

# FVIII Antibody Screen

## UTILISATIONS PRÉVUES

FVIII Antibody Screen est un essai qualitatif par la méthode ÉLISA (enzyme linked immunosorbent assay) en phase solide conçu pour détecter les anticorps (IgG) réagissant avec le facteur VIII humain recombinant.

Pour usage diagnostique in vitro.

## SOMMAIRE ET EXPLICATION

Le développement d'anticorps dirigés contre le facteur VIII (FVIII) humain est l'une des complications les plus préjudiciables dans le traitement de l'hémophilie A ainsi que pour le traitement des hémophilies acquises. Les anticorps résultent d'une réponse immunitaire polyclonale au FVIII et sont essentiellement des IgG.<sup>1</sup>

Les anticorps anti-FVIII peuvent se fixer au FVIII et bloquer ainsi sont activité coagulante. Ces anticorps inhibiteurs apparaissent chez approximativement 25% des patients atteints d'hémophilie A sévère ou modérée et peuvent conduire à la neutralisation directe de tout FVIII administré comme traitement.<sup>1</sup>

De plus des anticorps sont dirigés contre des épitopes non associés à l'activité du FVIII. Ces anticorps non-inhibiteurs peuvent accélérer l'élimination du FVIII dans la circulation sanguine, diminuer sa fixation à sa protéine de transport (VWF) ou même directement hydrolyser la molécule FVIII.<sup>2,3,4</sup>

Le FVIII Antibody Screen utilise des micropuits ELISA dans lesquels est coaté du facteur VIII humain recombinant comme molécule cible pour la détection des anticorps inhibiteurs et non inhibiteurs.

## PRINCIPE

L'échantillon est ajouté aux micropuits enrobés avec des molécules de FVIII recombinant permettant à l'anticorps, si présent, de se lier. Les anticorps non liés sont alors lavés. Un réactif anti-globuline humaine conjugué à la phosphatase alcaline (Anti-IgG) est ajouté aux puits et incubé. Les Anti-IgG non liés sont lavés et le substrat PNPP (p-nitrophényl phosphate) est ajouté. Après une incubation de 30 minutes, la réaction est arrêtée par une solution d'hydroxide de sodium. La densité optique de la couleur qui se développe est mesurée au spectrophotomètre.

Le FVIII Antibody Screen utilise trois contrôles différents. Le contrôle négatif est du sérum provenant d'un donneur sain non hémophile. Ce contrôle négatif ne contient pas d'anticorps anti-FVIII est montre le niveau de réactivité attendu pour un échantillon négatif. En plus de ce contrôle, est fournie une gamme de DO attendue qui permet de s'assurer que la technique s'est correctement déroulée.

Le contrôle positif est du sérum de patient connu pour contenir des anticorps anti FVIII. Cet échantillon est très réactif et une DO minimale permet de s'assurer que la technique s'est correctement déroulée.

Le seuil entre les échantillons positifs et négatifs est établi grâce au contrôle du kit. Les échantillons dont la DO moyenne est supérieur à ce contrôle sont considérés positifs. Les échantillons dont la DO moyenne est inférieure à ce contrôle sont considérés négatifs.

## COMPOSITION DU COFFRET

Nombre maximal de tests par coffret: 44

Tous les réactifs doivent être entreposés selon les instructions indiquées sur l'étiquette.

**MS**

1. Barrettes de Micropuits de faible volume à fond plat auxquels des molécules de FVIII humain recombinant entier ont été fixées. Les barrettes sont incluses dans des sachets d'aluminium refermables. Prêt à l'emploi.

**TCW**

2. Solution de lavage concentrée (10x): Solution tamponnée de Tris (hydroxyméthyl) aminométhane contenant du chlorure de sodium et du Tween 20. 1% d'azide de sodium. Diluer avec de l'eau déionisée ou distillée avant utilisation. Conserver la solution de lavage de travail jusqu'à 48 heures à la température de la pièce ou jusqu'à 7 jours à une température de 2 à 8°C.

**SDB**

3. Tampon pour échantillon: Solution saline tamponnée au Tris contenant du chlorure de sodium, BSA. 0.05% d'azide de sodium. Prêt à l'emploi.

**SB**

4. Tampon de substrat: Cette solution contient du diéthanolamine et du chlorure de magnésium. 0.02% d'azide de sodium. Prêt à utiliser. Protéger de la lumière.

- |            |  |
|------------|--|
| <b>SS</b>  | 5. Solution d'arrêt: Hydroxide de sodium 3 M. Prêt à utiliser. Employer avec précaution.   |
| <b>AG8</b> | 6. Conjugué: Anticorps de chèvre anti-immunoglobuline G (IgG) humaine, purifié par affinité et conjugué à la phosphatase alcaline. 0.1% d'azide de sodium. Diluer avec le tampon pour échantillon avant utilisation. |
| <b>PN</b>  | 7. Substrat PNPP (p-nitrophényl phosphate): Poudre cristalline. Reconstituer avec de l'eau déionisée ou distillée et diluer avec le tampon de substrat avant utilisation. Protéger de la lumière.                    |
| <b>PC1</b> | 8. Contrôle positif: Sérum humain contenant de la BSA. 0.1% d'azide de sodium. Diluer avec le tampon pour échantillon avant utilisation. <b>AVERTISSEMENT: Anti-VHC positif (désactivé par la chaleur).</b>          |
| <b>KC</b>  | 9. Contrôle Kit : Sérum humain contenant de la BSA 0.1% d'azide de sodium. Diluer avec le tampon pour échantillon avant utilisation. <b>AVERTISSEMENT: Anti-VHC positif (désactivé par la chaleur).</b>              |
| <b>NC1</b> | 10. Contrôle négatif: Sérum humain. 0.1% d'azide de sodium. Diluer avec le tampon pour échantillon avant utilisation.  |
| <b>PS</b>  | 11. Adhésifs pour plaques.   |

### PRÉCAUTIONS

- Ne pas utiliser de réactifs qui sont turbides ou contaminés.
- Prendre des précautions pour éviter la contamination du tampon pour échantillon et du conjugué. Une contamination involontaire de ces réactifs avec du plasma ou du sérum humain entraînera la neutralisation du conjugué et ainsi l'échec du test.
- Ne pas utiliser de réactifs au-delà de la date de péremption.
- Les micropuits et les réactifs inclus dans ce coffret ne doivent pas être utilisés conjointement avec aucun autre ensemble de test.
- La substitution de composantes autres que celles fournies dans ce coffret peut entraîner des résultats incohérents ou erronés.
- Après chaque essai, disposer de toutes portions inutilisées de conjugué dilué, des contrôles positif et négatif dilués, et du réactif PNPP reconstitué et dilué.
- Lors de la préparation des dilutions, pipeter selon les instructions du fabricant afin d'assurer des techniques de distribution et de rinçage appropriées.
- La réaction entre l'enzyme et le substrat se produisant lors de l'incubation finale est sensible à la température et la lumière et doit être exécutée dans un environnement contrôlé de 22-25°C.
- À cause de variations de température, plus élevées ou plus faibles, il peut être nécessaire pour le laboratoire d'établir une période d'incubation légèrement plus courte ou plus longue afin d'obtenir de façon constante des résultats de contrôles valides. La température de l'incubation finale peut affecter les valeurs des contrôles, il est donc important de vérifier de façon périodique la température de la pièce d'incubation.
- Du faible de la petite taille des micro-puits, il est important que le lecteur soit correctement aligné.
- Ne pas utiliser de filtre de référence lors de la lecture de la plaque

### AVERTISSEMENTS

- Le contrôle positif et le contrôle du kit sont réactifs à l'anti-VHC et non réactifs aux anticorps contre l'antigène HBs et le VIH-1. Ces réactifs ont été inactivés par la chaleur. Toutefois, ces produits devraient être considérés comme potentiellement infectieux.
- Le sérum humain utilisé dans le contrôle de sérum négatif pour ce produit a été testé et trouvé négatif concernant les anticorps anti-VIH 1+2, l'hépatite C et l'antigène HBs. Cependant aucune méthode ne peut offrir une totale assurance de l'absence de ces virus ou autres agents infectieux. Par conséquent, ces matériaux doivent être manipulés comme des produits potentiellement infectieux.
- Certains réactifs fournis dans ce coffret contiennent l'azide de sodium comme agent de conservation.  
**MISE EN GARDE:** L'azide de sodium réagit avec le plomb et le cuivre de la plomberie pour former des métaux azides hautement explosifs. Lorsque disposé dans l'évier, il est recommandé de rincer avec beaucoup d'eau pour éviter la concentration d'azide. L'azide de sodium est un poison, toxique si ingéré.
- La solution d'arrêt contient du (NaOH) un produit corrosif. Éviter tout contact avec la peau et les yeux. Tout renversement devrait être nettoyé immédiatement.
- Disposer de toutes les composantes de la trousse selon les règlements locaux.

### ÉCHANTILLONS

Pour les plasmas, il est recommandé de prélever le sang dans de l'ACD ou du citrate de sodium selon des techniques aseptiques. Pour les sérums, le sang doit être prélevé sans anticoagulant selon des techniques aseptiques. Il est recommandé qu'il soit prélevé, transporté et traité selon les recommandations du NCCLS, H21-A4, Volume 23, Number 35, December 2003, "Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and General Performance of Coagulation Assays." Le sang devrait être testé pendant qu'il est encore frais

afin de minimiser les risques d'obtenir de faux positifs ou de faux négatifs causés par un mauvais entreposage ou une contamination de l'échantillon. Les échantillons qui ne peuvent être testés immédiatement devraient être conservés à une température de 2-8°C jusqu'à 48 heures suivant le prélèvement ou congelés. Les échantillons congelés à une température  $\leq -20^{\circ}\text{C}$  se conservent en bonne condition pour plusieurs années (jusqu'à 3 ans). Cependant, pour éviter les effets néfastes de cycles répétés de congélation – décongélation, il est recommandé d'aliqoter les échantillons en petits volumes avant de les congeler. Éviter les congélateurs à dégivrage automatique.

Des particules ou des agrégats dans l'échantillon peuvent causer des résultats faux positifs ou de mauvaises valeurs de duplicata. Ces échantillons devraient être clarifiés par centrifugation avant d'être testés.

## **MODE OPÉRATOIRE**

### **Matériel Fourni:**

Les fioles peuvent contenir une quantité de réactif plus grande que celle indiquée sur l'étiquette. Bien mesurer le réactif avec un instrument approprié pour préparer les dilutions.

1. 12 – 1 x 8 barrettes de micropuits avec support
2. 1 x 50 mL solution de lavage concentrée
3. 1 x 14 mL tampon pour échantillon
4. 1 x 14 mL tampon de substrat
5. 1 x 14 mL solution d'arrêt
6. 1 x 30  $\mu\text{L}$  conjugué
7. 6 x 50 mg substrat PNPP
8. 1 x 150  $\mu\text{L}$  contrôle positif
9. 1 x 150  $\mu\text{L}$  kit contrôle
10. 1 x 150  $\mu\text{L}$  contrôle négatif
11. 12 scellants pour plaques

### **Matériel Nécessaire non Fourni:**

1. Tubes à essai pour échantillons de patients, dilution des contrôles et dilution des réactifs
2. Pipettes de transfert
3. Micropipettes ajustables pour distribuer 1 – 10  $\mu\text{L}$ , 10 – 100  $\mu\text{L}$  et 100 – 1,000  $\mu\text{L}$  avec des embouts jetables
4. Chronomètre
5. Lecteur de microplaque capable de mesurer des densités optiques de 405, 410 nm
6. Eau déionisée ou distillée
7. Serviettes de papier absorbant
8. Instrument pour laver les microplaques
9. Centrifugeuse capable de séparer le sérum ou le plasma des échantillons de patients
10. Incubateur ou bain-marie à 37°C

### **Procédure**

1. Amener tous les réactifs à la température de la pièce.
2. Préparer une solution de lavage de travail en diluant la solution de lavage concentrée. Ajouter 1 volume de solution de lavage concentrée à 9 volumes d'eau déionisée ou distillée. Bien mélanger.
3. Déterminer le nombre d'échantillons de patients à tester. Utiliser le tableau de résultats pour assigner chaque échantillon à un emplacement consistant en deux puits (duplicata). Noter l'identité de chaque échantillon sur le tableau de résultats.

### **PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS ET DES CONTRÔLES**

4. Diluer comme suit et bien mélanger:

	Volume de tampon pour échantillon	Volume d'échantillon
PC1	30 $\mu\text{L}$	10 $\mu\text{L}$
KC	30 $\mu\text{L}$	10 $\mu\text{L}$
NC1	30 $\mu\text{L}$	10 $\mu\text{L}$
Échantillon de patient	30 $\mu\text{L}$	10 $\mu\text{L}$

5. Retirer la monture de micropuits du sachet. Retirer rapidement et resceller toutes barrettes non utilisées dans le sachet protecteur.

NOTE: Une seule monture est fournie avec le coffret. Conserver jusqu'à ce que toutes les barrettes aient été utilisées.

6. Ajouter 150 µL de solution de lavage de travail à chaque puits et laisser reposer de 5 à 10 minutes à la température de la pièce.
7. Aspirer ou décanter énergiquement et inverser sur du tissu-éponge absorbant pour empêcher de s'assécher.
8. Ajouter 15 µL de la dilution appropriée du contrôle ou de l'échantillon aux puits désignés sur le tableau de résultats.

NOTE: Ne pas ajouter d'échantillons ou de réactifs aux puits vierges.

NOTE: Si plusieurs échantillons de patients différents sont testés en même temps, une seule série de contrôles est nécessaire. Étiqueter chaque barrette pour éviter les erreurs.

9. Sceller les micropuits avec un scellant pour plaques et incuber de 30-35 minutes 37°C au bain-marie. Si un incubateur sec est utilisé au lieu du bain-marie, augmenter le temps d'incubation de 10 minutes.
10. Diluer le conjugué 1 dans 100 dans le tampon pour échantillon. Utiliser un contenant en polypropylène.

Barrettes:	2 – 1 x 8	12 – 1 x 8
AG8	4 µL	20 µL
SDB	396 µL	1980 µL

NOTE: Le conjugué est une solution visqueuse. Amorcer les embouts de pipette en prélevant-distribuant 2-3 fois dans le conjugué avant de l'ajouter au tampon pour échantillon; rincer après chaque distribution. Bien mélanger.

#### 11. ÉTAPE DE LAVAGE:

- a. Aspirer ou décanter le contenu de chaque puits et presser sur de tissu-éponge absorbant.
- b. Ajouter 150 µL de solution de lavage de travail.
- c. Aspirer ou décanter.
- d. Répéter les étapes b et c pour un total de 3 à 4 lavages.
- e. Décanter vigoureusement pour enlever toute solution de lavage résiduelle. Inverser sur du tissu-éponge absorbant pour empêcher de s'assécher.

NOTE: Il est important d'enlever complètement toute la solution de lavage après le dernier lavage sans toutefois déshydrater les puits.

12. Ajouter 15 µL de conjugué dilué (préalablement préparé) à chaque puits SAUF aux puits désignés VIERGES.
13. Sceller les micropuits avec un scellant pour plaques et incuber de 30-35 minutes à 37°C au bain-marie. Si un incubateur sec est utilisé au lieu du bain-marie, augmenter le temps d'incubation de 10 minutes.
14. Dissoudre le substrat PNPP en ajoutant 0.5 mL d'eau déionisée ou distillée à la fiole. Remettre le bouchon et bien mélanger.
15. Diluer le PNPP 1 dans 100 dans le tampon de substrat.

Barrettes:	2 – 1 x 8	12 – 1 x 8
PN	10 µL	60 µL
SB	1 mL	6 mL

Bien mélanger. Protéger de la lumière jusqu'à utilisation.

#### 16. ÉTAPE DE LAVAGE:

- a. Aspirer ou décanter le contenu de chaque puits et presser sur de tissu-éponge absorbant.
- b. Ajouter 150 µL de solution de lavage de travail.
- c. Aspirer ou décanter.
- d. Répéter les étapes b et c pour un total de 3 à 4 lavages.
- e. Décanter vigoureusement pour enlever toute solution de lavage résiduelle. Inverser sur du tissu-éponge absorbant pour empêcher de s'assécher.

Poursuivre rapidement les trois prochaines étapes.

17. Ajouter 50 µL de la solution de PNPP diluée à chaque puits SAUF ceux désignés VIERGES.
18. Incuber les micropuits à la noirceur pour 30-35 minutes à la TEMPÉRATURE DE LA PIÈCE (22-25°C).

NOTE: Le temps et la température d'incubation suite à l'ajout du PNPP sont critiques. NE PAS varier le temps et la température d'incubation établis. À des fins d'uniformité, débiter le chronométrage rapidement après l'ajout du réactif au premier puits.

19. Arrêter la réaction par l'ajout de 50 µL de solution d'arrêt à chaque puits dans le même ordre que celui utilisé lors de l'ajout du substrat. Ajouter 100 µL de la solution d'arrêt aux puits vierges.
20. Lire la densité optique de chaque puits à 405 ou 410 nm. Ne pas utiliser de filtre de référence. Si les résultats ne peuvent être lus immédiatement, laisser les puits à l'obscurité jusqu'à 30 minutes.
21. Soustraire la valeur obtenue pour les puits vierges de tous les puits contenant les contrôles et les échantillons. Plusieurs instruments de lecture ÉLISA sont programmés pour faire ce calcul automatiquement.
22. Enregistrer les résultats obtenus sur le tableau de résultats.

### **DETAILS SUR LA CALIBRATION**

Il n'y a pas de standard international reconnu pour la mesure des anticorps anti-FVIII.

Dans le kit "Factor VIII Antibody Screen", le seuil de positivité est établi grâce au contrôle du kit. Un échantillon dont la moyenne de la DO est supérieure au contrôle du kit est considéré comme positif. Un échantillon dont la moyenne de la DO est égale ou inférieure au contrôle du kit est considéré comme négatif. Le contrôle du kit est lot spécifique, il fait l'objet de tests poussés avec les autres composants du kit afin de s'assurer que son utilisation permet d'obtenir les résultats attendus sur plus de 90 échantillons témoins.

### **CONTROLE QUALITÉ**

Le contrôle de qualité de FVIII Inhibitor Assay est bâti à l'intérieur de cet ensemble de test par l'inclusion de contrôles positifs et négatifs. Ces contrôles devraient être inclus lors de chaque essai pour aider à déterminer si des erreurs techniques ou des échecs de réactifs se sont produits.

Critères pour valider le test:

	Contrôle Négatif	Contrôle Positif
Valeur moyenne de la densité optique (OD)	$\geq 0.03 - \leq 0.200$	$\geq 0.800$

Les valeurs de densité optique obtenues pour les duplicata devraient être à l'intérieur de 20% de la moyenne des deux valeurs. Les échantillons pour lesquels les résultats sont à l'extérieur de cette limite devraient être retestés.

NOTE: De mauvaises valeurs de duplicata peuvent être causées par l'omission d'un réactif ou de l'échantillon, l'ajout inégal des réactifs, une température d'incubation inégale, une exposition à la lumière errante lors de l'incubation finale ou par une contamination entre puits. L'absence de résultats de tests en duplicata peut mener à l'approbation de résultats erronés.

### **INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS**

Les résultats de tests démontrant des valeurs de densité optique supérieures à la moyenne du contrôle du kit sont considérés positifs. Les résultats de tests démontrant des valeurs de densité optique inférieures ou égales à la moyenne du contrôle du kit sont considérés négatifs.

### **LIMITES DE LA TECHNIQUE**

Des résultats erronés peuvent être causés par une contamination bactérienne des matériaux du test, des périodes d'incubation inadéquates, un mauvais lavage ou décantage des puits, une exposition du substrat à la lumière, l'omission de réactifs, une exposition à des températures plus élevées ou plus faibles que celles prescrites ou l'omission d'étapes.

Les résultats de cet essai ne devraient pas être utilisés comme le seul fondement d'un jugement clinique.

### **PERFORMANCES SPÉCIFIQUES**

Afin d'assurer une réactivité et une spécificité adéquates, chaque lot de Factor VIII Antibody Screen est testé avec des anticorps du FVIII ainsi qu'avec des échantillons connus pour ne pas contenir ces mêmes anticorps.

### **PRECISION**

Les variations intra et inter séries ainsi que les imprécisions totales ont été définies pour le kit "Factor VIII Antibody Screen". 8 échantillons de réactivité variable (Négatif, positif faible, positif moyen et positif fort) ont été testés avec le kit "Factor VIII Antibody Screen" en duplicatas dans 14 essais séparés. Pour calculer l'imprécision des valeurs de DO, les données ont été analysées par ANOVA selon le CLSI document EP-5A2. Les calculs sont présentés dans le tableau ci-dessous. Les résultats montrent un  $cv \leq 13\%$  pour les échantillons ayant une  $DO > 0,600$

et  $\leq 24\%$  pour les échantillons ayant une DO  $< 0,600$ . De plus les résultats ont été analysés selon le CLSI document EP12-A. Il y a 100% de corrélation entre les résultats obtenu au sein d'une même série et entre les séries pour l'ensemble des échantillons testés.

Echantillon	Valeur de DO Moyenne	DS intra-série	%cv intra-série	DS Inter-série	%cv Inter-série	DS Totale	%cv Total
Ech 1 positif faible	0.390	0.052	13.3	0.092	23.6	.099	25.4
Ech 2 positif faible	0.650	0.014	2.2	0.063	9.7	0.064	9.9
Ech 3 positif moyen	0.880	0.014	1.6	0.089	10.1	0.089	10.1
Ech 4 positif moyen	1.120	0.041	3.7	0.086	7.7	0.090	8.0
Ech 5 positif fort	1.730	0.094	5.4	0.224	13.0	0.234	13.5
Ech 6 négatif	0.056	0.011	19.7	0.009	16.1	0.012	21.4
Ech 7 négatif	0.057	0.010	17.6	0.011	19.3	0.013	22.8
Ech 8 négatif	0.070	0.011	15.7	0.010	14.3	0.012	17.2

Comparaison de méthode: Comparaison entre le kit “Factor VIII Antibody Screen” et le kit GTI “Factor VIII Inhibitor Assay”

Deux études séparées ont été menées dans lesquelles le kit “Factor VIII Antibody Screen” a été comparé au kit précédent ; GTI Factor VIII Inhibitor. Le kit “Factor VIII Antibody Screen” est une version modifiée du kit “Factor VIII Inhibitor Assay”. Les résultats de ces deux études ont été combinés. 137 échantillons, incluant des sérums et des plasmas, ont été testés. Il a été observé durant cette comparaison que 7 échantillons provenant de patients hémophiles négatifs au test Bethesda et négatifs avec le kit “Factor VIII Antibody Screen” montraient un résultat positif avec le kit “Factor VIII Inhibitor Assay”. Ces réactivités ont été démontrées non spécifiques. Le kit “Factor VIII Antibody Screen” possède un tampon de dilution des échantillons qui a été développé spécialement pour réduire les réactions non spécifiques. Lorsque ces échantillons ont été re-testés avec le kit “Factor VIII Inhibitor Assay” et avec le nouveau tampon de dilution, la plupart des échantillons montraient une diminution notable de la DO, un certain nombre d'entre eux montraient même une réaction négative. Le tableau ci-dessous montre les résultats de l'étude:

		Factor VIII Inhibitor Assay		
		Positif	Négatif	Total
Factor VIII Antibody Screen	Positif	89	1	90
	Négatif	7	40	47
Total		96	41	137

Concordance: 94.2%

Co-positivité: 92.7% (Intervalle de confiance à 95% = 85.7 – 96.4%)

Co-négativité: 97.6% (Intervalle de confiance à 95% = 87.4 – 99.6%)

Le kit “Factor VIII Antibody Screen” montre une excellente sensibilité (co-négativité), spécificité (co-positivité) et corrélation globale lorsqu'il est comparé au kit “Factor VIII Inhibitor Assay”.

Comparaison de méthode: Comparaison du kit “Factor VIII Antibody Screen” au test de Bethesda

Deux études séparées ont été menées dans lesquelles le kit “Factor VIII Antibody Screen” a été comparé à la méthode de Bethesda. Les résultats des deux études ont été combinés. 206 échantillons ont été testés avec les deux tests, “Factor VIII Antibody Screen” et la technique de Bethesda, ou une technique de Bethesda modifiée (BethesdaScreen). Le test de Bethesda étant considéré comme la technique de référence pour la mesure des anticorps inhibiteurs du FVIII. Dans le cas de l'étude, tout échantillon ayant un titre positif avec la méthode de Bethesda a été répertorié comme positif, tout échantillon ayant un titre négatif avec la méthode de Bethesda a été répertorié comme négatif. Le tableau ci-dessous montre les résultats obtenus :

		Bethesda Assay		
		Positif	Négatif	Total
Factor VIII Antibody Screen	Positif	92	12	104
	Négatif	4	98	102
Total		96	110	206

Concordance: 92.2%  
Co-positivité: 95.8% (Intervalle de confiance à 95% = 89.8 – 98.4%)  
Co-négativité: 89.1% (Intervalle de confiance à 95% = 81.9 – 93.6%)

Les 4 échantillons positifs par la technique de Bethesda et négatif avec le kit “Factor VIII Antibody Screen” avaient un titre compris entre 0,8 et 3U et ces valeurs n’ont pas été confirmées par un deuxième laboratoire. 12 échantillons étaient négatifs avec la technique de Bethesda et positifs avec le kit “Factor VIII Antibody Screen”. La majorité de ces prélèvements provenaient de prélèvements en série pour un même patient pour le suivi ou bien de l’apparition d’anticorps anti-FVIII, ou bien pour la diminution des anticorps anti-FVIII durant un traitement immunodépresseur. En général ces divergences venaient de patients prélevés juste avant qu’ils ne deviennent Bethesda positif ou juste après qu’il ne devienne Bethesda négatif, suggérant une sensibilité accrue du kit “Factor VIII Antibody Screen”. Ce kit montre une excellente sensibilité (co-positivité), spécificité (co-négativité) et une bonne corrélation globale avec le test de référence, le test Bethesda.

#### Substances interférentes

Les substances suivantes ne montrent pas d’interférences avec le kit “Factor VIII Antibody Screen” aux concentrations indiquées :

Hémoglobine	≤ 500 mg/dL
Bilirubine	≤ 20 mg/dL
Intralipide	≤ 500 mg/dL
Gammagard® (IVIG)	≤ 200 µg/dL
Rituxan (rituximab)	≤ 10 µg/dL

#### RÉFÉRENCES

1. Shima, Midori: Characterization of Factor VIII Inhibitors. International Journal of Hematology, **83**: 109-118, 2006.
2. Dazzi, F, et al: High incidence of anti-FVIII antibodies against non-coagulant epitopes in haemophilia A patients: a possible role for the half-life of transfused FVIII. British Journal of Haematology. **93(3)**: 688-693, 1996.
3. Ling, M, et al: Low detection rate of antibodies to non-functional epitopes on Factor VIII in patients with hemophilia A and negative for inhibitors by Bethesda assay. Journal of Thrombosis and Haemostasis. **1(12)**. 2548-2553, 2003.
4. LaCroix-Desmazes, S, et al: Catalytic IgG from patients with hemophilia A inactive therapeutic Factor VIII. Journal of Immunology. **177(2)**: 1355-1363, 2006.



**GTI DIAGNOSTICS®**  
Good science starts with people.®

20925 Crossroads Circle, Suite 200  
Waukesha, WI 53186-4054 USA  
(262) 754-1000 ou 1-800-233-1843

#### **Factor VIII Antibody Screen**

- POUR USAGE DIAGNOSTIQUE *IN VITRO*
- CONSERVER À UNE TEMPÉRATURE DE 2-8°C



F8S

Révision: 2009-07-27 (F)



Qarad b.v.b.a.  
Volmolenheide 13  
B-2400 Mol  
Belgium

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