

FVIII Antibody Screen

UTILIZAÇÃO

O Factor FVIII Antibody Screen é um imunoenensaio enzimático de fase sólida (ELISA) qualitativo concebido para detectar anticorpos IgG reactivos com FVIII humano recombinante em soro humano e plasma.

Para Diagnostico *In Vitro*.

SUMÁRIO E EXPLICAÇÃO

O desenvolvimento de anticorpos contra o factor VIII (FVIII) humano é uma das complicações mais danosas no tratamento da hemofilia A, bem como em doentes com hemofilia adquirida. Os anticorpos resultam de uma resposta policlonal ao Factor VIII e são predominantemente IgG.¹

Os anticorpos anti-FVIII podem ligar-se ao FVIII de tal forma que bloqueiam as interacções necessárias para a actividade procoagulante do FVIII. Estes anticorpos inibidores desenvolvem-se em cerca de 25% dos doentes como hemofilia A moderada e grave e podem conduzir à neutralização directa de qualquer FVIII administrado terapêuticamente.¹

Adicionalmente, também se desenvolvem anticorpos para epitopos que não estão associados com a actividade do FVIII. Estes anticorpos não inibidores podem aumentar a remoção de FVIII da circulação, reduzir a ligação à sua proteína transportadora (VWF) ou mesmo hidrolisar directamente a molécula de FVIII.^{2,3,4}

O FVIII Antibody Screen utiliza micropoços ELISA com FVIII humano recombinante imobilizado como moléculas alvo para a detecção de anticorpos inibidores e não inibidores para o FVIII.

PRINCÍPIO

A amostra do doente é adicionada a micropoços revestidos com moléculas de FVIII recombinante, permitindo que o anticorpo, se presente, se ligue. Os anticorpos não ligados são então lavados. Adiciona-se uma globulina anti-humana marcada com fosfatase alcalina (Anti-IgG) aos poços e incuba-se. O material não ligado é lavado e adiciona-se o substrato PNPP (p-nitrofenil fosfato). Após o período de incubação de 30 minutos, a reacção é parada com uma solução de hidróxido de sódio. A densidade óptica da cor que se desenvolve é medida num espectrofotómetro.

O FVIII Antibody Screen utiliza três sistemas de controlo diferentes. O controlo negativo é soro obtido de um dador normal, saudável, não-hemofílico. O controlo negativo não contém anticorpos anti-FVIII e apresenta o nível de reactividade esperado para uma amostra negativa. Adicionalmente, o controlo negativo apresenta uma gama de valores de Dos admissíveis e é utilizado para assegurar as correctas condições do ensaio e de utilização dos reagentes.

O controlo positivo contém soro de doentes com anticorpos FVIII. Esta amostra altamente reactiva tem um valor de DO mínimo admissível e é utilizada para assegurar as correctas condições do ensaio e de utilização dos reagentes.

O cut-off entre as amostras positivas e negativas é estabelecido pela reactividade do controlo do kit. Amostras com uma média de valores de OD superior ao valor médio de DO do controlo do kit são consideradas positivas. Amostras com valores médios de DO iguais ou inferiores ao valor médio de DO do controlo do kit são consideradas negativas.

REAGENTES

Número máximo de testes por kit: 44

Todos os reagentes devem ser armazenados como indicado nos respectivos rótulos.

- | | |
|------------|--|
| MS | 1. Micropoços: micropoços de baixo volume de base achatada aos quais foram imobilizadas moléculas inteiras de FVIII humano recombinante. As tiras de micropoços estão fechadas num saco de alumínio reselável. Prontos a usar. |
| TCW | 2. Solução de Lavagem Concentrada (10x): Solução Tris (hydroxymethyl aminomethane) tamponada com cloreto de sódio e Tween 20. 1% de azida sódica. Diluir com água desionizada ou destilada antes de usar. Armazenar a Solução de Lavagem de Trabalho até 48 horas à temperatura ambiente ou até sete dias a 2 – 8°C. |

- | | |
|------------|--|
| SDB | 3. Diluente de Amostra: Solução salina Tris tamponada contendo cloreto de sódio, albumina bovina sérica. Azida sódica 0.05%. Pronto a usar. |
| SB | 4. Tampão Substrato: Solução contendo dietanolamina e cloreto de magnésio. Azida sódica 0.02%. Pronto a usar. Proteger da luz. |
| SS | 5. Solução de Paragem: Hidróxido de sódio 3 M. Pronta a usar. Utilizar com cuidado. |
| AG8 | 6. Conjugado: anticorpo de cabra purificado por afinidade conjugado a fosfatase alcalina para a imunoglobulina humana G (IgG). Azida sódica 0.1%. Diluir em Diluente de Amostra antes de usar. |
| PN | 7. Substrato PNPP (p-nitrofenil fosfato): Pó cristalino. Reconstituir com água desionizada ou destilada e diluir em Tampão Substrato antes de usar. Proteger da luz. |
| PC1 | 8. Controlo Positivo: Soro Humano contendo albumina bovina sérica e azida sódica 0.1%. Diluir em Diluente de Amostra antes de usar.
ATENÇÃO: Anti-HC positivo (inactivado pelo calor). |
| KC | 9. Controlo do kit: Soro Humano contendo albumina bovina sérica e azida sódica 0.1%. Diluir em Diluente de Amostra antes de usar.
ATENÇÃO: Anti-HC positivo (inactivado pelo calor). |
| NC1 | 10. Controlo Negativo: Soro Humano. Azida sódica 0.1%. Diluir em Diluente de Amostra antes de usar. |
| PS | 11. Seladores de placas. |

PRECAUÇÕES

- Não usar reagentes turvos ou contaminados.
- Tem de se ter cuidado para evitar a contaminação do Diluente de Amostra e Conjugado. A contaminação inadvertida destes reagentes com plasma ou soro humano resulta na neutralização do Conjugado e subsequentemente ausência de resultados válidos.
- Não utilizar os reagentes para além da sua data de validade.
- Os micropoços e reagentes contidos no kit não devem ser usados com qualquer outro tipo de teste.
- A substituição dos componentes por outros que não sejam fornecidos no kit pode conduzir a resultados inconsistentes ou errados.
- Deitar fora quaisquer porções não usadas de Conjugado diluído, Controlos Positivo e Negativo diluídos e PNPP reconstituído e diluído após cada ensaio.
- Ao fazer as diluições, seguir as instruções do produtor das pipetas para uma dispensação e técnica de lavagem apropriadas.
- A reacção do substrato enzimático que ocorre na incubação final é sensível à temperatura e luz e deve ser efectuada numa área controlada a 22 – 25°C.
- Devido às variações nos instrumentos ou temperaturas ambiente consistentemente variáveis pode ser necessário ao laboratório estabelecer um tempo de incubação ligeiramente superior ou inferior para atingir resultados controlo consistentemente válidos. Porque a temperatura da incubação final pode afectar os valores controlo, é importante monitorizar periodicamente a incubação à temperatura ambiente.
- Devido à pequena dimensão dos micropoços de baixo volume, é essencial adequar o leitor de placas ao alinhamento apropriado.
- Não usar um comprimento de onda de referência ao ler a placa no leitor de placas.

ATENÇÃO

- O Controlo Positivo e o Controlo de kit são reactivos para anti-HCV e não reactivos para anticorpos para HBsAg e HIV-1. Estes reagentes foram inactivados por calor. Apesar disso, estes materiais devem ser manuseados como potencialmente infecciosos.
- O soro humano usado no Controlo Sérico Negativo para este produto foi testado e considerado negativo para anticorpos para VIH, VHC e HbsAg por métodos aprovados pela FDA. Contudo, nenhum método pode oferecer garantia completa da ausência de VIH, vírus da Hepatite C, vírus da Hepatite B ou outros agentes infecciosos. Assim, estes materiais devem ser manuseados como potencialmente infecciosos.
- Alguns dos reagentes fornecidos com este kit contêm azida sódica como conservante.

AVISO: A azida sódica reage com chumbo e cobre formando azidas de metal altamente explosivas. Ao deitá-la numa pia esta deve ser imediatamente lavada com uma grande quantidade de água para evitar a produção de azida. A azida sódica é um veneno e é tóxica se ingerida.

- A Solução de Paragem (NaOH) é corrosiva. Evitar o contacto com os olhos e pele. Derrames devem ser imediatamente limpos.
- Deitar fora todos os componentes, quando usados, de acordo com os regulamentos locais.

COLHEITA DA AMOSTRA

Para plasma, o sangue deve ser colhido em ACD ou citrato de sódio usando técnicas assépticas.

Para soro, o sangue deve ser colhido sem anticoagulante usando uma técnica asséptica. Recomenda-se que as amostras de sangue total sejam obtidas, transportadas e processadas de acordos com o Guideline NCCLS H21-A4, Volume 23, Número 35, Dezembro 2003, “Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and General Performance of Coagulation Assays.” As amostras devem ser testadas enquanto frescas para minimizar as hipóteses de obtenção de reacções falso positivas ou falso negativas devido a armazenamento impróprio ou contaminação da amostra. As amostras que não possam ser testadas imediatamente devem ser armazenadas a 2 – 8°C por um máximo de 48 horas ou congeladas. As amostras congeladas a –20°C ou menos mantêm-se em boas condições até 3 anos. Contudo, para evitar qualquer deterioração ou ciclos repetidos de congelamento/descongelamento recomenda-se que as amostras sejam alíquotadas em pequenos volumes e então congeladas.

Partículas ou agregados na amostra podem causar resultados falso-positivos ou fracos valores em duplicado. As amostras com este tipo de material devem ser centrifugadas antes de serem testadas.

PROCEDIMENTO

Material Fornecido:

Os frascos podem conter mais reagente do que o descrito nas etiquetas. Assegure-se da correcta medição dos reagentes através da utilização de um dispositivo apropriado, quando fizer as diluições.

1. 12 – 1 x 8 Tiras de Micropoço com suporte
2. 1 x 50 mL Solução de Lavagem Concentrada
3. 1 x 14 mL Diluente de Amostra
4. 1 x 14 mL Tampão Substrato
5. 1 x 14 mL Solução de Paragem
6. 1 x 30 µL Conjugado
7. 6 x 50 mg Substrato PNPP
8. 1 x 150 µL Controlo Positivo
9. 1 x 150 µL Controlo do kit
10. 1 x 150 µL Controlo Negativo
11. 12 Seladores de Placa

Material Adicional Necessário:

1. Tubos teste para as diluições das amostras, controlos e reagentes
2. Pipetas para transferência
3. Micropipetas ajustáveis a volumes 1 – 10 µL, 10 – 100 µL e 100 – 1,000 µL e pontas descartáveis
4. Relógio
5. Leitor de microplaca com capacidade de leitura na gama de DO de 405 ou 410
6. Água desionizada ou destilada
7. Papel absorvente
8. Lavador ou dispositivo de lavagem de microplaca
9. Centrifuga com capacidade de separar soro ou plasma de amostras de pacientes
10. Incubadora ou banho a 37°C

Procedimento do Teste

1. Colocar todos os reagentes à temperatura ambiente.
2. Preparar a Solução de Lavagem de trabalho diluindo a Solução de Lavagem Concentrada. Adicionar 1 volume de Solução de Lavagem Concentrada a 9 volumes de água desionizada ou destilada. Misturar bem.

3. Determinar o número de amostras a serem testadas. Com a Folha de Registo identificar cada amostra em dois poços (duplicado). Registrar a identificação de cada amostra na Folha de Registo.

PREPARAÇÃO DAS AMOSTRA E CONTROLOS

4. Diluir da seguinte forma e misturar bem:

	Volume de Diluente de Amostra	Volume de Amostra
PC1	30 µL	10 µL
KC	30 µL	10 µL
NC1	30 µL	10 µL
Amostra	30 µL	10 µL

5. Remover os micropoços suporte do saco. Remover rapidamente e reselar as tiras não usadas no saco de protecção.

NOTA: É apenas fornecido um suporte no kit. Não deitar fora antes de todas as tiras terem sido utilizadas.

6. Adicionar 150 µL de Solução de Lavagem de trabalho a todos os poços e deixar 5-10 minutos à temperatura ambiente.

7. Aspirar ou decantar vigorosamente e inverter em papel absorvente para evitar a secagem.

8. Adicionar 15 µL do controlo ou amostra apropriados aos poços como estabelecido na Folha de Registo.

NOTA: Não adicionar amostras ou reagentes aos poços branco.

NOTA: Se forem testadas múltiplas amostras em simultâneo apenas é necessário um conjunto de controlos. MARCAR CADA TIRA PARA EVITAR ERROS.

9. Selar os micropoços com o selador de placa e incubar 30-35 minutos num banho a 37°C. Se for utilizada uma câmara incubadora aumentar o tempo em 10 minutos.

10. Diluir o Conjugado 1:100 em Diluente de Amostra. Utilizar um recipiente de polipropileno.

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

NOTE: O conjugado é viscoso. Colocar a ponta 2-3 vezes no Conjugado antes de dispensar e enxaguar após a adição ao Diluente de Amostra. Misturar bem.

11. LAVAGEM:

- Aspirar ou decantar o conteúdo de cada poço e blot em papel absorvente.
- Adicionar 150 µL de Solução de Lavagem de trabalho.
- Aspirar ou decantar.
- Repetir os passos b + c para um total de 3 ou 4 lavagens.
- Decantar vigorosamente para remover qualquer Solução de Lavagem residual. Inverter em papel absorvente para evitar a secagem.

NOTA: É importante remover completamente toda a Solução de Lavagem após a última lavagem. Evitar, contudo, secar a placa.

12. Adicionar 15 µL de Conjugado diluído (feito num passo anterior) a todos os poços EXCEPTO aos designados como BRANCO.

13. Selar os micropoços com o selador de placa e incubar 30-35 minutos num banho a 37°C. Se for utilizada uma câmara incubadora aumentar o tempo em 10 minutos.

14. Dissolver o Substrato PNPP adicionando ao frasco 0.5 mL de água desionizada ou destilada. Fechar o frasco e misturar bem.

15. Diluir o PNPP 1:100 em Tampão Substrato.

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

Misturar bem. Proteger da luz até ser utilizado.

16. LAVAGEM:

- Aspirar ou decantar o conteúdo de cada poço e blot em papel absorvente.
- Adicionar 150 µL de Solução de Lavagem de trabalho.
- Aspirar ou decantar.
- Repetir os passos b + c para um total de 3 ou 4 lavagens.
- Decantar vigorosamente para remover qualquer Solução de Lavagem residual. Inverter em papel absorvente para evitar a secagem.

Prosseguir rapidamente com os próximos três passos.

17. Adicionar 50 µL da solução PNPP diluída a todos os poços EXCEPTO aos designados como BRANCO.

18. Manter os micropoços no escuro durante 30 - 35 minutos à TEMPERATURA AMBIENTE (22 – 25°C).

NOTA: O tempo de incubação e a temperatura após a adição do PNPP é crítico. NÃO alterar o tempo de incubação estabelecido ou a temperatura. Para a consistência dos resultados, começar a contar o tempo logo após a adição do reagente ao primeiro poço.

19. Parar a reacção adicionando 50 µL de Solução de Paragem a cada poço na mesma sequência em que foi adicionado o substrato. Adicionar 100 µL de Solução de Paragem aos poços branco.

20. Ler a absorvância (DO) de cada poço a 405 ou 410 nm. Não usar filtro de referência. Se os resultados não puderem ser lidos imediatamente, colocar os poços no escuro até 30 minutos.

21. Subtrair os valores obtidos nos poços branco a todos os outros poços, amostras e controlos. Muitos leitores ELISA estão programados para efectuar este passo automaticamente.

22. Registrar os resultados na Folha de Registo.

DETAILHES DE CALIBRAÇÃO

Não existe nenhum standard reconhecido internacionalmente para medir anticorpos para o Factor VIII. No Factor VIII Antibody Screen, o cut-off entre amostras positivas e negativas é estabelecido pela reactividade do controlo do kit. Amostras com uma média de valores de OD superior ao valor médio de DO do controlo do kit são consideradas positivas. Amostras com valores médios de DO iguais ou inferiores ao valor médio de DO do controlo do kit são consideradas negativas. O controlo do kit é específico de lote e é amplamente testado em 90 amostras teste com os reagentes do kit designados de forma a assegurar que a sua utilização resulta em resultados reportáveis expectáveis.

CONTROLO DE QUALIDADE

O controlo de qualidade do Factor VIII Antibody Screen é efectuado no sistema pela inclusão dos Controlos Positivo e Negativo. Estes controlos devem ser incluídos em cada teste ensaio para ajudar a determinar se ocorreram erros técnicos ou falha de reagentes.

Critérios para um teste válido:

	Controlo Negativo	Controlo Positivo
DO Média	$\geq 0.03 - \leq 0.200$	≥ 0.800

As DO obtidas de testes em duplicado devem estar entre 20% da média dos dois valores. Amostras cujos resultados não estejam neste limite devem ser testadas novamente.

NOTA: Duplicados fracos podem resultar de falta de reagente ou amostra, adição irregular de reagentes, temperaturas de incubação irregulares, exposição à luz na incubação final ou contaminação entre poços. Não testar em duplicado pode conduzir à aceitação de resultados errados.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Resultados com valores de DO superiores à média dos poços do controlo do kit devem ser considerados resultados positivos. Testes com valores de DO inferiores ou iguais à média dos poços do controlo do kit são considerados resultados negativos.

LIMITAÇÕES

Resultados errados podem ser consequência de contaminação bacteriana dos materiais do teste, períodos de incubação não adequados, lavagem ou decantação dos poços não adequadas, exposição do substrato à luz, omissão de reagente, exposição a temperaturas superiores ou inferiores às requeridas, ou omissão de passos.

Os resultados deste ensaio não devem ser utilizados como única base para uma decisão clínica.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE PERFORMANCE

Antes de ser libertado, cada lote de Factor VIII Antibody Screen é previamente testado com amostras que contêm anticorpos FVIII bem como com amostras que se sabe não terem estes anticorpos, de forma a assegurar reactividade e especificidade adequadas

Precisão

Foi determinada a imprecisão intra-ensaio, entre-ensaios e total do Factor VIII Antibody Screen. Foram testadas no Factor VIII Antibody Screen, em duplicado, oito amostras com reactividade variada (negativa; positiva fraca, média e elevada) em 10 ensaios separados. Para obter a imprecisão dos valores de DO, os dados foram analisados pela ANOVA de acordo com o Documento CLSI EP-5A2. Na tabela seguinte mostram-se os cálculos. Os resultados demonstraram $\leq 13\%$ de cv total para amostras com valores de DO > 0.600 e $\leq 24\%$ de cv total para amostras com valores de DO inferiores a 0.600. Adicionalmente, analisaram-se os resultados reportáveis de acordo com o Documento CLSI EP12-A. Houve 100% de concordância entre os resultados reportáveis intra-ensaio e entre ensaio para cada amostra testada.

Amostra	Valor médio de DO	SD intra-ensaio	% cv intra-ensaio	SD entre-ensaios	%cv entre-ensaios	SD total	%cv total
Amostra 1 Positiva fraca	0.390	0.052	13.3	0.092	23.6	.099	25.4
Amostra 2 Positiva fraca	0.650	0.014	2.2	0.063	9.7	0.064	9.9
Amostra 3 Positiva media	0.880	0.014	1.6	0.089	10.1	0.089	10.1
Amostra 4 Positiva media	1.120	0.041	3.7	0.086	7.7	0.090	8.0
Amostra 5 Positiva elevada	1.730	0.094	5.4	0.224	13.0	0.234	13.5
Amostra 6 Negativa	0.056	0.011	19.7	0.009	16.1	0.012	21.4
Amostra 7 Negativa	0.057	0.010	17.6	0.011	19.3	0.013	22.8
Amostra 8 Negativa	0.070	0.011	15.7	0.010	14.3	0.012	17.2

Comparação metodológica: Comparação do Factor VIII Antibody Screen com o Factor VIII Inhibitor Assay da GTI

Foram efectuados dois estudos separados nos quais o Factor VIII Antibody Screen foi comparado com o dispositivo da GTI previamente libertado pela FDA: Factor VIII Inhibitor Assay. O Factor VIII Antibody Screen é uma versão modificada do Factor VIII Inhibitor Assay. Os resultados destes dois estudos foram analisados em conjunto. Foram testadas cento e trinta e sete amostras, incluindo soro e plasma. Observou-se, durante o decurso do estudo de comparação metodológica, que 7 amostras de doentes hemofílicos sem título Bethesda detectável e reactividade negativa no Factor VIII Antibody Screen apresentaram reactividade positiva inesperada no Factor VIII Inhibitor Assay. Demonstrou-se que esta reactividade não era específica para o FVIII. O Factor VIII Antibody Screen usa um Diluente de Amostra que é especificamente formulado para reduzir a reactividade não específica para o FVIII. Quando as amostras positivas inesperadas foram retestadas no Factor VIII Inhibitor Assay na presença deste Diluente de Amostra reformulado, a maioria das amostras apresentou redução significativa nos valores de DO gerais e algumas apresentaram reactividade negativa. A tabela seguinte mostra os resultados deste estudo:

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

Concordância: 94.2%

Co-positividade: 92.7% (95% Intervalo de Confiança = 85.7 – 96.4%)

Co-negatividade: 97.6% (95% Intervalo de Confiança = 87.4 – 99.6%)

O Factor VIII Antibody Screen apresentou excelente sensibilidade (co-positividade), especificidade (co-negatividade), e concordância geral quando comparado com o Factor VIII Inhibitor Assay.

Comparação metodológica: Comparação do Factor VIII Antibody Screen com o Ensaio Bethesda

Foram efectuados dois estudos separados nos quais o Factor VIII Antibody Screen foi comparado com Ensaio Bethesda. Os resultados destes dois estudos foram analisados em conjunto. Foram testadas duzentas e seis amostras no Factor VIII Antibody Screen e no Ensaio Bethesda ou Ensaio Bethesda modificado (Bethesda Screen). O Ensaio Bethesda é considerado o “gold standard” para a medição de anticorpos inibidores para o FVIII. Para o propósito deste estudo, qualquer amostra com um título positivo foi designada com um resultado reportável positivo e qualquer amostra com um título Bethesda negativo foi designada com um resultado reportável negativo. A tabela seguinte mostra os resultados deste estudo:

		Ensaio Bethesda		Total
		Positivo	Negativo	
Factor VIII Antibody Screen	Positivo	92	12	104
	Negativo	4	98	102
	Total	96	110	206

Concordância: 92.2%

Co-positividade: 95.8% (95% Intervalo de Confiança = 89.8 – 98.4%)

Co-negatividade: 89.1% (95% Intervalo de Confiança = 81.9 – 93.6%)

As 4 amostras que foram positivas no Bethesda e negativas no Factor VIII Antibody Screen variaram no título Bethesda de 0.8 a 3 BU. Os valores Bethesda não foram confirmados num segundo laboratório, contudo os resultados do Factor VIII Antibody Screen foram consistentemente negativos nestas amostras. Doze amostras foram negativas no Bethesda e positivas no Factor VIII Antibody Screen. A maioria destas amostras provinha de testes seriados do mesmo doente, monitorizando ou o desenvolvimento de anticorpos para o Factor VIII ou a redução de anticorpos para o Factor VIII durante a terapia imune. De uma forma geral encontraram-se estas discrepâncias em amostras obtidas de doentes imediatamente antes de se tornarem positivos no Bethesda ou imediatamente após um doente se tornar negativo no Bethesda, sugerindo um aumento da sensibilidade aos anticorpos para o Factor VIII no Factor VIII Antibody Screen da GTI. O Factor VIII Antibody Screen apresentou excelente sensibilidade (co-positividade), especificidade (co-negatividade), e concordância geral quando comparado com o “gold standard”, o Ensaio Bethesda.

Substâncias interferentes

As substâncias seguintes não mostraram qualquer interferência, às concentrações indicadas, no Factor VIII Antibody Screen:

Hemoglobina	≤ 500 mg/dL
Bilirubina	≤ 20 mg/dL
Intralipido	≤ 500 mg/dL
Gammagard® (IVIG)	≤ 200 µg/dL
Rituxan (rituximab)	≤ 10 µg/dL

REFERÊNCIAS

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.®

Factor VIII Antibody Screen

- PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*
- ARMAZENAR A 2 – 8°C

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



REF F8S

Rev. 2009-07-27 (P)

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

www.gtidiagnostics.com