



BIOPHEN™ Heparin LRT

REF	221011	R1	R2	4 flacons x 7.5 mL
REF	221013	R1	R2	3 flacons x 3 mL
REF	221015	R1	R2	4 flacons x 5 mL

IVD

Anti-Xa

Français, révision : 06-2024

UTILISATION:

Méthode chromogène anti-Xa pour la détermination quantitative *in vitro* des inhibiteurs du Facteur Xa (FXa), dans le plasma humain citraté, en utilisant une méthode automatisée. Cette méthode sert au suivi des patients sous Héparine (HNF / HBPM), Arixtra®, Orgaran® et vise à surveiller le statut anticoagulant, dans le cadre de situations cliniques spécifiques pour les patients sous traitement anticoagulant oral (Apixaban, Rivaroxaban et Edoxaban).

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

RESUME ET EXPLICATION:

Technique^{1,2, 4-7, 12-14}:

L'héparine est un polysaccharide sulfaté, de forte affinité pour l'antithrombine (AT). Complexé à l'héparine, l'AT devient un inhibiteur rapide et puissant des sérines estérases de la coagulation : IXa, Xa et thrombine. Les Héparines de Bas Poids Moléculaire (HBPM), et les analogues de l'héparine, tels que le Danaparoiqde Sodique, inhibent plus efficacement le FXa que la thrombine. Les dosages anti-Xa sont donc des méthodes de choix pour mesurer les héparines et leurs analogues.

Le BIOPHEN™ Heparin LRT est une méthode chromogène anti-Xa développée pour déterminer de façon homogène héparines non fractionnées (HNF) et HBPM, en utilisant une courbe de calibration unique. Cette méthode est aussi utile pour la détermination de l'activité anti-Xa de l'Orgaran® (Danaparoiqde Sodique) et de l'Arixtra® (Fondaparinux), inhibiteurs indirects dont l'activité est médiée par l'AT plasmatique, et pour la détermination des inhibiteurs anti-Xa directs (Rivaroxaban, Apixaban et Edoxaban), en utilisant des étalonnages spécifiques.

Clinique^{4-9, 12-14}:

Les anticoagulants de type héparines (HNF et HBPM) sont actuellement utilisés à titre curatif ou préventif. Un traitement anticoagulant alternatif (Orgaran® et Arixtra®) peut être utilisé dans des cas spécifiques. La mesure de la concentration de ces médicaments dans le plasma des patients permet le suivi thérapeutique et l'ajustement du dosage du médicament.

Le Rivaroxaban, l'Apixaban et l'Edoxaban sont des anticoagulants oraux directs (DOACs) utilisés pour les mêmes indications. Bien que le dosage chez les patients traités ne soit pas nécessaire, la mesure dans le plasma humain peut s'avérer utile dans certains cas, en particulier en cas de chirurgie d'urgence ou de suspicion de surdosage (risque hémorragique).

PRINCIPE:

La méthode BIOPHEN™ Heparin LRT est un dosage chromogène en une étape basé sur l'inhibition d'une quantité constante et en excès de FXa, par l'héparine (ou autre substance anti-Xa) à doser, en présence d'AT endogène. Le FXa résiduel hydrolyse un substrat chromogène spécifique (CS-11(32)) libérant la paranitroaniline (pNA)³. La quantité de pNA libérée (mesurée par l'absorbance à 405 nm) est inversement proportionnelle à la concentration d'héparine (ou autre substance anti-Xa) présente dans le milieu réactionnel.

REACTIFS:

R1 Substrat chromogène spécifique du Facteur Xa (CS-11(32)) à environ 2 mg/mL, sous forme liquide. Contient du 5-chloro-2-méthyl-2H-isothiazol-3-one et 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one. Contient des conservateurs et stabilisants.

Attention! H317 : Peut provoquer une allergie cutanée.

R2 Facteur Xa bovin à environ 4,5 U/mL, sous forme liquide. Contient de la BSA et du sulfate de Dextran¹⁰. Contient des conservateurs et stabilisants.

La concentration de Facteur Xa est ajustée si nécessaire pour chaque lot afin d'obtenir la réactivité et linéarité optimales pour le dosage.

MISE EN GARDE ET AVERTISSEMENTS:

- Ce matériel contient des substances d'origine animale et doit être manipulé comme un porteur et un transmetteur potentiel de maladies.
- Utiliser uniquement les réactifs d'un même lot de coffret.
- L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux réglementations locales en vigueur.
- Tout incident grave survenu en rapport avec le dispositif médical doit être signalé au fabricant et l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et / ou le patient est établi.
- Le résumé des caractéristiques de sécurité et des performances (SSP) est disponible sur la base de données Européenne sur les dispositifs médicaux (voir le site public Eudamed : <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> ou sur demande auprès d'HYPHEN BioMed).
- Veuillez consulter la Fiche de Données de Sécurité (FDS), disponible sur www.hyphen-biomed.com.
- P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/ aérosols.
- P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.
- P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin.

PREPARATION DES REACTIFS:

R1 **R2** Réactif prêt à l'emploi, homogénéiser en évitant la formation de mousse et charger directement sur l'automate en suivant les instructions du Guide d'Application.

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

- 90 jours à 2-8°C.
- Stabilité à bord de l'automate : se référer au Guide d'Application spécifique.

Si le substrat devient jaune, cela indique une contamination. Le flacon doit être jeté et un nouveau utilisé.

REACTIFS ET MATERIELS REQUIS MAIS NON FOURNIS:

- Isotonic Sample Diluent (AR034K/AR034L) ou Solution saline (0.9% NaCl).
- Optionnel : Tampon Tris-NaCl-EDTA, pH 7.85 (AR032A/AR032K), tampon de dilution spécial supprimant les interférences à l'héparine, aux concentrations usuelles, dans les dosages d'inhibiteurs directs du FXa.
- Etalons et contrôles spécifiques :

Etalons	BIOPHEN™ Apixaban Calibrator / Calibrator Low	BIOPHEN™ Rivaroxaban Plasma Calibrator / Calibrator Low	BIOPHEN™ Edoxaban Calibrator / Calibrator Low
Références	226201 / 226101	222701 / 226001	226501 / 226401
Contrôles	BIOPHEN™ Apixaban Control / Control Low	BIOPHEN™ Rivaroxaban Control Plasma / Control Low	BIOPHEN™ Edoxaban Control / Control Low
Références	225301 / 225201	224501 / 225101	225501 / 225401

Etalons	BIOPHEN™ UFH Calibrator	BIOPHEN™ Heparin Calibrator	BIOPHEN™ Orgaran® Calibrator	BIOPHEN™ Arixtra® Calibrator
Références	222301	222001	222201	222501
Contrôles	BIOPHEN™ UFH Control	BIOPHEN™ LMWH Control / Control Low	BIOPHEN™ Orgaran® Control	BIOPHEN™ Arixtra® Control Plasma
Références	223101 / 224101 / 223901	223001 / 223801 / 224201 / 223701 / 224301 / 224401	223501	224001

- Instrument automatique pour tests chromogéniques tel que : CS-series, STA-R® family, ACL-TOP® family, CN-series.
- Matériel de laboratoire.

Veuillez noter que les applications sur d'autres instruments peuvent être validées par le fabricant de l'instrument conformément aux exigences du RÈGLEMENT (UE) 2017/746 sous sa responsabilité tant que la destination et les performances ne sont pas modifiées.

TRACABILITE:

Les certificats de traçabilité et les notices d'utilisation des étalons et contrôles ci-dessus sont disponibles sur le site internet de HYPHEN BioMed. Pour plus d'informations, se référer aux notices d'utilisation des étalons et contrôles ci-dessus.

PRELEVEMENTS ET PREPARATION DES ECHANTILLONS:

La collecte, la préparation et la conservation du Plasma Pauvre en Plaquettes (PPP) doit être réalisée selon les méthodes du laboratoire ou autres méthodes validées^{16-18,21}.

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

CLSI H21-A5¹⁹ et études²¹ :

- Le plasma ne doit pas rester à température ambiante plus de 4 heures.
- Si les tests ne sont pas terminés dans les 4 heures, le plasma doit être congelé à -20 °C ou en dessous.
- Les échantillons de plasma doivent être décongelés à 37°C, une seule fois.

PROCEDURE:

HYPHEN BioMed fournit des Guides d'Application pour des familles d'instrument de coagulation définies. Les Guides d'Application contiennent des informations sur la manipulation et les performances spécifiques à l'instrument / test et complètent les informations de ces notices d'utilisation.

CONTROLE 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. Une nouvelle courbe de calibration doit être établie, de préférence, pour chaque série d'essai, et au moins pour chaque nouveau lot de réactif ou après chaque maintenance de l'automate, ou quand les valeurs des contrôles de qualité sont mesurées en dehors de la zone d'acceptation définie pour la méthode. Chaque laboratoire doit établir les zones d'acceptation et vérifier les performances attendues dans son système analytique.

RESULTATS:

- La concentration d'héparine (ou autre molécule anti-Xa) dans l'échantillon à doser est déduite directement de la courbe de calibration, si la dilution standard est utilisée.
- Les résultats sont exprimés en Unités Internationales/mL (UI/mL) pour l'Orgaran®, en UI/mL pour l'Orgaran®, en µg/mL pour l'Arixtra® ou en ng/mL pour le Rivaroxaban, l'Apixaban et l'Edoxaban.
- La variabilité inter-lots mesurée sur 3 lots est de : CV% < 1.0%
- 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 ne présentant pas d'aspect limpide ou présentant des signes de contamination doit être rejeté.
- Tout échantillon suspect ou présentant des signes d'activation doit être rejeté.
- Les échantillons fortement concentrés peuvent être pré-dilués dans un pool de plasmas normaux. Les concentrations mesurées doivent alors être multipliées par le facteur de dilution complémentaire.
- Une sous-estimation de la concentration en héparine et une résistance à l'héparine ont été rapportées chez certains patients présentant une amyloïdose¹¹.
- Lors de l'utilisation d'une courbe unique (HNF/HBPM), vérifier que l'instrument et le Guide d'Application utilisés permettent une superposition entre les calibrations HNF et HBPM selon le critère du Guide d'Application.
- Les modifications définies par l'utilisateur ne sont pas prises en charge par HYPHEN BioMed car elles peuvent affecter les performances du système et les résultats des tests. Il est de la responsabilité de l'utilisateur de valider les modifications apportées à ces instructions ou l'utilisation des réactifs sur d'autres instruments que ceux inclus dans les Guides d'Application HYPHEN BioMed ou ces instructions d'utilisation.
- L'activation du sang, durant le prélèvement et la préparation du plasma, peut être source de libération de Facteur 4 plaquettaire (PF4).
- En cas d'administration de l'andexanet alfa comme antidote, il est signalé que les tests d'activité anti-FXa disponibles sur le marché ne sont pas adaptés à la mesure de l'activité anti-FXa^{19,20}. Lors de ces tests, l'inhibiteur du FXa se dissocie de l'andexanet alfa. Des niveaux d'activité anti-FXa élevés sont ainsi détectés de façon erronée et, par conséquent, une sous-estimation substantielle de l'activité de réversion de l'andexanet alfa. Les données utilisant le test BIOPHEN™ Heparin LRT n'ont pas été établies.

VALEURS ATTENDUES:

Les médicaments anti-Xa sont absents du plasma normal.
Pour chaque médicament anti-Xa, la zone normale, la zone thérapeutique et la zone de risque hémorragique doivent être définies conformément aux recommandations locales en vigueur.

PERFORMANCES:

Les études de performances ont été menées conformément aux recommandations du CLSI.
Les données de performance suivantes représentent des résultats typiques et ne doivent pas être considérées comme des spécifications pour BIOPHEN™ Heparin LRT.
Les analyses mathématiques sont réalisées en utilisant un logiciel de statistique validé construit conformément aux recommandations CLSI.
Toutes les performances sont documentées dans les Guides d'Application des instruments respectifs.

Performances analytiques

Zone de mesure

La zone de mesure est définie par le système d'analyses utilisé et est documentée dans les Guides d'Application des instruments respectifs.

Précision

Des études de précision ont été évaluées à l'aide de contrôles du laboratoire et de plasmas groupés, surchargés. Le coefficient de variation (CV) pour tous les échantillons est inférieur à 10% pour la répétabilité, 10% pour la reproductibilité et 10% pour l'intra-laboratoire. La précision est documentée dans les Guides d'Application des instruments respectifs.

Substances interférentes

Les interférences sont définies par le système d'analyses utilisé et sont documentées dans les Guides d'Application des instruments respectifs.

Selon le principe de dosage, aucune interférence de médicament anti-IIa, n'est attendue. Avec le tampon Tris-NaCl-EDTA, pH 7.85 aucune interférence à l'héparine (HNF, HBPM) n'est attendue dans le test des inhibiteurs anti-Xa directs jusqu'à 2 UI/mL.

Le PF4 est un inhibiteur de l'héparine, l'optimisation du dosage a été réalisée de façon à limiter toute interférence du PF4 jusqu'à 0.1 µg/mL.

Si la concentration d'antithrombine (AT) dans le plasma testé est ≤50%, l'héparine (HNF et HBPM), Arixtra® ou Orgaran® peut être sous-estimée. Des concentrations élevées d'AT (> 170%) interfèrent avec le test.

Performances cliniques

Agrément

ACL-TOP® family				
Analyte	n	Régression linéaire	r	Méthode de référence / comparaison
HNF	145	y = 1.06x + 0.08	0.978	HemosIL® Liquid Anti-Xa
HBPM	142	y = 1.28x + 0.03	0.992	HemosIL® Liquid Anti-Xa
Orgaran®	163	y = 1.08x - 0.01	0.995	HemosIL® Liquid Anti-Xa
Arixtra®	153	y = 1.00x + 0.05	0.992	HemosIL® Liquid Anti-Xa
Apixaban	150	y = 0.90x + 10.72	0.994	HemosIL® Liquid Anti-Xa
Rivaroxaban	153	y = 1.20x + 0.66	0.995	HemosIL® Liquid Anti-Xa

STA-R® family				
Analyte	n	Régression linéaire	r	Méthode de référence / comparaison
Edoxaban	152	y = 0.82x + 4.11	0.966	STA® - Liquid Anti-Xa

CS-series				
Analyte	n	Régression linéaire	r	Méthode de référence / comparaison
HNF/HBPM (vs Heparin Calibrator)	182	y = 1.09x + 0.06	0.959	INNOVANCE® Anti-Xa

Sensibilité/Spécificité

ACL-TOP® family					
Analyte	n	Sensibilité	Spécificité	Aire sous la courbe ROC	
HNF	145	0.939	1.000	0.999	
HBPM	142	0.970	0.991	0.998	
Orgaran®	163	0.970	0.969	0.991	
Arixtra®	153	0.970	1.000	1.000	
Apixaban	150	1.000	0.966	0.995	
Rivaroxaban	153	1.000	0.996	0.996	
Analyte	n	VPP	VPN	RV+	RV-
HNF	145	100%	100%	+∞	0.000
HBPM	142	99%	97%	32.7	0.009
Orgaran®	163	99%	87%	31.7	0.040
Arixtra®	153	99%	97%	32.7	0.009
Apixaban	150	100%	89%	+∞	0.034
Rivaroxaban	153	100%	89%	+∞	0.033

STA-R® family					
Analyte	n	Sensibilité	Spécificité	Aire sous la courbe ROC	
Edoxaban	152	1.000	0.958	1.000	
Analyte	n	VPP	VPN	RV+	RV-
Edoxaban	152	100%	85%	+∞	0.050

VPP : Valeur Prédicative d'un résultat Positif
VPN : Valeur Prédicative d'un résultat Négatif
RV+ : Rapport de Vraisemblance +
RV- : Rapport de Vraisemblance -

REFERENCES:

- Hemker HC and Beguin S. The mode of action of heparin In-vitro and in-vivo. Adv Exp Med Biol (1992).
- Berry L. *et al.* Investigation of the anticoagulant mechanism of a covalent antithrombin-heparin complex J Biol Chem (1998).
- Marlowe CK *et al.* Design synthesis and structure activity relationship of a series of arginine aldehydes factor Xa Inhibitors. Part 1: structures based on the (D)-Arg-Gly-Arg tripeptide sequence. Bioorg Med Chem Lett (2000).
- Gosselin, R. C *et al.* An update on laboratory assessment for direct oral anticoagulants (DOACs). Int J Lab Hematol. (2019).
- Samuelson, B. T. *et al.* Laboratory Assessment of the Anticoagulant Activity of Direct Oral Anticoagulants: A Systematic Review. Chest. (2017).
- Douxflis J. *et al.* Laboratory testing in patients treated with direct oral anticoagulants: a practical guide for clinicians. J Thromb Haemost. (2018).
- Cuker A. Laboratory measurement of the non-vitamin K antagonist oral anticoagulants: selecting the optimal assay based on drug, assay availability, and clinical indication. J Thromb Thrombolysis (2016).
- Witt D. M. *et al.* American Society of Hematology 2018 guidelines for management of venous thromboembolism: optimal management of anticoagulation therapy. Blood (2018).
- Levy J. H. *et al.* When and how to use antidotes for the reversal of direct oral anticoagulants: guidance from the SSC of the ISTH. J Thromb Haemost (2016).
- Lyon SG *et al.* Modification of an Amidolytic Heparin Assay to Express Protein-Bound Heparin and to Correct for the Effect of Antithrombin III Concentration. Thromb Hemost (1987).
- Christiansen J and Lindqvist B. Heparin resistance in amyloidosis. Acta Med Scand (1967).
- Bhatt M. D. *et al.* How to use unfractionated heparin to treat neonatal thrombosis in clinical practice. Blood Coagul Fibrinolysis (2016).
- Babin J. L. *et al.* Laboratory Monitoring of Low-Molecular-Weight Heparin and Fondaparinux. Semin Thromb Hemost (2017).
- Gray E. *et al.* Heparin and low-molecular-weight heparin. Thromb Haemost. (2008)
- CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline" (2008).
- Douxflis J. *et al.* Non-VKA Oral Anticoagulants: Accurate Measurement of Plasma Drug. BioMed Research International. (2015).
- Mauge L. and Alhenc-Gelas M. Stabilité pré-analytique des paramètres de la coagulation: revue des données disponibles. Ann Biol Clin. (2014)
- Birri N *et al.* Stability of low molecular weight heparin anti-factor Xa activity in citrated whole blood and plasma. Br J Haematol (2011).
- Commercial anti-FXa activity assays are unsuitable for measuring anti-FXa activity following administration of andexanet alfa. European Medicine Agency [Internet]. 2020 Jun [cited 2020 Jun 17]. Available from <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/dhpc/ondexxya-andexanet-alfacommmercial-anti-fxa-activity-assays-are-unsuitable-measuring-anti-fxa>
- Tomoda H. *et al.* Andexanet Alfa for Bleeding with Factor Xa Inhibitors. NEngl J Med. (2019).
- Ieko M. *et al.* Expert consensus regarding standardization of sample preparation for clotting time assays. Int J Hematol. 2020.

Les notices et SDS (autres langues) sont disponibles sur www.hyphen-biomed.com.
Pour le support client ou Guides d'Application, veuillez contacter votre fournisseur ou distributeur local (voir www.hyphen-biomed.com).

Changements par rapport à la précédente version.

Les symboles suivants peuvent apparaître dans l'étiquetage du produit :

REF	Référence catalogue	LOT	Désignation du lot	IVD	Dispositif médical de diagnostic <i>in-vitro</i>
Rx	Identification numérique < x > du réactif	i	Lire le mode d'emploi	WHO STD	Code du standard OMS
	Températures limites de conservation		Fabricant	YYYY-MM-DD	Utilisable jusqu'à
CE	Marquage de conformité CE avec le numéro d'identification de l'organisme notifié	→	Volume de reconstitution	CONTENTS	Contenu
Gx	Identification numérique < x > du contrôle	i-MA	Consulter les instructions fournies dans le guide d'application de la méthode	CONTAINS	Contient
EXP	Date d'expiration	Σ	Suffisant pour < n > tests	UNIT	Unité de mesure
TARGET VALUE	Valeur cible		Maintenir hors de portée de la lumière du soleil et de la chaleur	CALX	Identification numérique < x > du calibrateur
UDI	Identifiant unique du dispositif	BIO	Contient du matériel biologique d'origine animale		Contient du sang ou des dérivés de plasma humain
DANGER	Danger	WARNING	Attention	UK CA	Marquage de conformité UKCA
	Risque biologique	ACCEPTANCE RANGE	Intervalle d'acceptation		