



REF 5485

 	
	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-2-0722P 2016/01 (8)

DRVVT Confirm Instructions for use	en
INTENDED PURPOSE	
The DRVVT Confirm 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 Confirm kit is intended for the qualitative confirmation of LA in human plasma. The reagent is designed to be used in conjunction with the DRVVT Screen Kit (REF 5484) to discriminate between LA, factor deficiencies (II, V or X) or other inhibitors. If the clot time of the patient samples with the DRVVT Screen procedure are greater than 3 standard deviations above the mean of the normal range and are not corrected by mixing studies, a lupus anticoagulant may be present. Under these circumstances, samples should be re-tested using the DRVVT Confirm Reagent.

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 Confirm	10 x 1 mL	Each vial contains a proprietary mixture of Russell’s Viper Venom co-lyophilised with calcium chloride and concentrated phospholipid.	Reconstitute each vial with 1 mL of distilled / 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 5484 DRVVT Screen

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 -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.
- Pipeter 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 Confirm reagent and start a timer.
- Measure the clot formation time to the nearest 0.1 seconds.
- Calculate the normalised ‘DRVVT Confirm’ ratio as:

Patient DRVVT Confirm Clot Time / Mean Normal DRVVT Confirm 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 patient samples with suspected LA (by DRVVT Screen testing) have a DRVVT Confirm clot time less than 3 SDs from the mean normal clot time for this kit, LA is strongly indicated. Mixing studies would also give normal clot times in this situation. Samples with an abnormal DRVVT Screen clot time and abnormal DRVVT Confirm clot time which are both normalised by mixing studies are most likely factor deficient (II, V or X). Samples with abnormal DRVVT Screen clot time and abnormal DRVVT Confirm clot time in which only the DRVVT Confirm clot time is normalised in mixing studies suggests LA plus factor deficiency. Samples with abnormal DRVVT Screen clot time and abnormal DRVVT Confirm clot time which are not corrected by mixing studies indicate other inhibitors. The results of DRVVT Screen and DRVVT Confirm testing when expressed as the ‘normalised’ ratio can also be used to indicate the level of LA present:

(DRVVT Screen Ratio)/(DRVVT Confirm Ratio) > 2.0 Strong LA
(DRVVT Screen Ratio)/(DRVVT Confirm Ratio) 1.5 - 2.0 Moderate LA
(DRVVT Screen Ratio)/(DRVVT Confirm Ratio) 1.2 - 1.5 Weak LA

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 Confirm test was 32.4 ± 6.0 seconds (range 26.4-38.4 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 Confirm Fiche technique	fr
---	-----------

UTILISATION

Le kit DRVVT Confirm 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 activé (TCA).

Le kit de confirmation DRVVT Helena Biosciences est utilisé pour la confirmation qualitative des LA dans le plasma humain. Le réactif, utilisé conjointement avec le test de dépistage DRVVT (REF 5484), sert à faire la différence entre la présence de LA et l'existence de déficits en facteurs de coagulation (II, V ou X) ou d'autres inhibiteurs. Si le temps de coagulation de l'échantillon patient déterminé par le protocole Dépistage DRVVT est supérieur à la moyenne de la plage normale de plus de 3 écarts-types et qu'il n'est pas corrigé dans le test du plasma mélangé, il est possible que des anticoagulants lupiques soient présents. Dans ce cas, il est nécessaire de tester à nouveau l'échantillon à l'aide du réactif de confirmation DRVVT.

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.

COMPOSITION

Composant	Contient	Description	Préparation
DRVVT Confirm	10 x 1 mL	Chaque flacon contient un mélange exclusif de venin de vipère Russell co-lyophilisé avec du chlorure de calcium et des phospholipides concentrés.	Reconstituer chaque flacon en ajoutant 1 mL d'eau distillée ou déionisée. 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 5484 DRVVT Screen

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 *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 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 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 recentrifuger 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 Confirm 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 DRVVT Confirm de la manière suivante :

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

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 un échantillon patient dont la présence de LA est suspectée (suite au test de DRVVT Screen) donne un temps de coagulation avec le réactif de DRVVT Confirm se situant dans la plage normale (temps de coagulation moyen ± 3 écarts types), la présence de LA est fort probable. L'analyse du plasma mélangé doit aussi donner un temps de coagulation normal dans cette situation. Les échantillons présentant un temps de coagulation anormal avec le réactif de DRVVT Screen et avec celui de DRVVT Confirm et normal avec le plasma mélangé ont probablement un déficit en un facteur (II, V ou X). Si un échantillon donne un temps de coagulation anormal avec le réactif de DRVVT Screen et avec celui de DRVVT confirm et normal avec le plasma mélangé uniquement avec réactif de DRVVT confirm, cela suggère une présence de LA plus un déficit en un facteur. Si un échantillon donne un temps de coagulation anormal avec le réactif de DRVVT Screen et avec celui de DRVVT Confirm et que ce temps de coagulation n'est pas corrigé dans le plasma mélangé, cela indique la présence d'autres inhibiteurs qui ne sont pas corrigés par le mélange.

Les résultats des tests de DRVVT Screen et de DRVVT confirm, lorsqu'ils sont exprimés sous la forme d'un rapport normalisé, peuvent aussi servir à indiquer le taux de LA présents:

(Rapport Dépistage DRVVT)/(Rapport Confirmation DRVVT) > 2,0 Taux élevé de LA
(Rapport Dépistage DRVVT)/(Rapport Confirmation DRVVT) 1,5 - 2,0 Taux modéré de LA
(Rapport Dépistage DRVVT)/(Rapport Confirmation DRVVT) 1,2 - 1,5 Taux faible de LA

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 les 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 Confirm est de 32,4 ± 6,0 secondes (soit 26,4-38,4 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 Confirm Anleitung	de
-----------------------------------	-----------

VERWENDUNGSZWECK

Das DRVVT Confirm-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-Bestätigungs-Kit ist für die qualitative Bestätigung von LA im humanen Plasma bestimmt. Das Reagenz ist so konzipiert, daaktivierten partiellen Thromboplastinzeit ss es in Verbindung mit dem DRVVT Screening-Test (REF 5484) zwischen LA, Faktormangel (II, V oder X) oder anderen Hemmfaktoren unterscheidet. Ist die Gerinnungszeit von Patientenproben mit dem DRVVT Screening-Test höher als 3 Standardabweichungen über dem Mittelwert des Normalbereichs und die nicht durch verschiedene Untersuchungen zu korrigieren ist, kann ein Lupus Antikoagulant anwesend sein. Die Proben sollten unter diesen Umständen mit dem DRVVT-Bestätigungs-Reagenz noch mal getestet werden.

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 Vorbeugeklärungen in der Produktsicherheitserklärung. Entsorgen Sie die Komponenten gemäß den örtlichen Vorschriften.

ZUSAMMENSETZUNG

Komponente	Inhalt	Beschreibung	Vorbereitung
DRVVT Confirm	10 x 1 mL	Jedes Fläschchen enthält ein gesetzlich geschütztes Gemisch von „Russell’s Viper Venom“ zusammen mit Calciumchlorid und konzentriertes Phospholipid lyophilisiert.	Jedes Fläschchen mit 1 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 5484 DRVVT Screen

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 Confirm -20°C 2 Wochen stabil. Das Reagenz sollte in Plastikröhrchen eingefroren und vor Gebrauch bei *37°C aufgetaut werden.

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 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 Confirm-Reagenz zufügen und Stoppuhr starten.
- Die Zeit bis zur Gerinnseilbildung bis auf 0,1 Sekunden genau stoppen.
- Berechnen Sie den normalisierten Referenzwert DRVVT Confirm als:

DRVVT Confirm-Gerinnungszeit des Patienten / Mittlere normale Gerinnungszeit DRVVT Confirm

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 der Mischtests können genauso behandelt werden. Hat die Patientenprobe mit dem Verdacht auf LA (durch DRVVT-Suchtest) bei der DRVVT-Bestätigung eine Gerinnungszeit von unter 3 unter dem Mittelwert des Normalbereichs für dieses Kit, so weist das stark auf LA hin. Mischtests würden in diesem Fall auch normale Gerinnungszeiten ergeben. Proben mit einer abnormalen Gerinnungszeit im DRVVT Screening und in der DRVVT-Bestätigung, die beide durch Mischtests normalisiert wurden, haben sehr wahrscheinlich einen Faktormangel (II, V oder X). Proben mit abnormaler Gerinnungszeit im DRVVT Screening und in der DRVVT-Bestätigung, wo nur die DRVVT-Bestätigung in Mischtests normalisiert wurde, weist auf LA und einem Faktormangel hin. Proben mit einer abnormalen Gerinnungszeit im DRVVT Screening und in der DRVVT-Bestätigung, die beide nicht durch Mischtests normalisiert wurden, weisen auf andere Hemmfaktoren hin.

Die Ergebnisse von DRVVT Screening und DRVVT-Bestätigungs-Tests können, ausgedrückt als „normalisierter“ Quotient, auch die Höhe der anwesenden LA anzeigen:

(DRVVT Screening Quotient)/(DRVVT-Bestätigungs-Quotient)	> 2,0	Starker LA
(DRVVT Screening Quotient)/(DRVVT-Bestätigungs-Quotient)	1,5 - 2,0	Mäßig hoher LA
(DRVVT Screening Quotient)/(DRVVT-Bestätigungs-Quotient)	1,2 - 1,5	Schwacher LA

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 hervorufen, wenn das Plasma unverdünnt 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 Confirm-Test bestimmte Referenzbereich (Mittelwert ± 3-s) lag bei 32,4 ± 6,0 Sekunden (Bereich 26,4-38,4 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 Confirm <div>Istruzioni per l'uso</div>	it
--	-----------

SCOPO PREVISTO

Il kit DRVVT Confirm 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, trombosi 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 Confirm di Helena Biosciences Europe è stato formulato per la conferma qualitativa dei LA nel plasma umano. Il reagente è stato studiato per essere utilizzato in combinazione con il test DRVVT Screen (REF 5484), per discriminare tra LA, carenze di fattori (II, V o X) o altri inibitori. Se il tempo di coagulazione dei campioni dei pazienti ottenuto con la procedura DRVVT Screen è superiore a 3 deviazioni standard oltre la media del range normale e non viene corretto con studi di miscelazione, può essere presente un lupus anticoagulante. In tali circostanze, i campioni devono essere testati nuovamente utilizzando il reagente DRVVT Confirm.

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.

COMPOSIZIONE

Componente	Contiene	Descrizione	Preparazione
DRVVT Confirm	10 x 1 mL	Ogni flacone contiene una miscela esclusiva di veleno di vipera di Russell coliofilizzato con calcio cloruro e fosfolipidi concentrati.	Ricostituire ogni flacone con 1 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 5484 DRVVT Screen

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 Confirm 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 silconizzato. 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. Scongelare 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 Confirm preiscaldato ed azionare un timer.
- Rilevare il tempo di formazione del coagulo con un'approssimazione di 0,1 secondi.
- Calcolare il rapporto DRVVT Confirm normalizzato come:

Tempo di coagulazione DRVVT Confirm paziente / Tempo di coagulazione DRVVT Confirm 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 i campioni dei pazienti con sospetto LA (individuo mediante il test DRVVT Screen) presentano un tempo di coagulazione DRVVT Confirm inferiore a 3 DS rispetto al tempo di coagulazione normale medio relativo a questo kit, vi sono segni evidenti della presenza di LA. In questa situazione anche gli studi di miscelazione fornirebbero tempi di coagulazione normali. I campioni con tempo di coagulazione DRVVT Screen anomalo e tempo di coagulazione DRVVT Confirm anomalo, che vengono entrambi normalizzati da studi di miscelazione, sono molto probabilmente carenti di fattori (II, V o X). I campioni con tempo di coagulazione DRVVT Screen anomalo e tempo di coagulazione DRVVT Confirm anomalo, in cui soltanto il tempo di coagulazione DRVVT Confirm viene normalizzato in studi di miscelazione, suggeriscono la presenza di LA e di una carenza di fattori. I campioni con tempo di coagulazione DRVVT Screen anomalo e tempo di coagulazione DRVVT Confirm anomalo, che non vengono corretti da studi di miscelazione, indicano la presenza di altri inibitori.

I risultati dei test DRVVT Screen e DRVVT Confirm, se espressi sotto forma di rapporto "normalizzato", possono essere utilizzati anche per indicare il livello di LA presente:

(Rapporto DRVVT Screen)/(Rapporto DRVVT Confirm)	> 2,0	LA forte
(Rapporto DRVVT Screen)/(Rapporto DRVVT Confirm)	1,5 - 2,0	LA modesto
(Rapporto DRVVT Screen)/(Rapporto DRVVT Confirm)	1,2 - 1,5	LA debole

LIMITAZIONI

Le carenze plasmatiche dei fattori II, V o X possono portare a risultati anormali 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 Confirm è pari a 32,4 ± 6,0 secondi (range di 26,4-38,4 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 Confirm <div>Istrucciones de uso</div>	es
---	-----------

USO PREVISTO

El uso previsto del kit DRVVT Confirm 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, os tiempos de tromboplastina parcial activada (TPPA). El kit DRVVT Confirm de Helena Biosciences Europe tiene por objeto confirmar cualitativamente la presencia de AL en el plasma humano. El reactivo está concebido para utilizarse junto con el test DRVVT Screen (REF 5484) para distinguir entre AL, deficiencias de factores (II, V o X) u otros inhibidores. Si el tiempo de coagulación de las muestras del paciente con el procedimiento DRVVT Screen supera más de 3 desviaciones estándar por encima del intervalo normal y no se corrige mediante estudios de mezcla, es posible que exista anticoagulante lúpico. En estas circunstancias, deben volver a realizarse las pruebas sobre las muestras utilizando el reactivo DRVVT Confirm.

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 Confirm	10 x 1 mL	Cada vial contiene una mezcla patentada de veneno de víbora de Russell co-liofilizado con cloruro cálcico y fosfolípidos concentrados.	Reconstituir cada vial con 1 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 5484 DRVVT Screen

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 Confirm Los viales reconstituidos permanecen establ *15 –*30°C es 24 horas a , 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 silconizado. 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. Scongelar 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 Confirm 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 Confirm normalizada del siguiente modo:

Tempo de coagulación de DRVVT Confirm / Tempo de coagulación de DRVVT Confirm 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 las muestras de paciente con sospecha de AL (por pruebas de DRVVT Screen) tienen un tiempo de coagulación de DRVVT Confirm inferior a 3 desviaciones estándar del tiempo medio de coagulación normal para este kit, se indica claramente la presencia de AL. Estudios de mezcla también proporcionarían tiempos de coagulación normales en esta situación. Es muy probable que las muestras con un tiempo de coagulación DRVVT Screen anormal y tiempo de coagulación DRVVT Confirm anormal, normalizados ambos mediante estudios de mezcla, sean deficitarias en factores (II, V o X). Las muestras con tiempo de coagulación DRVVT Screen anormal y tiempo de coagulación DRVVT Confirm anormal, en las que sólo se ha normalizado el tiempo de coagulación DRVVT Confirm mediante estudios de mezcla, sugieren AL más una deficiencia en factores. Las muestras con tiempo de coagulación DRVVT Screen anormal y tiempo de coagulación DRVVT Confirm anormal, que no se han normalizado mediante estudios de mezcla, indican otros inhibidores.

Los resultados de las pruebas DRVVT Screen y DRVVT Confirm, si se expresan como relación "normalizada", se pueden utilizar también para indicar el nivel de AL presentes:

(Relación DRVVT Screen)/(Relación DRVVT Confirm)	> 2,0	AL fuerte
(Relación DRVVT Screen)/(Relación DRVVT Confirm)	1,5 - 2,0	AL moderado
(Relación DRVVT Screen)/(Relación DRVVT Confirm)	1,2 - 1,5	AL débil

LIMITACIONES

Las deficiencias de plasma en factores II, V o X pueden conllevar 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 Confirm fue 32,4 ± 6,0 segundos (intervalo 26,4-38,4 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 «Подтверждение на волчаночные антикоагулянты» <div>инструкция</div>	ru
---	-----------

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплект «Подтверждение 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 повторная 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 (aPTT). Тест-система «Подтверждение на волчаночные антикоагулянты» компании Helena Biosciences Europe предназначена для количественного подтверждения наличия ВА в плазме крови человека.

Тест-система «Подтверждение на волчаночные антикоагулянты» компании Helena Biosciences Europe предназначена для количественного подтверждения наличия ВА в плазме крови человека. Реагент предназначен для использования вместе с Тест-системой «Скрининг на волчаночные антикоагулянты» (Кат. № 5484) для различения ВА, дефицита факторов (II, V или X) или иных ингибиторов. Если время образования сгустка в образце плазмы крови пациента во время скрининга на ВА превышает 3 стандартных отклонения выше среднего значения нормального диапазона и не корректируется путем смешанных исследований, вероятно, в образцах присутствует волчаночный антикоагулант. При таких обстоятельствах образцы должны исследоваться повторно с помощью реагента тест-системы «Подтверждение на волчаночные антикоагулянты».

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Содержащиеся в данном наборе реагенты предназначены только для *in vitro* диагностики– НЕ ПРИИНИМАТЬ 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 «Подтверждение на волчаночные антикоагулянты»	10 x 1 мл	В каждом флаконе содержится патентованная смесь яда гадюки Рассела, леофлизированная вместе с хлоридом кальция и концентрированным фосфолипидом.	Восстановите каждый флакон путем добавления 1 мл дистиллированной / 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:

Кат. № 5484 Тест-система «Скрининг на волчаночные антикоагулянты»

ХРАНЕНИЕ, СРОК ГОДНОСТИ И УСТОЙЧИВОСТЬ

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

Тест-система «Подтверждение 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 centrifугирования при 1500 x g 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 минут¹. В случае замораживания рекомендуется дважды centrifугировать образец, чтобы обеспечить обеднение тромбоцитами. После первого centrifугирования переместите плазму в неактивирующую пластиковую пробирку с помощью пластиковой пипетки, затем повторно centrifугируйте плазму в течение 10 минут на более высокой скорости (>2500 x g). 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 контрольного образца плазмы или образца плазмы пациента в пробирку для реакций. Инкубируйте 2 минуты при температуре *37°C.
- Добавьте 0,2 мл предварительно нагретого реагента из тест-системы «Подтверждение на волчаночные антикоагулянты» и включите таймер.
- Измерьте время образования сгустков с округлением до 0,1 секунды.
- Расчитайте нормализованное отношение «Подтверждения на ВА» следующим образом:

Время образования сгустков в плазме крови / Среднее нормальное время образования пациента при подтверждении на ВА Сгустков при подтверждении 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 различие между образцами с положительным низким ВА и нормальными образцами. Результаты исследования со смешиванием могут рассматриваться таким же образом.

Если при Подтверждении на ВА время образования сгустка в образце плазмы крови пациента с подозрением на наличие ВА (обнаружение в ходе Скрининга на ВА) меньше, чем 3 стандартных отклонения от среднего нормального времени образования сгустка (для данного набора), это – явный признак ВА. В такой ситуации исследования со смешиванием могут показать нормальное время образования сгустка. Образцы, показавшие не соответствующее норме время образования сгустка при Скрининге на ВА и не соответствующее норме время образования сгустка при Подтверждении на ВА, нормализованные с помощью исследований со смешиванием, вероятно всемо дефицитны по фактору (II, V или X). Если образцы показали не соответствующее норме время образования сгустка при Скрининге на ВА и аномальное время образования сгустка при Подтверждении на ВА, и с помощью исследований со смешиванием нормализовалось только время образования сгустка при Подтверждении на ВА, это наводит на мысль о плюс фактор-дефиците ВА. Если образцы показали не соответствующее норме время образования сгустка при Скрининге на ВА и не соответствующее норме время образования сгустка при Подтверждении на ВА, и не были нормализованы с помощью исследований со смешиванием, это является признаком присутствия других ингибиторов. Результаты Скрининга на ВА и Подтверждения на ВА, выраженные как нормализованное отношение, можно также использовать для обозначения уровня наличия ВА:

(Отношение в скрининге на ВА)/(Отношение в подтверждении на ВА)	> 2,0	Высокий ВА
(Отношение в скрининге на ВА)/(Отношение в подтверждении на ВА)	1,5 - 2,0	Умеренный ВА
(Отношение в скрининге на ВА)/(Отношение в подтверждении на ВА)	1,2 - 1,5	Низкий ВА

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 ед./мл), оральные антикоагулянты, диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС-синдром) – могут давать патологические результаты, если исследуется чистая (неразбавленная) плазма, причем эти образцы могут не поддаваться корректированию в исследованиях со смешиванием. Необходимо удалить из плазмы остаточные тромбоциты путем фильтрации или centrifугирования, 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 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 недействительными. Компания Helena Biosciences Europe поставляет следующие контрольные образцы, используемые с данным продуктом:

Кат. № 5486	Положительный контроль на волчаночные антикоагулянты
Кат. № 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 «Подтверждение на волчаночные антикоагулянты», составил 32,4 ± 6,0 секунд (диапазон 26,4-38,4 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