

# PF4 IgG<sup>TM</sup>

## UTILISATIONS PRÉVUES

Le PF4 IgG<sup>TM</sup> est un test de dépistage qualitatif par la méthode ÉLISA (enzyme linked immunosorbent assay) en phase solide conçu pour détecter les anticorps IgG réagissant avec le facteur plaquettaire 4 (PF4) liés à des composés polyanioniques tel que le sulfonate de polyvinyle (PVS).

Pour usage diagnostique in vitro.

## SOMMAIRE ET EXPLICATION

Les patients traités à l'héparine pendant au moins une semaine développent souvent une thrombocytopénie.<sup>1,2,3</sup> Dans certains cas le niveau de plaquettes est très peu diminué et revient à la normale même lorsque le traitement à l'héparine se poursuit. Ce type de thrombocytopénie est nommé thrombocytopénie induite par l'héparine (TIH) de "Type I" et n'est pas causée par des anticorps.<sup>2</sup>

Chez d'autres patients, la thrombocytopénie est habituellement plus sévère et est causée par des anticorps. Cet état est nommé TIH de "Type II". La TIH de type I est généralement considérée comme un état bénin, alors que les patients atteints de TIH de type II ont un risque de développer une thrombocytopénie plus sévère, de même que des thromboses artérielles et veineuses, si le traitement à l'héparine se poursuit. Les anticorps associés au TIH de type II peuvent être détectés de plusieurs façons. Les techniques les plus utilisées sont le test d'agrégation des plaquettes,<sup>4</sup> le test de libération de sérotonine,<sup>5</sup> et le test ELISA de dépistage des anticorps associés au complexe PF4/ héparine.<sup>6,7,8</sup>

Il est maintenant connu que les anticorps associés à la TIH de type II reconnaissent des sites sur une protéine plaquettaire nommée facteur plaquettaire 4 (PF4), sites créés lorsque la protéine PF4 est liée avec l'héparine ou avec tout autre composé polyanionique linéaire tel que le sulfonate de polyvinyle (PVS).<sup>9,10,11</sup>

Les micropuits du kit PF4 IgG<sup>TM</sup> fournissent un complexe PF4:PVS comme cible pour la détection des anticorps associés à la TIH de type II.

## PRINCIPE

Le sérum ou le plasma est ajouté aux micropuits contenant le facteur plaquettaire 4 (PF4) lié au sulfonate de polyvinyle (PVS). Si un anticorps, reconnaissant un site sur le PF4:PVS, est présent, la liaison se produira. Les anticorps non liés sont alors lavés. Un réactif anti-globuline humaine conjugué à la phosphatase alcaline (Anti-IgG) est ajouté aux puits et incubé. Les Anti-IgG non liés sont lavés et le substrat PNPP (p-nitrophényl phosphate) est ajouté. Après 30 min d'incubation la réaction est arrêtée. La densité optique de la couleur qui se développe est mesurée au spectrophotomètre.

## COMPOSITION DU COFFRET

Nombre maximum de tests par coffret: 13 (HAT13G) ou 45 (HAT45G)

Tous les réactifs doivent être entreposés selon les instructions indiquées sur l'étiquette.

- |             |  |
|-------------|--|
| <b>MS</b>   | 1. Micropuits: barrettes avec micropuits à fond plat auxquelles est attaché le facteur plaquettaire (PF4) lié au sulfonate de polyvinyle (PVS). Les barrettes sont incluses dans des sachets d'aluminium refermable. Prêt à l'emploi.  |
| <b>HTCW</b> | 2. PF4 Solution de lavage concentrée (10x): solution tamponnée de Tris (hydroxyméthyl) aminométhane contenant du chlorure de sodium et du Tween 20. 1% d'azide de sodium. Diluer avec de l'eau désionisée ou distillée avant utilisation. Conserver la solution de lavage diluée jusqu'à 48 heures à la température de la pièce ou jusqu'à 7 jours à une température de 2 à 8°C. |
| <b>HSD</b>  | 3. Tampon pour échantillon: solution saline tamponnée au phosphate. 0,05% d'azide de sodium. Prêt à l'emploi.  |
| <b>SB</b>   | 4. Tampon de substrat: Cette solution contient du diéthanolamine et du chlorure de magnésium. 0,02% d'azide de sodium. Prêt à l'emploi. Protéger de la lumière.  |

<b>ESS</b>	5. Solution d'arrêt: Prêt à l'emploi
<b>HAG</b>	6. Conjugué: Anticorps de chèvre anti-immunoglobuline (IgG) humaine, purifié par affinité et conjugué à la phosphatase alcaline. 0,1% d'azide de sodium. Diluer avec le tampon pour échantillon avant utilisation.
<b>PN</b>	7. Substrat PNPP (p-nitrophényl phosphate): Poudre cristalline. Reconstituer avec de l'eau désionisée ou distillée et diluer avec le tampon de substrat avant utilisation. Protéger de la lumière.
<b>HPC</b>	8. Sérum contrôle positif: sérum humain contenant de l'albumine bovine. 0,1% d'azide de sodium. Diluer avec le tampon pour échantillon avant utilisation.
<b>HNC</b>	9. Sérum contrôle négatif: sérum humain. 0,1% d'azide de sodium. Diluer avec le tampon pour échantillon avant utilisation.
<b>PS</b>	10. Adhésifs pour plaques.

## **PRÉCAUTIONS**

- Ne pas utiliser de réactifs qui seraient troubles ou contaminés.
- Prendre des précautions pour éviter la contamination du tampon pour échantillon et du conjugué. Une contamination involontaire de ces réactifs avec du sérum humain entraînera la neutralisation du conjugué et ainsi l'échec du test.
- Ne pas utiliser de réactifs au-delà de la date de péremption.
- Les micropuits et les réactifs inclus dans ce coffret ne doivent pas être utilisés avec des éléments d'autres tests.
- La substitution de composants fournis dans ce coffret peut entraîner des résultats incohérents ou erronés.
- Après chaque série, jeter tout reliquat de solution, conjugué dilué, contrôles positif et négatif dilués, réactif PNPP reconstitué et dilué.
- Lors de la préparation des dilutions, pipetter selon les instructions du fabricant afin d'assurer des techniques de distribution et de rinçage appropriées.
- La réaction entre l'enzyme et le substrat, se produisant lors de l'incubation finale, est sensible à la température et doit être exécutée dans un environnement contrôlé de 22-25°C.
- À cause de variations des instruments ou de températures constamment plus élevées ou plus faibles, il peut être nécessaire pour le laboratoire d'établir une période d'incubation légèrement plus longue ou plus courte afin d'obtenir de façon constante des résultats de contrôles valides. La température de l'incubation finale peut affecter les valeurs des contrôles, il est donc important de vérifier de façon périodique la température de la pièce d'incubation.

## **AVERTISSEMENTS**

- Tous les sérums d'origine humaine utilisés dans les contrôles négatifs et positifs ont été testés et trouvés négatifs concernant les anticorps anti-VIH 1+2, l'hépatite C et l'antigène HBs. Cependant aucune méthode ne peut offrir une totale assurance de l'absence de ces virus ou autres agents infectieux. Par conséquent, ces matériaux doivent être manipulés comme des produits potentiellement infectieux.
- Certains réactifs fournis dans ce coffret contiennent de l'azide de sodium comme agent de conservation.  
**MISE EN GARDE:** L'azide de sodium réagit avec le plomb et le cuivre de la plomberie pour former des métaux azides hautement explosifs. Lorsque disposé dans l'évier, il est recommandé de rincer avec beaucoup d'eau pour éviter la concentration d'azide. L'azide de sodium est un poison, toxique si ingéré.
- Jeter les réactifs terminés selon les règlements locaux.

## **ÉCHANTILLONS**

Le sang doit être prélevé dans de l'ACD ou du citrate de sodium (plasma), ou sans anticoagulant (sérum) selon des techniques aseptiques. Il est recommandé de prélever le sang sans anticoagulant selon des techniques aseptiques. Le sang devrait être testé pendant qu'il est encore frais afin de minimiser les risques d'obtenir de faux positifs ou de faux négatifs causés par un mauvais entreposage ou une contamination de l'échantillon. Les échantillons qui ne peuvent être testés immédiatement doivent être conservés à une température de 2-8°C jusqu'à 48 heures suivant le prélèvement, ou congelés. Les échantillons congelés à une température  $\leq -20^{\circ}\text{C}$  se conservent pendant plusieurs années (2 à 3 ans). Cependant, pour éviter les effets néfastes de cycles

répétés de congélation – décongélation, il est recommandé d’aliquoter les échantillons en petits volumes avant de les congeler. Éviter les congélateurs à dégivrage automatique.

Le sérum ou le plasma doit être séparé des cellules rouges lorsqu’il est conservé ou envoyé.

Des particules ou des agrégats dans l’échantillon peuvent causer des résultats faux positifs ou de mauvaises valeurs de duplicats. Ces échantillons doivent être clarifiés par centrifugation avant d’être testés.

Seul le sérum ou le plasma humain entier est approprié pour cet essai. La dilution préalable des échantillons avec toute autre chose que le sérum humain normal, négatif pour ÉLISA, peut modifier les résultats.

Des échantillons contaminés par des microbes, hémolysés, lipémiques, ictériques ou inactivés par la chaleur peuvent donner des résultats incohérents et doivent être évités.

**MISE EN GARDE:** Les échantillons anticoagulés à l’héparine ne doivent pas être utilisés dans ce test.

## **MODE OPÉRATOIRE**

### **Matériel Fourni:**

Les flacons peuvent contenir une quantité de réactif plus grande que celle indiquée sur l’étiquette. Bien mesurer le réactif avec un instrument approprié pour préparer les dilutions.

1. 4 – 1 x 8 barrettes de micropuits avec support (HAT13G) ou  
12 – 1 x 8 barrettes de micropuits avec support (HAT45G)
2. 1 x 50 ml PF4 solution de lavage concentrée
3. 1 x 30 ml tampon pour échantillon
4. 1 x 14 ml tampon de substrat
5. 1 x 14 ml solution d’arrêt
6. 1 x 80 µl conjugué anti-IgG humain
7. 4 x 50 mg substrat PNPP (HAT13G) ou  
6 x 50 mg substrat PNPP (HAT45G)
8. 1 x 100 µl sérum contrôle positif
9. 1 x 100 µl sérum contrôle négatif
10. Adhésifs pour plaques

### **Matériel Nécessaire non Fourni:**

1. Tubes à essai pour échantillons de patients, dilution des contrôles et dilution des réactifs
2. Pipettes de transfert
3. Micropipettes ajustables pour distribuer 1 – 10 µl, 10 – 100 µl et 100 – 1000 µl avec des embouts jetables
4. Chronomètre
5. Lecteur de microplaque capable de mesurer des densités optiques de 405, 410 et 490 nm
6. Eau désionisée ou distillée
7. Papier absorbant
8. Instrument pour laver les microplaques
9. Centrifugeuse capable de séparer le sérum ou le plasma des échantillons de patients
10. Incubateur ou bain-marie à 37°C
11. Héparine porcine, USP 10 000 units/mL

### **Procédure**

1. Amener tous les réactifs à la température de la pièce.
2. Préparer une solution de lavage de travail en diluant la solution HTCW. Ajouter 1 volume solution HTCW à 9 volumes d’eau désionisée ou distillée. Bien mélanger.
3. Déterminer le nombre d’échantillons de patients à tester. Utiliser le tableau de résultats pour assigner chaque échantillon à un emplacement consistant en deux puits (duplicats). Noter l’identité de chaque échantillon sur le tableau de résultats.

## PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS ET DES CONTRÔLES

4. Diluer comme suit et bien mélanger:

	Volume de tampon pour échantillon	Volume d'échantillon
HPC	294 µl	6 µl
HNC	294 µl	6 µl
Échantillon patient	294 µl	6 µl

NOTE: Une mesure précise des échantillons contrôles et de patients est essentielle pour obtenir des résultats exacts.

5. Retirer la monture de micropuits du sachet. Retirer rapidement et resceller toutes barrettes non utilisées dans le sachet protecteur.

NOTE: Une seule monture est fournie avec le coffret. Ne pas la jeter avant que toutes les barrettes aient été utilisées.

NOTE: Orienter la plaque afin que le puits A1 se situe en haut à gauche. Soyez certain que toutes les barrettes soient mises de façon appropriées et insérées dans la plaque. Etiqueter ou numéroter chaque barrette afin d'éviter des erreurs. Maintenir la même orientation de plaque durant toute la technique.

6. Ajouter 300 µl de solution de lavage diluée à chaque puits et laisser reposer 5 à 10 minutes à la température de la pièce.

7. Aspirer ou décanter énergiquement et inverser sur du tissu-éponge absorbant pour empêcher de s'assécher.

8. Ajouter 50 µl du contrôle approprié ou de l'échantillon dans les puits tel qu'indiqué sur le tableau de résultats.

NOTE: Ne pas ajouter d'échantillons ou de réactifs aux puits vierges.

NOTE: Si plusieurs échantillons de patients différents sont testés en même temps, une seule série de contrôles est nécessaire. Étiqueter chaque barrette pour éviter les erreurs.

9. Sceller les micropuits avec un adhésif pour plaques et incuber de 30 à 35 minutes à 37°C au bain-marie. Si un incubateur sec est utilisé au lieu du bain-marie, augmenter le temps d'incubation de 10 minutes.

10. Diluer le conjugué 1 dans 100 dans le tampon pour échantillon. Utiliser un contenant en polypropylène.

Barrettes:	1 ou 2 – 1 x 8	4 – 1 x 8	12 – 1 x 8
HAG	10 µl	20 µl	60 µl
HSD	1,0 ml	2,0 ml	6,0 ml

NOTE: Le conjugué est une solution visqueuse. Amorcer les embouts de pipette en prélevant-distribuant 2-3 fois dans le conjugué avant de l'ajouter au tampon pour échantillon; rincer après chaque distribution. Bien mélanger.

### 11. ÉTAPE DE LAVAGE:

- Aspirer ou décanter le contenu de chaque puits et presser sur de tissu-éponge absorbant.
- Ajouter 300 µl de solution de lavage diluée.
- Aspirer ou décanter.
- Répéter les étapes b et c pour un total de 3 à 4 lavages.
- Décanter vigoureusement pour enlever toute solution de lavage résiduelle. Inverser sur du tissu-éponge absorbant pour empêcher de s'assécher.

NOTE: Il est important d'enlever complètement toute la solution de lavage après le dernier lavage.

12. Ajouter 50 µl de conjugué dilué (préparé précédemment) à chaque puits SAUF aux puits désignés VIERGES.

13. Sceller les micropuits avec un adhésif pour plaques et incuber de 30 à 35 minutes à 37°C au bain-marie. Si un incubateur sec est utilisé au lieu du bain-marie, augmenter le temps d'incubation de 10 minutes.
14. Dissoudre le substrat PNPP en ajoutant 0,5 ml d'eau désionisée ou distillée au flacon. Remettre le bouchon et bien mélanger. Protéger de la lumière jusqu'à utilisation.
15. Diluer le PNPP (1 dans 100) dans le tampon de substrat.

Barrettes:	1 ou 2 – 1 x 8	4 – 1 x 8	12 – 1 x 8
PN	20 µl	40 µl	120 µl
SB	2,0 ml	4,0 ml	12,0 ml

Bien mélanger. Protéger de la lumière jusqu'à utilisation.

#### 16. ÉTAPE DE LAVAGE:

- a. Aspirer ou décanter le contenu de chaque puits et presser sur de tissu-éponge absorbant.
- b. Ajouter 300 µl de solution de lavage diluée.
- c. Aspirer ou décanter.
- d. Répéter les étapes b et c pour un total de 3 à 4 lavages.
- e. Décanter vigoureusement pour enlever toute solution de lavage résiduelle. Inverser sur du tissu-éponge absorbant pour empêcher de s'assécher.

Poursuivre rapidement les trois prochaines étapes.

17. Ajouter 100 µl de la solution de PNPP diluée à chaque puits SAUF ceux désignés VIERGES.
18. Incuber les micropuits dans l'obscurité pendant 30 minutes à la TEMPÉRATURE DE LA PIECE (22-25°C).

NOTE: Le temps et la température d'incubation suite à l'ajout du PNPP sont critiques. NE PAS varier le temps et la température d'incubation établis. À des fins d'uniformité, débiter le chronométrage rapidement après l'ajout du réactif au premier puits.

19. Arrêter la réaction par l'ajout de 100 µl de solution d'arrêt à chaque puits dans le même ordre que celui utilisé lors de l'ajout du substrat. Ajouter 200 µl de la solution d'arrêt aux puits vierges.
20. Lire la densité optique de chaque puits à 405 ou 410 nm en utilisant un filtre de référence de 490 nm. Si les résultats ne peuvent être lus immédiatement, laisser les puits dans l'obscurité jusqu'à 30 minutes.
21. Soustraire la valeur obtenue pour les puits vierges de tous les puits contenant les contrôles et les échantillons. Plusieurs instruments de lecture ÉLISA sont programmés pour faire ce calcul automatiquement.
22. Noter les résultats obtenus sur le tableau de résultats.

### CONTROLE QUALITÉ

Le contrôle de qualité du kits PF4 IgG<sup>TM</sup> est assuré par l'utilisation de sérums contrôles positifs et négatifs. Ces contrôles doivent être inclus lors de chaque série pour aider à déterminer si des erreurs techniques ou des échecs de réactifs se sont produits.

Critères pour valider le test:

	Contrôle Négatif	Contrôle Positif
Valeur moyenne de la densité optique (OD)	≤ 0,300	≥ 1,800

Les valeurs de densité optique obtenues pour les duplicats doivent être à l'intérieur de 20% de la moyenne des deux valeurs. Les échantillons pour lesquels les résultats sont à l'extérieur de cette limite doivent être retestés.

NOTE: De mauvaises valeurs de duplicats peuvent être causées par l'omission d'un réactif ou de l'échantillon, l'ajout inégal des réactifs, une température d'incubation inégale, une exposition à la lumière lors de l'incubation finale, ou une contamination entre puits. L'absence de résultats de tests en duplicats peut mener à l'approbation de résultats erronés.

## **INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS**

Les résultats des tests démontrant des valeurs de densité optique égales ou plus grandes que 0,400 sont considérés comme résultats positifs.

## **PROCÉDURE POUR LA CONFIRMATION D'ANTICORPS ASSOCIÉS À L'HÉPARINE**

- 1) Ajouter 10 µl d'héparine (10 000 unités/ml) à 1 ml de tampon pour échantillon pour une concentration finale de 100 unités par ml.
- 2) Retourner à l'étape 4. Diluer les échantillons de patients et le contrôle positif dans le tampon pour échantillon contenant un excès d'héparine. Diluer également les échantillons patients, le contrôle positif et le contrôle négatif dans le tampon pour échantillon inclus dans la trousse.
- 3) Réhydrater les barrettes comme précédemment. Ajouter des aliquots de 50 µl de chaque dilution des contrôles et de patients aux puits en duplicats.
- 4) Poursuivre le test décrit dans la section 'Procédure' en débutant à l'étape 9.

## **INTERPRÉTATION DE LA PROCÉDURE DE CONFIRMATION**

Une inhibition de plus de 50% d'une réaction positive en présence d'un excès d'héparine est considérée comme la confirmation de la présence d'anticorps spécifiques qui réagissent avec l'héparine-PF4. Le contrôle positif devrait également démontrer une inhibition. La formule pour déterminer le % d'inhibition est la suivante:

$$\left[ (1) - \left( \frac{\text{Échantillon de patient avec héparine} - \text{Contrôle Négatif}}{\text{Échantillon de patient sans héparine} - \text{Contrôle Négatif}} \right) \right] \times 100 = \% \text{ d'Inhibition}$$

Exemple: L'échantillon du patient donne une valeur de densité optique de 1,000 dans l'essai standard avec une valeur de contrôle négatif de 0,200. En présence d'un excès d'héparine, le sérum ou le plasma de patient donne une valeur de densité optique de 0,400. Le pourcentage d'inhibition est:

$$\left[ (1) - \left( \frac{0,400 - 0,200}{1,000 - 0,200} \right) \right] \times 100 = 75\%$$

L'inhibition d'une réaction positive par moins de 50% est considérée un résultat ambigu. Ce type de réaction est causé par un petit pourcentage d'anticorps chez les patients soupçonnés de cas de HIT de type II. La signification de ce type de réaction n'est pas encore établie. Il n'est pas encore déterminé s'il est risqué ou non d'administrer à nouveau de l'héparine aux patients dont le sérum ou plasma donne une réaction ambiguë.<sup>12</sup>

## **LIMITES DE LA TECHNIQUE**

Des résultats erronés peuvent être causés par une contamination bactérienne des matériaux du test, des périodes d'incubation inadéquates, un mauvais lavage ou décantation des puits, une exposition du substrat à la lumière, l'omission de réactifs, une exposition à des températures plus élevées ou plus faibles que celles prescrites, ou l'omission d'étapes.

La présence de complexes immuns ou autres agrégats d'immunoglobulines dans les échantillons de patients peut causer une augmentation de la liaison non-spécifique et produire de faux positifs dans ce test.

Les résultats de ce test ne doivent pas être utilisés comme le seul fondement d'un jugement clinique.

Certains anticorps à faible titre et faible avidité peuvent ne pas être détectés par ce test.

Les complexes PF4:PVS utilisés dans ce test peuvent différer légèrement de ceux créés par les complexes PF4:héparine. Il est donc possible que certains anticorps réagissant avec les complexes de PVS ne réagissent pas avec les complexes à l'héparine et vice versa.

Bien qu'une réaction positive obtenue par ce test puisse indiquer la présence d'anticorps associé à l'héparine, la détection de tels anticorps NE CONFIRME PAS le diagnostic d'une thrombocytopénie induite par l'héparine (TIH).

Certains patients peuvent naturellement posséder des anticorps contre le PF4.

Les échantillons de patients exposés à l'héparine mais pas sous traitement à l'héparine n'ont pas été utilisés lors de l'évaluation de ce produit. Par conséquent, des échantillons de patients autres que ceux sous traitement à l'héparine ne doivent pas être testés.

## **PERFORMANCES SPÉCIFIQUES**

### **Précision**

Les inter-série, intra-série, et l'imprécision totale du test PF4 IgG<sup>TM</sup> ont été déterminés. Trois échantillons de concentration variable d'anticorps ont été préparés en diluant un échantillon de sérum contenant un haut dosage d'anticorps anti-PF4:PVS dans un pool de sérum humain ne contenant pas d'anticorps anti-PF4:PVS. Les trois échantillons positifs et un échantillon négatif ont été testés avec l'essai PF4 IgG<sup>TM</sup> en duplicat dans 10 séries séparées. Afin d'obtenir l'imprécision des valeurs de DO, les données ont été analysées par ANOVA en accord avec le CLSI document EP-5A2. Les calculs sont montrés dans le tableau ci-dessous. Les résultats démontrent un CV  $\leq 10\%$  pour les valeurs de DO pour tous les échantillons. De plus, les résultats reportés ont été analysés en accord avec le CLSI document EP-5A2. Il y avait 100% de concordance entre les résultats intra-série et entre les séries pour chaque échantillon testé.

Echantillon	Valeur DO moyenne	Intra-série SD	Intra-série %cv	Inter-série SD	Inter-série %cv	Total SD	Total %cv
Négatif	0,090	0,005	5,6%	0,008	8,9%	0,009	10,0%
Faiblement Positif	0,562	0,023	4,1%	0,056	10,0%	0,058	10,3%
Moyennement Positif	1,613	0,035	2,2%	0,075	4,7%	0,079	4,9%
Hautement Positif	2,701	0,069	2,6%	0,092	3,4%	0,092	3,8%

### **Fourchette normale de l'PF4 IgG<sup>TM</sup>**

Cent vingt sérums d'individus sains normaux ont été testés (en double) avec le kit PF4 IgG<sup>TM</sup>. Les valeurs des D.O. n'ont pas montré une distribution normale. Une analyse non paramétrique a donc été utilisée pour déterminer la distribution de la fourchette normale des D.O. (intervalle de référence de 95% avec une confiance à 90%). La limite supérieure de la fourchette normale a été calculée et se situe à 0,352 unités de D.O.

### **Méthode de comparaison: Comparaison du PF4 IgG<sup>TM</sup> au PF4 ENHANCED<sup>®</sup> et au test de libération de la sérotonine (Serotonin Release Assay, SRA).**

Deux études indépendantes ont été menées pour comparer le kit PF4 IgG<sup>TM</sup> à la fois au kit PF4 ENHANCED<sup>®</sup> et au test de libération de la sérotonine (SRA). Le kit PF4 ENHANCED<sup>®</sup> est un ELISA qualitatif pour la détection des anticorps IgG, IgA et IgM associés à l'héparine. Un total de 400 échantillons de sérum a été testé (site 1: n = 229 échantillons; site 2: n = 171 échantillons). Les tableaux suivants montrent les comparaisons des méthodes sur les données combinées des deux études.

		PF4 ENHANCED <sup>®</sup>		Total
		Positifs	Négatifs	
PF4 IgG <sup>TM</sup>	Positifs	77	0	77
	Négatifs	52	271	323
Total		129	271	400

Concordance: 87%

Copositivité: 60% (Intervalle de confiance à = 51,1 – 67,8%)

Conégativité: 100% (Intervalle de confiance à 95% = 98,6 – 100,0%)

### Essai de libération de la sérotonine

	Positifs	Négatifs	Total	
PF4 IgG <sup>TM</sup>	Positifs	41	36	77
	Négatifs	4	319	323
	Total	45	355	400

Concordance: 90%

Copositivité: 91% (Intervalle de confiance à 95% = 79,3 – 96,5%)

Conégativité: 90% (Intervalle de confiance à 95% = 86,3 – 92,6%)

On a démontré que trois des 4 échantillons négatifs avec le kit PF4 IgG<sup>TM</sup> et positifs avec le test SRA contenaient des anticorps IgM ou IgM et IgA réagissant avec le complexe PF4:PVS. Le quatrième échantillon était négatif avec le test SRA réalisé dans un autre laboratoire.

### Substances interférentes

Les différentes substances endogènes suivantes ont été testées avec le kit PF4 IgG<sup>TM</sup> à la concentration indiquée. L'analyse a été réalisée conformément à la directive ratifiée CLSI EP7: Interference Testing in Clinical Chemistry. Chacune des substances a été ajoutée à des échantillons contenant des réactivités différentes d'anticorps anti-héparine-PF4 (négatif, faiblement positif, moyennement positif, fortement positif). Les échantillons ont ensuite été testés avec le kit PF4 IgG<sup>TM</sup>. Les résultats ont été comparés à ceux du contrôle dans lequel aucune substance interférente n'avait été ajoutée. Pour tous les échantillons testés, les substances n'avaient pas d'effet significatif (différence <10% entre les valeurs de D.O. de l'échantillon à analyser et du contrôle) sur les résultats obtenus par l'essai PF4 IgG<sup>TM</sup>.

Hémoglobine 500 mg/dL

Triglycérides 500 mg/dL

Bilirubine 20 mg/dL

### Substances à réaction-croisée

Afin de déterminer une réactivité croisée possible entre l'antigène cible et des anticorps autres que des anticorps associés à l'héparine, 68 échantillons contenant une variété d'anticorps, incluant des anticorps connus contre des allo-antigènes plaquettaires, des auto-anticorps de plaquettes, des anticorps contre les molécules HLA de classe I et contre le facteur rhumatoïde, ont été testés et aucun n'a démontré de réactivité croisée avec l'antigène cible immobilisé dans les micropuits.

### RÉFÉRENCES

1. Visentin GP, Aster RH: Heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis. *Curr Opin Hematol* 2:351-357, 1995.
2. Chong BH: Heparin-induced thrombocytopenia. *Blood Rev* 2:108-114, 1988.
3. Warkentin TE, Chong BH, Greinacher A: Heparin-induced thrombocytopenia: Towards consensus. *Thromb Haemost* 79:1-7, 1998.
4. Chong BH, Burgess J, Ismail F: The clinical usefulness of the platelet aggregation test for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Thromb Haemost* 69:344-350, 1993.
5. Sheridan D, Carter C, Kelton JG: A diagnostic test for heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 67:27-30, 1986.
6. Amiral J, Bridey F, Dryfus M, Vissac AM, Fressinaud E, Wolf M, Meyer D: Platelet factor 4 complexed to heparin is the target for antibodies generated in heparin-induced thrombocytopenia (letter). *Thromb Haemost* 68:95-96, 1992.
7. Visentin GP, Ford SE, Scott JP, Aster RH: Antibodies from patients with heparin-induced thrombocytopenia/thrombosis are specific for platelet factor 4 complexed with heparin or bound to endothelial cells. *J Clin Invest* 93:81-88, 1994.
8. Greinacher A, Potzch B, Amiral J, Dummel V, Eichner A, Mueller-Eckhardt C: Heparin-induced thrombocytopenia: isolation of the antibody and characterization of a multimolecular PF-4 heparin complex as the major antigen. *Thromb Haemost* 71:247-251, 1994.
9. Visentin GP, Moghaddam M, Collins JL, McFarland JG, Aster RH: Antibodies associated with heparin-induced thrombocytopenia (HIT) report conformational changes in platelet factor 4 (PF4) induced by linear, polyanionic compounds. *Blood (Suppl 1)* 90:460a, 1997.

10. Collins JL, Aster RH, Moghaddam M, Piotrowski MA, Strauss TR, McFarland JG: Diagnostic testing for heparin-induced thrombocytopenia (HIT): An enhanced platelet factor 4 complex enzyme linked immunosorbent assay (PF4 ELISA). Blood (Suppl 1) 90:461a, 1997.
11. Visentin GP, et. al. Heparin is not required for the detection of antibodies associated with heparin-induced thrombocytopenia/thrombosis. J. Lab. clin. med. 138:22-31, July 2001.
12. Aster RH; Unpublished Observations.

**U.S. Patent #5,972,718**



**GTi DIAGNOSTICS®**

Good science starts with people.®

20925 Crossroads Circle, Suite 200  
Waukesha, WI 53186-4054 USA  
(262) 754-1000 ou 1-800-233-1843

REF HAT13G ou HAT45G

Révision: 2010-03-29 (F)

**EC REP** Qarad b.v.b.a.  
Volmolenheide 13  
B-2400 Mol  
Belgium

[www.gtidiagnostics.com](http://www.gtidiagnostics.com)

**PF4 IgG™**

- POUR USAGE DIAGNOSTIQUE *IN VITRO*
- CONSERVER À UNE TEMPÉRATURE DE 2-8°C

