

## Dosage du facteur VIII : C

### 1° Principe :

Le dosage consiste à mesurer, en présence de Céphaline et d'activateur, le temps de coagulation d'un système où tous les facteurs sont présents, constants et en excès à l'exception du facteur VIII apporté successivement par les plasmas dilués du témoin et des malades.

### 2° Matériels et réactifs :

- **Stago Déficient VIII :**

Plasma humain citraté, lyophilisé, dépourvu de facteur VIII par immuno-adsorption spécifique.

- **CK Prest :**

Céphaline + activateur.

- **Tampon Owren-Koller.**

- **CaCl<sub>2</sub> :**

Solution à 0,025 mole.

- **Echantillon :**

Prélèvement sur solution de citre trisodique à 0,109 mole. Centrifuger 25 minutes à 2500 g.

### 3° Préparation du réactif :

Reconstituer chaque flacon par 1 L d'eau distillée. Laisser la solution se stabiliser 10 minutes à température ambiante. Agiter doucement le flacon par simple rotation avant emploi.

### 4° Etalonnage :

Il peut être réalisé de deux façons différentes en utilisant :

- L'Unicalibrator : le taux de facteur VIII est susceptible de varier d'un lot à l'autre, mais indiqué précisément pour chaque lot.
- Un pool de plasmas humains normaux prélevés dans les mêmes conditions que celles des plasmas à tester.

## 5° Mode opératoire :

### 5.1. Préparation de la gamme d'étalonnage :

Préparer la gamme d'étalonnage extemporanément en tube plastique.

Diluer l'Unicalibrator ou le pool de plasmas normaux comme ci-dessous :

|                    |      |      |      |      |
|--------------------|------|------|------|------|
| <b>Dilution</b>    | 1/10 | 1/20 | 1/40 | 1/80 |
| <b>Taux (en %)</b> | 100  | 50   | 25   | 12,5 |

### 5.2. Préparation des plasmas à tester et des contrôles :

Préparer les dilutions des plasmas extemporanément en tube plastique.

Diluer les plasmas à tester et les contrôles au 1/10 en tampon.

### 5.3. Dosage :

Dans la mesure du possible tous les essais seront réalisés simultanément. En cas d'impossibilité, les dosages doivent succéder immédiatement à l'étalonnage.

Dans un tube à hémolyse à 37°C :

- 0,1 mL de Stago déficient VIII.
- 0,1 mL de dilution du plasma.
- 0,1 mL de CK Prest.

Mélanger et incuber à 37°C pendant exactement 3 minutes.

En déclenchant un chronomètre ajouté 0,1 mL de CaCl<sub>2</sub> à 0,025 mole, préincubé à 37°C.

Mélanger et noter le temps de coagulation.

## 6° Résultats :

Sue du papier bilogarithmique, porter en abscisse, le pourcentage d'activité de chaque point de la gamme d'étalonnage et en ordonnée, le temps de coagulation correspondant.

Tracer la droite d'étalonnage et en déduire le taux de facteur VIII : C des échantillons testés.

Lorsque le taux de facteur VIII : C trouvé chez un malade est particulièrement bas (inférieur à 5%), il est recommandé de vérifier ce résultat sur une dilution au 1/5. Le taux lu sur la droite sera alors divisé par 2.