

Factor IX

REF	CONTENT	SYSTEM
08766959190	▽ 45	N. d'ident. 07 2003 2 cobas t 511 cobas t 711

Italiano**Informazioni relative al sistema**

Nome abbreviato	ACN (<i>application code number</i> – codice di applicazione)
FIX	28400

Finalità d'uso

Plasma umano immunodepleto di fattore IX per la determinazione quantitativa dell'attività del fattore IX nel plasma citratato, in base alla determinazione del tempo di tromboplastina parziale attivata (*activated partial thromboplastin time*: aPTT), sugli analizzatori **cobas t** indicati.

Sommario

Il fattore IX (FIX) è una proteasi del plasma dipendente dalla vitamina K, che svolge un ruolo essenziale nella coagulazione. Il fattore FIX viene sintetizzato nel fegato e circola sotto forma di zimogeno. Viene scisso in FIX attivato (FIXa) dal fattore FXI attivato (FXIa), tramite la cascata coagulativa intrinseca, oppure dal fattore FVII attivato dal fattore tissutale (FVIIa), tramite la cascata coagulativa estrinseca. Al momento dell'attivazione, se sono presenti ioni di calcio e di magnesio e superfici di fosfolipidi, il fattore FIX forma un complesso attivo (il complesso tenasi) insieme al fattore FVIII attivato, che determina il corretto orientamento, e scinde il fattore FX causandone l'attivazione.^{1,2} Il fattore FX attivato, insieme al suo co-fattore FVa, converte quindi il fattore FII (protrombina) in FIIa (trombina). La trombina attiva i fattori di coagulazione, converte il fibrinogeno in fibrina a attiva le piastrine causando la formazione di coaguli di sangue. Infine il fattore FXIII attivato forma legami crociati con la fibrina, stabilizzando il coagulo. L'attività del fattore FIXa è inibita dall'antitrombina.¹

Il deficit congenito del fattore FIX, denominato anche emofilia B, è un raro disturbo della coagulazione di natura recessiva correlato al cromosoma X, che colpisce generalmente gli uomini. Le donne portatrici del gene difettoso possono manifestare forme di emofilia B da lievi a gravi, per la compensazione incompleta del difetto da parte dell'allele normale.³

Principio del test

L'attività del fattore FIX viene determinata in base ad un tipo di determinazione dell'aPTT. Per far sì che l'attività del fattore FIX limiti la velocità, il plasma del paziente viene diluito e aggiunto ad un plasma umano carente di FIX, con un livello di FIX < 1% dei valori normali, mentre tutti gli altri fattori di coagulazione sono presenti a livelli tipicamente > 50% dei valori normali. Il tempo di coagulazione che ne risulta viene interpretato attraverso una curva di calibrazione, ottenuta con le diluizioni di un plasma di calibrazione mescolato con il plasma umano carente di FIX. Il grado di correzione dell'aPTT è proporzionale all'attività del fattore FIX nel campione, il quale viene determinato quantitativamente dalla curva di calibrazione.

Reattivi – soluzioni pronte all'uso**cobas t pack**

R2 Plasma umano immunodepleto di FIX liofilizzato

R2 si trova nelle posizioni A, B e C.

Precauzioni e avvertenze

Per uso diagnostico *in vitro* per i professionisti del settore sanitario. Osservare le precauzioni normalmente adottate durante la manipolazione dei reagenti di laboratorio.

Rifiuti infettivi e microbici

Avvertenza: trattare i rifiuti come materiale a potenziale rischio biologico. Smaltire i rifiuti a seconda delle istruzioni e procedure di laboratorio riconosciute.

Rischi ambientali

Per garantire uno smaltimento sicuro, applicare tutte le normative locali rilevanti in materia di rifiuti.

Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.

Tutto il materiale di origine umana deve essere considerato come potenzialmente infettivo. Per la preparazione di tutti i prodotti derivati da sangue umano viene utilizzato solo sangue di donatori che sono stati testati individualmente e sono risultati negativi per la ricerca di HBsAg e di anticorpi anti-HCV e anti-HIV. Per i metodi di dosaggio si impiegano test approvati dall'FDA o conformi alle regole legali applicabili all'introduzione di dispositivi medico-diagnostici *in vitro* per uso umano sul mercato dell'Unione Europea.

Poiché non è comunque possibile escludere con sicurezza il pericolo di infezione con nessun metodo di dosaggio, è necessario manipolare il materiale con le stesse precauzioni adottate per i campioni prelevati dai pazienti. Nel caso di una esposizione, si deve procedere secondo le specifiche indicazioni sanitarie.^{4,5}

Evitare la formazione di schiuma in tutti i reattivi e tipi di campione (campioni, calibratori e controlli).

Utilizzo dei reattivi

Il reattivo contenuto nella cassetta è stato assemblato in un'unità pronta all'uso (**cobas t pack**).

Tutte le informazioni necessarie per l'utilizzo corretto sono disponibili tramite **cobas link**.

Conservazione e stabilità

Conservare a 2-8 °C.

Conservare il **cobas t pack** in **posizione verticale**.

Stabilità del **cobas t pack** integro: fino alla data di scadenza indicata.

Stabilità del cobas t pack aperto:	
sull'analizzatore cobas t	per ciascun flacone: 8 ore dopo ricostituzione

Non congelare.

Prelievo e preparazione dei campioni

Solo i tipi di campione elencati di seguito sono stati testati e risultano accettabili.

Plasma umano citratato al 3.2%.

Impiegare provette standard per prelievi di campioni in materiale plastico o in vetro siliconato. Il rapporto tra sangue (9 parti) e soluzione di citrato di sodio (0.11 M; 1 parte) deve essere esattamente rispettato.^{6,7}

I tipi di campione elencati sono stati testati impiegando una selezione di provette per il prelievo di campioni disponibili in commercio al momento dell'analisi; non sono, quindi, state testate tutte le provette disponibili di tutte le case produttrici. Alcuni sistemi per il prelievo di campioni di vari produttori possono contenere diversi materiali e in alcuni casi possono interferire sui risultati del test. Quando si trattano i campioni in provette primarie (sistemi per il prelievo di campioni), seguire le istruzioni del produttore delle provette.

Centrifugare 15 minuti a 2500 g oppure finché il conteggio delle piastrine è < 10000 piastrine/ μ L, quindi testare i campioni entro il periodo di stabilità indicato.

Stabilità:	
a 15-25 °C	4 ore
a -20 °C (\pm 5 °C)	14 giorni

Le aliquote del plasma congelato devono essere scongelate entro 5 minuti a 37 °C a bagnomaria ed omogeneizzate agitandole con cautela ed evitando la formazione di schiuma. Analizzare i campioni scongelati entro 2 ore. Non ricongelare i campioni.

Materiali a disposizione

Vedere la sezione "Reattivi – soluzioni pronte all'uso".

Materiali necessari (ma non forniti)

- [REF] 07575297190, Global Cal, 5 x 1 mL
- [REF] 07539355190, Con N, 20 x 1 mL

Factor IX

- [REF] 07539665190, Con P, 20 x 1 mL
- [REF] 07153678190, aPTT Lupus, 600 T
- [REF] 07154984190, CC 25 mM, 50 mL
- [REF] 07155042190, Owren B, 50 mL
- Normale attrezzatura da laboratorio
- Acqua distillata o deionizzata
- Analizzatore di coagulazione **cobas t**. Per ulteriori materiali necessari consultare l'Assistenza Clienti del relativo analizzatore.

Esecuzione

Per una performance ottimale del test, attenersi alle indicazioni riportate in questo documento. Per le istruzioni specifiche dell'analizzatore relative all'esecuzione del test, consultare l'Assistenza Clienti dello strumento.

Roche non risponde delle performance delle applicazioni che non sono state validate dalla stessa Roche – tali performance devono quindi essere definite dall'utilizzatore.

Calibrazione

Per la calibrazione, impiegare il calibratore indicato nella sezione "Materiali necessari (ma non forniti)".

Frequenza di calibrazione: è richiesta una calibrazione completa

- 1 volta per ogni lotto del reagente aPTT Lupus o del plasma carente di FIX
- se richiesto dai procedimenti del controllo di qualità.

Tracciabilità: questo metodo è stato standardizzato contro lo standard internazionale *Factor FIX Plasma* dell'OMS/NIBSC.

Controllo di qualità

Per la verifica dell'accuratezza e della riproducibilità dei risultati è necessario l'impiego di controlli.

Per il controllo di qualità, impiegare le confezioni di controlli indicate nella sezione "Materiali necessari (ma non forniti)".

Gli intervalli ed i limiti del controllo dovranno essere conformi alle esigenze individuali di ogni laboratorio. I valori ottenuti devono rientrare nei limiti definiti. Ogni laboratorio deve definire delle misure correttive da attuare nel caso che alcuni valori siano al di fuori dei limiti definiti.

Per il controllo di qualità, attenersi alle normative vigenti e alle linee guida locali.

Calcolo

Gli analizzatori **cobas t** effettuano il calcolo automatico dell'attività dell'analita di ciascun campione.

Fattore di conversione: 100% = 1 IU/mL.^{8,9}

Limiti del metodo – interferenze

È stato testato l'effetto delle seguenti sostanze endogene e dei seguenti composti farmaceutici sulla performance del test. Non è stata osservata alcuna influenza sui risultati fino alle concentrazioni elencate:

Sostanze endogene

Composto	Concentrazione
Bilirubina coniugata	8 mg/dL
Bilirubina non coniugata	50 mg/dL
Emoglobina	150 mg/dL
Intralipid	1600 mg/dL

Criterio di valutazione: recupero del valore iniziale. Attività FIX
0.250-1.25%: $\leq \pm 0.250\%$ assoluta; FIX > 1.25-30.0%: $\leq \pm 20.0\%$ relativa;
FIX > 30-150%: $\leq \pm 15.0\%$ relativa.

Le interferenze da lipemia, emoglobina e bilirubina sono state testate secondo Glick.¹⁰

Farmaci: a concentrazioni terapeutiche, non è stata osservata nessuna interferenza con le più comuni famiglie di farmaci (eccezione: eparina).^{11,12}

La presenza di streptochinasi, fondaparinux e di inibitori diretti della trombina, quali l'argatroban, la bivalirudina ed il dabigatran, o di inibitori del fattore Xa, quali l'edoxaban, il rivaroxaban e l'apixaban, nel campione influenza i risultati del test (attività del fattore FIX ridotta): ciò può avere rilevanza dal punto di vista clinico.

Nessuna interferenza significativa a concentrazioni di Orbactiv fino a 7.5 mg/L.

Ai fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati congiuntamente con la storia clinica del paziente, con gli esami clinici e con altre evidenze cliniche.

Cicli di lavaggio extra: l'uso dei lavaggi extra è obbligatorio quando certe combinazioni di test vengono eseguite insieme sugli analizzatori **cobas t**. Per ulteriori istruzioni, consultare la versione più recente dell'elenco dei possibili carry-over allegato alle metodiche CLEAN e Deproteinizer e rivolgersi all'Assistenza Utente. Se richiesta, la procedura di lavaggi extra deve essere eseguita prima di riportare i risultati di questo test.

Limiti ed intervalli**Intervallo di misura**

0.250-150%

Per i campioni con concentrazioni dell'attività FIX comprese tra 0.250 e < 1.5%, la funzione rerun aumenta il volume del campione per il fattore 6. Per i campioni con concentrazioni dell'attività FIX comprese tra > 150 e 250%, la funzione rerun riduce il volume del campione per il fattore 5. I risultati vengono calcolati automaticamente applicando tali fattori.

Limiti inferiori di misura

Limite di quantificazione (LdQ) = 0.250%

Il limite di quantificazione è stato determinato in conformità ai requisiti EP17-A2 del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*).¹³

Il limite di quantificazione è definito come la concentrazione minima dell'analita in un campione che può essere misurata in modo riproducibile con un CV della precisione intermedia $\leq 20\%$.

Valori di riferimento

69.6-146%

Questi valori corrispondono al 2.5° percentile ed al 97.5° percentile dei risultati ottenuti con un totale di 200 campioni di plasma umano.

Ogni laboratorio deve controllare l'applicabilità dei valori di riferimento alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare intervalli di riferimento propri.

Dati specifici sulla performance del test

Qui di seguito sono riportati i dati rappresentativi delle prestazioni sugli analizzatori. I risultati dei singoli laboratori possono differire da questi.

Precisione

La ripetibilità e la precisione intermedia sono state determinate usando campioni umani e controlli, eseguiti in conformità ai requisiti EP05 del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) (2 aliquote per serie, 2 serie al giorno, 21 giorni).¹⁴ Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Campione	Media (%)	Ripetibilità		Precisione intermedia	
		DS (%)	CV (%)	DS (%)	CV (%)
Con N	107	1.65	1.5	2.39	2.2
Con P	15.1	0.305	2.0	0.485	3.2
Plasma 1	1.11	0.0295	2.7	0.0411	3.7
Plasma 2	5.54	0.165	3.0	0.256	4.6
Plasma 3	49.3	0.897	1.8	1.32	2.7
Plasma 4	72.8	1.36	1.9	2.33	3.2
Plasma 5	143	2.81	2.0	4.31	3.0

Confronto tra metodi

Il confronto del test FIX sull'analizzatore **cobas t 711 (y)** con un test di coagulazione automatico (x) ha prodotto la seguente correlazione:

Numero di campioni misurati: 154

Deming¹⁵

$$y = 0.964x - 0.00432$$

$$r = 0.998$$

Factor IX

Utilizzando il reagente FIX, le attività del fattore FIX erano comprese tra lo 0.326 e il 148%.

GTIN

Global Trade Item Number

Letteratura

- 1 Tjårnlund-Wolf A, Lassila R. Phenotypic characterization of haemophilia B - Understanding the underlying biology of coagulation factor IX. Haemophilia. 2019 Jul;25(4):567-574.
- 2 Agah S., Bajaj S.P., Role of magnesium in factor XIa catalyzed activation of factor IX: calcium binding to factor IX under physiologic magnesium. J Thromb Haemost 2009; 7(8), 1426-8
- 3 Bolton-Maggs P.H.B., Pasi K.J., Haemophilias A and B. Lancet 2003; 24;361(9371):1801-9.
- 4 Occupational Safety and Health Standards: Bloodborne pathogens. (29 CFR Part 1910.1030). Fed. Register.
- 5 Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
- 6 CLSI Document H21-A5, Vol.28, No.5, 2008. Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline, 5th edition.
- 7 CLSI Document H3-A6. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard - Sixth Edition, vol. 27, No. 26, 2007.
- 8 Bristow AF, Barrowcliffe T, Bangham DR. Standardization of biological medicines: the first hundred years, 1900-2000. Notes Rec R Soc Lond. 2006 Sep 22;60(3):271-89.
- 9 Hubbard AR. International biological standards for coagulation factors and inhibitors. Semin Thromb Hemost. 2007 Apr;33(3):283-9.
- 10 Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
- 11 Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
- 12 Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
- 13 CLSI Document EP17-A2. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures. Vol. 32, No. 8, 2012. Approved standard, 2nd Edition.
- 14 CLSI Document EP05-A3. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures. Vol. 24, No. 25, 2014. Approved guideline, 3rd Edition.
- 15 Martin RF. General Deming Regression for Estimating Systematic Bias and its Confidence Interval in Method Comparison Studies. Clinical Chemistry 2000;46(1):100-104.

In questa metodica, per separare la parte intera da quella frazionaria in un numero decimale si usa sempre il punto. Il separatore delle migliaia non è utilizzato.

Per ulteriori informazioni, consultare l'Assistenza Clienti appropriata per il relativo analizzatore e le metodiche di tutti i componenti necessari.

Esiste la necessità di segnalare qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo sia al fabbricante che all'autorità competente dello Stato membro in cui l'utilizzatore e/o il paziente è stabilito.

Simboli

Oltre a quelli indicati nello standard ISO 15223-1, Roche Diagnostics impiega i seguenti simboli (per gli USA: per la definizione dei simboli impiegati, vedere dialog. Roche.com):

	Contenuto della confezione
	Analizzatori/strumenti su cui i reagenti possono essere usati
	Reagente
	Calibratore
	Volume per la ricostituzione

Le aggiunte, cancellazioni o modifiche sono indicate mediante una linea verticale posizionata al margine.

© 2022, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.Roche.com

+800 5505 6606

