

**ZYMUTEST™ Anti-VIII MonoStrip IgG**  
Ref RK039ADosage ELISA des anticorps Anti Facteur VIII (FVIII),  
IgG isotype.

Français, dernière révision 12-2021

**UTILISATION :**

Le coffret ZYMUTEST™ Anti-VIII MonoStrip IgG est un dosage quantitatif ou qualitatif de type ELISA sandwich pour la recherche et le dosage des auto- et allo-anticorps anti-VIII de type IgG, utilisable sur plasma humain où ces anticorps doivent être recherchés.

**RESUME ET EXPLICATION :**

Le coffret ZYMUTEST™ Anti-VIII MonoStrip IgG, mesure spécifiquement la présence d'auto et d'allo-anticorps anti-VIII de type IgG, qui réagissent avec le Facteur VIII recombinant immobilisé, qu'ils soient neutralisant ou pas. Les isotypes IgM ou IgA ne sont pas dosés. Les anticorps anti-Facteur VIII peuvent être présents chez les hémophiles A avec inhibiteur et dans les déficits acquis en Facteur VIII<sup>1-7</sup>.

**PRINCIPE :**

Le plasma à tester est introduit dans l'un des puits de la barrette coâtée avec du FVIII recombinant. Les auto- et allo-anticorps anti-VIII de type IgG, quand ils sont présents, se fixent sur le Facteur VIII recombinant. Après lavage, les anticorps isotype IgG ainsi fixés sont révélés par l'immunoconjugué, anticorps polyclonal de chèvre spécifique du fragment Fc<sub>γ</sub> de l'IgG humaine et couplé à la peroxydase (HRP). Cet immunoconjugué réagit spécifiquement avec l'auto-anticorps anti-VIII de type IgG. Après lavage, le substrat, 3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB) en présence d'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), est introduit dans les puits et une coloration bleue se développe. L'arrêt de la réaction par l'acide sulfurique fait virer la coloration au jaune. Cette coloration est proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-VIII de type IgG présente dans l'échantillon testé.

**REACTIFS :**

- COAT : Barrettes ELISA** : contenant 4 barrettes de 8 puits, coâtées avec du Facteur VIII humain, puis stabilisées et emballées individuellement en présence d'un déshydratant.
- SD-Anti-VIII : Diluant Echantillon** : 2 flacons de 12 mL de diluant échantillon pour test auto-immuns (Anti-FVIII Sample Diluant), prêt à l'emploi. Contient du sérum de chèvre.
- C+ : Contrôle positif** : 4 flacons de contrôle positif (Anti-VIII, IgG contrôle), lyophilisés. Après reconstitution par 0,5 mL de diluant échantillon (SD-Anti-VIII), le contrôle positif est prêt à l'emploi (déjà dilué au 1/100). Contient de la BSA.
- C- : Contrôle négatif** : 4 flacons de contrôle négatif, lyophilisés. Après reconstitution par 0,5 mL de diluant échantillon (SD-Anti-VIII), le contrôle négatif est prêt à l'emploi (déjà dilué au 1/100). Contient du plasma humain normal dilué.
- IC : Immunoconjugué (Anti-IgG (Fc<sub>γ</sub>)-HRP immunoconjugate)** : 4 flacons d'immunoconjugué, lyophilisés. Anticorps polyclonal de chèvre, spécifique de la partie Fc<sub>γ</sub> de l'IgG humaine, couplé à la peroxydase. Après reconstitution par 2 mL de diluant pour immunoconjugué (CD), l'immunoconjugué est prêt à l'emploi. Contient de la BSA.
- CD : Diluant pour immunoconjugué** : 1 flacon de 10 mL de diluant, prêt à l'emploi. Contient de la BSA.
- WS : Solution de lavage** : 2 flacons de 12 mL de diluant, 20 fois concentrée.
- TMB : 3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidine** : 1 flacon de 10 mL de diluant, prêt à l'emploi. Contient de l'eau oxygénée.
- SA : Acide Sulfurique 0,45M** : 1 flacon de 3 mL de diluant, prêt à l'emploi.

**MISE EN GARDE ET AVERTISSEMENTS :**

- Tout produit d'origine biologique doit être manipulé avec toutes les précautions nécessaires, et considéré comme étant potentiellement infectieux.
- Si le substrat TMB devient jaune, cela indique une contamination. Le flacon doit être jeté et un nouveau utilisé.
- L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux réglementations locales en vigueur.
- Utiliser uniquement les réactifs d'un même lot de coffret. Ne pas mélanger les réactifs de différents lots de coffrets pour réaliser un dosage, ils sont optimisés pour chaque lot de coffret.
- Les réactifs doivent être manipulés avec précautions afin d'éviter toute contamination et évaporation lors de leur utilisation, en limitant la surface d'échange liquide-air.
- Pour conserver la stabilité des réactifs, refermer les flacons après chaque utilisation avec leurs bouchons respectifs.
- Les études de vieillissement, réalisées à 30°C pendant 3 semaines, montrent que les réactifs peuvent être expédiés à température ambiante pendant une période courte, sans aucun dommage.
- Le plasma bovin utilisé pour la préparation de la BSA a été testé par des méthodes enregistrées et est certifié exempt de maladies infectieuses, notamment de l'encéphalopathie spongiforme bovine.
- Pour usage de diagnostic *in vitro*.

**CD :** H317 : Peut provoquer une allergie cutanée.**WS :** H317 : Peut provoquer une allergie cutanée.**PREPARATION ET STABILITE DES REACTIFS :**

Ramener le coffret à température ambiante, au moins 30 min avant le dosage. Conserver les réactifs non utilisés à 2-8°C. Retirer délicatement le bouchon de lyophilisation des produits lyophilisés, pour s'affranchir de toute perte de produit à l'ouverture du flacon.

- COAT :** Ouvrir le contenant et sortir la barrette de 8 puits nécessaire pour la série de dosages à effectuer. Après ouverture, la barrette doit être utilisée dans les 30 minutes.
- SD-Anti-VIII :** Prêt à l'emploi. La stabilité du réactif après ouverture, sous réserve de toute contamination ou d'évaporation, conservé dans son flacon d'origine est de :
  - 4 semaines à 2-8°C.

- C+ :** Reconstituer chaque flacon avec exactement **0,5 mL de diluant échantillon (SD-Anti-VIII)**, agiter vigoureusement jusqu'à dissolution complète. Le contrôle ainsi reconstitué est prêt à l'emploi et correspond à un plasma contenant des auto-anticorps anti-VIII d'isotype IgG déjà dilué au 1/100.  
La stabilité du réactif après reconstitution, sous réserve de toute contamination ou d'évaporation, conservé dans son flacon d'origine est de :
  - 2 semaines à 2-8°C.
- C- :** Reconstituer chaque flacon avec exactement **0,5 mL de diluant échantillon (SD-Anti-VIII)**, agiter vigoureusement jusqu'à dissolution complète. Le contrôle ainsi reconstitué est prêt à l'emploi et correspond à un plasma négatif déjà dilué au 1/100.  
La stabilité du réactif après reconstitution, sous réserve de toute contamination ou d'évaporation, conservé dans son flacon d'origine est de :
  - 2 semaines à 2-8°C.
- IC :** Reconstituer chaque flacon avec exactement **2 mL de diluant pour immunoconjugué (CD) au moins 15 minutes avant utilisation**, agiter vigoureusement jusqu'à dissolution complète.  
La stabilité du réactif après reconstitution, sous réserve de toute contamination ou d'évaporation, conservé dans son flacon d'origine est de :
  - 4 semaines à 2-8°C.
  - 24h à température ambiante (18-25°C).
- CD :** Prêt à l'emploi. La stabilité du réactif après ouverture, sous réserve de toute contamination ou d'évaporation, conservé dans son flacon d'origine est de :
  - 4 semaines à 2-8°C.
- WS :** Incuber, si nécessaire, le flacon dans un bain-marie à 37°C jusqu'à dissolution totale des cristaux. Agiter le flacon et diluer la solution de lavage au 1/20 en eau distillée (les 12 mL de solution concentrée permettent de préparer 240 mL de solution de lavage après dilution). La stabilité de la solution de lavage, sous réserve de toute contamination ou d'évaporation, conservée dans son flacon d'origine est de :
  - 4 semaines à 2-8°C.  
La stabilité de la solution de lavage diluée, sous réserve de toute contamination ou d'évaporation, conservée dans son flacon d'origine est de :
  - Une fois ouvert, 7 jours à 2-8°C.
- TMB :** Prêt à l'emploi. Ce réactif contient de l'eau oxygénée. La stabilité du réactif après ouverture, sous réserve de toute contamination ou d'évaporation, conservé dans son flacon d'origine est de :
  - 4 semaines à 2-8°C.
- SA :** Solution stop contenant 0,45M d'acide sulfurique, prête à l'emploi. La stabilité du réactif après ouverture, sous réserve de toute contamination ou d'évaporation, conservé dans son flacon d'origine est de :
  - 4 semaines à 2-8°C.

**CONDITIONS DE STOCKAGE :**

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.

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

- Eau distillée.

**Matériels :**

- Pipettes à 8 canaux permettant de distribuer de 50 à 300 µL.
- Pipettes à volume variable de 0 à 20 µL, de 20 à 200 µL et de 200 à 1000 µL.
- Matériel de lavage pour microplaques et agitateur (facultatif).
- Lecteur de microplaques ELISA réglé à une longueur d'ondes de 450 nm.

**PRELEVEMENTS ET PREPARATION DES ECHANTILLONS :**

La préparation et la conservation des échantillons doivent être réalisées selon les recommandations locales en vigueur.

**Echantillons :**

Plasma humain obtenu à partir de sang anticoagulé (citrate trisodique). L'utilisation de plasma provenant de sang prélevé sur EDTA est possible. Les conditions de conservation sont les mêmes qu'avec le plasma citraté.

**Prélèvement :**

Le sang (9 volumes) doit être collecté sur l'anticoagulant citrate trisodique (1 volume) (0.109M) avec précautions, par ponction veineuse franche. Le premier tube doit être éliminé.

**Centrifugation :**

Dans les 2 heures, utiliser une méthode validée au sein du laboratoire permettant d'obtenir un plasma pauvre en plaquettes, par exemple un minimum de 15 minutes à 2500g à température ambiante (18-25°C), et le plasma doit décanter dans un tube plastique.

**Conservation du plasma :**

- 24 heures à température ambiante (18-25°C).
- 6 mois à -20°C.

Les échantillons de plasma congelés doivent être décongelés rapidement à 37°C, puis agités soigneusement et testés immédiatement. Resuspendre tout précipité en agitant vigoureusement immédiatement après décongélation et avant utilisation.

**PROCEDURE :****Méthode de dosage :**

- Les contrôles sont prêts à l'emploi (déjà dilués au 1/100).

- Diluer les échantillons dans du tampon diluant échantillon (SD) comme décrit dans le tableau ci-dessous :

Echantillons	Dilution
Plasma	1/100

En présence d'échantillons avec un taux très élevé d'anticorps anti-VIII, diluer au 1/200 ou au 1/400. Les résultats obtenus devront alors être multipliés par 2 ou 4.

3. Sortir la (ou les) barrette(s) de son emballage et les placer dans le cadre fourni. Introduire les réactifs dans les puits des micro-barrettes ELISA et réaliser le dosage comme indiqué dans le tableau ci-après :

Réactif	Volume	Procédure
Contrôle positif Anti-VIII IgG ou contrôle négatif  ou échantillons dilués au 1/100 ou diluant échantillon (blanc)	200 µL	Introduire: • Contrôle positif ou • Contrôle négatif ou • Échantillons dilués ou • Diluant échantillon dans les puits de la plaque.
<b>Incuber 60 minutes à température ambiante (18-25°C) (a)</b>		
Solution de lavage (diluée 20 fois en eau distillée avant utilisation)	300 µL	Effectuer une série de 5 lavages. (b)
Immunoconjugué anti-IgG (Fcγ)-HRP, reconstitué par 2 mL de diluant pour immunoconjugué	200 µL	Immédiatement après le lavage, Introduire l'immunoconjugué anti-IgG (Fcγ)-HRP dans les puits.
<b>Incuber 60 minutes à température ambiante (18-25°C) (a)</b>		
Solution de lavage (diluée 20 fois en eau distillée avant utilisation)	300 µL	Effectuer une série de 5 lavages. (b)
Substrat TMB/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	200 µL	Immédiatement après lavage, introduire cette solution dans les puits. <b>Nota :</b> la répartition du substrat, puits par puits, doit se faire très précisément avec des intervalles de temps identiques. (c)
Laisser la coloration se développer pendant 5 minutes (a) à température ambiante (18-25°C)		
Solution d'arrêt Acide Sulfurique 0,45M	50 µL	Arrêter la réaction en introduisant 0,45M d'acide Sulfurique. Respecter le même temps de répartition, puits par puits, que celui utilisé pour le substrat. (c)
Attendre 10 minutes pour laisser stabiliser la coloration puis lire la DO obtenue à 450 nm. Soustraire les blancs (d).		

#### Nota :

- Eviter de laisser la plaque en pleine lumière lors des incubations et plus particulièrement lors du développement de la coloration. L'utilisation d'un agitateur pour microplaque ELISA est possible.
- Ne jamais laisser les puits de la plaque ELISA vides entre l'addition des réactifs ou après les étapes de lavage afin de préserver les protéines immobilisées. Le réactif suivant doit être ajouté dans les trois minutes afin d'éviter l'assèchement de la plaque, qui pourrait endommager les protéines immobilisées et réduire la réactivité de la plaque. Si nécessaire, garder les puits remplis de solution de lavage et les vider juste avant distribution du réactif suivant. Régler le laveur de manière à effectuer un lavage doux. Une vidange trop violente des puits, lors de l'aspiration, peut endommager le coating et réduire la réactivité.
- Lors de la distribution du substrat TMB, l'intervalle de temps entre chaque rangée doit être défini et respecté avec précision. Il doit être le même lors de l'arrêt de la réaction par l'acide sulfurique.
- Pour une lecture bichromatique, la longueur d'onde de référence utilisée peut être à 620 nm ou à 690 nm.

#### METHODE QUANTITATIVE :

Les anticorps anti-VIII IgG peuvent être quantifiés en utilisant le contrôle positif en tant qu'étalon. La concentration du contrôle positif est déterminée en AU/mL et elle est spécifique pour chaque lot. La concentration de l'étalon est indiquée pour chaque lot sur le papillon fourni dans le coffret. La gamme d'étalonnage est réalisée dans des tubes en rythme 2 avec 200 µL de contrôle positif et 200 µL de Sample Diluent de C à C/16. La méthode est ensuite identique à celle de la méthode qualitative.

**Courbe de calibration :** Porter en abscisses le taux d'anticorps anti-VIII (concentration en AU/mL) et en ordonnées les DO 450 correspondantes, tracer la courbe d'étalonnage permettant d'obtenir une interpolation " best fit ".

**Pour la mesure des taux d'anticorps anti-VIII,** seule la courbe d'étalonnage effective réalisée pour la série de dosages doit être utilisée. Sur la courbe obtenue, déduire directement la concentration d'anticorps anti-VIII dans l'échantillon testé à la dilution standard du test. Pour obtenir la concentration en anticorps anti-VIII d'un échantillon testé plus dilué, multiplier le taux obtenu par le facteur de dilution utilisé.

Les logiciels spécifiques pour test ELISA (DYNEX, BIOLISE, etc...) peuvent être utilisés pour établir la courbe d'étalonnage et déterminer directement la concentration d'anticorps anti-VIII à partir de la courbe d'étalonnage.

#### VALIDATION :

- Le contrôle positif et le contrôle négatif fournis dans le coffret, permettent de valider la bonne réalisation du dosage.
- Les DO attendues pour le contrôle positif et le contrôle négatif peuvent varier de lot à lot mais, lorsque le dosage est réalisé à température ambiante, entre 18 et 25°C, ces DO sont toujours de :

• Méthode qualitative :  
**DO<sub>450</sub> pour contrôle positif 1/1 ≥ 1,0**    **DO<sub>450</sub> pour contrôle négatif ≤ 0,15**

• Méthode quantitative :  
**Concentration pour contrôle négatif ≤ 12 AU/mL**

Les valeurs obtenues pour le contrôle positif et le contrôle négatif, à 20±1°C, sont indiquées pour chaque lot de réactif dans le papillon inclus dans le coffret.

Les DO<sub>450</sub> obtenues peuvent varier en fonction de la température réelle à laquelle est effectuée le dosage.

#### CONTROLE 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 pour chaque série d'essai.

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

#### RESULTATS :

- Les résultats en méthode qualitative sont exprimés à l'aide des DO<sub>450</sub> obtenues pour les contrôles positif et/ou négatif.
- Les résultats en méthode quantitative sont exprimés à l'aide de la concentration en Anti-VIII du contrôle positif.
- Pour des dilutions plus importantes, prendre en compte le facteur de dilution complémentaire appliqué.

#### INTERPRETATION DES RESULTATS :

##### Méthode qualitative :

Lorsque la réaction est réalisée à 20±1°C, les résultats suivants sont obtenus :

**Positif : DO<sub>450</sub> > 0,30**    **DO<sub>450</sub> : 0,15 < zone grise ≤ 0,30**    **Négatif : DO<sub>450</sub> ≤ 0,15**

##### Méthode quantitative :

Lorsque la réaction est réalisée à 20±1°C, les résultats suivants sont obtenus :

**Positif ≥ 24 AU/mL**    **12 AU/mL < zone grise < 24 AU/mL**    **Négatif ≤ 12 AU/mL**

Lorsque la température ambiante n'est pas comprise dans l'intervalle de température recommandé, les valeurs d'absorbances obtenues peuvent être affectées. Le contrôle positif peut alors être utilisé pour ajuster la valeur seuil. Le papillon fourni dans le coffret indique la DO<sub>450</sub> obtenue pour le contrôle positif du coffret ZYMUTEST™ Anti-VIII MonoStrip IgG utilisé, et la valeur en % de cette DO<sub>450</sub> correspondant à la valeur seuil. La valeur seuil ajustée est alors le pourcentage correspondant de la valeur de DO<sub>450</sub> mesurée pour le contrôle positif dans la série réalisée.

#### LIMITATIONS :

- Pour obtenir les performances optimales du test et répondre aux spécifications, suivre scrupuleusement les instructions techniques validées par HYPHEN BioMed. Il est de la responsabilité du laboratoire de valider toutes les modifications apportées à ces instructions d'utilisation.
- Tout réactif présentant un aspect inhabituel ou des signes de contamination doit être rejeté.
- Tout prélèvement suspect ou présentant des signes d'activation doit être rejeté.
- Tout plasma présentant un coagulum ou des signes de contamination doit être rejeté.
- Un lavage insuffisant de la plaque peut se traduire par un "bruit de fond" élevé et une valeur trop forte du contrôle négatif. Vérifier que le lavage est efficace et correctement effectué.
- Comme pour toute recherche d'auto-anticorps, la présence d'états inflammatoires ou infectieux, d'immun-complexes circulants, de gammopathies, de pathologies auto-immunes, peut entraîner une réactivité aspécifique faible dans la zone douteuse ou faiblement positive. Il est alors recommandé de réaliser ultérieurement un nouveau dosage sur un nouveau prélèvement.

#### APPLICATIONS :

- L'hémophilie A est classiquement la conséquence d'un déficit congénital en Facteur VIII, toutefois, une forme acquise due à la présence d'inhibiteurs du Facteur VIII (FVIII) peut survenir plus tardivement au cours de la vie. Les patients développant des inhibiteurs du Facteur VIII peuvent avoir des épisodes de saignement catastrophiques, malgré l'absence d'antécédents d'un trouble de la coagulation. Bien que la maladie soit rare, elle peut entraîner une morbidité et une mortalité importantes.
- Ces inhibiteurs sont des anticorps qui neutralisent le FVIII et peuvent être soit des alloanticorps dirigés contre un Facteur VIII exogène ou des auto-anticorps.
- Les inhibiteurs du Facteur VIII d'origine exogène sont des alloanticorps d'isotype IgG qui apparaissent en cours de traitement chez 25 à 50% des patients atteints d'hémophilie A sévère. L'hydrolyse du Facteur VIII par les anticorps anti Facteur VIII a été présentée comme un mécanisme d'inactivation du Facteur VIII.
- Les inhibiteurs du Facteur VIII peuvent également survenir chez des patients non hémophiles, bien que plus rarement, dans le cadre de
  - Conditions idiopathiques – exemple : sujets sains âgés.
  - Maladies auto-immunes telles que le lupus érythémateux disséminé, la polyarthrite rhumatoïde, etc
  - Tumeurs malignes telles que les syndromes lymphoprolifératifs, les lymphomes et les tumeurs solides.
  - Réactions médicamenteuses à la pénicilline, le chloramphénicol, la phénytoïne, etc
  - Grossesse et post-partum.
- Les facteurs de risque pouvant entraîner le développement d'anticorps sont :
  - La gravité de l'hémophilie : Les patients atteints d'hémophilie sévère sont beaucoup plus à risque parce qu'ils sont exposés à un traitement plus important en FVIII.
  - L'âge du patient et le degré d'exposition au FVIII : 15-20% des enfants hémophiles traités fréquemment développent des anticorps dès l'âge de 20 ans.
  - Les patients présentant des anomalies génétiques qui se traduisent par l'absence de synthèse du Facteur VIII sont plus à risque de développer des anticorps après un traitement à base de concentrés de FVIII.
- Caractéristiques des anticorps anti Facteur VIII :
  - La majorité des inhibiteurs du FVIII sont des anticorps IgG, plus précisément de la sous-classe IgG4.
  - Il existe deux principaux types d'anticorps
    - Type I anticorps - vu chez les hémophiles classiques. L'inhibition du FVIII suit une cinétique linéaire.
    - Type II anticorps - ce sont les auto-anticorps, ils présentent un modèle plus complexe d'inhibition.
  - Les anticorps sont identifiés par leur capacité à neutraliser le FVIII à 37°C après une incubation de 2-3 heures

#### SPECIFICITE ET CARACTERISTIQUES DU TEST :

Le test permet la mise en évidence des anticorps anti-VIII neutralisants et non neutralisants; pour différencier les deux sortes d'anticorps, l'effet neutralisant des anticorps doit être confirmé par des tests fonctionnels.

Les difficultés à identifier la coexistence d'anticorps neutralisants anti-VIII (anti-VIII) et anticoagulant lupique (LA) sont principalement dues à l'interférence de LA sur des tests anti-VIII. Nous avons développé un test immuno-enzymatique (ELISA) qui utilise un Facteur VIII recombinant exempt de phospholipides comme antigène. Le but étant de révéler la présence d'anticorps anti-VIII en utilisant un système qui n'est pas affecté par le LA.

#### PERFORMANCES :

Zone de mesure : 0 à 300 AU/mL.

La limite de détection est ≤ 5 AU/mL.

CV intra essais : ≤ 10 %.

CV inter essais : ≤ 10 %.

#### REFERENCES :

- Werwitzke S. *et al.*, Diagnostic and prognostic value of factor VIII binding antibodies in acquired hemophilia A: data from the GTH-AH 01/2010 study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 14: 940-947, 2016.
- Franchini M. and Lippi G. Acquired factor VIII inhibitors. *Blood*. 112(2):250-5, 2008.
- Shetty S. *et al.*, An ELISA assay for the detection of factor VIII antibodies - comparison with the conventional Bethesda assay in a large cohort of haemophilia samples. *Acta Haematol*. 109(1):18-22, 2003.
- Towfighi F. *et al.*, Comparative measurement of anti-factor VIII antibody by Bethesda assay and ELISA reveals restricted isotype profile and epitope specificity. *Acta Haematol*. 114(2):84-90, 2005.
- Peerschke El *et al.*, Laboratory assessment of factor VIII inhibitor titer: the North American Specialized Coagulation Laboratory Association experience. *Am J Clin Pathol*. Apr;131(4):552-8, 2009.
- Krudysh-Amblo J. *et al.*, Quantitation of anti-factor VIII antibodies in human plasma. *Blood*. 113(11):2587-94, 2008.
- Giangerande P. Acquired hemophilia. *Treatment of hemophilia*. 38:1-7, 2012.

#### SYMBOLS :

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

Changements par rapport à la précédente version.