

CRYOcheck™ **IVD**

PLASMA DÉFICIENT POUR LE TEST DE COAGULATION DE FACTEUR VIII

# FACTOR VIII DEFICIENT PLASMA WITH VWF

---

## Utilisation prévue

CRYOcheck Factor VIII Deficient Plasma with VWF est destiné à une utilisation en laboratoire clinique, comme substrat déficient dans la détermination quantitative de l'activité du facteur VIII (FVIII) dans le plasma humain citraté à 3,2 % d'après le test du temps de céphaline activateur (TCA) sur un instrument automatisé. Il vise à identifier la déficience en FVIII et à soutenir la prise en charge de l'hémophilie A chez les personnes âgées de deux ans et plus. Destiné à un usage de diagnostic in vitro.

---

## Résumé et principe

Les déficiences en facteur de coagulation peuvent avoir des origines congénitales ou acquises et peuvent compromettre l'hémostase in vivo<sup>1</sup>. Le facteur VIII (facteur antihémophilique A) est une glycoprotéine d'un poids moléculaire d'environ 250 000 Da<sup>2</sup>. Il est lié au facteur Willebrand (VWF) in vivo et il est nécessaire pour la voie intrinsèque de la coagulation. Les plasmas déficients en facteur VIII présentent un TCA allongé. La déficience en facteur VIII (hémophilie A) est couramment diagnostiquée au moyen d'un test du TCA modifié. Lorsque l'échantillon d'un patient est mélangé avec du plasma déficient en facteur VIII, le degré de correction du TCA est proportionnel au niveau de facteur VIII dans le plasma du patient<sup>3,4</sup>.

---

## Réactifs

CRYOcheck Factor VIII Deficient Plasma with VWF est un plasma immunodéplété du facteur VIII qui contient des concentrations normales de facteur von Willebrand (VWF). Le facteur VIII a été validé comme ayant moins de 1 % des taux normaux d'antigène et d'activité, tandis que les taux d'antigène et d'activité du VWF sont > 50 %.

UNIQUEMENT SUR ORDONNANCE

---

## Entreposage, préparation et manipulation

Lorsqu'il est entreposé à -70 °C ou moins, CRYOcheck Factor VIII Deficient Plasma with VWF est stable jusqu'à la fin du mois indiqué sur l'emballage du produit.

Faire décongeler chaque flacon à 37 °C ( $\pm 1$  °C) dans un bain-marie. **Il n'est pas recommandé d'utiliser un bain sec ou un bloc de chauffage pour la décongélation.** Les temps de décongélation sont importants et doivent être strictement respectés. Il est recommandé d'utiliser une minuterie. Consulter la table de décongélation pour connaître les temps de décongélation recommandés en fonction de la taille de l'aliquote. Inverser doucement le plasma décongelé avant l'utilisation.

Table de décongélation	
Taille de l'aliquote	Bain-marie à 37 °C ( $\pm 1$ °C)
1,0 mL	4 minutes
1,5 mL	5 minutes

CRYOcheck Factor VIII Deficient Plasma with VWF peut être utilisé jusqu'à 24 heures après la décongélation lorsqu'il est entreposé dans l'analyseur (maintenu à 15 °C [ $\pm 1$  °C]) ou lorsqu'il est conservé dans le flacon d'origine fermé et maintenu entre 2 et 8 °C. Inverser doucement le plasma décongelé avant l'utilisation. La matière décongelée doit être jetée après 24 heures et ne doit pas être recongelée.

## Disponibilité

Produit	Référence catalogue	Présentation
CRYOcheck Factor VIII Deficient Plasma with VWF	FDP08VWF-10	25 flacons de 1,0 mL
	FDP08VWF-15	25 flacons de 1,5 mL

## Instruments

Chaque laboratoire devrait préparer l'instrument local conformément au manuel d'emploi du fabricant.

## Procédure

Après la décongélation et la préparation de CRYOcheck Factor VIII Deficient Plasma with VWF, utiliser le produit conformément aux procédures de laboratoire établies pour l'évaluation quantitative du facteur VIII.

## Matériel fourni

- CRYOcheck Factor VIII Deficient Plasma with VWF.

## Matériels requis mais non fournis

- Bain-marie pouvant maintenir une température de 37 °C ( $\pm 1$  °C);
- Flotteur pour faire décongeler les flacons dans un bain-marie;
- Réactifs de dosage (p. ex. réactif TCA, chlorure de calcium, diluant de dosage (substance tampon));
- Instrument de coagulation;
- Plasma d'étalonnage (p. ex. CRYOcheck Normal Reference Plasma);
- Équipement de contrôle de la qualité (p. ex. CRYOcheck Reference Control Normal, CRYOcheck Abnormal 1 Reference Control, CRYOcheck Abnormal 2 Reference Control);
- Flacons de verre siliciné de 4 mL (facultatifs);
- Minuterie;
- Pipette de transfert.

## Préparation de la courbe d'étalonnage

Les méthodes peuvent varier en fonction des instruments utilisés. Consulter le manuel d'emploi du fabricant de l'instrument pour connaître les épreuves de facteurs recommandées (protocoles intrinsèques).

1. Préparer le plasma d'étalonnage, réactif TCA, réactif CaCl<sub>2</sub> et diluant de dosage (substance tampon) conformément à leur mode d'emploi.
2. Le plasma d'étalonnage est dilué à l'aide du diluant de dosage. L'exemple ci-dessous montre un profil de dilution lors de l'utilisation d'un plasma d'étalonnage avec un niveau d'activité du FVIII de 100 %. Les résultats varieront en fonction de l'activité du FVIII dans le plasma d'étalonnage et de l'instrument utilisé.

No de tube	Proportion de substance tampon	Proportion de plasma d'étalonnage	Facteur VIII (%)
1	85	15	150
2	90	10	100
3	95	5	50
4	97,5	2,5	25
5	99,9	0,1	10
6	99,95	0,05	5
7	99,98	0,02	2
8	100	0	0

3. L'analyseur mesure le temps de coagulation TCA de chaque échantillon d'étalonnage dilué et crée une courbe d'étalonnage fondée sur la valeur cible du facteur VIII.
4. La courbe est utilisée pour signaler l'activité du facteur VIII des échantillons d'épreuve analysés au moyen de cette méthode.

## Collecte et préparation des échantillons

Les prélèvements de sang doivent être recueillis sur une solution anticoagulante de citrate trisodique (3,2 % p/v) d'une concentration de 105 à 109 mmol/L dans un ratio de 9 volumes de sang pour 1 volume d'anticoagulant, conformément aux normes de Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)<sup>5</sup>. Le plasma est obtenu par centrifugation à 1500 x g pendant 15 minutes afin d'obtenir du plasma pauvre en plaquettes (< 10 000 plaquettes/ $\mu$ L) et devrait être testé dans les quatre heures suivant le prélèvement quand il est conservé à température ambiante. Si les échantillons ne doivent pas être testés dans les quatre heures, le plasma devrait alors être retiré des cellules et congelé à  $\leq -70$  °C jusqu'à concurrence d'un mois. Il convient de noter que le FVIII est une protéine labile. La manipulation inadéquate d'un spécimen peut entraîner un mauvais résultat.

## Procédure du dosage

1. Préparer CRYOcheck Factor VIII Deficient Plasma with VWF conformément aux instructions d'entreposage, préparation et manipulation qui précèdent.
2. Préparer un flacon pour 14 tests ou regrouper deux flacons pour générer une courbe d'étalonnage.
3. Préparer l'instrument conformément au manuel d'emploi du fabricant.
4. Préparer les réactifs de dosage (p. ex. réactif TCA, CaCl<sub>2</sub> et diluant de facteur) conformément aux instructions du fabricant et les charger dans l'instrument.

5. Si *CRYOcheck* Factor VIII Deficient Plasma with VWF ne peut être chargé directement sur l'analyseur, il peut être transféré dans un flacon de verre siliconé de 4 mL puis chargé sur l'instrument.
6. Charger les échantillons dans l'instrument.
7. Mesurer l'activité du FVIII des échantillons de plasma à l'aide du protocole d'instrument approprié.

---

## Résultats et interprétation

---

Les résultats du facteur VIII sont indiqués en pourcentage d'activité, où l'activité du FVIII à 100 % équivaut à 1,0 UI/mL. Les valeurs FVIII récupérées en deçà de la plage normale établie en laboratoire peuvent indiquer la présence d'hémophilie A. L'hémophilie A peut être classée dans les catégories légère (de 5 % à < 40 % de FVIII), modérée (de 1 % à 5 % de FVIII) et sévère (< 1 % de FVIII)<sup>6</sup>.

### Contrôle de la qualité

Chaque laboratoire doit définir ses propres plages de contrôle de la qualité (CQ) en utilisant des méthodes statistiques acceptables. Ces plages de CQ peuvent ensuite être utilisées pour surveiller et valider l'intégrité du système de test<sup>7</sup>. Pour tous les tests de coagulation, le laboratoire doit inclure au moins deux niveaux de contrôle toutes les huit heures d'ouverture, et chaque fois qu'un changement de réactifs survient<sup>8</sup>.

### Limites de la méthode

Lorsque des valeurs de contrôle appropriées ne sont pas obtenues, chaque composant du système de test, y compris les réactifs, les plasmas de contrôle, l'instrumentation et la technique de l'opérateur, doit faire l'objet d'une évaluation afin de s'assurer que tous les autres composants fonctionnent correctement.

---

## Valeurs attendues

---

Les valeurs attendues peuvent varier en fonction des réactifs, des instruments et des techniques employées. Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre gamme normale d'activité du facteur VIII.

Les valeurs d'activité attendues du facteur VIII varient de 50 à 150 % (0,50 à 1,50 IU/mL).

---

## Performances

---

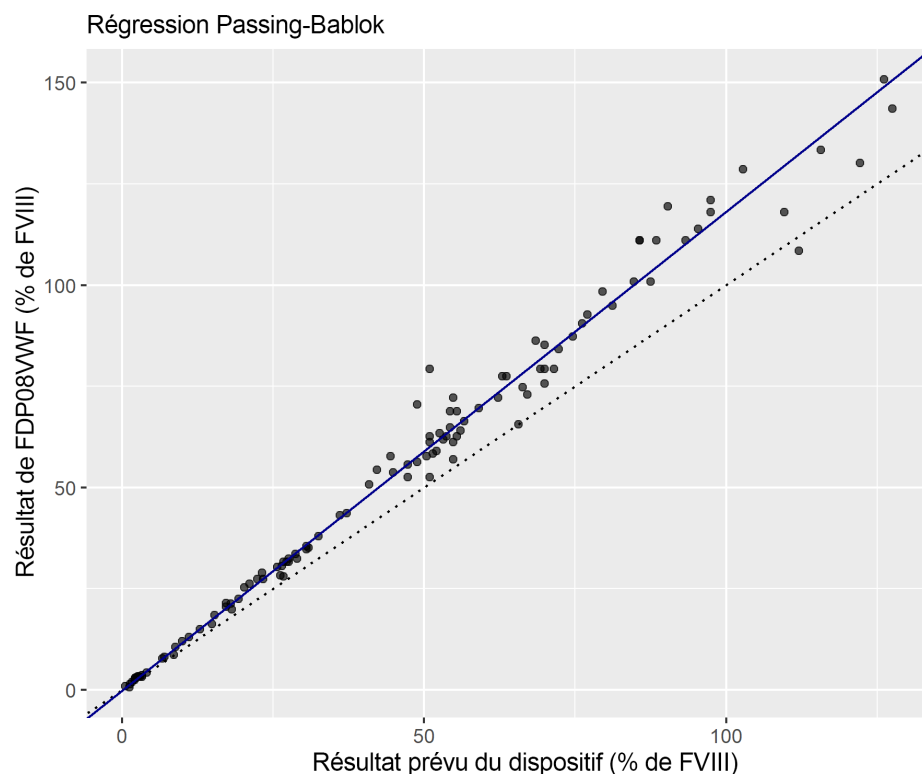
Toutes les études ont été réalisées à l'aide du réactif TCA HemosIL<sup>®</sup> SynthASil (avec CaCl<sub>2</sub> de 20 mM) et IL Factor Diluent avec un instrument IL ACL TOP, sauf indication contraire.

### Comparaison des méthodes

Une étude de comparaison des méthodes a été menée conformément à la norme CLSI EP09c<sup>9</sup> afin de comparer la précision de la mesure de l'activité du facteur VIII lors de l'utilisation de *CRYOcheck* Factor VIII Deficient Plasma with VWF dans un test du TCA modifié par rapport à un dispositif de comparaison. Des aliquotes de plasma humain provenant d'individus normaux en apparence sains, de patients atteints d'hémophilie A congénitale ou acquise et la maladie de von Willebrand de type 1, de type 2A, de type 2N et de type 3 (N = 112) ont été testées dans le cadre de l'étude. Les résultats ont été comparés au moyen de l'analyse de régression Passing-Bablok. Les statistiques de la régression ont

montré que *CRYOcheck* Factor VIII Deficient Plasma with VWF a donné des résultats équivalents à ceux de la méthode de comparaison.

N	Pente		Point d'intersection		Coefficient de corrélation de Pearson (R)
	Valeur	IC à 95 %	Valeur	IC à 95 %	
112	1,18	1,16 – 1,20	-0,2	-0,69 – 0,17	0,99



## Précision

Une étude de précision a été réalisée à l'aide de trois lots de *CRYOcheck* Factor VIII Deficient Plasma with VWF comme substrat dans un test du TCA modifié pour quantifier l'activité du FVIII dans trois échantillons témoins et trois échantillons de plasma de patients selon la norme CLSI EP05-A3<sup>10</sup>. Chaque échantillon a été mesuré avec chaque lot de produit en double, deux fois par jour pendant 20 jours, pour un total de 80 réplicats par échantillon, par lot. Les résultats ont indiqué une précision cumulative avec un coefficient de variation (CV) < 10 % pour tous les échantillons témoins et normaux, et un écart-type (ET) ≤ 0,1 % pour les deux échantillons avec hémophilie A (faible et très faible).

Échantillon	Activité moyenne du FVIII (%)	Précision en laboratoire	
		ET	% CV
CRYOcheck Reference Control Normal	100,4	5,7	5,7
CRYOcheck Abnormal 1 Reference Control	37,7	2,3	6,2
CRYOcheck Abnormal 2 Reference Control	11,3	0,6	5,2
Échantillon de plasma à taux élevé de FVIII	164	9,8	6,0
Échantillon de plasma à faible taux de FVIII (hémophilie A modérée)	2,0	0,2	N/A
Échantillon de plasma à très faible taux de FVIII (hémophilie A grave)	0,1	0,0	N/A

## Linéarité

Une étude de linéarité a été menée conformément à la norme CLSI EP06-A<sup>11</sup> en utilisant un seul lot de CRYOcheck Factor VIII Deficient Plasma with VWF dans un test du TCA modifié pour quantifier l'activité du FVIII de quinze échantillons créés en combinant du plasma à une concentration élevée de FVIII (~ 260 %) au plasma d'un patient atteint d'hémophilie A congénitale (0 % de FVIII). Ces 15 échantillons ont produit une activité du FVIII estimée entre 0 et 260 %. Les résultats appuient un domaine de linéarité de 0 à 175 %.

## Interférences

Des études sur l'interférence ont été réalisées selon la norme CLSI EP07<sup>12</sup> en utilisant un seul lot de CRYOcheck Factor VIII Deficient Plasma with VWF dans un test du TCA modifié. Des substances interférentes possibles ont été ajoutées aux échantillons de plasma et 10 réplicats ont été testés avec 10 réplicats du contrôle de matrice témoin correspondant. Les substances suivantes n'ont présenté aucune interférence aux concentrations indiquées.

Substance testée	Concentration de l'échantillon
Intralipide	2000 mg/dL
Bilirubine (non conjuguée)	40 mg/dL
Anticoagulant de type lupique	Ratio du temps de coagulation du venin de la vipère de Russell dilué (dVVR) ≤ 1,8

Il a été démontré que l'hémoglobine à 1 000 mg/dL et la bilirubine (conjuguée) à 40 mg/dL interféraient avec les résultats des échantillons.

## Précautions/mises en garde

Ne pas utiliser le produit s'il est décongelé au moment de sa réception, si le flacon semble fissuré ou si, au moment de sa décongélation, le produit semble avoir coagulé. Le transfert de matière de substrat déficient dans un récipient autre qu'en verre siliconé ou en polypropylène pourrait avoir une incidence sur le rendement, et n'est donc pas recommandé.

Tout incident grave survenu relativement à l'utilisation de ce dispositif doit être signalé au fabricant et aux autorités compétentes de l'État membre dans lequel l'utilisateur ou le patient est établi.



*Il faut traiter tous les produits sanguins comme potentiellement infectieux. Lors d'essais réalisés conformément aux exigences actuelles en matière de maladies transmissibles par transfusion, le matériel source duquel provient le produit a obtenu un résultat négatif. Il n'existe aucune méthode d'essais qui garantit que les produits dérivés du sang humain ne transmettront pas d'agents infectieux. Par conséquent, il faut manipuler et traiter ces produits à base de sang humain en suivant les méthodes recommandées pour tout spécimen humain potentiellement infectieux<sup>13</sup>.*

---

## Bibliographie

---

1. Biggs R. *Human blood coagulation, haemostasis and thrombosis* 3<sup>rd</sup> ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1984.
2. Halkier T. *Mechanisms in blood coagulation, fibrinolysis, and the complement system*. Cambridge: Cambridge University Press; 1991.
3. Triplett DA, Smith C. *Routine testing in the coagulation laboratory*. In: Triplett DA, editor. Laboratory evaluation of coagulation. Illinois: ASCP Press; 1982. P. 28-51.
4. CLSI. *Determination of Coagulation Factor Activities Using the One-Stage Clotting Assay*. 2<sup>nd</sup> ed. CLSI guideline H48. Wayne, PA (USA); Clinical and Laboratory Institute; 2016.
5. CLSI. *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays*. Approved Guideline-5<sup>th</sup> ed. CLSI guideline H21-A5. Wayne, PA (USA); Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
6. Srivastava A, Brewer AK, Mauser-Bunschoten EP, Key NS, Kitchen S, Llinas A et al. (2013). *Guidelines for the Management of Hemophilia*. 2nd Edition. Haemophilia. 2013; 19 (1), e1-47.
7. Cembrowski GS, Carey RN. *Laboratory Quality Management*. Chicago: ASCP Press; 1989. p. 166-171
8. CLIA 2004 – Code of Federal regulations, 42CFR493.1269, 2004.
9. CLSI. *Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples*. 3<sup>rd</sup> ed. CLSI guideline EP09c., Wayne, PA(USA); Clinical and Laboratory Standards Institute 2018.
10. CLSI. *Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures*. Approved Guideline – 3<sup>rd</sup> ed. CLSI guideline EP05-A3. Wayne, PA (USA): Clinical and Laboratory Standards Institute 2014.
11. CLSI. *Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures; A Statistical Approach*. Approved Guideline. CLSI guideline EP06-A. Wayne, PA (USA): Clinical and Laboratory Standards Institute, 2003.
12. CLSI. *Interference Testing in Clinical Chemistry*. 3<sup>rd</sup> ed. CLSI guideline EP07. Wayne, PA (USA): Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.
13. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories 5th ed. Centers for Disease Control and Prevention / National Institutes of Health, 2009.



## Symboles utilisés



Dispositif de diagnostic in vitro



Risque biologique



Numéro de lot



Fabricant



Référence catalogue



Mandataire pour la Communauté européenne/l'Union européenne



Date de péremption

**Rx ONLY**

Uniquement sur ordonnance



Limite de température



Consulter le manuel d'emploi



Représentants autorisés de la Communauté européenne (affaires réglementaires seulement)

Emergo Europe—Prinsessegracht 20, 2514 AP The Hague, The Netherlands



Precision BioLogic Inc.

140 Eileen Stubbs Avenue | Dartmouth, Nova Scotia | B3B 0A9 | Canada

Tél. : 1 800 267-2796 / +1 902 468-6422

Télécopieur : 1 800 267-0796 / +1 902 468-6421

[www.precisionbiologic.com](http://www.precisionbiologic.com)