

# BE Factor IX

Deficient Plasma FIX

Plasma déplété pour détermination du Facteur IX dans le plasma humain

REF 771609: DP (6 x 1 mL)

## USAGE PREVU

Ce réactif est à usage professionnel en laboratoire (méthode semi-automatisée ou automatisée). Il permet la détermination chronométrique du Facteur IX dans le plasma citraté humain pour évaluer les facteurs de coagulation normalement présent dans le sang.

Ce test est réalisé avec les réactifs BEHNK suivant :

REF 771200, REF 771201: BE APTT K Kaolin + CaCl

REF 771250, REF 771251: BE APTT SL Silica + CaCl

REF 771700: BE Owren Buffer (Tampon de dilution des plasmas)

## PRINCIPE (1)

Ce test est basé sur la mesure du temps de coagulation en présence de céphaline et d'un activateur selon une méthode où tous les facteurs sont présents en excès (apporté par le Facteur IX Plasma déficient) sauf le Facteur IX, qui provient du spécimen testé.

## GENERALITES (2) (3) (4) (7) (8)

Le Facteur IX est une glycoprotéine présente dans le foie. La synthèse de FIX biologiquement actif (cboxylate) est Vitamine K dépendante.

Ensuite, la fixation du FIXa sur les plaquettes ou les phospholipides tissulaires est possible en présence de Ca<sup>2+</sup>.

Le FIX peut être activé par deux voies différentes :

- En présence de Ca<sup>2+</sup>, le Facteur Xa active le FIX en FIXa.
- Le complexe facteur tertiaire/FVIIa active soit le FIX ou le FX.

FIXa forme un complexe enzymatique avec les phospholipides, le Ca<sup>2+</sup> et le facteur FVIIIa. Ce complexe active alors le Facteur X en Facteur FXa

Des variations pathologiques du FIX sont observées dans les cas suivants :

- Hémophilie B :

La gravité de l'hémophilie est évaluée en fonction de la concentration de FIX :C

|                     |           |
|---------------------|-----------|
| Hémophilie Grave    | < 1 %     |
| Hémophilie Modérée  | 1 to 5 %  |
| Hémophilie Atténuée | 5 to 25 % |

- Hypovitaminose K:
  - Traitement AVK
  - Carence d'apport, trouble d'absorption ou de métabolisme de la vitamine K (maladie hémorragique du nouveau-né, rétention biliaire, antibiothérapie)
- Maladies hépatiques:
  - Cirrhose
  - Hépatite
- Diminution du taux de FIX en présence d'inhibiteur de FIX.

## REACTIFS

**DP** **FIX** Deficient Plasma FIX

Plasma lyophilisé dépourvu de Facteur IX (par immuno-adsorption spécifique)

 Origine humaine

Selon le règlement 1272/2008, ce réactif n'est pas classé comme dangereux

## PRECAUTIONS (11) (12)

- Consulter la FDS en vigueur disponible sur demande ou sur [www.behnk.de](http://www.behnk.de)
  - Chaque don individuel a été analysé par des méthodes approuvées et a donné des résultats négatifs avec des méthodes approuvées HBsAg, anti-VCH et anti-VIH I et II.
  - Cependant, aucun test ne peut garantir de façon absolue l'absence de tout agent infectieux. Par mesure de sécurité, traiter ce contrôle comme tout spécimen ou réactif d'origine biologique potentiellement infectieux.
  - Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.
- | Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif fait l'objet d'une notification au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

## PREPARATION DES REACTIFS

Ouvrir le flacon avec précaution et ajouter exactement la quantité d'eau distillée indiquée sur l'étiquette.

Boucher le flacon et laisser 15 minutes à température ambiante.

Mélanger par retournements lents avant utilisation pour homogénéiser le contenu.

## STABILITE ET CONSERVATION

Avant ouverture, stockés à l'abri de la lumière à 2-8 °C, le réactif est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

Stabilité après reconstitution :

- 2-8 °C 8 heures
- A bords (OBS)\* 4 heures
- 15-25 °C 4 heures

\*18-22 °C

Ne pas utiliser le réactif après la date de péremption.

## PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (9) (10)

Plasma prélevé par ponction veineuse franche sous anticoagulant ratio of 1/10 (solution trisodium citrate 0.109 M). Mélanger immédiatement le sang avec l'anticoagulant.

Eviter les prélèvements à la seringue qui favorisent la formation de micro-caillots.

Centrifuger 10 minutes à 3000 g et extraire le surnageant.

Stabilité :

- 4 heures à 2-25 °C
- 15 jours à -20 °C, 1 mois à -80°C (si congelé rapidement. Décongeler à 37 °C jusqu'à complète dissolution)

## LIMITES (5) (6)

Héparines et inhibiteurs de la thrombine (hirudin, argatroban...) présents dans le spécimen peuvent diminuer l'activité du Facteur IX dans le spécimen.

La présence de Lupus anticoagulants peut conduire à une surestimation de l'activité du Facteur IX dans le spécimen.

Pour une revue plus approfondie des facteurs influençant ce dosage, se référer à la publication de Young D.S.

## MATERIEL COMPLEMENTAIRE

Equipement de base du laboratoire de biologie médicale

Analyseur automatique ou semi-automatique de coagulation

Eau déminéralisée

## VALEURS DE REFERENCE (2) (7)

Plasma (adult): Usually 60-150 %

Chaque laboratoire doit établir ses valeurs de référence pour la population concernée.

## CONTROLE QUALITE

REF 773100 : BE Trol 1 ; REF 773101 : BE Trol 2

Les contrôles sont requis pour vérifier l'exactitude et la reproductibilité des résultats.

La fréquence des contrôles doit être adaptée aux exigences des laboratoires.

Les valeurs doivent se trouver dans les limites recommandées.

Respecter la réglementation du pays et les guidelines locaux du contrôle de la qualité.

## PROCEDURE

### Méthode semi-automatisée :

Pré-incuber le réactif CC (CaCl2 0.025M) du kit APTT 15 minutes à 37 °C

Diluer les spécimens et contrôles au 1/10 dans BE Owren Buffer

Calibrants : préparer les dilutions comme indiqué au § Calibration

- Spécimen dilué (calibrators, controls, plasmas) : 100 µL
- Plasma déficient : 100 µL
- Réactif APTT : 100 µL

Incuber 180 sec à 37 °C

- Réactif CC (37 °C): 100 µL

Le décompte automatique du temps démarre dès l'ajout du réactif CC et s'arrête lors de la formation du caillot.

### Méthode automatisée sur Behnk Thrombolyzer Series :

Consulter l'application détaillée spécifique de l'analyseur.

### Note :

- Performances et stabilité sont validées sur Thrombolyzer Compact X (disponible sur demande).
- Avec la méthode manuelle et d'autres analyseurs de coagulation, les performances et la stabilité doivent être validés par l'utilisateur.
- D'autres applications validées ou propositions d'application sont disponibles

**CALIBRATION**

**REF** 775100: BE Cal Ref Plasma de référence traçable sur WHO SSC/ISTH Secondary Coagulation Standard NIBSC code: SSCLOT4.

**Méthode semi-automatisée :**

Préparer la courbe de calibration par dilution du plasma de référence au 1/10, 1/20, 1/40 et 1/80 dans BE Owren Buffer. Mesurer en triplicate le temps de coagulation de chaque taux

**Méthode automatisée sur Behnk Thrombolyzer series :**

Réaliser la calibration avec BE Cal Ref par dilutions automatiques comme indiqué dans l'application spécifique

**CALCULS**

Les résultats sont exprimés en % de Facteur déficient selon la courbe de calibration.

**PERFORMANCES**

Les études ont été réalisées sur Thrombolyzer Compact X :

Précision :

| Intra-série<br>N = 20 | Taux 1 | Taux 2 | Inter-série<br>N = 20 | Taux 1 | Taux 2 |
|-----------------------|--------|--------|-----------------------|--------|--------|
| Moyenne (%)           | 158    | 56     | Moyenne (%)           | 132    | 47     |
| S.D. (%)              | 8.2    | 2.8    | S.D. (%)              | 9.4    | 3.3    |
| C.V. %                | 5.4    | 5.0    | C.V. %                | 7.1    | 7.0    |

**Limite de détection :** équivalente à 6% de Facteur IX

**Domaine de mesure :** de 12 % (LQ) à 200 %

**Interférences (APTT Silice, sec) :**

|             |  |
|-------------|--|
| Lipides     | Pas d'interférence jusqu'à 7,31 g/L de Triglycérides |
| Bilirubine  | Interférence positive à partir de 124 µmol/L         |
| Hémoglobine | Pas d'interférence jusqu'à 261 µmol/L                |

D'autres substances peuvent interférer avec les résultats (voir § Limites)

**Stabilité de la calibration :** Calibrer à nouveau en cas de changement de lot de réactif, si les valeurs de contrôle sortent des limites de confiance, après opérations de maintenance.

**REFERENCES**

- (1) SOULIER J.P., LARRIEU M.-J.: *Sang*, 24, 3, 205-215, 1953
- (2) CAEN J., LARRIEU M.-J., SAMAMA M.: *Paris, L'Exp. Scient.*, 181, 1975
- (3) ORSTAVIK K.H., LAAKE K.: "Factor IX in warfarin treated patients". *Thromb.RES.*, 13, 2, 207-218, 1978
- (4) PANICUCCI F., SAGRIPANTI A., CONTE B., PINORI E., VISPI M., LESCHINI L.: "Characterization of heterogeneity of haemophilia B for detection of carriers". *Haemostasis*, 9, 310-318, 1980.
- (5) BRANDT J.T., TRIPLETT D.A., ROCK W.A., BOVILL E.G., ARKIN C.F.: "Effect of lupus anticoagulants in activated partial thromboplastin time". *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 115, 109-114, 1991
- (6) YOUNG D.S., *Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests*, 4th Ed. (1995) p.3-254 à 3-257
- (7) SAMPOL J., ARNOUX D., BOUTIERE B.: "manuel d'hémostase" Paris: Editions scientifiques et médicales ELSEVIER, 311-336, 379-381, 552-553, 608-609, 1995.
- (8) WHITE G.C., ROSENDAAL F., ALEDORT L.M., LUSHER J.M., ROTSHILD C., INGERSLEV J.: "Definition in haemophilia-Recommendation of the Scientific Subcommittee on factor VIII and factor VIII of the Scientific and Standardization Committee of the international society on Thrombosis and haemostasis" *Thromb. Haemostasis*, 85, 560, 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) CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular haemostasis assays; approved guideline". Fifth edition, 28, 5, 2008
- (11) *Occupational Safety and Health Standards; Bloodborne pathogens (29CFR1910.1030) Federal Register July 1, (1998) ; 6, p.267-280*
- (12) *Directive du conseil de l'Europe (90/679/CEE) J. O. de la communauté européenne n°L374 du 31.12.1990, p.1-12*

| = Modifications significatives

|           |             |                     |             |           |                     |               |                                |                            |  |                   |                   |
|-----------|-------------|---------------------|-------------|-----------|---------------------|---------------|--------------------------------|----------------------------|--|-------------------|-------------------|
|           |             |                     |             |           |                     |               |                                |                            |  |                   |                   |
| Fabricant | Pérémission | In Vitro Diagnostic | Température | Référence | Consulter la notice | numéro de lot | Stocker à l'abri de la lumière | Suffisant pour diluer avec |  | Eau déminéralisée | Risque biologique |