


**BIOPHEN™ Factor XIII**

REF 227005

R1 3 x 4 mL, R2 3 x 5 mL

Méthode chromogène pour la détermination du Facteur XIII

Français, dernière révision : 02-2022

**UTILISATION:**

Le coffret BIOPHEN™ Factor XIII est une méthode chromogène pour la détermination quantitative *in vitro* de l'activité du Facteur XIII sur plasma humain citraté.

**RESUME ET EXPLICATION:**
**Technique :**

La protransglutaminase Facteur XIII (FXIII) circule dans le plasma sous forme de tétramère A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>, à une concentration plasmatique de 14 à 28 mg/L<sup>2</sup>, la sous-unité A étant la forme fonctionnelle. Lorsqu'elle est activée par la thrombine et le calcium en FXIIIa, elle agit dans la dernière étape de la cascade de la coagulation et contribue à la réticulation de la fibrine et à la rigidité du caillot.

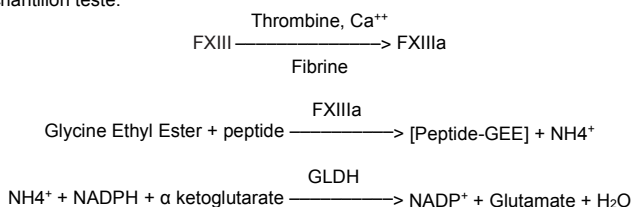
**Clinique :**

Une déficience en FXIII peut être congénitale, ou acquise en lien avec une hyperconsommation ou la présence d'auto-anticorps. De faibles taux de FXIII ont été associés à des complications hémorragiques, par exemple dans des situations telles qu'un traumatisme ou une intervention chirurgicale. Le FXIII est également impliqué dans divers autres processus tels que la cicatrisation et le maintien de la grossesse<sup>1,2,3</sup>.

Le dosage de l'activité du FXIII dans le plasma humain peut aider au diagnostic d'une déficience congénitale ou acquise en FXIII.

**PRINCIPE:**

Le Facteur XIII (FXIII), dans l'échantillon testé, est converti en Facteur XIII activé (FXIIIa) par la thrombine en présence de calcium<sup>4</sup>. La fibrine soluble, aussi générée par l'action de la thrombine, accélère la réaction tandis qu'un peptide anti-polymérisation évite la formation du caillot. L'activité transglutaminase du FXIIIa entre le substrat peptidique synthétique et le glycine éthyle ester (GEE) mène à la formation d'ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). L'ammonium est ensuite dosé par la réaction de la glutamate déshydrogénase (GLDH) convertissant le NADPH en NADP<sup>+</sup>, en présence d'ammonium et d'alpha ketoglutarate. La conversion du NADPH en NADP<sup>+</sup> peut être détectée à 340 nm, et la pente de la diminution d'absorbance à 340 nm est directement proportionnelle à la concentration de FXIII dans l'échantillon testé.


**REACTIFS:**
**R1 Réactif Thrombine**, lyophilisé. Contient de la BSA.

**R2 Réactif de détection**, lyophilisé. Contient de la BSA et du GEE.

**R1 3 flacons de 4 mL.**
**R2 3 flacons de 5 mL.**
**MISE EN GARDE ET AVERTISSEMENTS:**

- Certains réactifs de ce coffret contiennent des produits d'origine animale. Ces réactifs d'origine biologique doivent être manipulés avec les précautions d'usage s'agissant de produits potentiellement infectieux.
- L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux réglementations locales en vigueur.
- Utiliser uniquement les réactifs d'un même lot de coffret.
- Les études de vieillissement montrent que les réactifs peuvent être expédiés à température ambiante sans aucun dommage.
- Ce dispositif de diagnostic *in vitro* est destiné à une utilisation professionnelle en laboratoire.

**PREPARATION DES REACTIFS:**

Retirer délicatement le bouchon de lyophilisation, pour s'affranchir de toute perte de produit à l'ouverture du flacon.

**R1** Reconstituer chaque flacon avec exactement **4 mL d'eau distillée**.

Agiter vigoureusement jusqu'à dissolution complète, en évitant la formation de mousse et charger directement sur l'automate en suivant les instructions du guide d'application.

*Pour la méthode manuelle, laisser stabiliser pendant 30 min à température ambiante (18-25°C), homogénéiser avant utilisation.*
**R2** Reconstituer chaque flacon avec exactement **5 mL d'eau distillée**.

Agiter vigoureusement jusqu'à dissolution complète, en évitant la formation de mousse et charger directement sur l'automate en suivant les instructions du guide d'application.

*Pour la méthode manuelle, laisser stabiliser pendant 30 min à température ambiante (18-25°C), homogénéiser avant utilisation.*
**STOCKAGE ET STABILITE:**

Les réactifs non ouverts doivent être conservés à 2-8°C dans leur emballage d'origine. Ils sont alors utilisables jusqu'à la date de péremption imprimée sur le coffret.

**R1 R2** La stabilité du réactif après reconstitution, sous réserve de toute contamination ou d'évaporation, conservé fermé est de :

- 1 semaine** à 2-8°C.
- 48 heures** à température ambiante (18-25°C).
- 6 mois** congelé à -20°C ou moins\*
- Stabilité à bord de l'automate : se référer à l'application spécifique.**

\*Décongeler une seule fois le plus rapidement possible à 37°C et utiliser immédiatement.

**REACTIFS ET MATERIELS REQUIS MAIS NON FOURNIS:**
**Réactifs:**

- Eau distillée.
- Solution saline (0.9% NaCl).
- Etalon et contrôles spécifiques avec titration connue en FXIII, avec traçabilité liée au standard international pour le FXIII en plasma, tels que :

Nom du produit	Reference
BIOPHEN™ Plasma Calibrator	222101
BIOPHEN™ Normal Control Plasma	223201
BIOPHEN™ Abnormal Control Plasma	223301

**Matériels:**

- Spectrophotomètre, ou automates pour dosage chromogène à **340 nm**.
- Chronomètre, Pipettes calibrées.

**PRELEVEMENTS ET PREPARATION DES ECHANTILLONS:**

Le sang (9 volumes) doit être collecté sur l'anticoagulant citrate trisodique (1 volume) (0,109M, 3,2%) avec précautions, par ponction veineuse franche. Le premier tube doit être éliminé.

La préparation et la conservation des échantillons doivent être réalisées selon les recommandations locales en vigueur (pour les Etats-Unis, se référer aux recommandations du CLSI H21-A5<sup>5</sup> pour plus d'informations concernant le prélèvement, la manipulation et la conservation). Pour la conservation des plasmas, se référer aux références<sup>5</sup>.

**PROCEDURE:**

Le coffret peut être utilisé en méthode cinétique automatisée. Le test est réalisé à **37°C** et l'intensité de la coloration est mesurée à **340nm**.

**Méthode de dosage:**

1. Reconstituer les étalons et les contrôles comme indiqué dans les instructions spécifiques. Pour préparer la courbe de calibration, diluer les étalons en solution saline pour étalonner d'environ 0 à 150% de FXIII. **La dilution de travail 1/2 en solution saline (selon le schéma suivant)** correspond par définition à 100% pour un pool de plasma normal, ou C% de FXIII pour un étalon commercial.

Etalon FXIII (%)	C	C/2	C/4	C/8	0
Volume Etalon	500µL	250µL	125µL	60µL	0µL
Volume Solution Saline	0µL	250µL	375µL	420µL	500µL

Le point **3C/2** (ou 150% pour un pool de plasma normal) est obtenu par addition de 30 µL d'étalon + 10 µL de solution saline dans le tableau ci-dessous.

2. Réaliser la gamme de calibration et la tester avec les contrôles de qualité.  
Les concentrations exactes des étalons et des contrôles sont indiquées pour chaque lot sur le papillon fourni avec le coffret.

3. A titre d'exemple, le tableau ci-dessous montre le schéma pour l'application sur CS-series. Introduire dans les cuvettes réactionnelles incubées à 37°C (directement géré par l'instrument):

	Volume
Echantillon, étalon ou contrôle	20 µL
Solution saline	20 µL
<b>R1 Réactif Thrombine, préincubé à 37°C</b>	80 µL
Mélanger et incubé à 37°C, pendant exactement 110 secondes puis introduire :	
<b>R2 Réactif de détection, préincubé à 37°C</b>	100 µL
Mélanger, incubé à 37°C et mesurer (mode cinétique) la densité optique (DO)/min à 340nm entre 200 et 500 secondes.	

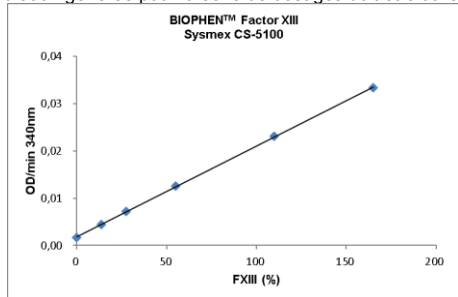
Si un volume réactionnel différent de celui indiqué ci-dessus est requis pour la méthode utilisée, le rapport des volumes doit être strictement respecté afin de garantir les performances du dosage. L'utilisateur est responsable de la validation des modifications et de leur impact sur tous les résultats.

**Pour une méthode automatisée, les guides d'applications sont disponibles sur demande. Se référer aux guides d'application et aux précautions spécifiques pour chaque automate.**

### CALIBRATION:

Le test BIOPHEN™ Factor XIII peut être calibré pour le dosage de l'activité du FXIII en plasma.

La courbe de calibration ci-dessous, est indiquée à titre d'exemple uniquement. La courbe de calibration générée pour la série de dosages doit être utilisée.



### CONTRÔLE QUALITE:

L'utilisation de contrôles de qualité permet de valider la conformité de la méthode ainsi que l'homogénéité des dosages entre les différents essais pour un même lot de réactifs.

Inclure des contrôles qualité dans chaque série, selon les bonnes pratiques de laboratoire, afin de valider le test. Une nouvelle courbe de calibration doit être établie, de préférence, pour chaque série d'essai, et au moins pour chaque nouveau lot de réactif ou après chaque maintenance de l'automate, ou quand les valeurs des contrôles de qualité sont mesurées en dehors de la zone d'acceptation définie pour la méthode.

Chaque laboratoire doit établir les zones d'acceptation et vérifier les performances attendues dans son système analytique.

### RESULTATS:

- Sur instrument Sysmex CS-series, la droite de calibration lin-lin est obtenue, en portant en ordonnées la DO à 340 nm et en abscisses la concentration de FXIII en %.
- La concentration de FXIII (%) dans l'échantillon à doser est déduite directement de la courbe de calibration, lorsque la dilution standard est utilisée.
- Les résultats doivent être interprétés selon l'état clinique et biologique du patient.

### LIMITATIONS:

- Pour obtenir les performances optimales du test et répondre aux spécifications, suivre scrupuleusement les instructions techniques validées par HYPHEN BioMed.
- Tout réactif présentant un aspect inhabituel ou des signes de contamination doit être rejeté.
- Tout échantillon suspect ou présentant des signes d'activation doit être rejeté.

### VALEURS ATTENDUES:

La zone de référence établie sur des sujets adultes sains (n=120) en utilisant le Sysmex CS-5100 (Central 90%, 95<sup>th</sup> percentile) a été mesurée entre 60 et 146%. Cependant, chaque laboratoire doit établir son propre intervalle normal.

### PERFORMANCES:

- La limite basse de détection dépend du système analytique utilisé (<0,5% sur Sysmex CS-5100).
- La zone de mesure dépend du système analytique utilisé (environ de 5 à 300% de FXIII sur Sysmex CS-series, le test étant linéaire de 5 à 150% sans dilution).

- Les études de performances ont été réalisées en interne sur Sysmex CS-5100. Les performances ont été évaluées avec les contrôles du laboratoire sur 5 jours, 2 séries par jour et 3 répétitions à chaque série pour un niveau de contrôle. Les résultats suivants ont été obtenus :

Contrôle	Intra-essai				Inter-essais			
	N	Moy.	CV%	SD	n	Moy.	CV%	SD
Normal	40	102,3	2,7	2,8	30	102,6	1,5	1,5
Anormal	40	28,8	4,9	1,4	30	31,2	1,9	0,6

- Corrélation avec une autre méthode (Berichrom FXIII (Siemens) vs BIOPHEN™ Factor XIII (HBM) sur Sysmex CS-2500) :  
 $n = 102$   $y = 0,90x - 5,84$   $r = 0,989$

### Interférences :

Aucune interférence, sur l'automate Sysmex CS-5100 n'a été observée avec les molécules et jusqu'aux concentrations suivantes :

Hémoglobine	Bilirubine (F/C)	Intralipides	Fibrinogène	Héparines (HNF/HBPM)
250 mg/dL	60 mg/dL	250 mg/dL	0,8 – 6 g/L	2 UI/mL
<b>Ammonium</b>	<b>Dabigatran</b>	<b>Rivaroxaban</b>	<b>Apixaban</b>	<b>Edoxaban</b>
0,5 mM	400 ng/mL	400 ng/mL	400 ng/mL	400 ng/mL

Se référer également au guide d'application spécifique de l'automate utilisé.

### REFERENCES:

- Menegatti M. *et al.*, Minimal factor XIII activity level to prevent major spontaneous bleeds. J Thromb Haemost. 2017.
- Komaromi I. *et al.*, Factor XIII, novel structural and functional aspects. J Thromb Haemost. 2011.
- Schroeder V. and Kohler HP. New developments in the area of factor XIII. J Thromb Haemost. 2013.
- Karpati L. *et al.* A modified, optimized kinetic photometric assay for the determination of blood coagulation factor XIII activity in plasma. Clin Chem. 2000.
- CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008.

### SYMBOLES:

Symboles utilisés et signes énumérés dans la norme ISO 15223-1, se référer au document Définition des symboles.

**R2** H318 : Provoque des lésions oculaires graves.

Changements par rapport à la précédente version.