



BIOLABO
www.biolabo.fr

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

BIO-TP

Taux de Prothrombine (TP)

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

REF	13885	R1	10 x 2 mL	R2	1 x 25 mL
REF	13880	R1	6 x 4 mL	R2	1 x 25 mL
REF	13881	R1	6 x 12 mL	R2	1 x 80 mL
REF	13883	R1	1 x 60 mL (vente au détail)		

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 (cirrhoses, hépatites...).
- Avitaminose K ou administration d'antivitamines K (AVK).
- Déficiences congénitales en un des facteurs associés au complexe prothrombinique : prothrombine vraie (facteur II), proaccélélerine (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

flacon R1 **THROMBOPLASTINE**
Thromboplastine lyophilisée (Tissu cérébral de lapin)

flacon R2 **TAMPON DE RECONSTITUTION**
Tampon HEPES, Conservateur

PRECAUTIONS

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro.

- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
 - Utiliser des équipements de protection (blouse, gants, lunettes).
 - Ne pas pipeter avec la bouche.
 - En cas de contact avec la peau ou les yeux, rincer abondamment à l'eau et consulter un médecin.
 - Les réactifs peuvent contenir de l'azide de sodium (concentration < 0,1%) qui peut réagir avec les métaux tel que le cuivre ou le plomb des canalisations. Rincer abondamment.
 - La fiche de données de sécurité peut être obtenue sur simple demande.
 - 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

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

STABILITE ET CONSERVATION

Stocker à 2-8°C dans le flacon d'origine bien rebouché.

- Avant ouverture :
- Utilisés et stockés comme indiqué, les réactifs (flacon R1 et R2) sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.
- Après reconstitution :
- Le réactif de travail est stable : 8 heures à température ambiante
5 jours de 2 à 8°C.

Ne pas utiliser le réactif si les valeurs des contrôles se trouvent en dehors des limites de confiance recommandées.
Ne pas utiliser le réactif de travail après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.

REF 13883 : Utilisé et stocké comme indiqué, le tampon (prêt à l'emploi) est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon. Rejeter tout tampon trouble.

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.

INTERFERENCES (2) (3)

La présence d'un inhibiteur de l'héparine dans le réactif permet d'éliminer l'influence de ce facteur lors du test. Un stockage prolongé à 2-8°C du plasma peut conduire à des Temps de Quick raccourcis (activation par le froid du facteur VII). Des spécimens contaminés par la thromboplastine ou hémolysés peuvent aussi conduire à un raccourcissement du Temps de Quick. Respecter le rapport anticoagulant/sang indiqué ci-dessus. En cas d'hématocrite très perturbé, ajuster le volume d'anticoagulant. 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. Tampon Owren Koller pour l'établissement de la droite de Thivolle (résultats en %) **REF** 13883 non fourni.
3. Plasma de contrôle normal et pathologique.
4. Papier millimétré.

CALIBRATION

INR :

Utiliser le Plasma de référence [REF] 13970 (BIO-CAL) ou tout autre plasma de référence du commerce (à 100%)

OU

Préparer un pool de 6 plasmas frais normaux prélevés sur le même anticoagulant que celui des spécimens à tester.

Ce pool servira de plasma de référence.

Déterminer en triplicate le temps de coagulation du plasma de référence.

- Technique semi-automatique : (BIO SOLEA 2, BIO SOLEA 4) : Entrer dans la méthode le temps de coagulation du plasma de référence, et la valeur d'ISI indiquée sur le tableau de conversion (spécifique du lot).

- Technique manuelle : Utiliser le tableau de conversion fourni.

Taux de Prothrombine (%)

Utiliser le Set de calibration TP-CALSET [REF] 13965 (3 taux) ou tout autre set de calibration du commerce

Déterminer en triplicate les temps de coagulation de chaque taux

- Technique semi-automatique (BIO SOLEA 2, BIO SOLEA 4) : Entrer dans la méthode les temps de coagulation de chaque plasma de référence et les taux (%) correspondants.

- Technique manuelle : Utiliser le tableau de conversion fourni ou tracer la droite de Thivolle (dilutions d'un pool de plasmas normaux en tampon Owren Koller). Sur papier millimétré, porter en abscisse les inverses de chaque dilution (1/d) et en ordonnée les temps de coagulation obtenus (en secondes).

CONTRÔLE DE QUALITE

[REF] 13961	PLASMA CONTROLE Taux 1	6 x 1 mL
[REF] 13962	PLASMA CONTROLE Taux 2	6 x 1 mL
[REF] 13963	PLASMA CONTROLE Taux 3	6 x 1 mL

- ou tout autre plasma de contrôle titré pour cette méthode
- 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

Etudes réalisées avec plasmas de contrôles sur BIO SOLEA

Intra-série N = 20	Taux normal	Taux patho H	Taux Patho B	Inter-série N = 20	Taux normal	Taux patho H	Taux Patho B
Moyenne (sec)	12,3	25,1	30,3	Moyenne (sec)	12,2	21,6	30,6
S.D. (sec):	0,13	0,42	0,69	S.D. (sec):	0,27	0,61	1,08
C.V. % :	1,02	1,68	2,28	C.V. % :	2,19	2,81	3,54

Comparaison avec réactif du commerce (même méthode) :

31 plasmas situés entre 25% et 100% ont été testés avec les 2 réactifs sur coagulomètre BIO SOLEA4 :

$$y = 0,9675 + 3,2793x \quad r = 0,9741$$

11 plasmas avec un INR situé entre 1 et 5 ont été testés avec les 2 réactifs sur coagulomètre BIO SOLEA4 :

$$y = 1,0291 - 0,0661x \quad r = 0,9991$$

INTERVALLES DE REFERENCE (2) (6) (9)

Temps de Quick (TQ) normaux :

- ✓ entre 11 et 16 secondes en général (selon le réactif utilisé).
- ✓ Le temps de coagulation est allongé chez le nouveau-né pour atteindre les valeurs de l'adulte vers 6 mois.

Taux de Prothrombine normaux :

- ✓ entre 70 et 100 %.
- ✓ des taux supérieurs à 100% n'ont pas de signification particulière.

INR : Traitement anticoagulant oraux (AVK)

Indications	Zone thérapeutique (INR)		PT (%) thromboplastine de lapin
	Cible	Limites acceptables	
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 OPERATOIRE

Technique manuelle

Déterminer les TQ des plasmas de référence, contrôles et patients en tubes à hémolyse au bain-marie à 37°C.

Préincuber la Thromboplastine au moins 15 minutes à 37°C.

Homogénéiser le réactif avant pipetage.

Plasma :	0,1 mL
Incuber 2 minutes à 37°C.	
Thromboplastine (préincubée à 37°C):	0,2 mL
Déclencher le chronomètre simultanément et noter le temps de coagulation.	

Agiter et rechercher le moment de la coagulation en remuant le tube de façon à l'amener presque à l'horizontale, sous un bon éclairage.

Technique automatique

Les caractéristiques de sédimentation et la qualité optique de cette thromboplastine permettent une détection optique ou mécanique de la formation du caillot. Se référer au manuel d'utilisation du coagulomètre utilisé.

CALCUL (6)

Avec tableau de conversion fourni

Se référer au tableau joint dans chaque kit (incluant la valeur de l'ISI), spécifique du lot utilisé et permettant de convertir les TQ en taux de prothrombine ou INR.

Section 1 : Choisir la colonne correspondant au temps de coagulation du plasma de référence à 100 %. Dans cette colonne, repérer le TQ du patient.

Section 2 : Sur la même ligne, se reporter au taux de prothrombine (%) ou à l'INR correspondant.

Avec droite de Thivolle (voir § CALIBRATION)

Le report sur la droite de Thivolle des temps de coagulation trouvés pour les patients permet de déduire le TP (%) des plasmas étudiés (inverse de la valeur lue sur l'axe des abscisses multiplié par 100).

Patients sous AVK : il est recommandé d'exprimer les valeurs en INR pour une meilleure définition des zones thérapeutiques.

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

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, 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. Feuilletts 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)
- (9) Sampol J., Arnoux D., Boutière B. : « Manuel d'hémostase » Paris, Ed. Elsevier, 147-163 (1995)