

**CEPHEN™**

REF	CK511K	R	6 x 1 mL
REF	CK512K	R	6 x 2,5 mL
REF	CK515K	R	8 x 5 mL
REF	CK515L	R	12 x 5 mL

Coffret pour la détermination du Temps de Céphaline + Activateur avec réactif liquide, prêt à l'emploi.

Français, dernière révision : 02-2022

**UTILISATION:**

Les coffrets CEPHEN™ sont proposés pour la détermination quantitative *in vitro* du temps de céphaline plus activateur (TCA) sur plasma humain citraté, par méthode coagulante, manuelle ou automatique. Le réactif est sous forme liquide prête à l'emploi (LRT, Liquid reagent Technology). Ce réactif, peu sensible au Lupus Anticoagulant (LA), peut être utilisé en combinaison avec un réactif hautement sensible (CEPHEN™ LS) pour l'exploration du LA.

**RESUME ET EXPLICATION:****Technique :**

La mesure du temps de recalcification plasmatique, avec le réactif TCA standardisé (phospholipides et activateur), sur plasma humain citraté est un test de dépistage global, pour explorer l'activité des facteurs de coagulation (II, V, X, VIII: C, IX, XI, XII) et du Fibrinogène.<sup>1</sup>

**Clinique :**

Le TCA est un test de dépistage pour évaluer<sup>1-4</sup> :

- Certains traitements anticoagulants.
- Les anomalies des facteurs de la voie intrinsèque de coagulation.
- Les anomalies ou déficits acquis par consommation excessive des facteurs de la coagulation, affections hépatiques...
- Les inhibiteurs de la coagulation tels que le LA ou les auto-anticorps dirigés contre les facteurs de la coagulation.

Toutefois, la sensibilité du réactif CEPHEN™ au LA est intentionnellement plus faible que celle de la plupart des autres réactifs TCA de routine.

**PRINCIPE:**

Le CEPHEN™ est un réactif pour temps de céphaline + activateur (TCA).

L'activation de la voie intrinsèque sur plasma citraté est induite par un activateur (silice micronisée) et des phospholipides végétaux de soja, et le temps de coagulation (TC) est mesuré en présence de calcium<sup>1</sup>.

**REACTIFS:**

**R** aPTT, sous forme liquide.

**REF** CK511K → 6 flacons de 1 mL

**REF** CK512K → 6 flacons de 2,5 mL

**REF** CK515K → 8 flacons de 5 mL

**REF** CK515L → 12 flacons de 5 mL

**MISE EN GARDE ET AVERTISSEMENTS:**

- 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 de diagnostic *in vitro* est destiné à une utilisation professionnelle en laboratoire.

**PREPARATION DES REACTIFS:**

**R** Réactif prêt à l'emploi, homogénéiser et charger directement sur l'automate en suivant les instructions du guide d'application.

Pour la méthode manuelle, laisser stabiliser pendant 30 min à température ambiante (18-25°C), homogénéiser avant utilisation.

Le réactif peut être opalescent, avec la présence possible de sédiments siliceux blanchâtres à grisâtres qui disparaissent après agitation.

**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.

**R** La stabilité du réactif après ouverture, sous réserve de toute contamination ou d'évaporation, conservé fermé est de :

- 3 mois à 2-8°C.
- 7 jours à température ambiante (18-25°C).
- Ne pas congeler.
- Stabilité à bord de l'automate : se référer à l'application spécifique.

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

- Eau distillée.
- CaCl<sub>2</sub> à 0,025M (AR001B/AR001K/AR001L).
- Etalon et contrôles spécifiques pour le TCA et le LA tels que :

Nom du produit	Référence
BIOPHEN™ Normal Control Plasma	223201
BIOPHEN™ Abnormal Control Plasma	223301
EASYPLASMA™ Control Set	225601
LA Control Plasma	SC081K / SC082K / SC083K

Se référer également au guide d'application spécifique de l'automate utilisé.

**Matériels:**

- Bain-Marie, automate de coagulation semi-automatique ou automatique.
- Chronomètre, Pipettes calibrées, tubes pour tests en plastique ou en verre siliconé.

**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-A5<sup>5</sup> pour plus d'informations concernant le prélèvement, la manipulation et la conservation).

Pour la conservation des plasmas, se référer aux références<sup>5-7</sup>.

**PROCEDURE:**

Le coffret peut être utilisé en méthode manuelle ou automatisée. Le test est réalisé à 37°C, et le temps de coagulation, déclenché par l'ajout de Chlorure de Calcium à 0,025M, est mesuré.

Pour une méthode automatisée, les guides d'applications sont disponibles sur demande. Se référer aux guides d'application et aux précautions spécifiques pour chaque automate.

**Méthode de dosage:**

1. Reconstituer, si nécessaire, les contrôles comme indiqué dans les notices spécifiques.
2. Les plasmas doivent être testés **non dilués**.
3. Dans une cuvette, tube pour tests en plastique ou en verre siliconé à 37°C :

	Volume
Echantillon ou contrôles non dilués.	100 µL
<b>R</b> aPTT	100 µL
Mélanger et incuber exactement 3 minutes à 37°C, puis introduire (en déclenchant le chronomètre):	
Chlorure de Calcium à 0,025M préincubé à 37°C	100 µL
Noter très exactement le temps de coagulation (arrêt de la bille ou index métallique, ou coagulation observée par « prise en masse »...).	

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:**

- Le TC obtenu pour l'échantillon doit être comparé à celui de la zone normale de référence du laboratoire (se référer aux recommandations locales en vigueur).
- Les résultats peuvent être reportés en ratio :  
Ratio TCA = échantillon (TC, sec) / Moyenne des normaux (TC, sec).
- Le réactif doit être utilisé en association avec le réactif hautement sensible CEPHEN™ LS (CK521K / CK522K) pour l'exploration du LA<sup>2-7</sup>.
- Les résultats doivent être interprétés selon l'état clinique et biologique 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.
- Différent médicaments ou traitements peuvent affecter les résultats du TCA. Une investigation supplémentaire doit être menée pour déterminer l'origine de chaque résultat inattendu ou anormal.
- Le TC obtenu pour un même échantillon et un même lot de réactifs est susceptible de varier en fonction de l'instrument utilisé et du mode de détection du caillot.
- Pour une sensibilité optimale à l'héparine, le plasma testé doit être prélevé et traité sans activation ni libération de granules alpha plaquettaire, qui contiennent du PF4, un inhibiteur de l'héparine.<sup>5,6</sup>
- La sensibilité à l'héparine peut varier légèrement de lot à lot pour un même réactif. La même concentration plasmatique d'anticoagulant (héparine), peut donner des allongements de TCA variables, en particulier chez les patients de réanimation ou de soins intensifs<sup>8-9</sup>.
- Ce réactif a une sensibilité modérée au LA.
- Le réactif est sensible à un déficit en prékallicréine <1%, il n'est pas sensible pour des concentrations >5%.

#### **VALEURS ATTENDUES:**

A titre d'exemple, pour un lot, la zone de référence chez des adultes sains (n=120) sur Sysmex CS-5100 (Central 90%, 95th percentile) était mesurée entre 24 et 35 secondes. Chaque laboratoire doit déterminer ses propres zones usuelles (zone normale, sensibilité à l'héparine...) pour chaque combinaison de lot et d'instrument utilisé.

#### **PERFORMANCES:**

- Le réactif est sensible aux faibles concentrations d'héparine plasmatique (à partir de 0,1 UI/mL d'Héparine non fractionnée).
- Les études de performances ont été réalisées en interne sur Sysmex CS-5100. Les performances ont été évaluées avec les contrôles du laboratoire sur 5 jours, 2 séries par jour et 2 répétitions à chaque série pour un niveau de contrôle. Les résultats suivants ont été obtenus :

Contrôle	Intra-essai				Inter-essais			
	N	Moy.	CV%	SD	n	Moy.	CV%	SD
Control 1	40	29,5	0,3	0,1	20	29,6	1,4	0,4
Control 2	40	58,1	0,3	0,2	20	58,5	0,9	0,5

- Corrélation avec une autre méthode (Dade Actin FS APTT Reagent sur Sysmex CS-5100 sur TCA en secondes) :  
n = 150    y = 1,21x -2,64    r = 0,958

#### **Interférences:**

Aucune interférence, sur l'automate Sysmex CS-5100 n'a été observée avec les molécules et jusqu'aux concentrations suivantes:

Intralipides (mg/dL)	Hemoglobines (mg/dL)	Bilirubine (F/C) (mg/dL)	Apixaban (ng/mL)
1000	1000	30	50

Se référer également au guide d'application spécifique de l'automate utilisé.

#### **REFERENCES:**

- Kamal AH. *et al.* How to interpret and pursue an abnormal prothrombin time activated partial thromboplastin time, and bleeding time in adults. Mayo Clin Proc. 2007.
- Kumano O. *et al.* Use of a lupus anticoagulant-resistant routine APTT reagent as a convenient confirmatory test. ISTH 2016 Abstract.
- H60-A Document: "Laboratory Testing for the Lupus Anticoagulant; Approved Guideline". 2014.
- Kumano O. *et al.* Paired APTTs of low and high lupus anticoagulant sensitivity permit distinction from other abnormalities and achieve good lupus anticoagulant detection rates in conjunction with dRVVT. International Journal of Laboratory Hematology. 2018.
- CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008
- Woodhams B. *et al.* Stability of coagulation proteins in frozen plasma. Blood coagulation and Fibrinolysis. 2001.
- WHO Reference Panel 1st International Reference Panel for Lupus Anticoagulant NIBSC code: 13/172, 2015.
- Van Roessel S. *et al.* Accuracy of aPTT monitoring in critically ill patient treated with unfractionated heparin. The Journal of Medicine. 2014.
- Gouin-Thibaut I. *et al.* Monitoring unfractionated heparin with APTT: A French collaborative study comparing sensitivity to heparin of 15 APTT reagents. Thrombosis Research 129. 2012.

#### **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.**