

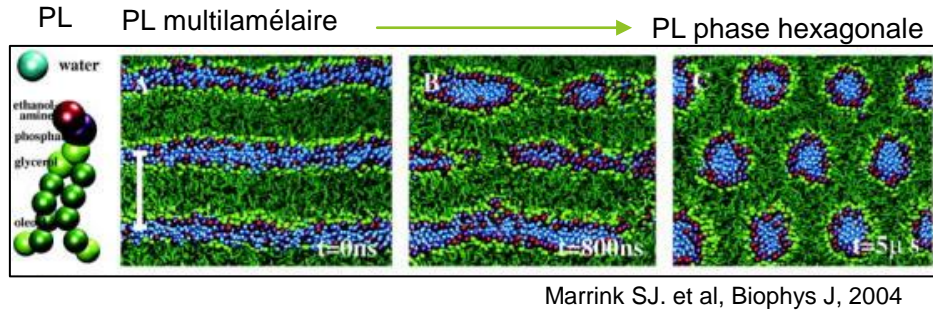
CRYOcheck™ Hex LA™



LES LUPUS ANTICOAGULANTS

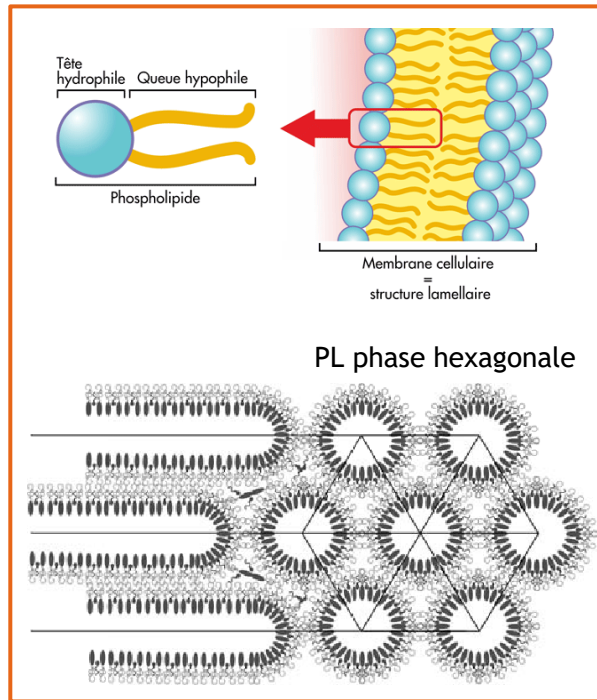


Les phospholipides en phase hexagonale



Les phospholipides (PL) peuvent s'associer de plusieurs façons :

- Sous forme lamellaire
- Sous forme hexagonale



En 1986, Dr J. Rauch. démontre la capacité des phospholipides en phase hexagonale à neutraliser l'activité anticoagulante de 11 lupus anticoagulants (LA) chez un patient présentant un lupus érythémateux (SLE)¹. A l'inverse, les PL sous forme lamellaire n'ont pas d'effet sur l'activité anticoagulante de ces anticorps.

¹ Rauch J, Tannenbaum M, Tannebaum H, Ramelson H, Cullis FR, Tilcock CPS, Hope MJ, Janoff AS. Human hybridoma lupus anticoagulants distinguish between lamellar and hexagonal phase lipid systems. J Biol Chem. 1986; 261:9672-9677.

Le test HPPNA en phase hexagonale

- **Test intégré (incluant les tests de détection, de confirmation et du mélange).**
- Temps de Céphaline Activée (TCA) à base de silice pour la détection qualitative des LA.
- Les phospholipides en phase hexagonale ont un effet neutralisant sur les LA *in-vitro*.
- La présence de LA peut-être confirmée en comparant la correction d'un temps de coagulation dans un échantillon de plasma de patient en présence de PL en phase hexagonale.
- Le test inclus du plasma normal corrigeant la déficience des facteurs qui pourrait être présente dans les échantillons.

Avantages

- Cette méthode satisfait les 3 tests requis par l'ISTH et le CSLI.
- Plus sensible qu'un TCA classique.
- Les PL en phase hexagonale ont une réponse immunogénique supérieure au LA que les autres formes des PL.
- Interprétation des résultats positifs plus simple et moins ambiguë sur les résultats négatifs.



Procédure de recherche des LA

1^{er} Test

**Test couplé
dRVVT**

Test de détection : dRVVT screening
(avec un faible taux de phospholipides)
Test de confirmation : dRVVT confirm
(avec un fort taux de phospholipides)

+

**Test du mélange : dRVVT
screening et confirm +
Pool de Plasma Normal (PPN)**

et

2^{ème} Test
Option 1

**Test de détection indépendant
TCA**

(silice) avec un faible taux de
phospholipides

+

**Test de confirmation
indépendant
PNP**

(procédure de neutralisation par les
plaquettes)

+

**Test du mélange : TCA + PNP
+ Pool de Plasma Normal (PPN)**

ou

2^{ème} Test
Option 2

**Test intégré
HPPNA**

Les tests de détection et de
confirmation intégrant les tests de
mélange sont effectués en parallèle



Contrôles
utilisés dans
les tests

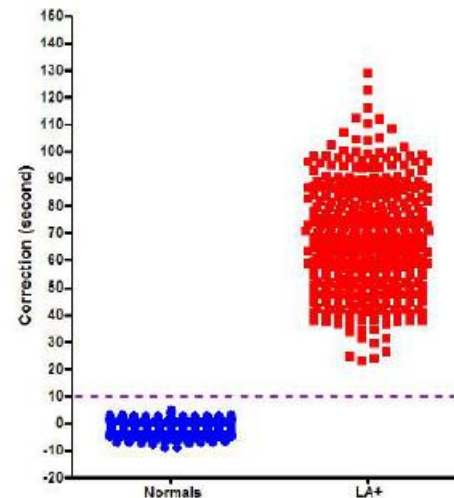
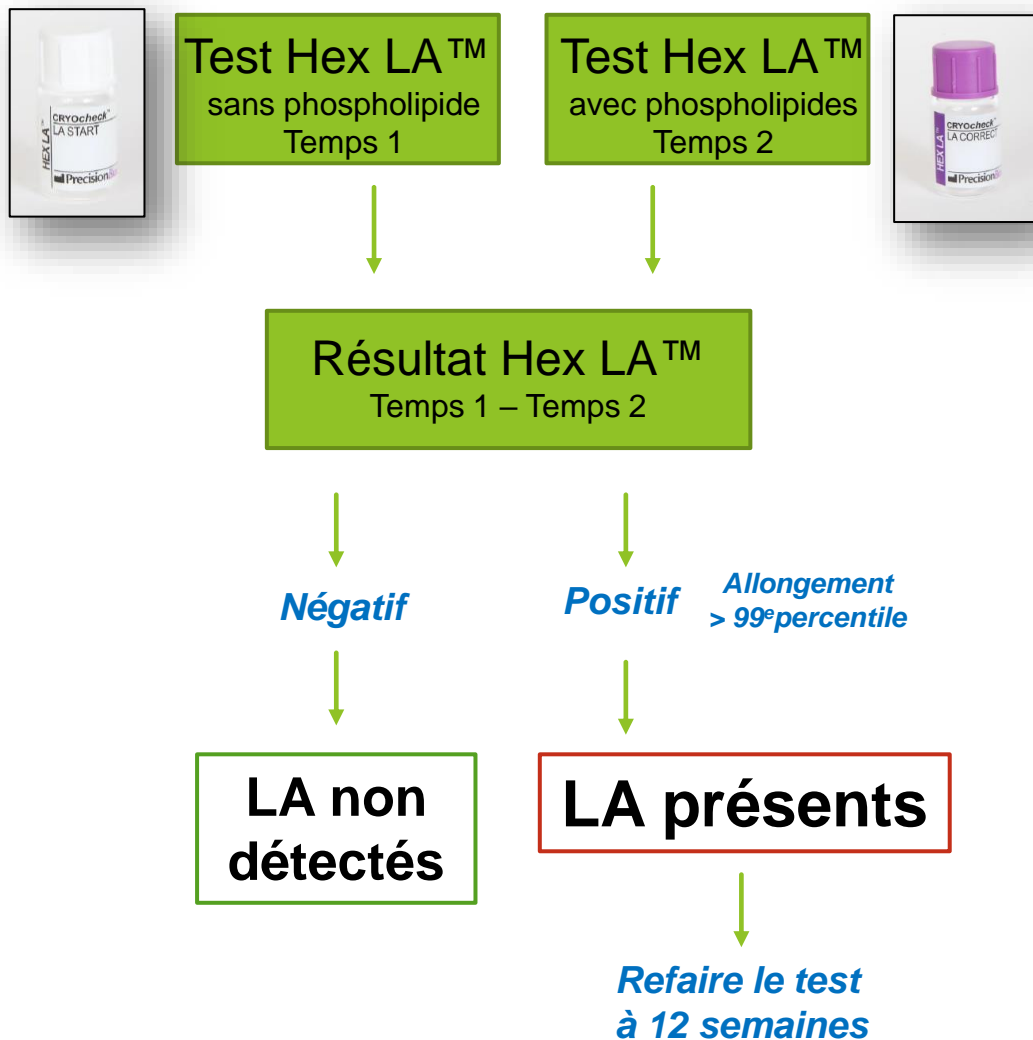


En accord avec les recommandations de l'ISTH¹ :

¹ Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, J Thromb Haemost. 2020;18:2828-2839



Test N°2 (Option 2) HPPNA : Organigramme



Résultats obtenus après la mesure de 1842 temps de coagulation avec 158 plasmas normaux et 154 plasmas positifs aux LA, 3 lots de Hex LA™ ont été utilisés sur le STA-R Evolution®

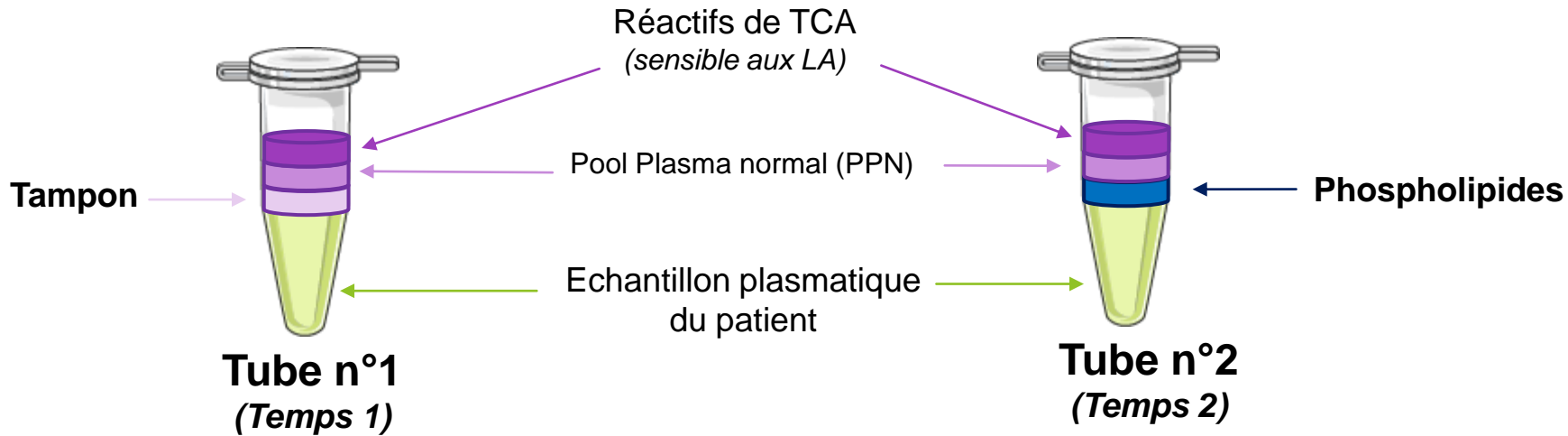
Données fournies par PBI

Algorithmes des tests de LA
Système intégré

Exemple de test intégré

HPPNA – test de neutralisation des PL en phase hexagonale

- TCA basé sur l'activation de la voie intrinsèque
- **Test de détection, confirmation et mélange dans un seul test commun**
- Les résultats : différence entre le temps 1 et le temps 2 (en seconde)



L'initiation de la coagulation s'effectue par le réactif de TCA sensible aux LA dans le mélange tampon et PPN (Tube n°1) et dans un mélange phospholipides et PPN (Tube n°2)

Résultat positif aux LA si temps 1 – temps 2 revient à la normale
(seuil PPN défini sur pool de 40 donneurs normaux)

Les résultats sont évocateurs de LA si le ratio est > 99e centile

Test intégré

CRYOcheck™ Hex LA™

- ✓ **Test intégré HPPNA**
- ✓ Détection des anticoagulants circulants lupiques.
- ✓ Test basé sur un TCA intégrant ou non des Phospholipides en Phase Hexagonale (PPH).
- ✓ Test complet : test sans PPH (LA start) et test avec PPH (LA correct).
- ✓ Résultat obtenu par la différence de correction est exprimé en secondes.
- ✓ Totalement automatisable.
- ✓ Comprend 2 jeux de 3 flacons.
- ✓ Produits congelés directement prêt à l'emploi après décongélation.
- ✓ Marquage CE.
- ✓ Dosage chromométrique.
- ✓ Stabilité de 8 heures dans un automate d'hémostase.



Un kit comprend :

- **2 flacons : LA Start (1,5 mL)**
Pool de plasma normal avec tampon, neutraliseur d'héparine
- **2 flacons : LA Correct (1,5 mL)**
Pool de plasma normal avec tampon, neutraliseur d'héparine et phospholipides en phase hexagonale
- **2 flacons : LA APTT (3,0 mL)**
Réactif de TCA basé sur la silice sensible aux LA avec stabilisant

Comparatif Staclot™ LA et Hex LA™

Staclot™ LA

- Phospholipides hexagonaux
- Marquage CE
- Produit lyophilisé à reconstituer
- Disponible sous 2 formats
- **Non adaptable sur les automates**
- **Contient 1 jeu de 5 flacons**
- **Nécessite 50 minutes** de préparation
- Test par coffret : 10



Hex LA™

- Phospholipides hexagonaux
- Marquage CE
- Produit congelé **prêt à l'emploi**
- Disponible sous 1 format
- **Adaptable sur les automates STAR et ACL Top en portée A**
- **Contient 2 jeux de 3 flacons**
- **Nécessite 20 minutes** de préparation
- Besoin d'un bain-marie
- Test par coffret : 2 x 30



Performance - Précision

- Chaque échantillon à été mesuré avec 3 lots de Hex LA™, en duplicat, 2 fois par jour.

Echantillon	Précision inter-laboratoire n°1			Précision inter-laboratoire n°2		
	Temps moyen de coagulation (sec)	SD	%CV	Temps moyen de coagulation (sec)	SD	%CV
CRYOcheck™ control Lupus Négatif (ref :CCLN)	53,0	1,6	3,0	52,8	2,8	5,3
CRYOcheck™ control Lupus Positive faible (ref :CCWLP)	87,3	3,2	3,7	65,4	2,8	4,2
CRYOcheck™ control Lupus Positive (ref :CCLP)	125,4	5,2	4,2	79,8	4,5	5,7
Plasma négatif en LA	55,9	1,7	3,1	55,1	2,5	4,5
Plasma proche cut-off LA	67,6	2,5	3,8	58,4	2,6	4,5
Plasma faiblement positif LA	89,8	3,3	3,7	66,4	3,0	4,6
Plasma moyennement positif LA	146,5	6,0	4,1	85,9	5,8	6,7
Plasma fortement positif LA	270,5	9,6	3,6	118,0	9,0	7,6

Contrôles utilisés dans les tests





Performance – Reproductibilité LA Start

- Les études ont été réalisées sur 3 sites (1 interne et 2 externes) sur 5 jours en utilisant 3 lots de **CRYOcheck™** Hex LA™. Chaque échantillon est mesuré en triplicat, 2 fois par jour.

Echantillon	Moyenne CT (sec)	Dans une même expérience		D'une expérience à une autre		D'un jour à un autre		D'un laboratoire à un autre		Dans un même site	
		SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
CRYOcheck™ control Lupus Négatif (ref :CCLN)	52,8	1,3	2,5	0,7	1,4	0,0	0,0	0,4	0,7	1,6	3,0
CRYOcheck™ control Lupus Positive faible (ref :CCWLP)	85,7	3,3	3,9	0,0	0,0	1,0	1,2	1,9	2,2	4,0	4,6
CRYOcheck™ control Lupus Positive (ref :CCLP)	123,6	4,5	3,6	2,0	1,6	1,7	1,4	2,1	1,7	5,6	4,5
Plasma négatif en LA	55,8	1,3	2,3	0,8	1,5	0,1	0,2	0,7	1,2	1,8	3,2
Plasma proche cut-off LA	66,9	2,1	3,1	1,0	1,5	1,0	1,6	0,8	1,1	2,7	4,0
Plasma faiblement positif LA	88,3	3,6	4,1	0,0	0,0	1,4	1,5	1,7	2,0	4,3	4,8
Plasma fortement positif LA	264,9	6,0	2,3	3,1	1,2	2,8	1,0	4,4	1,7	10,1	3,8

Performance – Reproductibilité LA Correct

- Les études ont été réalisées sur 3 sites (1 interne et 2 externes) sur 5 jours en utilisant 3 lots de **CRYOcheck™ Hex LA™**. Chaque échantillon est mesuré en triplicat, 2 fois par jour.



Echantillon	Moyenne CT (sec)	Dans une même expérience		D'une expérience à une autre		D'un jour à un autre		D'un laboratoire à un autre		Dans un même site	
		SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
CRYOcheck™ control Lupus Négatif (ref :CCLN)	53,7	1,5	2,8	0,8	1,6	0,0	0,0	0,0	0,0	3,1	5,8
CRYOcheck™ control Lupus Positive faible (ref :CCWLP)	65,8	2,1	3,3	1,0	1,5	0,7	1,0	0,7	1,1	3,1	4,8
CRYOcheck™ control Lupus Positive (ref :CCLP)	80,2	2,8	3,5	1,5	1,8	1,4	1,7	1,8	2,2	4,8	5,9
Plasma négatif en LA	55,9	1,6	2,9	0,6	1,1	0,2	0,4	0,0	0,0	2,9	5,2
Plasma proche cut-off LA	59,2	1,9	3,2	1,2	2,0	0,7	1,1	0,3	0,6	3,0	5,0
Plasma faiblement positif LA	66,9	2,2	3,2	1,3	2,0	1,2	1,8	2,2	3,3	4,0	6,0
Plasma fortement positif LA	117,6	3,0	2,6	3,1	2,6	2,0	1,7	2,6	2,2	9,4	8,0

Performance – Interférences

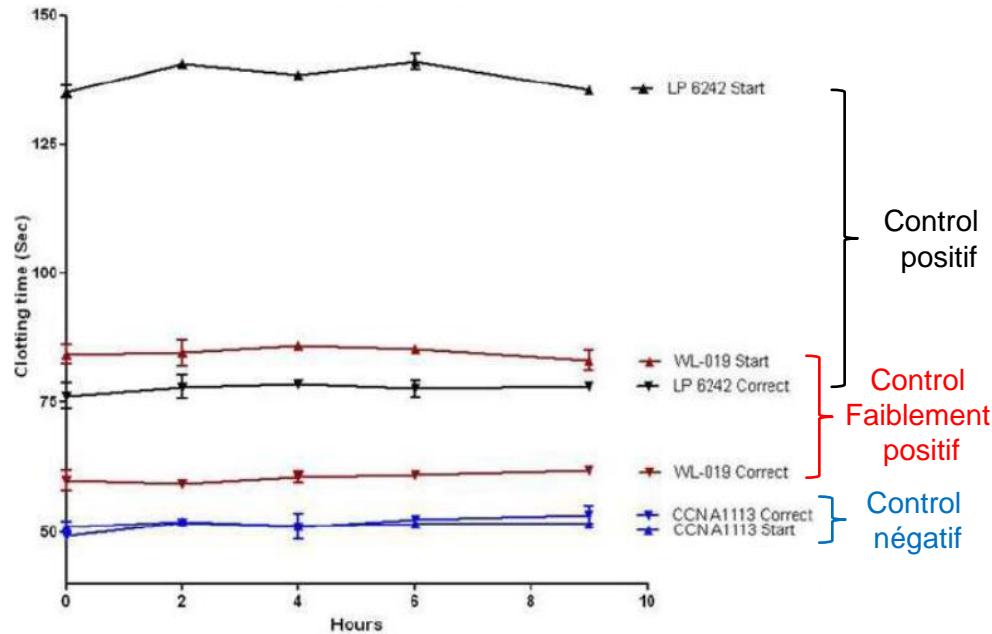
- Un seul lot à été utilisé. 20 réplicats ont été effectués pour chaque échantillon avec ajout des substances ci-dessous et comparé à leurs contrôles respectifs.

Substances testées	Concentrations testées
Hémoglobine	≤ 500 mg/dL
Lipides	≤ 500 mg/dL
Bilirubine	≤ 20mg/dL
Héparine non fractionnée	≤ 2UI/mL
Héparine de faible poids moléculaire	≤ 2 UI/mL



Stabilité et reproductibilité

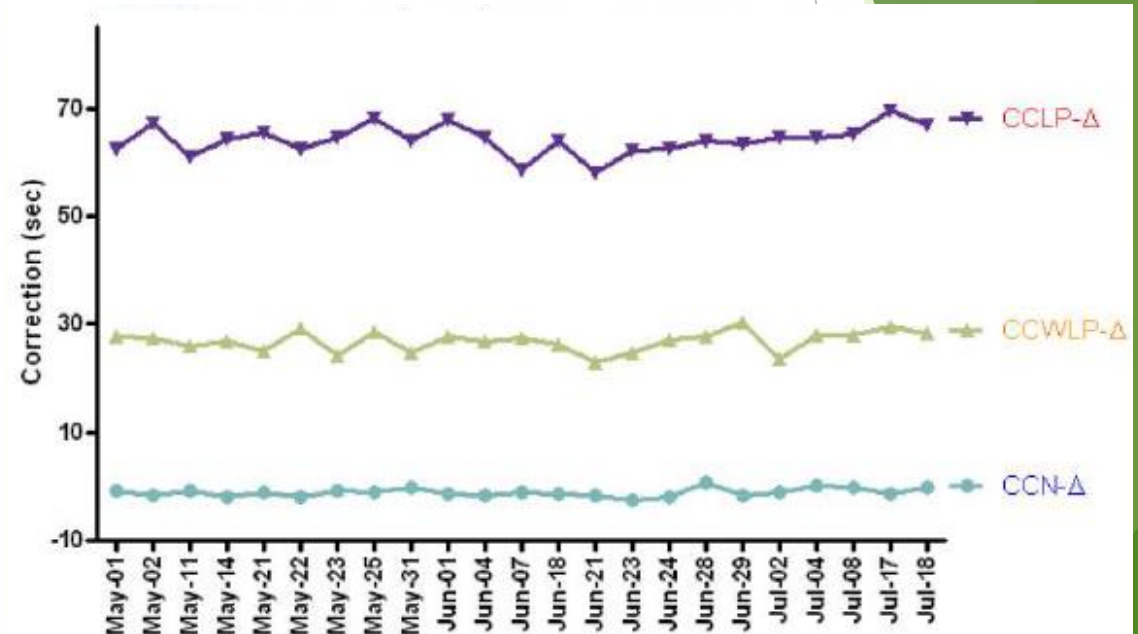
Stabilité du Hex LA™ à bord de l'automate



	CCN-Start	CCN-Correct	WL - Start	WL - Correct	LP - Start	LP-Correct
% Change	1,30	7,80	1,50	2,90	0,20	2,50

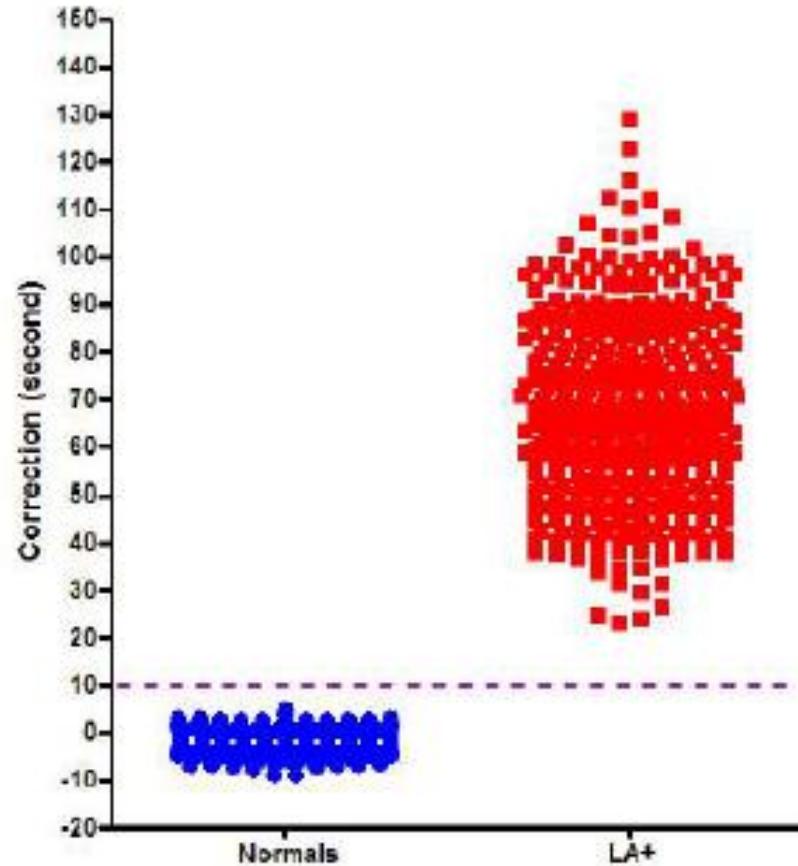
Réactif stable 8 h dans l'automate

Evolution des CQ sur 3 mois de kit Hex LA™



Très bonne reproductibilité des CQ avec le kit **CRYOcheck™** Hex LA™ sur 3 mois

Détermination du seuil de positivité



Résultats obtenus après la mesure de 1842 temps de coagulation avec 158 plasmas normaux et 154 plasmas positifs aux LA, 3 lots de Hex LA™ ont été utilisés sur le STA-R® Evolution.

Comparaison entre Staclot™ LA et Hex LA™

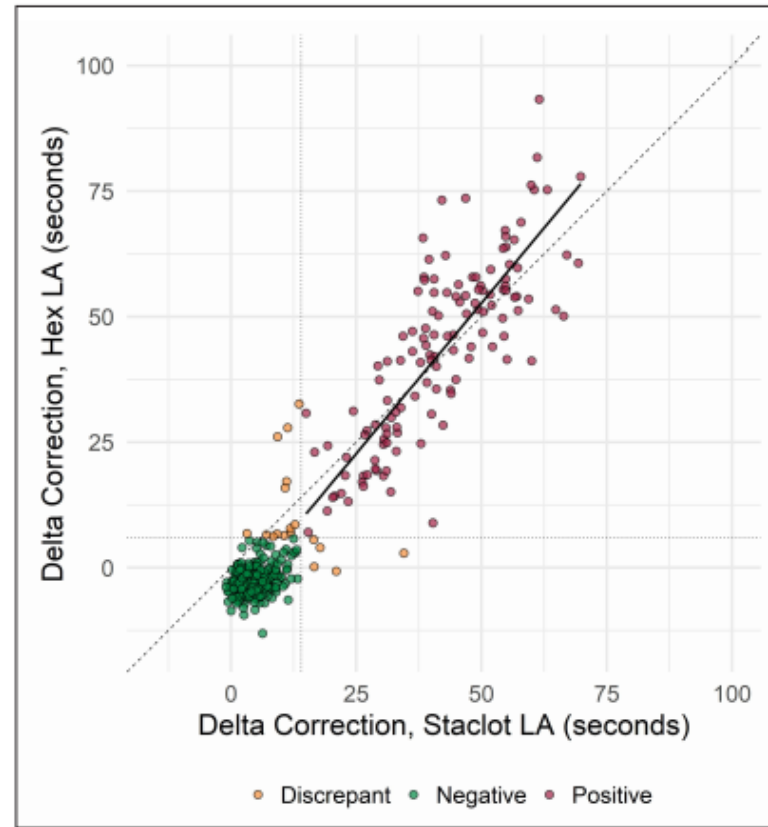
446 plasmas ont été testés avec le Staclot™ LA et le Hex LA™.

- ✓ Plasmas négatifs aux 2 tests sont en vert
- ✓ Plasmas positifs aux 2 tests sont en rouge
- ✓ Plasmas positifs à l'un de 2 tests est en orange

Ligne en trait plein : ajustement pour les plasmas positifs aux LA

Ligne en trait pointillé : parfaite corrélation

	Agree / Total	% Agreement	95% Conf. Int.
Negative	295 / 310	95.2%	92.1 – 97.3%
Positive	130 / 136	95.6%	90.6 – 98.4%
Total	425 / 446	95.2%	92.8 – 97.1%

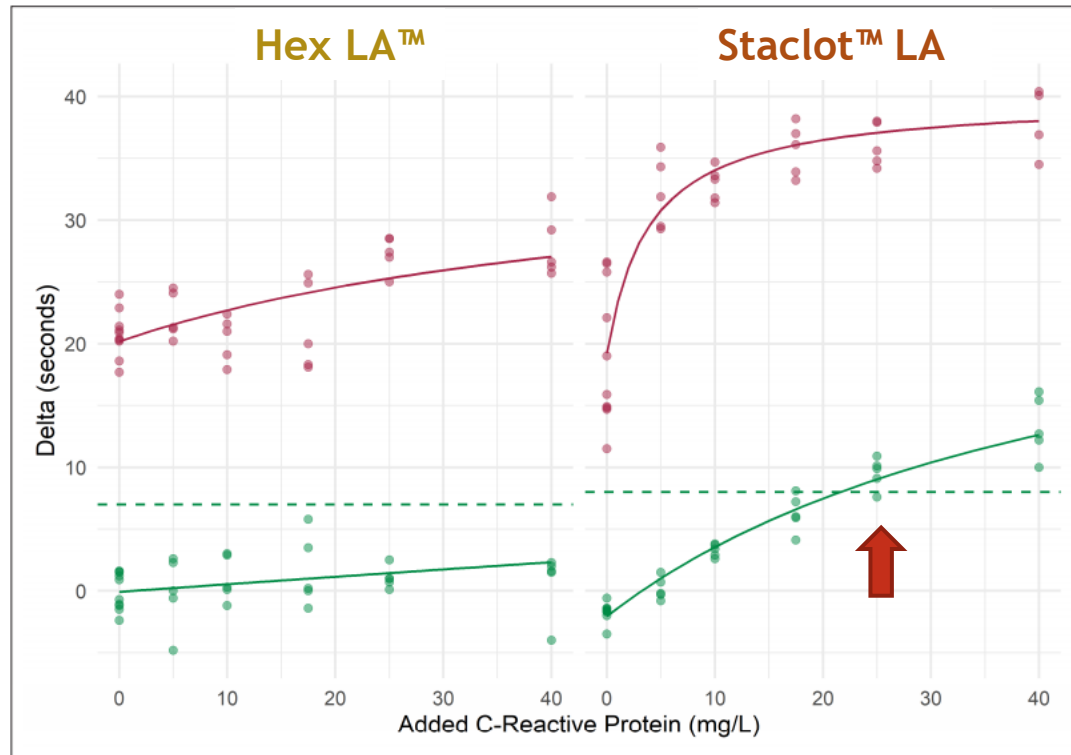


Excellente concordance entre les 2 tests (Staclot™ LA de Stago et CRYOcheck™ Hex LA™ de PBI) pour la mesure des plasmas de patients.

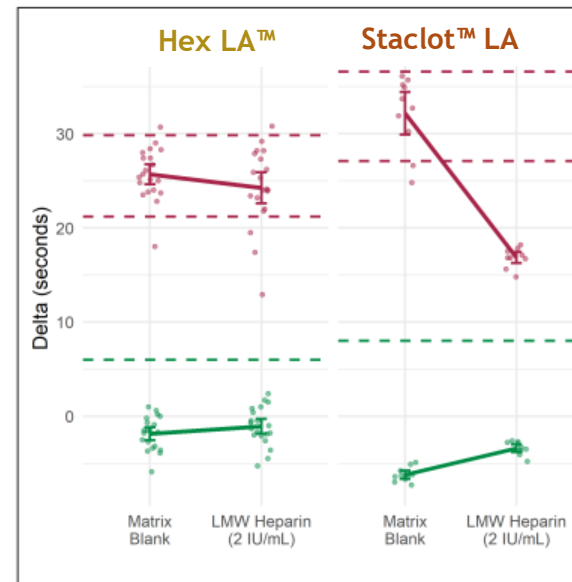
Comparaison entre Staclot™ LA et Hex LA™

C-Reactive Protein

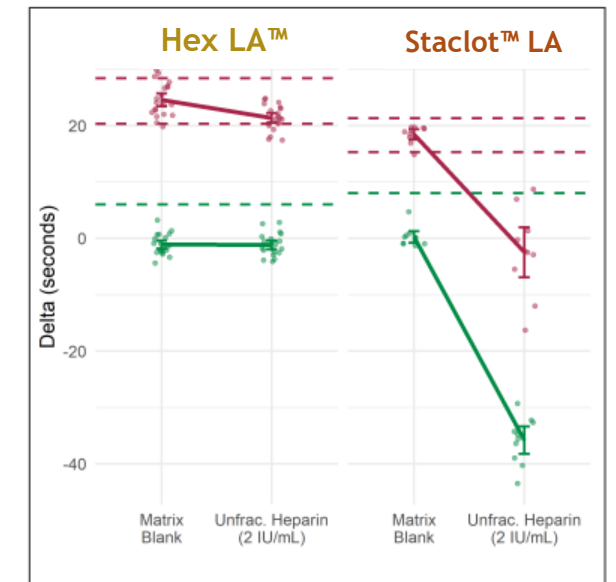
Contrôle positif aux LA
Contrôle négatif aux LA



Low Molecular Weight Heparin



Unfractionated Heparin



L'utilisation de CRP au delà de 40 mg/L n'a pas d'effet significatif sur les plasmas négatifs aux LA avec Hex LA™

Staclot™ LA semble être plus sensible à la Protéine C réactive (CRP) avec un plasma LA négatif qui apparaît positif à 25mg/L

L'utilisation d'héparine n'interfère pas avec Hex LA™

L'utilisation d'héparine interfère avec les 2 tests de façon plus importante pour les plasmas positifs aux LA qui sortent des limites avec le réactif Staclot™ LA.

Comparaison entre les automates

STA-R EVOLUTION®

Control	N	Mean Delta	Repeatability		Reproducibility	
			SD	%CV	SD	%CV
Lupus Negative	240	0.8	1.8	-	2.6	-
Weak Lupus Positive	240	23.2	3.3	14%	3.6	16%
Lupus Positive	250	47.7	5.0	10%	5.5	12%

BCS® XP

Control	N	Mean Delta	Repeatability		Reproducibility	
			SD	%CV	SD	%CV
Lupus Negative	60	5.8	0.5	-	0.6	-
Weak Lupus Positive	60	29.6	0.9	3%	2.1	7%
Lupus Positive	60	60.7	1.5	2%	4.0	7%

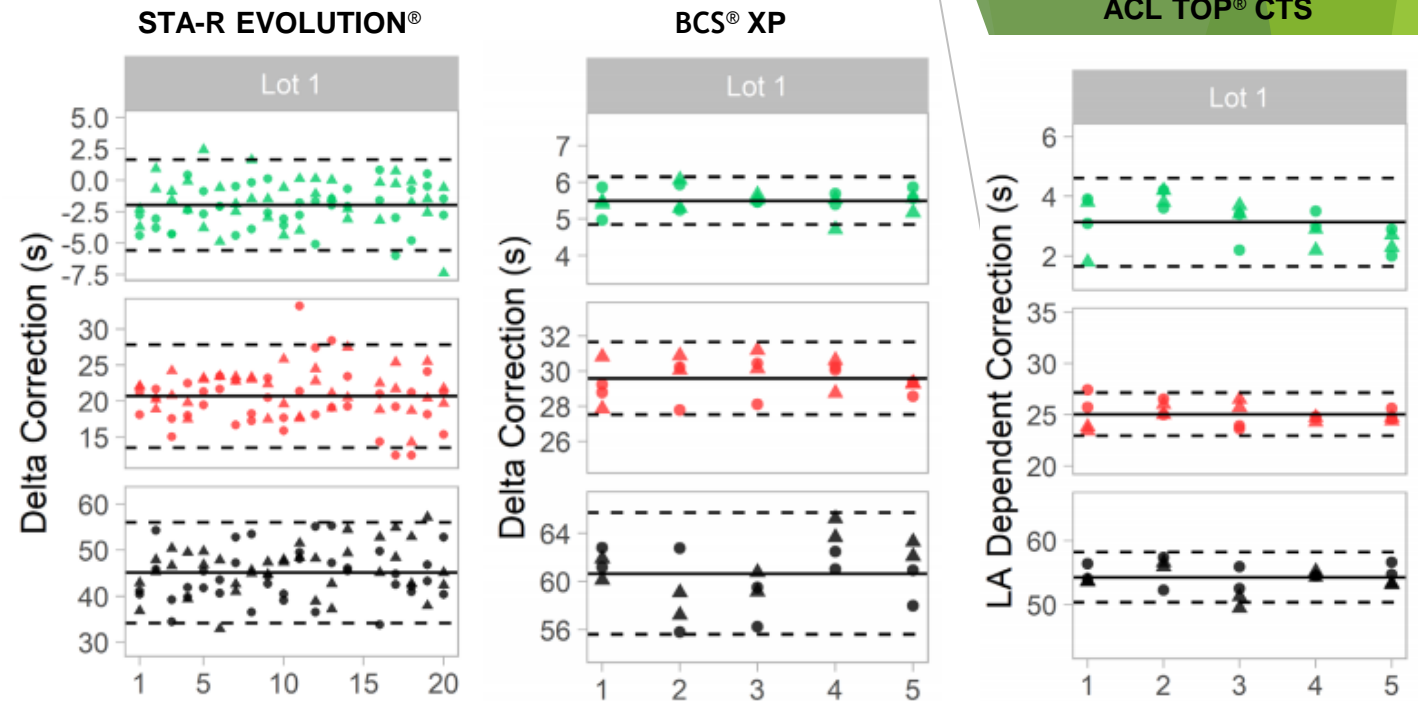
ACL TOP® CTS

Control	N	Mean	Repeatability		Reproducibility	
			SD	%CV	SD	%CV
Lupus Negative	60	3.6	0.5	-	1.4	-
Weak Lupus Positive	60	26.2	0.9	3%	5.2	19%
Lupus Positive	60	54.1	1.7	3%	7.9	15%

Contrôles utilisés pour l'ensemble des tests :

- CRYOcheck™ Lupus Negative Control
- CRYOcheck™ Weak Lupus Positive Control
- CRYOcheck™ Lupus Positive Control

PRECISION *



* Résultats identiques entre les lots

L'analyse du kit Hex LA™ sur les 3 analyseurs montre d'excellentes performances en terme de précision, répétabilité, de reproductibilité et de stabilité entre les lots.

Classement de sensibilité des tests de détection des LA (dRVVT, PNP, HPPNA)

Nine-test panel has superior sensitivity to detect antiphospholipid antibody syndrome in patients with or without SLE

Konrad Dziamski¹, Saika Sharmeen¹, Katalin Banki², Andras Perl³

Affiliations + expand

PMID: 32200114 PMCID: PMC7200285 DOI: 10.1016/j.clim.2020.108388

[Free PMC article](#)

Our study clearly indicates that the HPPNA is by far the most sensitive individual LAC test to detect APS in the presence or absence of concurrent SLE. The only exception was PNP, which was the most sensitive test to detect APS in non-SLE patients with stroke. Otherwise, PNP was the 2nd most sensitive test for detection of APS in all other patient groups. In contrast, dRVVT was less sensitive than HPPNA or PNP in all patient groups tested.

Our findings indicate that HPPNA should be chosen to screen for aPL. This is consistent with earlier observations that HPPNA is underutilized among the various LAC assays.



HPPNA : test de neutralisation des phospholipides en phase hexagonale

PNP : procédure de neutralisation par les plaquettes

dRVVT : test du venin de la vipère Russell dilué

SLE : lupus érythémateux systémique

SAPL : syndrome des antiphospholipides

aCL : anticardiolipine

a β 2 : anti β 2-glycoprotéine 1

- L'utilisation des phospholipides en phase hexagonale est de loin le test le plus sensible dans la détection du SAPL.
- Conseil l'utilisation des HPPNA comme test de détection

Soutien au processus de recherche de nouveaux produits

L'intégration d'un nouveau produit nécessite de nombreuses décisions, notamment la recherche d'une solution qui conviendra le mieux et sera la plus efficace.

La solution adaptée à vos besoins

Vous avez besoin d'un partenaire qui peut vous accompagner à chaque étape et ainsi vous apporter une réponse adaptée à votre fonctionnement.



83 rue Yves Montand
34080 Montpellier
T : 04 67 10 71 20
<https://www.cryopep.fr>
contact@cryopep.com



Precision BioLogic Inc.
140 Eileen Stubbs Avenue
Dartmouth, NS
B3B 0A9
Canada

Test et validation des produits sélectionnés

Dans le cadre du détection des LA et en tant que distributeur de confiance, nous avons le plaisir de mettre à votre disposition une gamme de coffrets et produits associés à usage diagnostique entièrement adaptables sur automates.

Expertise et compétences

Un support scientifique est présent pour répondre à toutes vos questions, vous conseiller sur l'utilisation optimale des produits et ainsi valoriser les performances de votre laboratoire.