



TECHNOFLUOR FXIII Activity - English

INTENDED USE

FXIII activity assay based on its isopeptidase function for the automated, quantitative determination of FXIII activity in citrated human plasma on the Ceveron s100.

SUMMARY

Factor XIII (FXIII) plays a key role in clot stabilization, maturation and composition. FXIII belongs to the transglutaminase family of which the most characteristic catalytic function is the formation of isopeptide bonds between the side chains of susceptible protein bond glutamine and lysine residues. In plasma, the non-covalent FXIII-A₂B₂ heterotetramer is bound to fibrinogen. Activation by thrombin and calcium binding yields activated FXIII (FXIIIa), which recognises fibrin as the key substrate. The activated plasma transglutaminase - in an orchestrated sequence - covalently crosslinks abutting fibrin γ -chains and α -chains thereby providing mechanical stability to the fibrin network. In parallel, FXIIIa incorporates a2-antiplasmin rendering the clot biochemically stable by preventing premature fibrinolysis by plasmin. Congenital or acquired deficiency may be associated with a severe bleeding diathesis, underlining the clinical relevance of FXIII.

In the TECHNOFLUOR assay, FXIII is activated by thrombin in the presence of calcium. Activated FXIII then cleaves the side-chain carboxamide bond of the assay's substrate and thereby releases the dark quencher (2,4-dinitrophenyl) linked to the cadaverine spacer. Subsequently, the increase of fluorescence results from the N-terminally attached fluorophore N-Methyl-2-aminobenzoic acid (N-Me-Abz). The fluorescent signal is proportional to the FXIII activity in the plasma sample.

REAGENTS

The TECHNOFLUOR FXIII Activity contains:

	Reagent / Content	Description
2 x 2 mL	Reagent	Activator reagent containing bovine thrombin, calcium chloride and a fibrin polymerization inhibitor
2 x 2 mL	Substrate (SUB)	Factor XIII specific substrate with dark quencher
2 x 3 mL	Buffer (BUF)	Factor FXIII buffer for sample dilution

Material required (not supplied with the kit)

- Distilled water
- Precision pipettes
- Calibration Plasma*
REF 5220110 Coagulation Reference 5 x 1 mL
- Control Plasma*
REF 5020040 Coagulation Control N 5 x 1 mL
- REF 5021055 Coagulation Control A 5 x 1 mL
- Laboratory timer
- * or any other package sizes.

Warning and precautions

- IVD for in vitro diagnostic use only.
- This kit is intended for use by personnel trained in laboratory procedures and universal precautions for the use of chemicals and potentially biohazardous substances must be applied.
- All human blood or plasma products as well as test samples must be considered as potentially infectious. They have to be handled with appropriate care and in strict observance of safety regulations. The rules pertaining to disposal are the same as applied to disposing hospital waste.
- Get a Material Safety Data Sheet for this product from www.technoclone.com.

Stability and storage

The expiry date printed on the labels is only applicable to storage of the unopened containers at 2...8 °C.

Stability opened/ in use:

Reagent / Content	Ceveron s100 (open vial)	2...8 °C (closed vial)	<-20 °C (closed vial)
Reagent	3 days	1 month	2 months
Substrate (SUB)	3 days	1 month	2 months
Buffer (BUF)	3 days	2 months	Do not freeze

Reagent and Substrate should only be frozen once. Thawing must be performed rapidly in a water bath kept at 37 °C.

TEST PROCEDURE

Preparation of plasma samples

Collect nine parts of freshly drawn venous blood in one part trisodium citrate (3.2%). Refer to CLSI Document H21-A5 for instructions on specimen collection, handling, and storage.

Thaw frozen samples rapidly at 37 °C and centrifuge and separate if necessary. Gently mix before testing. After thawing, the assay must be performed within 2 hours. Samples may be frozen once at -70 °C.

Preparation of reagents

Before starting the test, all the required components must be brought to room temperature.

Avoid foam formation when reconstituting plasmas and mixing reagents or buffers.

- **Reagent:** Dissolve each bottle of lyophilized reagent in 2.0 mL distilled water and swirl gently. Allow the reconstituted material to stand for 10 minutes at room temperature before use. For standardizing tests, a reconstitution time of 30 minutes is recommended. Swirl to mix before use.
- **Substrate:** Dissolve each bottle of lyophilized substrate in 2.0 mL distilled water and swirl gently. Allow the reconstituted material to stand for 10 minutes at room temperature before use. For standardizing tests, a reconstitution time of 30 minutes is recommended. Swirl to mix before use.
- **Buffer:** The FXIII buffer is ready to use.

Performance of the test

The TECHNOFLUOR FXIII Activity is performed on the Ceveron s100 with the respective application.

Calibration is performed using a serial dilution of Coagulation Reference in assay buffer. Normal and abnormal controls are recommended for a complete quality control program. Coagulation Control N and Coagulation Control A are designed for this program. Each laboratory should establish its own mean and standard deviation for a quality control program in order to monitor laboratory testing. Controls should be analyzed before validating patient results in accordance with good laboratory practice.

LIMITATION OF THE TEST

FXIII results on Ceveron s100 are not affected by hemoglobin up to 500 mg/dL, bilirubin* up to 18 mg/dL, lipemia up to 1400 mg/dL, Intraplaid™, fibrinogen up to 6 g/L and ammonia up to 2 mM.

*In case of clear visual presence of icterus in the plasma sample, a pre-dilution of the sample 1:2 using 0.9% sodium chloride solution is recommended. The result from the diluted sample must be multiplied by the dilution factor (x2).

INTERPRETATION OF RESULTS

FXIII Activity results are reported in % of Normality. The results can also be converted into IU/mL where 100 % equals 1.00 IU/mL. The assay results should be used with other information, including the clinical context, in forming a diagnosis.

REFERENCE RANGE

Reference range (n= 154) for TECHNOFLUOR FXIII activity: 47 – 136 % (equivalent to 0.47 – 1.36 IU/mL)

It is recommended that individual laboratories establish their own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance data are given below. Results obtained in individual laboratories may differ.

Clinical Performance

A single center method comparison was performed with samples covering the whole assay range comparing TECHNOFLUOR FXIII Activity with a commercially available ammonia release activity assay and a FXIII antigen assay (n=110).

Method	Slope	Intercept	Correlation
Ammonia Release	1.011	-5.448	0.950
FXIII:Ag	1.124	-1.184	0.980

Precision

Reproducibility was determined with different samples.

Sample code	Assigned value [%]	CV % within run	CV % between run
Coagulation Control N	88.1	4.2 %	6.3 %
Coagulation Control A	36.7	3.1 %	4.1 %
Plasma Sample 1	98.2	3.8 %	7.6 %
Plasma Sample 2	58.3	3.7 %	6.0 %
Plasma Sample 3	29.3	4.8 %	7.5 %
Plasma Sample 4	14.7	4.9 %	9.2 %

Limit of quantification and assay range

Lower Limit of Detection: 0.8 %

Linear Range: 1.0 – 150 %

STANDARDISATION

Coagulation Reference (Calibrator) is calibrated using TECHNOFLUOR FXIII Activity and traceable to the WHO International Standard for FXIII Activity and ranges for Coagulation Control N and Coagulation Control A are assigned via analysis with that calibrator and reagent pairing. Consult the respective batch table of each material.

LITERATURE

Please contact Technoclone www.technoclone.com or your local distributor.

EDITORIAL NOTE

This document is available in several languages. The translations have been done using the master document in English. In the event of doubts or discrepancies, the wording in the master document in English shall take precedence.

TECHNOFLUOR FXIII Activity - Deutsch

ANWENDUNG

Der FXIII Aktivität Testkit basierend auf seiner Isopeptidase-Funktion dient der automatisierten, quantitativen Bestimmung der Faktor XIII Aktivität in humanem Zitratplasma am Ceveron s100.

ZUSAMMENFASSUNG

Faktor XIII (FXIII) hat eine Schlüsselrolle in der Entstehung, sowie Stabilisierung des Gerinnsels. FXIII ist Teil der Transglutaminase-Familie, deren charakteristische katalytische Funktion die Bildung von Isopeptidbindungen zwischen den Seitenketten anfalliger protamin gebundener Glutamin- und Lysinresten ist. Im Plasma ist das nichtkovalente FXIII-A₂B₂-Heterotetramer an Fibrinogen gebunden. Durch Thrombin und Kalziumionen wird FXIII aktiviert (FXIIIa), welcher Fibrin als Schlüsselsubstrat erkennt. Die aktivierte Plasma-Transglutaminase verernt kovalent an angrenzende Fibrin- γ -Ketten und α -Ketten, wodurch dem Fibrin Netzwerk mechanische Stabilität verliehen wird. Parallel dazu bindet FXIIIa an a2-Antiplasmin, wodurch das Gerinnsel biochemisch stabilisiert und eine Fibrinolyse durch Plasmin verhindert wird.

Angeborener oder erworbener FXIII Mangel kann mit schweren Blutungskomplikationen verbunden sein, wodurch seine klinische Relevanz bestätigt wird.

Im TECHNOFLUOR Testkit wird FXIII aus der Probe durch Thrombin unter Anwesenheit von Kalziumionen aktiviert. FXIIIa spaltet die Carboxamidbindung der Seitenketten des Substrates ab und setzt dadurch den dark Quencher (2,4-Dinitrophenyl) frei, welcher an dem Cadaverin-Spacer gebunden ist. In Folge dessen resultiert der Anstieg der Fluoreszenz aus dem N-terminal gebundenen Fluorophor N-Methyl-2-Aminobenzosäure (N-Me-Abz) proportional zu der FXIII Aktivität in der Plasmaprobe.

REAGENZIEN

Der TECHNOFLUOR FXIII Activity enthält:

	Material	Beschreibung
2 x 2 mL	Reagenz	Aktivatorreagenz; bestehend aus bovinem Thrombin, Kalziumchlorid sowie ein Fibrinpolymerisierungshinhibitor
2 x 2 mL	Substrat (SUB)	Spezifisches Factor XIII-Substrat mit dark Quencher
2 x 3 mL	Puffer (BUF)	Factor FXIII Puffer zur Probenverdünnung

Benötigtes Material (nicht im Kit enthalten)

- Aqua dest.
- Präzisionspipetten
- Kalibrationsplasma *
- REF 5220110 Coagulation Reference 5 x 1 mL
- Kontrollplasma*
- REF 5020040 Coagulation Control N 5 x 1 mL
- REF 5021055 Coagulation Control A 5 x 1 mL
- Labortimer
- * oder jede andere Verpackungseinheit.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur zur Anwendung als in vitro Diagnostikum.
- Das Testkit ist zur Verwendung durch Laborpersonal bestimmt welches im Umgang mit der Testmethode sowie mit allgemeinen Sicherheitsmaßnahmen im Umgang mit Chemikalien und potentiell biologischen Risiko geschult ist.
- 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 und wie Krankenhausmüll zu entsorgen.
- Ein Sicherheitsdatenblatt kann von www.technoclone.com heruntergeladen werden.

Lagerung und Stabilität

Die Reagenzien sind ungeöffnet bei +2...8 °C zu lagern und bis zu dem auf den Etiketten angegebenem Datum verwendbar. Stabilität nach Rekonstitution / nach Öffnen:

Material / Reagenz	Ceveron s100 (offen)	2...8 °C (geschlossen)	< -20 °C (geschlossen)
Reagenz	3 Tage	1 Monat	2 Monate
Substrat (SUB)	3 Tage	1 Monat	2 Monate
Puffer (BUF)	3 Tage	2 Monate	Nicht einfrieren

Das Reagenz und das Substrat können einmal eingefroren werden. Das Auftauen hat rasch im Wasserbad bei 37 °C zu erfolgen.

TESTDURCHFÜHRUNG

Vorbereiten der Plasmaproben

Neun Teile frisches venöses Blut werden mit einem Teil Natriumcitratlösung (3.2 %), durch leichtes Schwenken gemischt. Hinweise zur Aufbereitung des Blutes, sowie seiner Lagerung sind der Empfehlung des Deutschen Instituts für Normung (DIN58905), oder der CLSI Guideline H21-A5 zu entnehmen.

Gefrorene Proben sind bei 37 °C im Wasserbad aufzutauen und nötigenfalls erneut

Precisie

De reproduceerbaarheid werd bepaald met verschillende monsters.

Monster code	Toegekende waarde [IU/ml]	CV % within run	CV % between run
Coagulation Control N	88.1	4.2 %	6.3 %
Coagulation Control A	36.7	3.1 %	4.1 %
Plasma Sample 1	98.2	3.8 %	7.6 %
Plasma Sample 2	58.3	3.7 %	6.0 %
Plasma Sample 3	29.3	4.8 %	7.5 %
Plasma Sample 4	14.7	4.9 %	9.2 %

Beperking van kwantificatie en bereik bepaling

Detectie ondergrens: 0,8 %

Lineair bereik: 1,0 – 150 %

STANDAARDISATIE

Coagulation Reference (kalibrator) is gekalibreerd met TECHNOFLUOR FXIII Activity en herleidbaar naar de WHO International Standard voor FXIII activiteit, de ranges voor Coagulation Control N en Coagulation Control A zijn toegekend via analyse met deze kalibrator i.c.m. het reagens.

LITERATUUR

Neem contact op met Technoclone of uw lokale distributeur.

EDITORIAL NOTE

Dit document is beschikbaar in verschillende talen. De vertalingen zijn gemaakt met behulp van het hoofddocument in het Engels. In geval van twijfel of discrepanties heeft de tekst in het Engelstalige hoofddocument voorrang.

TECHNOFLUOR FXIII Attività - Italiano

INTENTO D'USO

Saggio di attività di FXIII basato sulla funzione isopeptidasicia per la determinazione automatizzata e quantitativa dell'attività di FXIII nel plasma umano citrato su Ceveron s100.

RIASSUNTO

Il fattore XIII (FXIII) svolge un ruolo chiave nella stabilizzazione, maturazione e composizione del coagulo. FXIII fa parte della famiglia delle transglutaminasi la cui funzione catalitica più caratteristica è la formazione di legami isopeptidici tra le catene laterali delle proteine suscettibili legate a residui di glutammmina e lisina. Nel plasma, l'eterotetramero non-covalente FXIII-A₂B₂ è legato al fibrinogeno. L'attivazione da parte del legame della trombina e del calcio attiva il FXIII (FXIIIa), che riconosce la fibrina come substrato chiave. La transglutaminasi del plasma attivata - in una sequenza orchestra - si lega covalentemente alle catene γ e δ della fibrina fornendo stabilità meccanica alla rete della fibrina. In parallelo, FXIIIa incorpora d2-antiplasmina che rende il coagulo biochimicamente stabile preventivo la fibrinolisi prematura da parte della plasmina. La carenza congenita o acquisita può essere associata a una grave distesi emorragica, sottolineando la rilevanza clinica di FXIII.

Nel saggio TECHNOFLUOR, FXIII è attivato dalla trombina in presenza di calcio. FXIII attivato spezza quindi il legame carbossilamino a catena laterale del substrato del test e quindi rilascia il quencher scuro (2,4-dinitrofenoile) legato al distanziatore catadervina. Successivamente, l'aumento della fluorescenza deriva dal fluoroforo N-terminale dell'acido N-Metil-2-aminobenzico (N-Me-Abz). Il segnale di fluorescenza è proporzionale all'attività di FXIII nel campione di plasma.

REAGENTI

TECHNOFLUOR Factor XIII Activity contiene:

	Reagenti / Contenuto	Descrizione
2 x 2 mL	Reagente	Reagente attivatore contenente trombina bovina, calcio cloruro e un inhibitore della polimerizzazione della fibrina
2 x 2 mL	Substrato (SUB)	Substrato specifico per il Fattore XIII legato ad un quencher scuro
2 x 3 mL	Soluzione tampone (BUF)	Tampone Fattore FXIII di diluizione dei campioni

Materiali necessari ma non forniti con il kit:

- Aqua destillata
- Pipette di precisione
- Plasma di calibrazione*
- REF 5220110 Coagulation Reference 5 x 1 mL
- Plasma di controllo*
- REF 5020040 Coagulation Control N 5 x 1 mL
- REF 5021055 Coagulation Control A 5 x 1 mL
- Timer di laboratorio
- * o qualsiasi altro confezionamento.

Avvertenze e precauzioni

- IVD per uso diagnostico in vitro.
- Questo kit deve essere utilizzato da personale addestrato nelle procedure di laboratorio e precauzioni universali per l'uso di prodotti chimici e di sostanze potenzialmente a rischio biologico.
- Tutti i prodotti derivanti da sangue o plasma così come tutti i campioni devono essere considerati come potenzialmente infettivi. Devono essere maneggiati con particolare attenzione e in stretta osservanza delle regole di sicurezza. Le regole riguardanti lo smaltimento dei rifiuti sono le stesse applicate allo smaltimento dei rifiuti ospedalieri.
- La Scheda di Sicurezza è disponibile su www.technoclone.com.

Stabilità e conservazione

La data di scadenza riportata sull'etichetta è relativa alla conservazione della fiala non aperta a +2...8 °C.

La stabilità dopo ricostituzione/apertura:

Reagenti / Contenuto	Ceveron s100 (fiala aperta)	2...8 °C (fiala chiusa)	< -20 °C (fiala chiusa)
Reagente	3 giorni	1 mese	2 mesi
Substrato (SUB)	3 giorni	1 mese	2 mesi
Soluzione tampone (BUF)	3 giorni	2 mesi	Non congelare

Il reagente e il substrato possono essere congelati una sola volta. Lo scongelamento deve essere eseguito rapidamente a bagnomaria a 37 °C.

REACTIVOS

EI TECHNOFLUOR Factor XIII Activity contiene:

	Material	Descripción
2 x 2 mL	Reagent	Reactivador que contiene trombina bovina, cloruro de calcio y un inhibidor de la polimerización de fibrina.
2 x 2 mL	Substrate (SUB)	Factor XIII sustrato específico con extintor oscuro
2 x 3 mL	Buffer (BUF)	Factor FXIII buffer para dilución de muestra

PROCEDURA DEL TEST

Preparazione dei campioni di plasma

Raccogliere il sangue in provette con sodio citrato al 3,2 % come anticoagulante, in rapporto: 9 volumi di sangue e 1 volume di Citrato, miscelare delicatamente per inversione. Riferirsi al documento CLSI H21-A5 per le istruzioni specifiche per la raccolta, gestione e conservazione dei campioni.

Scongelare rapidamente i campioni a 37 °C e centrifugare se necessario. Mescolare delicatamente prima di utilizzare i campioni per il test. Il saggio deve essere eseguito entro 2 ore dallo scongelamento dei campioni. I campioni possono essere congelati una sola volta a -70 °C.

Preparazione dei reagenti

Prima di iniziare il test, portare a temperatura ambiente tutti i componenti richiesti.

Quando si ricostituiscono i plasmi, o si mischiano i reagenti o i tamponi evitare la formazione di schiuma.

- Reagente: sciogliere ogni fiala di reagente lievitato in 2,0 ml di acqua distillata e agitare delicatamente. Lasciare riposare il materiale ricostituito per 10 min a temperatura ambiente prima dell'uso. Per i test di standardizzazione, si consiglia un tempo di ricostituzione di 30 minuti. Agitare per miscelare i reagenti prima dell'uso.
- Substrato: sciogliere ogni fiala di substrato lievitato in 2,0 ml di acqua distillata e agitare delicatamente. Lasciare riposare il materiale ricostituito per 10 min a temperatura ambiente prima dell'uso. Per i test di standardizzazione, si consiglia un tempo di ricostituzione di 30 minuti. Agitare per miscelare i reagenti prima dell'uso.
- Soluzione tampone: la soluzione tampone FXIII è pronta all'uso.

Prestazione del saggio

TECHNOFLUOR FXIII Attività viene eseguita su Ceveron s100 con la rispettiva applicazione.

La calibrazione viene eseguita utilizzando delle diluizioni seriali di Coagulation Reference nel tampone di diluizione. Si raccomandano controlli normali e anomali per un completo programma di controllo qualità. Coagulation Control N e Coagulation Control A sono progettati per questo programma. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire la propria media e deviazione standard per il programma di controllo qualità in modo tale da monitorare i test di laboratorio. I controlli dovrebbero essere analizzati prima di convalidare i risultati dei pazienti in accordo alle buone pratiche di laboratorio.

LIMITAZIONI DEL SAGGIO

I risultati di FXIII su Ceveron s100 non sono influenzati dall'emoglobina fino a 500 mg/dL, bilirubina* fino a 18 mg/dL, lipemia fino a 1400 mg/dL Intralipid™, fibrinogeno fino a 6 g/L e ammoniaca fino a 2 mM.

*In caso di chiara presenza di ictero nel campione di plasma, è raccomandata una pre-diluizione del campione 1:2 usando una soluzione di sodio cloruro al 0,9 %. I risultati ottenuti da campioni diluiti devono essere moltiplicati per il fattore di diluizione (x2).

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I risultati dell'attività di FXIII sono riportati in % di Normalità. I risultati possono anche essere convertiti in IU/mL dove il 100 % equivale a 1,00 UI/mL.

I risultati del test dovrebbero essere interpretati insieme ad altre informazioni, che includono il contesto clinico, per poter fare una diagnosi.

INTERVALLO DI RIFERIMENTO

Range di riferimento (n= 154) per l'attività TECHNOFLUOR FXIII: 47 – 136 % (equivalente a 0,47 – 1,36 IU/mL)

Si raccomanda a ciascun laboratorio di determinare i propri valori di normalità.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Di seguito sono riportate le performance di riferimento del test. I risultati ottenuti possono differire da un laboratorio all'altro.

Prestazioni cliniche

Un metodo di comparazione in un singolo centro è stato eseguito con campioni che coprivano l'intera gamma del dosaggio confrontando l'attività TECHNOFLUOR FXIII con un test di attività di rilascio di ammoniaca disponibile in commercio e un test antigenico FXIII (n=110).

Método	Pendente	Intercepta	Correlazione
Rilascio di ammoniaca	1.011	-5.448	0.950
FXIII:Ag	1.124	-1.184	0.980

Precisione

La riproducibilità è stata determinata con diversi campioni.

Codice campione	Valore assegnato [IU/mL]	CV % per seduta	CV % tra sedute
Coagulation Control N	88.1	4.2 %	6.3 %
Coagulation Control A	36.7	3.1 %	4.1 %
Campione di Plasma 1	98.2	3.8 %	7.6 %
Campione di Plasma 2	58.3	3.7 %	6.0 %
Campione di Plasma 3	29.3	4.8 %	7.5 %
Campione di Plasma 4	14.7	4.9 %	9.2 %

Limiti di quantificazione e valori di intervallo

Lmite inferiore di rilevazione: 0,8 %

Range Lineare: 1,0 – 150 %

STANDARDIZZAZIONE

Il Coagulation Reference (calibratore) viene calibrato utilizzando TECHNOFLUOR FXIII Attività ed è tracciabile secondo lo standard internazionale WHO per FXIII attività, gli intervalli per Coagulation Control N e Coagulation Control A sono assegnati attraverso l'analisi con quel calibratore e l'associazione del reagente.

LETTERATURA

Si prega di contattare Technoclone oppure il Vostro distributore.

NOTE EDITORIALE

Questo documento è disponibile in diverse lingue. Le traduzioni sono state eseguite partendo dal documento principale in lingua inglese. Nel caso di dubbi o discrepanze, il documento in inglese ha la priorità.

TECHNOFLUOR FXIII Activity - Español

APLICACIÓN

Ensayo de actividad FXIII basado en su función isopeptidasa para la determinación cuantitativa automatizada de la actividad FXIII en plasma humano citrado en el Ceveron s100.

RESUMEN

El factor XIII (FXIII) juega un papel clave en la estabilización, maduración y composición del coágulo. FXIII pertenece a la familia de las transglutaminasas, cuya función catalítica más característica es la formación de enlaces isopeptídicos entre las cadenas laterales de los residuos de glutamina y lisina unidos a proteínas susceptibles. En plasma, el heterotetramero FXIII-A2B2 no covalente se une al fibrinógeno. La activación por la unión de trombina y calc