



REF 5484

| | |
|--|--|
| CE IVD | |
|  | Helena Biosciences Europe, Queensway South, Team Valley Trading Estate, Gateshead, Tyne and Wear, NE11 OSD, United Kingdom |
| | Tel: +44 (0)191 482 8440 |
| | Fax: +44 (0)191 482 8442 |
| | Email: info@helena-biosciences.com |
| | Web: www.helena-biosciences.com |

HL-2-0723P 2015/10 (7)

| | |
|-------------------------|-----------|
| DRVVT Screen | en |
| Instructions for use | |
| INTENDED PURPOSE | |

The DRVVT Screen kit is intended for carrying out clot based haemostasis assays.

Lupus Anticoagulants (LA) are antibodies of the IgG and IgM type which are directed against a variety of anionic phospholipids. The presence of LA in plasma is increasingly associated with a variety of haemostatic problems such as recurrent fetal loss, thrombocytopenia, unexplained thrombosis and neurological disorders. LA prolongs phospholipid dependant *in vitro* clotting assays such as the activated partial thromboplastin time (aPTT). The Helena Biosciences Europe DRVVT Screen kit is intended for the qualitative determination of LA in human plasma. Russell's Viper venom directly activates Factor X to Factor Xa in the presence of phospholipid and calcium, leading to detectable clot formation in plasma. The DRVVT Screen kit is more sensitive for LA than the aPTT. The DRVVT Screen kit is intended to be used in conjunction with the DRVVT Confirm kit (REF 5485).

WARNINGS AND PRECAUTIONS

The reagents contained in this kit are for *in vitro* diagnostic use only – DO NOT INGEST. Wear appropriate personal protective equipment when handling all kit components. Refer to the product safety declaration for the link to appropriate hazard and precautionary statements where applicable. Dispose of components in accordance with local regulations.

| Component | Content | Description | Preparation |
|--------------|-----------|--|--|
| DRVVT Screen | 10 x 2 mL | Each vial contains a proprietary mixture of Russell's Viper venom co-lyophilised with calcium chloride and phospholipid. | Reconstitute each vial with 2 mL of distilled or deionised water. Allow to stand for 10 minutes and mix well before use. Do not shake. |

Each kit contains Instructions For Use.

ITEMS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

OPTIONAL ITEMS:

| | |
|----------|-----------------------|
| REF 5485 | DRVVT Confirm |
| REF 5486 | LA Positive Control S |
| REF 5186 | Routine Control N |

STORAGE, SHELF-LIFE AND STABILITY

Unopened reagents are stable until the given expiry date when stored under conditions indicated on the vial or kit label.

DRVVT Reconstituted vials are stable for 24 hours at *15 –*30°C, 5 days at *2 –*8°C or 2 weeks at Screen -20°C. The reagent should be frozen in plastic test tubes and thawed at *37°C before use.

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

Plastic or siliconised glass should be used throughout. Blood (9 parts) should be collected into 3.2% or 3.8% sodium citrate anticoagulant (1 part). Separate plasma after centrifugation at 1500 x g for 15 minutes. Plasma should be kept at *2 –*8°C or *18 –*24°C. Testing should be completed within 4 hours of sample collection, or plasma can be stored frozen at -20°C for 2 weeks or -70°C for 6 months. Thaw quickly at *37°C prior to testing. Do not keep at *37°C for more than 5 minutes¹. If freezing, double centrifugation of the sample is recommended to ensure that the sample is platelet poor. Transfer the plasma following the initial centrifugation to a non-activating plastic tube using a plastic pipette, then re-centrifuge the plasma for an additional 10 minutes at a higher speed (>2500 x g). When aliquoting to a secondary tube, take care to not include the residual platelets that may have collected at the bottom of the centrifuge tube².

PROCEDURE

Manual Method

- Pre-warm sufficient reconstituted reagent to *37°C.
- Pipette 0.2 mL of patient or control plasma into a reaction tube. Incubate at *37°C for 2 minutes.
- Add 0.2 mL of pre-warmed DRVVT Screen Reagent and start a timer.
- Measure the clot formation time to the nearest 0.1 seconds.
- Calculate the normalised 'DRVVT Screen' ratio as:

Patient DRVVT Screen Clot Time / Mean Normal DRVVT Screen Clot Time

Automated Method

Refer to the appropriate instrument operator manual for detailed instructions or contact Helena Biosciences Europe for instrument specific application guides.

INTERPRETATION OF RESULTS

Results are best expressed as a normalised ratio relative to the mean normal clot time obtained by each laboratory. It is recommended that like for like sample types are used when calculating a normalised ratio. Both DRVVT Screen and DRVVT Confirm results can be 'normalised' in this way, reducing the effect of instrument variability and potentially improving discrimination between weak positive LA and normal samples. Results of the mixing tests can be treated in the same way.

If the clot time of the patient sample is greater than 3 standard deviations above the mean of the normal range, a lupus anticoagulant may be present. In this case, the plasma should be re-tested after mixing 1:1 with Routine Control N (REF 5186) as well as testing with the DRVVT Confirm kit (REF 5485). If the DRVVT Screen clotting time of the patient plasma mixed 1:1 with Routine Control N is still greater than 3 standard deviations above the mean of the normal range, a lupus anticoagulant may be present. If the DRVVT Screen clotting time of the patient plasma mixed 1:1 with Routine Control N is corrected to within the normal range, a factor deficiency (II, V or X) is most likely.

The Scientific and Standardisation Sub-Committee for the Standardisation of Lupus Anticoagulants of the International Society of Thrombosis and Haemostasis has recommended that the diagnosis of lupus anticoagulant be made when the DRVVT of a test plasma mixed with normal plasma is greater than 3 standard deviations from the mean normal (non-LA) plasma DRVVT time.

The use of the DRVVT Confirm kit allows discrimination between LA, factor deficiency and other inhibitors.

LIMITATIONS

Plasma deficiencies of Factors II, V or X may lead to abnormal results in neat plasma. Mixing studies should correct this.

Plasma from patients with the following may give abnormal results when the plasma is tested neat, and these samples may not correct in mixing studies: heparin (>1 U/mL), oral anticoagulants, disseminated intravascular coagulation (DIC).

Care must be taken to remove residual platelets from plasma by filtration or centrifugation, as platelet derived phospholipid can interfere with the test.

QUALITY CONTROL

Each laboratory should establish a quality control program. Normal and abnormal control plasmas should be tested prior to each batch of patient samples, to ensure satisfactory instrument and operator performance. If controls do not perform as expected, patient results should be considered invalid. Helena Biosciences Europe supplies the following controls available for use with this product:

| | |
|----------|-----------------------|
| REF 5486 | LA Positive Control S |
| REF 5186 | Routine Control N |

REFERENCE VALUES

Reference values can vary between laboratories depending on the techniques and systems in use. For this reason each laboratory should establish its own reference ranges. The normal reference range (mean ± 3SDs) determined at Helena Biosciences Europe for the DRVVT Screen test was 33.7 ± 8.1 seconds (range 25.6 - 41.8 seconds).

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Each laboratory should establish its own performance data. Within run and between run CVs are expected to be <5%.

BIBLIOGRAPHY

- Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI: H21-A5
- Pengo *V et al* (2009) Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection, *J Thromb Haemost*, **7**: 1737-40

| | |
|---------------------|-----------|
| DRVVT Screen | fr |
| Fiche technique | |

UTILISATION

Le kit DRVVT Screen est destiné à la réalisation des analyses de l'hémostase basées sur la formation de caillots.

Les anticoagulants lupiques (LA) sont des anticorps d'isotype IgG ou IgM qui sont dirigés contre divers phospholipides anioniques. La présence de LA dans le plasma est de plus en plus associée à divers troubles hémostatiques comme des fausses couches répétées, une thrombocytopénie, une thrombose inexpliquée et des troubles neurologiques. Les LA allongent le temps de coagulation des tests *in vitro* dépendant des phospholipides comme le temps de céphaline active (TCA). Le kit de DRVVT Screen Helena Biosciences Europe est utilisé pour la détermination qualitative des LA dans le plasma humain. Le venin de vipère Russell active directement le facteur X en facteur Xa en présence de phospholipide et de calcium, ce qui entraîne la formation d'un caillot détectable dans le plasma. Le kit de DRVVT Screen est plus sensible au LA qu'au TCA. Le kit de DRVVT Screen doit être utilisé conjointement avec le kit de DRVVT Confirm (REF 5485).

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Les réactifs du kit sont à usage diagnostique *in vitro* uniquement – NE PAS INGÉRER. Porter un équipement de protection individuelle approprié lors de la manipulation de tous les composants du kit. Consulter la fiche de données de sécurité du produit pour obtenir le lien vers les phrases de risque et les conseils de prudence le cas échéant. Éliminer les composants conformément aux églementsations locales.

| Composant | Contient | Description | Préparation |
|--------------|-----------|--|--|
| DRVVT Screen | 10 x 2 mL | Chaque flacon contient un mélange exclusif de venin de vipère Russell co-lyophilisé avec du chlorure de calcium et des phospholipides. | Reconstituer chaque flacon en ajoutant 2 mL d'eau distillée ou désionisée. Laisser reposer 10 minutes et bien mélanger avant utilisation. Ne pas agiter. |

Chaque kit contient une fiche technique.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE NON FOURNI

MATÉRIEL OPTIONNEL:

| | |
|----------|-----------------------|
| REF 5485 | DRVVT Confirm |
| REF 5486 | LA Positive Control S |
| REF 5186 | Routine Control N |

CONSERVATION, DURÉE DE VIE UTILE ET STABILITÉ

Les flacons de réactif non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée s'ils sont conservés dans les conditions indiquées sur l'étiquette du kit ou du flacon

DRVVT Une fois reconstitués, les flacons sont stables 24 heures à *15 –*30°C, 5 jours entre Screen *2 –*8°C ou 2 semaines à -20°C. Le réactif doit être congelé dans des tubes à essai en plastique et décongelé à *37°C avant utilisation.

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Utiliser tout au long du prélèvement du plastique ou du verre silicéon. Mélanger 9 volumes de sang et 1 volume de citrate de sodium à 3,2% ou 3,8%. Séparer le plasma après centrifugation à 1500 x g pendant 15 minutes. Conserver le plasma entre *2 –*8°C ou *18 –*24°C. L'analyse doit être terminée dans les 4 heures suivant le prélèvement de l'échantillon; sinon, il est possible de congeler le plasma 2 semaines à -20°C ou 6 mois à -70°C. Décongeler rapidement à *37°C avant de réaliser l'analyse. Ne pas laisser à *37°C plus de 5 minutes¹. En cas de congélation, il est recommandé d'effectuer une double centrifugation de l'échantillon afin de s'assurer qu'il est pauvre en plaquettes. Transférer le plasma après la centrifugation initiale dans un tube en plastique non activant en utilisant une pipette en plastique, puis recontrifuger le plasma pendant 10 minutes supplémentaires à haute vitesse (>2500 x g). En cas d'aliquote dans un tube secondaire, veiller à ne pas inclure les plaquettes résiduelles qui peuvent s'être déposées au fond du tube de centrifugation².

PROCÉDURE

Méthode Manuelle

- Préchauffer une quantité suffisante de réactif reconstitué à *37°C.
- Pipeter 0,2 mL de plasma patient ou contrôle dans un tube à essai. Incuber 2 minute à *37°C.
- Ajouter 0,2 mL de réactif de DRVVT Screen préchauffé et démarrer un chronomètre.
- Relever le temps de formation du caillot en arrondissant au dixième de seconde.
- Calculer le rapport normalisé pour le réactif Dépistage DRVVT de la manière suivante:

Temps de coagulation patient avec le réactif / Temps de coagulation normal moyen pour le réactif de DRVVT Screen Dépistage DRVVT

Méthodes Automatisées

Consulter le manuel d'utilisation de l'instrument approprié pour obtenir des instructions détaillées ou contacter Helena Biosciences Europe pour obtenir des notes d'application spécifiques à l'instrument.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les résultats sont mieux exprimés sous la forme d'un rapport normalisé par rapport à un temps de coagulation normal moyen obtenu par chaque laboratoire. Il est recommandé d'utiliser des types d'échantillon comparables pour le calcul d'un rapport normalisé. Il est ainsi possible « de normaliser » les résultats obtenus avec les réactifs Dépistage DRVVT et Confirmation DRVVT, ce qui réduit les effets de la variabilité de l'instrument et améliore potentiellement la discrimination entre les échantillons faiblement LA positifs et les échantillons normaux. Il est possible de traiter les résultats des tests de plasma mélangé de la même façon.

Si le temps de coagulation de l'échantillon patient est supérieur à la moyenne de la plage normale de plus de 3 écarts-types, il est possible que des anticoagulants lupiques soient présents. Dans ce cas, tester à nouveau le plasma après l'avoir mélangé au 1:1 avec du Routine Control N (REF 5186) et après l'avoir testé avec le kit de DRVVT Confirm (REF 5485). Si le temps de coagulation du plasma patient mélangé au 1:1 avec du Routine Control N obtenu avec le réactif de DRVVT Screen est encore supérieur à la moyenne de la plage normale de plus de 3 écarts-types, il est probable que des anticoagulants lupiques sont présents. Si le temps de coagulation du plasma patient mélangé au 1:1 avec du Routine Control N obtenu avec le réactif de DRVVT Screen est corrigé et se situe dans la plage normale, il est plus probable qu'il s'agit d'un déficit en un facteur (II, V ou X).

Le sous-comité scientifique de normalisation chargé de la normalisation des anticoagulants lupiques de la Société internationale de thrombose et d'hémostase (ISTH) a recommandé d diagnostiquer une présence d'anticoagulants lupiques lorsque le DRVVT d'un plasma échantillon mélangé avec un plasma normal est supérieur à la moyenne du temps DRVVT du plasma normal (sans LA) de plus de 3 écarts-types.

L'utilisation du kit de DRVVT Confirm permet de faire la différence entre les LA, un déficient en un facteur de coagulation et d'autres inhibiteurs.

LIMITES

Les plasmas déficients en facteurs II, V ou X peuvent donner des résultats anormaux avec du plasma pur. L'analyse du mélange doit corriger ceci.

Il est possible que le plasma patient donne des résultats anormaux lorsque le plasma est testé pur et que ces échantillons ne soient pas corrigés lors de l'analyse du mélange dans des situations suivantes: héparine (>1 U/mL), anticoagulants oraux, coagulation intravasculaire disséminée (CIVD).

Veiller à ce que les plaquettes résiduelles soient enlevées du plasma par filtrage ou par centrifugation étant donné que les phospholipides provenant de celles-ci peuvent interférer avec le test.

CONTRÔLE QUALITÉ

Chaque laboratoire doit établir un programme de contrôle qualité. Les plasmas de contrôle, normaux et anormaux, doivent être testés avant chaque lot d'échantillons patients afin de s'assurer que l'instrument et l'opérateur offrent des performances satisfaisantes. Si les contrôles ne donnent pas les résultats prévus, les résultats du patient doivent être considérés comme non valables.

Helena Biosciences Europe distribue les contrôles suivants à utiliser avec ce produit:

| | |
|----------|-----------------------|
| REF 5486 | LA Positive Control S |
| REF 5186 | Routine Control N |

VALEURS DE RÉFÉRENCE

Les valeurs de référence peuvent varier d'un laboratoire à l'autre suivant les techniques et les systèmes utilisés. C'est pour cette raison qu'il appartient à chaque laboratoire de déterminer ses propres plages de référence. La plage normale de référence (moyenne ± 3 écarts-types) déterminée chez Helena Biosciences Europe avec le test de DRVVT Screen est de 33,7 ± 8,1 secondes (soit 25,6 – 41,8 secondes).

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

Chaque laboratoire doit établir ses propres données de performance. Les CV intra-analyse et inter-analyse sont prévus <5%.

BIBLIOGRAPHIE

- Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI: H21-A5
- Pengo *V et al* (2009) Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection, *J Thromb Haemost*, **7**: 1737-40

| | |
|---------------------|-----------|
| DRVVT Screen | de |
| Anleitung | |

VERWENDUNGSZWECK

Das DRVVT Screen-Kit ist für koagulometrische Gerinnungstests vorgesehen.

Lupus Antikoagulantien (LA) sind Antikörper vom IgG- und IgM-Typ, die sich gegen eine Anzahl von anionischen Phospholipiden richtet. Die Anwesenheit von LA im Plasma steht verstärkt mit einer Reihe von hämostatischen Problemen wie rezidivierende Aborte, Thrombozytopenie, unerklärliche Thrombose und neurologische Erkrankungen in Verbindung. LA verlängert *in vitro* Phospholipid abhängige Gerinnungstests wie die aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT). Das Helena Biosciences Europe DRVVT Screen ist für die qualitative Bestimmung von LA im humanen Plasma bestimmt. „Russell's Viper Venom“ aktiviert unmittelbar Faktor X bis Faktor Xa in Anwesenheit von Phospholipid und Calcium, das zu einer nachweisbaren Gerinnselbildung im Plasma führt. Das DRVVT Screen ist wesentlich sensibler auf LA als aPTT. Das DRVVT Screen ist zur Verwendung in Verbindung mit dem DRVVT Confirm (REF 5485) bestimmt.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Die in diesem Kit enthaltenen Reagenzien sind ausschließlich für die Verwendung von *in-vitro*-Diagnosen vorgesehen. NICHT VERSCHLÜCKEN. Tragen Sie beim Umgang mit sämtlichen Komponenten des Kits geeignete Schutzausrüstung. Beachten Sie gegebenenfalls die Verweise auf entsprechende Gefahren- und Vorbeugeerklärungen in der Produktsicherheitserklärung. Entsorgen Sie die Komponenten gemäß den örtlichen Vorschriften.

ZUSAMMENSETZUNG

| Komponente | Inhalt | Beschreibung | Vorbereitung |
|--------------|-----------|---|--|
| DRVVT Screen | 10 x 2 mL | Jedes Fläschchen enthält ein zusammen mit Calciumchlorid und Phospholipid lyophilisiertes Gesetzlich geschütztes Gemisch von „Russell's Viper Venom“. | Jedes Fläschchen mit 2 mL destilliertem / entionisiertem Wasser rekonstituieren. 10 Minuten stehen lassen und vor Gebrauch gut mischen. Nicht schütteln. |

Jedes Kit enthält eine Gebrauchsanweisung.

ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE ARTIKEL

OPTIONALE ARTIKEL:

| | |
|----------|-----------------------|
| REF 5485 | DRVVT Confirm |
| REF 5486 | LA Positive Control S |
| REF 5186 | Routine Control N |

LAGERUNG, HALTBARKEIT UND STABILITÄT

Ungeöffnete Reagenzien sind unter den auf Verpackung oder Fläschchen angegebenen Lagerbedingungen bis zum aufgedruckten Verfallsdatum stabil.

DRVVT Rekonstituierte Fläschchen sind bei *15 –*30°C 24 Stunden, bei *2 –*8°C 5 Tage oder bei Screen -20°C 2 Wochen stabil. Das Reagenz sollte in Plastikröhrchen eingefroren und vor Gebrauch bei *37°C aufgetaut werden.

PROBENTNAHME UND VORBEREITUNG

Nur Plastik oder Silikonglas verwenden. Blut (9 Teile) sollte in 3,2% oder 3,8% Natriumcitrat als Antikoagulanz (1 Teil) entnommen werden. 15 Minuten bei 1500 g zentrifugieren und Plasma abpipettieren. Plasma bei *2 –*8°C oder *18 –*24°C lagern. Plasma sollte innerhalb von 4 Stunden verarbeitet oder tief gefroren bei -20°C für 2 Wochen oder -70°C für 6 Monat gelagert werden. Vor dem Testen schnell bei *37°C auftauen. Nicht länger als 5 Minuten bei *37°C belassen¹. Bei eingefrorenen Proben wird ein zweimaliges Zentrifugieren empfohlen, um zu gewährleisten, dass die Probe thrombozytenarm ist. Übertragen Sie nach der ersten Zentrifugation das Plasma mit einer Kunststoffpipette in ein nicht aktivierendes Kunststoffröhrchen und zentrifugieren dann das Plasma weitere 10 Minuten bei hoher Geschwindigkeit (>2500 x g). Achten Sie bei der Aliquotierung in ein zweites Röhrchen darauf, dass restliche Thrombozyten, die sich eventuell am Boden des Zentrifugentröhrchens angesammelt haben, nicht mit erfasst werden².

VORGEHENSWEISE

Manuelle Methode

- Ausreichend rekonstituiertes Reagenz auf *37°C vorwärmen.
- 0,2 mL Patienten- oder Kontrollplasma in ein Röhrchen pipettieren. Bei *37°C 2 Minuten inkubieren.
- 0,2 mL vorgewärmtes DRVVT Screening-Reagenz zufügen und Stoppuhr starten.
- Die Zeit bis zur Gerinnselbildung bis auf 0,1 Sekunden genau stoppen.
- Berechnen Sie den normalisierten Referenzwert "DRVVT Screening" als:

DRVVT Screening-Gerinnungszeit des Patienten / Mittlere normale Gerinnungszeit "DRVVT Screening"

Automatisierte Methoden

Siehe die Bedienungsanleitung des entsprechenden Geräts für genaue Anweisungen oder wenden Sie sich an Helena Biosciences Europe für spezielle anwendungstechnische Hinweise.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Die Ergebnisse werden am besten als normalisierter Referenzwert bezüglich des Mittelwerts der normalen Gerinnungszeit der einzelnen Labors wiedergegeben. Bei der Berechnung eines normalisierten Referenzwerts wird empfohlen, denselben Probentyp zu verwenden. Auf diese Art können die Ergebnisse aus DRVVT Screening und DRVVT Bestätigung "normalisiert" werden, was die Auswirkungen von Geräteschwankungen reduziert und die Unterscheidung zwischen schwach positiven LA und normalen Proben unter Umständen verbessert. Ergebnisse im Mischtests können genauso behandelt werden. Ist die Gerinnungszeit von Patientenproben höher als 3 Standardabweichungen über dem Mittelwert des Normalbereichs kann ein Lupus Antikoagulant anwesend sein. Liegt die DRVVT Screen Gerinnungszeit des Patientenplasmas in der 1:1 Verdünnung mit Routine Control N (REF 5186), sowie auch mit dem DRVVT Confirm (REF 5485) getestet werden. Ist die Gerinnungszeit des Patientenplasmas in der 1:1 Verdünnung mit Routine Control N immer noch höher als 3 Standardabweichungen über dem Mittelwert des Normalbereichs, kann ein Lupus Antikoagulant anwesend sein. Liegt die DRVVT Screen Gerinnungszeit des Patientenplasmas in der 1:1 Verdünnung mit Routine Control N innerhalb des Normalbereichs, ist ein Faktormangel (II, V oder X) sehr wahrscheinlich.

Das „Scientific and Standardisation Sub-Committee for the Standardisation of Lupus Anticoagulants“ der „International Society of Thrombosis and Haemostasis“ empfiehlt, dass die Diagnose von Lupus Antikoagulant gestellt wird, wenn der DRVVT eines mit einem Normalplasma gemischten Testplasmas höher als 3 Standardabweichungen vom Mittelwert einer DRVVT-Zeit mit Normalplasma (d. h. nicht-LA) ist.

Die Anwendung des DRVVT Confirms gestattet die Unterscheidung zwischen LA, Faktormangel und anderen Hemmfaktoren.

EINSCHRÄNKUNGEN

Mangel an Faktor II, V oder X im Plasma kann zu abnormalen Ergebnissen im unverdünnten Plasma führen. Das sollte durch Mischtests behoben werden.

Plasma von Patienten mit Folgendem kann abnormale Ergebnisse hervorrufen, wenn das Plasma unverdürrt verwendet wird. Diese Proben können im Mischtest nicht korrigiert werden: Heparin (> 1 U/mL), orale Antikoagulantien, Verbrauchskoagulopathie (DIC).

Besondere Sorgfalt ist darauf zu verwenden, dass die restlichen Thrombozyten durch Filtration oder Zentrifugation entfernt werden, da die in ihnen enthaltenen Phospholipide den Test beeinträchtigen können.

QUALITÄTSKONTROLLE

Jedes Labor muss für eine eigene Qualitätskontrolle sorgen. Vor jeder Testreihe mit Patientenproben müssen normale und pathologische Kontrollplasmen getestet werden, um eine zufrieden stellende Geräteleistung und Bedienung zu gewährleisten. Liegen die Kontrollen außerhalb des Normbereichs, sind die Patientenergebnisse nicht zu verwenden.

In Verbindung mit diesem Produkt bietet Helena Biosciences Europe die folgenden Kontrollen an:

| | |
|----------|-----------------------|
| REF 5486 | LA Positive Control S |
| REF 5186 | Routine Control N |

REFERENZWERTE

Referenzwerte können je nach Technik und verwendetem System von Labor zu Labor unterschiedlich sein. Aus diesem Grund sollte jedes Labor seine eigenen Referenzwertbereiche erstellen. Der normale von Helena Biosciences Europe für den DRVVT Screen-Test bestimmte Referenzbereich (Mittelwert ± 3-s) lag bei 33,7 ± 8,1 Sekunden (Bereich 25,6-41,8 Sekunden).

LEISTUNGSMERKMALE

Jede Labor muss seine eigenen Werte ermitteln. Erwartete VKs innerhalb der Tests und zwischen den Tests sind < 5%.

LITERATURVERZEICHNIS

- Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI: H21-A5
- Pengo *V et al* (2009) Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection, *J Thromb Haemost*, **7**: 1737-40

| |
|---|
| DRVVT Screen <div>Istruzioni per l'uso</div> |
|---|

SCOPO PREVISTO

Il kit DRVVT Screen è concepito per l'esecuzione di dosaggi di emostasi basati sulla presenza di coaguli.

I lupus anticoagulanti (LA) sono anticorpi di tipo IgG e IgM che sono diretti contro vari fosfolipidi anionici. La presenza di LA nel plasma è sempre più associata ad una vasta serie di problemi emostatici, quali aborti ricorrenti, trombocitopenia, trombosì inspiegate e disordini neurologici. Gli LA prolungano i test di coagulazione fosfolipidi-dipendenti *in vitro*, come dei tempi di tromboplastina parziale attivata (APTT). Il kit DRVVT Screen di Helena Biosciences Europe è stato formulato per la determinazione qualitativa dei LA nel plasma umano. Il veleno di vipera di Russell attiva direttamente il fattore X in fattore Xa in presenza di fosfolipidi e calcio, determinando una distinguibile formazione del coagulo nel plasma. Il kit DRVVT Screen è maggiormente sensibile agli LA rispetto all'APTT. Il kit DRVVT Screen è stato studiato per essere utilizzato in combinazione con il kit DRVVT Confirm (REF 5485).

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

I reagenti contenuti in questo kit sono destinati esclusivamente alla diagnostica *in vitro* - NON INGERIRE. Indossare un'adequata attrezzatura protettiva personale durante la manipolazione di tutti i componenti del kit. Per conoscere i relativi simboli precauzionali e di pericolo, laddove pertinente, fare riferimento alla dichiarazione di sicurezza del prodotto. Smaltire i componenti conformemente alle normative locali vigenti.

COMPOSIZIONE

| Componente | Contiene | Descrizione | Preparazione |
|--|-----------|---|---|
| DRVVT Screen | 10 x 2 mL | Ogni flacone contiene una miscela esclusiva di veleno di vipera di Russell coliofilizzato con calcio cloruro e fosfolipidi. | Ricostituire ogni flacone con 2 mL di acqua distillata/deionizzata. Lasciare riposare per 10 minuti e miscelare accuratamente prima dell'uso. Non scuotere. |
| Ogni kit contiene un Istruzioni per l'uso. | | | |

MATERIALI NECESSARI, MA NON IN DOTAZIONE

MATERIALI OPZIONALI:

| | |
|----------|-----------------------|
| REF 5485 | DRVVT Confirm |
| REF 5486 | LA Positive Control S |
| REF 5186 | Routine Control N |

CONSERVAZIONE, VITA UTILE E STABILITÀ

I reagenti non aperti sono stabili fino alla data di scadenza indicata se conservati nelle condizioni riportate sul flacone o sull'etichetta del kit.

DRVVT I flaconi ricostituiti sono stabili per 24 ore a *15 –*30°C, 5 giorni a *2 –*8°C o 2 settimane a *20°C. Il reagente deve essere congelato in provette di prova in plastica e scongelato a *37°C prima dell'uso.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Nel corso dell'intera procedura è necessario utilizzare plastica o vetro silicizzato. Il sangue (9 parti) deve essere raccolto in sodio citrato al 3,2% o al 3,8% come anticoagulante (1 parte). Separare il plasma in seguito a centrifugazione a 1500 x g per 15 minuti. Il plasma deve essere conservato a *2 –*8°C o *18 –*24°C. I test devono essere completati entro 4 ore dalla raccolta dei campioni; in alternativa, il plasma può essere conservato congelato a -20°C per 2 settimane o a -70°C per 6 mese. Decongelare rapidamente a *37°C prima di eseguire i test. Non conservare a *37°C per oltre 5 minuti¹. In caso di congelamento, si raccomanda di eseguire la doppia centrifuga del campione in modo che risulti povero di piastrine. Dopo la centrifuga iniziale, trasferire il plasma in una provetta in plastica non attivante con una pipette in plastica, quindi ripetere la centrifuga del plasma per altri 10 minuti a velocità maggiore (>2500 x g). Nel frazionamento a una seconda provetta, prestare attenzione a non includere piastrine residue eventualmente raccolte al fondo della provetta della centrifuga².

PROCEDURA

Metodo Manuale

- Preiscaldare a *37°C una quantità sufficiente di reagente ricostituito.
- Pipettare 0,2 mL di plasma del paziente o di controllo in una provetta di reazione. Incubare a *37°C per 2 minuti.
- Aggiungere 0,2 mL di reagente DRVVT Screen preiscaldato ed azionare un timer.
- Rilevare il tempo di formazione del coagulo con un'approssimazione di 0,1 secondi.
- Calcolare il rapporto DRVVT-Screen normalizzato come:

Tempo di coagulazione DRVVT Screen paziente / Tempo di coagulazione DRVVT Screen normale medio

Metodo Automatico

Fare riferimento al manuale utente dello strumento appropriato per istruzioni dettagliate oppure contattare Helena Biosciences Europe per le note applicative specifiche dello strumento.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I risultati vengono espressi in modo ottimale sotto forma di rapporto normalizzato relativo ai tempi di coagulazione normale medio ottenuto da ogni laboratorio. Si raccomanda di utilizzare campioni di tipo analogo per calcolare il rapporto normalizzato. Entrambi i risultati delle procedure DRVVT Screen e DRVVT Confirm possono essere "normalizzati" in questo modo, riducendo l'effetto della variabilità dello strumento e migliorando potenzialmente la discriminazione tra LA positivo debole e campioni normali. I risultati dei test di miscelazione possono essere trattati allo stesso modo. Se il tempo di coagulazione dei campioni dei pazienti è superiore a 3 deviazioni standard oltre la media del range normale, può essere presente un lupus anticoagulante. In tal caso, il plasma deve essere testato nuovamente in seguito a miscelazione in un rapporto di 1:1 con Routine Control N (REF 5186) e a test eseguito con il kit DRVVT Confirm (REF 5485). Se il tempo di coagulazione DRVVT Screen del plasma del paziente miscelato in un rapporto di 1:1 con Routine Control N è ancora superiore a 3 deviazioni standard oltre la media del range normale, può essere presente un lupus anticoagulante. Se il tempo di coagulazione DRVVT Screen del plasma del paziente miscelato in un rapporto di 1:1 con Routine Control N viene corretto per farlo rientrare nel range normale, è maggiormente probabile la presenza di una carenza di fattori (II, V o X). Il Scientific and Standardisation Sub-Committee for the Standardisation of Lupus Anticoagulants della International Society of Thrombosis and Haemostasis raccomanda che la diagnosi del lupus anticoagulante venga effettuata quando il DRVVT di un plasma di prova miscelato con plasma normale è superiore a 3 deviazioni standard rispetto al tempo di DRVVT di plasma normale (non LA). L'utilizzo del kit DRVVT Confirm consente la discriminazione tra LA, carenza di fattori e altri inibitori.

LIMITAZIONI

Le carenze plasmatiche dei fattori II, V o X possono portare a risultati anomali nel plasma non diluito. Gli studi di miscelazione devono correggere questa situazione. Il plasma proveniente da pazienti e contenente gli elementi indicati di seguito può fornire risultati anormali quando viene testato non diluito e questi campioni potrebbero non correggersi negli studi di miscelazione: eparina (>1 U/mL), anticoagulanti orali, coagulazione intravascolare disseminata (DIC). Prestare attenzione a rimuovere le piastrine residue dal plasma mediante filtrazione o centrifugazione, in quanto i fosfolipidi derivanti dalle piastrine possono interferire con il test.

CONTROLLO QUALITÀ

Ogni laboratorio deve definire un programma di controllo qualità. I plasm di controllo normali e anormali devono essere testati prima di ogni lotto di campioni di pazienti, per garantire un livello prestazionale soddisfacente sia per quanto riguarda lo strumento che per l'operatore. Qualora i controlli non funzionassero come previsto, i risultati relativi ai pazienti dovranno essere considerati non validi. Helena Biosciences Europe mette a disposizione i seguenti controlli utilizzabili con questo prodotto:

| | |
|----------|-----------------------|
| REF 5486 | LA Positive Control S |
| REF 5186 | Routine Control N |

VALORI DI RIFERIMENTO

Per la sicurezza del paziente, è necessario che il sistema sia monitorato continuamente da un operatore qualificato. Per tale motivo ciascun laboratorio dovrà elaborare i propri range di riferimento. Il range di riferimento normale (media ± 3 DS) determinato da Helena Biosciences Europe per il test DRVVT Screen è pari a 33,7 ± 8,1 secondi (range di 25,6-41,8 secondi).

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Ciascun laboratorio dovrà pertanto elaborare i propri dati prestazionali. I CV entro la serie e tra le serie si prevedono <5%.

BIBLIOGRAFIA

- Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI: H21-A5
- Pengo V *et al* (2009) Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection, *J Thromb Haemost*, **7**: 1737-40

| |
|--|
| DRVVT Screen <div>Istrucciones de uso</div> |
|--|

USO PREVISTO

El uso previsto del kit DRVVT Screen es realizar ensayos de hemostasia basados en la coagulación.

Los anticoagulantes lúpicos Anticoagulants (AL) son anticuerpos del tipo IgG e IgM que van dirigidos contra varios fosfolípidos aniónicos. La presencia de AL en el plasma se asocia cada vez más con diversos problemas hemostáticos como la pérdida recurrente del embarazo, trombocitopenia, trombosis inexplicada y desórdenes neurológicos. Los AL prolongan las valoraciones de coagulación *in vitro* dependientes de fosfolípidos como, por ejemplo, los tiempos de tromboplastina parcial activada (TTPA). El kit DRVVT Screen de Helena Biosciences Europe tiene por objeto determinar cualitativamente la presencia de AL en el plasma humano. El veneno de víbora de Russell activa directamente el Factor X a Factor Xa en presencia de fosfolípidos y calcio, lo que lleva a la formación detectable de coágulos en el plasma. El kit DRVVT Screen es más sensible para AL que el TTPA. El kit DRVVT Screen debe utilizarse junto con el kit DRVVT Confirm (REF 5485).

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Los reactivos que contiene este kit son sólo para uso de diagnóstico *in vitro*: NO INGERIR. Lleve el equipo de protección personal adecuado cuando utilice todos los componentes del kit. Consulte la declaración de seguridad del producto para saber más sobre las indicaciones adecuadas de advertencia y riesgo. Desechar los componentes de conformidad con las normativas locales.

COMPOSICIÓN

| Componente | Contiene | Descripción | Preparación |
|---|-----------|--|--|
| DRVVT Screen | 10 x 2 mL | Cada vial contiene una mezcla patentada de veneno de víbora de Russell co-íofilizado con cloruro cálcico y fosfolípidos. | Reconstituir cada vial con 2 mL de agua destilada o desionizada. Dejar reposar durante 10 minutos y mezclar bien antes de usar. No agitar. |
| Cada kit contiene instrucciones de uso. | | | |

ARTÍCULOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

ARTÍCULOS OPCIONALES:

| | |
|----------|-----------------------|
| REF 5485 | DRVVT Confirm |
| REF 5486 | LA Positive Control S |
| REF 5186 | Routine Control N |

ALMACENAMIENTO, CADUCIDAD Y ESTABILIDAD

Los reactivos no abiertos son estables hasta la fecha de caducidad indicada cuando se conservan en las condiciones indicadas en el vial o en la etiqueta del kit.

DRVVT Los viales reconstituidos permanecen estables 24 horas a *15 –*30°C, 5 días a *2 –*8°C ó 2 semanas a -20°C. Debe congelarse el reactivo en tubos de prueba de plástico y descongelarse a *37°C antes de usarse.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Debe usarse siempre plástico o vidrio silicizado. Debe recogerse sangre (9 partes) en el anticoagulante citrato sódico al 3,2% o al 3,8% (1 parte). Separar el plasma después de la centrifugación a 1500 x g durante 15 minutos. El plasma debe conservarse a *2 –*8°C o *18 –*24°C. Las pruebas deberían terminarse en 4 horas desde la recogida de las muestras o el plasma puede conservarse congelado a -20°C durante 2 semanas o -70°C durante 6 mes. Decongelar rápidamente a *37°C antes de realizar la prueba. No conservar a *37°C durante más de 5 minutos¹. En caso de congelación, se recomienda centrifugar la muestra dos veces para asegurarse de que sea pobre en plaquetas Transferir el plasma después de la primera centrifugación a un tubo de plástico no activador mediante una pipeta de plástico y, después, volver a centrifugarlo durante otros 10 minutos a velocidad superior (>2500 x g). Cuando realice la alícuota en un tubo secundario, tenga cuidado de no incluir las plaquetas residuales que pueden haberse acumulado en el fondo del tubo de centrifugado².

PROCEDIMIENTO

Método Manual

- Precalentar suficiente reactivo reconstituido a *37°C.
- Pipetear 0,2 mL de plasma del paciente o plasma control en un tubo de reacción. Incubar a *37°C durante 2 minutos.
- Añadir 0,2 mL de reactivo DRVVT Screen precalentado y poner en marcha un cronómetro.
- Medir el tiempo de formación del coágulo procurando afinar en la décima de segundo más próxima.
- Calcule la relación de "DRVVT Screen" normalizada del siguiente modo:

Tiempo de coagulación de DRVVT Screen / Tiempo de coagulación de "DRVVT Screen" normal medio

Método Automatizado

Consulte el manual del usuario del instrumento adecuado para instrucciones detalladas o póngase en contacto con Helena Biosciences Europe para notas de aplicación específicas del instrumento.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados se expresan mejor como una relación normalizada en relación con el tiempo de coagulación normal medio obtenido por cada laboratorio. Se recomienda utilizar tipos de muestras equivalentes al calcular una relación normalizada. De este modo, es posible "normalizar" los resultados de DRVVT Screen y DRVVT Confirm, lo que reduce el efecto de la variabilidad de los instrumentos y puede mejorar la discriminación entre LA positivos débiles y muestras normales. Los resultados de las pruebas de mezcla se pueden tratar del mismo modo. Si el tiempo de coagulación de las muestras del paciente supera más de 3 desviaciones estándar por encima de la media del intervalo normal, es posible que exista un anticoagulante lúpico. En este caso, deben volver a realizarse las pruebas después de mezclar 1:1 con Routine Control N (REF 5186) y realizar también las pruebas con el kit DRVVT Confirm (REF 5485). Si el tiempo de coagulación de DRVVT Screen del plasma del paciente mezclado 1:1 con Routine Control N sigue siendo superior a 3 desviaciones estándar por encima de la media del intervalo normal, es posible que exista un anticoagulante lúpico. Si el tiempo de coagulación de DRVVT Screen del plasma del paciente mezclado 1:1 con Routine Control N se corrige dentro del intervalo normal, es muy posible que exista una deficiencia de factores (II, V o X). El Subcomité Científico y de Normalización para la Normalización de Anticoagulantes Lúpicos de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia recomienda que el diagnóstico de anticoagulante lúpico se realice cuando el DRVVT de un plasma de prueba mezclado con plasma normal sea superior a 3 desviaciones estándar de la media normal (sin AL) del tiempo de DRVVT de plasma. Si se utiliza el kit DRVVT Confirm, se puede discriminar entre AL, deficiencia de factores y otros inhibidores.

LIMITACIONES

Las deficiencias de plasma en factores II, V o X pueden conllevrarse resultados anormales en plasma sin diluir. Los estudios de mezcla deberían corregir este aspecto. El plasma de pacientes que presente lo siguiente puede dar resultados anormales cuando el plasma se pruebe sin diluir y estas muestras no se pueden corregir mediante estudios de mezcla: heparina (>1 U/mL), anticoagulantes orales, coagulación intravascular diseminada (CID). Hay que tener cuidado de no eliminar plaquetas residuales del plasma al filtrar o centrifugar, ya que los fosfolípidos derivados de las plaquetas pueden interferir en la prueba.

CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe establecer un programa de control de calidad. Los controles normales y anormales deben estudiarse antes de cada lote de muestras del paciente, para asegurar un funcionamiento adecuado del instrumento y el operador. Si los controles no se realizan como se esperaba, los resultados del paciente deben considerarse inválidos. Helena Biosciences Europe suministra los siguientes controles disponibles para usar con este producto:

| | |
|----------|-----------------------|
| REF 5486 | LA Positive Control S |
| REF 5186 | Routine Control N |

VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia pueden variar entre los laboratorios dependiendo de las técnicas y sistemas usados. Por esta razón, cada laboratorio debe establecer sus propios intervalos de referencia. El intervalo normal de referencia (media ± 3 desviaciones estándar) establecido en Helena Biosciences Europe para la prueba DRVVT Screen fue 33,7 ± 8,1 segundos (intervalo 25,6-41,8 segundos).

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

Cada laboratorio debe establecer sus propios datos de rendimiento. Se espera que los CV dentro de cada prueba y entre pruebas sean <5%.

BIBLIOGRAFÍA

- Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI: H21-A5
- Pengo V *et al* (2009) Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection, *J Thromb Haemost*, **7**: 1737-40

| |
|--|
| Тест-система «Скрининг на волчаночные антикоагулянты» <div>ИНСТРУКЦИЯ</div> |
|--|

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплект «Скрининг на волчаночные антикоагулянты» предназначен для выполнения анализов гемостаза на основе кровяного сгустка.

НАЗНАЧЕНИЕ

Волчаночные антикоагулянты (ВА) – это антитела типа IgG и IgM, действие которых направлено против различных анионных фосфолипидов. Присутствие ВА в плазме все больше связывается с рядом проблем гемостаза, таких как повторяющаяся потеря эмбриона, тромбоцитопения, тромбоз неизвестной этиологии и неврологические нарушения. ВА продлевает время зависимых от фосфолипидов анализов коагулирующей активности *in vitro*, таких как активированное частичное тромбопластиновое время (aЧТВ). Тест-система «Скрининг на волчаночные антикоагулянты» компании Helena Biosciences Europe предназначен для количественного определения ВА в плазме крови человека. В присутствии фосфолипида и кальция яд гадюки Рассела непосредственно активирует фактор X до фактора Xa, что ведет к образованию поддающихся обнаружению сгустков в плазме. Тест-система «Скрининг на волчаночные антикоагулянты» более чувствительна к ВА, чем к aЧТВ. Эта тест-система предназначена для использования вместе с Тест-системой «Подтверждение на волчаночные антикоагулянты» (Kat. № 5485).

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Содержащиеся в данном наборе реагенты предназначены только для *in vitro* диагностики– НЕ ПРИНИМАТЬ ВНУТРЬ! При работе со всеми компонентами набора использовать соответствующие средства индивидуальной защиты. В случае необходимости см. свидетельство о безопасности изделия для ознакомления с соответствующими описаниями опасного воздействия и сведениями о мерах предосторожности. Удаление компонентов в отходы производите в соответствии с местными правилами.

СОСТАВ

| Компонент | Содержание | Описание | Подготовка |
|---|------------|---|---|
| Тест-система «Скрининг на волчаночные антикоагулянты» | 10 x 2 мл | В каждом флаконе содержится патентованная смесь яда гадюки Рассела, леофилизованная вместе с хлоридом кальция и фосфолипидом. | Восстановите каждый флакон путем добавления 2 мл дистиллированной или деионизированной воды. Дайте постоять 10 минут и хорошо перемешайте перед применением. Не взбалтывайте. |

Для каждого набора имеется инструкция по применению.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

НЕОБЯЗАТЕЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ:

| | |
|-------------|--|
| Kat. № 5485 | Тест-система «Подтверждение на волчаночные антикоагулянты» |
| Kat. № 5486 | LA Positive Control S |
| Kat. № 5186 | Routine Control N |

ХРАНЕНИЕ, СРОК ГОДНОСТИ И УСТОЙЧИВОСТЬ

Нескрытые флаконы остаются стабильными до истечения срока годности при хранении в холодильнике, указанных на флаконе или этикетке набора.

Тест-система «Скрининг на волчаночные антикоагулянты» Восстановленные флаконы остаются стабильными в течение 24 часов при температуре *15 –*30°C, в течение 5 дней при температуре *2 –*8°C или 2 недели при температуре -20°C. Реагент замораживают в пластиковой пробирке и перед использованием размораживают при *37°C.

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Для работы следует использовать только пластиковые или силиконизированные стеклянные пробирки. Кровь (9 частей) забирается в пробирку с антикоагулянтом цитрата натрия 3,2% или 3,8% (1 часть). Отделите плазму после центрифугирования при 1500 x г в течение 15 минут. Плазму следует хранить при температуре от *2 –*8°C или при температуре от *18 –*24°C. Исследование должно быть проведено в течение 4 часов после забора образцов, либо плазму можно хранить в замороженном виде в течение 2 недель при температуре -20°C или 6 месяцев при температуре -70°C. Перед проведением исследования быстро разморозьте плазму при +*37°C. Не храните плазму при *37°C дольше 5 минут¹. В случае замораживания рекомендуется дважды центрифугировать образец, чтобы обеспечить обеднение тромбоцитами. После первого центрифугирования переместите плазму в неактивирующую пластиковую пробирку с помощью пластиковой пипетки, затем повторно центрифугируйте плазму в течение 10 минут на более высокой скорости (>2500 x г). При аликвотном разделении во вторую пипетку убедитесь, что в нее не попали остатки тромбоцитов, которые могли собраться на дне centrifужной пробирки².

ПРОЦЕДУРА

Ручной Метод

- Предварительно нагрейте достаточное количество восстановленного реагента до *37°C.
- Пипеткой поместите 0,2 мл плазмы крови пациента или контрольного образца плазмы в пробирку для реакций. Инкубируйте 2 минуты при температуре *37°C.
- Добавте 0,2 мл предваительно нагретого реагента из тест-системы «Скрининг на волчаночные антикоагулянты» и включите таймер.
- Измерьте время образования сгустков с округлением до 0,1 секунды.
- Рассчитайте нормированное отношение коээффициент «Скрининга на ВА» следующим образом:

Время образования сгустков при скрининге на ВА / Среднее нормальное время формирования сгустков при скрининге на ВА

Автоматизированный Метод

Обратитесь к соответствующей инструкции по эксплуатации прибора за подробной информацией или обратитесь в компанию Helena Biosciences Europe за получением справочной информации применительно к конкретному прибору.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты лучше всего выразить через нормализованное отношение относительно среднего нормального времени образования сгустка, полученного каждой лабораторией. При расчете нормализованного отношения рекомендуется использовать идентичные типы образцов. Таким образом можно нормализовать результаты как Скрининга на ВА, так и Подтверждения на ВА, уменьшив эффект изменчивости показаний прибора и потенциально улучшить различение между образцами с положительным низким ВА и нормальными образцами. Результаты исследования со смешиванием могут рассматриваться таким же образом.

Если время образования сгустка в образце плазмы крови пациента превышает 3 стандартных отклонения выше среднего значения нормального диапазона, возможно, в образце присутствует волчаночный антикоагулянт. В этом случае плазму необходимо исследовать повторно после смешивания с реагентом «Контроль качества, норма» (Kat. № 5186) в пропорции 1:1, а также исследовать с помощью тест-системы «Подтверждение на волчаночные антикоагулянты» (Kat. № 5485). Если при выполнении Скрининга на ВА время образования сгустка в образце плазмы крови пациента, смешанной с тестом «Контроль качества, норма» в пропорции 1:1, все еще превышает 3 стандартных отклонения выше среднего значения нормального диапазона, возможно, в образце присутствует волчаночный антикоагулянт. Если при выполнении Скрининга на ВА время образования сгустка в образце плазмы крови пациента, смешанной с тестом «Контроль качества, норма» в пропорции 1:1, изменилось до нормального диапазона, вероятнее всего дефицит по фактору (II, V или X).

Подходит по науке и стандартизации по вопросам стандартизации волчаночных антикоагулянтов Международного общества тромбоза гемостаза (International Society of Thrombosis and Haemostasis) рекомендуется диагностировать волчаночный антикоагулянт, если время разбавленного яда гадюки Рассела тестируемого образца плазмы, смешанного с нормальной плазмой, превышает 3 стандартных отклонения от среднего времени разбавленного яда гадюки Рассела в нормальной (не ВА) плазме. Использование тест-системы «Подтверждение на волчаночные антикоагулянты» позволяет различать ВА, дефицит по фактору и другие ингибиторы.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Дефицитная плазма по факторам II, V или X может привести к получению патологических результатов для неразбавленной плазмы. Исследования со смешиванием призваны исправить ситуацию.

Образцы плазмы крови пациентов со следующими отклонениями – гепарин (>1 U/мл), оральные антикоагулянты, диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС-синдром) – могут давать патологические результаты, если исследуется чистая (неразбавленная) плазма, причём эти образцы могут не поддаваться корректированию в исследовании со смешиванием. Необходимо удалить из плазмы остаточные тромбоциты путем фильтрации или центрифугирования, поскольку фосфолипиды из тромбоцитов могут повлиять на результаты исследования.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Каждая лаборатория должна внедрить программу контроля качества. Чтобы обеспечить удовлетворительную работу приборов и оператора, до начала тестирования каждой выборки (серии) образцов плазмы крови пациента необходимо выполнить тестирование образцов нормальной контрольной плазмы и контроль-патологии. Если контрольные образцы не показывают ожидаемых характеристик, результаты исследования образцов плазмы крови пациента считаются действительными. Компания Helena Biosciences Europe поставляет следующие контрольные образцы, используемые с данным продуктом:

| | |
|-------------|--|
| Kat. № 5486 | Положительный контроль на волчаночные антикоагулянты |
| Kat. № 5186 | Контроль качества, норма |

НОРМАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ

Контрольные значения могут быть различными в разных лабораториях, в зависимости от используемых методов и систем. В связи с этим каждая лаборатория должна установить собственный диапазон нормальных значений. Нормированный диапазон (среднее значение ± 3SDs), установленный компанией Helena Biosciences Europe для тест-системы «Скрининг на волчаночные антикоагулянты», составил 33,7 ± 8,1 секунд (диапазон 25,6 – 41,8 сек.). SD = стандартное отклонение

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Каждая лаборатория должна установить свои рабочие характеристики. Во время выполнения и в период между исследованиями коэффициент вариации должен быть <5%.

ЛИТЕРАТУРА

- Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI: H21-A5.
- Pengo V *et al* (2009) Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection, *J Thromb Haemost*, **7**: 1737-40