ISI Calibrant Plasma Set

REF 5519

CE IVD

Helena Biosciences Europe Biosciences Europe, Queensway South, Team Valley Trading Estate, Gateshead, Tyne and Wear, NE11 0SD, 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-2-0446P 2015/10 (13)

ISI Calibrant Plasma Set
Instructions for use

en

INTENDED PURPOSE

The ISI Calibrant Plasma Set kit is intended for use as a calibration material.

The ISI Calibrant Plasma Set is designed to simplify the laboratory calibration of thromboplastin International Sensitivity Index (ISI) values when using automated equipment for the determination of prothrombin time. The ISI Calibrant Plasma Set is intended for use with thromboplastins of human or rabbit origin and its performance has been validated with thromboplastin ISI's less than 2.00. The 'local' ISI calibration of a thromboplastin enables laboratories to report International Normalised Ratio (INR) values much closer to the 'true' INR value by correcting for coagulometer effects on thromboplastin ISI. Other benefits of using the ISI Calibrant Plasma Set are a) they remove the requirement for running parallel PT times using the manual technique, b) a local supply of International Reference Preparation is not required and c) fresh plasmas from 60 long-term patients on 'therapeutic' warfarin are not required. Thomson and colleagues also showed that both lyophilised plasmas from warfarin-treated patients and lyophilised plasmas artificially depleted of warfarin-dependant clotting factors could be used to assess the effects of coagulometers on INR[1]. Current guidelines based on a European Concerted Action on Anticoagulation (ECAA) study showed that a minimum of 7 normal plasmas (INR of ~1), and 20 artificially depleted plasmas (INR 1.5-4.5) are required for full ISI calibration[2-3]. The ISI Calibrant Plasma Set consists of 20 artificially depleted and 7 normal lyophilised plasmas that are calibrated against the WHO primary standards for Human recombinant and Rabbit derived thromboplastin. The ISI of a thromboplastin from which INR are derived is based upon a manual PT technique and can be considerably modified by coagulometers[1,4-9]. The 'local system' ISI of a thromboplastin can be calculated by comparing the PT times obtained for the ISI Calibrant Plasma Set plasmas on the thromboplastin / instrument system in laboratory use with the certified PT times obtained on the same lot of plasmas using the International Reference Preparation and the manual tilt-tube technique.

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.

Blood products have been screened and found negative (unless otherwise stated on the kit box or vial) for the presence of:
Hepatitis B Antigen (HbsAg)
HIV 1 antibody HIV 2 antibody
HCV antibody
However they should be handled with the same precautions as a human patient sample.

COMPOSITION

Component	Content	Description	Preparation
ISI Calibrant Plasma	27 x 0.5 mL	27 individually certified vials. Each vial contains either 0.5 mL normal human plasma or normal human plasma artificially depleted of clotting factors by barium sulphate adsorption with buffering agents (HEPES).	Reconstitute each plasma from the set with exactly 0.5 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.			
Each kit contains Calibration Results Report Form.			

ITEMS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Any high quality electro-mechanical or photo-optical coagulation instrument suitable for the determination of prothrombin times may be used.
2. Pipetting device to deliver 0.5 mL.
3. 20 fresh plasma samples from normal individuals of both sexes with a wide age spread for the determination of the geometric mean normal prothrombin time (MNPT) of the instrument / thromboplastin combination.
4. Thromboplastin Reagent, prepared according to the manufacturers' instructions.

STORAGE, SHELF-LIFE AND STABILITY

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

Component	Stability	Signs of Deterioration
ISI Calibrant Plasma	Reconstituted plasmas are stable for 30 minutes at +15 – +30°C or 4 hours at +2 – +8°C. Storage longer than this time is not recommended.	The lyophilised plasmas should be dry, straw or pale-yellow coloured pellets or pieces of pellets. Failure to reconstitute to a homogeneous liquid, or the presence of particulate contamination may indicate product deterioration.

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 minutes[10].

PROCEDURE

IMPORTANT: DO NOT use the components of this kit with any other lot number kit. Each batch of ISI Calibrant Plasma Sets is individually certified.

1. Reconstitute each plasma from the set as instructed in the "Composition" section.
2. Perform four replicate prothrombin time tests on each vial using the appropriate thromboplastin and instrument combination. Refer to the appropriate instrument operator manual for detailed instructions or contact Helena Biosciences Europe for instrument specific application notes.
3. Record each individual PT value to the nearest 0.1 seconds together with the geometric mean value on the Calibration Sheet included with each kit. Ensure the full lot number of each plasma vial is recorded on the Calibration Sheet.
4. Perform quadruplicate prothrombin time tests on a minimum of 20 fresh normal plasmas as instructed in the 'Materials required but not provided' section and report the geometric mean PT value (MNPT) to the nearest 0.1 seconds on the Calibration Sheet. If a MNPT value has already been determined for the lot of thromboplastin and instrument in use, report this value instead.
5. Complete the remaining details on the Calibration Sheet and fax or email the results to Helena Biosciences Europe using the number or address given.

INTERPRETATION OF RESULTS

The coefficient of variation (CV) between the 4 replicate PT times should be <5% for each plasma. The calibrated ISI value for the thromboplastin used on the instrument tested will be returned by fax or e-mail within 2 working days. The 'Local System' ISI is the value of the slope of the line indicated by orthogonal regression analysis. Only calibrations where the CV of slope is 5% or below are acceptable. If the CV of the calibration slope following orthogonal regression analysis is greater than 5%, the analysis should be repeated after the local MNPT has been checked. If the CV of the slope on the repeat analysis remains greater than 5%, the performance of the thromboplastin and instrument in use should be reviewed as these affect the precision of the calibration.

LIMITATIONS

It is important to calibrate human source thromboplastins with Human Reference Preparation values and rabbit source thromboplastins with Rabbit Reference Preparation values. Failure to ensure this may result in inaccurate ISI calibrations and unacceptable CV of slope values for the calibration.

QUALITY CONTROL

It is recommended to calibrate the 'local system' ISI of thromboplastin using the ISI Calibrant Plasma Set at the introduction of a new thromboplastin lot number, following instrument service or if quality control values fall outside appropriate limits to ensure ongoing satisfactory system performance.

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. This is particularly important for local ISI calibration.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The reliability of the abnormal plasmas used in the manufacture of the ISI Calibrant Plasma Set has been evaluated in two major studies, 1) a national UK survey of users of the Manchester Reagent thromboplastin[11] and 2) an international study[12-14]. In the latter study, thirty-seven laboratories from the USA, Canada, France, Germany, Italy and Spain, utilising eleven types of commercial thromboplastins in 95 test systems, produced similar substantive evidence of the value of the calibrants in correcting for coagulometer effects on INR across a series of instruments and reagents. In this study, the mean deviation from 'true' INR's for a series of 10 plasmas from long term warfarin patients was reduced from 14.41% (±15.28) to 1.04% (±7.51). The Instrument/thromboplastin combinations used in this study are summarised in the following table:

Instrument	Thromboplastin	Manufacturer ISI	Number of systems
KoaguLab	RecombiPlasTin	0.99	10
KoaguLab	Ortho Brain Thromboplastin	1.92	10
KoaguLab	Stago, France	1.79-2.04	2
KoaguLab	Thromboplastin C	2.80	1
MLA*	RecombiPlasTin	0.99	10
MLA*	Ortho Brain Thromboplastin	1.92	10
MLA*	Thromboplastin C	2.80	1
MLA*	Innovin	0.96-1.04	3
MLA*	IS, Baxter	#	2
MLA*	Thromboplastin C +	#	2
ACL**	RecombiPlasTin	0.99	13
ACL**	Ortho Brain Thromboplastin	1.92	13
ACL**	ACL	1.41-2.42	3
ACL**	Stago, France	1.79-2.04	1
ACL**	Simplastin XL	#	2
Coag-A-Mate	RecombiPlasTin	0.99	3
Coag-A-Mate	Ortho Brain Thromboplastin	1.92	3
Coag-A-Mate	Stago, France	1.79-2.04	2
Coag-A-Mate	Thrombomat	#	1
Behring BFA	RecombiPlasTin	0.99	1
Behring BFA	Ortho Brain Thromboplastin	1.92	1
Behring BFA	Thromborel S	#	1

* MLA = Medical Laboratory Automation

** ACL = Automated Coagulation Laboratory

ISI ranged between 1.07-2.00

BIBLIOGRAPHY

1. Thomson JM, Taberner DA, Poller L (1990) Automation and prothrombin time:a United Kingdom field study of two widely used coagulometers, *J. Clin. Pathol,* **43:**679-84
2. Poller L, Barrowcliffe TW, van den Besselaar AMHP, Jespersen J, Tripodi A, Houghton D (1998) European Concerted Action on Anticoagulation. Minimum lyophilised plasma requirement for ISI calibration, *Amer. J. Clin. Pathol*, **109:**196-204
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (2005) Procedures for Validation of INR and Local Calibration of PT/INR Systems: Approved Guidelines, CLSI H54-A, Vol. 25, No.23
4. Poggio, M, van den Besselaar AMPH, van der Velde EA, Bertina RM (1988) The effect of some instruments for prothrombin time testing on the International Sensitivity Index (ISI) of two rabbit tissue thromboplastin reagents, *Thromb. Haemost,* **62:** 868-74
5. D'Angelo A, Seveso MP, D'Angelo SV, *et al* (1989) Comparison of two automated coagulometers and the manual tilt tube method for the determination of prothrombin time, *Am. J. Clin. Pathol,* **92:** 321-8
6. Poller L, Thomson JM, Taberner DA (1989) Effect of automation on the prothrombin time test in NEQAS surveys, *J. Clin. Pathol,* **42:** 97-100
7. van Rijn JLML, Schmidt NA, Rutten W (1989) Correction of instrument and reagent based differences in determination of International Normalised Ratio (INR) for monitoring anticoagulant therapy, *Clin. Chem,* **355:** 840-3
8. Ray MJ, Smith IR (1990) The dependence of the International Sensitivity Index on the coagulometer used to perform the prothrombin time, *Thromb. Haemost,* **63:** 424-9
9. Clarke K, Taberner DA, Thomson JM, Morris JA, Poller L (1992) Assessment of value of calibrated lyophilised plasmas to determine International Sensitivity Index for coagulometers, *J. Clin. Pathol,* **45:** 58-60
10. 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
11. Poller L, Thomson JM, Taberner DA, Clarke DK (1994) The correction of coagulometer effects on INR. A multicentre evaluation, *Brit. J. Haemat,* **86:** 112-7
12. Poller L, Houghton D, Carroll J (1994) The reliability of the MNPT of fresh plasmas and of the normal value from a lyophilised "normal" plasma in prothrombin time ratio determination, *Bnt. J. Haemat,* **88:** 866-73
13. Poller L, Triplett DA, Hirsh J, Carroll J, Clarke K (1995) The value of plasma calibrants in correcting coagulometer effects on International Normalised Ratios (INR): an International multicentre study, *Amer. J. Clin. Pathol,* **103:** 358-65
14. Poller L, Triplett DA, Hirsh J, Carroll J, Clarke K (1995) A comparison of lyophilised artificially depleted plasmas and lyophilised plasmas from warfarin treated patients in correcting for coagulometer effects on International Normalised Ratios, *Amer. J. Clin. Pathol,* **103:** 366-71

ISI Calibrant Plasma Set
Fiche technique

fr

UTILISATION

Le kit ISI Calibrant Plasma Set est destiné à être utilisé comme produit d'étalonnage.

Le kit d'étalonnage du plasma est destiné à simplifier l'étalonnage en laboratoire des valeurs de l'indice de sensibilité international (ISI) de la thromboplastine lors de l'utilisation d'automates d'analyse pour déterminer le temps de prothrombine. Il est utilisé avec les thromboplastines d'origine humaine ou de lapin et la performance a été validée avec des ISI de thromboplastine inférieurs à 2,00. L'étalonnage de l'ISI local d'une thromboplastine permet aux laboratoires d'obtenir des valeurs du rapport normalisé international (RNI) beaucoup plus proche du « vrai » RNI en corrigeant les effets du coagulomètre sur l'ISI de la thromboplastine. L'utilisation du kit d'étalonnage du plasma a aussi les avantages suivants: a) les plasmas d'étalonnage éliminent la nécessité de déterminer en parallèle les TP avec une méthode manuelle, b) il n'est pas nécessaire d'avoir un distributeur local de préparation de référence internationale, c) il n'est pas nécessaire de disposer de plasmas frais provenant de 60 patients sous warafine depuis longtemps. Thomson et al. a aussi démontré que les plasmas lyophilisés des patients sous warfarine et ceux artificiellement déplétés des facteurs de coagulation dépendant de la warfarine peuvent être utilisés pour évaluer les effets des coagulomètres sur le RNI[1]. Les recommandations actuelles se basant sur l'étude ECAA (European Concerted Action on Anticoagulation) ont montré qu'au moins 7 plasmas normaux (RNI ~ 1) et 20 plasmas artificiellement déplétés (RNI 1,5 - 4,5) sont nécessaires pour un étalonnage complet de l'ISI[2,3]. Le kit de plasmas d'étalonnage ISI Calibrant Plasma Set se compose de 20 plasmas artificiellement déplétés et de 7 plasmas normaux lyophilisés qui sont étalonnés par rapport aux étalons normalisés de l'OMS pour la thromboplastine humaine recombinante et la thromboplastine de lapin. L'ISI d'une thromboplastine à partir duquel le RNI est calculé se base se base sur une méthode manuelle de TP et peut être considérablement modifiée par les coagulomètres[1,4-9]. Il est possible de calculer l'ISI du système local d'une thromboplastine en comparant les temps TP obtenus pour les plasmas du kit d'étalonnage du plasma sur le système thromboplastine / instrument du laboratoire avec les temps TP certifiées obtenu avec le même lot de plasmas en utilisant la préparation de référence internationale et la technique manuelle du tube incliné.

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 églementations locales.

Un dépistage des produits sanguins a été réalisé et a donné un résultat négatif (sauf indication contraire sur la boîte du kit ou sur le flacon) quant à la présence de :
Antigène de l'hépatite B (AgHBs)
Anticorps anti-VIH 1
Anticorps anti-VIH 2
Anticorps anti-VHC
Cependant, ils doivent être manipulés avec les mêmes précautions que celles prises pour les échantillons patients humains.

COMPOSITION

Composant	Contient	Description	Préparation
ISI Calibrant Plasma	27 x 0,5 mL	27 flacons certifiés individuellement. Chaque flacon contient 0,5 mL de plasma humain normal ou de plasma humain normal artificiellement déplété des facteurs de coagulation par adsorption au sulfate de baryum additionné d'un tampon (HEPES).	Reconstituer chaque flacon du kit avec exactement 0,5 mL d'eau distillée ou désionisée. Laisser reposer 10 minutes et bien mélanger avant utilisation. NE PAS AGITER.
Chaque kit contient une fiche technique.			
Chaque kit contient une fiche de résultats d'étalonnage.			

MATÉRIEL NÉCESSAIRE NON FOURNI

1. Il est possible d'utiliser un instrument de coagulation électromécanique ou photo-optique de haute qualité pouvant déterminer le temps de prothrombine.
2. Dispositif de pipetage ayant une capacité de 0,5 mL.
3. 20 échantillons de plasma frais provenant de donneurs des deux sexes et représentant un large éventail d'âges pour déterminer la moyenne géométrique du temps de prothrombine normal (TPMN) du système instrument/thromboplastine.
4. Réactif de thromboplastine, préparé conformément aux instructions du fabricant.

CONSERVATION, DURÉE DE VIE UTILE ET STABILITÉ

Les flacons 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.

Composant	Stabilité	Signes de Détérioration
ISI Calibrant Plasma	Une fois reconstitués, les plasmas sont stables 30 minutes entre +15 – +30°C ou 4 heures entre +2 – +8°C Il est déconseillé de les conserver plus longtemps que la durée indiquée.	Les plasmas lyophilisés se présentent sous la forme de micro-granules ou de granulés secs de couleur jaune paille ou jaune clair. Le produit est détérioré s'il n'est pas possible de le reconstituer en un liquide homogène ou s'il existe une contamination.

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Utiliser tout au long du prélèvement du plastique ou du verre siliconé. 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 minutes[10].

PROCÉDURE

IMPORTANT: NE PAS utiliser les éléments de ce kit avec un kit ayant un numéro de lot différent. Chaque lot de ISI plasmas d'étalonnage est certifié de façon individuelle.

1. Reconstituer chaque plasma du kit en suivant les instructions de la section "Composition".
2. Réaliser quatre déterminations identiques du temps de prothrombine pour chaque flacon en utilisant le système thromboplastine / instrument approprié. 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.
3. Relever chaque TP en arrondissant au dixième de seconde ainsi que la valeur de la moyenne géométrique de la fiche d'étalonnage incluse dans chaque kit. S'assurer que le numéro de lot de chaque flacon de plasma est indiqué sur la fiche d'étalonnage.
4. Réaliser quatre déterminations du temps de prothrombine sur un minimum de 20 plasmas normaux frais en suivant les instructions de la section "Matériels nécessaires non fournis" et indiquer sur la fiche d'étalonnage la valeur de la moyenne géométrique (TPMN) en arrondissant au dixième de seconde. Si un TPMN a déjà été déterminé pour le lot de thromboplastines et l'instrument utilisé, indiquer à sa place cette valeur.
5. Remplir les autres données de la fiche d'étalonnage et faxer les résultats à Helena Biosciences Europe au numéro ou l'adresse indiqué.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Le coefficient de variation (CV) entre les 4 déterminations du TP doit être <5% pour chaque plasma. La valeur de l'ISI étalonné pour la thromboplastine utilisée sur l'instrument utilisé sera envoyée par fax ou par courriel dans les 2 jours ouvrables suivants. L'ISI du système local correspond à la valeur de la pente de la ligne indiquée par analyse de régression orthogonale. Seuls les étalonnages où le CV de la pente est inférieur ou égal à 5% sont acceptables. Si le CV de la pente d'étalonnage après l'analyse de régression orthogonale est supérieur à 5%, l'analyse doit être répétée après avoir vérifié le TPMN local. Si le CV de la pente de la nouvelle analyse reste supérieur à 5%, la performance de la thromboplastine et de l'instrument utilisés doit être révisée car ils altèrent la précision de l'étalonnage.

LIMITES

Il est important d'étalonner les thromboplastines d'origine humaine avec les valeurs de la préparation de référence humaine et les thromboplastines de lapin avec les valeurs de la préparation de référence de lapin. Si ce n'est pas le cas, cela peut entraîner un étalonnage imprécis de l'ISI et un CV de la pente inacceptable pour l'étalonnage.

CONTRÔLE QUALITÉ

Il est recommandé d'étalonner l'ISI de la thromboplastine du système local en utilisant le kit d'étalonnage du plasma en cas d'utilisation d'un nouveau numéro de lot de thromboplastine, suite à la maintenance de l'instrument ou si les valeurs du contrôle qualité se situent hors des limites acceptables afin de garantir que le système fonctionne avec des performances satisfaisantes.

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. Ceci est particulièrement important pour l'étalonnage de l'ISI local.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

La fiabilité des plasmas utilisés pour fabriquer le kit d'étalonnage du plasma Helena a été évaluées par deux études de grande envergure: 1) une enquête nationale britannique sur les utilisateurs de la thromboplastine du réactif de Manchester[11] et 2) une étude internationale[12-14]. Dans une étude postérieure utilisant onze types de thromboplastines disponibles sur le marché avec 95 instruments d'analyse, trente-sept laboratoires des États-Unis, du Canada, de France, d'Allemagne, d'Italy et d'Espagne ont aussi montré que les plasmas d'étalonnage arrivent à corriger les effets du coagulomètre sur le RNI avec divers instruments et réactifs. Dans cette étude, la déviation moyenne par rapport au « vrai » RNI pour une série de 10 plasmas provenant de patients sous warfarine depuis longtemps a été réduite de 14.41% (±15,28) à 1,04% (±7,51). Les combinaisons instrument/thromboplastine utilisées dans cette étude sont résumées dans le tableau suivant:

Instrument	Thromboplastine	ISI du Fabricant	Nombre de Systémes
KoaguLab	RecombiPlasTin	0,99	10
KoaguLab	Ortho Brain Thromboplastin	1,92	10
KoaguLab	Stago, France	1,79-2,04	2
KoaguLab	Thromboplastin C	2,80	1
MLA*	RecombiPlasTin	0,99	10
MLA*	Ortho Brain Thromboplastin	1,92	10
MLA*	Thromboplastin C	2,80	1
MLA*	Innovin	0,96-1,04	3
MLA*	IS, Baxter	#	2
MLA*	Thromboplastin C +	#	2
ACL**	RecombiPlasTin	0,99	13
ACL**	Ortho Brain Thromboplastin	1,92	13
ACL**	ACL	1,41-2,42	3
ACL**	Stago, France	1,79-2,04	1
ACL**	Simplastin XL	#	2
Coag-A-Mate	RecombiPlasTin	0,99	3
Coag-A-Mate	Ortho Brain Thromboplastin	1,92	3
Coag-A-Mate	Stago, France	1,79-2,04	2
Coag-A-Mate	Thrombomat	#	1
Behring BFA	RecombiPlasTin	0,99	1
Behring BFA	Ortho Brain Thromboplastin	1,92	1
Behring BFA	Thromborel S	#	1

* MLA = Medical Laboratory Automation

** ACL = Automated Coagulation Laboratory

ISI se situant dans la plage 1,07 – 2,00

BIBLIOGRAPHIE

1. Thomson JM, Taberner DA, Poller L (1990) Automation and prothrombin time:a United Kingdom field study of two widely used coagulometers, *J. Clin. Pathol,* **43:**679-84
2. Poller L, Barrowcliffe TW, van den Besselaar AMHP, Jespersen J, Tripodi A, Houghton D (1998) European Concerted Action on Anticoagulation. Minimum lyophilised plasma requirement for ISI calibration, *Amer. J. Clin. Pathol*, **109:**196-204
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (2005) Procedures for Validation of INR and Local Calibration of PT/INR Systems: Approved Guidelines, CLSI H54-A, Vol. 25, No.23
4. Poggio, M, van den Besselaar AMPH, van der Velde EA, Bertina RM (1988) The effect of some instruments for prothrombin time testing on the International Sensitivity Index (ISI) of two rabbit tissue thromboplastin reagents, *Thromb. Haemost,* **62:** 868-74
5. D'Angelo A, Seveso MP, D'Angelo SV, *et al* (1989) Comparison of two automated coagulometers and the manual tilt tube method for the determination of prothrombin time, *Am. J. Clin. Pathol,* **92:** 321-8
6. Poller L, Thomson JM, Taberner DA (1989) Effect of automation on the prothrombin time test in NEQAS surveys, *J. Clin. Pathol,* **42:** 97-100
7. van Rijn JLML, Schmidt NA, Rutten W (1989) Correction of instrument and reagent based differences in determination of International Normalised Ratio (INR) for monitoring anticoagulant therapy, *Clin. Chem,* **355:** 840-3
8. Ray MJ, Smith IR (1990) The dependence of the International Sensitivity Index on the coagulometer used to perform the prothrombin time, *Thromb. Haemost,* **63:** 424-9
9. Clarke K, Taberner DA, Thomson JM, Morris JA, Poller L (1992) Assessment of value of calibrated lyophilised plasmas to determine International Sensitivity Index for coagulometers, *J. Clin. Pathol,* **45:** 58-60
10. 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
11. Poller L, Thomson JM, Taberner DA, Clarke DK (1994) The correction of coagulometer effects on INR. A multicentre evaluation, *Brit. J. Haemat,* **86:** 112-7
12. Poller L, Houghton D, Carroll J (1994) The reliability of the MNPT of fresh plasmas and of the normal value from a lyophilised "normal" plasma in prothrombin time ratio determination, *Bnt. J. Haemat,* **88:** 866-73
13. Poller L, Triplett DA, Hirsh J, Carroll J, Clarke K (1995) The value of plasma calibrants in correcting coagulometer effects on International Normalised Ratios (INR): an International multicentre study, *Amer. J. Clin. Pathol,* **103:** 358-65
14. Poller L, Triplett DA, Hirsh J, Carroll J, Clarke K (1995) A comparison of lyophilised artificially depleted plasmas and lyophilised plasmas from warfarin treated patients in correcting for coagulometer effects on International Normalised Ratios, *Amer. J. Clin. Pathol,* **103:** 366-71

ISI Calibrant Plasma Set
Anleitung

de

VERWENDUNGSZWECK

Das ISI Calibrant Plasma Set-Kit ist für die Kalibration vorgesehen.

Das Kalibrant Plasma-Set soll dem Labor bei der Bestimmung der Prothrombinzeit an einem automatischen Analysegerät die Kalibration der Thromboplastin-Werte nach „International Sensitivity Index" (ISI) vereinfachen. Das Kalibrant Plasma-Set ist zum Gebrauch mit Thromboplastinen vom Menschen oder Kaninchen bestimmt, deren Leistung mit Thromboplastin ISI-Werten von unter 2,00 validiert wurde. Die ISI-Kalibration von Thromboplastin „vor Ort" (‚local' ISI) ermöglicht es den Labors durch Korrekturen der Koagulometer-Effekte auf das Thromboplastin-ISI, die Werte der „International Normalised Ratio" (INR) viel enger an den „wahren" INR-Wert anzugeben. Weitere Vorteile des Kalibrant Plasma-Sets sind: a) Die PTZ muss bei der manuellen Methode nicht mehr in Doppelbestimmung angesetzt werden, b) örtliche Zubereitungen der „International Reference" sind nicht erforderlich und c) es sind keine frischen Plasmen von 60 Langzeit-Patienten unter Warfarin-Therapie mehr erforderlich. Thomson und Mitarbeiter zeigten auch, dass, um die Einflüsse des Koagulometers auf den INR zu beurteilen, sowohl lyophilisierte Plasmen von mit Warfarin gehandelten Patienten als auch lyophilisierte Plasmen, die künstlich von den Warfarin abhängigen Gerinnungsfaktoren depletiert wurden, verwendet werden können[1]. Aktuelle Leitlinien, die auf einer Studie der European Concerted Action on Anticoagulation (ECAA) basieren, zeigten, dass für eine vollständige ISI-Kalibrierung mindestens 7 Normalplasmen (INR von ~ 1) und 20 künstlich hergestellte Mangelplasmen (INR 1,5 - 4,5) erforderlich sind[2-3]. Das Calibrant Plasma Set besteht aus 20 künstlich hergestellten Mangelplasmen und 7 normalen lyophilisierten Plasmen, die gegen die WHO-Primärstandards für humanes rekombinantes Thromboplastin und Thromboplastin vom Kaninchen kalibriert sind. Der ISI eines Thromboplastins, von dem der INR abgeleitet wird, basiert auf eine manuelle PT-Technik und kann durch das Koagulometer beträchtlich modifiziert werden[1,4-9]. Das „Local System"-ISI eines Thromboplastins kann errechnet werden, indem man die PTZ-Werte, die mit den Plasmen des Kalibrant Plasma-Sets mit dem im Labor gebräuchlichen Thromboplastin/Geräte-System ermittelt wurden, mit den zertifizierten PTZ-Werten, die mit derselben Charge von Plasmen unter Verwendung der „International Reference"-Zubereitung und der manuellen Kipptechnik erhalten wurden, vergleicht.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Die in diesem Kit enthaltenen Reagenzien sind ausschließlich für die Verwendung von *in-vitro*-Diagnosen vorgesehen. NICHT VERSCHLUCKEN. 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.

Die Blutprodukte wurden untersucht und sind für folgende Gene ohne Befund (soweit nicht anderweitig auf der Verpackung oder den Ampullen angegeben):
Hepatitis-B-Antikörper (HbsAg)
HIV-Antikörper 1
HIV-Antikörper 2
HCV-Antikörper
Sie sind jedoch mit den gleichen Vorkehrungen zu behandeln wie Proben von menschlichen Patienten.

ZUSAMMENSETZUNG

Komponente	Inhalt	Beschreibung	Vorbereitung
ISI Calibrant Plasma	27 x 0,5 mL	27 einzeln zertifizierte Fläschchen. Jedes Fläschchen enthält 0,5 mL normales Humanplasma oder normales Humanplasma künstlich depletierte Gerinnungsfaktoren mit Hilfe von Bariumsulphat-Adsorption mit gepufferten Substanzen (HEPES).	Jedes Plasma des Sets mit genau 0,5 mL destilliertem oder entionisiertem Wasser rekonstituieren. 10 Minuten stehen lassen und vor Gebrauch gut mischen. NICHT SCHÜTTELN.
Jedes Kit enthält eine Gebrauchsanweisung.			
Jedes Kit enthält ein Formblatt für die Kalibrations-Ergebnisse.			

ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE ARTIKEL

1. Es kann jedes zur Bestimmung der Prothrombingerinnungszeit geeignete, qualitativ hochwertige, elektromechanische oder lichtoptische Gerät benutzt werden.
2. 0,5 mL Kolbenhubpipette.
3. 20 frische Plasmaproben von gesunden Probanten beiderlei Geschlechts und einer breiten Altersspannweite zur Bestimmung des geometrischen Mittelwerts der normalen Prothrombin-Zeit (MNPT) der Geräte / Thromboplastin-Kombination.
4. Thromboplastin-Reagenz nach Anweisung des Herstellers vorbereitet.

LAGERUNG, HALTBARKEIT UND STABILITÄT

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

Komponente	Haltbarkeit	Anzeichen für Verfall
ISI Calibrant Plasma	Rekonstituiert sind die Plasmen bei +15 – +30°C 30 Minuten oder bei +2 – +8°C 4 Stunden stabil. Eine längere Lagerzeit wird nicht empfohlen.	Die lyophilisierten Plasmen sollten trockene, gelblich-braunes oder hellgelbes Granulate oder Granulatstückchen sein. Entsteht nach Rekonstitution keine homogene Flüssigkeit oder besteht teilweise Verunreinigung, kann das auf Verfall des Produkts hinweisen.

PROBENENTNAHME 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 belassen[10].

VORGEHENSWEISE

WICHTIG: KEINE Bestandteile dieses Kits mit denen einer anderen Chargen-Nummer verwenden. Jede Charge des ISI Kalibrant Plasma-Sets ist einzeln zertifiziert.

1. Jedes Plasma des Sets wie im Abschnitt "Inhalt" beschrieben rekonstituieren.
2. Von jedem Fläschchen vier Wiederholungen der Prothrombinzeit mit der entsprechenden Thromboplastin- und Geräte-Kombination durchführen. Siehe die Bedienungsanleitung des entsprechenden Geräts für genaue Anweisungen oder wenden Sie sich an Helena Biosciences Europe für spezielle anwendungstechnische Hinweise.
3. Auf dem mit jedem Kit mitgelieferten Kalibrations-Datenblatt die einzelnen bis auf 0,1 Sekunden genau gemessenen PT-Werte gemeinsam mit dem geometrischen Mittelwert aufzeichnen. Sicherstellen, dass die vollständige Chargen-Nummer auf dem Kalibrations-Datenblatt verzeichnet ist.
4. Von mindestens 20 frischen Normalplasmen, wie in Abschnitt „Nicht mitgeliefertes, aber benötigtes Material" angegeben, Vierfach-Bestimmungen der Prothrombinzeit durchführen und den geometrischen PT-Mittelwert (MNPT) bis auf 0,1 Sekunden genau auf dem Kalibrations-Datenblatt protokollieren. Wurde für die Thromboplastin-Charge und das benutzte Gerät bereits ein MNPT bestimmt, dann diesen Wert angeben.
5. Die verbleibenden Informationen auf dem Kalibrations-Datenblatt ausfüllen und die Ergebnisse unter der angegebenen Nummer an Helena Biosciences Europe faxen oder Adresse.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Der Variationskoeffizient (VK) zwischen den 4 Wiederholungen der PT-Zeit sollte für jedes Plasma < 5% sein. Der kalibrierte ISI-Wert für das auf dem getesteten Gerät benutzten Thromboplastin wird per Fax mitgeteilt oder per E-Mail innerhalb von zwei Arbeitstagen. Das „Local System"-ISI ist der Steigungswert der durch orthogonale Regression ermittelten Geraden. Zulässig sind nur Kalibrationen, bei denen der VK der Steigung 5% oder darunter ist. Ist der VK der Kalibrationssteigung nach orthogonaler Regression größer als 5%, muss die Analyse nach Überprüfen des „local" MNPT wiederholt werden. Ist der VK der Steigung nach wiederholten Analysen auch weiterhin größer als 5%, sollte die Leistung des benutzten Thromboplastins und des Geräts überprüft werden, da beide die Präzision der Kalibration beeinflussen.

EINSCHRÄNKUNGEN

Es ist wichtig Thromboplastine vom Menschen mit den Werten des „Human Reference Preparation" (Referenzzubereitung vom Menschen) und die Thromboplastine vom Kaninchen mit den Werten der „Rabbit Reference Preparation" (Referenzzubereitung vom Kaninchen) zu kalibrieren. Wird dies nicht gewährleistet, kann das zu ungenauen ISI-Kalibrationen und einem nicht akzeptablen VK der Steigungswerte für die Kalibration führen.

QUALITÄTSKONTROLLE

Es wird empfohlen, das „Local System"-ISI des Thromboplastins mit dem Kalibrant Plasma-Set in den folgenden Fällen zu kalibrieren: Beim Anbrechen einer neuen Thromboplastin-Charge, nach Gerätewartung oder wenn die Kontrollwerte außerhalb des zulässigen Bereichs liegen, und damit eine zufrieden stellende Systemleistung zu garantieren.

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. Dieses ist besonders für die ISI-Kalibration vor Ort wichtig.

LEISTUNGSMERKMALE

Die Verlässlichkeit der bei der Herstellung des ISI Kalibrant Plasma-Sets verwendeten Plasmen ist in zwei großen Studien bewertet worden: 1.) In einer britischen Untersuchung von Benutzern des Manchester-Reagenz Thromboplastins[11] und 2.) in einer internationalen Studie[12-14]. In dieser zweiten Studie haben 37 Labors in den USA, Kanada, Frankreich, Deutschland, Italien und Spanien unter Verwendung von 11 verschiedenen, kommerziellen Thromboplastinen mit 95 Testsystemen vergleichbare, substantielle Belege über eine Vielzahl von Geräten und Reagenzien hinweg für den Wert der Kalibrants bei der Korrektur von Koagulometer-Effekten auf das INR geliefert. In dieser Studie wurde bei einer Serie von 10 Plasmen von Patienten mit Warfarin-Langzeittherapie der Mittelwert der Abweichung vom „wahren" INR von 14,41% (± 15,28) auf 1,04% (± 7,51) reduziert. Die in dieser Studie benutzten Geräte/Thromboplastin Kombinationen sind in der folgenden Tabelle aufgelistet:

Instrument	Thromboplastin	Hersteller ISI	Anzahl der Systeme
KoaguLab	RecombiPlasTin	0,99	10
KoaguLab	Ortho Brain Thromboplastin	1,92	10
KoaguLab	Stago, France	1,79-2,04	2
KoaguLab	Thromboplastin C	2,80	1
MLA*	RecombiPlasTin	0,99	10
MLA*	Ortho Brain Thromboplastin	1,92	10
MLA*	Thromboplastin C	2,80	1
MLA*	Innovin	0,96-1,04	3
MLA*	IS, Baxter	#	2
MLA*	Thromboplastin C +	#	2
ACL**	RecombiPlasTin	0,99	13
ACL**	Ortho Brain Thromboplastin	1,92	13
ACL**	ACL	1,41-2,42	3
ACL**	Stago, France	1,79-2,04	1
ACL**	Simplastin XL	#	2
Coag-A-Mate	RecombiPlasTin	0,99	3
Coag-A-Mate	Ortho Brain Thromboplastin	1,92	3
Coag-A-Mate	Stago, France	1,79-2,04	2
Coag-A-Mate	Thrombomat	#	1
Behring BFA	RecombiPlasTin	0,99	1
Behring BFA	Ortho Brain Thromboplastin	1,92	1
Behring BFA	Thromborel S	#	1

* MLA = Medical Laboratory Automation

** ACL = Automated Coagulation Laboratory

ISI lag im Bereich von 1,07-2,00

LITERATURVERZEICHNIS

1. Thomson JM, Taberner DA, Poller L (1990) Automation and prothrombin time:a United Kingdom field study of two widely used coagulometers, *J. Clin. Pathol,* **43:**679-84
2. Poller L, Barrowcliffe TW, van den Besselaar AMHP, Jespersen J, Tripodi A, Houghton D (1998) European Concerted Action on Anticoagulation. Minimum lyophilised plasma requirement for ISI calibration, *Amer. J. Clin. Pathol*, **109:**196-204
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (2005) Procedures for Validation of INR and Local Calibration of PT/INR Systems: Approved Guidelines, CLSI H54-A, Vol. 25, No.23
4. Poggio, M, van den Besselaar AMPH, van der Velde EA, Bertina RM (1988) The effect of some instruments for prothrombin time testing on the International Sensitivity Index (ISI) of two rabbit tissue thromboplastin reagents, *Thromb. Haemost,* **62:** 868-74
5. D'Angelo A, Seveso MP, D'Angelo SV, *et al* (1989) Comparison of two automated coagulometers and the manual tilt tube method for the determination of prothrombin time, *Am. J. Clin. Pathol,* **92:** 321-8
6. Poller L, Thomson JM, Taberner DA (1989) Effect of automation on the prothrombin time test in NEQAS surveys, *J. Clin. Pathol,* **42:** 97-100
7. van Rijn JLML, Schmidt NA, Rutten W (1989) Correction of instrument and reagent based differences in determination of International Normalised Ratio (INR) for monitoring anticoagulant therapy, *Clin. Chem,* **355:** 840-3
8. Ray MJ, Smith IR (1990) The dependence of the International Sensitivity Index on the coagulometer used to perform the prothrombin time, *Thromb. Haemost,* **63:** 424-9
9. Clarke K, Taberner DA, Thomson JM, Morris JA, Poller L (1992) Assessment of value of calibrated lyophilised plasmas to determine International Sensitivity Index for coagulometers, *J. Clin. Pathol,* **45:** 58-60
10. 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
11. Poller L, Thomson JM, Taberner DA, Clarke DK (1994) The correction of coagulometer effects on INR. A multicentre evaluation, *Brit. J. Haemat,* **86:** 112-7
12. Poller L, Houghton D, Carroll J (1994) The reliability of the MNPT of fresh plasmas and of the normal value from a lyophilised "normal" plasma in prothrombin time ratio determination, *Bnt. J. Haemat,* **88:** 866-73
13. Poller L, Triplett DA, Hirsh J, Carroll J, Clarke K (1995) The value of plasma calibrants in correcting coagulometer effects on International Normalised Ratios (INR): an International multicentre study, *Amer. J. Clin. Pathol,* **103:** 358-65
14. Poller L, Triplett DA, Hirsh J, Carroll J, Clarke K (1995) A comparison of lyophilised artificially depleted plasmas and lyophilised plasmas from warfarin treated patients in correcting for coagulometer effects on International Normalised Ratios, *Amer. J. Clin. Pathol,* **103:** 366-71

ISI Calibrant Plasma Set
Istruzioni per l'uso

it

SCOPO PREVISTO

Il kit ISI Calibrant Plasma Set è concepito per l'uso come materiale di calibrazione.

Il set Plasma Calibrante è concepito per semplificare la calibrazione di laboratorio dei valori ISI (International Sensitivity Index) della tromboplastina in caso d'utilizzo di apparecchiature automatizzate per la determinazione del tempo di protrombina. Il Set Plasma Calibrante è previsto per l'utilizzo con tromboplastina di origine umana o di coniglio, la cui performance è stata validata con valori ISI inferiori a 2,00. La calibrazione ISI "locale" di una tromboplastina consente ai laboratori di registrare valori INR (International Normalised Ratio) molto più prossimi al valore INR "reale" apportando correzioni agli effetti del coagulometro sul valore ISI della tromboplastina. Altri benefici derivanti dall'utilizzo del Set Plasma Calibrante sono a) esclusione della necessità di calcolare tempi di PT paralleli utilizzando la tecnica manuale, b) esclusione della necessità di fornitura locale della Preparazione di Riferimento Internazionale e c) esclusione della necessità di disporre di plasma fresco da 60 pazienti a lungo termine in terapia con warfarina. Thomson e colleghi hanno dimostrato anche che si potrebbero utilizzare sia plasmi liofilizzati ottenuti da pazienti in terapia con warfarina che plasmi liofilizzati artificialmente depleti dei fattori di coagulazione warfarina-dipendenti per determinare gli effetti dei coagulometri sul INR[1]. Le attuali linee guida basate su uno studio sull'azione concertata europea sull'anticoagulazione (ECAA) ha indicato che sono necessari un minimo di 7 plasmi normali (INR di ~ 1), e 20 plasmi artificialmente depleti (INR 1,5 - 4,5) per la piena calibrazione ISI[2-3]. Il Set Plasma Calibrante consiste in 20 plasmi artificialmente depleti e 7 plasmi normali liofilizzati che sono calibrati secondo gli standard primari WHO per la tromboplastina umana ricombinata e quella di coniglio. Il valore ISI di una tromboplastina dalla quale sono ottenuti valori INR si basa su una tecnica PT manuale e può essere sostanzialmente modificato dai coagulometri[1,4-9]. L'ISI con "sistema locale" di una tromboplastina è calcolabile confrontando i tempi di PT ottenuti con i plasmi del Set Plasma Calibrante sul sistema tromboplastina / strumento nell'uso di laboratorio con i tempi di PT certificati ottenuti sullo stesso lotto di plasmi, utilizzando la Preparazione di Riferimento Internazionale e la tecnica manuale a provetta inclinabile.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

I reagenti contenuti in questo kit sono destinati esclusivamente alla diagnostica *in vitro* - NON INGERIRE. Indossare un'adeguata 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.

I prodotti ematici sono stati sottoposti a screening e trovati negativi (salvo diversa indicazione sulla confezione del kit o sulla fiala) per la presenza di:
Antigene dell'epatite B (HbsAg)
Anticorpo HIV 1
Anticorpo HIV 2
Anticorpo HCV
Questi prodotti devono tuttavia essere manipolati con le stesse misure precauzionali adottate per un campione paziente umano.

COMPOSIZIONE

Componente	Contiene	Descrizione	Preparazione
ISI Calibrant Plasma	27 x 0,5 mL	27 flaconi singolarmente certificati. Ogni flacone contiene 0,5 mL di plasma umano normale, o di plasma umano normale artificialmente depleto dei fattori della coagulazione, mediante solfato di bario adsorbimento con agenti tampone (HEPES).	Ricostituire ogni plasma contenuto nel set con 0,5 mL esatti di acqua distillata o deionizzata. Lasciare riposare per 10 minuti e miscelare bene prima dell'uso. NON SCUOTERE.
Ogni kit contiene un Istruzioni per l'uso.			
Ogni kit contient un modulo di registrazione dei risultati della calibrazione.			

MATERIALI NECESSARI, MA NON IN DOTAZIONE

1. É possibile utilizzare qualsiasi strumento di coagulazione elettro-meccanico o foto-ottico di alta qualità idoneo per la determinazione dei tempi di protrombina.
2. Dispositivi di pipettamento per la distribuzione di 0,5 mL.
3. 20 campioni freschi di plasma da individui normali di entrambi i sessi con un'ampia fascia d'età per la determinazione del tempo di protrombina normale medio (MNPT) della combinazione strumento/ tromboplastina.
4. Reagente per tromboplastina, preparato in base alle istruzioni del produttore.

CONSERVAZIONE, VITA UTILE E STABILITÀ

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

Component	Stabilità	Segni di Deterioramento
ISI Calibrant Plasma	Dopo la ricostituzione, i plasmi sono stabili per 30 minuti a +15 – +30°C o 4 ore a +2 – +8°C. Si sconsiglia la conservazione per tempi più lunghi di quelli indicati.	I plasmi liofilizzati dovrebbero avere l'aspetto di pellet o parti di pellet secchi, di colore giallo paglierino o pallido. L'impossibilità di ricostituire un liquido omogeneo o la presenza di una contaminazione particellare possono essere indicativi di un deterioramento del prodotto.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Nel corso dell'intera procedura è necessario utilizzare plastica o vetro siliconizzato. 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 minuti[10].

PROCEDURA

IMPORTANTE: NON utilizzare i componenti di questo kit con un kit avente numero di lotto diverso. Ogni partita di Set di ISI Plasma Calibrante è singolarmente certificata.

1. Ricostituire ogni plasma del set seguendo le istruzioni fornite nella sezione "Composizione".
2. Ripetere quattro volte il test del tempo di protrombina su ciascun flacone utilizzando la corretta combinazione di tromboplastina e strumento. Fare riferimento al manuale utente dello strumento appropriato per istruzioni dettagliate oppure contattare Helena Biosciences Europe per le note applicative specifiche dello strumento.
3. Registrare ogni singolo valore di PT allo 0,1 secondi più vicino insieme al valore della media geometrica sulla scheda di calibrazione inclusa in ogni kit. Verificare che il numero completo del lotto di ciascun flacone di plasma sia registrato sulla scheda di calibrazione.
4. Ripetere quattro volte il test del tempo di protrombina su un minimo di 20 plasmi freschi normali come indicato nella sezione "Materiali necessari, ma non in dotazione" e riportare sulla scheda di calibrazione il valore PT ottenuto dalla media geometrica (MNPT) allo 0,1 secondi più vicino. Se è già stato determinato un valore MNPT per il lotto di tromboplastina e lo strumento utilizzati, occorre invece registrare questo valore.
5. Completare i dettagli restanti sulla scheda di calibrazione ed inviare per fax i risultati a Helena Biosciences Europe al numero o indirizzo dato.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Il coefficiente di variazione (CV) tra le 4 ripetizioni del tempo di PT dovrebbe essere <5% per ciascun plasma. Il valore ISI calibrato della tromboplastina utilizzata sullo strumento testato sarà rispedito via fax o e-mail entro 2 giorni lavorativi. L'ISI con "sistema locale" corrisponde al valore dell'inclinazione della linea indicata dall'analisi della regressione ortogonale. Sono accettabili solo le calibrazioni con il CV dell'inclinazione pari al 5% o inferiore. Se il CV dell'inclinazione di calibrazione in base all'analisi della regressione ortogonale è superiore al 5%, l'analisi dovrebbe essere ripetuta dopo aver controllato il MNPT locale. Se il CV dell'inclinazione dell'analisi ripetuta rimane superiore al 5%, si dovrebbe riesaminare la performance della tromboplastina e dello strumento in uso, in quanto condizionano la precisione della calibrazione.

LIMITAZIONI

É importante calibrare tromboplastine di origine umana con valori di preparazioni di riferimento di origine umana e tromboplastine di coniglio con valori di riferimento di preparazioni di coniglio. La mancata garanzia di questa procedura può determinare calibrazioni ISI non precise e un CV dei valori di inclinazione inaccettabile per la calibrazione.

CONTROLLO QUALITÀ

Si consiglia di calibrare l'ISI della tromboplastina del "sistema locale" utilizzando il Set Plasma ISI Calibrante all'atto dell'inserimento di un nuovo numero di lotto della tromboplastina, dopo la manutenzione dello strumento o qualora i valori del controllo qualità non rientrino entro i limiti corretti da garantire una prestazione soddisfacente in corso del sistema.

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. Ciò è particolarmente importante per la calibrazione dell'ISI locale.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

L'affidabilità dei plasmi utilizzati nella produzione del Set Plasma ISI Calibrante è stata valutata in due stadi principali, 1) un'indagine in tutto il Regno Unito degli utilizzatori della tromboplastina[11] del Reagente Manchester e 2) uno studio internazionale[12-14]. Nel secondo studio, trentasette laboratori di USA, Canada, Francia, Germania, Italia e Spagna, facenti uso di undici diversi tipi di tromboplastine commerciali in 95 sistemi di test, hanno prodotto una prova simile e sostanziale del valore dei calibranti nel correggere gli effetti del coagulometro sul INR in una serie di strumenti e reagenti. In questo studio, la deviazione media rispetto ai valori INR "effettivi" di una serie di 10 plasmi ottenuti da pazienti in terapia a lungo termine con warfarina è stata ridotta dal 14,41% (±15,28) all'1,04% (±7,51). Le combinazioni strumento/tromboplastina utilizzate in questo
studio sono riassunte nella tabella che segue:

Strumento	Tromboplastina	Produttore ISI	No. di Sistemi
KoaguLab	RecombiPlasTin	0,99	10
KoaguLab	Ortho Brain Thromboplastin	1,92	10
KoaguLab	Stago, France	1,79-2,04	2
KoaguLab	Thromboplastin C	2,80	1
MLA*	RecombiPlasTin	0,99	10
MLA*	Ortho Brain Thromboplastin	1,92	10
MLA*	Thromboplastin C	2,80	1
MLA*	Innovin	0,96-1,04	3
MLA*	IS, Baxter	#	2
MLA*	Thromboplastin C +	#	2
ACL**	RecombiPlasTin	0,99	13
ACL**	Ortho Brain Thromboplastin	1,92	13
ACL**	ACL	1,41-2,42	3
ACL**	Stago, France	1,79-2,04	1
ACL**	Simplastin XL	#	2
Coag-A-Mate	RecombiPlasTin	0,99	3
Coag-A-Mate	Ortho Brain Thromboplastin	1,92	3
Coag-A-Mate	Stago, France	1,79-2,04	2
Coag-A-Mate	Thrombomat	#	1
Behring BFA	RecombiPlasTin	0,99	1
Behring BFA	Ortho Brain Thromboplastin	1,92	1
Behring BFA	Thromborel S	#	1

* MLA = Medical Laboratory Automation

** ACL = Automated Coagulation Laboratory

L'ISI variava tra 1,07 e 2,00

BIBLIOGRAFIA

1. Thomson JM, Taberner DA, Poller L (1990) Automation and prothrombin time:a United Kingdom field study of two widely used coagulometers, *J. Clin. Pathol,* **43:**679-84
2. Poller L, Barrowcliffe TW, van den Besselaar AMHP, Jespersen J, Tripodi A, Houghton D (1998) European Concerted Action on Anticoagulation. Minimum lyophilised plasma requirement for ISI calibration, *Amer. J. Clin. Pathol*, **109:**196-204
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (2005) Procedures for Validation of INR and Local Calibration of PT/INR Systems: Approved Guidelines, CLSI H54-A, Vol. 25, No.23
4. Poggio, M, van den Besselaar AMPH, van der Velde EA, Bertina RM (1988) The effect of some instruments for prothrombin time testing on the International Sensitivity Index (ISI) of two rabbit tissue thromboplastin reagents, *Thromb. Haemost,* **62:** 868-74
5. D'Angelo A, Seveso MP, D'Angelo SV, *et al* (1989) Comparison of two automated coagulometers and the manual tilt tube method for the determination of prothrombin time, *Am. J. Clin. Pathol,* **92:** 321-8
6. Poller L, Thomson JM, Taberner DA (1989) Effect of automation on the prothrombin time test in NEQAS surveys, *J. Clin. Pathol,* **42:** 97-100
7. van Rijn JLML, Schmidt NA, Rutten W (1989) Correction of instrument and reagent based differences in determination of International Normalised Ratio (INR) for monitoring anticoagulant therapy, *Clin. Chem,* **355:** 840-3
8. Ray MJ, Smith IR (1990) The dependence of the International Sensitivity Index on the coagulometer used to perform the prothrombin time, *Thromb. Haemost,* **63:** 424-9
9. Clarke K, Taberner DA, Thomson JM, Morris JA, Poller L (1992) Assessment of value of calibrated lyophilised plasmas to determine International Sensitivity Index for coagulometers, *J. Clin. Pathol,* **45:** 58-60
10. 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
11. Poller L, Thomson JM, Taberner DA, Clarke DK (1994) The correction of coagulometer effects on INR. A multicentre evaluation, *Brit. J. Haemat,* **86:** 112-7
12. Poller L, Houghton D, Carroll J (1994) The reliability of the MNPT of fresh plasmas and of the normal value from a lyophilised "normal" plasma in prothrombin time ratio determination, *Bnt. J. Haemat,* **88:** 866-73
13. Poller L, Triplett DA, Hirsh J, Carroll J, Clarke K (1995) The value of plasma calibrants in correcting coagulometer effects on International Normalised Ratios (INR): an International multicentre study, *Amer. J. Clin. Pathol,* **103:** 358-65
14. Poller L, Triplett DA, Hirsh J, Carroll J, Clarke K (1995) A comparison of lyophilised artificially depleted plasmas and lyophilised plasmas from warfarin treated patients in correcting for coagulometer effects on International Normalised Ratios, *Amer. J. Clin. Pathol,* **103:** 366-71

ISI Calibrant Plasma Set
Instrucciones de uso

es

USO PREVISTO

El uso previsto del kit ISI Calibrant Plasma Set es como material de calibración.

El set de plasma de calibración está diseñado para simplificar la calibración de laboratorio de los valores del Índice de Sensibilidad Internacional (ISI) de tromboplastina cuando se usa un equipo automatizado para la determinación del tiempo de protrombina. El Set de plasma de calibración está diseñado para uso con tromboplastinas de origen humano o de conejo y su rendimiento se ha validado con ISI de tromboplastina de menos de 2,00. La calibración "local" del ISI de una tromboplastina permite a los laboratorios comunicar valores de Cociente Internacional Normalizado (INR) mucho más próximos al valor "verdadero" de INR corrigiendo para los efectos del coagulómetro sobre el ISI de tromboplastina. Otros beneficios de usar el Set de plasma de calibración son a) eliminar el requisito de hacer tiempos TP paralelos usando la técnica manual, b) no se necesita un suministro local del Preparado de Referencia Internacional y c) no se necesitan los plasmas frescos de 60 pacientes a largo plazo con warfarina "terapéutica". Thomson y colaboradores demostraron también que podían usarse tanto los plasmas liofilizados de pacientes tratados con warfarina como los plasmas liofilizados deplecionados artificialmente de factores de coagulación dependientes de la warfarina para valorar los efectos de los coagulómetros sobre el INR[1]. Las directrices actuales se basan en un estudio de la Acción Europea Concertada sobre Anticoagulación (ECAA) que demostró que se necesita un mínimo de 7 plasmas normales (INR de ~ 1) y 20 plasmas deplecionados artificialmente (INR 1,5 - 4,5) para la calibración plena ISI[2-3]. El Set de Plasma Calibrador de Helena consta de 20 plasmas deplecionados artificialmente y 7 plasmas liofilizados normales que están calibrados frente a los patrones primarios de la OMS para tromboplastina recombinante humana y tromboplastina derivada de conejo. El ISI de una tromboplastina de la que se obtiene el INR se basa en una técnica de TP manual y puede modificarse considerablemente por los coagulómetros[1,4-9]. El ISI del "sistema local" de una tromboplastina puede calcularse comparando los tiempos TP obtenidos para los plasmas del Set de calibración del plasma en la tromboplastina / sistema instrumental en uso en el laboratorio con los tiempos de TP certificados obtenidos en el mismo lote de plasmas usando el Preparado de Referencia Internacional y la técnica manual de tubo inclinado.

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.

La sangre se ha sometido a pruebas que han resultado negativas (a menos que se indique lo contrario en la caja del kit o en el vial) de la presencia de:
Antígeno de la hepatitis B (HbsAg)
Anticuerpos del VIH 1
Anticuerpos del VIH 2
Anticuerpos del VHC
Sin embargo, deben manipularse con las mismas precauciones que una muestra de un paciente.

COMPOSICIÓN

Componente	Contiene	Descripción	Preparación
ISI Calibrant Plasma	27 x 0,5 mL	27 viales certificados individualmente. Cada vial contiene 0,5 mL de plasma humano normal o de plasma humano normal deplecionado artificialmente de factores de coagulación mediante adsorción con sulfato de bario con agentes tamponadores (HEPES).	Reconstituir cada plasma del set con exactamente 0,5 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.			
Cada kit contiene un impreso de informe de los resultados de calibración.			

ARTÍCULOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

1. Puede usarse cualquier instrumento de coagulación electromecánico o foto-óptico de alta calidad apropiado para determinar los tiempos de protrombina.
2. Dispositivo de pipeteado para administrar 0,5 mL.
3. 20 muestras de plasma fresco de individuos normales de ambos sexos con una extensión de edad amplia para la determinación de la media geométrica del tiempo de protrombina normal (TPNM) de la combinación instrumento/tromboplastina.
4. Reactivo de tromboplastina, elaborado de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

ALMACENAMIENTO, CADUCIDAD Y ESTABILIDAD

Los viales 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.

Componente	Estabilidad	Signos de Deterioro
ISI Calibrant Plasma	Una vez reconstituidos, los plasmas son estables durante 30 minutos a +15 – +30°C o 4 horas a +2 – +8°C. No se recomienda un almacenamiento superior a este tiempo.	Los plasmas liofilizados deben ser tacos o trozos de tacos secos, de color paja o amarillo pálido. Si no se reconstituye formando un líquido homogéneo o si hay contaminación particulada puede indicar deterioro del producto.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Debe usarse siempre plástico o vidrio siliconizado. 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. Descongelar rápidamente a +37°C antes de realizar la prueba. No conservar a +37°C durante más de 5 minutos[10].

PROCEDIMIENTO

IMPORTANTE: NO usar los componentes de este kit con ningún otro kit con otro número de lote. Cada lote de Sets de plasma de ISI calibración está certificado individualmente.

1. Reconstituir cada plasma del set como se indica en la sección "Composición".
2. Realizar cuatro pruebas repetidas del tiempo de protrombina en cada vial usando la combinación adecuada de tromboplastina e instrumento. 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.
3. Registrar cada valor de TP individual en la décima de segundo más próxima junto con el valor de la media geométrica de la Hoja de Calibración incluida con cada kit. Comprobar que el número de lote entero de cada vial de plasma se registra en la Hoja de Calibración.
4. Realizar pruebas de tiempo de protrombina por cuadruplicado en un mínimo de 20 plasmas frescos normales como se indica en la sección "Artículos necesarios no suministrados" y comunicar el valor de la media geométrica del TP (TPNM) en la décima de segundo más próxima en la Hoja de Calibración. Si ya se ha determinado el valor de TPNM para el lote de tromboplastina y el instrumento en uso, comunique en su lugar este valor.
5. Rellenar los datos restantes en la Hoja de Calibración y enviar por fax los resultados a Helena Biosciences Europa en el número que se le da.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El coeficiente de variación (CV) entre los 4 tiempos de TP replicados debe ser <5% para cada plasma. El valor de ISI calibrado para la tromboplastina usada en el instrumento probado se devolverá por fax o correo electrónico en 2 días laborables. El ISI del "Sistema Local" es el valor de la pendiente de la línea indicado por análisis de regresión ortogonal. Sólo son aceptables las calibraciones en las que el CV de la pendiente es del 5% o menor. Si el CV de la pendiente de calibración después de un análisis de regresión ortogonal es mayor del 5%, el análisis debe repetirse después de que se haya comprobado el TPNM local. Si el CV de la pendiente en el análisis repetido sigue siendo mayor del 5%, debe revisarse el rendimiento de la tromboplastina y el instrumento usados porque afectan a la precisión de la calibración.

LIMITACIONES

Es importante calibrar las tromboplastinas de origen humano con valores de Preparación de Referencia Humana y tromboplastinas de origen de conejo con valores de Preparación de Referencia de Conejo. Si no se asegura esto, podrían producirse calibraciones inexactas del ISI y un CV inaceptable de los valores de la pendiente para la calibración.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda calibrar el ISI del "sistema local" de la tromboplastina usando el Set de calibración de plasma con la introducción de un nuevo número de lote de tromboplastina, después de las reparaciones del instrumento o si los valores de control de calidad caen fuera de los límites adecuados para asegurar un rendimiento continuado satisfactorio del sistema.

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 su propio intervalo normal. Esto es especialmente importante para la calibración local del ISI.

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

Se ha evaluado la fiabilidad de los plasmas usados en la fabricación del Set de ISI calibración de plasma en dos estudios importantes, 1) un estudio nacional en el Reino Unido de usuarios de la tromboplastina Reactivo Manchester[11] y 2) un estudio internacional[12-14]. En el último estudio, treinta y siete laboratorios de EEUU, Canadá, Francia, Alemania, Italia y España, usando once tipos de tromboplastinas comerciales en 95 sistemas de prueba, produjeron pruebas sustantivas similares del valor de los calibrantes para corregir los efectos del coagulómetro sobre el INR en una serie de instrumentos y reactivos. En este estudio, la desviación media respecto del "verdadero" INR para una serie de 10 plasmas de pacientes con warfarina a largo plazo se redujo del 14,41% (±15,28) to 1,04% (±7,51). Las combinaciones de instrumento / tromboplastina usadas en
este estudio se resumen en la tabla siguiente:

Instrumento	Thromboplastina	ISI del Fabricante	No. de Sistemas
KoaguLab	RecombiPlasTin	0,99	10
KoaguLab	Ortho Brain Thromboplastin	1,92	10
KoaguLab	Stago, France	1,79-2,04	2
KoaguLab	Thromboplastin C	2,80	1
MLA*	RecombiPlasTin	0,99	10
MLA*	Ortho Brain Thromboplastin	1,92	10
MLA*	Thromboplastin C	2,80	1
MLA*	Innovin	0,96-1,04	3
MLA*	IS, Baxter	#	2
MLA*	Thromboplastin C +	#	2
ACL**	RecombiPlasTin	0,99	13
ACL**	Ortho Brain Thromboplastin	1,92	13
ACL**	ACL	1,41-2,42	3
ACL**	Stago, France	1,79-2,04	1
ACL**	Simplastin XL	#	2
Coag-A-Mate	RecombiPlasTin	0,99	3
Coag-A-Mate	Ortho Brain Thromboplastin	1,92	3
Coag-A-Mate	Stago, France	1,79-2,04	2
Coag-A-Mate	Thrombomat	#	1
Behring BFA	RecombiPlasTin	0,99	1
Behring BFA	Ortho Brain Thromboplastin	1,92	1
Behring BFA	Thromborel S	#	1

* MLA = Medical Laboratory Automation

** ACL = Automated Coagulation Laboratory

El ISI osciló entre 1,07-2,00

BIBLIOGRAFÍA

1. Thomson JM, Taberner DA, Poller L (1990) Automation and prothrombin time:a United Kingdom field study of two widely used coagulometers, *J. Clin. Pathol,* **43:**679-84
2. Poller L, Barrowcliffe TW, van den Besselaar AMHP, Jespersen J, Tripodi A, Houghton D (1998) European Concerted Action on Anticoagulation. Minimum lyophilised plasma requirement for ISI calibration, *Amer. J. Clin. Pathol*, **109:**196-204
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (2005) Procedures for Validation of INR and Local Calibration of PT/INR Systems: Approved Guidelines, CLSI H54-A, Vol. 25, No.23
4. Poggio, M, van den Besselaar AMPH, van der Velde EA, Bertina RM (1988) The effect of some instruments for prothrombin time testing on the International Sensitivity Index (ISI) of two rabbit tissue thromboplastin reagents, *Thromb. Haemost,* **62:** 868-74
5. D'Angelo A, Seveso MP, D'Angelo SV, *et al* (1989) Comparison of two automated coagulometers and the manual tilt tube method for the determination of prothrombin time, *Am. J. Clin. Pathol,* **92:** 321-8
6. Poller L, Thomson JM, Taberner DA (1989) Effect of automation on the prothrombin time test in NEQAS surveys, *J. Clin. Pathol,* **42:** 97-100
7. van Rijn JLML, Schmidt NA, Rutten W (1989) Correction of instrument and reagent based differences in determination of International Normalised Ratio (INR) for monitoring anticoagulant therapy, *Clin. Chem,* **355:** 840-3
8. Ray MJ, Smith IR (1990) The dependence of the International Sensitivity Index on the coagulometer used to perform the prothrombin time, *Thromb. Haemost,* **63:** 424-9
9. Clarke K, Taberner DA, Thomson JM, Morris JA, Poller L (1992) Assessment of value of calibrated lyophilised plasmas to determine International Sensitivity Index for coagulometers, *J. Clin. Pathol,* **45:** 58-60
10. 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
11. Poller L, Thomson JM, Taberner DA, Clarke DK (1994) The correction of coagulometer effects on INR. A multicentre evaluation, *Brit. J. Haemat,* **86:** 112-7
12. Poller L, Houghton D, Carroll J (1994) The reliability of the MNPT of fresh plasmas and of the normal value from a lyophilised "normal" plasma in prothrombin time ratio determination, *Bnt. J. Haemat,* **88:** 866-73
13. Poller L, Triplett DA, Hirsh J, Carroll J, Clarke K (1995) The value of plasma calibrants in correcting coagulometer effects on International Normalised Ratios (INR): an International multicentre study, *Amer. J. Clin. Pathol,* **103:** 358-65
14. Poller L, Triplett DA, Hirsh J, Carroll J, Clarke K (1995) A comparison of lyophilised artificially depleted plasmas and lyophilised plasmas from warfarin treated patients in correcting for coagulometer effects on International Normalised Ratios, *Amer. J. Clin. Pathol,* **103:** 366-71

Калибратор МИЧ
инструкция

ru

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплект ISI Calibrant Plasma Set предназначен для использования в качестве материала для калибровки.

Калибратор МИЧ (ISI Calibrant Plasma Set) предназначен для упрощения калибровки значений международного индекса чувствительности (МИЧ) тромбопластина при использовании автоматического оборудования для определения протромбинового времени. Калибратор МИЧ предназначен для использования с тромбопластином человека или кролика, его эффективность оценивалась при МИЧ тромбопластина менее 2,00. Локальная калибровка МИЧ тромбопластина дает возможность лабораториям регистрировать значения международного нормализованного отношения (МНО) намного ближе к «правильному» значению МНО путем применения к МИЧ тромбопластина поправки на эффект коагулометра. Калибратор МИЧ обеспечивает и другие преимущества: а) он устраняет требование параллельного выполнения тестов протромбинового времени с использованием ручного метода; b) не требуется локальная поставка международного эталонного препарата и c) не требуется свежая плазма 60-ти хронических больных, получавших лечение варфарином. Томсон (Thomson) и коллеги также показали, что и лиофилизированная плазма крови пациентов, получавших лечение варфарином, и лиофилизированная плазма, искусственно извлеченная из варфарин-зависимых факторов свертывания крови, могут применяться для оценки воздействия коагулометров на МНО[1]. Настоящие рекомендации, основанные на исследовании в рамках Европейских согласованных исследований антикоагуляции (ЕСИА), показывают, что для полной МИЧ-калибровки[2-3] требуется как минимум 7 образцов нормальной плазмы (МНО ~1) и 20 образцов искусственно извлеченной плазмы (МНО 1.5-4.5). В калибратор МИЧ входит 20 образцов искусственно извлеченной плазмы и 7 образцов нормальной лиофилизированной плазмы, калиброванных в соответствии с первичными стандартами ВОЗ по человеческому рекомбинантному и кроличьему тромбопластину. МИЧ тромбопластина, на основе которого выводится МНО, основан на применении ручного метода выполнения тестов протромбинового времени и может в значительной степени корректироваться эффектом коагулометра[1,4-9]. В локальной системе МИЧ тромбопластина можно рассчитать путем сравнения результатов теста «протромбиновое время», полученных для плазм МИЧ-калибратора в системе проведения анализов на измерение тромбопластина, при лабораторном использовании с сертифицированными тест-системами «протромбиновое время», при условии использования одной и той же партии плазм, международного эталонного препарата и применения ручного метода наклона пробирки (tilt-tube method).

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.

Препараты крови были подвергнуты скринингу и показали отрицательный результат (если на коробке, в которую упакован комплект или на пробирке не указано иное) на:
Антиген к гепатиту B (HbsAg)
Антитела к ВИЧ 1
Антитела к ВИЧ 2
Антитела к вирусу гепатита С (HCV)
Тем не менее с ними следует обращаться, соблюдая те же меры предосторожности, что и при обращении с образцом, полученным от человека.

СОСТАВ

Компонент	Содержание набора	Описание	Подготовка
Калибратор МИЧ	27 x 0,5 мл	27 отдельно сертифицированных флаконов. В каждом флаконе содержится либо 0,5 мл нормальной плазмы крови человека, либо нормальной плазмы крови человека, искусственно извлеченной из факторов свёртывания крови путем адсорбции сульфата бария буферным веществом (N-2-гидрокси-этилпиперазин-№2-этансульфоновая кислота).	Восстановите каждый образец плазмы из набора путем добавления ровно 0,5 мл дистиллированной или деионизированной воды. Дайте постоять 10 минут и хорошо перемешайте перед применением. НЕ ВЗБАЛТЫВАТЬ.
Для каждого набора имеется инструкция по применению.			
В каждом наборе имеется форма отчета о результатах калибровки.			

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

1. Может использоваться любой высококачественный электромеханический или фотооптический прибор для коагуляции, пригодный для определения протромбинового времени.
2. Устройство пипетирования для подачи 0,5 мл.
3. 20 свежих образцов плазмы, полученных от нормальных особей обоих полов с широким возрастным диапазоном, для определения среднего геометрического расчетного протромбинового времени (времени Квика) (ГРПВ) для комплекса прибор/ тромбопластин.
4. Реагент тромбопластина, приготовленный в соответствии с инструкцией производителя.

ХРАНЕНИЕ, СРОК ГОДНОСТИ И УСТОЙЧИВОСТЬ

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

Компонент	Стабильность	Признаки порчи
Калибратор МИЧ	Восстановленные образцы плазмы остаются стабильными в течение 30 минут при температуре +15 – +30°C или 4 часа при температуре +2 – +8°C. Не рекомендуется хранить дольше указанного времени.	Лиофилизированная плазма должна быть сухой, иметь форму гранул или кусочков гранул цвета соломы или бледно-желтого цвета. Невозможность восстановления до однородной жидкости или наличие дисперсного загрязнения может быть признаком порчи продукта.

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 -20°C или 6 месяцев при -70°C. Перед проведением исследования быстро разморозьте плазму при +37°C. Не храните плазму при +37°C дольше 5 минут[10].

ПРОЦЕДУРА

ВАЖНО: НЕ ИСПОЛЬЗУЙТЕ компоненты этого набора с компонентами из партии с другим номером. Каждая партия калибратора МИЧ сертифицирована отдельно.

1. Восстановите каждый образец плазмы из набора в соответствии с инструкциями, изложенными в разделе «Состав».
2. С каждым флаконом выполните четыре параллельных анализа на определение протромбинового времени, используя соответствующий комплекс прибор/ тромбопластин. За подробными инструкциями обратитесь к руководству для оператора соответствующего прибора или свяжитесь с компанией Helena Biosciences Europe по поводу получения инструкций по эксплуатации конкретного устройства.
3. Каждое отдельное значение протромбинового времени, округленное до 0,1 сек., а также среднее геометрическое значение запишите в калибровочную карту, которая есть в каждом наборе. Убедитесь, что в калибровочную карту записан полный номер партии каждого флакона с плазмой.
4. Выполните четыре одинаковых анализа на определение протромбинового времени, как минимум, с 20 свежими образцами нормальной плазмы в соответствии с инструкцией, изложенной в разделе «Требуемые, но не предоставленные материалы», и запишите среднее геометрическое значение протромбинового времени (ГРПВ), округленное до 0,1 сек., в калибровочную карту. Если среднее геометрическое значение протромбинового времени уже было определено для партии тромбопластина и используемого прибора, то запишите эти результаты вместо результатов, получаемых в соответствии с п. 4 выше.
5. Укажите остальную подробную информацию в калибровочной карте и отправьте по факсу или электронной почте в компанию Helena Biosciences Europe по указанному номеру или адресу.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Коэффициент вариаций (CV) результатов четырех параллельных анализов на определение протромбинового времени для каждого образца плазмы должен быть <5%. Калиброванное значение МИЧ тромбопластина, используемого в тестируемом приборе, будет отправлено обратно по факсу или электронной почте не позднее, чем через два рабочих дня. МИЧ локальной системы – это значение наклона линии, определенное с помощью анализа ортогональной регрессии. Приемлема только та калибровка, где коэффициент вариаций наклона составляет 5% или ниже. Если коэффициент вариаций наклона больше 5%, необходимо проверить локальное среднее геометрическое значение протромбинового времени и повторить анализ. Если и после повторного анализа коэффициент вариаций наклона больше 5%, необходимо проверить характеристики используемого тромбопластина и прибора, т.к. они влияют на точность калибровки.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Важно калибровать образцы человеческого тробмопластина по значениям человеческого эталонного препарата, а кроличий тромбопластин – по значениям кроличьего эталонного препарата. Невыполнение этого условия может привести к неточной калибровке МИЧ и неприемлемым значениям коэффициента вариаций значений наклона при калибровке.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Чтобы обеспечить постоянную удовлетворительную работу системы, калибровку МИЧ тромбопластина локальной системы с помощью калибратора МИЧ рекомендуется выполнять при начале работы с новой партией тромбопластина, после обслуживания прибора или в случае, когда значения контроля качества выходят за рамки установленных пределов.

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. Это особенно важно для локальной калибровки МИЧ.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Надежность образцов анормальной плазмы, применяемых при изготовлении калибратора МИЧ, оценивалась в ходе двух важных исследований: 1) национальное комплексное исследование пользователей реагента тромбопластина в Манчестере[11] (Великобритания) 2) международные исследования[12-14]. В последнем исследовании тридцать семь лабораторий из США, Канады, Франции, Германии, Италии и Испании, используя одиннадцать типов образцов промышленно изготавливаемого тромбопластина в 95 тест-системах, представили аналогичные (относящееся к существу дела) доказательства того, что для конкретной группы приборов и реактивов к значениям калибратора необходимо применять поправку на воздействие коагулометра на МНО. В этом исследовании среднее отклонение от «правильного» значения МНО в группе из 10 образцов плазмы, полученных от хронических больных, принимавших варфарин, было снижено с 14,41% (± 15,28) до 1,04% (± 7,51). Информация о комплексах прибор/ тромбопластин, использовавшихся в ходе этих исследований, обощена в следующей таблице:

Инструмент	Тромбопластин	Производитель МИЧ	Количество систем
KoaguLab	РекомбиПласТин (RecombiPlasTin)	0,99	10
KoaguLab	Тромбопластин компании Ortho Brain	1,92	10
KoaguLab	Стаго (Stago), Франция	1,79-2,04	2
KoaguLab	Тромбопластин С	2,80	1
MLA*	РекомбиПласТин (RecombiPlasTin)	0,99	10
MLA*	Тромбопластин компании Ortho Brain	1,92	10
MLA*	Тромбопластин С	2,80	1
MLA*	Инновин (Innovin)	0,96-1,04	3
MLA*	IS, компании Baxter	#	2
MLA*	Тромбопластин С +	#	2
ACL**	РекомбиПласТин (RecombiPlasTin)	0,99	13
ACL**	Тромбопластин компании Ortho Brain	1,92	13
ACL**	ACL	1,41-2,42	3
ACL**	Стаго (Stago), Франция	1,79-2,04	1
ACL**	Симпластин XL (Simplastin XL)	#	2
Coag-A-Mate	РекомбиПласТин (RecombiPlasTin)	0,99	3
Coag-A-Mate	Тромбопластин компании Ortho Brain	1,92	3
Coag-A-Mate	Стаго (Stago), Франция	1,79-2,04	2
Coag-A-Mate	Тромбомат (Thrombomat)	#	1
Behring BFA	РекомбиПласТин (RecombiPlasTin)	0,99	1
Behring BFA	Тромбопластин компании Ortho Brain	1,92	1
Behring BFA	Тромборел S (Thromborel S)	#	1

* MLA = Автоматизация медицинских лабораторий

** ACL = Автоматизированная коагуляционная лаборатория

Диапазон МИЧ от 1,07 до 2,00

ЛИТЕРАТУРА

1. Thomson JM, Taberner DA, Poller L (1990) Automation and prothrombin time:a United Kingdom field study of two widely used coagulometers, *J. Clin. Pathol,* **43:**679-84
2. Poller L, Barrowcliffe TW, van den Besselaar AMHP, Jespersen J, Tripodi A, Houghton D (1998) European Concerted Action on Anticoagulation. Minimum lyophilised plasma requirement for ISI calibration, *Amer. J. Clin. Pathol*, **109:**196-204
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (2005) Procedures for Validation of INR and Local Calibration of PT/INR Systems: Approved Guidelines, CLSI H54-A, Vol. 25, No.23
4. Poggio, M, van den Besselaar AMPH, van der Velde EA, Bertina RM (1988) The effect of some instruments for prothrombin time testing on the International Sensitivity Index (ISI) of two rabbit tissue thromboplastin reagents, *Thromb. Haemost,* **62:** 868-74
5. D'Angelo A, Seveso MP, D'Angelo SV, *et al* (1989) Comparison of two automated coagulometers and the manual tilt tube method for the determination of prothrombin time, *Am. J. Clin. Pathol,* **92:** 321-8
6. Poller L, Thomson JM, Taberner DA (1989) Effect of automation on the prothrombin time test in NEQAS surveys, *J. Clin. Pathol,* **42:** 97-100
7. van Rijn JLML, Schmidt NA, Rutten W (1989) Correction of instrument and reagent based differences in determination of International Normalised Ratio (INR) for monitoring anticoagulant therapy, *Clin. Chem,* **355:** 840-3
8. Ray MJ, Smith IR (1990) The dependence of the International Sensitivity Index on the coagulometer used to perform the prothrombin time, *Thromb. Haemost,* **63:** 424-9
9. Clarke K, Taberner DA, Thomson JM, Morris JA, Poller L (1992) Assessment of value of calibrated lyophilised plasmas to determine International Sensitivity Index for coagulometers, *J. Clin. Pathol,* **45:** 58-60
10. 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
11. Poller L, Thomson JM, Taberner DA, Clarke DK (1994) The correction of coagulometer effects on INR. A multicentre evaluation, *Brit. J. Haemat,* **86:** 112-7
12. Poller L, Houghton D, Carroll J (1994) The reliability of the MNPT of fresh plasmas and of the normal value from a lyophilised "normal" plasma in prothrombin time ratio determination, *Bnt. J. Haemat,* **88:** 866-73
13. Poller L, Triplett DA, Hirsh J, Carroll J, Clarke K (1995) The value of plasma calibrants in correcting coagulometer effects on International Normalised Ratios (INR): an International multicentre study, *Amer. J. Clin. Pathol,* **103:** 358-65
14. Poller L, Triplett DA, Hirsh J, Carroll J, Clarke K (1995) A comparison of lyophilised artificially depleted plasmas and lyophilised plasmas from warfarin treated patients in correcting for coagulometer effects on International Normalised Ratios, *Amer. J. Clin. Pathol,* **103:** 366-71