

TECHNOCHROM[®] FXIII



GB

DE

FR

REF 5360010 TECHNOCHROM[®] FXIII

3 x 3 mL

Symbols key / Symbolschlüssel / interpretazione dei simboli / explicación de símbolos / explicação dos símbolos / clé des symboles / Symbolnyckel / symbolforklaring / Tegnforklaring / Κλειδί συμβόλων / Използвани символи / символы / Ključova slova / Značenje simbola			
	Manufacturer / Hersteller / fabbricante / fabricante / fabricante / fabricant / Tillverkaren / Fabrikanten / Produzent / Κατασκευαστής / Производител / Производител / výrobce / Proizvođač		Expiry date / Verfallsdatum / data di scadenza / fecha de caducidad / data de validade / date d'expiration / utgångsdatum / udløbsdato / Utløpsdato / Ημερομηνία λήξης / срок на годност / datum expirace/ срок годности / datum expirace / Rok trajanja
	Storage temperature / Lagertemperatur / temperatura di conservazione / temperatura de conservación / temperatura de conservação / température de stockage / lagringstemperatur / opbevaringstemperatur / Oppbevaringstemperatur / θερμοκρασία αποθήκευσης / съхранение на / teplota skladování / температура хранения / teplota skladování / Temperatura lagerovanja		Consult instructions for use / Gebrauchsanweisung beachten / consultare le istruzioni per l'uso / consulte las instrucciones de uso / consultar o manual de instruções / instruction d'utilisation / se användarinstruktioner / følg brugsvejledning / Følg bruksanvisningen / συμβουλευθείτε τις οδηγίες για τη χρήση / прочетете инструкцията за работа / potfeba řidit se instrukcemi / перед использованием читайте инструкцию / sledujte návod k použití / Pročitaj upustvo pre upotrebe
			Determinations / Bestimmungen / determinazioni / determinaciones / determinações / déterminations / bestämmingar / bestemmelse / Bestemmelse / προσδιορισμοί / брой тестове / stanovení / определний / počet stanovení / Definicija
AQUA	Distilled water / destilliertes Wasser / acqua distillata / agua destilada / água destilada / eau distillée / destillerat vatten / destilleret vand / Destillert vann / απεσταγμένο νερό / destilipirana voda / destilovaná voda / дистиллированная вода / destilovaná voda / Destiliana Voda	LOT	Lot / Charge / lotto / lote / lote / lot / sats / serie / Parti / ηαρία / партида номер / šarže / лот / šarže / Serija
BUF	Reaction buffer / Reaktionspuffer / tampone di reazione / tampón de reacció / Tampão de reação / tampon de réaction / Reaktionsbuffert / Reaktionsbuffer / Reaksjonsbuffer / διάλυμα αντίδρασης / Реакционен буфер / Рабочий буферный раствор / Reakční pufr / Reakcioni pufer	MTP	Microtiter plate / Mikrotiterplatte / placa microtiter / microplaca / microplaca / microplaques sensibilisées / Mikrotiterplatta / Mikrotiterplade / mikrotiterplate / πλάκα μικροτιτλοδότησης / Микротитърна плака / Микропланшет / Mikrotitrační destička / Mikrotitracione ploče
CAL	Calibrator / Kalibrator / Calibratore / calibrador / calibrador / calibreur / Kalibrator / Kalibrator / Kalibrator / Βαθμονομητής / Калибратор / калибратор / kalibrátor / Kalibrator	REF	Catalogue number / Katalognummer / numero di catalogo / número de catálogo / número de referencia / réf. de catalogue / katalognummer / Katalognummer / αριθμός καταλόγων / каталожен номер / katalogové číslo / каталожный номер / katalogové číslo / Kataloški broj
CONJ	Conjugate / Konjugat / Coniugato / conjugado / conjugado / conjugaté / Konjugerad / Konjugat / Konjugat / συνδεδετικό / Конюгат / Конъюгат / Konjugát / Konjugat	RTU	Ready to use / gebrauchsfertig / pronto all'uso / listo para usar / pronto a usar / prêt à l'emploi / færdig att användas / færdig til brug / klar til bruk / έτοιμο προς χρήση / Готов за употреба / готов к использованию / k přímému použití / Razrediti ili rastvoriti
CONT	Control / Kontrolle / controllo / control / control / contrôle / Kontroll / Kontroll / Kontroll / διάλυμα ελέγχου / Контрол / Контрольный образец / Kontrola / Kontrola	STOP	Stop solution / Stopplösung / Solución de arresto / solución de parada / solução de paragem / solution d'arrêt / Stoppløsning / Stop-opløsning / Stoppløsning / διάλυμα παύσης / Стоп разтвор / Стоп-разтвор / Zastavovací roztok / Stop solucija
DIL	Dilute or dissolve in / verdünnen oder lösen in / diluire o dissolvere in / diluir o dissolver / diluir ou dissolver em / diluer ou dissoudre dans / späd eller upplös i / fortyndes eller opløses i / Fortyndes eller opløses i / αραιωση ή διάλυση σε / разтворете или разрежете с / zředit anebo rozpustit v / разбавить или растворить в / naředite nebo rozpustte v / razrediti ili rastvoriti u	SUB	Substrate / Substrat / substrato / substrato / substrato / substrat / Substrat / Substrat / Substrat / υπόστρωμα / Субстрат / Субстрат / Substrát / Substrat
INC	Incubation buffer / Inkubationspuffer / tampone di incubazione / tampón de incubación / tampão de incubação / tampon d'incubation / Inkubationsbuffert/ Inkubationsbuffer/ Vaskebufferkonsentrat / διάλυμα επώασης / Инкубационен буфер / Буфер для инкубации / Inkubační pufr / Inkubacioni pufer	WASH	Washing solution concentrate / Waschlösungskonzentrat / concentrado de solución de lavado / solución de lavado concentrada / tampão de lavagem concentrado / Tampon de lavage concentré / Vattenlösningsskoncentrat / Vaskeopløsningskonsentrat / vaskeløsningskonsentrat / συμπυκνωμένο διάλυμα πλύσης / Концентриран миеш разтвор / Концентрат промывочного раствора / Koncentrát promývaciho roztoku / Koncetrat solucije za ispiranje
FI C	For Research Use Only		

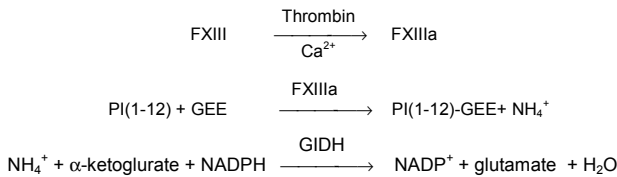


PRODUCT DESCRIPTION

INTENDED USE

The TECHNOCHROM® FXIII kit is a reagent kit for the determination of blood coagulation Factor XIII (FXIII) activity to detect inherited or acquired FXIII deficiencies, abnormal FXIII with decreased activity and elevated FXIII level. Inherited FXIII deficiency is a rare, but severe bleeding diathesis with occasional wound healing impairment and in women with habitual abortion. Acquired FXIII deficiency due to an anti-FXIII autoantibody is also a very severe haemorrhagic diathesis. Consumption of FXIII in various diseases (malignant diseases, Chron disease Henoch-Schoenlein purpura, major surgery, etc...) usually results in moderate decrease of FXIII level. The assay can also be used for monitoring FXIII replacement therapy. Factor XIII (FXIII) is transformed into an active transglutaminase (active FXIII; FXIIIa) during its activation. The determination of FXIII activity is based on the measurement of ammonia released during the transglutaminase reaction. FXIII present in the plasma sample is activated by thrombin and Ca²⁺. Fibrin formed from fibrinogen by thrombin accelerates this reaction. The polymerisation of fibrin is prevented by a tetra peptide. The formed FXIIIa then cross-links the amine substrate glycine ethyl ester (GEE) to the glutamine residue of specific peptide substrate PI(1-12), and ammonia is released. In the indicator reaction the amount of released ammonia is monitored in a glutamate dehydrogenase catalysed NADPH-dependent reaction. The consumption of NADPH is measured spectrophotometrically by the decrease of absorbance at 340 nm. Within a time window the decrease of absorbance is directly proportional to the FXIII activity.

TEST PRINCIPLE



COMPOSITION

The TECHNOCHROM® FXIII Kit for photometric FXIII determinations contains:

mL	reagent	other data
3 x 3	FXIII Activator Reagent	Hepes, Thrombin, Polybrene, Fibrin pol. inh tetrapept.
3 x 3	FXIII Detection Reagent	Hepes, Glycine, α-ketoglutarate, PI, ADP
3 x 3	FXIII NADPH Solution	NADPH
3 x 1	FXIII Inhibitor Reagent	2-iodoacetamide
1 x 6	Stabilizer Solution	Na-acid

MATERIAL REQUIRED (not supplied with the kit)

- Pipettes
- Distilled water
- Reference Plasma**

REF	5220110	Coagulation Reference	5 x 1 mL
-----	---------	-----------------------	----------
- Control Plasma Normal and Abnormal**

REF	5020040	Coagulation Control N	5 x 1 mL
REF	5021055	Coagulation Control A	5 x 1 mL

** or any other package sizes, special Ceveron® alpha or TECHNOCLOT® Control and Calibration reagents of Technoclone.

WARNING AND PRECAUTIONS

- For Research Use Only
- All blood and plasma samples and products have to be regarded as potentially infectious and handled with appropriate care and in compliance with the biosafety regulations in force and must be disposed of in the same way as hospital waste.
- Each single donor plasma and each lot of Ref. Standards are tested and found negative for Hb_sAg, HIV 1/2 Ab and HCV Ab. However, universal precautions (treating all human source materials as if potentially infectious) should be exercised.
- The Stabilizer solution contains sodium azide. Do not ingest and avoid contact with the skin and mucous membranes. It can be removed with plenty of water. Sodium azide can form explosive azides when contacting heavy metals (e.g. copper or lead)!

STABILITY AND STORAGE

The expiry date printed on the labels applies to storage of the unopened bottles at +2...8 °C.

Stability after reconstitution :

Stability	+2...8°C	-20°C
FXIII Activator Reagent	3 days	3 months
FXIII Detection Reagent	3 days	3 months
FXIII NADPH Solution	3 days	3 months
FXIII Inhibitor Reagent	3 days	3 months

Stability Working Solution	+2...8°C	-20°C
Working Solution	2 days	1 month

TEST PROCEDURE

PREPARATION OF PLASMA SAMPLES

Plasma separation:

Mix 9 parts of venous blood and 1 part sodium citrate solution (0.11 mol/L) and centrifuge for 15 minutes at a RCF of at least 2500 g (corresponding to DIN 58905). The plasma sample can be stored at room temperature up to 24 hours, or at 4°C up to 3 days; otherwise the sample has to be frozen immediately after centrifugation. Stability at -20°C or -70°C is 6 month.

PREPARATION OF REAGENTS

All reagents including distilled water should have reached room temperature before use. The lyophilized reagents are dissolved in the volume of distilled water, NADPH or Stabilizer solutions indicated on the vial and are ready for use after 10 minutes. For standardization test a reconstitution time of 30 min is recommended.

- 1 FXIII Activator Reagent: DIL 3 mL NADPH 3
- 2 FXIII Detection Reagent: DIL 3 mL AQUA
- 3 FXIII NADPH Solution: DIL 3 mL AQUA
- 4 FXIII Inhibitor Reagent: DIL 1 mL STAB 5
- 5 FXIII Stabilizer Solution: RTU

WORKING SOLUTION

Prepare the working solution by mixing equal parts of reagent 1 FXIII Activator Reagent and 2 FXIII Detection Reagent and use this mixture for the preparation of sample reagent solution and blank reagent solution.

SAMPLE REAGENT SOLUTION

Add 1/20 part of 5 Stabilizer solution to 1 part of the working solution. The reagent solutions prepared this way are used for the assays.

BLANK REAGENT SOLUTION

Add 1/20 part of 4 FXIII Inhibitor Reagent to 1 part of the working solution.

PERFORMANCE OF THE TEST

Wavelength: 340 nm Measurements are done at + 37°C
In temperature controlled spectrophotometer, microplate readers (ELISA) or clinical laboratory analyser.

Pipetting scheme manual method:

Reagent / Solution	Sample	Blank
Plasma	25 µL	25 mL
Sample reagent solution	250 µL	-
Blank reagent solution	-	250 µL

Read absorbance after 5 min.
Repeat reading after exactly 2, 4 and 6 min.

If the assay is adapted to a clinical laboratory analyzer, sample and reagent volumes are proportionally decreased, and the measuring interval is set to 5-10 min.

It is important to use plasma blank to correct for reactions leading to FXIIIa independent NH₃ production and NADPH consumption. Although in most cases such reactions cause only a few percent of alteration in the FXIII activity results, in patient with severe FXIII deficiency the omission of such correction might lead to clinically significant overestimation of FXIII activity.

For each new lot of TECHNOCHROM® FXIII, the FXIII Activity of the calibration plasma should be determined – the result will be used for the analysis.

APPLICATIONS FOR INSTRUMENTS

Application Sheets for auto analyzers are available from Technoclone or your local distributor upon request.

LIMITATIONS OF THE TEST

Bilirubin up to 200 µmol/L and triglycerides up to 7.5 mmol/L do not interfere with the assay. At higher bilirubin or triglyceride concentrations the assay may be repeated with diluted plasma sample.

High concentration of ammonia (>200 µmol/L) may result in significant NADPH consumption, i.e. the absorbance significantly decreases during the lag phase of the reaction. This may lead to an underestimation of FXIII activity. In these rare cases dilute the plasma sample with physiological saline solution and repeat the assay.

ANALYSES RESULTS

From the absorbance changes during the measuring periods mean ΔA/min values of the sample and the sample blank are calculated. Using automatic kinetic photometers or clinical laboratory analysers mean ΔA/min is directly obtained. FXIII activity can be evaluated by using a factor.

The factor (F) is calculated from the ΔA/min value measured for the calibration plasma and from the assigned FXIII activity of the calibration plasma according to the following formula:

$$F = \frac{\text{FXIII}_{\text{cal.}}}{\Delta A_{\text{cal.}} / \text{min} - \Delta A_{\text{cal. blank}} / \text{min}}$$

ΔA/min value of the sample is multiplied by the factor to obtain results as percentage of normal average.

$$\text{FXIII sample} = F \times (\Delta A_{\text{sample}} / \text{min} - \Delta A_{\text{sample blank}} / \text{min})$$

STANDARDIZATION

The Coagulation Reference is calibrated against the FXIII Reference Preparation of the WHO.

REFERENCE RANGE

69 – 143 % of normal

LINEARITY AND DETECTION LIMIT

The method is linear up to 300% FXIII activity.
The detection limit is 0.6%.

LITERATURE

Please contact Technoclone or your local distributor.

PRODUKTBESCHREIBUNG

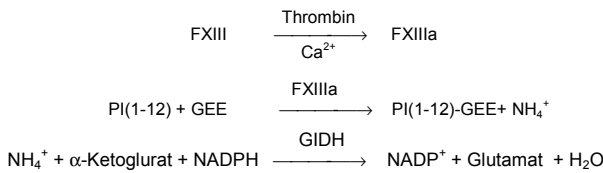
ANWENDUNG

Der TECHNOCHROM® FXIII Kit ist ein Reagenzienkit zur Bestimmung der Faktor XIII (FXIII) Aktivität um angeborenen oder erworbenen F XIII Mangel sowie abnormalen FXIII mit verminderter oder erhöhter FXIII Aktivität nachzuweisen.

Angeborener FXIII ist eine seltene aber schwere Blutungsdiathese mit fallweiser Beeinträchtigung der Wundheilung und welche bei Frauen meist zu einem Abortus führt. Erworbenener FXIII Mangel bedingt durch Autoantikörper gegen FXIII ist ebenso eine schwere hämorrhagische Diathese. Verbrauch von FXIII bei verschiedenen Krankheiten (maligne Erkrankungen, Morbus Crohn, Henoch-Schönlein Purpura, schwere Operationen etc.) bewirken üblicherweise eine milde Erniedrigung der FXIII Aktivität. Der Test kann auch für die Überwachung der FXIII Substitutionstherapie eingesetzt werden.

Während seiner Aktivierung wird Faktor XIII (FXIII) in eine aktive Transglutaminase (aktiver FXIII, FXIIIa) umgewandelt. Die Bestimmung der FXIII Aktivität basiert auf der Messung von Ammoniak welches während der Transglutaminasereaktion freigesetzt wird. Der sich in der Plasmaprobe befindliche FXIII wird durch Thrombin und Ca²⁺ aktiviert. Fibrin, welches aus Fibrinogen durch Thrombin entstanden ist, beschleunigt diese Reaktion. Die Polymerisation von Fibrin wird durch ein Tetrapeptid verhindert. Der entstandene FXIIIa vernetzt das Aminosubstrat Glycinäthylester mit dem Glutaminrest des spezifischen Peptidsubstrates PI(1-12) und Ammoniak wird freigesetzt. In der Messreaktion wird das freigesetzte Ammoniak mit einer durch Glutamatdehydrogenase katalysierten, NADPH abhängiger Reaktion nachgewiesen. Der Verbrauch von NADPH wird spektrophotometrisch durch die Abnahme der Extinktion bei 340 nm gemessen. Innerhalb eines Zeitintervalls ist die Abnahme der Extinktion direkt proportional zur FXIII Aktivität.

TESTPRINZIP



ZUSAMMENSETZUNG

TECHNOCHROM® FXIII Kit für die photometrische FXIII Bestimmung enthält:

mL	Reagenz	Sonstige Angaben
3 x 3	FXIII Aktivator Reagenz	Hepes, Thrombin, Polybrene, Fibrin pol. inh tetrapept.
3 x 3	FXIII Detektions Reagenz	Hepes, Glycine, α-ketoglutarate, PI, ADP
3 x 3	FXIII NADPH Lösung	NADPH
3 x 1	Inhibitor Reagenz	2-iodoacetamide
1 x 6	Stabilisierungslösung	Natriumazid

BENÖTIGTES MATERIAL (nicht im Testkit enthalten)

- Pipetten
 - Destilliertes Wasser
 - Referenz Plasma
 - Kontrollplasma Normal und Abnormal
- REF 5220110 Coagulation Reference 5 x 1 mL
- REF 5020040 Coagulation Control N 5 x 1 mL
- REF 5021055 Coagulation Control A 5 x 1 mL

** oder eine andere Packungsgröße oder speziell für Ceveron® alpha entwickelte Reagenzien oder TECHNOCLOT® Kontroll- und Kalibrationsplasmen von Technoclone.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

- Nur zur Anwendung als *in vitro* Diagnostikum.
- Alle Blut- bzw. Plasmaprodukte und Proben müssen als potentiell infektiös angesehen werden. Sie sind mit der notwendigen Sorgfalt und entsprechend den Sicherheitsvorschriften zu behandeln und wie Krankenhausmüll zu entsorgen.
- Die Referenzstandards und jedes hierzu verwendete Einzelplasma ist Hb_sAg, HIV 1/2 Ak and HCV Ak negativ. Alle humanen Blut- bzw. Plasmaprodukte und Proben müssen als potentiell infektiös angesehen werden. Sie sind mit der notwendigen Sorgfalt und entsprechend den Sicherheitsvorschriften zu behandeln.
- Die Stabilisierungslösung enthält Natriumazid. Vermeiden Sie Haut- und Schleimhautkontakt sowie Verschlucken. Die Lösung kann mit viel Wasser entfernt werden. Natriumazid kann mit Schwermetallen (Blei, Kupfer etc.) explosive Verbindungen eingehen.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Das Reagenz ist ungeöffnet bei +2...8°C bis zu dem auf dem Etikett angegebenem Datum verwendbar.

Stabilität nach Rekonstitution:

Stabilität	+2...8°C	-20°C
FXIII Aktivator Reagenz	3 Tage	3 Monate
FXIII Detektions Reagenz	3 Tage	3 Monate
FXIII NADPH Lösung	3 Tage	3 Monate
FXIII Inhibitor Reagenz	3 Tage	3 Monate

Stabilität Arbeitslösung	+2...8°C	-20°C
Arbeitslösung	2 Tage	1 Monat

TESTDURCHFÜHRUNG

VORBEREITUNG DER PLASMAPROBEN

Plasmagewinnung: 9 Teile Venenblut mit 1 Teil Natrumcitratlösung (0.11 mol/L) mischen und 15 min. bei einer RZB von mind. 2500 g zentrifugieren (entspr. DIN 58905). Die Plasmaprobe kann bis zu 24 Stunden bei Raumtemperatur oder 3 Tage bei 4°C aufbewahrt werden, andernfalls muss die Probe sofort nach Zentrifugation eingefroren werden. Haltbarkeit bei -20°C oder -70°C ist 6 Monate.

VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Alle Reagenzien einschließlich Aqua dest. sollen vor Gebrauch Raumtemperatur erreicht haben. Die lyophilisierten Reagenzien werden mit Aqua dest., NADPH Lösung oder Stabilisierungslösung im angegebenen Volumen gelöst und können nach 10 min verwendet werden. Für Standardisierungsuntersuchungen empfiehlt sich eine Rekonstitutionszeit von 30 min.

- 1 FXIII Aktivator Reagenz: DIL 3 mL NADPH 3
- 2 FXIII Detektions Reagenz: DIL 3 mL AQUA
- 3 FXIII NADPH Lösung: DIL 3 mL AQUA
- 4 FXIII Inhibitor Reagenz: DIL 1 mL STAB 5
- 5 FXIII Stabilisierungslösung: RTU

ARBEITSLÖSUNG

Für die Arbeitslösung werden gleiche Mengen vom Reagenz 1 Aktivator Reagenz und vom 2 Detektions Reagenz gemischt. Diese wird für die Herstellung der Proben und Leerwert Lösung benötigt.

PROBEN REAGENZIEN LÖSUNG

Einem Teil der Arbeitslösung wird 1/20 Teil der 5 Stabilisierungslösung hinzugefügt. Diese Lösung wird für die Durchführung des Kits benötigt.

LEERWERT LÖSUNG

Einem Teil der Arbeitslösung wird 1/20 Teil des 4 Inhibitor Reagenzes hinzugefügt.

TESTVERFAHREN

Wellenlänge: 340 nm Messungen werden bei + 37°C durchgeführt
Die Durchführung des Tests erfolgt in einem temperierten Spektralphotometer, einem Mikrotiterplattenphotometer oder in einem Analysenautomaten

Pipettierschema manuelle Methode:

Reagenz / Lösung	Probe	Leerwert
Plasma	25 µL	25 µL
Proben Reagenzien Lösung	250 µL	-
Leerwert Lösung	-	250 µL

Nach 5 min wird die Extinktion bestimmt.
Die Ablesung wird nach genau 2, 4 und 6 min wiederholt.

Wenn der Test auf einem Analysenautomaten adaptiert wird, so werden die Probe- und Reagenzolumina proportional verringert und das Messintervall wird auf 5 – 10 min gesetzt.

Es ist wichtig den Leewert der Probe zu bestimmen, um Reaktionen, welche zu einer FXIIIa unabhängigen NH₃ Produktion und zu einem NADPH Verbrauch führen, zu korrigieren. Wengleich in den meisten Fällen bei einer derartigen Reaktion sich der Prozentsatz des FXIII Aktivität Ergebnisses nur gering ändert, kann bei Patienten mit schwerem FXIII Mangel die Unterlassung einer derartigen Korrektur zu klinisch signifikanten Überbewertungen der FXIII Aktivität führen.

Für jedes neue Lot TECHNOCHROM® FXIII muss auch die FXIII Aktivität des Kalibrationsplasmas mitbestimmt und das Ergebnis für die Berechnung verwendet werden.

GERÄTEAPPLIKATIONEN

Geräteapplikationen sind auf Anfrage bei Ihrem Distributor oder direkt bei Technoclone erhältlich.

TESTEINSCHRÄNKUNGEN UND FEHLERMÖGLICHKEITEN

Bilirubin (<0,27g/L) oder Triglyceride (<7,5 mmol/l) beeinflussen die Ergebnisse nicht. Bei höheren Bilirubin- oder Triglyceridkonzentrationen sollte der Test mit einer verdünnten Probe wiederholt werden. Hohe Ammoniakkonzentrationen (>200 µmol/l) können einen signifikanten NADPH – Verbrauch bewirken. Das heißt, die Extinktion nimmt während der Latenzphase der Reaktion signifikant ab. Dies kann zu einer Unterschätzung der FXIII Aktivität führen. In diesen seltenen Fällen sollte die Probe mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt und der Test wiederholt werden.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Aus den Extinktionsdifferenzen während der Messperioden werden die Mittelwerte der ΔE/min von Probe und Leerwert berechnet. Wird ein automatisches, kinetisches Photometer oder ein Analysenautomat verwendet, so wird der Mittelwert der ΔE/min direkt berechnet. Die FXIII Aktivität kann mittels eines Faktors berechnet werden. Der Faktor (F) wird aus den ΔE/min welche mit dem Coagulation Reference gemessen wurden und der angegebenen FXIII Aktivität des Coagulation Reference nach folgender Formel berechnet:

$$F = \frac{\text{FXIII}_{\text{kal.}} \%}{\Delta E_{\text{Kal.}} / \text{min} - \Delta E_{\text{Kal. Leerwert}} / \text{min}}$$

Der ΔE/min – Wert der Probe wird mit dem Faktor multipliziert um die Resultate in Prozent der Norm zu erhalten.

$$\% \text{ FXIII Probe} = F \times (\Delta E \text{ Probe} / \text{min} - \Delta E \text{ Leerwert} / \text{min})$$

STANDARDISIERUNG

Die Kalibrierung des Coagulation Reference erfolgte gegen den WHO-Plasmastandard für FXIII.

NORMALBEREICH

69 – 143 % der Norm

LINEARITÄT UND NACHWEISGRENZE

Die Methode ist bis zu 300% FXIII Aktivität linear.
Die untere Nachweisgrenze ist 0,6%

LITERATUR

Bitte wenden Sie sich an Technoclone oder an Ihren Distributor.

DESCRIPTION DU PRODUIT

UTILISATION PRÉVUE

Le kit TECHNOCHROM® FXIII est un réactif pour la détermination de l'activité du facteur XIII (FXIII) dans le sang pour mettre en évidence les déficiences congénitales ou acquises en FXIII, un taux de FXIII anormal avec une activité faible et un taux élevé en FXIII.

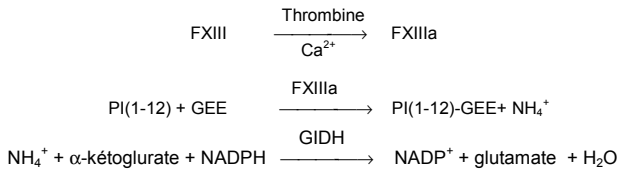
La déficience congénitale en FXIII est rare, mais plusieurs diathèses hémorragiques avec une déficience occasionnelle de la cicatrisation et chez la femme avec des avortements à répétition. La déficience acquise en FXIII due à des autoanticorps anti-FXIII est également une très importante cause de diathèse hémorragique. La consommation en FXIII dans différentes maladies (infections malignes, maladie de Chron, purpura Henoch-Schoenlein, chirurgie majeure, ...) résulte habituellement d'une baisse modérée du taux de FXIII. Ce test peut donc être utilisé pour suivre les taux de facteur XIII lors de traitement visant à compléter le patient en facteur XIII.

Le FXIII est transformé en transglutaminase active (FXIII actif - FXIIIa) durant son activation. La détermination de l'activité du FXIII lors des traitements de substitution basée sur la mesure du taux d'ammoniaque dégagée lors de la réaction de transglutaminase. Le facteur XIII présent dans le plasma est activé en présence de thrombine et de calcium. Cette réaction est potentialisée par la présence de fibrine formée à partir du fibrinogène par la thrombine.

Dans ce dosage, la polymérisation de la fibrine est évitée du fait de la présence d'un tétrapeptide présent dans le réactif.

Le FXIIIa formé catalyse la transformation d'un substrat aminé d'éthylester de glycine (GEE) en résidu glutaminé d'un substrat peptidique spécifique PI(1-12) en libérant de l'ammoniaque. Le taux d'ammoniaque libéré est alors mesuré par l'intermédiaire de la réaction catalytique sur le glutamate déhydrogénase (NADPH). La consommation du NADPH est mesurée par spectrophotométrie en observant la décroissance de l'absorbance à 340 nm qui est directement proportionnelle à l'activité du FXIII.

PRINCIPE DU TEST



COMPOSITION

Le kit TECHNOCHROM® FXIII pour la détermination photométrique du FXIII contient:

mL	Réactif	Composition
3 x 3	Réactif Activateur FXIII	Hépes, thrombine, polybrène, tétrapeptide inhibiteur de la polymérisation de la fibrine.
3 x 3	Réactif Détection FXIII	Hépes, glycine, α -kétoglutarate, PI, ADP
3 x 3	Solution NADPH FXIII	NADPH
3 x 1	Réactif Inhibiteur FXIII	2-iodoacétamide
1 x 6	Solution stabilisatrice de la coloration	Na Azide

MATÉRIEL REQUIS (non fourni avec le kit)

- Pipettes
- Eau distillée
- Plasma de référence
 - [REF] 5220110 Coagulation Reference 5 x 1 mL
- Plasma de contrôle normal et anormal
 - [REF] 5020040 Coagulation Control N 5 x 1 mL
 - [REF] 5021055 Coagulation Control A 5 x 1 mL

** ou tout autre conditionnement ou réactifs de contrôle et d'étalonnage spéciaux pour Ceveron® alpha ou TECHNOCLOT® de Technoclone.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- Dispositif médical IVD uniquement pour le diagnostic in vitro.
- Tous les produits élaborés à partir de sang humain et de plasma aussi bien que tous les échantillons doivent être considérés comme étant potentiellement infectieux. Ils doivent être manipulés avec une attention particulière, et ceci dans la stricte observance des règles de sécurité. Les règles concernant le stockage des déchets sont identiques à celles appliqués à l'hôpital.
- Les standards et contrôles plasmatiques sont élaborés à partir de sang humain, et tous les plasmas utilisés ont été vérifiés HBS Ag, HIV 1/2 Ab et HCV-Ag négatifs. Cependant, comme tous plasmas humains, ils doivent être manipulés comme du matériel potentiellement infectueux.
- La solution stabilisatrice contient de l'azide de sodium. Ne pas les avaler ! Éviter tout contact avec la peau ou les muqueuses. En cas de contact, rincer abondamment avec de l'eau et consulter un médecin. L'azide de sodium peut former des composants explosifs si contact avec des métaux lourds (ex cuivre ou plomb).

STABILITÉ ET STOCKAGE

La date de péremption des réactifs non ouverts stockés à +2 / +8°C est indiquée sur les flacons. Stabilité après reconstitution :

Stabilité	+2...8°C	-20°C
Réactif Activateur FXIII	3 jours	3 mois
Réactif Détection FXIII	3 jours	3 mois
Solution NADPH FXIII	3 jours	3 mois
Réactif Inhibiteur FXIII	3 jours	3 mois

Stabilité des solutions de travail	+2...8°C	-20°C
Solution de travail	2 jours	1 mois

PROCÉDURE DU TEST

PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS PLASMATIQUES

Séparation du plasma : Mélanger 9 volumes de sang et 1 volume de solution de citrate de sodium (0.11 mol/L) et centrifuger pendant 15 minutes à 2500 g au minimum (équivalent à DIN 58905). L'échantillon de plasma peut être conservé à température ambiante pendant 24 heures, ou à 4°C jusqu'à 3 jours; toutefois, l'échantillon peut être congelé IMMÉDIATEMENT après centrifugation. La stabilité à -20°C ou -70°C de ce plasma est de 6 mois.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Avant utilisation, tous les composants incluant l'eau distillée doivent être stabilisés à température ambiante.

Les réactifs lyophilisés sont reconstitués soit par un volume exact d'eau distillée, soit par la solution de NADPH ou soit par la solution stabilisatrice, comme indiqué sur les flacons.

Les solutions reconstituées sont prêtes à l'emploi après 30 minutes.

- Solution NADPH FXIII :** Reconstitution avec 3 mL d'eau distillée
- Réactif Détection FXIII:** Reconstitution avec 3 mL d'eau distillée
- Réactif Activateur FXIII :** Reconstitution avec 3 mL de solution NADPH FXIII [1]
- Réactif Inhibiteur FXIII:** Reconstitution avec 1 mL de solution stabilisatrice [4]
- Solution stabilisatrice du FXIII:** Solution prête à l'emploi

SOLUTION DE TRAVAIL

Mélanger un volume de réactif Activateur FXIII [1] et un volume de réactif Détection FXIII [2]. Cette préparation est ensuite utilisée pour la solution échantillons au sein des puits et pour le blanc réactif.

SOLUTION ÉCHANTILLONS

Ajouter un volume de solution stabilisatrice [5] à 20 volumes de solution de travail. Cette préparation est utilisée pour la dilution des échantillons au sein des puits

REACTIF BLANC

Ajouter un volume de Réactif Inhibiteur FXIII [4] à 20 volumes de solution de travail.

PERFORMANCE DU TEST

Longueur d'onde : 340 nm Mesures effectuées à 37°C (température contrôlée dans le spectrophotomètre, le lecteur de plaques Elisa, ou l'automate d'analyses médicales.

Schéma de pipetage en méthode manuelle:

Réactif / Solution	Echantillon	Blanc échantillon
Plasma	25 µL	25 mL
Solution échantillon	250 µL	-
Réactif blanc	-	250 µL

Lire l'absorbance après 5 minutes
Répéter la lecture après exactement 2, 4 et 6 minutes.

Si l'analyse est effectuée sur un automate d'analyses médicales, les volumes des réactifs de dosage et contrôle peuvent être diminués proportionnellement. L'intervalle de lecture doit alors être fixé de 5 à 10 minutes.

Il est important de faire le blanc échantillon pour éviter toute fausse mesure induite par une production d'ammoniaque et donc de consommation de NADPH non reliée à la présence de FXIIIa.

Toutefois, dans la majorité des cas, ces réactions engendrent uniquement quelques pourcents de déviations sur les résultats de mesures de l'activité du FXIII, chez les patients ayant une sévère déficience en FXIII.

L'abstraction de cette correction peut induire une surestimation significative de l'activité FXIII.

Pour chaque nouveau lot de TECHNOCHROM® FXIII, une courbe de calibration doit être déterminée en utilisant des plasmas de calibration. Les résultats sont utilisés ensuite pour les analyses.

APPLICATIONS SUR LES AUTOMATES

L'adaptation est disponible auprès du distributeur pour la France, sur demande.

LIMITES DU TEST

La bilirubine jusqu'à 200 µmol/L et les triglycérides jusqu'à 7.5 mmol/L n'interfèrent pas avec le kit d'analyses. Si les concentrations en bilirubine ou en triglycérides sont supérieures à ces valeurs, l'analyse doit être répétée avec un échantillon de plasma dilué.

Une forte concentration en ammoniaque (> 200 µmol/L) peut induire une consommation significative de NADPH, de ce fait une diminution significative de l'absorbance observée pendant la phase lecture de la réaction. Dans ces rares cas, un échantillon de plasma est dilué dans une solution saline physiologique et l'analyse est répétée.

ANALYSE DES RÉSULTATS

Des variations d'absorbance ($\Delta A/min$) sont mesurées. Les valeurs de $\Delta A/min$ des échantillons et des blancs sont calculées. Avec un spectrophotomètre automatique ou un automate d'analyses, les moyennes $\Delta A/min$ sont directement obtenues. L'activité du FXIII peut être évaluée à partir d'un facteur F.

Le facteur F est calculé à partir de la valeur $\Delta A/min$ mesurée pour le plasma de calibration et du titre défini pour l'activité FXIII du plasma de calibration selon la formule suivante:

$$F = \frac{FXIII_{cal.} \%}{\Delta E_{cal.} / min - \Delta E_{cal.} blanc / min}$$

La valeur $\Delta A/min$ de chaque échantillon est multipliée par le facteur F obtenu. Les résultats sont exprimés en pourcentage de la moyenne normale.

$$\% FXIII \text{ sample} = F \times (\Delta E \text{ échantillon} / min - \Delta E \text{ échantillon blanc} / min)$$

STANDARDISATION

Le plasma de calibration coagulation reference est calibré par rapport à la préparation de référence FXIII du WHO.

GAMME DE REFERENCE

Les valeurs normales sont comprises entre 69 et 143 %

LINEARITE / LIMITE DE DETECTION

La méthode est linéaire jusqu'à une activité FXIII de 300 %. La limite de détection est de 0.6 %.

LITTÉRATURE

Veillez contacter s'il vous plait Technoclone ou votre distributeur.