

## COATEST® SP4 FVIII - 82 4094 63



## Intended use

For the photometric determination of factor VIII activity in citrated plasma, such as when identifying factor VIII deficiency or monitoring patients on replacement therapy, as well as for potency estimation of FVIII concentrates.

## Measurement principle

1. Factor X → Factor Xa  
factor VIII  
factor Xa  
2. S-2765 → Peptide + pNA

In the presence of calcium and phospholipids, factor X is activated to factor Xa by factor IXa. This generation is greatly stimulated by factor VIII, which may be considered as a cofactor in this reaction. By using optimal amounts of Ca<sup>2+</sup> and phospholipids and an excess of factors IXa and X, the rate of activation of factor X is solely dependent on the amount of factor VIII. Factor Xa hydrolyses the chromogenic substrate S-2765 thus liberating the chromophoric group, pNA. The color is then read photometrically at 405 nm. The generated factor Xa and thus the intensity of color is proportional to the factor VIII activity in the sample. Hydrolysis of S-2765 by thrombin formed is prevented by the addition of the synthetic thrombin inhibitor, I-2581, together with the substrate.

## Composition

1. S-2765 15.4 mg + I-2581	1 vial
Chromogenic substrate (N-a-Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA), 15.4 mg, synthetic thrombin inhibitor, 0.4 mg, and mannitol added as a stabilizing agent.	
2. Factor IXa + Factor X 2.7 IU	4 vials
Lyophilized bovine factors IXa and X with bovine albumin added as a stabilizing agent.	
3. CaCl <sub>2</sub> 6 ml	1 vial
Calcium chloride solution, 0.025 mol/L	
4. Buffer, stock solution 20 mL	1 vial
20 mL concentrated Tris buffer containing NaCl and BSA. Characteristics of tenfold diluted Buffer: Tris 0.05 mol/L, pH 7.3, 10 mg/L Ciprofloxacin and 1.0% BSA.	
5. Phospholipid 2 mL	1 vial
Mixture of highly purified phospholipids and 10 mg/L Ciprofloxacin.	

## PRECAUTION AND WARNINGS

Factor IXa + Factor X 2.7 IU

Danger  
Hazard class: Resp. sens. 1, H334  
Hazard statements: H334: May cause allergy or asthma symptoms or breathing difficulties if inhaled.  
Precautionary statements: P261: Avoid breathing dust/fume. P284: [In case of inadequate ventilation] wear respiratory protection. P304 + P340: IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing. P342 + P311: If experiencing respiratory symptoms: Call a POISON CENTER/doctor. P501: Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulation.

**Supplemental hazard information:** Contains Factor IXa. Up to 2.95% of the mixture consists of component of unknown acute toxicity (oral, dermal, inhalation) for the human health and unknown hazard to aquatic environment.

CaCl<sub>2</sub>, S-2765 15.4 mg +I-2581, Buffer, stock solution, Phospholipid

Hazard class: None

Hazard statements: None

Precautionary statements: None

CaCl<sub>2</sub>: EUH210: Safety data sheet available on request.

S-2765 15.4 mg +I-2581: EUH210: Safety data sheet available on request. Up to 6.5% of the mixture consists of component of unknown acute toxicity (oral, dermal, inhalation) for the human health and unknown hazard to the aquatic environment.

Buffer, stock solution: EUH210: Safety data sheet available on request. Up to 15.5% of the mixture consists of component of unknown acute toxicity (oral, dermal, inhalation) for the human health and unknown hazard to the aquatic environment.

**Phospholipid:** Up to 40.4% of the mixture consists of component of unknown acute toxicity (oral, dermal, inhalation) for the human health and unknown hazard to the aquatic environment.

This product is for *in vitro* diagnostic use.

## Preparation

The reagents are reconstituted according to the specific instrument application. For microplate and test tube techniques:

1. S-2765 + I-2581: Reconstitute with 12.0 mL of sterile water or NCCLS type II water<sup>11</sup>, to obtain a concentration of 1.8 mmol/L.
2. Factor IXa + Factor X: Reconstitute with 3.0 mL of sterile water or NCCLS type II water<sup>11</sup>.
3. CaCl<sub>2</sub>: Ready to use.
4. Buffer, stock solution: Dilute 1:10 (1+9) with sterile water or NCCLS type II water<sup>11</sup>. Prepare a new buffer working solution each day.
5. Phospholipid: Ready to use.

## Reagent storage and stability

When kept at 2-8°C the sealed reagents are stable until the expiry date printed on the label. Contamination by microorganisms should be avoided once the vials are opened.

1. S-2765 + I-2581: Stability after reconstitution: 3 months at 2-8°C.

2. Factor IXa + Factor X: Stability after reconstitution: 12 hours at 2-8°C. The solution can be stored frozen in aliquots at -20°C (or at lower temperature) for 3 months. Do not refreeze.

3. CaCl<sub>2</sub> (0.025 mol/L): Opened vial is stable 3 months at 2-8°C.

4. Buffer, stock solution (Tris 0.05 mol/L, pH 7.3, 10 mg/L Ciprofloxacin and 1.0% BSA): Once opened the buffer is stable 3 months at 2-8°C. Prepare a new buffer working solution each day.

5. Phospholipid: Opened vial is stable for 3 months at 2-8°C. Shake gently before use.

## Reagents and materials required but not provided

1. Deionized water, filtered through 0.22 mm or NCCLS type II water.<sup>11</sup>
2. Acetic acid 20% or citric acid 2%.
3. Control Plasma Abnormal and Normal calibrated against an International Standard for Factor VIII
4. Calibration plasma calibrated against an International Standard
5. Photometer, 405 nm (and 490 nm for microplate procedure)
6. Heat incubator 37°C ± 0.2°C
7. Semi-micro cuvettes
8. Centrifuge, 2000g
9. Plastic test tubes
10. Stopwatch
11. Vortex mixer
12. Calibrated pipettes

## COATEST® SP4 FVIII - 82 4094 63



## Verwendungszweck

Zur photometrischen Bestimmung der Faktor VIII Aktivität in Citratplasma zur Identifizierung von Faktor VIII-Mängeln und zur Überwachung einer Substitutionstherapie sowie zur Gehaltsbestimmung von Faktor VIII-Konzentraten.

## Messprinzip

1. Faktor Xa, Ca<sup>2+</sup>, Phospholipid → Faktor Xa  
Faktor VIII

2. Substrat → Peptid + pNA

In Anwesenheit von Calcium und Phospholipiden wird Faktor X durch Faktor IXa zu Faktor Xa aktiviert. Diese Aktivierung wird beträchtlich durch Faktor VIII stimuliert, der als Kofaktor dieser Reaktion betrachtet werden kann. Bei Verwendung optimaler Mengen Ca<sup>2+</sup>-Ionen und Phospholipiden sowie eines Überschusses der Faktoren IXa und X ist die Aktivierungsrate ausschließlich von der Menge des verfügbaren Faktor VIII abhängig. Faktor X spaltet vom chromogenen Substrat S-2765 die chromophore Gruppe pNA ab. Die photometrische bei 405 nm gemessene pNA-Freisetzung ist proportional zur Faktor VIII Aktivität der Probe. Die Hydrolyse von S-2765 durch gebildetes Thrombin wird durch Zugabe eines synthetischen Thrombin-Inhibitors (I-2581) verhindert.

## Reagenzien

1. S-2765 15.4 mg + I-2581 1 Flasche  
Chromogenes Substrat (N-a-Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA), 15.4 mg, synthetischer Thrombin-Inhibitor, 0.4 mg, und Mannitol als Füllstoffzusatz.

2. Faktor IXa + Faktor X 2.7 IU 4 Flaschen

Lyophilisierte Faktoren IXa und X vom Rind, stabilisiert mit Rinderserumalbumin (BSA)

3. CaCl<sub>2</sub> 6 ml 1 Flasche

Calciumchloridlösung, 0.025 mol/L

4. Puffer, Konzentrat 20 mL 1 Flasche

20 mL konzentrierter Tris-Puffer, enthält NaCl und BSA. Der 10-fach verdünnte Puffer enthält: Tris 0.05 mol/L, pH 7.3, 10 mg/L Ciprofloxacin und 1.0% BSA

5. Phospholipide 2 mL 1 Flasche

Mischung hochgereinigter Phospholipide und 10 mg/L Ciprofloxacin

## WARNHINWEISE

Factor IXa + Factor X 2.7 IU

Gefahr

Gefahrenklasse: Resp. sens. 1, H334

Gefahrenhinweise: H334: Kann bei Einatmen Allergie, asthmatische Symptome oder Atembeschwerden verursachen.

Sicherheitssätze: P261: Einatmen von Staub/Rauch vermeiden. P284: [Bei unzureichender Belüftung] Atemschutz tragen. P304 + P340: BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen. P342 + P311: Bei Symptomen der Atemwegs: GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen. P501: Inhalt/Behälter gemäß lokalen/regionalen/internationalen Vorschriften zuführen.

Ergänzende Gefahrenmerkmale: Enthält Faktor IXa. Bis 2.95% dieses Gemisches besteht aus Inhaltsstoffen, deren akute Toxizität (oral, dermal, inhalatorische) für den Menschen und die Gewässer nicht bekannt ist.

CaCl<sub>2</sub>, S-2765 15.4 mg +I-2581, Buffer, stock solution, Phospholipid

Gefahrenklasse: keine

Gefahrenhinweise: keine

Sicherheitssätze: keine

Ergänzende Gefahrenmerkmale: CaCl<sub>2</sub>: EUH210: Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich.

S-2765 15.4 mg +I-2581: EUH210: Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich. Bis 6.5% dieses Gemisches besteht aus Inhaltsstoffen, deren akute Toxizität (orale, dermale, inhalatorische) für den Menschen und die Gewässer nicht bekannt ist.

Buffer, stock solution: EUH210: Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich. Bis 15.5% dieses Gemisches besteht aus Inhaltsstoffen, deren akute Toxizität (orale, dermale, inhalatorische) für den Menschen und die Gewässer nicht bekannt ist.

Phospholipid: Bis 40.4% dieses Gemisches besteht aus Inhaltsstoffen, deren akute Toxizität (orale, dermal, inhalatorische) für den Menschen und die Gewässer nicht bekannt ist.

In vitro-Diagnostikum.

## Vorbereitung der Reagenzien

Die Reagenzien werden entsprechend der spezifischen Geräte-Applikationen rekonstituiert. Für Mikrotiter- und Teströhrchen-Methoden:

1. S-2765 + I-2581: Mit 12.0 mL steriles Wasser bzw. NCCLS Typ II Wasser<sup>11</sup> rekonstituieren, um eine Konzentration von 1,8 mmol/L zu erhalten.

2. Faktor IXa + Faktor X: Mit 3.0 mL steriles Wasser bzw. NCCLS Typ II Wasser<sup>11</sup> rekonstituieren.

3. CaCl<sub>2</sub>: Gebrauchsfertig.

4. Puffer, Stammlösung: Vor Gebrauch 1:10 (1+9) mit steriles Wasser bzw. NCCLS Typ II Wasser<sup>11</sup> verdünnen. Puffer-Arbeitslösung täglich frisch zubereiten.

5. Phospholipid: Gebrauchsfertig.

## Lagerung und Stabilität der Reagenzien

Die verschlossenen Reagenzien sind bei 2-8°C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum haltbar. Nach Öffnen sollte eine Kontamination durch Mikroorganismen verhindert werden.

1. S-2765 + I-2581: Nach Rekonstitution 3 Monate bei 2-8°C haltbar.

2. Faktor IXa + Faktor X: Nach Rekonstitution 12 Stunden bei 2-8°C stabil. Die Lösung kann in Aliquots bei -20°C (oder tieferen Temperaturen) für 3 Monate eingefroren werden. Nicht wieder einfrieren.

3. CaCl<sub>2</sub> (0.025 mol/L): Das Reagenz ist nach Öffnen der Flasche für 3 Monate bei 2-8°C haltbar.

4. Puffer, Stammlösung: (Tris 0.05 mol/L, pH 7.3, 10 mg/L Ciprofloxacin und 1.0% BSA): Nach Öffnen ist der Puffer bei 2-8°C für 3 Monate haltbar. Puffer-Arbeitslösung täglich frisch zubereiten.

5. Phospholipid: Das Reagenz ist nach Öffnen der Flasche für 3 Monate bei 2-8°C haltbar. Vor Gebrauch vorsichtig mischen.

## Zusätzlich benötigte Reagenzien und Materialien

1. Entionisiertes Wasser, gefiltert durch einen Filter mit 0.22 mm Porengröße oder NCCLS Typ II Wasser.<sup>11</sup>

2. 20 % Essigsäure oder 2 %ige Zitronensäure.

3. Normale und pathologische Kontrollplasmen, die gegen einen Internationalen Standard für Faktor VIII kalibriert sind.

4. Kalibrationsplasma, das gegen einen Internationalen Standard für Faktor VIII kalibriert ist.

5. Photometer, 405 nm (und 490 nm für Mikrotiter-Methoden).

6. Inkubator, 37°C ± 0.2°C.

7. Semi-Mikroküvetten.

8. Zentrifuge, 2000 g.

9. Teströhrchen aus Kunststoff.

10. Stoppuhr.

11. Vortex-Mixer.

12. Geeichte Pipetten.

## ENGLISH - Insert revision 05/2016



The assigned percentage values of the standard dilutions are those obtained from a normal plasma containing 1.0 IU FVIII/ml. In case the FVIII content of the normal plasma differs from this value, an appropriate correction factor should be used.

## Preparation of plasma sample

Use plastic test tubes.

Test plasma or concentrate 25 µL

Buffer working solution (2-8°C) 2000 µL

Mix well. Keep at 2-8°C.

The assay must be performed within 30 minutes after dilution because of the lability of factor VIII.

**Aplicación**

Para la determinación fotométrica de la actividad del Factor VIII en plasma citratado, en el estudio de deficiencias de Factor VIII o en la monitorización de pacientes bajo terapia de sustitución, así como para la estimación de concentrados de VIII.

**Principio**

1. Factor X → Factor Xa  
Factor Xa → Peptido + pNA

En presencia de calcio y fosfolípidos, el factor X se activa a factor Xa gracias al Factor IXa. Este proceso está estimulado por el factor VIII, el cual puede considerarse como cofactor de esta reacción. Utilizando cantidades óptimas de Ca<sup>2+</sup> y fosfolípidos y exceso de factores IXa y X, el grado de activación de factor X depende únicamente de la cantidad de factor VIII. El Factor Xa hidroliza el substrato cromogénico S-2765 liberándose así el grupo cromoforo pNA. El color se lee fotométricamente a 405 nm. La cantidad de Factor Xa generada y la intensidad de color producida, es proporcional a la actividad del factor VIII de la muestra.

La hidrólisis del substrato S-2765 por parte de la trombina formada, se evita con la adición de un inhibidor sintético de la trombina, I-2581, conjuntamente con el substrato.

**Composición**

1. S-2765 15.4 mg + I-2581 1 vial  
Substrato Cromogénico (N-a-Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA), 15.4 mg, inhibidor sintético de la Trombina, 0.4 mg, y manitol añadido como excipiente.

2. Factor IXa + Factor X 2.7 IU 4 vials  
Factores IXa y X bovinos lofilizados con albúmina bovina añadida como agente estabilizante

3. CaCl<sub>2</sub> 6 ml 1 vial  
Solución de Cloruro Cálcico, 0.025 mol/L

4. Buffer, stock solution 20 mL 1 vial  
20 mL Tampón Tris concentrado que contiene NaCl y BSA. Características del tampón diluido 1:10 (1+9): Tris 0.05 mol/L, pH 7.3, 10 mg/L Ciprofloxacin y 1.0% BSA.

5. Phospholipid 2 mL 1 vial  
Mezcla de fosfolípidos altamente purificados y 10 mg/L Ciprofloxacin.

**PRECAUCIÓN ALERTAS**

Factor IXa + Factor X 2.7 IU

**Peligro**  
Clase de peligro: Resp. sens. 1, H334  
Indicaciones de peligro: H334: Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación.

**Consejos de prudencia:** P261: Evitar respirar el polvo/el humo, P284: [En caso de ventilación insuficiente] Use equipo de protección respiratoria P204 + P240. EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que la facilite la respiración. P342 + P311: En caso de síntomas respiratorios: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P501: Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con la normativa local, regional, nacional o internacional.

**Información suplementaria sobre los peligros:** Contiene Factor IXa. Hasta el 2.95% de la mezcla está constituido por componentes con una toxicidad aguda (oral, dérmica, por inhalación) para los seres humanos y un peligro para el medio ambiente no conocidos.

CaCl<sub>2</sub>, S-2765 15.4 mg + I-2581, Buffer, stock solution, Phospholipid

Clase de peligro: Ninguna

Indicaciones de peligro: Ninguna

Información suplementaria sobre los peligros:

CaCl<sub>2</sub>: EUH210: Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad.

S-2765 15.4 mg + I-2581: EUH210: Puede solicitarle la ficha de datos de seguridad. Hasta el 6.5% de la mezcla está constituido por componentes con una toxicidad aguda (oral, dérmica, por inhalación) para los seres humanos y un peligro para el medio ambiente no conocidos.

Buffer, stock solution: EUH210: Puede solicitarle la ficha de datos de seguridad. Hasta el 15.5% de la mezcla está constituido por componentes con una toxicidad aguda (oral, dérmica, por inhalación) para los seres humanos y un peligro para el medio ambiente no conocidos.

Phospholipid: Hasta el 40.4% de la mezcla está constituido por componentes con una toxicidad aguda (oral, dérmica, por inhalación) para los seres humanos y un peligro para el medio ambiente no conocidos.

Este producto es para el diagnóstico *in vitro*.

**Preparación**

Los reactivos se reconstituyen de acuerdo a las adaptaciones específicas de cada instrumento. Para las técnicas en microplaca y tubo:

1. S-2765 + I-2581: Reconstituir con 12.0 mL de agua destilada tipo II NCCLS<sup>11</sup>, para obtener una concentración de 1.8 mmol/L.

2. Factor IXa + Factor X: Reconstituir con 3.0 mL de agua destilada tipo II NCCLS<sup>11</sup>

3. CaCl<sub>2</sub>: Listo para usar.

4. Buffer, stock solution: Diluir 1:10 (1+9) con agua destilada tipo II NCCLS<sup>11</sup>. Prepare esta solución nueva cada día.

5. Phospholipid: Listo para usar.

**Conservación y estabilidad de los reactivos**

Los reactivos que no hayan sido abiertos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el vial si se mantienen a 2-8°C. Una vez abierto el vial debe evitarse la contaminación por microorganismos.

1. S-2765 + I-2581: Estabilidad después de la reconstitución: 3 meses a 2-8°C.

2. Factor IXa + Factor X: Estabilidad después de la reconstitución: 12 horas a 2-8°C. Alícuotas congeladas de esta solución son estables a -20°C (o temperaturas menores) durante 3 meses. No congelar de nuevo.

3. CaCl<sub>2</sub> (0.025 mol/L): El vial abierto es estable 3 meses a 2-8°C.

4. Buffer, stock solution (Tris 0.05 mol/L, pH 7.3, 10 mg/L Ciprofloxacin y 1.0% BSA): Una vez abierto el vial abierto es estable 3 meses a 2-8°C. Prepare esta solución nueva cada día.

5. Phospholipid: El vial abierto es estable 3 meses a 2-8°C. Mezclar vigorosamente antes de usar.

**Reactivos y materiales requeridos pero no suministrados**

1. Agua desionizada, filtrada con un filtro 0.22 mm o agua destilada tipo II NCCLS<sup>11</sup>

2. Ácido Acético al 20% o ácido cítrico al 2%.

3. Plasma Control Anormal y Normal calibrado contra el estándar internacional de Factor VIII

4. Plasma Calibrador titulado contra un estándar internacional

5. Fotómetro, 405 nm (y 490 nm para procedimiento en microplaca)

6. Incubador: 37°C ± 0.2°C

7. Cubetas semi-micro

8. Centrifuga, 2000xg

9. Tubos de plástico

10. Cronómetro

11. Vórtex

12. Pipetas calibradas

**Recolección de las Muestras**

Recoger nueve partes de sangre recién extraída por punción venosa y una parte de anticoagulante citrato trisódico. Centrifugar: 2000 x g durante 10-20 minutos a 20-25°C. Referirse al documento NCCLS documento H21-A4 para más información sobre la recolección, transporte y almacenamiento de muestras.<sup>12</sup>

**Control de Calidad**

Se recomienda el uso de los controles de plasma normales y anormales de IXa para realizar un completo programa de Control de Calidad.<sup>13</sup> Los valores asignados a los controles deben guardar trazabilidad con el Estándar Internacional. Los controles deben ser procesados dentro de cada sesión. Los controles deben ser tratados del mismo modo que las muestras. Cada laboratorio debe establecer la media y desviación estándar de sus controles. Si se obtienen resultados fuera del rango establecido para ese control, compruebe la calibración, reactivos y procedimiento del test.

**Resultados**

Los resultados del Factor VIII se informan en % de actividad (el 100% de actividad del factor VIII equivale a 1.0 IU/mL).

**Valores esperados**

Rango: 49 - 126 % (2 SD, n=121) en población sana evaluada con Coatest SP Factor VIII (método en tubo). Debido a las diferentes variables que pueden afectar a los resultados, cada laboratorio debe establecer su propio rango de normalidad, para evitar pérdidas inadvertidas de actividad de factor VIII.

**Procedimiento**

NOTA: Todas las condiciones del prospecto se refieren al método manual. Las instrucciones de preparación de los reactivos y configuración de la técnica para el ACL 8000/9000/10000 pueden solicitarse a Chromogenix.

Se han definido dos rangos de factor VIII (20-150% y 1-20%).

**Rango 20-150%**

Prepare una solución de reactivos de fosfolípidos + factor IXa y factor X mezclando:

- 1 volumen de fosfolípidos
- 5 volúmenes de reactivo factor IXa + factor X

Mantenga la mezcla en hielo o a 2-8°C

Agite vigorosamente antes de usar.

La mezcla es estable 4 horas a 2-8°C o 12 horas en hielo.

**Calibración**

Es necesario realizar una curva estándar para cada kit de Coatest Factor VIII. Se utiliza plasma humano normal, calibrado contra un Estándar Internacional, para preparar las diluciones de los estándares. Prepare las diluciones en tubos de plástico utilizando el tampón de trabajo precalentado según la tabla inferior:

Estandar	Predilución		Dilución Final		
	%	Plasma µL	Tampón de trabajo µL	Predilución µL	Tampón de trabajo µL
150	-		Sin diluir	25	2000
120	200	50		25	2000
100	100	50		25	2000
75	100	100		25	2000
50	100	200		25	2000
21	100	600		25	2000

El valor del porcentaje de cada dilución es la obtenida de un plasma normal con 1.0 IU factor VIII/mL. La concentración o actividad de un plasma normal puede diferir de este valor, utilice el factor de corrección apropiado.

**Preparación de la muestra de plasma**

Utilice tubos de plástico.

Volumen de plasma o concentrado

Mezclar. Mantener a 2-8°C

Calibración

La reacción de activación debe realizarse en material de plástico ya que las superficies de cristal pueden interferir con la generación de factor Xa. El Factor VIII es un factor de la coagulación muy labil, de modo que es muy importante seguir al pie de la letra y estandarizando al máximo todo el proceso de trabajo para asegurar unos buenos resultados.

**ESPAÑOL - Revisión Prospecto 05/2016**

El valor del porcentaje de cada dilución es la obtenida de un plasma normal con 1.0 IU factor VIII/mL. La concentración o actividad de un plasma normal puede diferir de este valor, utilice el factor de corrección apropiado.

**Preparación de la muestra de plasma**

Utilice tubos de plástico.

Volumen de plasma o concentrado

25 µL

Tampón de Trabajo (2-8°C)

2000 µL

Mezclar. Mantener a 2-8°C

Calibración

El test debe realizarse dentro de los 30 minutos posteriores a la dilución debido a la labilidad del factor VIII.

Ensayo

NOTA: El ensayo debe realizarse en material de plástico.

Fosfolípido+ FXa + FX (2-8°C)

200 µL

Plasma o dilución estándar (2-8°C)

100 µL

Mezclar e incubar a 2-8°C 4-5 min

CaCl<sub>2</sub> (37°C)

100 µL

Mezclar e incubar a 37°C exactamente 10 min

S-2765+I-2581 (37°C)

200 µL

Mezclar e incubar a 37°C exactamente 10 min

Ácido acético 20% o ácido cítrico 2% (20-25°C)

100 µL

Lea la absorbancia de la muestra contra el blanco de reactivo (tampón de trabajo en lugar de muestra) dentro de las 4 horas. Debido a la gran dilución del plasma, no se debe incluir blancos de muestra.

NOTA: El ensayo arriba descrito también puede realizarse en micropelos reduciendo a una cuarta parte todos los volúmenes, y manteniendo todas las demás condiciones (incubación, tiempos de hidrólisis). En este caso la absorción debe leerse a 405 nm y 490 nm. Reste la A<sub>405</sub> de la A<sub>490</sub> para corregir las diferencias de los pocios de la micropela.

**LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**

Printed Insert Sheet: 303412

Revision: R4

Issued: 05/2016

C.O.: 466606

### ***LANGUAGES***

---

ENGLISH

DEUTSCH

ESPAÑOL

### ***TECHNICAL SPECS***

---

PAPER: White paper, 50-60 g/m<sup>2</sup> weight.

SIZE: 11 x 17" (280 x 432 mm.).

PRINT: Front/Back.

PRINT COLOR: Front - Top rule Orange Pantone 137, all remaining type in black.

PMS 179 RED where used.

Back - All type in black. PMS 179 RED where used.