

PCA Ratio Kit

Instructions For Use

REF 5546

Kit Ratio D'APC

Fiche technique

PCA-Ratio-Kit

Anleitung

Kit PCA Ratio

Istruzioni per l'uso

Kit de determinación del cociente del PCA

Instrucciones de uso

Contents

English	1
Français	5
Deutsch	9
Italiano	13
Español	17



INTENDED PURPOSE

The Helena BioSciences PCA Ratio Kit is to be used for the detection of APC resistance (factor V Leiden defect).

APC resistance can be measured by the APC ratio of an APTT with the addition of preformed activated protein C divided by the ordinary APTT¹, where ratios above 2.2 indicate normality and ratios below 2.2 indicate the factor V Leiden mutation. PC in the presence of PS may be activated to APC endogenously by PCA contained in a venom fraction from the snake Agkistrodon Contortrix Contortrix. The PCA ratio is similarly obtained by dividing the PCA.APTT by the ordinary APTT². When the patient sample is diluted in factor V depleted plasma, vitamin K dependent factors, intrinsic factors and PC and PS are all normalised. Thus PCA may be used instead of APC, and the PCA ratio becomes a definitive test for APC resistance^{3,4} because APC is generated normally by endogenous PC and PS in the factor V depleted plasma. In the test, plasma is diluted 1/5 in factor V depleted plasma. This is then incubated with an APTT reagent with and without added PCA and the clotting times determined by the addition of CaCl₂. The clotting time ratio of PCA.APTT/ordinary APTT is then determined.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

The reagents contained in this kit are for in-vitro diagnostic use only - **DO NOT INGEST**. Wear gloves when handling all kit components. Refer to the product safety data sheet for risk and safety phrases and disposal information. Plasma 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 and 2 antibody and HCV antibody; however should be handled with the same precautions as a human plasma sample.

COMPOSITION**1. 25mM Calcium Chloride in Saline**

Each vial contains 8ml of 25mM Calcium Chloride in Saline. The solution is ready for use as packaged.

2. PCA.APTT Reagent

Each vial contains lyophilised PCA.APTT reagent. Reconstitute with 2.0ml purified water. Allow to stand for 20 minutes and mix well before use.

3. APTT Reagent

Each vial contains lyophilised APTT reagent. Reconstitute with 2.0ml purified water. Allow to stand for 20 minutes and mix well before use.

4. Factor V Depleted Plasma

Each vial contains lyophilised Factor V Depleted Plasma. Reconstitute with 2.0ml purified water. Allow to stand for 20 minutes and mix well before use.

5. APC Resistant Plasma

The vial contains lyophilised APC Resistant Plasma. Reconstitute with 0.5ml purified water. Allow to stand for 20 minutes and mix well before use.

6. Other kit components

Each kit contains Instructions For Use.

STORAGE AND SHELF-LIFE

1. 25mM Calcium Chloride in Saline

Calcium Chloride should be stored at 2...6°C, and is stable until the expiry date indicated on the label. AC-4 POS 26 @37°C = 6hrs.

2. PCA.APTT Reagent

Unreconstituted PCA.APTT Reagent should be stored at 2...6°C, and is stable until the expiry date indicated on the label. Reconstituted PCA.APTT Reagent is stable for 2 weeks at 2...6°C. AC-4 POS 32 @15°C = 6hrs.

3. APTT Reagent

Unreconstituted APTT Reagent should be stored at 2...6°C, and is stable until the expiry date indicated on the label. Reconstituted APTT Reagent is stable for 2 weeks at 2...6°C. AC-4 POS 31 @15°C = 6hrs.

4. Factor V Depleted Plasma

Unreconstituted Factor V Depleted Plasma should be stored at 2...6°C, and is stable until the expiry date indicated on the label. Reconstituted Factor V Depleted Plasma should be discarded after use, or can be frozen at -20°C and thawed once.

5. APC Resistant Plasma

Unreconstituted APC Resistant Plasma should be stored at 2...6°C, and is stable until the expiry date indicated on the label. Reconstituted APC Resistant Plasma can be frozen and thawed.

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 2000xg for 10 minutes. Plasma should be kept at 2...6°C. Testing should be completed within 2 hours of sample collection, or plasma can be stored frozen at -20°C for 2 weeks or -70°C for one month. Thaw quickly at 37°C prior to testing. Do not keep at 37°C for more than 5 minutes.

STEP BY STEP PROCEDURE

It is recommended that tests be performed in duplicate.

a) Manual method

1. Prepare duplicate tubes containing 20µl of sample and 80µl of factor V depleted plasma.
2. To one tube add 100µl of APTT reagent and to the duplicate tube 100µl of PCA.APTT reagent.
3. Incubate both tubes for 5 minutes at 37°C.
4. Add 100µl of 25mM CaCl₂/saline to both tubes and record the clotting times.
5. Calculate the PCA.APTT/APTT clotting time ratio.

b) Automated Methods, AC-4. (5546 x80 samples)

Refer to the appropriate AC-4 Operators Manual for detailed instructions.
Prepare all reagents as instructed under 'composition'.

-APC

START=15s	METHOD=Coag	MIX=YES	PATIENT (Pat) vol=10µL pos=36 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=40µL Pos=33
INCUB=300s	MATH=lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0µL Pos=0	R1 (APTT) Vol=50µL Pos=31
RUNTIME=300s	SENS=3	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0µL	R2 (CaCl ₂) Vol=50µL Pos=26

APCR

START=15s	METHOD=Coag	MIX=YES	PATIENT (Pat) vol=10 μ L pos=36 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=40 μ L Pos=33
INCUB=300s	MATH=lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0 μ L Pos=0	R1 (PCA.APTT) Vol=50 μ L Pos=32
RUNTIME=300s	SENS=3	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0 μ L	R2 (CaCl ₂) Vol=50 μ L Pos=26

INTERPRETATION OF RESULTS

In a study by the tilt-tube manual method, the PCA ratio kit was shown to have a much greater discrimination between normal plasma samples, factor V Leiden samples and samples from patients on oral anticoagulant therapy than the method employing exogenous APC². Similar results were obtained in the study by Morse and Standen⁵ and in the MDA evaluation study⁶. The method can be used for patients on oral anticoagulant therapy, in patients with high factor VIII levels (during pregnancy), in stored samples with low factor VIII levels and in patients with PC and PS defects. It will also dilute out the effects of lupus anticoagulants and heparin. The main advantage of PCA over preformed APC is the much greater discrimination observed between normal and APC resistant samples (see Performance Characteristics). PCA is also much more stable than APC.

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.

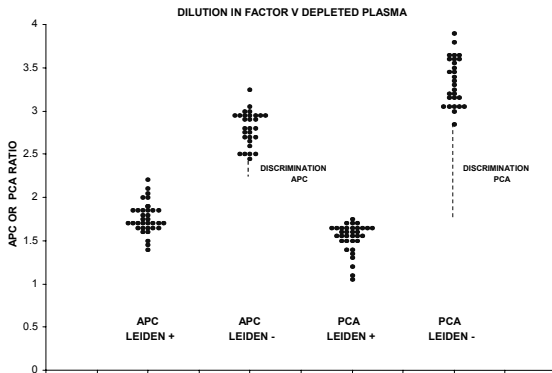
APC Resistant Plasma is supplied as an abnormal control with this kit.

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 normal range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The following performance characteristics have been determined by Helena BioSciences or their representatives as a guideline. Each laboratory should establish its own performance data.



BIBLIOGRAPHY

1. Dahlback B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognised mechanism characterised by a poor anticoagulant response to activated Protein C. *Proc Natl Sci* 1993;90:1104-08.
2. Denson KWE, Reed SV, Haddon ME, Davidson S, Littlewood TJ. A more discriminating test for APC resistance and a possible screening test to include Protein C and Protein S. *Thromb Res* 1996;81:151-156.
3. Jorquera JL, Montoro JM, Fernandez MA, Aznar J. Modified test for activated Protein C resistance. *Lancet* 1994;334:1162-3.
4. Denson KWE, Reed SV, Haddon ME. The modified APC resistance test. *Thromb Haemost* 1995;74:995.
5. Morse C, Standen G. Specificity of clotting tests for factor V Leiden. *Brit J Haemat* 1996;95:432.
6. Gardiner C, Mackie IJ, Machin SJ, Cooper P, Malia RG, Makris M. 1999. MDA Evaluation Report No 00064 HMSO.

UTILISATION

Le kit Ratio d'APC (activation de la protéine C) Helena BioSciences est destiné à détecter la résistance à la protéine C activée ou PCa (anomalie du facteur V de Leiden).

Il est possible de mesurer la résistance à la PCa grâce au ratio d'APC d'un APTT, auquel on a ajouté de la protéine C activée préformée, divisé par le APTT ordinaire¹ ; les rapports supérieurs à 2,2 indiquent la normale et ceux inférieurs à 2,2 indiquent une mutation du facteur V de Leiden. La protéine C (PC), en présence de protéine S (PS), peut être activée en PCa de façon endogène par l'activateur de la protéine C contenu dans la fraction de venin provenant du serpent Agkistrodon Contortrix Contortrix. Le ratio d'APC est obtenu de façon similaire en divisant le PCA.APTT par le APTT ordinaire². Quand l'échantillon patient est dilué dans du plasma déficient en facteur V, les facteurs vitamine K dépendants, les facteurs de la voie intrinsèque, la PC et la PS sont tous normalisés. Par conséquent, il est possible d'utiliser l'APC au lieu de la PCa, et le ratio d'APC devient le test de référence pour la résistance à la PCa^{3,4} car la PCa est générée normalement par la PC et la PS endogènes dans le plasma déficient en facteur V. Dans l'analyse, le plasma est dilué au 1/5 dans du plasma déficient en facteur V. Le mélange est ensuite incubé avec un réactif de APTT, avec et sans ajout de l'activateur de la PC, puis les temps de coagulation sont déterminés par l'ajout de CaCl₂. Le ratio des temps de coagulation PCA.APTT/APTT est alors déterminé.

PRÉCAUTIONS

Les réactifs du kit sont à usage diagnostique in vitro. **NE PAS INGÉRER.** Porter des gants pour la manipulation de tous les composants. Se reporter aux fiches de sécurité des composants du kit pour la manipulation et l'élimination. Un dépistage des produits à base de plasma a été réalisé et a donné un résultat négatif (sauf indication contraire sur la boîte du kit ou sur le flacon) pour les antigènes de l'hépatite B (AgHBs), les anticorps anti VIH 1 et 2 et les anticorps anti VHC ; il est malgré tout nécessaire de les manipuler avec les mêmes précautions que pour les échantillons de plasma humain.

COMPOSITION**1. Chlorure de calcium à 25 mM en solution physiologique**

Chaque flacon contient 8 ml de chlorure de calcium à 25 mM en solution physiologique. La solution est prête à l'emploi.

2. Réactif de PCA.APTT

Chaque flacon contient du réactif de PCA.APTT lyophilisé. Reconstituer en ajoutant 2,0 ml d'eau distillée. Laisser reposer 20 minutes et bien mélanger avant utilisation.

3. Réactif de APTT

Chaque flacon contient du réactif de APTT lyophilisé. Reconstituer en ajoutant 2,0 ml d'eau distillée. Laisser reposer 20 minutes et bien mélanger avant utilisation.

4. Plasma déficient en facteur V

Chaque flacon contient du plasma déficient en facteur V lyophilisé. Reconstituer en ajoutant 2,0 ml d'eau distillée. Laisser reposer 20 minutes et bien mélanger avant utilisation.

5. Plasma résistant à la PCa

Le flacon contient du plasma résistant à la PCa lyophilisé. Reconstituer en ajoutant 0,5 ml d'eau distillée. Laisser reposer 20 minutes et bien mélanger avant utilisation.

6. Autres composants du kit

Chaque kit contient une fiche technique.

STOCKAGE ET CONSERVATION

1. Chlorure de calcium à 25 mM en solution physiologique

La solution de chlorure de calcium doit être conservée entre 2...6°C ; elle est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. AC-4 POS 26 @37°C = 6hrs.

2. Réactif de PCA.APTT

Le réactif de PCA.APTT non reconstitué doit être conservé entre 2...6°C ; il est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Une fois reconstitué, il est stable 2 semaines entre 2...6°C. AC-4 POS 32 @15°C = 6hrs.

3. Réactif de APTT

Le réactif de APTT non reconstitué doit être conservé entre 2...6°C ; il est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Une fois reconstitué, il est stable 2 semaines entre 2...6°C. AC-4 POS 31 @15°C = 6hrs.

4. Plasma déficient en facteur V

Le plasma déficient en facteur V non reconstitué doit être conservé entre 2...6°C ; il est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Une fois reconstitué, il doit être soit jeté après utilisation, soit congelé à -20 °C puis décongelé une seule fois.

5. Plasma résistant à la PCa

Le plasma résistant à la PCa non reconstitué doit être conservé entre 2...6°C ; il est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Une fois reconstitué, il est possible de le congeler et de le décongeler.

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

Utiliser tout au long du prélèvement du plastique ou du verre silicé. Mélanger 9 volumes de sang et 1 volume de citrate de sodium à 3,2% ou 3,8%. Séparer le plasma après centrifugation à 2000 x g pendant 10 minutes. Conserver le plasma entre 2...6°C. L'analyse doit être terminée dans les 2 heures suivant le prélèvement de l'échantillon ; sinon, il est possible de congeler le plasma 2 semaines à -20 °C ou un mois à -70 °C. Décongeler rapidement à 37 °C avant de réaliser l'analyse. Ne pas laisser à 37 °C plus de 5 minutes.

MÉTHODOLOGIE

Il est recommandé de réaliser les analyses en double.

a) Méthode manuelle

1. Préparer des tubes en double contenant 20 µl d'échantillon et 80 µl de plasma déficient en facteur V.
2. Pipeter 100 µl de réactif de APTT dans un tube et pipeter 100 µl de réactif de PCA.APTT dans le tube dupliqué correspondant.
3. Incuber les deux tubes pendant 5 minutes à 37 °C.
4. Pipeter 100 µl de solution de CaCl₂ à 25 mM dans chacun des deux tubes puis relever le temps de coagulation.
5. Calculer le ratio des temps de coagulation PCA.APTT/APTT.

b) Méthodes automatisées, AC-4. (5546 x80 échantillons)

Se conformer au manuel d'utilisation de AC-4 correspondant pour avoir des instructions détaillées. Préparer tous les réactifs en suivant les indications du paragraphe Composition

-APC

START=15s	METHOD=Coag	MIX=YES	PATIENT (Pat) vol=10 μ L pos=36 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=40 μ L Pos=33
INCUB=300s	MATH=lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0 μ L Pos=0	R1 (APTT) Vol=50 μ L Pos=31
RUNTIME=300s	SENS=3	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0 μ L	R2 (CaCl ₂) Vol=50 μ L Pos=26

APCR

START=15s	METHOD=Coag	MIX=YES	PATIENT (Pat) vol=10 μ L pos=36 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=40 μ L Pos=33
INCUB=300s	MATH=lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0 μ L Pos=0	R1 (PCA.APTT) Vol=50 μ L Pos=32
RUNTIME=300s	SENS=3	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0 μ L	R2 (CaCl ₂) Vol=50 μ L Pos=26

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Dans une étude utilisant la technique manuelle du tube incliné, le kit de ratio d'APC a montré qu'il offre une meilleure différenciation entre les échantillons de plasma normal, les échantillons ayant la mutation du facteur V de Leiden et les échantillons des patients sous anticoagulants oraux que la méthode utilisant de la PCa exogène². Des résultats similaires ont été obtenus dans l'étude de Morse et de Standen⁵ et dans l'étude d'évaluation de la MDA⁶. La méthode peut être utilisée avec des patients sous anticoagulants oraux, avec des patients ayant une concentration élevée en facteur VIII (au cours de la grossesse), avec des échantillons conservés ayant une concentration faible en facteur VIII et avec des patients ayant des défauts de PC et de PS. Elle amenuise aussi les effets des lupus anticoagulants et de l'héparine. L'avantage principal de l'APC par rapport à la PCa préformée est qu'elle offre une meilleure différenciation entre les échantillons normaux et les échantillons résistants à la PCa (cf. Performances). L'APC est aussi beaucoup plus stable la PCa.

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. S'ils ne donnent pas les résultats prévus, les résultats du patient doivent être considérés comme invalides.

Le plasma résistant à la PCa est fourni avec ce kit comme contrôle anormal.

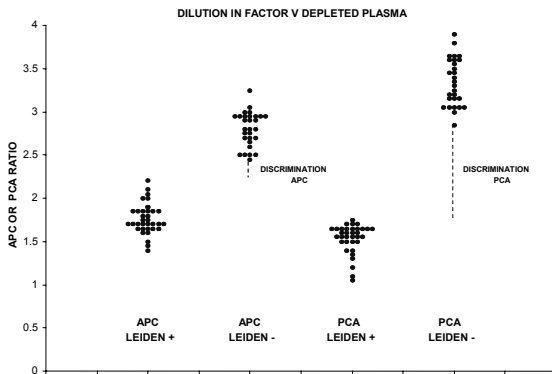
VALEURS DE RÉFÉRENCE

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 valeurs usuelles.

PERFORMANCES

Helena BioSciences ou ses représentants ont déterminé à titre indicatif les caractéristiques de performance suivantes. Chaque laboratoire doit établir ses propres données de performance.



BIBLIOGRAPHIE

1. Dahlback B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognised mechanism characterised by a poor anticoagulant response to activated Protein C. *Proc Natl Sci* 1993;90:1104-08.
2. Denson KWE, Reed SV, Haddon ME, Davidson S, Littlewood TJ. A more discriminating test for APC resistance and a possible screening test to include Protein C and Protein S. *Thromb Res* 1996;81:151-156.
3. Jorquera JL, Montoro JM, Fernandez MA, Aznar J. Modified test for activated Protein C resistance. *Lancet* 1994;334:1162-3.
4. Denson KWE, Reed SV, Haddon ME. The modified APC resistance test. *Thromb Haemost* 1995;74:995.
5. Morse C, Standen G. Specificity of clotting tests for factor V Leiden. *Brit J Haemat* 1996;95:432.
6. Gardiner C, Mackie IJ, Machin SJ, Cooper P, Malia RG, Makris M. 1999. MDA Evaluation Report No 00064 HMSO.

ANWENDUNGSBEREICH

Das Helena BioSciences PCA-Ratio-Kit ist zum Nachweis der APC-Resistenz (Faktor-V-Leiden-Defekt) bestimmt.

Eine APC-Resistenz kann durch den APC-Ratio bestimmt werden, indem die Ratio aus den Gerinnungszeiten von aPTT mit und ohne Zusatz von aktiviertem Protein C berechnet wird¹, wobei eine Ratio über 2,2 als normal anzusehen ist, und eine Ratio unter 2,2 auf eine Faktor-V-Leiden-Mutation hinweist. PC kann endogen in Anwesenheit von PS durch in einer Schlangengiftfraktion der Agkistrodon Contortrix Contortrix enthaltenen PCA zu APC aktiviert werden. Ganz ähnlich wird die PCA-Ratio durch Teilen des PCA-aPTT durch den normalen aPTT ermittelt². Die Vitamin-K abhängigen Faktoren, intrinsischen Faktoren, PC und PS werden alle bei Verdünnen der Patientenprobe mit Faktor-V-adsorbiertem Plasma normalisiert. Dadurch kann PCA anstelle APC verwendet werden, wodurch die PCA-Ratio zu einem endgültigen Test auf APC-Resistenz wird^{3,4}, da das APC normalerweise durch endogenes PC und PS in Faktor-V-adsorbiertem Plasma erzeugt wird. Im Test wird das Plasma 1:5 mit Faktor-V-adsorbiertem Plasma verdünnt. Das wird dann mit einem aPTT-Reagenz mit und ohne PCA-Zusatz inkubiert und dann durch Zugabe von CaCl₂ die Gerinnungszeit bestimmt. Anschließend wird die Ratio der Gerinnungszeit von PCA-aPTT/normaler aPTT ermittelt.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

Die Reagenzien dieses Kits sind nur zur In-vitro-Diagnostik bestimmt. - **NICHT EINNEHMEN.** Beim Umgang mit den Kit-Komponenten ist das Tragen von Handschuhen erforderlich. Siehe Sicherheitsdatenblatt mit den Gefahrenhinweisen und Sicherheitsratschlägen sowie Informationen zur Entsorgung. Die Plasmaprodukte sind mit negativem Befund auf Hepatitis B Antigen (HBsAg), HIV-1 und HIV-2 Antikörper und HCV-Antikörper getestet worden (wenn auf Kit-Verpackung oder Fläschchen nicht anders angegeben). Sie sollten trotzdem mit derselben Vorsicht wie humane Plasmaproben behandelt werden.

INHALT

- 1. 25 mM Calciumchlorid in Kochsalz**
Jedes Fläschchen enthält 8 ml von 25 mM Calciumchlorid in Kochsalz Die Lösung ist gebrauchsfertig verpackt.
- 2. PCA-aPTT-Reagenz**
Jedes Fläschchen enthält lyophilisiertes PCA-aPTT Reagenz. Mit 2,0 ml destilliertem Wasser rekonstituieren. 20 Minuten stehen lassen und vor Gebrauch gut mischen.
- 3. aPTT-Reagenz**
Jedes Fläschchen enthält lyophilisiertes aPTT-Reagenz. Mit 2,0 ml destilliertem Wasser rekonstituieren. 20 Minuten stehen lassen und vor Gebrauch gut mischen.
- 4. Faktor-V-adsorbiertes Plasma**
Jedes Fläschchen enthält lyophilisiertes Faktor-V-adsorbiertes Plasma. Mit 2,0 ml destilliertem Wasser rekonstituieren. 20 Minuten stehen lassen und vor Gebrauch gut mischen.
- 5. APC-resistentes Plasma**
Das Fläschchen enthält lyophilisiertes APC-resistentes Plasma. Mit 0,5 ml destilliertem Wasser rekonstituieren. 20 Minuten stehen lassen und vor Gebrauch gut mischen.
- 6. Weitere Kit-Komponenten**
Jedes Kit enthält eine Gebrauchsanweisung.

LAGERUNG UND STABILITÄT

1. 25 mM Calciumchlorid in Kochsalz

Calciumchlorid sollte bei 2...6°C gelagert werden und ist bis zum aufgedruckten Verfallsdatum stabil. AC-4 POS 26 @37°C = 6hrs.

2. PCA-aPTT-Reagenz

Das nicht rekonstituierte PCA-aPTT-Reagenz sollte bei 2...6°C gelagert werden und ist bis zum aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Rekonstituiertes PCA-aPTT-Reagenz ist bei einer Temperatur von 2...6°C 2 Wochen stabil. AC-4 POS 32 @15°C = 6hrs.

3. aPTT-Reagenz

Nicht rekonstituiertes aPTT-Reagenz sollten bei 2...6°C gelagert werden und ist bis zum aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Rekonstituiertes aPTT-Reagenz ist bei 2...6°C für 2 Wochen stabil. AC-4 POS 31 @15°C = 6hrs.

4. Faktor-V-adsorbiertes Plasma

Nicht rekonstituiertes Faktor-V-adsorbiertes Plasma sollte bei 2...6°C gelagert werden und ist bis um aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Rekonstituiertes Faktor-V-adsorbiertes Plasma nach Gebrauch verwerfen bzw. bei -20 °C einfrieren. Eingefroren kann es einmal aufgetaut werden.

5. APC-resistentes Plasma

Nicht rekonstituiertes APC-resistentes Reagenz sollten bei 2...6°C gelagert werden und ist bis zum aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Rekonstituiertes APC-resistentes Plasma kann eingefroren und aufgetaut werden.

PROBENENTNAHME UND VORBEREITUNG

Nur Plastik oder Silikonglas verwenden. Blut (9 Teile) sollte in 3,2 % oder 3,8 % Natriumcitrat als Antikoagulanzen (1 Teil) entnommen werden. 10 Minuten bei 2000 g zentrifugieren und Plasma abpipettieren. Plasma bei 2...6°C lagern. Plasma sollte innerhalb von 2 Stunden verarbeitet oder tief gefroren bei -20°C für 2 Wochen oder -70°C für einen Monat gelagert werden. Vor dem Testen schnell bei 37°C auftauen. Nicht länger als 5 Minuten bei 37°C belassen.

SCHRITT-FÜR-SCHRITT METHODE

Es ist zu empfehlen, diesen Test im Doppelansatz durchzuführen.

a) Manuelle Methode

1. Zwei Teströhrchen mit 20 µl Probe und 80 µl Faktor-V-adsorbiertes Plasma vorbereiten.
2. Zu einem Röhrchen 100 µl aPTT-Reagenz geben, in das andere 100 µl PCA-aPTT-Reagenz.
3. Beide Röhrchen 5 Minuten bei 37 °C inkubieren.
4. In beide Röhrchen 100 µl der 25 mM CaCl₂/Kochsalzlösung zufügen und die Gerinnungszeit bestimmen.
5. Die Ratio der PCA-aPTT/aPTT Gerinnungszeit berechnen.

b) Automatisierte Methoden, AC-4. (5546 x80 Proben)

Siehe Bedienungsanleitung des verwendeten Geräts für eine genaue Anleitung.
Alle Reagenzien wie unter "Inhalt" beschrieben vorbereiten.

-APC

START=15s	METHOD=Coag	MIX=YES	PATIENT (Pat) vol=10µL pos=36 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=40µL Pos=33
INCUB=300s	MATH=lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0µL Pos=0	R1 (APTT) Vol=50µL Pos=31
RUNTIME=300s	SENS=3	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0µL	R2 (CaCl ₂) Vol=50µL Pos=26

APCR

START=15s	METHOD=Coag	MIX=YES	PATIENT (Pat) vol=10µL pos=36 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=40µL Pos=33
INCUB=300s	MATH=lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0µL Pos=0	R1 (PCA.APTT) Vol=50µL Pos=32
RUNTIME=300s	SENS=3	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0µL	R2 (CaCl ₂) Vol=50µL Pos=26

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

In einer Studie mit Kipp-Methode zeigte das PCA-Ratio-Kit eine wesentlich größere Unterscheidung zwischen normalen Plasmaproben, Faktor-V-Leiden-Proben und Proben von Patienten mit oraler Antikoagulantientherapie als die Methode, die mit einem exogenen APC arbeitet². Ähnliche Ergebnisse erzielte die Studie von Morse und Standen⁵ sowie die MDA-Evaluierungsstudie⁶.

Die Methode kann bei Patienten mit oraler Antikoagulantientherapie, mit hohen Faktor-VIII-Spiegeln (während der Schwangerschaft), in gelagerten Proben mit niedrigen Faktor-VIII-Spiegeln und bei Patienten mit PC- und PS-Defekten verwendet werden. Durch die Verdünnung werden die Wirkungen von Lupus-Antikoagulant und Heparin beseitigt. Der Hauptvorteil des PCA gegenüber dem APC-Test ist, dass eine viel größere Unterscheidung zwischen normalen und APC-resistenten Proben festgestellt werden kann (siehe Leistungsmerkmale). PCA ist darüber hinaus stabiler als APC.

QUALITÄTSKONTROLLE

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

APC-resistentes Plasma wird als abnormale Kontrolle mit diesem Kit mitgeliefert.

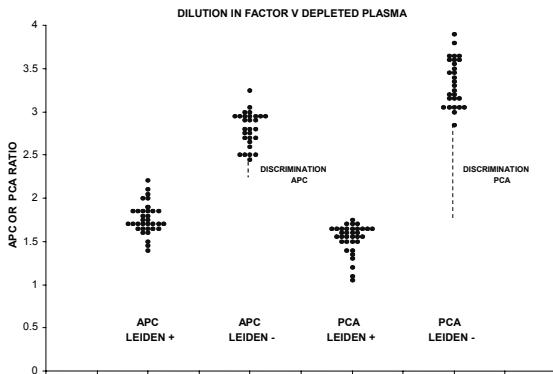
REFERENZWERTE

Referenzwerte können je nach Technik und verwendetem System von Labor zu Labor unterschiedlich sein.

Aus diesem Grund sollte jedes Labor seinen eigenen Normalwertbereich erstellen.

LEISTUNGSEIGENSCHAFTEN

Folgende Leistungseigenschaften sind von Helena BioSciences selbst oder in ihrem Auftrag als Richtlinie bestimmt worden. Jede Labor muss seine eigenen Werte ermitteln.



LITERATUR

1. Dahlback B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognised mechanism characterised by a poor anticoagulant response to activated Protein C. *Proc Natl Sci* 1993;90:1104-08.
2. Denson KWE, Reed SV, Haddon ME, Davidson S, Littlewood TJ. A more discriminating test for APC resistance and a possible screening test to include Protein C and Protein S. *Thromb Res* 1996;81:151-156.
3. Jorquera JL, Montoro JM, Fernandez MA, Aznar J. Modified test for activated Protein C resistance. *Lancet* 1994;334:1162-3.
4. Denson KWE, Reed SV, Haddon ME. The modified APC resistance test. *Thromb Haemost* 1995;74:995.
5. Morse C, Standen G. Specificity of clotting tests for factor V Leiden. *Brit J Haemat* 1996;95:432.
6. Gardiner C, Mackie IJ, Machin SJ, Cooper P, Malia RG, Makris M. 1999. MDA Evaluation Report No 00064 HMSO.

PRINCIPIO

Il kit PCA Ratio di Helena BioSciences è stato progettato per consentire il rilevamento di resistenza alla proteina C attivata (APC) (difetto del fattore V Leiden).

La resistenza alla proteina C attivata può essere misurata calcolando il rapporto APC di un APTT con l'aggiunta di una proteina C attivata preformata diviso il normale APTT¹, dove rapporti superiori a 2.2 indicano una situazione normale mentre rapporti inferiori a 2.2 indicano una mutazione del fattore V Leiden. La proteina C in presenza di PS può trasformarsi in proteina C attivata a livello endogeno grazie alla PCA contenuta in una frazione di veleno del serpente *Agkistrodon Contortrix Contortrix*. Il rapporto PCA si ottiene in modo simile dividendo la PCA.APTT per il normale APTT². Quando il campione del paziente viene diluito con plasma carente di fattore V, i fattori dipendenti dalla vitamina K, i fattori intrinseci e la PC e PS risultano tutti normalizzati. È quindi possibile utilizzare la PCA anziché l'APC, mentre il rapporto PCA si attesta come test definitivo della resistenza alla proteina C attivata^{3,4} in quanto questa proteina viene prodotta normalmente da PC e PS endogeni nel plasma carente di fattore V. Nel test, il plasma viene diluito per 1/5 in plasma carente di fattore V. Questo viene poi incubato con un reagente APTT con e senza PCA aggiunta e i tempi di coagulazione vengono calcolati con l'aggiunta di CaCl₂. Si calcola quindi il rapporto del tempo di coagulazione di PCA.APTT/normale APTT.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

I reagenti contenuti in questo kit sono destinati esclusivamente alla diagnostica in vitro - **NON INGERIRE**. Indossare i guanti durante la manipolazione di tutti i componenti del kit. Per le indicazioni relative ai rischi e alla sicurezza e per le informazioni sullo smaltimento, fare riferimento alle schede tecniche dei prodotti. I prodotti plasmatici sono stati esaminati dando esito negativo (salvo diversamente indicato sulla confezione del kit o sul flacone) relativamente alla presenza dell'antigene dell'epatite B (HbsAg), dell'anticorpo anti-HIV 1 e 2 e dell'anticorpo anti-HCV; questi prodotti devono tuttavia essere manipolati con le stesse misure precauzionali adottate per un campione di plasma umano.

COMPOSIZIONE**1. Cloruro di calcio 25 mM in soluzione salina**

Ciascuna fiala contiene 8 ml di cloruro di calcio 25 mM in soluzione salina. La soluzione è in confezione pronta per l'uso.

2. Reagente per PCA.APTT

Ciascuna fiala contiene reagente per PCA.APTT liofilizzato. Ricostituire con 2,0 ml di acqua purificata. Lasciare riposare per 20 minuti e miscelare bene prima dell'uso.

3. Reagente per APTT

Ciascuna fiala contiene reagente per APTT liofilizzato. Ricostituire con 2,0 ml di acqua purificata. Lasciare riposare per 20 minuti e miscelare bene prima dell'uso.

4. Plasma carente di fattore V

Ciascuna fiala contiene plasma carente di fattore V liofilizzato. Ricostituire con 2,0 ml di acqua purificata. Lasciare riposare per 20 minuti e miscelare bene prima dell'uso.

5. Plasma resistente alla proteina C attivata

La fiala contiene plasma resistente alla proteina C liofilizzato. Ricostituire con 0,5 ml di acqua purificata. Lasciare riposare per 20 minuti e miscelare bene prima dell'uso.

6. Altri componenti del kit

Ogni kit contiene un foglio procedurale.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

1. Cloruro di calcio 25 mM in soluzione salina

Il cloruro di calcio deve essere conservato ad una temperatura compresa tra 2...6°C ed è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. AC-4 POS 26 @37°C = 6hrs.

2. Reagente per PCA.APTT

Il reagente per PCA.APTT non ricostruito deve essere conservato ad una temperatura compresa tra 2...6°C ed è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. Il reagente per PCA.APTT ricostituito è stabile per 2 settimane ad una temperatura compresa tra 2...6°C. AC-4 POS 32 @15°C = 6hrs.

3. Reagente per APTT

Il reagente per APTT non ricostruito deve essere conservato ad una temperatura compresa tra 2...6°C ed è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. Il reagente per APTT ricostituito è stabile per 2 settimane ad una temperatura compresa tra 2...6°C. AC-4 POS 31 @15°C = 6hrs.

4. Plasma carente di fattore V

Il plasma carente di fattore V non ricostruito deve essere conservato ad una temperatura compresa tra 2...6°C ed è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. Il plasma carente di fattore V ricostruito deve essere gettato dopo l'uso oppure congelato ad una temperatura di -20°C e scongelato una sola volta.

5. Plasma resistente alla proteina C attivata

Il plasma resistente alla proteina C attivata non ricostruito deve essere conservato ad una temperatura compresa tra 2...6°C ed è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. Il plasma resistente alla proteina C attivata ricostruito può essere congelato e scongelato.

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 2000 x g per 10 minuti. Il plasma deve essere conservato ad una temperatura compresa tra 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. Scongelerare rapidamente a 37°C prima di eseguire i test. Non conservare ad una temperatura di 37°C per oltre 5 minuti.

PROCEDURA

Si raccomanda di eseguire i test in duplicato.

a) Metodo manuale

1. Preparare due provette contenenti ciascuna 20 µl di campione e 80 µl di plasma carente di fattore V.
2. In una provetta aggiungere 100 µl di reagente per APTT e nella seconda provetta 100 µl di reagente per PCA.APTT.
3. Incubare entrambe le provette per 5 minuti ad una temperatura di 37°C.
4. Aggiungere 100 ml di CaCl₂ 25 mM/soluzione salina in entrambe le provette e calcolare i tempi di coagulazione.
5. Calcolare il rapporto del tempo di coagulazione PCA.APTT/APTT.

b) Metodi automatici, AC4. (5546 x80 campioni)

Fare riferimento al manuale utente dello AC-4 appropriato per conoscere le istruzioni dettagliate. Preparare tutti i reagenti secondo le istruzioni riportate nel paragrafo COMPOSIZIONE.

-APC

START=15s	METHOD=Coag	MIX=YES	PATIENT (Pat) vol=10 μ L pos=36 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=40 μ L Pos=33
INCUB=300s	MATH=lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0 μ L Pos=0	R1 (APTT) Vol=50 μ L Pos=31
RUNTIME=300s	SENS=3	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0 μ L	R2 (CaCl ₂) Vol=50 μ L Pos=26

APCR

START=15s	METHOD=Coag	MIX=YES	PATIENT (Pat) vol=10 μ L pos=36 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=40 μ L Pos=33
INCUB=300s	MATH=lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0 μ L Pos=0	R1 (PCA.APTT) Vol=50 μ L Pos=32
RUNTIME=300s	SENS=3	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0 μ L	R2 (CaCl ₂) Vol=50 μ L Pos=26

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

In uno studio condotto con il metodo manuale Tilt-Tube, è stato riscontrato che il kit PCA ratio presenta una discriminazione molto maggiore tra campioni di plasma normali, campioni di fattore V Leiden e campioni di pazienti sottoposti a terapia farmacologica con anticoagulanti orali rispetto al metodo che utilizza una proteina C attivata esogena². Risultati simili sono stati raggiunti dallo studio di Morse e Standen⁵ e dallo studio di valutazione MDA⁶. Il metodo può essere applicato in caso di pazienti sottoposti a terapia farmacologica a base di anticoagulanti orali, di pazienti con alti livelli di fattore VIII (gravidanza), in campioni conservati con bassi livelli di fattore VIII e in caso di pazienti con difetti di PC e PS. Questo metodo smorza gli effetti dei lupus anticoagulanti e dell'eparina. Il principale vantaggio della PCA rispetto alla proteina C attivata preformata è la nettamente maggiore discriminazione riscontrata tra campioni normali e campioni resistenti alla proteina C attivata (ved. Caratteristiche prestazionali). La PCA è molto più stabile rispetto alla proteina C attivata.

CONTROLLO QUALITÀ

Ogni laboratorio deve definire un programma di controllo qualità. I plasmi 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.

Il plasma resistente alla proteina C attivata viene fornito come controllo anomalo nel rispettivo kit.

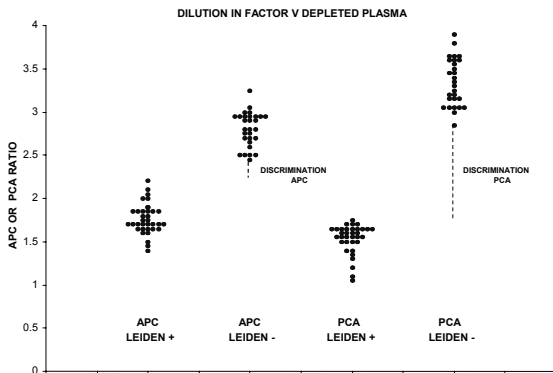
VALORI DI RIFERIMENTO

I valori di riferimento possono variare tra i singoli laboratori in funzione delle tecniche e dei sistemi utilizzati.

Per tale motivo ciascun laboratorio dovrà elaborare un proprio range normale.

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.



BIBLIOGRAFIA

1. Dahlback B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognised mechanism characterised by a poor anticoagulant response to activated Protein C. *Proc Natl Sci* 1993;90:1104-08.
2. Denson KWE, Reed SV, Haddon ME, Davidson S, Littlewood TJ. A more discriminating test for APC resistance and a possible screening test to include Protein C and Protein S. *Thromb Res* 1996;81:151-156.
3. Jorquera JL, Montoro JM, Fernandez MA, Aznar J. Modified test for activated Protein C resistance. *Lancet* 1994;334:1162-3.
4. Denson KWE, Reed SV, Haddon ME. The modified APC resistance test. *Thromb Haemost* 1995;74:995.
5. Morse C, Standen G. Specificity of clotting tests for factor V Leiden. *Brit J Haemat* 1996;95:432.
6. Gardiner C, Mackie IJ, Machin SJ, Cooper P, Malia RG, Makris M. 1999. MDA Evaluation Report No 00064 HMSO.

USO PREVISTO

El uso previsto del Kit de determinación del cociente del PCA de Helena BioSciences es la detección de la resistencia a la APC (Proteína C activada) (defecto del factor V de Leiden).

La resistencia a la APC puede medirse por medio del cociente APC de un APTT (Tiempo Parcial de Tromboplastina Activada) con la adición de proteína C activada preformada, dividido por la APTT¹ normal, en el que cocientes superiores a 2,2 indican normalidad y cocientes inferiores a 2,2 indican la mutación del factor V Leiden. La PC (Proteína C) puede activarse endógenamente a APC en presencia de PS (Proteína S) por medio del PCA contenido en una fracción de veneno de la serpiente Agkistrodon Contortrix Contortrix. El cociente del PCA se puede obtener igualmente dividiendo el PCA.APTT por la APTT normal². Cuando la muestra del paciente se diluye en plasma deplecionado de Factor V, los factores dependientes de vitamina K, los factores intrínsecos y las PC y PS se normalizan. Por ello, el PCA puede ser utilizado en lugar de la APC, y el cociente del PCA se convierte en la prueba definitiva de resistencia a APC^{3,4} ya que la APC se genera normalmente por medio de las PC y PS endógenas en plasma deplecionado de Factor V. En la prueba, el plasma se diluye 1/5 en plasma deplecionado de factor V. Esto se incuba después con un reactivo APTT con y sin PCA añadido y se determinan los tiempos de coagulación por medio de la adición de CaCl₂. Después se determina el cociente del tiempo de coagulación de PCA.APTT/APTT normal.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Los reactivos contenidos en este kit son sólo para uso diagnóstico. **NO SE DEBEN INGERIR.** Utilizar guantes para manipular 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. Los productos plasmáticos han sido sometidos a análisis y han resultado negativos (a menos que se indique otra cosa en la caja del kit o en el vial) para la presencia de antígeno de la hepatitis B (HbsAg), anticuerpos de VIH 1 y 2 y anticuerpo del VHC; sin embargo, deben manipularse con las mismas precauciones que una muestra de plasma humano.

COMPOSICIÓN

1. Cloruro Cálcico 25mM en salino

Cada vial contiene 8ml de Cloruro Cálcico 25mM en salino. La solución viene envasada lista para usar.

2. Reactivo PCA.APTT

Cada vial contiene reactivo PCA. APTT liofilizado. Reconstituir con 2,0ml de agua purificada. Dejar reposar durante 20 minutos y mezclar bien antes de usar.

3. Reactivo APTT

Cada vial contiene reactivo APTT liofilizado. Reconstituir con 2,0ml de agua purificada. Dejar reposar durante 20 minutos y mezclar bien antes de usar.

4. Plasma deplecionado de Factor V

Cada vial contiene plasma deplecionado de Factor V liofilizado. Reconstituir con 2,0ml de agua purificada. Dejar reposar durante 20 minutos y mezclar bien antes de usar.

5. Plasma resistente a APC

El vial contiene plasma resistente a APC liofilizado. Reconstituir con 0,5ml de agua purificada. Dejar reposar durante 20 minutos y mezclar bien antes de usar.

6. Otros componentes del kit

Cada kit contiene instrucciones de uso.

CONSERVACIÓN Y PERÍODO DE VALIDEZ

1. Cloruro Cálcico 25mM en salino

El cloruro cálcico debe conservarse a 2...6°C y permanece estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. AC-4 POS 26 @37°C = 6hrs.

2. Reactivo PCA.APTT

El reactivo PCA.APTT no reconstituido debe conservarse a 2...6°C y permanece estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. El reactivo PCA.APTT reconstituido permanece estable durante dos semanas a 2...6°C. AC-4 POS 32 @15°C = 6hrs.

3. Reactivo APTT

El reactivo APTT no reconstituido debe conservarse a 2...6°C y permanece estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. El reactivo APTT reconstituido es estable durante dos semanas a 2...6°C. AC-4 POS 31 @15°C = 6hrs.

4. Plasma deplecionado de Factor V

El plasma deplecionado de Factor V no reconstituido debe conservarse a 2...6°C, y es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. El plasma deplecionado de Factor V reconstituido debe desecharse después de su uso, o puede ser congelado a -20°C y descongelado una sola vez.

5. Plasma resistente a APC

El plasma resistente a APC no reconstituido debe conservarse a 2...6°C, y es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. El plasma resistente a APC reconstituido puede ser congelado y descongelado.

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Debe usarse siempre plástico o vidrio siliconado. La sangre (9 partes) debe recogerse en 1 parte de anticoagulante citrato sódico al 3,2% o al 3,8%. Separar el plasma después de la centrifugación a 2000xg durante 10 minutos. El plasma debe conservarse a 2...6°C. Las pruebas deben terminarse en 2 horas desde la recogida de las muestras o el plasma puede conservarse congelado a -20 °C durante 2 semanas o -70°C durante un mes. Descongelar rápidamente a 37°C antes de realizar la prueba. No mantener a 37 °C durante más de 5 minutos.

PROCEDIMIENTO PASO A PASO

Se recomienda realizar la pruebas por duplicado.

a) Método manual

1. Preparar por duplicado los tubos con 20µl de muestra y 80µl de plasma deplecionado de factor V.
2. Añadir 100µl de reactivo APTT a un tubo y 100µl de reactivo PCA.APTT al tubo duplicado.
3. Incubar ambos tubos durante 5 minutos a 37°C.
4. Añadir 100µl de CaCl₂ 25mM /salino a ambos tubos y registrar el tiempo de coagulación.
5. Calcular el cociente del tiempo de coagulación PCA. APTT/APTT.

b) Métodos automatizados, AC-4. (5546 x80 muestras)

Consúltese el Manual del Operador del AC-4 adecuado para instrucciones detalladas. Preparar todos los reactivos como se indica en "composición".

KIT DE DETERMINACIÓN DEL COCIENTE DEL PCA

-APC

START=15s	METHOD=Coag	MIX=YES	PATIENT (Pat) vol=10 μ L pos=36 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=40 μ L Pos=33
INCUB=300s	MATH=lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0 μ L Pos=0	R1 (APTT) Vol=50 μ L Pos=31
RUNTIME=300s	SENS=3	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0 μ L	R2 (CaCl ₂) Vol=50 μ L Pos=26

APCR

START=15s	METHOD=Coag	MIX=YES	PATIENT (Pat) vol=10 μ L pos=36 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=40 μ L Pos=33
INCUB=300s	MATH=lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0 μ L Pos=0	R1 (PCA.APTT) Vol=50 μ L Pos=32
RUNTIME=300s	SENS=3	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0 μ L	R2 (CaCl ₂) Vol=50 μ L Pos=26

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En un estudio por el método manual de tubo inclinado, el kit de cociente del PCA demostró una mayor discriminación entre muestras de plasma normal, muestras con factor V de Leiden y muestras de pacientes en tratamiento anticoagulante que el método que emplea APC exógena². Resultados similares se obtuvieron en el estudio realizado por Morse y Standen⁵ y en el estudio de evaluación de MDA⁶. El método puede ser utilizado en pacientes con tratamiento anticoagulante oral, en pacientes con altos niveles de factor VIII (durante el embarazo), en muestras almacenadas con bajos niveles de factor VIII y en pacientes con defectos en la PC y PS. También atenuará los efectos de los anticoagulantes de lupus y heparina. La mayor ventaja del PCA frente a la APC preformada es la mayor discriminación observada entre muestras normales y APC resistentes (ver Características de Funcionamiento). El PCA es también mucho más estable que la APC.

CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe establecer un programa de control de calidad. Los plasmas control normales y anormales deben ser analizados antes de cada lote de muestras de pacientes, para asegurar un funcionamiento adecuado del instrumento y del usuario. Si los controles no dan los resultados esperados, los resultados del paciente deben considerarse inválidos.

El plasma resistente a APC es suministrado con este kit como un control anormal.

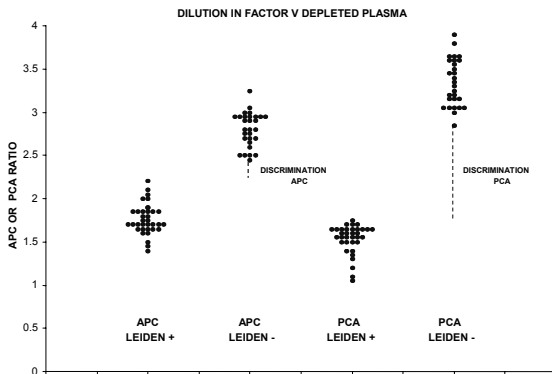
VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia pueden variar entre distintos laboratorios dependiendo de las técnicas y sistemas usados.

Por esta razón, cada laboratorio debe establecer su propio intervalo normal.

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

Las siguientes características de funcionamiento han sido determinadas por Helena BioSciences o sus representantes como guía. Cada laboratorio debe establecer sus propios datos.



BIBLIOGRAFÍA

1. Dahlback B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognised mechanism characterised by a poor anticoagulant response to activated Protein C. *Proc Natl Sci* 1993;90:1104-08.
2. Denson KWE, Reed SV, Haddon ME, Davidson S, Littlewood TJ. A more discriminating test for APC resistance and a possible screening test to include Protein C and Protein S. *Thromb Res* 1996;81:151-156.
3. Jorquera JL, Montoro JM, Fernandez MA, Aznar J. Modified test for activated Protein C resistance. *Lancet* 1994;334:1162-3.
4. Denson KWE, Reed SV, Haddon ME. The modified APC resistance test. *Thromb Haemost* 1995;74:995.
5. Morse C, Standen G. Specificity of clotting tests for factor V Leiden. *Brit J Haemat* 1996;95:432.
6. Gardiner C, Mackie IJ, Machin SJ, Cooper P, Malia RG, Makris M. 1999. MDA Evaluation Report No 00064 HMSO.

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-2-1640P 2008/04 (3)