

REF PT02 : R1 (5 x 2 mL) + R2 (1 x 12 mL)

REF PT05 : R1 (10 x 5 mL) + R2 (1 x 60 mL)

Fabriqué en France Version : 18/12/2014

THROMBOPLASTIN

Réactif pour la détermination du taux de prothrombine (TP)
dans le plasma humain

PRINCIPE DE LA METHODE ⁽⁴⁾

Méthode de Quick et al.

La thromboplastine tissulaire et le calcium sont ajoutés au plasma citraté activant ainsi les facteurs du système de coagulation extrinsèque contenus dans le plasma. Le temps de coagulation (temps de formation du caillot de fibrine) est mesuré à 37°C.

SIGNIFICATION CLINIQUE ^{(1) (6) (7)}

Le taux de prothrombine est utilisé comme test de dépistage pour la détection des troubles de la voie extrinsèque de la coagulation.

Les résultats en secondes sont convertis en % afin d'évaluer l'activité prothrombinique d'un patient par rapport à un plasma de référence considéré comme égal à 100%.

Une activité prothrombinique déficiente peut se rencontrer dans les cas suivants :

- Maladie hépatique
- Maladie hémorragique du nouveau né
- Déficits congénitaux en facteurs (II, V, VII ou X)
- Hypovitaminoses K
- administration thérapeutique d'antivitamine K (AVK)
- Anticoagulants circulants
- Fibrinolyse
- Coagulation intravasculaire disséminée (CIVD)

Les résultats en secondes sont convertis en INR (ratio international normalisé) dans le cas particulier de la surveillance des traitements par anticoagulants oraux (antagonistes de la vitamine K).

REACTIFS

R1 : Thromboplastine

Thromboplastine lyophilisée de cerveau de lapin

REAG

R2 : Tampon de reconstitution

Tampon Hepes, Calcium

BUF

PREPARATION DES REACTIFS

Réactif de travail :

Ouvrir un flacon de R1 et un flacon de R2. Ajouter rapidement au contenu du flacon R1, le volume de R2 indiqué sur l'étiquette du flacon R1.

Boucher le flacon et mélanger doucement le flacon de R1 jusqu'à dissolution complète, en évitant la formation de mousse.

Porter à 37°C le volume nécessaire de R1 pendant 15 minutes avant de commencer le test.

Stocker immédiatement les volumes restants de R1 et R2, bien rebouchés à 2-8°C.

STABILITE ET STOCKAGE

Les flacons non ouverts, stockés à 2-8°C sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

R1 : après reconstitution, le réactif est stable 5 jours à 2-8°C ou 7 heures à 37°C.

R2 : une fois ouvert, si stocké à 2-8°C et exempt de contamination, le contenu du flacon R2 est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Jeter tout réactif trouble.

Rejeter tout réactif :

- Si la date d'expiration est dépassée.
- Si les valeurs des contrôles sont en dehors des tolérances

COLLECTE ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS ^{(2) (3)}

Plasma collecté avec précaution par ponction veineuse, sous anticoagulant ratio 1/10 (solution de Citrate trisodique 0.109M).

Mélanger immédiatement le sang et l'anticoagulant.

Évitez tout prélèvement à la seringue qui pourrait entraîner la formation de micro caillots.

Centrifuger 10 minutes à 2500g.

Les échantillons sont stables 4 heures après collecte à température ambiante (15-25°C).

La collecte sur tube Citrate Hepes permet d'augmenter la stabilité de l'échantillon jusqu'à 8 heures.

INTERFERENCES ^{(2) (3)}

Ce test est protégé contre l'influence de l'héparine par un inhibiteur de l'héparine.

La contamination de l'échantillon par de la thromboplastine ou par hémolyse peut entraîner un raccourcissement des temps de coagulation.

Appliquer les ratios indiqués : sang/anticoagulant (voir ci-dessus)

Ajuster le volume d'anticoagulant dans le cas d'hématocrite très anormal.

Pour une revue plus approfondie des facteurs influençant ce dosage, se référer à la publication de Young D.S.

EQUIPEMENT ET REACTIFS COMPLEMENTAIRES

Appareillage général de laboratoire

Analyseur de coagulation ou chronomètre et bain-marie (37°C±0.5)

Plasma de référence

Plasmas de contrôle

PRECAUTIONS DE SECURITE

Les réactifs ABLIANCE sont destinés à un usage professionnel pour diagnostic in vitro.

Les bonnes pratiques de laboratoire doivent être appliquées lors de la manipulation des réactifs, plasmas de référence ou de contrôles et échantillons de patients (à manipuler comme potentiellement infectieux)

Pour plus d'information, les fiches de données de sécurité sont disponibles sur demande.

Élimination des déchets : respecter la législation en vigueur.

CONTROLE DE QUALITE

Au moins à chaque série, lors du changement de flacon de réactif ou après une maintenance de l'analyseur, il est recommandé d'utiliser 2 taux de plasma de contrôle :

REF NP01 Plasmas de contrôles normaux et pathologiques

Ou tout autre plasma de contrôle dosé se référant à la même méthode.

Si les résultats des contrôles sont en dehors de la plage définie, procéder comme suit consécutivement et jusqu'à correction : répétition du test avec des plasmas frais, calibration avec un nouveau flacon de réactif, utilisation d'un nouveau flacon de plasma de référence s'il y a lieu. Si aucune solution n'est trouvée, contactez votre fournisseur local ou le support technique ABLIANCE.

VALEURS NORMALES ^{(2) (6)}

Les résultats peuvent être exprimés en TP (sec), TP (%) ou TP (INR).

TP (sec) : les résultats sont généralement entre 11 et 16 sec. Les valeurs sont allongées chez le nouveau né et rejoignent les valeurs normales vers l'âge de 6 mois.

TP (%) : Les résultats compris entre 70 et 100% sont considérés comme normaux

TP (INR) : Il est conseillé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs de référence normales.

CALIBRATION

Détermination du MNPT (temps de prothrombine normal moyen) :

Utiliser un plasma de référence **REF** CA01 pour estimer le MNPT

Ou préparer un pool de plasmas normaux citratés, fraîchement collectés.

Mesurer en triplicate les temps de coagulation du plasma de référence et calculer la moyenne (MNPT)

INR : La valeur du MNPT et l'ISI (Index international de sensibilité) indiqués dans le tableau spécifique du lot (généralement entre 1,1 et 1,3) peuvent être utilisés pour calculer l'INR, ou renseigner dans l'analyseur.

PT (%) : Déterminer le MNPT et utiliser la table de calcul comme indiqué au § CALCUL

Ou

Utiliser un set de calibration et mesurer en triplicate les temps de coagulation de chaque niveau.

Tracer la courbe de calibration sur papier millimétré ou entrer la moyenne des temps de coagulation pour chaque niveau et les PT (%) correspondant dans l'analyseur.

PERFORMANCES

Résultats des études de performance sur Thrombolyzer Compact X:

Répétabilité (intra-série):

Moyenne PT (sec): 13.1	CV%: 0.7	n= 32
Moyenne PT (sec): 29.4	CV%: 1.6	n= 32
Moyenne PT (sec): 43.4	CV%: 2	n= 32

Reproductibilité (inter-série):

Moyenne PT (sec): 13.4	CV%: 1.3	n= 17
Moyenne PT (sec): 29.6	CV%: 2.5	n= 17

PROCEDURE

Méthode Semi-automate et automate:

Consulter le manuel d'utilisation de l'instrument.

Méthode manuelle:

Préincuber le réactif à 37°C.

Mélanger doucement le réactif R1 avant de pipeter.

- Plasma: 100µL

Incuber 2 minutes à 37°C

- Thromboplastine (préincubée à 37°C) : 200µL

Mélanger et incuber 3 min. à 37°C.

Déclencher un chronomètre immédiatement et noter le temps nécessaire à la formation du caillot en secondes.

CALCUL ⁽⁶⁾

PT (sec): indiquer les résultats des patients en secondes, et le temps de référence trouvé pour le MNPT.

PT (%): Consulter la table de calcul jointe, sélectionner la colonne correspondant au MNPT trouvé. Identifier la ligne qui correspond au résultat (sec) du patient et se référer à la valeur (%) indiquée dans la colonne "PT (%)".

PT (INR): calculer l'INR comme suit : INR = (Temps du patient / MNPT)^{ISI}

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, 3rd Ed., N.W. TIETZ (1995) p.526-529

(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. - Feuilles de Biologie, (1985), 36, (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)

