



DEFICIENT VIII

Plasma inmunoabsorbido para la determinación cuantitativa del factor VIII

- Kit de 6 viales

(REF 00725)



Agosto 2011

Español 6

1/ UTILIZACIÓN DEL KIT

El **STA® - Deficient VIII** es un plasma humano inmunoabsorbido destinado a ser utilizado en pruebas para la determinación de la actividad del factor VIII en plasma, utilizando los analizadores de la línea STA® adecuados para este reactivo. Estas pruebas requieren la inclusión de plasma deficiente en factor VIII (1).

2/ SUMARIO

• Bioquímica del factor VIII

El factor VIII es una glicoproteína con un peso molecular aproximado de 280 000 daltons (5). Se encuentra presente en el hígado y también en el bazo, riñones y linfocitos (5). En el plasma, el factor VIII circula en forma acoplada con el factor de von Willebrand o F. VIII/VWF (4). En este complejo, el factor VIII se encuentra unido al factor de von Willebrand por un enlace no covalente (5). El factor VIII puede ser activado con trombina y con el factor Xa (5); aumenta la activación del factor X por el factor IXa en presencia de fosfolípidos y calcio (5).

• Variaciones patológicas

- Hemofilia A
 - ◊ La gravedad de la enfermedad depende del nivel de factor VIII:C (10):
 - ◊ < 1 % (< 0,01 IU/ml): hemofilia grave,
 - ◊ 1-5 % (0,01 - 0,05 IU/ml): hemofilia moderada,
 - ◊ 5-40 % (> 0,05 - < 0,40 IU/ml): hemofilia leve.
- Enfermedad de von Willebrand: el nivel de factor VIII disminuye más o menos en función del tipo de enfermedad de von Willebrand (7, 11).
- El nivel de factor VIII puede aumentar en determinadas condiciones: complicaciones tromboembólicas, aterosclerosis coronaria, insuficiencia renal (7), diabetes, síndrome inflamatorio, etc.
- Altos niveles de factor VIII son un factor de riesgo de trombosis, en particular de trombosis venosa (8).
- El nivel de factor VIII disminuye en presencia del inhibidor del factor VIII (7).

3/ PRINCIPIO DEL TEST

La determinación cuantitativa consiste en medir el tiempo de coagulación, en presencia de cefalina y activador, de un sistema en el cual todos los factores se encuentran presentes en cantidad excesiva (suministrado por **STA® - Deficient VIII**), excepto el factor VIII, que proviene de la muestra examinada (1, 3).

4/ COMPOSICIÓN DEL KIT

Cada estuche de STA® - Deficient VIII contiene una hoja con código de barras. Este código de barras contiene las siguientes informaciones: número de lote, referencia del kit, referencia del reactivo y fecha de caducidad.

STA® - Deficient VIII: plasma humano citratado liofilizado del cual ha sido retirado el factor VIII por inmunoabsorción selectiva.

Este reactivo contiene productos de origen humano y/o animal. Cuando se ha utilizado plasma humano en la preparación de este reactivo, se excluye previamente la presencia del antígeno HBs, de los anticuerpos anti-HCV, anti-HIV 1 y anti-HIV 2 con los correspondientes análisis. Sin embargo, ningún test puede garantizar de manera absoluta la ausencia de agentes infecciosos. Por eso, este reactivo de origen biológico ha de ser manipulado con las precauciones habituales, ya que se trata de un producto potencialmente infeccioso.

5/ PRECAUCIONES

El estuche intacto se debe conservar a 2-8 °C. Este reactivo se destina exclusivamente a un uso *in vitro* y debe ser manipulado por personal autorizado del laboratorio. Los residuos se eliminarán con arreglo a la reglamentación local vigente.

El estuche STA® - Deficient VIII está diseñado especialmente para los aparatos de la línea STA® que pueden utilizar este reactivo. Antes de cualquier utilización, leer con atención el "Manual del Operador" del instrumento utilizado. Tener cuidado en el manejo de estos reactivos y las muestras.

6/ OBTENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

La obtención de la muestra debe ajustarse a las recomendaciones para las pruebas de hemostasia.

- Obtención de sangre en solución de citrato trisódico 0,109 M: 1 vol. de citrato por 9 vol. de sangre.
- Centrifugación: 15 minutos a 2000-2500 g.

- Conservación del plasma en un tubo de plástico: realizar la prueba lo más pronto posible después de la toma de la muestra. Los siguientes tiempos de conservación son considerados aceptables:

4 horas a 20 ± 5 °C (12)
15 días a -20 °C (9) } Si congelado rápidamente. Atemperar la muestra a 37 °C el tiempo necesario y suficiente para que la descongelación sea completa.
1 mes a -80 °C (9)

7/ CONSERVACIÓN Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

• Preparación

Reconstituir cada vial con exactamente 1 ml de agua destilada. Dejar estabilizar la solución durante 30 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C). Luego, agitar suavemente para obtener una solución homogénea.

• Conservación

Liofilizado: a 2-8 °C, hasta la fecha de caducidad indicada en el estuche. Reconstituido: 4 horas en los STA Compact® y STA-R®.

8/ REACTIVOS Y MATERIALES AUXILIARES

- **STA® - C.K. Prest®** (REF 00597), **STA® - Cephascreen®** (REF 00308, 00310) o **STA® - PTT [A]** (REF 00595).
- **STA® - Owren-Koller** (REF 00360).
- **STA® - CaCl₂ 0.025 M** (REF 00367).
- **STA® - Unicalibrator** (REF 00675).
- **STA® - System Control [N] + [P]** (REF 00678): controles normal y anormal.
- Instrumento de la línea STA® que pueda utilizar este reactivo.
- Barra de agitación (REF 26674) cuando se utilice el kit STA® - C.K. Prest®.
- STA® - mini Reducer (REF 00797) cuando se utilice el kit STA® - Cephascreen® [A] o STA® - maxi Reducer (REF 00801) cuando se utilice el kit STA® - Cephascreen® [A].
- Equipamiento habitual en los laboratorios de análisis clínicos.

9/ PROCEDIMIENTO

9.1. Calibración

La calibración se lleva a cabo con la ayuda del estuche STA® - Unicalibrator. Preparar el estuche STA® - Unicalibrator y transferir la información contenida en el código de barras impreso en su respectivo prospecto, al instrumento. Los estándares son preparados automáticamente por el analizador, diluyendo con tampón Owren-Koller de acuerdo a los parámetros ingresados en el instrumento para la dosificación.

La curva de calibración se puede ver en la pantalla del instrumento con la ayuda del menú "Calibración" (ver el "Manual del Operador").

9.2. Plasmas a analizar

Los plasmas a testar han de estar sin diluir. Introducirlos en el instrumento (ver el "Manual del Operador" del instrumento utilizado). El instrumento realizará automáticamente las diluciones en tampón Owren-Koller.

Seleccionar el(los) test(s) a efectuar en los plasma de pacientes.

9.3. Controles

Los controles son necesarios para verificar la exactitud y la reproducibilidad de los resultados. Utilizar el kit STA® - System Control [N] + [P]. Preparar los controles y transferir la información contenida en el código de barras impreso en sus respectivos insertos, al instrumento. Estos controles se utilizan han de estar sin diluir; el instrumento realizará automáticamente la dilución en tampón Owren-Koller.

9.4. Dosificación

Para la realización de la dosificación, seguir los protocolos descritos en los "Standardized Operating Procedures" del instrumento.

La determinación del factor VIII en el plasma por valorar se procesa automáticamente por el analizador. Deben seguir rápidamente a la realización del calibrado de la dosificación y deben ser realizados dentro de un marco de tiempo compatible con la estabilidad del factor VIII en plasma. Por lo tanto, se recomienda que estas dosificaciones sean realizadas en series.

Si cualquiera de los resultados del paciente queda fuera del rango de trabajo de la dosificación, el instrumento revalora automáticamente la muestra en según una dilución apropiada, siempre que esta opción haya sido introducida en la configuración de la prueba (ver el "Manual del Operador").

10/ RESULTADOS

El nivel de factor VIII (%) de las muestras analizadas aparece en tiempo real en la pantalla del aparato (ver el "Manual del Operador"). El resultado debe interpretarse en función del estado clínico y biológico del paciente. Comprobar que los resultados obtenidos para los controles se sitúan en los intervalos indicados en la hoja incluida en el kit. Si el aparato señala que los resultados obtenidos para los controles se sitúan fuera del intervalo de valores, es preciso asegurarse del buen funcionamiento de todo el sistema: condiciones de ensayo, reactivos, plasmas en los que se efectúa el test, calibración, etc. Si es necesario, repetir las muestras.

11/ LIMITACIONES

- Las heparinas y los inhibidores de la trombina (p. ej., hirudina, argatroban, etc.) presentes en la muestra por analizar pueden llevar a subestimar el nivel de factor VIII para esta muestra.
- La presencia de anticoagulantes lúpicos puede hacer que se subestime el nivel de factor VIII (6).

12/ VALORES NORMALES

El nivel plasmático del factor VIII en el adulto suele estar comprendido entre 60 y 150 % (2). Sin embargo, cada laboratorio debería establecer sus propios valores normales.

Varios factores pueden llevar a aumentos del nivel de factor VIII:C:

- uso de píldoras de control de la natalidad, durante el embarazo (7)
- durante terapias con antagonistas de la vitamina K y corticoides
- ejercicio físico, estrés, etc.

13/ CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

• Intervalo de medición - Límite de detección

Cuando el plasma por analizar está diluido a 1/10, este método con STA® con el reactivo STA® - C.K. Prest® es lineal hasta el 150 % del factor VIII, y el valor del límite de detección es 1,5 %.

• Reproducibilidad

Se han realizado estudios de reproducibilidad intra e inter-series. Los resultados obtenidos en STA® están indicados en las tablas siguientes:

Muestra	Reproducibilidad intra-serie		Reproducibilidad inter-serie	
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
n	10	10	10	10
X (%)	97	41	149	50
SD (%)	6,2	1,8	12,5	3,7
CV (%)	6,4	4,3	8,4	7,5

BIBLIOGRAFÍA

1. SOULIER J.P., LARRIEU M.J.: "Nouvelle méthode de diagnostic de l'hémophilie. Dosage des facteurs antihémophiliques A et B". Le Sang, **24**, 3, 205-215, 1953.
2. CAEN J., LARRIEU M.J., SAMAMA M.: "L'hémostase. Méthodes d'exploration et diagnostic pratique". Paris: L'Expansion scientifique, 181, 1975.
3. ZACHARSKI L.R., ROSENSTEIN R.: "Standardization of the one-stage assay for factor VIII (antihemophilic factor)". Am. J. Clin. Pathol., **70**, 280-286, 1978.
4. MARDER V.J., MANNUCCI P.M., FIRKIN B.G., HOYER L.W., MEYER D.: "Standard nomenclature for factor VIII and von Willebrand factor: a recommendation by the International Committee on thrombosis and haemostasis". Thromb. Haemostasis, **54**, 4, 871-872, 1985.
5. SAMAMA M., CONARD J., HORELLOU M.H., LECOMPTE T.: "Physiologie et exploration de l'hémostase". Paris: Doin, 81, 109-112, 1990.
6. BRANDT J.T., TRIPLETT D.A., ROCK W.A., BOVILL E.G., ARKIN C.F.: "Effect of lupus anticoagulants on the activated partial thromboplastin time". Arch. Pathol. Lab. Med., **115**, 109-114, 1991.
7. SAMPOL J., ARNOUX D., BOUTIERE B.: "Manuel d'hémotase". Paris: Editions scientifiques et médicales Elsevier, 311-336, 379-381, 552-553, 608-609, 1995.
8. KAMPHUISEN P.W., EIKENBOOM J.C.J., BERTINA R.M.: "Elevated factor VIII levels and the risk of thrombosis". Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol., **21**, 731-738, 2001.
9. WOODHAMS B., GIRARDOT O., BLANCO M.J., COLESSE G., GOURMELIN Y.: "Stability of coagulation proteins in frozen plasma". Blood Coag. Fibrinolysis, **12**, 229-236, 2001.
10. WHITE G.C., ROSENDAAL F., ALEDORT L.M., LUSHER J.M., ROTHSCCHILD C., INGERSLEV J.: "Definitions in hemophilia - Recommendation of the Scientific Subcommittee on factor VIII and factor IX of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis". Thromb. Haemostasis, **85**, 560, 2001.
11. FRESSINAUD E., MEYER D.: "La maladie de Willebrand: du diagnostic au traitement". Rev. prat., **55**, 2209-2218, 2005.
12. CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". Fifth edition, **28**, 5, 2008.

Los cambios significativos son indicados por las líneas punteadas en el margen.

DIAGNOSTICA STAGO S.A.S.
8 rue des Frères Chausson
92600 Asnières sur Seine (France)
+33 (0)1 46 88 20 20
webmaster@stago.com



Las informaciones y/o las imágenes contenidas en este documento están protegidas por copyright y otros derechos de propiedad intelectual. © 2011, Diagnostica Stago, todos derechos reservados. Los logotipos y/o los nombres de los productos de Diagnostica Stago son marcas registradas. Español