

FVIII**Factor VIII**

REF	CONTENT	SYSTEM
06660673190	▽ 45	N. d'ident. 07 2003 1 cobas t 511 cobas t 711

Italiano**Informazioni relative al sistema**

Nome abbreviato	ACN (<i>application code number</i> – codice di applicazione)
FVIII	28410

Finalità d'uso

Plasma umano immunodepleto di fattore VIII per la determinazione quantitativa dell'attività del fattore VIII 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 VIII (FVIII) è una glicoproteina di 2332 aminoacidi a molti domini, con massa molare variabile a seconda del grado di glicosilazione (fino a 25 siti). Viene sintetizzato nel fegato e circola nel plasma, a concentrazioni di 100-200 ng/mL, in un complesso non covalente con il fattore von Willebrand. FVIII viene attivato al fattore VIIIa (FVIIIa) mediante una proteolisi limitata catalizzata dalla trombina, e agisce come un cofattore al fattore IX attivato (FIXa) nell'attivazione del fattore X (FX) al fattore Xa (FXa) sulle superfici dei fosfolipidi in presenza di Ca²⁺. FVIII viene inattivato dalla proteina C attivata.¹

La deficienza di FVIII porta ad un fenotipo emorragico con differenti gradi di severità a seconda della concentrazione di FVIII. Una deficienza congenita del fattore VIII o un'emofilia A è causa responsabile dell'85 % circa dei pazienti emofilici; più bassa l'attività del FVIII, più severa è la disfunzione associata al sanguinamento. Le manifestazioni cliniche dell'emofilia A includono emorragie spontanee, particolarmente nelle articolazioni e nei tessuti morbidi, nonché emorragie eccessive congiuntamente con un trauma o un intervento chirurgico. La deficienza di FVIII può anche essere acquisita a causa di anticorpi anti-FVIII e a causa di coagulopatie da consumo, ad esempio coagulazione intravascolare disseminata (CID). Bassi livelli di FVIII si riscontrano anche in caso di malattia di von Willebrand, che rende necessaria una diagnosi differenziale. D'altra parte, è stato dimostrato che livelli elevati di FVIII sono associati ad un elevato rischio di tromboembolismo venoso.

La valutazione del fattore coagulante VIII nel plasma è indicata nei seguenti casi:

- analisi della causa del prolungamento del tempo di tromboplastina parziale attivata
- diagnosi degli stati di deficienza di FVIII congenita o acquisita
- diagnosi differenziale nei pazienti con sospetto di malattia di von Willebrand
- monitoraggio di una terapia di sostituzione con FVIII² nei pazienti con emofilia A.

Principio del test

L'attività del FVIII viene determinata in base ad un tipo di determinazione dell'aPTT. Per far sì che l'attività del FVIII limiti la velocità, il plasma del paziente viene diluito e aggiunto ad un plasma umano deficiente di FVIII, con un livello di FVIII < 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 del calibratore mescolato con il plasma umano deficiente di FVIII. Il grado di correzione dell'aPTT è proporzionale all'attività del FVIII nel campione prelevato dal paziente, il quale viene determinato quantitativamente in base alla curva di calibrazione.

Una correzione eccessiva, ovvero attività del FVIII al di sopra dell'intervallo normale, indica un eccesso di FVIII e rende necessaria una ripetizione del test ad una diluizione più alta del campione.

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

R2 Plasma umano deficiente di FVIII 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 lo 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. I metodi di analisi prevedono l'utilizzo di test approvati dalla FDA o conformi alle disposizioni di legge sulla commercializzazione di dispositivi medico-diagnostici *in vitro* per uso umano nell'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.^{3,4}

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.^{5,6}

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/μL, quindi testare i campioni entro il periodo di stabilità indicato.

Stabilità:	
a 15-25 °C	2 ore
a -20 °C (± 5 °C)	14 giorni

Non agitare sul vortex i campioni.

Le aliquote del plasma congelato dovrebbero essere scongelate entro 5 minuti a 37 °C a bagnomaria ed omogeneizzate agitandole con cautela ed evitando la formazione di schiuma. I campioni scongelati devono essere analizzati immediatamente. 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
- [REF] 07539665190, Con P, 20 x 1 mL
- [REF] 07153589190, aPTT, 600 test
- [REF] 07154984190, CC 25mM, 50 mL
- [REF] 06659683190, Imid Buff, 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 dei 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 la confezione di calibratori indicata nella sezione "Materiali necessari (ma non forniti)".

Frequenza di calibrazione: è richiesta una calibrazione completa

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

Tracciabilità: questo metodo è stato standardizzato contro lo standard internazionale 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^{7,8}

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	35 mg/dL

Composto	Concentrazione
Emoglobina	260 mg/dL
Intralipid	600 mg/dL

Criterio di valutazione: recupero entro un'attività di ± 0.040% o entro ± 10% del valore iniziale.

Le interferenze da lipemia, emoglobina e bilirubina sono state testate secondo Glick.⁹

Farmaci: non si è osservata alcuna interferenza a concentrazioni terapeutiche impiegando le più comuni famiglie di farmaci,^{10,11} ad eccezione dell'acido acetilsalicilico e dell'acetilcisteina.

La presenza di oritavancina (Orbactiv), metotrexato, streptochinasi, amidotriazolo di sodio ed eparina, di inibitori diretti della trombina quali argatroban, bivalirudina e dabigatran, o di inibitori del fattore Xa, quali edoxaban, rivaroxaban, apixaban e fondaparinux, influenza i risultati del test FVIII (attività ridotta del FVIII) e ciò può avere rilevanza dal punto di vista clinico.

La presenza di anticoagulanti del lupus può alterare il parallelismo delle diluizioni.

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 richiesto, i cicli di lavaggio extra/evasione del carryover devono essere implementati prima di generare i report dei risultati con questo test.

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.

Limiti ed intervalli

Intervallo di misura

0.200-150%

Per i campioni con concentrazioni dell'attività FVIII comprese tra 0.200 e < 0.800%, la funzione rerun aumenta il volume del campione per il fattore 4. Per i campioni con concentrazioni dell'attività FVIII comprese tra > 150 e 400%, la funzione rerun riduce il volume del campione per il fattore 6. I risultati vengono calcolati automaticamente applicando tali fattori.

Limiti inferiori di misura

Limite di quantificazione = 0.200%

Il limite di quantificazione è stato determinato in conformità ai requisiti EP17-A2 del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*).¹²

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 ≤ 20%.

Valori di riferimento

82.2-218 %

Questi valori corrispondono ai 2.5^o e 97.5^o percentili dei risultati ottenuti con complessivamente 199 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). Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Campione	Media (%)	Ripetibilità		Precisione intermedia	
		DS (%)	CV (%)	DS (%)	CV (%)
Con N	88.5	1.43	1.6	2.18	2.5

Campione	Media (%)	Ripetibilità		Precisione intermedia	
		DS (%)	CV (%)	DS (%)	CV (%)
Con P	23.3	0.415	1.8	0.549	2.4
Plasma 1	0.475	0.0132	2.8	0.0151	3.2
Plasma 2	1.60	0.0516	3.2	0.0538	3.4
Plasma 3	5.31	0.115	2.2	0.146	2.8
Plasma 4	73.1	1.44	2.0	1.95	2.7
Plasma 5	139	1.88	1.3	3.14	2.2

Confronto tra metodi

Il confronto del test FVIII sull'analizzatore **cobas t 711** (y) con un test di coagulazione automatico (x) ha prodotto le seguenti correlazioni (valori dell'attività in [%]):

Numero dei campioni misurati: 121

Deming¹³

$$y = 0.952x + 0.0831 \%$$

$$r = 0.997$$

Impiegando il reagente FVIII, le attività del FVIII erano comprese tra lo 0.393 ed il 145 %.

Letteratura

- Hoffbrand A.V., Higgs D.R., Keeling D.A. et al. Postgraduate Haematology, 7th Edition, ISBN: 978-1-118-85432-7 January 2016
- Schaub R.G. Recent advances in the development of coagulation factors and procoagulants for the treatment of hemophilia. Biochem Pharmacol 2011;82:91-98
- Occupational Safety and Health Standards: Bloodborne pathogens. (29 CFR Part 1910.1030). Fed. Register.
- 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.
- 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.
- CLSI Document H3-A6. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard - Sixth Edition, vol. 27, No. 26, 2007.
- Bristow* A.F., Barrowcliffe T., Bangham D.R. Standardization of biological medicines: The first hundred years, 1900-2000, Notes Rec. R. Soc. (2006) 60, 271-289
- Hubbard R. International Biological Standards for Coagulation Factors and Inhibitors Seminars, Thrombosis and Hemostasis, Vol 33, Nr 3, 2007
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
- Breuer J. Report on the Symposium "Drug Effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Biochem 1996;34:385-386.
- Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies.
- CLSI Document EP17-A2. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures. Vol. 32, No. 8, 2012. Approved standard, 2nd Edition.
- 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
	Global Trade Item Number

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

© 2023, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim

www.roche.com

+800 5505 6606

