

BIOPHEN™ AT anti-(h)-Xa LRT

REF 221123 R1 R2 3 flacons x 3 mL

REF 221127 R1 R2 4 flacons x 7.5 mL

Français, révision : 09-2024

UTILISATION:

Méthode chromogénique Anti-Xa pour la détermination quantitative *in vitro* de l'activité antithrombine (AT) sur plasma citraté humain, en utilisant une méthode automatisée. Cette méthode est une aide au diagnostic des déficits en AT chez les patients qui sont suspectés d'un déficit congénital ou acquis.

Cet appareil à usage de diagnostic *in vitro* est destiné à un usage professionnel en laboratoire.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION:**Technique¹ :**

L'AT est le principal inhibiteur physiologique de la coagulation. En inhibant les sérines estérases de la coagulation, en particulier la thrombine et les Facteurs Xa (FXa) et IXa, l'AT régule la coagulation et protège contre la thrombose. Complexée à l'héparine, l'AT devient un inhibiteur immédiat et puissant des sérines estérases.

Clinique²⁻⁵ :

Des maladies thromboemboliques spontanées sont observées en présence de déficits congénitaux en AT, classés en 4 groupes.

La concentration d'AT est diminuée chez le nouveau-né et dans divers contextes tels que la grossesse, les maladies du foie, la Coagulation IntraVasculaire Disséminée (CIVD) et certains traitements.

La mesure de l'activité AT anti-Xa dans le plasma humain est utilisée pour faciliter le diagnostic des déficits congénitaux ou acquis en AT.

PRINCIPE:

La méthode BIOPHEN™ AT anti-(h)-Xa LRT est un dosage cinétique basé sur l'inhibition d'une quantité constante et en excès de FXa, par l'AT, en présence d'héparine. Le FXa résiduel est ensuite mesuré par son activité amidolytique sur un substrat chromogène spécifique du FXa (SXA-11-65), qui libère du pNA. La quantité de pNA libérée est inversement proportionnelle à la concentration d'AT présente dans le plasma testé.

Le dosage n'étant pas influencé par l'héparine, les plasmas de sujets traités par l'héparine peuvent être testés.

REACTIFS:

R1 **Factor Xa humain** à environ 7 UI/mL, pH environ 7,85, forme liquide. Contient de l'UFH à environ 1 UI/mL, de la BSA, des conservateurs stabilisants.

R2 **Substrat Factor Xa**, substrat chromogène, spécifique du Facteur Xa (11-65) à environ 2 mg/mL, forme liquide. Contient un mélange de 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one et de 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one (3:1), des conservateurs et stabilisants.

Warning H317 : Peut provoquer une réaction allergique cutanée (sensibilisant cutané catégorie 1)

MISE EN GARDE ET AVERTISSEMENTS:

- Certains réactifs de ce coffret contiennent des produits d'origine humaine et animale. Lorsque du plasma humain a été utilisé dans la préparation de ces réactifs, la recherche de l'antigène HBs, des anticorps anti-VHC, anti-VIH 1 et anti-VIH 2 a été effectuée et trouvée négative. Cependant aucun test ne peut garantir de façon absolue l'absence de tout agent infectieux. Aussi, ces réactifs d'origine biologique doivent être manipulés avec les précautions d'usage s'agissant de produits potentiellement infectieux.
- Veuillez consulter la Fiche de Données de Sécurité (FDS), disponible sur www.hyphen-biomed.com.
- L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux réglementations locales en vigueur.
- P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage/une protection auditive.
- P302+P352 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Laver abondamment à l'eau et au savon.
- P333+P313 En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin.
- P362+P364 Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.
- Utiliser uniquement les réactifs d'un même lot de coffret.
- Le résumé des caractéristiques de sécurité et des performances (SSP) est disponible sur la base de données Européenne sur les dispositifs médicaux (voir le site public Eudamed : <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> ou sur demande auprès d'HYPHEN BioMed).
- Tout incident grave survenu en rapport avec le dispositif médical doit être signalé au fabricant et l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et / ou le patient est établi.

PRÉPARATION DES REACTIFS:

R1 **R2** Réactif prêt à l'emploi, homogénéiser (en prenant en compte la viscosité du produit), en évitant la formation de mousse, et charger directement sur l'automate en suivant les instructions du guide d'application.

STOCKAGE ET STABILITÉ:

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 ouverture, sous réserve de toute contamination ou d'évaporation, conservé fermé est de :

- **90 jours** à 2-8°C.
- **Ne pas congeler.**
- **Stabilité à bord de l'automate : se référer à l'application spécifique.**

Si le substrat devient jaune, cela indique une contamination. Le flacon doit être jeté et un nouveau utilisé.

REACTIFS ET MATERIELS REQUIS MAIS NON FOURNIS:

• Imidazole buffer (AR021B / AR021K / AR021L / AR021M / AR021N) ou Hemostasis Hepes Buffer (AR033K / AR033L / AR033M / AR033N). Utiliser le même tampon pour toutes les dilutions effectuées.

• Etalon et contrôles spécifiques avec titration connue tels que :

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

- Automates pour les tests de coagulation tels que : série CS, série CN, famille STA-R®, famille ACL-TOP®.
- Matériel de laboratoire.

Veuillez noter que les applications sur d'autres instruments peuvent être validées par le fabricant de l'instrument conformément aux exigences du RÈGLEMENT (UE) 2017/746 sous sa responsabilité tant que la destination et les performances ne sont pas modifiées.

TRACABILITÉ:

Les certificats de traçabilité et les notices d'utilisation des étalons et contrôles ci-dessus sont disponibles sur le site internet de HYPHEN BioMed. Pour plus d'informations, se référer aux notices d'utilisation des étalons et contrôles ci-dessus.

PRÉLEVEMENTS ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS:

La collecte, la préparation et la conservation du Plasma Pauvre en Plaquettes (PPP) doit être réalisée selon les méthodes du laboratoire ou autres méthodes validées⁵⁻⁷.

Le sang (9 volumes) doit être collecté sur l'anticoagulant citrate trisodique (1 volume) (0,109M, 3,2%) avec précautions, par ponction veineuse franche. Selon le CLSI H21-A5⁵ et études⁷:

- Le plasma peut rester à température ambiante jusqu'à 4 heures maximum.
- Si les tests ne sont pas réalisés dans les 4 heures, le plasma doit être congelé à -20 °C ou en dessous.
- Les échantillons de plasma doivent être décongelés à 37°C, une seule fois.

PROCÉDURE:

HYPHEN BioMed fournit des Guides d'Application pour des familles d'instrument de coagulation définies. Les Guides d'Application contiennent des informations sur la manipulation et les performances spécifiques à l'instrument / test et remplacent les informations de ces notices d'utilisation.

CONTRÔLE QUALITÉ:

L'utilisation de contrôles 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.

RÉSULTATS:

- La concentration d'AT (%) dans l'échantillon de test est directement déduite de la courbe d'étalonnage, lorsque la dilution standard est utilisée (reporté en UI/mL, ou % en considérant 100%=100 UI/dL= 1UI/mL).
- La variabilité lot à lot mesurée sur 3 lots est : %CV < 2%
- Les résultats doivent être interprétés en fonction de l'état clinique et biologique du patient et d'autres constatations.

LIMITATIONS:

- Pour obtenir les performances optimales du test et répondre aux spécifications, suivre scrupuleusement les instructions techniques validées par HYPHEN BioMed.
- Tout réactif ne présentant pas d'aspect limpide ou présentant des signes de contamination doit être rejeté.
- Tout échantillon suspect ou présentant des signes d'activation doit être rejeté.
- Les modifications définies par l'utilisateur ne sont pas prises en charge par HYPHEN BioMed car elles peuvent affecter les performances du système et les résultats des tests. Il est de la responsabilité de l'utilisateur de valider les modifications apportées à ces instructions ou l'utilisation des réactifs sur d'autres analyseurs que ceux inclus dans les Guides d'Application HYPHEN BioMed ou ces instructions d'utilisation.
- Comme le test est une méthode Anti-Xa, il n'y a aucune interférence attendue du cofacteur II de l'héparine, de la α 2-macroglobuline ou de la α 1-Antitrypsine^{2,4,8}.
- Divers traitements (par exemple les anticoagulants tels que les inhibiteurs directs du facteur Xa (DOACs)) peuvent affecter le résultat⁵.
- L'AT mesurée dans certains variants peut présenter des variations lorsqu'elle est testée avec différents tests d'activité de l'AT. En fonction du variant (et du traitement), une divergence entre les tests d'activité AT anti IIa et anti Xa est rapportée ainsi que de très rares résultats normaux⁵.
- L'analyse en laboratoire de l'AT pour la détermination d'un déficit génétique ne doit pas être entreprise lorsque des interférences pathologiques ou pharmacologiques, ou des conditions pré-analytiques, pourraient conduire à des résultats erronés ou sous-estimés⁵.
- Une investigation supplémentaire en cas de résultat inattendu ou anormal doit être envisagée en fonction du contexte clinique⁵. Un test antigénique d'antithrombine (tel que LIAPHEN™ Antithrombin 120002-120008) pourrait être effectué pour la caractérisation du déficit en AT ; ainsi qu'un test d'activité progressive AT.

VALEURS ATTENDUES:

L'intervalle de référence établi sur des sujets adultes sains, dans une étude interne, sur instrument série CS (n=154), sur série CN (n=146), sur la famille STAR[®] (n=147), sur la famille ACL-TOP[®](n=154), ont été mesurés respectivement entre 83 et 121%, 83 et 123%, 83 et 120%, 81 et 123% (Central 90%, 95ème percentile)¹¹.

Cependant, chaque laboratoire doit déterminer sa propre plage normale. Une étude de zone normale a été réalisée sur chaque instrument et est documentée dans les Guides d'Application des instruments respectifs.

PERFORMANCES:

Les études de performances ont été menées conformément aux recommandations du CLSI.

Les données de performance suivantes représentent des résultats typiques et ne doivent pas être considérées comme des spécifications pour BIOPHEN™ AT anti-(h)-Xa LRT.

Les analyses mathématiques sont réalisées en utilisant un logiciel de statistique validé construit conformément aux recommandations CLSI.

Toutes les performances sont documentées dans les Guides d'Application des instruments respectifs.

Performances analytiques

Zone de mesure

La zone de mesure est définie par le système d'analyses utilisé et est documentée dans les Guides d'Application des instruments respectifs.

Précision

Les études de précision ont été évaluées à l'aide de contrôles de laboratoire et de plasmas groupés.

Exactitude : le biais est inférieur à 17% pour tous les échantillons.

Précision : le coefficient de variation (CV) pour tous les échantillons est inférieur à 7% pour la répétabilité, à moins de 10% pour la reproductibilité et à moins de 10% pour la reproductibilité inter-laboratoire. La précision est documentée dans les guides d'application respectifs des instruments.

Substances interférentes

Les interférences sont définies par le système d'analyses utilisé et sont documentées dans les Guides d'Application des instruments respectifs.

Performances cliniques

Agrément

Analyte	n	ACL TOP [®] family		Méthode de référence / comparaison
		Régression linéaire	r	
AT	144	y = 5,97x+1,00	0,972	HemosIL [®] Liquid Antithrombin

Sensibilité/Spécificité

Analyte	n	ACL TOP [®] family			
		Sensibilité	Spécificité	Aire sous la courbe (ROC)	
AT	144	0,96	1,00	0,999	
Analyte	n	PPV	NPV	LR+	LR-
AT	144	96%	94%	21,2	0,06

VPP : Valeur prédictive d'un résultat positif

VPN : Valeur prédictive d'un résultat négatif

RV+ : Rapport de vraisemblance +

RV- : Rapport de vraisemblance -

REFERENCES:

1. Mann K.G. Biochemistry and Physiology of blood coagulation. Thrombosis and Haemostasis. 1999.
2. Patnaik MM and Moll S. Inherited antithrombin deficiency: a review. Haemophilia. 2008.
3. Amiral J and Seghatchian J. Revisiting antithrombin in health and disease, congenital deficiencies and genetic variants, and laboratory studies on α and β forms. Transfus Apher Sci. 2018.
4. Khor B and Van Cott EM. Laboratory tests for antithrombin deficiency. American Journal of Hematology. 2010.
5. Van Cott E.M *et al.* Recommendations for clinical laboratory testing for antithrombin deficiency; Communication from the SSC of the ISTH. , J Thromb Haemost 2020.
6. CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008
7. Ieko M. *et al.* Expert consensus regarding standardization of sample preparation for clotting time assays. Int J Hematol. 2020
8. Odegard O R *et al.* Heparin cofactor activity measured with an amidolytic method. Thromb res 6. 1975.

Les notices et FDS (autres langues) sont disponibles sur www.hyphen-biomed.com.

Pour le support client et Guides d'Application, veuillez contacter votre fournisseur ou distributeur local (voir www.hyphen-biomed.com).

Changements par rapport à la précédente version.

Les symboles suivants peuvent apparaître dans l'étiquetage du produit :

REF	Référence catalogue	LOT	Désignation du lot	IVD	Dispositif médical de diagnostic <i>in-vitro</i>
Rx	Identification numérique < x> du réactif	i	Lire le mode d'emploi	WHO STD	Code du standard OMS
CE	Températures limites de conservation	MA	Fabricant	YYYY-MM-DD	Utilisable jusqu'à
XXXX	Marquage de conformité CE avec le numéro d'identification de l'organisme notifié	→	Volume de reconstitution	CONTENTS	Contenu
Cx	Identification numérique < x> du contrôle	i-MA	Consulter les instructions fournies dans le guide d'application de la méthode	CONTAINS	Contient
EXP	Date d'expiration	Σ	Suffisant p'our <n> tests	UNIT	Unité de mesure
TARGET VALUE	Valeur cible	☀	Maintenir hors de portée de la lumière du soleil et de la chaleur	CALx	Identification numérique < x> du calibre
UDI	Identifiant unique du dispositif	BIO	Contient du matériel biologique d'origine animale	UKCA	Contient du sang ou des dérivés de plasma humain
DANGER	Danger	WARNING	Attention	UKCA	Marquage de conformité UKCA
CONTROL+	Contrôle positif	CONTROL-	Control négatif	☠	Risque biologique
ACCEPTANCE RANGE	Intervalle d'acceptation				