

Dia-DEF II

REF 38005 / 1300113497

REAGENT 5 x 1 mL

IVD CE


 DIAGON LTD.
Baross u. 48-52
H-1047 Budapest
HUNGARY

- Yumizen G405
- Yumizen G800/G800h/G850h
- Yumizen G1500/G1550/G1500h/G1550h

Plasma carente di fattore basato sul PT per uso diagnostico *in vitro*.

Uso previsto

Il plasma carente di fattore **Dia-DEF II** è destinato alla determinazione quantitativa del Fattore II con il reagente per il tempo di protrombina Time (PT) e al test di coagulazione one-stage nel plasma decalcificato con metodi coagulometrici automatizzati, semiautomatizzati e/o manuali, per uso diagnostico *in vitro* per qualsiasi popolazione umana.

Aspetti di interesse clinico (1, 2, 3, 4, 5)

Si potrebbe osservare un livello ridotto di fattori nei percorsi comuni ed estrinseci (Fattore II) nei seguenti casi:

- Stati di carenza fattoriale congenita o acquisita
- Durante il trattamento con anticoagulanti
- In caso di carenza di vitamina K (apporto ridotto o disordine metabolico)
- Malattia epatica (cirrosi, epatite)
- Durante la "deplezione" del fattore dovuta a coagulopatia intravascolare disseminata (CID).

Metodo

La misurazione si basa sul fatto che il plasma normale può correggere il prolungamento del tempo di protrombina (PT) del plasma carente del Fattore II. Di conseguenza, il PT della miscela di plasma carente e plasma normale è più breve del PT del plasma carente. Più alto è il livello del Fattore II del plasma utilizzato per la miscela, maggiore è la correzione, e quindi il PT misurato sarà più breve. In questo modo, dalla miscela di plasma con carenza e diverse diluizioni di calibratore, è possibile registrare una curva di calibrazione in Secondi (PT) - Percentuale (Fattore II), in modo da determinare il livello percentuale

(%) del Fattore II del campione testato a partire dal tempo di coagulazione della miscela di plasma carente e plasma testato.

Reagenti ^a

Il plasma carente di fattore **Dia-DEF II** è plasma umano liofilizzato depleto tramite immunoassorbimento e contenente < 1% di attività fattoriale di coagulazione residua, mentre il livello di altri fattori di coagulazione è normale.

Il prodotto contiene anche stabilizzatori e conservanti.

Sodio azide < 1 g/L

Dia-DEF II deve essere utilizzato secondo le presenti indicazioni.

Il produttore non garantisce le prestazioni in caso di utilizzo non conforme.

Manipolazione

1. Lasciare riposare la fiala per almeno 5 min (20 - 25°C) prima di ricostituirla.
2. Ricostituire il contenuto di una fiala con 1 mL di acqua deionizzata o purificata. Aprire il tappo di gomma con cautela per evitare la perdita di materiale liofilizzato.
3. Rimettere il tappo e capovolgere delicatamente il flacone (5 - 10 volte) per distribuire il contenuto (evitare la formazione di schiuma).
4. Lasciare riposare la fiala per almeno 30 min (20 - 25°C).
5. Si consiglia di miscelarle delicatamente in senso orizzontale durante la ricostituzione.

^aModifica: aggiunta di un capitolo.

Dia-DEF II

6. Agitare delicatamente e ripetutamente la fiala (5 - 10 volte) in orizzontale prima di utilizzarla, evitando di scuoterla.

Per garantire prestazioni ottimali, rimuovere il reagente dallo strumento dopo l'uso,appare la fiala e conservare a 2 - 8°C.

Ogni laboratorio è tenuto a fissare le procedure di garanzia della qualità da rispettare. Queste devono essere conformi agli attuali requisiti per l'accreditamento e alle normative attinenti.

Evitare di scambiare i tappi con altri prodotti.

Calibratore

Il valore riportato dai dosaggi fattoriali con plasma carente di fattore **Dia-DEF II** viene calcolato a partire da una curva di calibrazione log-log da punto a punto. Ogni laboratorio dovrebbe preparare una curva di calibrazione specifica per lotto. Utilizzare:

- **Dia-CAL** (95012 / 1300130703) (non incluso)
12 x 1 mL (liofilizzato)
- Soluzione tampone: **Yumizen G IMIDAZOL** (1300036385) (non incluso)
12 x 15 mL
- **Yumizen G PT 5** (1300036338) (non incluso)
5 x 5 mL

Procedura di calibrazione per gli analizzatori semiautomatici

- Yumizen G405

La calibrazione è un processo basato sulla diluizione del calibratore che può essere utilizzato con gli analizzatori HORIBA (Serie Yumizen G).

È consigliabile eseguire una doppia misurazione.

1	Preparare diverse diluizioni del calibratore con Yumizen G IMIDAZOL: 1:3, 1:5, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80.	
2	Aggiungere il calibratore diluito nella cuvetta.	40 µL
3	Aggiungere il plasma con carenza fattoriale nella cuvetta.	40 µL
4	Incubare a 37°C.	150 s
5	Aggiungere il reagente Yumizen G PT 5 nella cuvetta.	80 µL
6	Avviare contemporaneamente il timer.	~ 3 min
7	Preparare una curva di calibrazione a partire dai risultati (secondi e relativa % ottenuta dal valore del calibratore in base alla diluizione).	

Procedura di calibrazione per analizzatori automatici

- Yumizen G800/G800h/G850h
- Yumizen G1500/G1550/G1500h/G1550h

La calibrazione dei dosaggi fattoriali viene preparata automaticamente quando si utilizza un analizzatore automatico della coagulazione secondo la configurazione dello strumento per il dosaggio in questione.

Precauzioni di calibrazione

In caso di determinazione con qualsiasi altro analizzatore dell'emostasi, attenersi alle istruzioni contenute nel rispettivo manuale.

Ogni determinazione fattoriale richiede una calibrazione locale con il lotto di reagente indicato sullo strumento in questione.

Controllo

Ai fini del controllo qualità interno, utilizzare gli elementi descritti di seguito:

- **Dia-CONT I-II** (91020 / 1300130704) (non incluso)
2 x 10 x 1 mL (liofilizzato)

La frequenza dei controlli e i limiti di fiducia devono essere conformi alle istruzioni di laboratorio e alle direttive specifiche del singolo paese. Per l'analisi dei materiali di controllo della qualità, attenersi alle disposizioni nazionali, regionali e locali. I risultati devono essere compresi nel range dei limiti di fiducia definiti. Ciascun laboratorio è tenuto a fissare una procedura da seguire nel caso in cui i risultati oltrepassino detti limiti di fiducia.

Analizzare ogni controllo quotidianamente e/o dopo una calibrazione.

Materiali necessari non in dotazione

- Si consigliano gli analizzatori HORIBA (Serie Yumizen G).
- Gli analizzatori di terze parti sono consentiti se è possibile accedere a metodi basati sulla coagulazione e configurare i test liberamente.
- Calibratore: **Dia-CAL** (95012 / 1300130703)
- Controllo: **Dia-CONT I-II** (91020 / 1300130704)
- Si consiglia l'uso di **Dia-DEF II** con: **Yumizen G PT 5** (1300036338).
- Soluzione tampone: **Yumizen G IMIDAZOL** (1300036385)
- Acqua distillata

Dia-DEF II

- Attrezzature standard per laboratorio

Campione (6)

I dosaggi fattoriali con plasma carente di fattore **Dia-DEF II** richiedono plasma appena decalcificato.

Miscelare con cura 1 parte di soluzione anticoagulante con 9 parti di sangue venoso nella provetta primaria, evitando la formazione di schiuma.

Anticoagulante consigliato:

- Forma diidrata al 3,2% (109 nmol/L) di trisodio citrato.
- Forma diidrata al 3,2% (109 nmol/L) di trisodio citrato tamponato con teofillina, adenosina e dipiridamolo-CTAD.

Centrifugare il campione di sangue a 1500 g per non meno di 15 min a temperatura ambiente.

Conservare in una provetta chiusa a temperatura ambiente.

Non conservare nel ghiaccio o a una temperatura compresa tra +2 e +8°C, in quanto l'attivazione a freddo del FVII potrebbe alterare i risultati.

Il plasma deve essere testato entro 4 h dal prelievo ematico.

I campioni congelati da scongelare non devono rimanere a 37°C per più di 5 min.

Per ulteriori informazioni consultare il documento CLSI H21-A5.

Stabilità del campione		
T (°C)	20 - 25	da -22 a -26
Fattore II	4 h	6 mesi

Procedura per gli analizzatori semiautomatici

I dosaggi fattoriali con plasma carente di fattore **Dia-DEF II** possono essere utilizzati con analizzatori di coagulazione semiautomatici basandosi sul metodo descritto qui di seguito.

È consigliabile eseguire una doppia misurazione.

1	Diluire il campione con Yumizen G IMIDAZOL.	1:5
2	Aggiungere il campione diluito nella cuvetta.	40 µL
3	Aggiungere il plasma con carenza fattoriale nella cuvetta.	40 µL
4	Incubare a 37°C.	150 s

5	Aggiungere il reagente Yumizen G PT 5 nella cuvetta.	80 µL
6	Avviare contemporaneamente il timer.	~ 3 min

Precauzioni della procedura di test

In caso di determinazione con qualsiasi altro analizzatore dell'emostasi, attenersi alle istruzioni contenute nel rispettivo manuale.

Range di riferimento (7)

Ogni laboratorio deve determinare i propri range di riferimento.

I valori forniti in questo documento sono puramente indicativi.

Intervallo normale adulti: dal 70% al 150%.

Conservazione e stabilità

Stabilità prima dell'apertura

Stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservato a una temperatura di 2 - 8°C.

Stabilità dopo la ricostituzione

	20 - 25°C	15 - 19°C (a bordo strumento)	2 - 8°C
Dia-DEF II	8 h	8 h	8 h

Non congelare.

Gestione dei rifiuti

- Attenersi alle disposizioni locali.
- Questo prodotto contiene meno di 1,0 g/L di sodio azide come conservante. La sodio azide può reagire con piombo e rame e formare un complesso metallo-azide esplosivo.

Dia-DEF II

Risultati previsti

I risultati dei dosaggi fattoriali possono essere refertati nelle seguenti unità:

- **Secondo:** tempo di coagulazione osservato del campione.
Questo valore non è informativo di per sé, come risultato finale.
- **Percentuale:** parte proporzionale dell'attività fattoriale normale, calcolabile dalla curva di calibrazione.

Precauzioni relative al calcolo

- L'esecuzione di calcoli con dati impropri o l'utilizzo scorretto dei dati forniti può comportare risultati errati.

Precauzioni di carattere generale

- Questo prodotto è destinato all'uso professionale per la diagnostica *in vitro*.
Per uso in laboratorio.
- Solo su prescrizione medica.
- Questo reagente è classificato come non pericoloso in conformità alla direttiva (CE) 1272/2008.
- **Avvertenza:** Materiale di origine umana. Ogni unità donatore utilizzata nella preparazione di questo prodotto è stata sottoposta a test di screening HBsAg, anti-HIV 1-2, anti-HCV, anti-TP e trovata non reattiva. Pertanto, deve essere considerata come potenzialmente infettiva e maneggiata con le opportune precauzioni.
- Non pipettare con la bocca.
- Non rabboccare i prodotti.
- Non ingerire. Evitare il contatto con la pelle e con le membrane mucose.
- Rispettare le precauzioni per l'uso standard di laboratorio.
- Le fiale del prodotto devono essere eliminate dopo l'uso. Lo smaltimento dei rifiuti deve avvenire in conformità delle normative locali.
- Consultare la scheda di dati di sicurezza specifica del prodotto.
- Non utilizzare il prodotto se vi sono segni evidenti di deterioramento biologico, chimico o fisico.
- Non utilizzare il prodotto in caso di mancato rispetto delle condizioni di conservazione raccomandate, inclusa la temperatura.
- L'operatore deve essere formato da un rappresentante HORIBA prima di provare a utilizzare il dispositivo.

- L'utente è tenuto a verificare che il presente documento faccia riferimento al prodotto utilizzato.
- Per l'assistenza tecnica, contattare il numero +33 (0)4 67 14 15 16.
- Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo dovrà essere segnalato al produttore e all'autorità competente dello stato in cui si trova l'operatore e/o il paziente.
- Gli analizzatori di emostasi di terze parti possono compromettere l'armonia del sistema.
- L'utente è tenuto a valutare il rischio legato all'uso di analizzatori di emostasi di terze parti.

Prestazioni (8, 9, 10)

I dati sulle prestazioni elencati di seguito sono rappresentativi delle prestazioni con i sistemi HORIBA.

Precisione

Ripetibilità (sugli analizzatori automatici) ^b

I test di ripetibilità con Yumizen G PT 5 sugli strumenti della Serie Yumizen G producono i seguenti risultati.

- 2 controlli (10 analisi)

	Valore medio %	CV %
Campione di controllo 1	83,9	1,849
Campione di controllo 2	53,8	3,137

Riproducibilità (sugli analizzatori automatici) ^c

I test di riproducibilità con Yumizen G PT 5 sugli strumenti della Serie Yumizen G producono i seguenti risultati.

- 2 controlli (10 analisi)

	Valore medio %	CV %
Campione di controllo 1	98,8	2,391
Campione di controllo 2	56,1	3,112

Intervallo di misurazione

L'intervallo di misurazione è di 10 - 150% sugli strumenti della Serie Yumizen G.

Linearità

L'intervallo di linearità senza diluizione extra sugli analizzatori HORIBA (Serie Yumizen G) è di 10 - 150%.

^bModifica: modifica della ripetibilità.

^cModifica: modifica della riproducibilità.

Dia-DEF II

Correlazione

L'utilità diagnostica di **Dia-DEF II** è stata convalidata utilizzando la procedura di regressione Passing-Bablok e il metodo grafico Bland-Altman sugli analizzatori della Serie Yumizen G, basandosi sul confronto con un altro dispositivo presente sul mercato:

Numero di campioni: 50

- Regressione Passing-Bablok: 1,088 (pendenza)
- Procedura Bland-Altman: 1,270 (differenza)

Precauzioni relative alle caratteristiche

I dati di misurazione sono stati generati durante una valutazione delle prestazioni e non sono consigliati come criterio di accettazione.

Bibliografia

1. Determination of Coagulation Factor Activities Using the One-Stage Clotting Assay. 2nd ed., CLSI document H48-ED2 (2016).
2. Şalcioğlu Z, Bayram C, Şen H, et al. Congenital Factor Deficiencies in Children: A Report of a Single-Center Experience. Clin. Appl. Thromb. Hemost. (2018) **24** (6): 901-907.
3. Weston BW, Monahan PE. Familial deficiency of vitamin K-dependant clotting factors. Haemophilia (2008) **14**: 1209-1213.
4. Kujovich JL. Coagulopathy in liver disease: a balancing act. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. (2015) **2015**: 243-249.
5. Levi M. Pathogenesis and diagnosis of disseminated intravascular coagulation. Int J Lab Hem (2018) **40** (Suppl.1): 15-20.
6. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays. Approved Guideline, 5th ed., CLSI (NCCLS) document H21-A5 (2008).
7. Andrew M, Vegh P, Johnston M, Bowker J, Ofosu F, Mitchell L. Maturation of the hemostatic system during childhood. Blood (1992) **80** (8): 1998-2005.
8. Penner JA. The University of Michigan Medical School Blood Coagulation Laboratory Manual. University Publications, Ann Arbor (1979) 14th ed., 72-78.
9. Palkuti HA, Longberry JR. A Precision Study of Coagulation Factor Assay Techniques. AJCP (1973) **59**: 231-235.
10. Triplett DA, Harms CS. Procedures for the Coagulation Laboratory. Am. Society for Clin. Path, Chicago (1981), **36**.

