

Yumizen G AT

- Yumizen G200
- Yumizen G400 DDi/G405
- Yumizen G800/G800h/G850h
- Yumizen G1500/G1550/G1500h/G1550h

REF	1300036390
THROMBIN	4 x 3 mL
SUBSTRATE	4 x 3 mL
DILUENT	4 x 7 mL



HORIBA ABX SAS
Parc Euromédecine
Rue du Caducée
BP 7290
34184 Montpellier Cedex 4
FRANCE

Réactif de diagnostic *in vitro* pour la détermination de l'activité antithrombine par test chromogène.

Version de l'application ^{a b}

	Nom du test
Yumizen G1500/G1550	AT
Yumizen G1500h/G1550h	AT
Yumizen G800	AT
Yumizen G800h/G850h	AT
Yumizen G405	AT
Yumizen G400 DDi	AT
Yumizen G200	AT

Utilisation prévue (1, 2) ^c

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Yumizen G AT est un essai chromogène utilisé pour la détermination quantitative de l'activité antithrombine (AT) dans le plasma humain citraté.

Intérêt clinique (3) ^d

Les fonctions antithrombine jouent un rôle important dans la régulation de la coagulation sanguine et sont essentielles à l'efficacité d'un traitement à l'héparine. L'antithrombine et la thrombine forment un complexe stœchiométrique.

La vitesse de formation du complexe augmente significativement avec la présence d'héparine. L'effet antithrombotique apparaît donc immédiatement avec la présence d'héparine.

Méthode (1) ^e

Test **Yumizen G AT** pour la détermination du taux d'AT, qui s'effectue en deux étapes :

1. L'échantillon de plasma est incubé avec une quantité excessive connue de thrombine en présence d'héparine.
2. Après formation du complexe, l'activité de la thrombine résiduelle est déterminée avec un substrat de thrombine chromogène (mesure de l'absorbance à 405 nm).

La quantité de thrombine inhibée est proportionnelle au taux d'AT de l'échantillon.

Le résultat de la mesure d'absorbance est obtenu sous la forme d'une densité optique par unité de temps (DO/min). Il est converti en pourcentage (%) au moyen d'une équation de calibration.

Réactifs ^b

Réactif 1

Yumizen G AT Thrombin est lyophilisé.

Ce réactif se compose de thrombine bovine dans une solution tampon qui contient de l'héparine et un conservateur.

Thrombine bovine	< 1%
Héparine	< 0,1 g/L

^aModification : nouvel instrument ajouté.

^bModification : chapitre ajouté.

^cModification : nouvelle forme de notice.

^dModification : § « Intérêt clinique » modifié.

^eModification : § « Méthode » modifié.

Yumizen G AT

Albumine bovine	< 10 g/L
Azoture de sodium	< 1 g/L

Réactif 2

Yumizen G AT Substr. est lyophilisé.
Ce réactif se compose d'un substrat de thrombine chromogène qui contient un conservateur.

Substrat de thrombine	< 2 g/L
-----------------------	---------

Réactif 3

Yumizen G AT Dil. est prêt à l'emploi.
Ce réactif est un tampon qui contient un conservateur.

Azoture de sodium	< 1 g/L
-------------------	---------

Yumizen G AT doit être utilisé conformément à la présente notice.
Le fabricant ne peut garantir son efficacité si ces conditions ne sont pas respectées.

Manipulation ^f

1. Laisser les flacons reposer pendant 5 min (20 - 25°C) avant reconstitution.
2. Reconstituer le contenu des flacons avec de l'eau désionisée ou purifiée comme suit :
 - **Yumizen G AT Thrombin** : 3 mL
 - **Yumizen G AT Substr.** : 3 mL
 - **Yumizen G AT Dil.** : Prêt à l'emploi

En ouvrant le flacon, veiller à ne pas perdre de lyophilisat.

3. Remettre les bouchons et retourner doucement les flacons (8 à 10 fois) pour disperser le contenu (éviter la formation de mousse).
4. Laisser les flacons reposer pendant au moins 30 min (20 - 25°C).
5. Bien mélanger les flacons une fois de plus avant utilisation.
6. **Pour analyseurs automatiques uniquement** : placer les flacons dans l'instrument sans bouchon comme suit :
 - **Yumizen G AT Thrombin** : Support de réactif
 - **Yumizen G AT Substr.** : Support de réactif
 - **Yumizen G AT Dil.** : Support auxiliaire

Pour des performances optimales, enlever le réactif de l'instrument après utilisation, fermer le flacon et le conserver à 2 - 8°C.

Le contrôle doit être analysé quotidiennement en même temps que les échantillons de patients, y compris à chaque fois qu'une calibration est réalisée.

La fréquence des contrôles dépend de la réglementation du laboratoire.

Chaque laboratoire doit établir les procédures d'assurance qualité à suivre. Elles doivent être conformes aux exigences actuelles en matière d'agrément et à la législation en vigueur.

Attention à ne pas intervertir les bouchons avec ceux d'autres produits.

Calibrant ^b

Informations sur le calibrant

Yumizen G CAL (1300036146) (non inclus)

Cette dimension rapportée par l'analyse est calculée à partir d'une courbe de calibration lin-lin.

Toute détermination AT requiert la calibration locale avec le lot donné de réactif sur l'instrument donné.

Procédure de calibration pour les analyseurs semi-automatiques

La calibration est un processus basé sur la dilution du calibrant qui peut être utilisé avec les instruments HORIBA (Gamme Yumizen G).

1. Préparer une dilution en série de l'étalon **Yumizen G CAL** comme suit :

	Point 1	Point 2	Point 3	Point 4
Taux de dilution	1/20	1/40	1/60	0
Yumizen G CAL	20 µL	100 µL Point 1 (1/20)	100 µL Point 1 (1/20)	0 µL
Yumizen G AT Dil.	380 µL	100 µL	200 µL	100 µL
Volume total	400 µL	200 µL	300 µL	100 µL

2. Exécuter chaque étalon dilué conformément au chapitre *Procédure pour les analyseurs semi-automatiques*.

Il est recommandé de procéder à une double mesure.

^fModification : § « Manipulation » modifié.

^bModification : chapitre ajouté.

Yumizen G AT

3. Préparer la courbe d'étalonnage comme suit :

Taux de dilution	%	DO/min
1/20	X ^(a)	Résultat 1
1/40	X/2	Résultat 2
1/60	X/3	Résultat 3
0	0	Résultat 4

^a: Valeur **Yumizen G CAL** issue de l'annexe jointe

4. Rapporter les résultats % et DO/min dans le menu de calibration de votre instrument.

5. Saisir les données à l'aide de l'icône « points ».
Se référer au manuel d'utilisation de votre instrument.

En cas d'utilisation de tout autre analyseur d'hémostase, suivre les instructions fournies dans le mode d'emploi.

Contrôle ^b

Pour le contrôle qualité interne, utiliser :

- **Yumizen G CTRL I & II** (1300036412) (non inclus)
5 x 1 mL + 5 x 1 mL

La fréquence des contrôles et les intervalles de confiance doivent être adaptés aux exigences du laboratoire et aux directives spécifiques de votre pays. Pour tester des matériels de contrôle de qualité, vous devez suivre les directives fédérales, nationales et locales. Les résultats doivent être situés entre les limites de confiance définies. Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites de confiance. Chaque contrôle doit être testé quotidiennement et/ou après chaque étalon.

Procédure pour les analyseurs semi-automatiques ⁹

Yumizen G AT peut être utilisé sur des analyseurs semi-automatiques (Gamme Yumizen G), conformément à la procédure suivante.

Il est recommandé de procéder à une double mesure.

1	Diluer l'échantillon avec le Yumizen G AT Dil.	1:20
2	Ajouter l'échantillon dilué dans la cuvette.	50 µL

3	Incuber à 37°C.	30 s
4	Ajouter le Yumizen G AT Thrombin.	50 µL
5	Incuber à 37°C.	2min
6	Ajouter le Yumizen G AT Substr.	50 µL
7	Commencer immédiatement la mesure à 405 nm.	10 - 40 s

En cas d'utilisation de tout autre analyseur d'hémostase, suivre les instructions fournies dans le mode d'emploi.

Matériel nécessaire, mais non fourni ^h

- Les analyseurs HORIBA (Gamme Yumizen G) sont recommandés.
- Des analyseurs tiers peuvent aussi être utilisés sous réserve d'autorisation de la méthode basée sur la chromogénèse à 405 nm et d'avoir libre accès à la configuration de test.
- Etalon : **Yumizen G CAL** (1300036146)
- Contrôle : **Yumizen G CTRL I & II** (1300036412)
- Eau désionisée ou purifiée
- Equipement standard de laboratoire

Echantillon ⁱ

Plasma

- Plasma anticoagulé au citrate de sodium à 3,2% (109 mmol/L) dans le tube primaire.
- Plasma anticoagulé au citrate de sodium 3,2% (109 mmol/L), théophylline, adénosine, dipyridamole (CTAD) dans le tube primaire.

Mélanger le sang soigneusement.

Centrifugation de l'échantillon

Vitesse	Temps	Température
1500 g	15 min (pas moins)	température ambiante

Stabilité de l'échantillon (4)

- A 20 - 25°C : 4 heures
- A 2 - 8°C : 4 heures
- A -24°C : 24 mois (seulement le plasma)

^bModification : chapitre ajouté.

⁹Modification : § « Procédure pour les analyseurs semi-automatiques » modifié.

^hModification : § « Matériel nécessaire, mais non fourni » modifié.

ⁱModification : § « Échantillon » modifié.

Yumizen G AT

Pour décongeler le plasma :

1. Décongeler rapidement l'échantillon de plasma congelé à 37°C.
2. Mélanger doucement l'échantillon.
Remettre en suspension toute précipitation en mélangeant bien immédiatement après la décongélation et avant de tester.
3. Tester l'échantillon immédiatement.

Le fait de mélanger est essentiel avant de tester car la précipitation de certaines protéines peut se produire à cause de la congélation.

Pour des informations supplémentaires, se reporter au document CLSI H21-A5.

Intervalle de référence ^b

Chaque laboratoire doit établir ses propres plages de référence.

Les valeurs mentionnées dans cette notice sont uniquement données à titre indicatif.

	Moyenne (%)	De (%)	à (%)
Plage adulte normale	100	80	120

Conservation et stabilité ^j

Stabilité avant ouverture

Stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette s'il est conservé à 2 - 8°C.

Stabilité après reconstitution

	2 - 8°C
Yumizen G AT Thrombin	7 jours
Yumizen G AT Substr.	7 jours
Yumizen G AT Dil.	7 jours

Stabilité opérationnelle

Divers récipients intégrés sont requis pour les réactifs et les diluants. Suivre les instructions du manuel pour les analyseurs automatiques.

Analyseurs automatiques

	20 - 25°C	15 - 19°C
Yumizen G AT Thrombin	-	3 jours
Yumizen G AT Substr.	-	3 jours
Yumizen G AT Dil.	3 jours	-

Ne pas congeler.

Yumizen G AT Substr.

Conserver à l'abri de la lumière.

Traitement des déchets ^b

- Se référer à la législation locale en vigueur.
- Ce produit contient moins de 0,01% d'azoture de sodium (conservateur). L'azoture de sodium est susceptible de réagir avec le plomb et le cuivre pour former des azotures métalliques explosifs.

Précautions générales ^k

- Ce produit est destiné au diagnostic *in vitro* professionnel uniquement.
Destiné à une utilisation en laboratoire.
- Réservé à l'usage prescriptif.
- Ce réactif est classé comme non dangereux conformément aux réglementations (CE) n° 1272/2008.
- **Réactif 1 (Yumizen G AT Thrombin)**
Avertissement : Ce produit a été obtenu à partir de substances d'origine animale. Il doit donc être considéré comme potentiellement infectieux et manipulé en prenant les précautions appropriées conformément aux bonnes pratiques de laboratoire (5).
- Ne pas pipeter à la bouche.
- Ne pas réapprovisionner les produits.
- Ne pas avaler. Eviter tout contact avec la peau et les muqueuses.
- Respecter les précautions d'emploi standard du laboratoire.
- Les flacons de produit doivent être jetés après leur utilisation. L'élimination de tous les déchets doit être conforme aux directives locales.
- Se référer à la FDS associée au produit.
- Ne pas utiliser le produit en cas de signe visible de détérioration biologique, chimique ou physique.
- Ne pas utiliser le produit si les conditions de stockage – y compris la température – ne sont pas respectées.

^bModification : chapitre ajouté.

^jModification : § « Conservation et stabilité » modifié.

^kModification : § « Précautions générales » modifié.

Yumizen G AT

- L'utilisateur doit être formé par un représentant HORIBA avant d'utiliser l'appareil.
- Il est de la responsabilité de l'utilisateur de vérifier si ce document est applicable au produit utilisé.
- Pour toute assistance technique, veuillez contacter le +33 (0)4 67 14 15 16.
- Tout incident grave survenu en relation avec le dispositif doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente du pays dans lequel l'utilisateur et/ou le patient sont établis.
- L'utilisation d'analyseurs d'hémostase tiers peut provoquer un risque de désynchronisation du système.
- La responsabilité d'évaluer le risque lié à l'utilisation d'analyseurs d'hémostase tiers incombe à l'utilisateur.

Performances (2, 6)

Les performances présentées ci-dessous sont représentatives des performances obtenues sur les systèmes HORIBA.

Variabilité d'un lot à l'autre ^b

La variabilité d'un lot à l'autre a été testée à l'aide d'une analyse de groupe d'échantillons entre des lots consécutifs. La différence d'unité des différents groupes d'échantillons sur les analyseurs de la Gamme Yumizen G donne le résultat suivant.

Groupe d'échantillons	Concentration normale	Pathologique
Différence	1,5%	6,4%

Volume d'échantillon ^b

Appareil	Volume
Yumizen G1500/G1550	50 µL (de l'échantillon dilué)
Yumizen G1500h/G1550h	50 µL (de l'échantillon dilué)
Yumizen G800	50 µL (de l'échantillon dilué)
Yumizen G800h/G850h	50 µL (de l'échantillon dilué)
Yumizen G405	50 µL (de l'échantillon dilué)
Yumizen G400 DDi	50 µL (de l'échantillon dilué)
Yumizen G200	50 µL (de l'échantillon dilué)

Limite de détection ^b

La limite de détection selon les recommandations du protocole CLSI (NCCLS) EP17-A2 (7) est de 10%.

Limite de détermination quantitative ^b

La limite de détermination quantitative selon les recommandations du protocole CLSI (NCCLS) EP17-A2 (7) est de 10%.

Précision

Répétabilité (sur des analyseurs automatiques) ^l

Répétabilité selon les recommandations du protocole CLSI (NCCLS), H57-A (8), EP05-A3 (9) (données obtenues lors d'une étude interne).

- 2 contrôles (10 passages)
- 2 échantillons (20 passages)

	Moyenne %	CV %
Echantillon de contrôle 1	108,8	1,730
Echantillon de contrôle 2	50,5	4,621
Echantillon 1	108,4	2,224
Echantillon 2	68,8	2,997

Critère d'acceptation maximal (CV %) : < 8%

Reproductibilité (sur des analyseurs automatiques) ^m

Reproductibilité selon les recommandations du protocole CLSI (NCCLS), EP05-A3 (9) (données obtenues lors d'une étude interne).

- 2 contrôles (10 passages)

	Moyenne %	CV %
Echantillon de contrôle 1	108,4	2,154
Echantillon de contrôle 2	47,2	6,326

Critère d'acceptation maximal (CV %) : < 15%

Intervalle de mesure ^b

L'intervalle de mesure et la linéarité sont déterminés jusqu'à 150% pour les instruments de la Gamme Yumizen G.

^bModification : chapitre ajouté.

^lModification : modification de la répétabilité.

^mModification : modification de la reproductibilité.

Yumizen G AT

Corrélation ^b

Les échantillons sont dosés comparativement à un réactif vendu dans le commerce pris comme référence sur les analyseurs HORIBA (Gamme Yumizen G).

- Méthode de régression de Passing-Bablok : 1,061 (pente)
- Diagramme de Bland-Altman : 0,63 (différence en %)

Interférences (10) ^b

Hémoglobine : Pas d'interférence significative observée jusqu'à une concentration de 16,7 g/L.

Triglycérides : Pas d'interférence significative observée jusqu'à une concentration d'Intralipid® (représentatif de la lipémie) de 40 mmol/L.

Bilirubine : Pas d'interférence significative observée jusqu'à une concentration de 750 µmol/L.

L'essai **Yumizen G AT** ne peut pas être appliqué en cas de présence d'inhibiteurs de la thrombine (par exemple, hirudine, nouveaux traitements anticoagulants oraux (NTAO), comme les inhibiteurs directs de la thrombine) dans l'échantillon du patient.

Performances cliniques ^b

La sensibilité et la spécificité cliniques, de même que la valeur prédictive positive et la valeur prédictive négative, ne sont généralement pas reportées pour ce test. Ceci est largement imputable au fait que cet essai d'antithrombine est un test fonctionnel.

Pour obtenir un diagnostic et un traitement, les résultats issus d'autres tests de coagulation de routine doivent être exploités en conjonction avec d'autres informations diagnostiques ainsi que l'évaluation de l'état de santé du patient par un professionnel de santé.

Précautions relatives aux caractéristiques

Les données de mesure ont été générées lors d'une évaluation des performances et ne sont pas recommandées comme critère d'acceptation.

Bibliographie

1. Blombäck M, Blombäck B, Olsson P and Svendsen L. The Assays of Antithrombin Using a Synthetic Chromogenic Substrate for Thrombin. *Thromb Res* (1974) **5** (5): 621-632.
2. Khor B, Van Cott EM. Laboratory tests for antithrombin deficiency. *Am J Hematol* (2010) **85**: 947-950.
3. One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test. Approved Guideline, 2nd ed., CLSI (NCCLS) document H47-A2 (2008) 28:20.
4. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays. Approved Guideline, 5th ed., CLSI (NCCLS) document H21-A5 (2008).
5. Council Directive (2000/54/EC). Official Journal of the European Communities. No. L262 from October 17, 2000: 21-45.
6. Meijer P, Haverkate F, Kluft C. Performance goals for the laboratory testing of antithrombin, protein C and protein S. *Thromb Haemost* (2006) **96**: 584-589.
7. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures. Approved Guideline, 2nd ed., CLSI (NCCLS) document EP17-A2 (2012).
8. Protocol for the Evaluation, Validation, and Implementation of Coagulometers. Approved Guideline, 1th ed., CLSI (NCCLS) document H57-A (2008).
9. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures. Approved Guideline, 3rd ed., CLSI (NCCLS) document EP05-A3 (2014).
10. Interference Testing in Clinical Chemistry. Approved Guideline, 2nd ed., CLSI (NCCLS) document EP07-A2 (2005).

^bModification : chapitre ajouté.