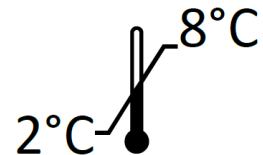


# ACTICHROME<sup>®</sup> Heparin (Anti-FXa)

**REF 832**



Obelis s.a  
Boulevard Général Wahis 53, 1030 Brussels, BELGIQUE

## USAGE PRÉVU

ACTICHROME® Heparin (Anti-FXa) est un test chromogène destiné à la mesure quantitative de l'héparine thérapeutique, par la mesure de l'activité du facteur Xa, dans le plasma de patients sous traitement anticoagulant. Le test est destiné aux professionnels de laboratoire et peut être réalisé manuellement, ou à l'aide d'analyseurs de coagulation semi-automatisés ou automatisés. Le test est destiné à un usage diagnostique *in vitro*.

## EXPLICATION DU TEST

L'effet inhibiteur de l'antithrombine III (AT-III) sur la thrombine, le facteur Xa et d'autres protéases à sérine de la coagulation dans le plasma est multiplié plusieurs milliers de fois par l'héparine. Cette inhibition explique l'effet anticoagulant de l'héparine. Les préparations d'héparine de bas poids moléculaire (HBPM) semblent catalyser la réaction entre le facteur Xa et l'AT-III plus facilement que la réaction entre la thrombine (FIIa) et l'AT-III. L'héparine non fractionnée (HNF) catalyse les deux réactions de manière égale. Cela fait du test d'inhibition du facteur Xa le test le plus utile, car il est applicable à la plus grande variété de préparations d'héparine.

## PRINCIPE DE LA MÉTHODE

ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) est un test chromogène en plusieurs étapes permettant de mesurer l'activité de l'héparine en mesurant l'activité résiduelle du facteur Xa. Au cours de la première étape, l'AT-III est ajoutée au plasma du patient et incubée à 37°C. Au cours de la deuxième étape, le facteur Xa bovin est ajouté au mélange et de nouveau incubé à 37°C. L'héparine présente dans l'échantillon du patient inhibe l'activité du facteur Xa. Enfin, un substrat chromogène, hautement spécifique du facteur Xa, est ajouté au mélange, suivi d'une incubation finale à 37°C. L'activité du facteur Xa présent hydrolyse le substrat, libérant un chromophore p-nitroaniline (pNA) qui colore le mélange en jaune. La réaction du dosage est stoppée par l'ajout d'acide acétique, qui colore le mélange en bleu. L'absorbance de la pNA dans la solution réactionnelle à 405 nm est mesurée et comparée aux valeurs obtenues à partir d'une courbe d'étalonnage générée à l'aide des niveaux d'activité d'héparine connus. Le taux d'inhibition du facteur Xa est directement proportionnel à la concentration d'héparine puisque le facteur Xa et l'AT-III sont tous deux en excès. L'activité résiduelle du facteur Xa est inversement proportionnelle à la concentration d'héparine.<sup>1,2</sup>

## RÉACTIFS

Le kit contient des réactifs suffisants pour réaliser 200 tests à l'aide d'un analyseur de coagulation automatisé, 100 tests si une méthode en point final manuelle est utilisée.

**R1 Réactif du Facteur Xa Bovin :** 4 flacons (lyophilisés).

**R2 Réactif de l'Antithrombine III Humaine :** 4 flacons (lyophilisés)

**R3 SPECTROZYME® FXa** : 4 flacons contenant chacun 4 µmol de substrat (lyophilisé).




**AVERTISSEMENT**

Ce produit contient une matière d'origine humaine qui s'est avérée non réactive à l'antigène de surface de l'hépatite B (AgHBs), au virus de l'hépatite C (VHC) et au virus de l'immunodéficience humaine de type 1 et de type 2 (VIH-1, VIH-2) selon des méthodes enregistrées. Comme aucune méthode de test connue ne peut fournir une assurance complète que les produits dérivés d'échantillons humains ne transmettront pas l'AgHBs, le VHC, le VIH-1, le VIH-2 ou d'autres agents pathogènes transmissibles par le sang, ce réactif doit être manipulé conformément aux recommandations pour tout échantillon humain potentiellement infectieux.

Ce produit contient des matières d'origine animale. Comme aucune méthode de test connue ne peut fournir une assurance complète que les produits dérivés d'échantillons animaux ne transmettront pas d'agents pathogènes transmissibles par le sang, ce réactif doit être manipulé conformément aux recommandations pour tout échantillon potentiellement infectieux.

Éliminez le matériel et l'emballage mis au rebut conformément à toutes les réglementations locales applicables.

Si un incident grave se produit lors de l'utilisation d'ACTICHROME Heparin (Anti-FXa), contactez BioMedica Diagnostics ou votre distributeur local, et signalez-le aux autorités compétentes locales.

Facteur Xa Bovin	Avertissement		<table border="1"> <tr> <td>CONT</td> <td>Tris-(hydroxyméthyl)aminométhane</td> </tr> </table> <p>H315, H319, H335, P261, P264, P280, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P337 + P313</p>	CONT	Tris-(hydroxyméthyl)aminométhane
CONT	Tris-(hydroxyméthyl)aminométhane				
Homme Antithrombine III	Avertissement		<p>H315, H319, H335, P261, P264, P280, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P337 + P313</p>		
SPECTROZYME® FXa	Avertissement		<table border="1"> <tr> <td>CONT</td> <td>Acétate de N-méthoxycarbonyl-D-cyclohexyl-glycyl-glycyl-arginine-para-nitroanilide</td> </tr> </table> <p>H315, H319, H335, P261, P264, P280, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P337 + P313</p>	CONT	Acétate de N-méthoxycarbonyl-D-cyclohexyl-glycyl-glycyl-arginine-para-nitroanilide
CONT	Acétate de N-méthoxycarbonyl-D-cyclohexyl-glycyl-glycyl-arginine-para-nitroanilide				

- Mentions de Danger**
- H315 Provoque une irritation cutanée.
  - H319 Provoque une sévère irritation des yeux.
  - H335 Peut irriter les voies respiratoires.

**Conseils de Prudence :**

- P261 Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.
- P264 Se laver soigneusement les mains après manipulation.
- P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.
- P302 + P352 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : laver abondamment à l'eau.
- P305 + P351 + P338 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.
- P337 + P313 Si l'irritation oculaire persiste : consulter un médecin.

## PRÉPARATION ET STOCKAGE DES RÉACTIFS

Les réactifs lyophilisés sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette lorsqu'ils sont conservés conformément aux instructions.

- R1 Réactif du Facteur Xa Bovin:** Reconstituer avec 5 ml d'eau désionisée. Le réactif reconstitué est stable pendant 4 semaines à -20°C.
- R2 Réactif de l'Antithrombine III Humaine:** Reconstituer avec 5 ml d'eau désionisée. Le réactif reconstitué est stable pendant 4 semaines à -20°C.
- R3 SPECTROZYME® FXa:** Reconstituer avec 5 ml d'eau désionisée. Le réactif reconstitué est stable pendant 4 semaines à -20°C.

## PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

Seul le plasma pauvre en plaquettes collecté sur citrate peut être utilisé pour ce test. Ne pas utiliser de plasma EDTA. Voir « Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline-Fifth Edition » (Collecte, transport et traitement des échantillons de sang pour les tests de coagulation plasmatique et les tests d'hémostase moléculaire ; Directives approuvées — cinquième édition), Document CLSI H21-A5, Vol. 28, N° 5, janvier 2008. Le prélèvement de plasma doit être effectué comme suit:

1. Prélevez 9 parts de sang dans 1 part de solution anticoagulante de citrate trisodique à 3,2% (0,109 M).
2. Centrifugez l'échantillon de sang à 3.000 x g pendant 15 minutes.
3. Le plasma doit être conservé à une température comprise entre 2°C et 8°C et analysé dans les 2 heures. Le plasma peut également être conservé à -70°C pendant 6 mois maximum.

4. Le plasma congelé doit être décongelé rapidement à 37°C. Les plasmas décongelés doivent être conservés à une température comprise entre 2°C et 8°C et analysés dans les 2 heures.

## PROCÉDURE

**Matériel Fourni** — Voir Réactifs

### Matériaux Requis Mais Non Fournis

Analyseur de coagulation automatisé réglé à 405 nm  
Spectrophotomètre réglé à 405 nm et temps de laboratoire  
Eau désionisée  
Acide acétique glacial, NaCl à 0,9%  
Pipettes de 25 µl, 200 µl, 500 µl et 2.500 µl  
Bain d'eau ou bain sec à 37°C  
Tubes à essai en plastique ou microcuvettes  
Plasma normal disponible dans le commerce  
Héparine — Voir « Calibration du test »

### Calibration du Test

Le plasma humain normal mélangé (au moins 10 donneurs normaux) ayant été collecté de la même manière que les plasmas à tester, peut être utilisé dans la préparation des étalons d'héparine. Le plasma humain normal mélangé (provenant d'au moins 20 donneurs normaux) ayant été collecté de la même manière que les plasmas à tester ou le plasma normal disponible dans le commerce peut être utilisé pour la préparation des étalons d'héparine. La préparation d'héparine spécifique utilisée pendant le traitement doit être ajoutée au plasma normal mélangé pour préparer les étalons. Préparez une solution d'héparine de 8,0 unités USP/ml dans une solution saline (NaCl à 0,9%). Si vous commencez avec une solution mère d'héparine de 1.000 unités/ml, pipetez 40 µl de la solution mère d'héparine dans 4,96 ml de solution saline. Préparez ensuite les étalons d'héparine à l'aide de la solution de 8,0 unités USP/ml comme indiqué dans le tableau 1.

**Tableau 1 — Préparation des Étalons d'Héparine**

Étalon d'Héparine	Plasma Normal Mélangé	Volume d'Étalon d'Héparine
0,8 unité/ml	900 µl	100 µl de 8,0 unités USP/ml
0,4 unité/ml	500 µl	500 µl de 0,8 unités USP/ml
0,2 unité/ml	500 µl	500 µl de 0,4 unités USP/ml
0,0 unité/ml	500 µl	Aucun.

## Procédure de Test

ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) peut être réalisé manuellement ou à l'aide d'analyseurs de coagulation semi-automatisés ou automatisés.

### Méthode d'Instrumentation Automatisée

BioMedica Diagnostics propose des applications d'instruments pour réaliser l'ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) sur plusieurs analyseurs de coagulation. Ces applications d'instruments peuvent contenir des données de programmation et de performance spécifiques à la plate-forme qui diffèrent de celles fournies dans ce mode d'emploi. Dans ces cas, les informations contenues dans l'application d'instruments remplacent les informations de ce mode d'emploi. Veuillez consulter le manuel de l'instrument spécifique du fabricant pour obtenir des instructions d'utilisation complètes. La performance de ce test a été déterminée sur un analyseur optique MLA ELECTRA 900C™.

### Méthode en Point Final Manuelle

1. Ajoutez 200 µl d'AT-III dans un tube à essai en plastique.
2. Ajoutez 25 µl d'échantillon de plasma ou d'étalon d'héparine. Mélangez et incubez à 37°C pendant 2 minutes.
3. Ajoutez 200 µl de facteur Xa bovin. Mélangez et incubez à 37°C pendant exactement 1 minute.
4. Ajoutez 200 µl de FXa SPECTROZYME. Mélangez et incubez à 37°C pendant exactement 5 minutes.
5. Ajoutez 200 µl d'acide acétique glacial. Mélangez.
6. Ajoutez 200 µl d'eau désionisée (facultatif).\*
7. Lisez l'absorbance à 405 nm dans une microcuve de 1 cm par rapport à un blanc préparé dans l'ordre suivant :

200 µl d'acide acétique  
200 µl d'AT-III  
25 µl de plasma normal mélangé  
200 µl de facteur Xa  
200 µl de FXa SPECTROZYME  
\* 200 µl d'eau (facultatif)

\* Certains spectrophotomètres exigent un volume minimum de 1 ml dans la microcuve.

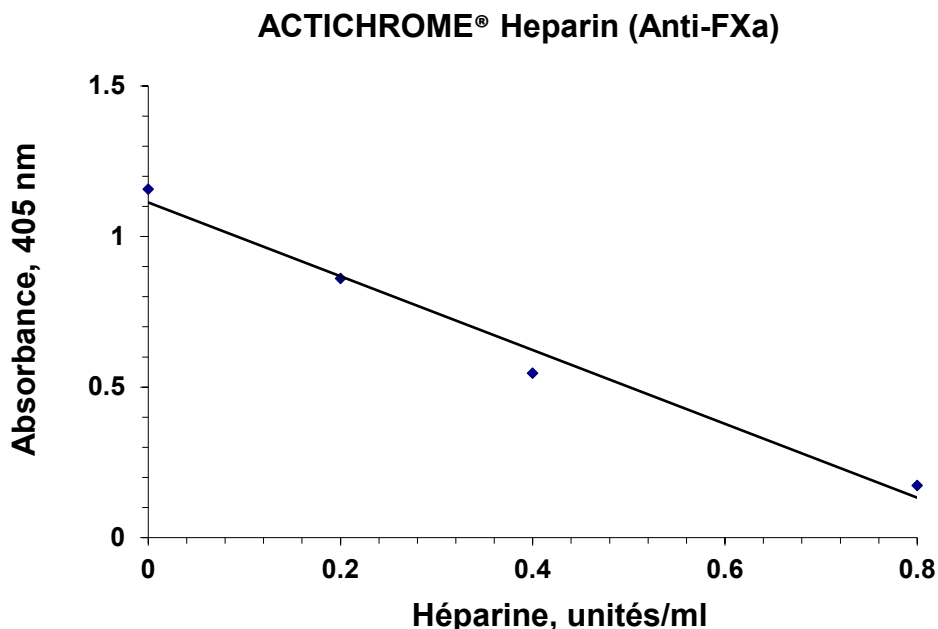
## CONTRÔLE QUALITÉ

Les échantillons de contrôle qualité doivent être analysés conformément aux directives du laboratoire. Les échantillons de contrôle doivent être effectués sur des flacons de réactif fraîchement reconstitués et à chaque fois que le test est effectué. Du plasma de contrôle hépariné commercial peut être utilisé pour le contrôle qualité du test. Il est également possible de préparer du plasma normal mélangé contenant 0,5 et 0,25 unités/ml d'héparine et de l'utiliser comme contrôle interne. Si les échantillons de contrôle qualité ne permettent pas d'obtenir des concentrations d'héparine dans les plages correctes pour un test donné, le test doit être répété avec des réactifs fraîchement reconstitués.

## RÉSULTATS

Élaborez une courbe d'étalonnage en traçant l'absorbance moyenne à une longueur d'onde de 405 nm pour chaque étalon d'héparine en fonction de sa concentration correspondante et dessinez la courbe d'étalonnage la mieux ajustée. Interpolez l'héparine dans les échantillons inconnus directement à partir de la courbe d'étalonnage. Une courbe d'étalonnage doit être générée à chaque fois que le test est effectué. La courbe suivante est uniquement destinée à des fins de démonstration.

### Courbe d'Étalonnage Représentative



## LIMITES DE LA PROCÉDURE

Des préparations d'héparine différentes peuvent donner lieu à des pentes différentes de la courbe d'étalonnage. La même héparine que celle administrée au patient doit être utilisée pour générer la courbe d'étalonnage.

La contamination des plaquettes dans les échantillons de plasma peut entraîner la libération du facteur plaquettaire 4 (FP4), un puissant neutralisant de l'héparine. Le FP4 libéré dans le plasma peut entraîner une sous-estimation de la concentration d'héparine. La congélation et la décongélation des plaquettes sont connues pour libérer le FP4 des plaquettes. Si le plasma doit être congelé et décongelé avant d'être utilisé dans le test, il doit être préparé comme décrit dans la section de préparation de l'échantillon afin qu'il soit pauvre en plaquettes.

## INTERFÉRENCES

Les échantillons ictériques, lipémiques et hémolysés peuvent interférer avec les résultats du test. Des études ont révélé que ces échantillons entraînaient une sous-estimation de la concentration d'héparine<sup>3</sup>.

## CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES

### Exactitude

Une étude réalisée à l'aide d'un instrument automatisé pour évaluer l'ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) par rapport à un autre test d'héparine chromogène disponible dans le commerce (utilisant de l'héparine non fractionnée) a engendré un coefficient de corrélation de 0,913 pour 92 échantillons testés, avec une équation de régression de  $y = 0,84x + 0,003$ . Erreur type d'estimation = 0,07.

Une étude réalisée à l'aide d'un instrument automatisé pour évaluer l'ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) par rapport à un autre test d'héparine chromogène disponible dans le commerce (utilisant de l'héparine de bas poids moléculaire) a engendré un coefficient de corrélation de 0,895 pour 26 échantillons testés, avec une équation de régression de  $y = 1,36x - 0,139$ . Erreur type d'estimation = 0,14.

### Précision

Les estimations suivantes du coefficient de variation (CV) ont été observées à l'aide d'un spectrophotomètre automatisé.

**Tableau 2 — Variations Intra-Test et Entre Les Tests**

Concentration d'HNF	Variation Intra-Test	Variation Entre Les Tests
0,44 unité/ml	3,3%	4,1%
0,25 unité/ml	5,6%	4,8%

Concentration d'HBPM	Variation Intra-Test	Variation Entre Les Tests
0,48 unité/ml	2,9%	6,2%
0,24 unité/ml	5,1%	9,3%

## Sensibilité

ACTICHROME Heparin (Anti-FXa) est conçu pour établir une courbe d'étalonnage linéaire pour des niveaux d'héparine compris entre 0 et 0,8 unité/ml.

## Spécificité

La spécificité du test a été garantie par l'utilisation de facteur Xa bovin purifié et d'AT-III humaine purifiée. En outre, le substrat chromogène utilisé pour mesurer l'activité résiduelle du facteur Xa est hautement spécifique du facteur Xa.

## RÉSUMÉ DE LA SÉCURITÉ ET DES PERFORMANCES

Le résumé de la sécurité et des performances (SSP) est disponible dans la base de données européenne sur les dispositifs médicaux (Eudamed), à l'adresse suivante <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> sous le numéro de base UDI-DI (GMN) 0062794400265Q, ou sur demande.













## RÉFÉRENCES

1. Teien, A. N., Lie, M. and Abildgaard, U. Assay of heparin in plasma using a chromogenic substrate. *Thrombosis Research* **8**: 413-416, 1976.
2. Teien, A. N. and Lie, M. Evaluation of an amidolytic heparin assay method: Increased sensitivity by adding purified antithrombin III. *Thrombosis Research* **10**: 399-410, 1977.
3. Données internes BioMedica Diagnostics.

MLA est une marque déposée d'Instrumentation Laboratory, SpA

Les modifications par rapport à la révision précédente sont indiquées par des lignes pointillées rouges dans la marge de gauche.

## DEFINITION DES SYMBOLES

	Consulter Les Instructions d'Utilisation
	Avertissement
	Dispositif Médical de Diagnostic In Vitro
	Fabricant
	Température Limitation: Conserver Entre 2°C et 8°C
	Code de Lot / Numéro de Lot
	Date d'Expiration
	Numéro de Catalogue
	Marquage CE
	Représentant Autorisé Européen
	Contient Suffisamment Pour <n> Tests
	Contient