par l'utilisation de l'air comme valeur blanc.

Schéma de pipetage: Pipeter dans une tube ou cuve de plastique.

Détermination cinétique		Détermination au point final
100 μL	Réactif A	100 μL
100 μL	Réactif B	100 μL
100 μL	échantillon dilué	100 μL
5 minutes	incubation 37°C	5 minutes
500 μL	mélange substrat-tampon	500 μL
L'accroissement de l'extinction est mesurée à 405 nm et à 37°C. La réaction passe linéairement pendant 3 minutes.	incubation 37°C acide acétique 20%	5 minutes 200 μL
		L'extinction est mesuré à 405 nm contre blanc.

Schéma de pipetage: Microplaques sensibilisées

Détermination cinétique		Détermination au point final
25 μL	Réactif A	25 μL
25 μL	Réactif B	25 μL
25 μL	échantillon dilué	25 μL
5 minutes	incubation 37°C	5 minutes
125 μL	mélange substrat-tampon	125 μL
L'accroissement de l'extinction est mesurée à 405 nm et à 37°C. La réaction passe linéairement pendant 3 minutes.	incubation 37°C acide acétique 20%	5 minutes 50 μL

**LIMITATION DU TEST**

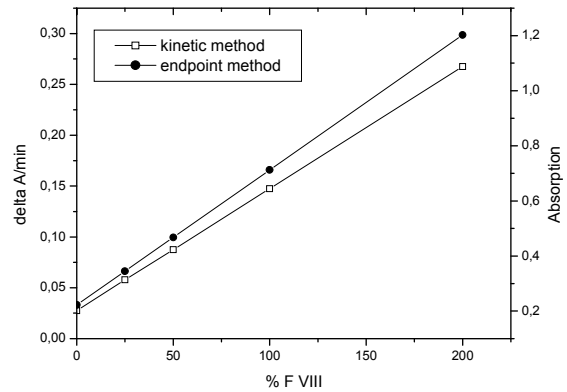
- Les valeurs trouvées avec le Coagulation Control N et le Coagulation Control A devraient être comparés avec les valeurs indiquées dans le tableau respective du plasma de contrôle.
- Si vous deviez recevoir un résultat qui se trouve à l'extérieur du secteur de confiance indiqué, vous devriez interrompre la mesure des échantillons de patient, jusqu'à ce que le problème soit résolu.
- Un nouveau calibrage est exigé pour chaque lot de TECHNOCHROM® FVIII:C et pour chaque instrument utilisé. Un nouveau calibrage est aussi recommandé, si des changements ou un service important sont présentés.

**INTERPRETATION DES RESULTATS**

**CALCUL DES RESULTATS**

Pour établir une courbe d'étalonnage chaque standard de référence est reconstitué dans le volume d'eau distillée indiquée et diluée 1:41 comme un échantillon de plasma (0.05 ml de plasma + 2.00 tampon de dilution F VIII). L'extinctions (A) et/ou l'accroissements d'extinction (Δ A/min) des standards de référence sont portées contre les % de F VIII indiquées sur les étiquettes des standards de référence et reliées de façon linéaire. La valeur de réactif blanc peut être utilisée pour la courbe comme valeurs de 0% F VIII.

Exemple: méthode manuelle (cinétique et point final)



Comm e contrôle additionnel, on peut déterminer en même temps la valeur en blanc de l'enzyme. Les échantillons dilués 1:41 sont lus directement sur la courbe d'étalonnage. Pour autres dilutions de l'échantillon, les % d'activité sont lus sur la courbe d'étalonnage est convertis comme suivant:

$$\% \text{ F VIII (courbe d'étalonnage)} \times \text{dilution choisie} = \% \text{ F VIII dans l'échantillon}$$

**DOMAINES DE REFERENCE**

0,6 – 1,5 IU F VIII / mL (60 - 150% de la norme)<sup>1</sup>

**ÉTALONNAGE**

Le calibrage des standards de référence F VIII a été réalisée par rapport à des normes standards données par L'OMS pour le plasma. Les concentrations dépendantes de chaque lot sont indiquées sur l'étiquette.

**PERFORMANCES**

Les performances sont établies à partir des données ci-dessous. Les résultats obtenus peuvent varier selon les Laboratoires.

**PRECISION**

La reproductibilité a été déterminée avec différents échantillons (en séries et sur plusieurs jours) Les résultats suivants ont été obtenus:

échantillon	Intra assay		Inter assay	
	échantillon 1	échantillon 2	échantillon 1	échantillon 2
n	29	18	8	5
MV	42,2 Ext	81,0 Ext	90,3 %	22,5%
SD (%)	1,87	1,69	2,786	1,46
CV (%)	2,5%	2,1%	3,08	6,5%

**COMPARAISON DES METHODES ET CORRELATION**

Les corrélations suivantes (%) ont été obtenues en comparant TECHNOCHROM® FVIII:C avec la technique utilisant un plasma déficient tampon Imidazole méthode.

$$n=42 \quad y = 1,1071x - 5,9113 \quad R^2 = 0,957$$

**LINEARITE**

0,0 – 144 (Activité %)

**LIMITE DE DETECTION**

0% (Activité %)

**BIBLIOGRAPHIE**

Contacter Technoclone ou votre distributeur local.

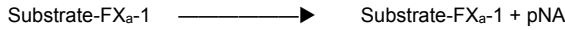
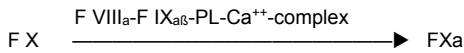
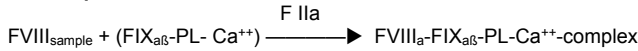
(1) H.Lang, M. Oberreiter, B. Moritz: A new Chromogenic Factor VIII:C-Assay Based on a System of Human Proteins. Thromb. Haemostas. Abstracts XIII<sup>th</sup> Congress ISTH, Th 65 (6), 943 (1991).

**ОПИСАНИЕ ПРОДУКТА**

**НАЗНАЧЕНИЕ**

TECHNOCHROM® F VIII:C содержит реагенты для фотометрического определения активности фактора VIII в плазме и производных плазмы. Он может использоваться для определения дефицита фактора VIII, а также для мониторинга замещающей терапии фактора VIII.

**ПРИНЦИП ТЕСТА**



**СОСТАВ**

Набор реагентов для 2x20 фотометрических определений F VIII:C

мл	реагент	другие данные
2 x 2	Substrate FXa-1 + αNAPAP	10 мкмоль/фл. FXa-1, 0,012 мкмоль/л/фл. αNAPAP
2 x 2	Reagent A	Фосфолипид, альбумин
2 x 2	Reagent B	F IX <sub>a8</sub> , F X, Ca <sup>++</sup> , альбумин, тромбин
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 1	~130%, или 1,30 Ед FVIII/мл
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 2	~70%, или 0,70 Ед FVIII/мл
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 3	~10%, или 0,10 Ед FVIII/мл
1 x 1	Ref. Stand. FVIII 4	<0,5%, или 0,005 Ед FVIII/мл
3 x 30	F VIII dilution buffer	3,4 г/л имидазола, 5,85 г/л NaCl, 0,2% альбумина, pH 7,4
2 x 8	F VIII reaction buffer	6,06 г/л TRIS, 3,03 г/л Na <sub>2</sub> ЭДТА, 25 г/л NaCl, pH 8,3

**ПОТРЕБУЮТСЯ МАТЕРИАЛЫ** (не входят в набор)

- Пипетки
- Дистиллированная вода
- Для метода определения по конечной точке: 20% уксусная кислота.\*
- Контрольные плазмы

Кат.№	5020040	Coagulation Control N	5 x 1 mL
Кат.№	5021055	Coagulation Control A	5 x 1 mL

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

- IVD – для диагностики in vitro
- Ко всем пробам крови и плазмы и продуктам следует относиться как к потенциально инфицированным и обращаться с ними следует с соответствующей осторожностью, полностью соблюдая требования биобезопасности, а утилизировать аналогично больничным отходам.
- Каждая единичная донорская плазма и каждый лот Reference Standards inhibitor plasma тестируются и являются негативными по Hb<sub>s</sub>Ag, HIV 1/2 Ab и HCV Ab. Однако универсальные меры предосторожности (обработка всех материалов человеческого происхождения как потенциально инфицированных) должны соблюдаться.

**СТАБИЛЬНОСТЬ И ХРАНЕНИЕ**

Срок годности, напечатанный на наклейках, применим к не вскрытым флаконам при +2 - 8°C. Стабильность после растворения:

Стабильность	+37°C	+20°C	+15°C	+4°C	-20°C
substrate	8 часов	1 мес.	1 мес	6 мес	1 год
Reagent A	-	17 час	24 час	2 сут	14 сут
Reagent B	-	8 часов	24 час	2 сут	14 сут
Ref. Standards FVIII	-	8 часов	8 часов	2 сут	1 мес
Смесь субстрат/буфер	8 часов	8 часов	-	-	-

**ПРОЦЕДУРА ТЕСТА**

**ПОДГОТОВКА ПРОБ ПЛАЗМЫ**

Смешайте 9 частей венозной крови и 1 часть раствора цитрата натрия (0,11 моль/л) и центрифугируйте 15 минут при 2500g (соответствует DIN 58905). Пробы плазмы не могут храниться при комнатной температуре более 3 часов; в противном случае пробы должны быть заморожены немедленно после центрифугирования. Стабильность при -20°C 1 месяц.

Подготовка образцов:

Перед проведением анализа образцы плазмы должны быть разведены "FVIII-буфером для разведения образцов" в отношении 1:41 (0,05 мл образца + 2,0 мл "FVIII-буфера для разведения образцов"). Для образцов плазмы с активностью фактора VIII в пределах 0 – 20% необходимо разведение 1:10 (100 мкл образца + 900 мкл "FVIII-буфера для разведения образцов").

**ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТА**

Все реагенты, включая дистиллированную воду должны достичь комнатной температуры перед использованием. Лиофилизованные реагенты растворяются в объеме дистиллированной воды, указанной на наклейке флакона и готовы к использованию через 10 минут. Для стандартизации теста рекомендуется время выдержки 30 минут. Растворенный субстрат (2 мл) разводится 8 мл реакционного буфера FVIII (1 + 4).

**ВЫПОЛНЕНИЕ ТЕСТА**

Длина волны: 405 нм

Реагенты А и В и разбавленные пробы хранятся при комнатной температуре, смесь субстрат-буфер при +37°C. Измерение проводится при +37°C, с использованием бланка по воздуху.

Схема пипетирования. Пипетируйте в пластиковые пробирки, или кюветы:

Кинетич. определ.		Конеч.точ.определ.
100 мкл	Reagent A	100 мкл
100 мкл	Reagent B	100 мкл
100 мкл	Разбавл.проба	100 мкл
5 минут	Инкубация + 37°C	5 минут
500 мкл	Смесь субстр.-буф.	500 мкл
Изм.увелич. абсорбции при 405 нм за 1 мин. Реакция линейна 3 мин.	Инкубация + 37°C	5 минут
	Уксусн.кисл. 20%	200 мкл
		Изм.абсорбцию при 405 нм против бланка

Схема пипетирования в микроплашку:

Détermination cinétique		Détermination au point final
25 мкл 25 мкл 25 мкл	Reagent A Reagent B Разбавл.проба	25 мкл 25 мкл 25 мкл
5 минут 125 мкл	Инкубация + 37°C Смесь субстр.-буф.	5 минут 125 мкл
Изм.увелич. абсорбции при 405 нм за 1 мин. Реакция линейна 3 мин.	Инкубация 37°C Уксусн.кисл. 20%	5 минут 50 мкл

**ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА**

Величины, полученные при тестировании Coagulation Control N и Coagulation Control A должны сравниваться с величинами, данными в таблице соответствующего лота контрольной плазмы.

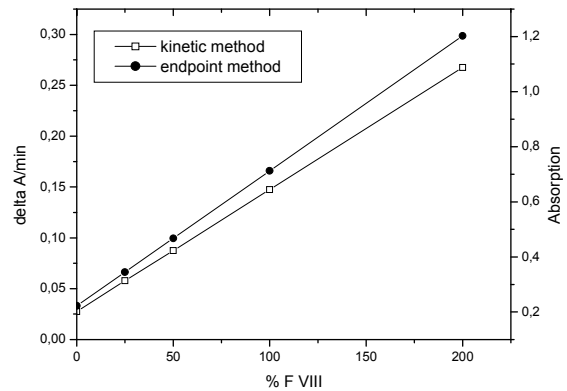
Если полученные результаты находятся вне рекомендуемого диапазона, избегайте измерения проб пациентов до тех пор, пока проблема не будет решена. Новая калибровка требуется для каждого нового лота TECHNOCHROM® F VIII:C и для каждого используемого инструмента. Новая калибровка также рекомендуется при изменении программы и проведении полного сервисного обслуживания инструмента, или оборудования.

**РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА**

**РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Для построения калибровочной кривой каждый стандарт растворяется в объеме дистиллированной воды, указанном на наклейке, разводится 1 : 41 (0,05 мл плазмы + 2,00 мл F VIII dilution buffer) и тестируется также, как пробы пациентов. Увеличение абсорбции (ΔA/min) в кинетическом методе, или абсорбция (A) в методе конечной точки наносится на график против % F VIII, указанного на наклейке соответствующего Reference Standard и соединяются линией. В качестве бланкового считывания можно использовать величину, полученную для 0% F VIII.

Пример: ручной метод (кинетический и конечная точка)



Все пробы разведенные 1:41 могут прямо быть считаны с калибровочной кривой. Для проб с иным разведением пересчет результата можно сделать по формуле:

$$\frac{\% F VIII \text{ (калибр.крив.)}}{41} \times \text{актуальное разведение} = \% F VIII \text{ пробы}$$

**ДИАПАЗОН НОРМЫ**

0,6 – 1,5 Ед F VIII (60 – 150% нормы)<sup>1</sup>

**СТАНДАРТИЗАЦИЯ**

Reference Standards F VIII калибруется по стандартной плазме ВОЗ. Концентрации зависят от лота, смотрите наклейки на флаконах.

**ХАРАКТЕРИСТИКИ ВЫПОЛНЕНИЯ**

Данные приведены ниже. Результаты, полученные в индивидуальных лабораториях, могут отличаться.

**ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ**

Воспроизводимость определялась с различными пробами (в серии и изо дня в день).

Были получены следующие результаты:

Проба	Внутри серии		Между сериями	
	Проба 1	Проба 2	Проба 1	Проба 2
p (n-количество проб)	29	18	8	5
MV (MV-среднее значение)	42,2 Ext	81,0 Ext	90,3 %	22,5%
SD (%) (SD-стандартное отклонение)	1,87	1,69	2,786	1,46
CV (%) (CV-коэффициент вариации)	2,5%	2,1%	3,08	6,5%

**СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ (КОРРЕЛЯЦИЯ МЕТОДОВ)**

Следующая корреляция (в %) была получена при сравнении метода TECHNOCHROM® FVIII:C (Technoclone) с методом FVIII-дефицитной плазмы с имидазольным буфером

$$n=42 \quad y = 1,1071x - 5,9113 \quad R^2 = 0,957$$

**ЛИНЕЙНОСТЬ ПРЕДЕЛ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ**

0,0 – 144 (Активность %) 0% (Активность %)

**ЛИТЕРАТУРА**

Контактируйте с Technoclone или локальным дистрибьютором по литературе, или технике применения теста.

(1) H.Lang, M. Oberreiter, B. Moritz: A new Chromogenic Factor VIII:C-Assay Based on a System of Human Proteins. Thromb. Haemostas. Abstracts XIII<sup>th</sup> Congress ISTH, Th 65 (C), 943 (1991).