



HEMOCLOT™ VII+X

REF CK051K R 6 x 1 mL

REF CK051L R 20 x 1 mL



www.hyphen-biomed.com

155, rue d'Eragny
95000 NEUVILLE SUR OISE
FRANCE
Tel. : +33 (0)1 34 40 65 10
Fax : +33 (0)1 34 48 72 36
info@hyphen-biomed.com

Méthode coagulante pour la détermination de l'activité du Facteur VII+X.

Français, dernière révision : 04-2021

UTILISATION:

Le coffret HEMOCLOT™ VII+X est une méthode coagulante, utilisant de la thromboplastine calcique, pour la détermination quantitative *in vitro* de l'activité du Facteur VII+X (FVII+X) sur plasma humain citraté, en utilisant une méthode manuelle ou automatisée.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION:

Technique :

Les FVII et FX sont des glycoprotéines, vitamine K-dépendantes, synthétisées par le foie, appartenant aux facteurs du complexe prothrombinique : II, V, VII, X, Protéine C, Protéine S, Protéine Z.

Le FVII est la sérine estérase de la voie extrinsèque de la coagulation. Complexé au Facteur Tissulaire (FT), en présence de phospholipides et de calcium, il active le facteur X en facteur Xa.

Le FX peut être activé par les voies intrinsèque ou extrinsèque et initie la voie commune de la coagulation. En présence de calcium et de phospholipides, et en association avec le facteur Va, le Facteur Xa forme un complexe capable d'activer la prothrombine en thrombine.

Clinique¹⁻⁵ :

Le réactif HEMOCLOT™ VII+X est recommandé pour la mesure des FVII+X, simultanément, dans tout état clinique où l'un de ces deux facteurs peut être diminué :

- Déficit en vitamine K (pathologie hépatique, cholestase biliaire, déficit chez les nouveaux nés, antibiothérapie, ...).
- Traitement par les anti-vitamine K.
- Déficiences isolées en FVII ou FX.
- Coagulation Intra Vasculaire Disséminée (CIVD).

PRINCIPE:

La technique HEMOCLOT™ VII+X est une méthode coagulante où tous les facteurs de coagulation de la voie extrinsèque sont présents et en excès, à l'exception des FVII et FX, qui sont apportés par le plasma à tester, dilué, et de la thromboplastine.

Les FVII et FX sont les facteurs limitants. Le temps de coagulation obtenu est inversement proportionnel à la concentration des FVII et FX. Il en résulte une relation linéaire inverse, en coordonnées bi-logarithmiques, entre la concentration en FVII et FX et le temps de coagulation correspondant.

REACTIFS:

R HEMOCLOT™ VII+X : Réactif de coagulation contenant de la prothrombine bovine hautement purifiée, du fibrinogène et du Facteur V bovins, lyophilisés en présence de conservateurs et de stabilisants. Contient de la BSA.

REF CK051K → 6 flacons de 1 mL.

REF CK051L → 20 flacons de 1 mL.

MISE EN GARDE ET AVERTISSEMENTS:

- Certains réactifs de ce coffret contiennent des produits d'origine animale. 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.

PRÉPARATION DES REACTIFS:

Retirer délicatement le bouchon de lyophilisation, pour s'affranchir de toute perte de produit à l'ouverture du flacon.

R Reconstituer chaque flacon avec exactement **1 mL d'eau distillée**. Agiter vigoureusement jusqu'à dissolution complète, en évitant la formation de mousse et charger directement sur l'automate en suivant les instructions du guide d'application.

Pour la méthode manuelle, laisser stabiliser pendant 15 min à température ambiante (18-25°C), homogénéiser avant utilisation.

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

- **72 heures** à 2-8°C.
- **24 heures** à température ambiante (18-25°C).
- **1 mois** congelé à -20°C ou moins*
- **Stabilité à bord de l'automate : se référer à l'application spécifique.**

*Décongeler une seule fois le plus rapidement possible à 37°C et utiliser immédiatement.

REACTIFS ET MATERIELS REQUIS MAIS NON FOURNIS:

Réactifs:

- Eau distillée.
- Tampon Imidazole (AR021B/AR021K/AR021L/AR021M/AR021N).
- Thromboplastine calcique.
- Etalon et contrôles spécifiques :

Nom du produit	Référence
BIOPHEN™ Plasma Calibrator	222101
BIOPHEN™ Normal Control Plasma	223201
BIOPHEN™ Abnormal Control Plasma	223301

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 verre siliciné.

PRELEVEMENTS ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS:

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 États-Unis, se référer aux recommandations du CLSI H21-A5⁶ pour plus d'informations concernant le prélèvement, la manipulation et la conservation).

Pour la conservation des plasmas, se référer aux références⁶.

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 Thromboplastine calcique, est mesuré.

Méthode de dosage:

1. Reconstituer les étalons et les contrôles comme indiqué dans les notices spécifiques. Préparer 2 mL de pool de plasma humain normal citaté dilué au 1/10 en tampon Imidazole. Par définition, la dilution au 1/10 de pool de plasma normal citaté correspond à la concentration de 100% de FVII+X. Utiliser cette dilution au 1/10 pour préparer la gamme d'étalonnage suivante :

Dilution	0	1/80	1/40	1/20	1/10
FVII+X (%)	0	12,5	25	50	100
Pool de plasma 1/10	0mL	0,125mL	0,250mL	0,500mL	1mL
Tampon Imidazole	1mL	0,875mL	0,750mL	0,500mL	0mL

La gamme d'étalonnage peut également être réalisée avec le BIOPHEN™ Plasma Calibrator (222101) en utilisant le taux indiqué (C) pour le FVII+X sur le papillon du lot utilisé. La courbe de calibration doit être préparée juste avant de commencer le dosage.

2. Diluer les plasmas et contrôles en tampon Imidazole comme décrit ci-dessous :

Echantillon	Reference	Dilution
Contrôle	223201/223301	1/10
Echantillon	N.A.	1/10

3. Dans un tube à hémolyse, ou une cuvette réactionnelle, introduire (protocole avec NeoPTimal Stago):

	Volume
Etalon ou plasma dilué ou contrôles dilués au 1/10	75 µL
R HEMOCLOT™ VII+X	75 µL
Incuber à 37°C, pendant 1 à 2 minutes puis introduire (en déclenchant le chronomètre) :	
NeoPTimal Stago préincubée à 37°C.	50 µL
Noter le temps exact de coagulation (sec)	

Réaliser la gamme de calibration et la tester avec les contrôles de qualité. Les échantillons dilués doivent être testés rapidement, s'ils sont conservés à température ambiante (18-25°C). Les concentrations exactes des étalons et des contrôles sont indiquées pour chaque lot sur le papillon fourni avec le coffret.

L'utilisateur est responsable de la validation des modifications et de leur impact sur tous les résultats.

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.

CALIBRATION:

Le test HEMOCLOT™ VII+X peut être calibré pour le dosage de FVII+X. L'étalon couvrant la zone calibration est disponible chez HYPHEN BioMed (Voir paragraphe REACTIFS ET MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNIS) et peut être utilisé pour générer la courbe de calibration.

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. 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:

- Pour la méthode manuelle, en point final, tracer la droite de calibration log-log, en portant en ordonnées le temps de coagulation (sec) et en abscisses la concentration de FVII+X en %.
- La concentration de FVII+X (%) dans l'échantillon à doser est déduite directement de la courbe de calibration, lorsque la dilution standard est utilisée.
- 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.

VALEURS ATTENDUES:

La valeur normale en FVII+X d'un plasma adulte est habituellement > 70%⁶. Cependant, chaque laboratoire doit établir son propre intervalle normal.

REFERENCES:

1. Mariami G. and Bernardi F. Factor VII Deficiency. Semin Thrombo Hemost. 2009.
2. Peyvandi F. and Menegatti M. Treatment of rare factor deficiencies in 2016. Hematology. 2016.
3. Brown D.L. and Kouides P.A. Diagnosis and treatment of inherited factor X deficiency. Haemophilia. 2008
4. Gjonnaess H. *et al.* Studies on coagulation and fibrinolysis in pregnancy. Acta Obstet Gynecol Scand. 1975.
5. Andrew M. *et al.* Development of the human coagulation system in the full-term infant. Blood. 1987.
6. CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008.
7. Monagle P. *et al.* Impact for clinical haemostasis laboratories. Developmental haemostasis. 2006.

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.*