

GFC-Test

REF CK093K

R1 3 x 2 mL, R2 3 x 2 mL

Détermination de la capacité fibrinolytique globale
du plasma humain citraté.**POUR LA RECHERCHE UNIQUEMENT.****NE PAS UTILISER DANS LES PROCEDURES DE DIAGNOSTIC.**

Français, dernière révision : 03-2021

UTILISATION:

Le coffret GFC-Test est une méthode de détermination qualitative du temps de lyse du caillot dans un plasma humain citraté.

Ce coffret est à usage de recherche uniquement et ne doit pas être utilisé pour le diagnostic ou le traitement du patient.**RESUME ET EXPLICATION:****Technique :**

Le coffret GFC-Test permet de déterminer le temps de lyse du caillot après ajout de thrombine et de calcium, en présence d'un apport exogène d'activateur tissulaire du plasminogène (tPA), à une concentration définie et constante, et de silice.

PRINCIPE:Dans une première étape, le tPA avec la silice R1 est introduit dans le plasma. Ensuite la thrombine humaine R2, en présence de calcium, est ajoutée, ce qui déclenche la coagulation, suivie par la dissolution du caillot (potentialisée par la présence de tPA). L'absorbance est alors suivie à exactement 940nm jusqu'à ce que la lyse du caillot soit complète. La détection du point d'inflexion de la courbe de lyse permet de déterminer le temps de lyse^{1,2}.Silice + Thrombine + Ca²⁺ + plasma → Caillot

Caillot + tPA exogène → Caillot lysé

REACTIFS:

R1 tPA avec silice. Activateur tissulaire du plasminogène (tPA) et silice, lyophilisée. Contient de la BSA.

3 flacons de 2 mL.

R2 Réactif Thrombine. Thrombine humaine à 4 NIH/mL, lyophilisée. Contient de la BSA et du Calcium.

3 flacons de 2 mL.**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-HCV, anti-HIV 1 et anti-HIV 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.
- L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux réglementations locales en vigueur.
- Utiliser uniquement les réactifs d'un même lot de coffret.
- Les études de vieillissement montrent que les réactifs peuvent être expédiés à température ambiante sans aucun dommage.
- Ce dispositif *in vitro* est destiné à une utilisation professionnelle en laboratoire.

PREPARATION DES REACTIFS:

Retirer délicatement le bouchon de lyophilisation, pour s'affranchir de toute perte de produit à l'ouverture du flacon.

R1 R2 Reconstituer chaque flacon avec exactement **2 mL d'eau distillée**.

Agiter vigoureusement jusqu'à dissolution complète, en évitant la formation de mousse et laisser stabiliser pendant 30 min à température ambiante (18-25°C), homogénéiser avant utilisation.

STOCKAGE ET STABILITE:

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

- 24 heures** à 2-8°C.
- 8 heures** à température ambiante (18-25°C).
- 1 mois** congelé à -20°C ou moins*

*Décongeler une seule fois le plus rapidement possible à 37°C et utiliser immédiatement. La stabilité du réactif décongelé doit être vérifiée dans les conditions de travail du laboratoire.

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

- Eau distillée.
- Les contrôles spécifiques avec titration connue tels que :

Nom du produit	Référence
GFC Control Plasmas	SC104K

Matériels:

- Automate et logiciel pour la détermination du temps de lyse ou spectrophotomètre thermostaté.
- Cuvette adaptée à l'équipement.
- Chronomètre, Pipettes calibrées.

PRELEVEMENTS ET PREPARATION DES ECHANTILLONS:

Le sang (9 volumes) doit être collecté sur l'anticoagulant citrate trisodique (1 volume) (0,109M, 3,2%) avec précautions, par ponction veineuse franche. Le premier tube doit être éliminé.

La préparation et la conservation des échantillons doivent être réalisées selon les recommandations locales en vigueur (pour les Etats-Unis, se référer aux recommandations du CLSI H21-A5³ pour plus d'informations concernant le prélèvement, la manipulation et la conservation).Pour la conservation des plasmas, se référer aux références^{4,5,6}.**PROCEDURE:****Méthode de dosage:**

- Les échantillons sont testés purs.
- Introduire dans une cuvette à 37°C :

	Cuvette
Echantillon ou contrôle	100 µL
R1 tPA avec silice, homogénéisé avant utilisation	100 µL
Mélanger et incuber à 37°C, pendant environ 1 minute puis introduire :	
R2 Réactif Thrombine	100 µL
Mélanger par vortex et démarrer la lecture en continu à 940nm à 37°C. Arrêter la lecture lorsque la lyse est complète.	

Si un volume réactionnel différent de celui indiqué ci-dessus est requis pour la méthode utilisée, le rapport des volumes doit être strictement respecté afin de garantir les performances du dosage. L'utilisateur est responsable de la validation des modifications et de leur impact sur tous les résultats.

CONTRÔLE 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.

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

RESULTATS:

A titre indicatif :

- Le temps de lyse de plasmas normaux est compris entre 30 et 60 minutes, avec une valeur moyenne d'environ 40 minutes.
- Un temps de lyse inférieur à 30 minutes correspond à une hyperfibrinolyse.
- Un temps de lyse supérieur à 60 minutes correspond à un défaut de fibrinolyse, et ce d'autant plus que le temps est long.

Les résultats doivent être utilisés à des fins de recherche uniquement et ne sont pas utilisables pour le diagnostic ou le traitement du patient.

LIMITATIONS:

- Pour obtenir les performances optimales du test et répondre aux spécifications, suivre scrupuleusement les instructions techniques validées par HYPHEN BioMed.
- Tout réactif présentant un aspect inhabituel ou des signes de contamination doit être rejeté.
- Tout échantillon suspect ou présentant des signes d'activation doit être rejeté.
- L'absence de coagulation qui peut être due à des inhibiteurs, anticoagulant ou une déficience en fibrinogène, entraîne des résultats erronés. Toujours confirmer visuellement la présence de coagulation sur la courbe obtenue, au plus tard 10 minutes après l'introduction du **R2**. En cas d'absence de coagulation les résultats ne doivent pas être pris en considération.

PERFORMANCES:

- Les études de performances ont été réalisées en interne sur Automate pour la détermination du temps de lyse. Les résultats suivants ont été obtenus :

Contrôle	Inter-essais			
	n	Moy.	CV%	SD
Contrôle hyperfibrinolyse	6	16	3,5	0,5
Contrôle normal GFC	6	39	3,5	1,4
Contrôle hyperfibrinolyse	6	77	2,8	2,1

REFERENCES:

1. Rijken DC *et al.* Development of a new test for the global fibrinolytic capacity in whole blood. J Thromb Haemost. 2008.
2. Zouaoui Boudjeltia K *et al.* A new device for measurement of fibrin clot lysis: application to the Euglobulin Clot Lysis Time. BMC Biotechnology. 2002.
3. CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008.
4. Mauge L. and Alhenc-Gelas M. Stabilité pré-analytique des paramètres de la coagulation: revue des données disponibles. Ann Biol Clin. 2014.
5. Woodhams B. *et al.* Stability of coagulation proteins in frozen plasma. Blood coagulation and Fibrinolysis. 2001.

SYMBOLES:

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.