

IVD

NoFact IX

CE



ENGLISH VERSION

INTENDED USE

**NoFACT IX** Deficient Plasma is a human plasma immunodepleted of Factor IX and intended for the quantitative determination of Factor IX activity in citrated plasma from patients suspected of FIX deficiency. FIX activity is based on the activated partial thromboplastin time. For in vitro diagnostic use.

SUMMARY AND PRINCIPLE

Factor IX is a glycoprotein zymogen of approximately 56,000 Daltons that circulates at a concentration of 89 nM (1). When converted to its active form, Factor IXa, and in complex its cofactor FVIIIa, FIXa accelerates the conversion of FX to FXa.

Factor IX has decreased activity in a congenital condition known as Hemophilia B. An acquired Factor IX deficiency state may occur in conjunction with vitamin K deficiency, oral anticoagulant therapy, and liver disease.

The quantitative clot-based assay for Factor IX uses a modification of the activated partial thromboplastin time (APTT) test and Factor IX deficient plasma (2, 3). In this system a dilution of the test plasma is mixed with a FIX deficient plasma and the clot time of an APTT determined for the mixture. Under these conditions the clot time is inversely proportional to the concentration of FIX in the test plasma (3).

**SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION**

Perform sample collection, handling, and storage according to the CLSI document H21-A5 "Transport and Processing of Blood Samples for Testing Plasma-based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays" (4). Nine parts of freshly drawn whole blood should be collected into one part 3.2% trisodium citrate anticoagulant. Fresh plasma samples up to 4 hours post-collection and frozen samples stored up to two weeks at -20C and up to six months at -70C are acceptable. Thaw frozen samples rapidly in a 37C water bath and mix gently and thoroughly before testing.

REAGENTS

For In-Vitro Diagnostic Use Only.

Factor IX Deficient Substrate Plasma

**Package contents:** 10 x 1 mL vials, lyophilized.

**Ingredients:** The reagent is human plasma, which has been immunodepleted to contain less than 1% Factor IX activity. The plasma has been buffered and lyophilized to maximize stability.

**WARNING: Potential Biohazard:** The **NoFACT IX** Deficient Plasma has been found negative when tested for Hepatitis B Antigen (HBsAg) and antibodies to HCV and HIV by FDA licensed tests; however, the deficient plasma should be handled with the same precautions as those observed when handling patient plasmas.

**Preparation for Use:** Reconstitute each vial of **NoFACT IX** Deficient Plasma with 1.0 mL distilled water. Swirl gently; do not shake. Allow to stand for 20 minutes at room temperature to insure complete dissolution before use.

**Storage and Stability:** The lyophilized product is stable until the expiration date printed on the vial when stored at 2 to 8°C. The reconstituted product is stable for 8 hours when stored at 2 to 8°C and 4 hours when stored at RT (18-26°C).

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Supplies available from r2 Diagnostic (or equivalent products from other manufacturers):

**Phospholin ES**, an APTT reagent

**0.025 M Calcium Chloride**

**Imidazole Buffered Saline**

Calibration plasma

Supplies not provided by r2 Diagnostics:

Semi-automated or automated coagulation analyzer

Normal and abnormal quality control plasmas approved for FIX activity

Common clinical laboratory equipment and materials such as centrifuges, test tubes, pipettes, and distilled water.

TEST PROCEDURE

Contact r2 Diagnostics for instrument applications using APTT reagent to test for FIX concentration.

Quality Control

Quality control of coagulation tests involves multiple components. Each laboratory should establish a quality control program that includes both normal and abnormal control plasmas.

RESULTS

Results of a factor assay may be expressed in % activity or IU/mL. The analytical measurement range (linearity) is 1% - 188% FIX activity.

LIMITATIONS

Hemolysis to 500 mg/dL hemoglobin, icterus to 20 mg/dL unconjugated bilirubin, and lipemia to 2000 mg/dL triglycerides cause less than a 10% shift in % FIX recoveries using **NoFACT IX** Deficient Plasma with Stago PTT-A on the Stago Compact. Unfractionated heparin, Low Molecular Weight Heparin, and direct thrombin inhibitors interfere with FIX determinations. Lupus anticoagulants may also interfere (7).

The performance characteristics of **NoFACT IX** Deficient Plasma were not evaluated for other coagulation analyzers and APTT reagents or coagulation systems.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The method comparison and analytical studies of **NoFACT IX** Deficient Plasma were assessed using Diagnostica Stago STA Compact coagulation analyzers, Stago PTT Automate 5 (PTT-A), and Stago Unicalibrator and controls.

Precision:

CLSI EP5-A2 (5) precision estimates of the Stago PTT-A Factor IX assay using **NoFACT IX** Deficient Plasma, as % CV of the recovered FIX values, were:

| Plasma                                   | Mean FIX activity, % | % CV, Within-run (S-r) | % CV, Lot-to-Lot (S-lot) | % CV, Within-Device (S-device) |
|------------------------------------------|----------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------------|
| System N (Normal Control Plasma) N=240   | 109%                 | 5.1%                   | 1.1%                     | 7.2%                           |
| System P (Abnormal Control Plasma) N=240 | 43%                  | 4.6%                   | 2.9%                     | 7.7%                           |
| Low FIX pooled patient plasma N=120      | 14%                  | 5.7%                   | 2.2%                     | 7.8%                           |

Correlation:

Two hundred and thirty-three plasma samples from patients and donors were assessed in three laboratories in parallel with the Stago PTT-A FIX assay using Stago IX Deficient plasma and with the Stago PTT-A FIX assay using **NoFACT IX** Deficient Plasma. The regression statistics were:

|                | All Labs N=233 | Site 1 N=100 | Site 2 N=80 | Site 3 N=53 |
|----------------|----------------|--------------|-------------|-------------|
| Slope          | 0.858          | 0.785        | 0.923       | 0.817       |
| Intercept      | 5.729          | 6.168        | 5.328       | 11.206      |
| r <sup>2</sup> | 0.915          | 0.977        | 0.907       | 0.830       |
| r              | 0.956          | 0.988        | 0.988       | 0.911       |

REFERENCE VALUES

A typical reference range is 78%-184% (6), however each laboratory should determine a reference range for FIX activity for its particular population and instrument / reagent system.

LITERATURE REFERENCES

- 1) Bajaj S and Thompson A, "Molecular and Structural Biology of Factor IX", in Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice, 5th edition, editors Coleman R et al, Lippicott Williams and Wilkins, 2006.
- 2) Marques MB and Fritsma GA, Quick Guide to Coagulation Testing, AACCPress2006.
- 3) Laposata M, et. al., The Clinical Hemostasis Handbook, Year Book Medical Publishers, 1989.
- 4) H21-A5, Collection, Transport and Processing of Blood Samples for Testing Plasma-based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline-Fifth Edition, Clinical Laboratory Standards Institute, 2008.
- 5) EP5-A2, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline-2nd Edition, Clinical Laboratory Standards Institute, 2004.
- 6) Bennett ST, Lehman CM, and Rodgers GM, Laboratory Hemostasis: A Practical Guide for Pathologists, Springer, 2007.
- 7) Brandt JT, et al, Effect of lupus anticoagulants on the activated partial thromboplastin time, Arch Pathol Lab Med 115: 109, 1991

VERSION FRANCAISE

UTILISATION PRÉVUE

Le **NoFACT IX** Deficient plasma est un plasma humain immunodépléti en Facteur IX et destiné à la détermination quantitative de l'activité du facteur IX dans le plasma citraté de patients soupçonnés de déficience en FIX. L'activité du FIX est basée sur le temps de céphaline activée. Pour usage diagnostique in vitro.

RÉSUMÉ ET PRINCIPE

Le Facteur IX est une glycoprotéine zymogène d'environ 56 000 Daltons qui circule à une concentration de 89 nM (1). Lorsqu'il est converti dans sa forme active, le Facteur IXa, et dans sa forme complexe, le cofacteur FIXa, le FIXa accélère la conversion du FX en FXa.

Le Facteur IX présente une activité réduite dans une affection congénitale appelée hémophilie B. Une déficience acquise en Facteur IX peut survenir en conjonction avec une déficience en vitamine K, un traitement anticoagulant par voie orale, et une maladie hépatique.

Le dosage quantitatif du Facteur IX de la coagulation humaine utilise une modification du test du temps de céphaline activée (TCA) ainsi que du plasma déficient en Facteur IX (2, 3). Dans ce système, une dilution du plasma de test est mélangée à du plasma déficient en FIX et le temps de coagulation d'un TCA déterminé pour le mélange. Dans ces conditions le temps de coagulation est inversement proportionnel à la concentration de FIX dans le plasma de test (3).

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Réaliser le prélèvement, la manipulation et le stockage des échantillons conformément au document H21-A5 du CLSI, « Transport et traitement des échantillons de sang aux fins de test des dosages plasmatiques de la coagulation et des dosages de l'hémostase moléculaire » (4). Neuf parties de sang total fraîchement prélevé doivent être recueillies dans une partie d'anticoagulant, du citrate trisodique à 3,2 %. Les échantillons de plasma frais sont acceptables jusqu'à 4 heures après le prélèvement, tandis que les échantillons congelés sont acceptables jusqu'à deux semaines à -20 °C et jusqu'à six mois à -70 °C. Décongeler rapidement les échantillons congelés dans un bain-marie à 37 °C et mélanger doucement et soigneusement avant de tester.

RÉACTIFS

À usage diagnostique *in vitro* uniquement.

Substrat plasmatique déficient en Facteur IX

**Contenu de l'emballage :** 10 flacons de 1 mL, lyophilisés.

**Ingédients :** le réactif est du plasma humain, qui a été immunodépléti pour contenir moins de 1 % d'activité en Facteur IX. Le plasma a été tamponné et lyophilisé pour en maximiser la stabilité.

AVERTISSEMENT : Danger biologique potentiel :

Le **NoFACT IX** Deficient plasma s'est avéré négatif lors de tests agréés par la FDA pour l'antigène de l'hépatite B (HBsAg) et les anticorps dirigés contre le VHC et le VIH ; cependant, le plasma déficient doit être manipulé avec les mêmes précautions que celles utilisées pour la manipulation des plasmas de patients.

**Préparation à l'utilisation :** reconstituer chaque flacon de **NoFact IX** Deficient Plasma avec 1,0 mL d'eau distillée. Agiter doucement ; ne pas secouer. Laisser reposer 20 minutes à température ambiante pour assurer la dissolution complète avant l'utilisation.

**Conservation et stabilité :** le produit lyophilisé est stable jusqu'à la date de péremption imprimée sur le flacon en cas de conservation entre 2 et 8 °C. Le produit reconstitué est stable pendant 8 heures en cas de conservation entre 2 et 8 °C, et pendant 4 heures en cas de conservation à température ambiante (18-26 °C).

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

Fournitures disponibles auprès de r2 Diagnostic (ou produits équivalents chez d'autres fabricants) :

**Phospholin ES**, un réactif TCA

**Chlorure de calcium 0,025 M**

**Solution tamponnée d'imidazole**

Plasma étalon

Fournitures non proposées par r2 Diagnostics :

Analyseur de coagulation semi-automatique ou automatique

Plasma normal et anomal, pour le contrôle de la qualité, approuvé pour l'activité du FIX

Équipement et matériel courant de laboratoire clinique comme centrifugeuses, tubes à essai, pipettes et eau distillée.

**PROCÉDURE DE TEST**

Contactez r2 Diagnostics afin de connaître les applications pour instruments utilisant un réactif TCA pour tester la concentration en FIX.

Contrôle de la qualité

Le contrôle de la qualité des tests de coagulation implique plusieurs éléments. Chaque laboratoire doit établir un programme de contrôle de la qualité qui inclut des plasmas de contrôle normaux et anormaux.

RÉSULTATS

Les résultats d'un dosage de facteur peuvent être exprimés en % d'activité ou en UI/mL. La plage de mesure analytique (linéarité) est 1 % - 188 % d'activité FIX.

LIMITES

Hémolyse à 500 mg/dL d'hémoglobine, icteré à 20 mg/dL de bilirubine non conjuguée, et lipidémie à 2 000 mg/dL de triglycérides causent une variation inférieure à 10 % dans le pourcentage de récupération du FIX en utilisant **NoFact IX** Deficient Plasma avec Stago PTT-A sur le Stago Compact. L'héparine non fractionnée, l'héparine de faible poids moléculaire et les inhibiteurs directs de la thrombine interfèrent avec les déterminations du FIX. Les anticoagulants lupiques peuvent également interférer (7).

Les caractéristiques de performances de **NoFACT IX** Deficient Plasma n'ont pas été évaluées pour d'autres analyseurs de la coagulation et réactifs TCA ou systèmes de coagulation.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

La comparaison des méthodes et les études analytiques de **NoFact IX** Deficient Plasma ont été évaluées par des contrôles et analyseurs de coagulation Diagnostica Stago STA Compact, Stago PTT Automate 5 (PTT-A) et Stago Unicalibrator.

Precision : Les estimations de précision CLSI EP5-A2 (5) du dosage Stago PTT-A du Facteur IX en utilisant **NoFACT IX** Deficient Plasma, CV % des valeurs récupérées de FIX, étaient :

| Plasma                                         | FIX moyen activité, % | CV %, Dans l'analyse (S-r) | CV %, de lot à lot (S-lot) | CV %, dans l'appareil (S-device) |
|------------------------------------------------|-----------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------------|
| Système N (Plasma de contrôle normal) N=240    | 109 %                 | 5,1 %                      | 1,1 %                      | 7,2 %                            |
| Système P (Plasma de contrôle anormal) N=240   | 43 %                  | 4,6 %                      | 2,9 %                      | 7,7 %                            |
| Pool de plasmas de patients à faible FIX N=120 | 14 %                  | 5,7 %                      | 2,2 %                      | 7,8 %                            |

Corrélation :

Deux cent trente-trois échantillons de plasma de patients et donneurs ont été évalués dans trois laboratoires en parallèle avec le dosage Stago PTT-A FIX en utilisant du plasma déficient Stago IX et le dosage Stago PTT-A FIX en utilisant du **NoFact IX** Deficient plasma. Les statistiques de régression étaient :

|                | Tous les laboratoires N=233 | Site 1 N=100 | Site 2 N=80 | Site 3 N=53 |
|----------------|-----------------------------|--------------|-------------|-------------|
| Pente          | 0,858                       | 0,785        | 0,923       | 0,817       |
| Ordonnée       | 5,729                       | 6,168        | 5,328       | 11,206      |
| r <sup>2</sup> | 0,915                       | 0,977        | 0,907       | 0,830       |
| r              | 0,956                       | 0,988        | 0,988       | 0,911       |

VALEURS DE RÉFÉRENCE

Une plage de référence typique est 78 %-84 % (6), cependant chaque laboratoire doit déterminer une plage de référence de l'activité FIX selon sa population et son instrument / système de réactifs particulier.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Bajaj S and Thompson A, "Molecular and Structural Biology of Factor IX", in Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice, 5th edition, editors Coleman R et al, Lippicott Williams and Wilkins, 2006.
- 2) Marques MB and Fritsma GA, Quick Guide to Coagulation Testing, AACCPress2006.
- 3) Laposata M, et. al., The Clinical Hemostasis Handbook, Year Book Medical Publishers, 1989.
- 4) H21-A5, Collection, Transport and Processing of Blood Samples for Testing Plasma-based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline-Fifth Edition, Clinical Laboratory Standards Institute, 2008.
- 5) EP5-A2, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline-2nd Edition, Clinical Laboratory Standards Institute, 2004.
- 6) Bennett ST, Lehman CM, and Rodgers GM, Laboratory Hemostasis: A Practical Guide for Pathologists, Springer, 2007.
- 7) Brandt JT, et al, Effect of lupus anticoagulants on the activated partial thromboplastin time, Arch Pathol Lab Med 115: 109, 1991.

DEUTSCHE VERSION

VERWENDUNGZWECK

**NoFACT IX** ist ein humanes Plasma, das hinsichtlich Factor VIII immundepletiert ist. Es ist für die quantitative Bestimmung der Factor IX-Aktivität in Plasma, das durch Zitrations von Patienten, bei denen der Verdacht einer FIX-Defizienz besteht, gewonnen wurde, vorgesehen. Die FIX-Aktivität basiert auf der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit. Für die professionelle In-vitro-Diagnostik.

ZUSAMMENFASSUNG UND PRINZIP

Factor IX ist ein Glykoprotein-Zymogen von ca. 56.000 Dalton, das in einer Konzentration von 89 nM zirkuliert (1). Bei Umwandlung in seine aktive Form Factor IXa und im Komplex mit seinem Kofaktor FVIIIa beschleunigt FIXa die Umwandlung von FX zu FXa.

Factor IX weist in einer angeborenen Krankheit, die als Hämophilie B bezeichnet wird, eine verringerte Aktivität auf. Eine erworbene Factor IX-Defizienz kann zusammen mit Vitamin-K-Mangel, oraler Antikoagulanzen-Therapie und Lebererkrankungen auftreten.

Der quantitative gerinnungs-basierte Assay auf Factor IX verwendet einen modifizierten Test der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (APTT) und das Factor IX-defiziente Plasma (2, 3). In diesem System wird eine Verdünnung des Testplasmas mit einem FIX-defizienten Plasma vermischt und die Gerinnungszeit einer APTT für diese Mischung bestimmt. Unter diesen Bedingungen ist die Gerinnungszeit umgekehrt proportional zu der Konzentration von FIX im Testplasma (3).

PROBENTENAHME UND -VORBEREITUNG

Führen Sie die Entnahme, Handtierung und Lagerung gemäß CLSI-Dokument H21-A5 „Transport and Processing of Blood Samples for Testing Plasma-based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays“ (Transport und Verarbeitung von Blutproben zum Test von plasmabasierten Gerinnungs-Assays und molekularen Hämostase-Assays) (4) durch. Neun Teile von frisch entnommem Blut werden einem Teil von 3,2%igem Trinatriumcitrat-Antikoagulans zugefügt. Frische Plasmaproben bis zu 4 Stunden nach Entnahme sowie geforene Proben, die bis zu zwei Wochen bei -20 °C und bis zu sechs Monate bei -70 °C aufbewahrt wurden, sind akzeptabel. Geforene Proben schnell in 37 °C warmem Wasserbad auflauen und vor dem Test vorsichtig und sorgfältig vermischen.

REAGENZIEN

Nur zur In-Vitro-Diagnostik

Factor IX-defizientes Substratplasma

**Packungsinhalt:** 10 x 1 mL Fläschchen, lyophilisiert.

**Inhaltsstoffe:** Das Reagenz ist humanes Plasma, das derart immundepletiert wurde, dass es eine Factor IX-Aktivität von weniger als 1 % aufweist. Für maximale Stabilität wurde das Plasma gepuffert und lyophilisiert.

**WARNHINWEIS: Potenzielle Biogefährdung:** Das **NoFACT IX** Deficient Plasma erwies sich beim Test auf Hepatitis B-Antigen (HBsAg) und Antikörper gegen HCV und HIV mittels von der FDA lizenzierten Tests als negativ; das defiziente Plasma sollte jedoch trotzdem unter Anwendung der gleichen Vorsichtsmaßnahmen wie beim Umgang mit Patientenplasmen behandelt werden.

**Vorbereitung für die Verwendung:** Jedes Fläschchen mit **NoFACT IX** Deficient Plasma mit 1,0 mL destilliertem Wasser rekonstituieren. Vorsichtig schwenken; nicht schütteln. 20 Minuten bei Raumtemperatur stehen lassen, um vollständiges Auflösen vor der Verwendung sicherzustellen.

**Lagerung und Stabilität:** Das lyophilisierte Produkt ist bei Lagerung bei 2 bis 8 °C bis zum Verfallsdatum, das auf dem Fläschchen aufgedruckt ist, stabil. Das rekonstituierte Produkt ist bei Lagerung bei 2 bis 8 °C 8 Stunden lang und bei Lagerung bei RT (18-26 °C) 4 Stunden lang stabil.

ERFORDERLICHE, NICHT IM LIEFERUMFANG

ENTHALTENE MATERIALIEN

Hilfsstoffe sind von r2 Diagnostic (bzw. gleichwertige Produkte von anderen Herstellern) erhältlich: Phospholin ES, ein APTT-Reagenz 0,025 M Calciumchlorid Imidazol-gepufferte Kochsalzlösung Kalibrationsplasma

Nicht von r2 Diagnostics gelieferte Hilfsstoffe:

Semi-automatisches oder automatisches Gerinnungsmessgerät Normale und abnormale, für FIX-Aktivität genehmigte Qualitätskontrollplasmen Gängige klinische Laborausrüstung und -materialien, wie Zentrifugen, Reagenzröhrchen, Pipetten und destilliertes Wasser.

TESTDURCHFÜHRUNG

Wenden Sie sich zwecks Instrumentenanwendungen mittels APTT-Reagenzien zum Testen der FIX-Konzentration bitte an r2 Diagnostics.

Qualitätskontrolle

Die Qualitätskontrolle von Gerinnungstests umfasst mehrere Komponenten. Jedes Labor sollte ein Qualitätskontrollprogramm festlegen, das sowohl normale als auch abnormale Kontrollplasmen umfasst.

ERGEBNISSE

Ergebnisse eines Factor-Assays können in % Aktivität oder in IU/mL angegeben werden. Der analytische Messbereich (Linearität) beträgt 1 %-188 % FIX-Aktivität.

BEGRENZUNGEN

Hämolyse bis 500 mg/dL Hämoglobin, Icterus bis 20 mg/dL unkonjugiertes Bilirubin und Lipämie bis 2000 mg/dL Triglyceride verursachen Veränderungen von weniger als 10 % bei Rückgewinnungen von FIX unter Verwendung von **NoFACT IX** Deficient Plasma mit Stago PTT-A auf dem Stago Compact. Unfraktioniertes Heparin, niedermolekulares Heparin sowie direkte Thrombinhemmer haben einen störenden Einfluss auf FIX-Bestimmungen. Lupusantikoagulanzen können sich ebenfalls störend auswirken (7).

Die Leistungsdaten von **NoFACT IX** Deficient Plasma wurden nicht im Hinblick auf andere Gerinnungsmessgeräte und APTT-Reagenzien oder -gerinnungssysteme geprüft.

LEISTUNGSDATEN

Methodenvergleichs- und Analysedaten von **NoFACT IX** Deficient Plasma wurden mit Diagnostica Stago STA Compact-Gerinnungsmessgeräten, Stago PTT Automate 5 (PTT-A) sowie Stago STA Unicalibrator und mittels Kontrollen durchgeführt. Präzision:

Schätzungen der CLSI EP5-A2 (5)-Präzision des Stago PTT-A Factor XI-Assay unter Verwendung von **NoFact IX** Deficient Plasma in % CV der rückgewonnenen FIX-Werte betrugen:

| Plasma                                            | Mittlere FIX-Aktivität, % | % CV, Within -Run (S-r) | % CV, Charge -zu- Charge (S- Charge ) | % CV, Innerhalb eines Geräts (S- Geräts) |
|---------------------------------------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------------------------|------------------------------------------|
| System N (normales Kontrollplasma) N=240          | 109 %                     | 5,1 %                   | 1,1 %                                 | 7,2 %                                    |
| System P (abnormales Kontrollplasma) N=240        | 43 %                      | 4,6 %                   | 2,9 %                                 | 7,7 %                                    |
| Gepooltes Patientenplasma mit niedrigem FIX N=120 | 14 %                      | 5,7 %                   | 2,2 %                                 | 7,8 %                                    |

Korrelation:

Es wurden zweihundertdreunddreißig Plasmaproben von Patienten und Spendern bei drei Laboren mit dem Stago PTT-A FIX-Assay unter Verwendung von Stago FIX Deficient Plasma und mit dem Stago PTT-A FIX-Assay unter Verwendung von **NoFACT IX** Deficient Plasma getestet. Die Regressionsstatistiken fielen wie folgt aus:

|                 | Alle Labor e N=23 3 | Zentru m 1 N=100 | Zentru m 2 N=80 | Zentru m 3 N=53 |
|-----------------|---------------------|------------------|-----------------|-----------------|
| Steigung        | 0,858               | 0,785            | 0,923           | 0,817           |
| Achsenabschnitt | 5,729               | 6,168            | 5,328           | 11,206          |
| r <sup>2</sup>  | 0,915               | 0,977            | 0,907           | 0,830           |
| r               | 0,956               | 0,988            | 0,988           | 0,911           |

REFERENZWERTE

Ein typischer Referenzbereich liegt bei 78 %-184 % (6), jedes Labor sollte jedoch einen Referenzbereich für die FIX-Aktivität für seine jeweilige Population und sein Instrumenten-/Reagenzsystem bestimmen.

LITERATURHINWEISE

- 1) Bajaj S and Thompson A, "Molecular and Structural Biology of Factor IX", in Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice, 5th edition, editors Coleman R et al, Lippicott Williams and Wilkins, 2006.
- 2) Marques MB and Fritsma GA, Quick Guide to Coagulation Testing, AACCPress2006.
- 3) Laposata M, et. al., The Clinical Hemostasis Handbook, Year Book Medical Publishers, 1989.
- 4) H21-A5, Collection, Transport and Processing of Blood Samples for Testing Plasma-based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline-Fifth Edition, Clinical Laboratory Standards Institute, 2008.

- 5) EP5-A2, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline-2<sup>nd</sup> Edition, Clinical Laboratory Standards Institute, 2004.
- 6) Bennett ST, Lehman CM, and Rodgers GM, Laboratory Hemostasis: A Practical Guide for Pathologists, Springer, 2007.
- 7) Brandt JT, et al, Effect of lupus anticoagulants on the activated partial thromboplastin time, Arch Pathol Lab Med 115: 109, 1991

**USO PREVISTO**  
NoFACT IX Deficient Plasma è un plasma umano sottoposto a immunodeplezione del Factor IX, indicato per la determinazione quantitativa dell'attività del Factor IX nel plasma citrato di paziente con sospetta carenza di FIX. L'attività FIX si basa sul tempo di tromboplastina parziale attivata. Per uso diagnostico in vitro.

**RIEPILOGO E PRINCIPIO**  
Factor IX è una glicoproteina zimogeno di circa 56.000 Dalton che circola ad una concentrazione di 89 nM (1). Quando convertito nella forma attiva, Factor IXa, e nel complesso, il relativo cofattore FVIIIa, FIXa, accelera la conversione di FX in FXa.  
Factor IX ha diminuito l'attività in una condizione congenita nota come Emofilia B. Uno stato di carenza di Factor IX acquisito può verificarsi in combinazione con carenza di vitamina K, terapia anticoagulante orale ed epatopatia.

Il dosaggio quantitativo basato sulla coagulazione per Factor XI utilizza una modifica del test del tempo di tromboplastina parziale attivata (APTT) e plasma con carenza di Factor IX (2, 3). In questo sistema, una diluizione del plasma del test viene miscelata a plasma con carenza di FIX e viene determinato il tempo di coagulazione di un APTT per la miscela. In queste condizioni il tempo di coagulazione è inversamente proporzionale alla concentrazione di FIX nel plasma del test (3).

**RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI**  
Procedere alla raccolta, lavorazione e conservazione dei campioni secondo quanto previsto dal documento CLSI H21-A5 "Transport and Processing of Blood Samples for Testing Plasma-based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays" (Trasporto e lavorazione di campioni di sangue per dosaggi dei test di coagulazione basati su plasma e dosaggi per l'emostasi molecolare) (4). Nove parti di sangue intero appena prelevato devono essere raccolte in una parte di citrato di trisodio anticoagulante al 3,2%. Sono accettabili campioni di plasma freschi fino a 4 ore dal prelievo e campioni congelati conservati fino a due settimane a -20 °C e fino a sei mesi a -70 °C. Scongellare rapidamente i campioni congelati a bagnomaria a 37 °C, quindi miscelare delicatamente ma completamente prima di eseguire il test.

**REAGENTI**  
**Solo per uso diagnostico *in-vitro*.**  
**Plasma substrato con carenza di Factor IX**  
**Contenuto della confezione:** 10 fiale da 1 ml, liofilizzato.  
**Ingredienti:** Il reagente è plasma umano sottoposto a immunodeplezione in modo da contenere meno dell'1% di attività del Factor IX. Il plasma è stato tamponato e liofilizzato per aumentare al massimo la stabilità.

**AVVERTENZA: Potenziale rischio biologico:** NoFACT IX Deficient Plasma è risultato negativo quando sottoposto a test per l'antigene dell'epatite B (HBsAg) e per gli anticorpi a HCV e HIV tramite l'uso di test autorizzati dalla FDA; tuttavia, il plasma carente deve essere manipolato adottando le stesse precauzioni osservate per il trattamento del plasma di pazienti.

**Preparazione per l'uso:** Ricostituire ogni fiala di NoFACT IX Deficient Plasma con 1,0 ml di acqua distillata. Rotolare delicatamente senza agitare. Attendere 20 minuti a temperatura ambiente per garantire la completa dissoluzione prima dell'uso.

**Conservazione e stabilità:** Il prodotto liofilizzato è stabile fino alla data di scadenza stampata sulla fiala se conservato ad una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Il prodotto ricostituito è stabile per 8 ore se conservato a 2-8 °C e per 4 ore se conservato a temperatura ambiente (18-26 °C).

**MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI**  
Materiali disponibili presso r2 Diagnostics (o prodotti equivalenti di altre marche):

Phospholin ES, reagente APTT  
Cloruro di calcio 0,025 M  
Soluzione salina tamponata con imidizolo  
Plasma di calibratura  
Materiali non forniti da r2 Diagnostics:  
Analizzatore di coagulazione semi-automatico o automatico  
Plasma di controllo qualità normale e anormale approvati per l'attività FIX  
Normale attrezzatura e materiale da laboratorio clinico, come centrifughe, provette, pipette e acqua distillata.

#### PROCEDURA DEL TEST

Contattare r2 Diagnostics per applicazioni di strumenti usando il reagente APTT per testare la concentrazione di FIX.

#### Controllo di qualità

Il controllo di qualità per i test di coagulazione comprende diversi componenti. Ogni laboratorio deve stabilire un programma di controllo qualità composto da plasma di controllo sia normali che anormali.

#### RISULTATI

I risultati di un dosaggio del fattore possono essere espressi in attività % o IU/mL. L'intervallo di misurazione analitica (linearità) è l'attività di FIX a 1% - 188%.

#### LIMITAZIONI

Emolisi da emoglobina 500 mg/dL, ittero da bilirubina non coniugata 20 mg/dL e lipemia da trigliceridi 2000 mg/dL provocano meno del 10% di scostamenti nei recuperi % FIX usando NoFACT IX Deficient Plasma con Stago PTT-A su Stago Compact. L'eparina non frazionata, l'eparina a basso peso molecolare e gli inibitori diretti della trombina interferiscono con le determinazioni di FIX. L'interferenza può giungere anche dagli anticoagulanti lupici (7).

Le caratteristiche prestazionali di NoFACT IX Deficient Plasma non sono state valutate per altri analizzatori di coagulazione e reagenti APTT o sistemi di coagulazione.

#### CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Il confronto tra i metodi e gli studi analitici del NoFACT IX Deficient Plasma sono stati valutati usando gli analizzatori di coagulazione Diagnostica Stago STA Compact, Stago PTT Automate 5 (PTT-A) e Stago Unicallibrator e controlli.

Precisione:

La stime di precisione CLSI EP5-A2 (5) del dosaggio Stago PTT-A Factor IX usando NoFACT IX Deficient Plasma, come % CV dei valori FIX recuperati, sono state:

| Plasma                                         | Attività FIX media, % | MEDIA, % Intra-analisi (S-r) | % CV, da lotto a lotto (S-lot) | % CV, tra dispositivi i (S-device) |
|------------------------------------------------|-----------------------|------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|
| Sistema N (plasma di controllo normale) N=240  | 109%                  | 5,1%                         | 1,1%                           | 7,2%                               |
| Sistema P (plasma di controllo anormale) N=240 | 43%                   | 4,6%                         | 2,9%                           | 7,7%                               |
| Plasma paziente in pool con FIX basso N=120    | 14%                   | 5,7%                         | 2,2%                           | 7,8%                               |

Correlazione:

Duecentotrentatré campioni di plasma provenienti da pazienti e donatori sono stati valutati in tre laboratori in parallelo con il dosaggio Stago PTT-A FIX usando Stago IX Deficient plasma e con il dosaggio Stago PTT-A FIX usando NoFACT IX Deficient Plasma. La statistica di regressione è la seguente:

|                | Tutti i lab. N=233 | Centro 1 N=100 | Centro 2 N=80 | Centro 3 N=53 |
|----------------|--------------------|----------------|---------------|---------------|
| Pendenza       | 0,858              | 0,785          | 0,923         | 0,817         |
| Intercezza     | 5,729              | 6,168          | 5,328         | 11,206        |
| r <sup>2</sup> | 0,915              | 0,977          | 0,907         | 0,830         |
| r              | 0,956              | 0,988          | 0,988         | 0,911         |

#### VALORI DI RIFERIMENTO

Un tipico intervallo di riferimento è 78%-184% (6), tuttavia ogni laboratorio deve stabilire un intervallo di riferimento per l'attività FIX in base alla propria popolazione specifica e al sistema strumento/reagente.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1) Bajaj S and Thompson A, "Molecular and Structural Biology of Factor IX", in Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice, 5th edition, editors Coleman R et al, Lippicott Williams and Wilkins, 2006.
- 2) Marques MB and Fritsma GA, Quick Guide to Coagulation Testing, AACC Press2006.
- 3) Laposata M, et. al., The Clinical Hemostasis Handbook, Year Book Medical Publishers, 1989.
- 4) H21-A5, Collection, Transport and Processing of Blood Samples for Testing Plasma-based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline- Fifth Edition, Clinical Laboratory Standards Institute, 2008.
- 5) EP5-A2, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline-2<sup>nd</sup> Edition, Clinical Laboratory Standards Institute, 2004.
- 6) Bennett ST, Lehman CM, and Rodgers GM, Laboratory Hemostasis: A Practical Guide for Pathologists, Springer, 2007.
- 7) Brandt JT, et al, Effect of lupus anticoagulants on the activated partial thromboplastin time, Arch Pathol Lab Med 115: 109, 1991

#### VERSIÓN ESPAÑOLA

#### USO PREVISTO

NoFACT IX Deficient Plasma es plasma humano inmunodepletado del Factor VIII previsto para su uso para la

determinación cuantitativa de la actividad del Factor IX en plasma citratado de pacientes en quienes se sospeche deficiencia de FIX. La actividad de FIX se basa en el tiempo de tromboplastina parcial activada. Para uso diagnóstico in vitro.

#### RESUMEN Y PRINCIPIO

Factor IX es una glicoproteína zimógeno de aproximadamente 56 000 dalton que circula con una concentración de 89 pM (1). Cuando se convierte a su forma activa, el Factor IXa y, de forma compleja con su cofactor FVIIIa, FIXa acelera la conversión de FX a FXa.

El Factor IX tiene una menor actividad en una enfermedad congénita denominada hemofilia B. Se puede producir un estado de deficiencia del Factor IX adquirida junto con deficiencia de vitamina K, terapia anticoagulante oral y enfermedad hepática.

El ensayo de coagulación cuantitativa para el Factor IX utiliza una modificación de la prueba de tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) y de plasma deficiente de Factor IX (2, 3). En este sistema, se mezcla una dilución del plasma de prueba con un plasma deficiente de FIX, y se determina el tiempo de coagulación de un TTPa para la mezcla. Con estas condiciones, el tiempo de coagulación es inversamente proporcional a la concentración de FIX en el plasma de prueba (3).

#### EXTRACCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Realice la recogida, manipulación y almacenamiento de las muestras conforme al documento del CLSI H21-A5 "Transport and Processing of Blood Samples for Testing Plasma-based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays" (Transporte y procesamiento de muestras de sangre para pruebas de ensayos de coagulación con plasma y ensayos de hemostasia molecular) (4). Se deben recoger nueve partes de sangre completa recién extraída en una parte de anticoagulante de citrato de sodio al 3,2 %. Es aceptable usar muestras de plasma fresco hasta 4 horas después de la recogida y muestras congeladas almacenadas hasta dos semanas a – 20 °C y hasta seis meses a –70 °C. Descongele las muestras congeladas rápidamente en un baño de agua a 37 °C y mézclelas suave y completamente antes de la prueba.

#### REACTIVOS

**Para uso exclusivo en diagnóstico *in vitro*.**

**Plasma sustrato deficiente en Factor IX**

**Contenido del paquete:** 10 viales de 1 ml, liofilizados.

**Ingredientes:** El reactivo es plasma humano, que ha sido inmunodepletado para contener menos de un 1 % de actividad de Factor IX. El plasma se ha tamponado y liofilizado para maximizar la estabilidad.

**ADVERTENCIA: Posible riesgo biológico:** Se ha descubierto que NoFACT IX Deficient Plasma resulta negativo para el antígeno de la hepatitis B (HBsAg) y para los anticuerpos del VHC y el VIH en las pruebas autorizadas por la Administración de Drogas y Alimentos de EE. UU. (FDA); sin embargo, el plasma deficiente se debe manipular con la misma precaución que el plasma de pacientes.

**Preparación para el uso:** Reconstituya cada vial de NoFACT IX Deficient Plasma con 1,0 ml de agua destilada. Remuévalo con cuidado; no lo agite. Déjelo reposar durante 20 minutos a temperatura ambiente para garantizar una disolución completa antes del uso.

**Almacenamiento y estabilidad:** El producto liofilizado es estable hasta la fecha de caducidad impresa en el vial si se almacena entre 2 y 8 °C. El producto reconstituido es estable durante 8 horas cuando se almacena entre 2 y 8 °C, y durante 4 horas cuando se almacena a temperatura ambiente (18-26 °C).

#### MATERIALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

Suministros disponibles a través de r2 Diagnostics (o productos equivalentes de otros fabricantes):

Phospholin ES, un reactivo de TTPa

0,025 M de cloruro de calcio

Solución salina tamponada con imidazol

Plasma de calibración

Suministros no proporcionados por r2 Diagnostics:  
Analizador de coagulación semiautomático o automático  
Plasmas de control de calidad normal y anormal aprobados para actividad de FIX

Equipo y materiales de laboratorio clínico habituales, como centrifugas, tubos de ensayo, pipetas y agua destilada.

#### PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Póngase en contacto con r2 Diagnostics para conocer aplicaciones de instrumentos utilizando reactivo de TTPa para probar la concentración de FIX.

#### Control de calidad

Las pruebas de control de calidad de la coagulación implican distintos componentes. Cada laboratorio debe establecer un programa de control de calidad que incluya plasmas de control tanto normales como anormales.

#### RESULTADOS

Los resultados de un ensayo de factor se pueden expresar en porcentaje de actividad o en UI/ml. El intervalo de medición analítica (linealidad) es 1 %-188 % de actividad de FIX.

#### LIMITACIONES

La hemólisis con 500 mg/dl de hemoglobina, la ictericia con 20 mg/dl de bilirubina no conjugada y la lipemia con 2000 mg/dl de triglicéridos provocan un desplazamiento inferior al 10 % en porcentaje de recuperaciones de FIX empleando NoFACT IX Deficient Plasma con Stago PTT-A en Stago Compact. La heparina no fraccionada, la heparina de bajo peso molecular y los inhibidores directos de la trombina interfieren con las determinaciones de FIX. Los anticoagulantes lúpicos también pueden interferir (7).

Las características de rendimiento de NoFACT IX Deficient Plasma no se han valorado para otros analizadores de coagulación y reactivos de TTPa o sistemas de coagulación.

#### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

La comparación del método y los estudios analíticos de NoFACT IX Deficient Plasma fueron evaluados utilizando analizadores de coagulación Diagnostica Stago STA Compact, Stago PTT Automate 5 (PPT-A), y Stago Unicallibrator y controles.

Precisión:

Las estimaciones de precisión de EP5-A2 del CLSI (5) para el ensayo de Factor IX Stago PTT-A utilizando NoFACT IX Deficient Plasma como porcentaje del CV de los valores de FIX recuperados fueron:

| Plasma                                          | Activi dad media de FIX, % | % CV, intraserie (S-r) | % CV, entre lotes (S-lot) | % CV, intradispositivo (S-device) |
|-------------------------------------------------|----------------------------|------------------------|---------------------------|-----------------------------------|
| Sistema N (plasma de control normal) N=240      | 109 %                      | 5,1 %                  | 1,1 %                     | 7,2 %                             |
| Sistema P (plasma de control anormal) N=240     | 43 %                       | 4,6 %                  | 2,9 %                     | 7,7 %                             |
| Plasma de pacientes agrupado con FIX bajo N=120 | 14 %                       | 5,7 %                  | 2,2 %                     | 7,8 %                             |

Correlación:

Se analizaron doscientas treinta y tres muestras de plasma de pacientes y donantes en tres laboratorios en paralelo con el ensayo Stago PTT-A FIX utilizando Stago IX Deficient plasma y con el ensayo Stago PTT-A FIX utilizando NoFACT IX Deficient Plasma. Los análisis de regresión fueron:

|                       | Todos los laboratorios N=233 | Centro 1 N=100 | Centro 2 N=80 | Centro 3 N=53 |
|-----------------------|------------------------------|----------------|---------------|---------------|
| Pendiente             | 0,858                        | 0,785          | 0,923         | 0,817         |
| Ordenada en el origen | 5,729                        | 6,168          | 5,328         | 11,206        |
| r <sup>2</sup>        | 0,915                        | 0,977          | 0,907         | 0,830         |
| r                     | 0,956                        | 0,988          | 0,988         | 0,911         |

#### VALORES DE REFERENCIA

Un valor de referencia típico es 78 %-184 % (6); sin embargo, cada laboratorio debe determinar un intervalo de referencia para la actividad de FIX para su población e instrumento/sistema de reactivos concretos.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Bajaj S and Thompson A, "Molecular and Structural Biology of Factor IX", in Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice, 5th edition, editors Coleman R et al, Lippicott Williams and Wilkins, 2006.
- 2) Marques MB and Fritsma GA, Quick Guide to Coagulation Testing, AACC Press2006.
- 3) Laposata M, et. al., The Clinical Hemostasis Handbook, Year Book Medical Publishers, 1989.
- 4) H21-A5, Collection, Transport and Processing of Blood Samples for Testing Plasma-based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline- Fifth Edition, Clinical Laboratory Standards Institute, 2008.
- 5) EP5-A2, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline-2<sup>nd</sup> Edition, Clinical Laboratory Standards Institute, 2004.
- 6) Bennett ST, Lehman CM, and Rodgers GM, Laboratory Hemostasis: A Practical Guide for Pathologists, Springer, 2007.

#### VERSIONE ITALIANA

Inform of any suspected serious incident related to the device to Info@r2diagnostics.com, or the local r2 distributor, and the competent authority, ministry of health, or delegated agency in the country where the suspected serious incident occurred.

LL-4506 REV. H  
Last Revision Date: 04/14/2025



MT Promedt Consulting GmbH  
Ernst-Heckel-Straße 7, 66386  
St. Ingbert, Germany



R2 Diagnostics, Inc.  
1801 Commerce Drive  
South Bend, Indiana USA 46628  
(574) 288-4377  
www.r2diagnostics.com