



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANT :
BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

BIO-TP LI (LOW ISI) Taux de Prothrombine (TP)

Pour la détermination du Taux de Prothrombine (INR) des plasmas humains

REF	13702	R1	10 x 2 mL	R2	1 x 25 mL
REF	13704	R1	6 x 4 mL	R2	1 x 25 mL
REF	13712	R1	6 x 12 mL	R2	1 x 80 mL

SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES

Tel : (33) 03 23 25 15 50

Fax : (33) 03 23 256 256



USAGE IN VITRO

INTERET CLINIQUE (1) (6) (7)

Le Temps de Quick (TQ) permet une exploration de la voie extrinsèque de la coagulation. Le TQ, converti en "taux de prothrombine" (TP) permet d'évaluer l'activité des facteurs du complexe prothrombinique en référence à un plasma normal à 100%. Le déficit de l'activité prothrombinique est associé à diverses causes :

- Maladie hémorragique du nouveau-né.
- Insuffisance hépatique (cirrroses, hépatites...).
- Avitaminose K ou administration d'antivitamines K (AVK).
- Déficiences congénitales en un des facteurs associés au complexe prothrombinique : prothrombine vraie (facteur II), proaccélérine (facteur V), proconvertine (facteur VII) et facteur Stuart (facteur X).
- Anticoagulants circulants.
- Fibrinolyse
- CIVD (coagulation intravasculaire disséminée)

Surveillance des traitements AVK :

La conversion du TQ en INR (International Normalised Ratio) permet de s'affranchir de l'incidence de la thromboplastine utilisée sur la détermination des valeurs usuelles. Un consensus international sur les intervalles de référence en INR a été établi dans le cadre du traitement et de la prophylaxie des thromboembolismes veineux et artériels. L'expression sous forme d'INR est à éviter dans le cadre du bilan pré-opératoire ou de l'exploration hépatique.

PRINCIPE (4)

Cette technique est basée sur les travaux de Quick et Al. On détermine le temps de coagulation à 37°C en présence de Thromboplastine tissulaire et de calcium. Le TQ ainsi mesuré pourra être converti en taux de prothrombine (TP) ou en INR.

REACTIFS

R1 **BIO-TP LI** Réactif Lyophilisé
Thromboplastine (Tissu cérébral de lapin)

Ce réactif n'est pas classé comme dangereux selon le règlement 1272/2008/CE

R2 **BIO-TP LI** Tampon **ATTENTION**

Hepes, Conservateur

Skin Sens.1 : H317 - Peut provoquer une allergie cutanée

P261 : éviter de respirer les aérosols, P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage, P302+352 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Laver abondamment à l'eau et au savon. P333+313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: Consulter un médecin, P501 : éliminer le contenu et le récipient conformément à la réglementation sur les déchets dangereux. Substance à l'origine de la classification : Sulfate de Nickel < 1%. Pour plus de détails, consulter la Fiche de données de Sécurité (FDS)

Après reconstitution: Le Réactif de travail (R1+R2) est classé comme le tampon (R2).

PRECAUTIONS

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro (ne pas pipeter avec la bouche).

- Consulter la FDS en vigueur disponible sur demande ou sur www.biolabo.fr
- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.

Par mesure de sécurité, traiter tout spécimen ou réactif d'origine biologique comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

PREPARATION DES REACTIFS

- **Réactif** (flacon R1)
Utiliser un objet non coupant (pointe de spatule) pour soulever la capsule aluminium et la déchirer.
- **Tampon** (flacon R2) : Prêt à l'emploi.
- **Réactif de travail** : Ajouter sans délai au contenu du flacon R1 la quantité de tampon (flacon R2) indiquée sur l'étiquette. Mélanger doucement jusqu'à dissolution complète.

STABILITE ET CONSERVATION

Stocker à l'abri de la lumière, dans le flacon d'origine bien bouché à 2-8°C, les réactifs sont stables, s'ils sont utilisés et conservés dans les conditions préconisées :

Avant ouverture :

- Jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.

Après reconstitution :

- Transvaser la quantité nécessaire, bien reboucher et stocker à 2-8°C.
- Le réactif de travail (R1+R2) est stable :
 - ✓ 8 h à température ambiante
 - ✓ 7 jours à 2-8°C.

Ne pas utiliser le réactif de travail après la date de péremption.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (2) (8)

Prélever par ponction veineuse franche.

- Anticoagulant (0,5 mL de citrate trisodique 2 H₂O 0,109 M pour 4,5 mL de sang). Eviter les prélèvements à la seringue qui favorisent la formation de micro-caillots. Centrifuger 5 minutes à 2500 g.
- Exécuter le test dans les 4 heures qui suivent le prélèvement en gardant le plasma à température ambiante (15-25°C).
- Le prélèvement sur tube "citrate HEPES", permet de prolonger le délai d'exécution jusqu'à 8 heures.

LIMITES (2) (3)

Des spécimens contaminés par la thromboplastine ou hémolysés peuvent aussi conduire à un raccourcissement du Temps de Quick. Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

1. Equipement de base du laboratoire d'analyses médicales.
2. Analyseur de coagulation automatique ou semi-automatique
3. Tampon Owren Koller pour l'établissement de la droite de Thivolle (résultats en %) REF 13883 non fourni.
4. Papier millimétré.



CALIBRATION

INR à partir du MNPT et ISI (toutes méthodes) :

L'ISI du réactif est déterminé par une étude sur plasmas humains avec cette Thromboplastine et la Thromboplastine de référence interne traçable sur RBT16 (WHO International Reference Thromboplastin, Rabbit plain). Les temps obtenus avec les 2 Thromboplastines sont reportés sur un graphe (Log to Log) et la pente est calculée.

L'ISI du réactif est calculé en multipliant la pente ainsi obtenue par l'ISI de la Thromboplastine de référence interne.

MNPT (Temps moyen d'un plasma normal) : Préparer un pool de plasmas frais, mesurer le temps de coagulation en triplicate et calculer la moyenne.

Déterminer les résultats en INR à partir du MNPT et de l'ISI du réactif (Index de Sensibilité International) indiqué dans le tableau spécifique du lot (§ CALCULS)

INR et PT% avec TP-CALSET **REF** 13965 :

- **Automate SOLEA 100** : Calibrer avec le set de calibration (3 Taux)
- **Technique manuelle sur Semi-automate BIO SOLEA 2, BIO SOLEA 4** : Mesurer en triplicate le temps de coagulation de chacun des 3 taux de TP-CALSET.

CONTRÔLE DE QUALITE

REF 13961	PLASMA CONTRÔLE Taux 1	6 x 1 mL
REF 13962	PLASMA CONTRÔLE Taux 2	6 x 1 mL
REF 13963	PLASMA CONTRÔLE Taux 3	6 x 1 mL

Ou

REF 13971	Coatrol 1	6 x 1 mL
REF 13972	Coatrol 2	6 x 1 mL

- programme externe de contrôle de la qualité.

Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :

- Au moins un contrôle par série.
- Au moins un contrôle par 24 heures.
- Changement de flacon de réactif.
- Après opération de maintenance sur l'analyseur.

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites de confiance recommandées, appliquer les actions correctives suivantes :

1. Refaire une mesure en utilisant le même contrôle.
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, préparer un plasma de contrôle fraîchement reconstitué et répéter le test.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, calibrer à nouveau en utilisant un autre flacon de réactif et répéter le test.
4. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un plasma de référence fraîchement reconstitué pour calibrer et répéter le test.
5. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local.

PERFORMANCES à 37°C SUR SOLEA 100

Etudes réalisées avec plasmas normaux et pathologiques

Intra-série N = 20	Taux 1	Taux 2	Taux 3	Inter-série N = 20	Taux 1	Taux 2	Taux 3
Moy (%)	97	32	17	Moy (%)	96	30	16,7
S.D. (%)	1,87	0,81	0,41	S.D. (%)	1,89	0,59	0,47
C.V. %	1,92	2,53	2,44	C.V. %	2,0	2,0	2,8

Comparaison avec réactif du commerce :

Etude sur 163 plasmas humains situés entre 14% et 123% :

$$Y = 1,1027 X + 0,1699 \quad r = 0,9963$$

Interférences sur TP (sec, INR) :

Turbidité	Pas d'interférence jusqu'à 0,404 abs
Héparine Bas Poids Moléculaire	Interférence positive à partir de 0,114 IU anti Xa
Héparine fractionnée non	Interférence positive à partir de 0,038 IU anti Xa
Bilirubine	Interférence positive à partir de 238 µmol/L
Hémoglobine	Interférence positive à partir de 209 µmol/L

D'autres substances peuvent interférer (voir § Limites)

Stabilité à bords : au moins 7 jours (8h par jour à bords)

Stabilité de la calibration : 6 semaines

Effectuer une nouvelle calibration en cas de changement de lot de réactif, si les résultats des contrôles sont hors critères, et après opération de maintenance

INTERVALLES DE REFERENCE (2) (6)

Temps de Quick (TQ):

- ✓ Entre 11 et 16 secondes en général (selon le réactif utilisé).

Taux de Prothrombine :

- ✓ Entre 70 et 100 %.
- ✓ Des taux supérieurs à 100% sont considérés comme normaux.

INR : Traitement anticoagulant oraux (AVK)

Indications	Zone thérapeutique (INR)		PT (%) Thromboplastine de lapin
	Cible	Limites	
Pré-opératoire et per opératoire :			
*Chirurgie de la hanche	2.5	2.0 – 3.0	35 %
*Autres chirurgies	2.0	1.5 – 2.5	40 %
Prophylaxie de la thrombose veineuse	2.5	2.0 – 3.0	35 %
Phlébite évolutive, embolie pulmonaire, phlébite récidivante	3.0	2.0 – 4.0	27 %
Prophylaxie artérielle, valve cardiaque artificielle	3.5	3.0 – 4.5	25 %

MODE OPÉRATOIRE

Méthode automatique sur SOLEA 100 : Application détaillée disponible sur demande

Méthode manuelle sur semi automate BIO SOLEA2, BIOSOLEA 4 : Pré incuber la Thromboplastine au moins 15 min à 37° et homogénéiser.

Plasma :	0,1 mL
Incuber 2 minutes à 37°C.	
Réactif de travail homogénéisé (R1+R2) à 37°C :	0,2 mL

Le décompte automatique du temps démarre à l'ajout du réactif de travail et s'arrête lors de la formation du caillot.

Note :

- Performances et stabilité ont été validés sur SOLEA100 et Thrombolyzer Compact X (disponibles sur demande).
 - En méthode manuelle et sur autres analyseurs de coagulation, performances et stabilité doivent être validés par l'utilisateur.
- D'autres applications ou propositions sont disponibles

CALCUL (6)

INR à partir du MNPT et ISI (toutes méthodes) :

$$\text{Calcul de INR} = \left(\frac{\text{Temps Patient}}{\text{Temps moyen normal}} \right)^{\text{ISI}}$$

- **Automate SOLEA 100 et Semi-automate BIO SOLEA 2, BIO SOLEA 4** : Les résultats INR seront calculés automatiquement après paramétrage de la méthode dans l'instrument.

- **Méthode manuelle** : Se référer au tableau spécifique du lot et sélectionner la colonne correspondant au MNPT, identifier la ligne correspondant au temps du plasma de patient et se reporter au résultat indiqué dans la colonne % ou INR correspondante. ou tracer la droite de Thivolle (dilutions du pool de plasmas normaux en tampon Owren Koller **REF** 13883). Sur papier millimétré, porter en abscisse les inverses de chaque dilution (1/d) et en ordonnée les temps de coagulation obtenus (en sec).

INR et PT% avec TP-CALSET **REF** 13965 :

- **Automate SOLEA 100** : INR et % seront calculés automatiquement selon les courbes de calibration.
- **Méthode manuelle sur Semi automate BIO SOLEA 2 et 4** : Entrer les temps moyens trouvés de chaque taux de TP-CALSET et les valeurs TP% correspondants dans le système. Les résultats % seront calculés automatiquement d'après la courbe de calibration.

REFERENCES

- (1) Caen J., Larrieu MJ, Samama M : « L'hémostase. Méthodes d'exploration et diagnostic pratique » Paris : L'Expansion Scientifique, p.344-347, (1975).
- (2) Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p.928-929
- (3) YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests, 4th Ed. (1995) p.3-513 à 3-517
- (4) Quick A. J.- J. Am. Assoc., (1938), **110**,p. 1658-1662
- (5) Duckert F., Marbet G.A. - Méd., et Hyg., (1977), **35**, p. 911
- (6) Goguel A.F. et Samama M.M. Feuillet de Biologie, (1985), vol.XXVI, (146) p. 25-28.
- (7) Houbouyan-Reveillard et al. Spectra biologie (2003) vol.22, n°132 p.33-37
- (8) Neofotistos D, Oropeza M., Ts'ao C-H : « Stability of plasma for add-on PT and PTT tests » Am. J. Clin. Pathol. 109, 6, 758-763, (1998)