

PRINCIPIO

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, trombosispiegiate e disordini neurologici. Gli LA prolungano i test di coagulazione fosfolipidi-dipendenti in vitro, come l'APTT.

Il kit DRVVT-Confirm di Helena BioSciences è stato formulato per la conferma qualitativa dei lupus anticoagulanti (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.

La maggiore concentrazione di fosfolipidi è destinata a neutralizzare gli LA.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

I reagenti contenuti in questo kit sono destinati esclusivamente alla diagnostica in vitro - **NON INGERIRE**. Indossare guanti protettivi durante l'uso dei componenti del kit. Per le indicazioni relative ai rischi e alla sicurezza e le informazioni sullo smaltimento, fare riferimento alle schede tecniche dei prodotti.

COMPOSIZIONE

1. Reagente DRVVT-Confirm (10 x 1ml)

Ogni flacone contiene una miscela esclusiva di veleno di vipera di Russell coliofilizzato con calcio cloruro e fosfolipidi concentrati.

Preparazione: Ricostituire ogni flacone con 1ml di acqua distillata / deionizzata. Lasciare riposare per 10 minuti e miscelare accuratamente prima dell'uso (non scuotere).

2. Altri componenti del kit

Ogni kit contiene un foglio procedurale.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

1. Reagente DRVVT-Confirm

I flaconi non aperti sono stabili fino alla data di scadenza indicata se conservati nelle condizioni riportate sul flacone o sull'etichetta del kit. I flaconi ricostituiti sono stabili per 24 ore a 15...30°C, 5 giorni a 2...6°C o 2 settimane a -20°C, AC-4 Pos 38 @ 37°C = 24hrs.

Il reagente deve essere congelato in provette di prova in plastica e scongelato a 37°C prima dell'uso.

MATERIALI NECESSARI MA NON IN DOTAZIONE

REF. 5484 Kit DRVVT-Screen 10 x 2ml

REF. 5499 Plasma normale (ad es. Norm-Trol 1) 10 x 3ml

REF. 5186 Plasma normale (ad es. Norm-Trol 1) 10 x 1ml

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 2000xg - 3000xg per 15 minuti. Le piastrine residue devono essere rimosse per filtrazione mediante un filtro monosudo da 0,22mm oppure per ricentrifugazione.

Il plasma deve essere conservato a 2...6°C. I test devono essere completati entro 2 ore dalla raccolta dei campioni; in alternativa, il plasma può essere conservato congelato a -20°C per 2 settimane o a -70°C per un mese. Scongelare rapidamente a 37°C prima di eseguire i test. Non conservare a 37°C per oltre 5 minuti.

PROCEDURA

1. Metodi automatici, AC4. (x130 campioni)

Fare riferimento al manuale utente dello AC-4 appropriato per conoscere le istruzioni dettagliate

START =11s	METHOD =Coag	MIX=0	PATIENT (Pat) vol=75µL pos=36 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=0µL
INCUB =0s	MATH =lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0µL	R1 Vol=0µL
RUNTIME =240s	SENS =2	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0µL	R2 Vol=75µL Pos=38(DRVVT -Confirm)

2. Metodo manuale

- Preiscaldare a 37°C una quantità sufficiente di reagente ricostituito.
- Pipettare 0,2ml di plasma del paziente o di controllo in una provetta di reazione. Incubare a 37°C per 2 minuti.
- Aggiungere 0,2ml di reagente DRVVT-Confirm preriscaldato ed azionare un timer.
- Rilevare il tempo di formazione del coagulo con un'approssimazione di 0,1 secondi.
- Calcolare il rapporto:
 - Tempo di coagulazione DRVVT-Confirm paziente
 - Tempo di coagulazione DRVVT-Confirm Norm-Trol 1

3. Metodi automatici

Il test DRVVT-Confirm può essere eseguito sulla maggior parte degli strumenti automatici. Lo strumento deve essere programmato in modo tale da erogare volumi equivalenti di plasma e di reagente; sia il plasma che il reagente devono essere preriscaldati a 37°C per almeno 2 minuti prima della miscelazione. I tubi e i reservoir utilizzati per il reagente devono essere lavati a fondo e puliti prima di eseguire altri test cromogenici o di coagulazione. Fare riferimento al manuale utente dello strumento appropriato per conoscere le istruzioni dettagliate.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I risultati vengono espressi in modo ottimale sotto forma di rapporto relativo ai tempi di coagulazione ottenuti con Norm-Trol 1. Entrambi i risultati delle procedure DRVVT-Screen e DRVVT-Confirm possono essere "normalizzati" in questo modo, riducendo l'effetto della variabilità dello strumento e le differenze tra lotti di reagenti. I risultati dei test di miscelazione possono essere trattati allo stesso modo.

Se i campioni dei pazienti con sospetto LA (individuato 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 anormale e tempo di coagulazione DRVVT-Confirm anormale, 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 anormale e tempo di coagulazione DRVVT-Confirm anormale, 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 anormale e tempo di coagulazione DRVVT-Confirm anormale, 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

DRVVT-Screen		DRVVT-Confirm		
Paziente Non diluito	Paziente + Normale	Paziente Non diluito	Paziente + Normale	
Normale	Normale	Normale	Normale	Normale
Anormale	Anormale	Normale	Normale	LA presente
Anormale	Normale	Anormale	Normale	Carente di fattori
Anormale	Anormale	Anormale	Normale	LA + Carente di fattori
Anormale	Anormale	Anormale	Anormale	Altro inibitore

VALORI DI RIFERIMENTO

I valori di riferimento possono variare da un laboratorio all'altro in funzione delle tecniche e dei sistemi in uso. Per tale motivo ciascun laboratorio dovrà elaborare un proprio range normale.

Il range di riferimento normale (media ± 3 DS) determinato da Helena BioSciences per il test DRVVT-Confirm è pari a 32,4 ± 6,0 secondi (range di 26,4-38,4 secondi).

LIMITAZIONI

Il plasma proveniente da pazienti e contenente gli elementi indicati di seguito può fornire risultati anomali quando viene testato non diluito e questi campioni potrebbero non correggersi negli studi di miscelazione:eparina (>1U/ml), anticoagulanti orali. 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 plasmis di controllo normali e anomali 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 mette a disposizione i seguenti controlli utilizzabili con questo prodotto:

REF 5486 Controllo positivo DRVVT 1 x 1ml

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Le caratteristiche prestazionali sotto riportate sono state determinate da Helena BioSciences o dai propri rappresentanti a titolo di linee guida. Ciascun laboratorio dovrà pertanto elaborare i propri dati prestazionali. I CV entro la serie e tra le serie si prevedono <5%.

BIBLIOGRAFIA

- National Committee for the National Laboratory (NCCLS) Standards: Collection transport and preparation of blood specimens for coagulation testing and performance of coagulation assays. Document H21-A2, vol. 11, No. 23, 1991.

USO PREVISTO

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 inexplicable y desórdenes neurológicos. Los AL prolongan las valoraciones de coagulación in vitro dependientes de fosfolípidos como, por ejemplo, TTPA.

El kit DRVVT-Confirm de Helena BioSciences tiene por objeto confirmar cualitativamente la presencia de anticoagulantes lúdicos (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. El objeto de una concentración mayor de fosfolípidos es neutralizar los AL.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Los reactivos contenidos en este kit son sólo para uso diagnóstico – **NO SE DEBEN INGERIR**. Usar guantes para manejar todos los componentes del kit. Consultar la hoja con los datos de seguridad del producto acerca de los riesgos de los componentes, avisos de seguridad y consejos para su eliminación.

COMPOSICIÓN

1. Reactivo DRVVT Confirm (10 x 1ml)

Cada vial contiene una mezcla patentada de veneno de víbora de Russell coliofilizado con cloruro cálcico y fosfolípidos concentrados.

Preparación: Reconstituir cada vial con 1ml de agua destilada o desionizada. Dejar reposar durante 10 minutos y mezclar bien antes de usar (no agitar).

2. Otros componentes del kit

Cada kit contiene instrucciones de uso.

ALMACENAMIENTO Y PERÍODO DE VALIDEZ

1. Reagente DRVVT-Confirm

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.

Los viales reconstituidos permanecen estables 24 horas a 15...30°C, 5 días a 2...6°C ó 2 semanas a -20°C, AC-4 Pos 38 @ 37°C = 24hrs. Debe congelarse el reactivo en tubos de prueba de plástico y descongelarse a 37°C antes de usarse.

ARTÍCULOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

REF. 5484 Kit DRVVT-Screen 10 x 2ml

REF. 5499 Plasma normal (por ejemplo, Norm-Trol 1) 10 x 3ml

REF. 5186 Plasma normal (por ejemplo, Norm-Trol 1) 10 x 1ml

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE 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). Se separa el plasma después de la centrifugación a 2000xg - 3000xg durante 15 minutos. Deben eliminarse las plaquetas residuales, ya sea filtrándolas por un filtro desechable de 0,22mm o centrifugándolas de nuevo.

El plasma debe conservarse a 2...6°C. Las pruebas deberían terminarse en 2 horas desde la recogida de las muestras o el plasma puede conservarse congelado a -20°C durante 2 semanas o a -70°C durante un mes. Scongelar rápidamente a 37°C antes de realizar la prueba. No conservar a 37°C durante más de 5 minutos.

PROCEDIMIENTO PASO A PASO

1. Métodos automatizados, AC-4. (x130 muestras)

Consúltese el Manual del Operador del AC-4 adecuado para instrucciones detalladas.

START =11s	METHOD =Coag	MIX=0	PATIENT (Pat) vol=75µL pos=36 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=0µL
INCUB =0s	MATH =lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0µL	R1 Vol=0µL
RUNTIME =240s	SENS =2	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0µL	R2 Vol=75µL Pos=38(DRVVT -Confirm)

2. Método manual

- Precalentar suficiente reactivo reconstituido a 37°C.
- Pipetear 0,2ml de plasma del paciente o plasma control en un tubo de reacción. Incubar a 37°C durante 2 minutos.
- Añadir 0,2ml 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.
- Calcular la relación:
 - Tempo de coagulación de DRVVT-Confirm
 - Tempo de coagulación de DRVVT-Confirm de Norm-Trol 1

3. Métodos automatizados

La prueba DRVVT-Confirm puede realizarse en la mayoría de los instrumentos automatizados. Debe programarse el instrumento para obtener el mismo volumen de plasma y de reactivo. Debe precalentarse tanto la muestra como el reactivo a 37°C durante al menos 2 minutos antes de mezclarlos. Deben enjuagarse y limpiarse bien los recipientes y tubos de reactivo antes de realizar cualquier otra prueba cromógena o de coagulación. Consultar el Manual del Operador adecuado para obtener instrucciones detalladas.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Se expresan mejor los resultados estableciendo una relación con los tiempos de coagulación obtenidos en Norm-Trol 1.

Se pueden "normalizar" de este modo tanto los resultados DRVVT-Screen y DRVVT-Confirm, reduciendo así el efecto de la variabilidad del instrumento y las diferencias entre lotes de reactivos. 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

DRVVT-Screen		DRVVT-Confirm		
Paciente sin diluir	Paciente + Normal	Paciente sin diluir	Paciente + Normal	
Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Anormal	Anormal	Normal	Normal	Existe AL
Anormal	Normal	Anormal	Normal	Deficitario en factores
Anormal	Anormal	Anormal	Normal	AL + Def. en factores
Anormal	Anormal	Anormal	Anormal	Otro inhibidor

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.

El intervalo normal de referencia (media ± 3 desviaciones estándar) establecido en Helena BioSciences para la prueba DRVVT-Confirm fue 32,4 ± 6,0 segundos (intervalo 26,4-38,4 segundos).

LIMITACIONES

El plasma de pacientes que presente lo siguiente puede dar resultados anormales cuando el plasma se prube sin diluir y estas muestras no se pueden corregir mediante estudios de mezcla: heparina (>1 U/ml), anticoagulantes orales.

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 plasmas de control 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 suministra los siguientes controles disponibles para usar con este producto:

REF 5486 Control positivo DRVVT 1 x 1ml

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

Las siguientes características de rendimiento han sido determinadas por Helena BioSciences o sus representantes como guía. Cada laboratorio debe establecer sus propios datos de rendimiento. Se espera que los CV dentro de cada prueba y entre pruebas sean <5%.

BIBLIOGRAFIA

- National Committee for the National Laboratory (NCCLS) Standards: Collection transport and preparation of blood specimens for coagulation testing and performance of coagulation assays. Document H21-A2, vol. 11, No. 23, 1991.

DRVVT Confirm Reagent

Instructions for use

REF 5485 (10 × 1ml)

Réactif de confirmation DRVVT
Fiche technique

DRVVT Bestätigungs-Reagenz
Anleitung

Reagente DRVVT-Confirm
Istruzioni per l'uso

Reactivo DRVVT Confirm
Instrucciones de uso

Helena Biosciences Europe
Queensway South
Team Valley Trading Estate
Gateshead
Tyne and Wear
NE11 0SD
Tel. +44 (0)191 482 8440
Fax +44 (0)191 482 8442
Email info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

HL-2-0722P 2008/06 (5)