

Thromboplastin LI

REF 5265H
REF 5265
REF 5267
REF 5269



REF 5265H
REF 5265
REF 5267
REF 5269

Email: info@helena-biosciences.com

Web: www.helena-biosciences.com

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-2-0439P 2012/03 (13)

Thromboplastin LI

Instructions for use



INTENDED USE

The first standardised one-stage prothrombin time test was developed by Dr. Armand Quick in 1935. It has now become the basic coagulation screening test for the diagnosis of congenital and acquired deficiencies of clotting factors from the extrinsic pathway (factors II, V, VII and X)^{1,2}. It is also used for the induction and monitoring of oral anticoagulant therapy³⁻⁴ and can be used to assess the protein synthesis capability of the liver in chronic or acute hepatic disorders. Thromboplastin LI is of rabbit brain origin but resembles human BCT in its low International Sensitivity Index (ISI). The ISI of Thromboplastin LI is approximately 1.1 (using manual calibration techniques) and is calibrated against the WHO international reference preparation⁵. Thromboplastin LI is particularly suited to the monitoring of oral anticoagulant therapy and, in conjunction with the appropriate factor deficient plasma, the measurement of factor activity in the extrinsic pathway. Tissue thromboplastin, in the presence of calcium ions, is an activator which initiates the extrinsic pathway of coagulation. When a mixture of tissue thromboplastin and calcium ions is added to normal citrated plasma, the clotting mechanism is activated, leading to a fibrin clot. If a deficiency exists within the extrinsic pathway, the time required for clot formation will be prolonged depending on the severity of the deficiency.

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 sheets 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 they should be handled with the same precautions as a human plasma sample.

COMPOSITION

Composition	Content	Description	Preparation
Thromboplastin LI	4 x 2,5 mL (REF 5265H) 10 x 2,5 mL (REF 5265) 10 x 5 mL (REF 5267) 10 x 10 mL (REF 5269)	Each vial contains rabbit brain thromboplastin suspension. The reagent is a fine suspension of rabbit brain tissue.	The contents of the vial should be mixed well before and during use.
Calcium Chloride: 0.025M	4 x 2,5 mL (REF 5265H) 10 x 2,5 mL (REF 5265) 10 x 5 mL (REF 5267) 10 x 10 mL (REF 5269)	Each vial contains 0.025 M calcium chloride solution. The reagent is a clear, colourless solution.	The reagent is ready for use as packaged.

Each kit contains Instructions For Use.

Each kit contains lot specific reference values insert.

ITEMS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

REF 5519	ISI Calibrant Plasma Set
REF 5490	INR Reference Set
REF 5186	Routine Control N
REF 5187	Routine Control A
REF 5183	Routine Control SA

STORAGE AND STABILITY

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

Thromboplastin LI	Opened vials are stable for 1 month at *2 –8°C and 5 days at *15 –30°C. The working reagent (mixed with calcium chloride) is stable for 10 days at *2 –8°C or 5 days at *15 –30°C. DO NOT FREEZE. Large clumps of particles or changes in expected values may indicate product deterioration.
Calcium Chloride: 0.025M	Opened vials are stable for 1 month at *2 –8°C or 5 days at *15 –30°C. Particulate contamination, cloudiness or a change in expected performance may indicate product deterioration.

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

Plastic or siliconised glass should be used throughout. Blood (9 parts) should be collected into 3.2% or 3.8% sodium citrate anticoagulant (1 part). Separate plasma after centrifugation at 1500 x g for 15 minutes. Plasma should be kept at *2 –8°C or *18 –24°C. Testing should be completed within 4 hours of sample collection, or plasma can be stored frozen at -20°C for 2 weeks or -70°C for 6 months. Thaw quickly at *37°C prior to testing. Do not keep at *37°C for more than 5 minutes*.

PROCEDURE

For accurate INR reporting, it is recommended to determine the laboratory specific ISI of the reagent with the testing system in use. The Helena Biosciences Europe ISI Calibrant Plasma Set (REF 5519) is recommended for this purpose⁵. This should be performed for each new reagent batch. The Helena Biosciences Europe INR Reference Set (REF 5490) should be used to check for shifts in the local system ISI which have been noted with changes in laboratory temperature and post instrument servicing, amongst other local variances.

Manual Method

- Mix sufficient Thromboplastin LI and calcium chloride solution 1 + 1, to complete the anticipated testing for the day and incubate at *37°C for no more than 8 hours.
- Pre-warm 0.1 mL of the test plasma at *37°C for 2 minutes.
- Add 0.2 mL of freshly mixed Thromboplastin reagent to the plasma while simultaneously starting a stopwatch.
- Note the time for clot formation to the nearest 0.1 seconds.

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 should be reported to the nearest 0.1 seconds and duplicates should agree within 5% of each other. %PT values can be interpolated from the calibration graph (%PT of PT Calibration plasmas versus measured clot time), which should be a straight line when plotted on log-log graph paper.

INR values can be calculated using the following formula: INR = (PT Time Patient / Mean Normal PT Time)^{ISI}

For clear guidance on the indications for and management of patients on warfarin, please refer to The British Society for Haematology, for their most current edition of 'Guidelines on oral anticoagulation with warfarin'. At time of printing this is the 2011 fourth edition⁹.

LIMITATIONS

The use of serial dilutions of a reference plasma for the %PT curve is not recommended as this can lead to discrepancies caused by the low fibrinogen in the reference plasma dilutions which are not reflected in patient samples having predominantly normal fibrinogen levels.

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 5186	Routine Control N
REF 5187	Routine Control A
REF 5183	Routine Control SA
REF 5490	INR Reference Set

REFERENCE VALUES

Reference values can vary between laboratories depending on the techniques and systems in use. For this reason each laboratory should establish its own reference ranges. This is particularly important for local ISI calibration. Using the manual (tilt-tube) technique, normal values ranging from 12.5-16.5 seconds are typical.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The following performance characteristics have been determined by Helena Biosciences Europe or their representatives using an opto-mechanical coagulation instrument. Each laboratory should establish its own performance data.

Reproducibility

	Intra-assay precision				Inter-assay precision				Inter-batch precision			
Sample	n	Clot formation (seconds)	CV (%)		n	Clot formation (seconds)	CV (%)		n	Clot formation (seconds)	CV (%)	
Normal	10	17.0	0.92	100	13.7	2.09	3	13.1	2.0			
Abnormal	10	26.9	1.09	100	23.0	2.38	3	27.3	3.3			
Abnormal				100	25.6	2.15	3	44.0	2.2			

Helena Thromboplastin LI is insensitive to Heparin levels of up to 2 U/mL.

Method Comparison:

Comparison of INR values determined using Thromboplastin LI and two WHO Reference Thromboplastins yielded the following correlation equations:

Thromboplastin LI = 0.9936 (RTF95) + 0.0129	r ² = 0.9834	n = 79
Thromboplastin LI = 0.9589 (BCT441) + 0.1543	r ² = 0.9500	n = 79

REFERENCES

- Quick AJ (1935) A Study of the Coagulation Defect in Hemophilia and Jaundice, *Am. J. Med. Sci*, **190**: 501.
- Biggs R (1976) Human Blood Coagulation, Haemostasis and Thrombosis, 2nd Edition, Blackwell Scientific Publications, London.
- Hirsh J, Poller L, Deykin D, Levine J, Dalen JE (1989) Optimal Therapeutic Range for Oral Anticoagulants, *Chest*, **95**: 5S-11S.
- Poller L (1986) Laboratory Control of Anticoagulant Therapy, *Sem. Thromb. Haemostasis*, **12**: 13-19.
- World Health Organisation (1984) Expert Committee on Biological Standards, *Technical Series*, **700**: 19.
- 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.
- Poller L, Triplett DA, Hirsh J, Carroll J, Clarke K (1995) The value of plasma calibrants in correcting coagulometer effects on International Normalised Ratios (INR): An international multicentre study, *Amer. J. Clin. Pathol*, **103**: 358-365.
- Poller L, Triplett DA, Hirsh J, Carroll J, Clarke K (1995) A comparison of lyophilised artificially depleted plasmas and lyophilised plasmas from warfarin treated patients in correcting for coagulometer effects on International Normalised Ratios, *Amer. J. Clin. Pathol*, **103**: 366-371.
- Keeling D (2011) Guidelines on Oral Anticoagulation with warfarin: Forth Edition, *British Journal of Haematology*, **154**(3): 311-324.

Thromboplastin LI

Fiche technique



UTILISATION

La première méthode de détermination standardisée du temps de prothrombine en une étape a été développée en 1935 par le Dr. Armand Quick. Cette méthode de Quick constitue désormais l'analyse de base de la coagulation servant à diagnostiquer des anomalies des facteurs de coagulation, congénitales ou acquises, à partir de la voie extrinsèque (facteurs II, V, VII et X)^{1,2}. Elle sert aussi à l'induction et au monitoring des thérapies avec anticoagulants oraux³⁻⁴ et elle peut être utilisée pour évaluer la capacité de synthèse des protéines du foie chez les patients souffrants de troubles hépatiques chroniques ou aigus.

Le Thromboplastin LI provient de cerveaux de lapin mais il ressemble au BCT humain en raison de son indice de sensibilité international (ISI) faible. L'ISI du Thromboplastin LI est d'environ 1,1 (en suivant les méthodes d'étalonnage manuel) et est étalonné en comparaison avec la préparation internationale de référence de l'OMS⁵. Le Thromboplastin LI convient tout particulièrement au monitoring des thérapies avec anticoagulants oraux et, utilisé conjointement au plasma carencé en un facteur approprié, à la détermination de l'activité du facteur de la voie extrinsèque. La thromboplastine tissulaire, en présence d'ions calcium, est un activateur qui démarre la voie extrinsèque de la coagulation. Quand un mélange de thromboplastine tissulaire et d'ions calcium est ajouté à un plasma citraté normal, le processus de coagulation, qui doit conduire à la production d'un caillot fibreux, s'active. Si la voie extrinsèque présente une anomalie, le temps nécessaire à la formation du caillot est allongé suivant la gravité du trouble de la coagulation.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Les réactifs du kit sont à usage diagnostic *in vitro* uniquement - 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 (Ag(HBs), les anticorps anti V(H) 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

Composant	Contient	Description	Préparation
Thromboplastin LI	4 x 2,5 mL (REF 5265H) 10 x 2,5 mL (REF 5265) 10 x 5 mL (REF 5267) 10 x 10 mL (REF 5269)	Chaque flacon contient une suspension de thromboplastine de cerveau de lapin. Le réactif est une suspension fine de tissu cérébral de lapin.	Le contenu du flacon doit être bien mélangé avant et pendant l'utilisation.
Calcium Chloride: 0.025M	4 x 2,5 mL (REF 5265H) 10 x 2,5 mL (REF 5265) 10 x 5 mL (REF 5267) 10 x 10 mL (REF 5269)	Chaque flacon contient une solution de Calcium Chloride à 0,025 M. Le réactif est une solution transparente et incolore.	Le réactif est prêt à l'emploi.

Chaque kit contient une fiche technique.

Chaque kit contient valeurs de référence spécifiques du lot.

MATÉRIELS NÉCESSAIRES NON FOURNIS

REF 5519	ISI Calibrant Plasma Set
REF 5490	INR Reference Set
REF 5186	Routine Control N
REF 5187	Routine Control A
REF 5183	Routine Control SA

CONSERVATION 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.

Thromboplastin LI	Une fois ouverts, les flacons sont stables 1 mois entre *2 –8°C et 5 jours entre *15 –30°C. Le réactif de travail (mélange avec du Calcium Chloride) est stable 10 jours entre *2 –8°C ou 5 jours entre *15 –30°C. NE PAS CONGELER. La présence de d'amas de particules ou un écart par rapport aux valeurs prévues indique une détérioration du produit.
Calcium Chloride: 0.025M	Une fois ouverts, les flacons sont stables 1 mois entre *2 –8°C ou 5 jours entre *15 –30°C. Une contamination, un aspect floconneux ou un écart par rapport aux valeurs prévues indique une détérioration du produit.

PRÉLÈVEMENTS 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 minutes⁶.

PROCÉDURE

Pour obtenir un RNI (rapport normalisé international) précis, il est recommandé à chaque laboratoire de déterminer l'ISI spécifique du réactif avec le système d'analyse utilisé. Il est conseillé d'utiliser le ISI Calibrant Plasma Set Helena Biosciences Europe (REF 5519) pour cela^{7,8}. Cette opération doit être réalisée pour chaque nouveau lot de réactif. Le kit RNI de référence Helena Biosciences Europe (REF 5490) doit être utilisé pour vérifier l'existence d'un décalage de l'ISI du système local déterminé en raison d'une variation de la température du laboratoire, suite à une opération de maintenance réalisée sur l'instrument ou toute autre variable locale.

Méthode Manuelle

- Mélanger du Thromboplastin LI et de la solution de Calcium Chloride (1 + 1) pour réaliser les analyses prévues dans la journée et incubé à *37°C pendant 8 heures au maximum.
- Préchauffer 0,1 mL de plasma à *37°C pendant 2 minutes.
- Ajouter 0,2 mL de réactif de thromboplastine fraîchement mélangé au plasma et démarrer à ce moment un chronomètre.
- Relever le temps de formation du caillot en arrondissant au dixième de seconde.

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 doivent être indiqués en arrondissant au dixième de seconde et l'écart maximal entre eux est de 5%. Il est possible d'interpoler les valeurs de %TP à partir de la courbe d'étalonnage (%TP des plasmas d'étalonnage du TP par rapport au temps de coagulation mesuré), qui doit correspondre à une ligne droite quand elle est représentée sur du papier logarithmique.

La formule suivante permet de calculer les valeurs du RNI: RNI = (Temps TP patient / Temps TP moyen normal)^{ISI}

Pour obtenir des informations claires quant aux indications et à la prise en charge des patients sous warfarine, consulter la British Society for Haematology pour obtenir la dernière édition des Guidelines on oral anticoagulation with warfarin (Recommandations relatives à l'anticoagulothérapie orale avec la warfarine). Au moment de l'impression du présent document, il s'agit de la quatrième édition de 2011⁹.

LIMITES

Il est déconseillé de réaliser des dilutions du plasma de référence pour la courbe de %TP, car cela risquerait d'entraîner des divergences dues au faible taux de fibrinogène présent dans les dilutions du plasma de référence, ce qui ne serait pas représentatif des échantillons patients qui ont principalement des taux de fibrinogène normaux.

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 5186	Routine Control N
REF 5187	Routine Control A
REF 5183	Routine Control SA
REF 5490	INR Reference Set

VALEURS DE RÉFÉRENCE

Les valeurs de référence peuvent varier d'un laboratoire à l'autre suivant les techniques et les systèmes utilisés. C'est pour cette raison qu'il appartient à chaque laboratoire de déterminer ses propres plages de référence. Ceci est particulièrement important pour l'étalonnage de l'ISI local. Avec la méthode manuelle (tube incliné), l'intervalle type des valeurs normales est de 12,5–16,5 secondes.

PERFORMANCES

Helena Biosciences Europe ou ses mandataires ont déterminé les caractéristiques de performance suivantes en utilisant un instrument de coagulation opto-mécanique. Chaque laboratoire doit établir ses propres données de performance.

Reproductibilité

	Précision intra-série				Précision inter-séries				Précision inter-lots			
Échantillon	n	Formation du caillot (seconde)	CV (%)		n	Formation du caillot (seconde)	CV (%)		n	Formation du caillot (seconde)	CV (%)	
Normaux	10	17,0	0,92	100	13,7	2,09	3	13,1	2,0			
Anormaux	10	26,9	1,09	100	23,0	2,38	3	27,3	3,3			
Anormaux				100	25,6	2,15	3	44,0	2,2			

Thromboplastine-LI (ISI faible) d'Helena ne présente pas d'interférences avec un taux d'héparine jusqu'à 2 U/mL.

Comparaison de la méthode:

Une comparaison des valeurs de RNI déterminées avec Thromboplastin LI et deux Thromboplastines de référence OMS a permis d'obtenir les équations de corrélation suivantes:

Thromboplastin LI = 0,9936 (RTF95) + 0,0129	r ² = 0,9834	n = 79
Thromboplastin LI = 0,9589 (BCT441) + 0,1543	r ² = 0,9500	n = 79

RÉFÉRENCES

- Quick AJ (1935) A Study of the Coagulation Defect in Hemophilia and Jaundice, *Am. J. Med. Sci*, **190**: 501.
- Biggs R (1976) Human Blood Coagulation, Haemostasis and Thrombosis, 2nd Edition, Blackwell Scientific Publications, London.
- Hirsh J, Poller L, Deykin D, Levine J, Dalen JE (1989) Optimal Therapeutic Range for Oral Anticoagulants, *Chest*, **95**: 5S-11S.
- Poller L (1986) Laboratory Control of Anticoagulant Therapy, *Sem. Thromb. Haemostasis*, **12**: 13-19.
- World Health Organisation (1984) Expert Committee on Biological Standards, *Technical Series*, **700**: 19.
- 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.
- Poller L, Triplett DA, Hirsh J, Carroll J, Clarke K (1995) The value of plasma calibrants in correcting coagulometer effects on International Normalised Ratios (INR): An international multicentre study, *Amer. J. Clin. Pathol*, **103**: 358-365.
- Poller L, Triplett DA, Hirsh J, Carroll J, Clarke K (1995) A comparison of lyophilised artificially depleted plasmas and lyophilised plasmas from warfarin treated patients in correcting for coagulometer effects on International Normalised Ratios, *Amer. J. Clin. Pathol*, **103**: 366-371.
- Keeling D (2011) Guidelines on Oral Anticoagulation with warfarin: Forth Edition, *British Journal of Haematology*, **154**(3): 311-324.

Thromboplastin LI

Anleitung



ANWENDUNGSBEREICH

Die erste standardisierte Prothrombinzeit als Einstufen-Test wurde 1935 von Dr. Armand Quick entwickelt. Mittlerweile ist er der Standard-Screeningtest in der Gerinnung zur Diagnose eines vererbten oder erworbenen Gerinnungsfaktormangels des extrinsischen Systems (Faktor II, V, VII und X)^{1,2}. Er wird auch zur Einstellung und Überwachung von oralen Antikoagulanttherapien³⁻⁴ verwendet und kann bei chronischen und akuten Lebererkrankungen zur Beurteilung der Funktionsfähigkeit der Leber bei der Proteinsynthese herangezogen werden.

Thromboplastin LI wird aus Kaninchenhirn gewonnen, äthnet aber mit seinem niedrigen „International Sensitivity Index“ (ISI) humaner Blutgerinnungszeit. Der ISI von Thromboplastin LI liegt bei ca. 1,1 (mit manuellen Kalibrationsmethoden) und ist gegen WHO „International Reference Preparation“ kalibriert⁵. Thromboplastin LI ist besonders für die Überwachung oraler Antikoagulanttherapien geeignet und, in Verbindung mit dem entsprechenden Faktor-Mangelplasma, bei der Messung von Faktoraktivitäten im extrinsischen System. Gewebethromboplastin ist in Anwesenheit von Calcium-Ionen ein Aktivator, der das extrinsische Gerinnungssystem auslöst. Gibt man eine Mischung von Gewebethromboplastin und Calcium-Ionen zu normalem Citralplasma, wird die Gerinnungskaskade aktiviert und es bildet sich ein Fibringerinnsel. Besteht innerhalb des extrinsischen Systems ein Mangel, verlängert sich, je nach Schwere dieses Mangels, die Zeit bis zur Ausbildung eines Gerinnsels.

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 die Sicherheitsdatenblätter mit Gefahrenhinweisen und Sicherheitsvorschlägen 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 nicht auf Kit-Verpackung oder Flaschen anders bezeichnet). Sie sollten trotzdem mit derselben Vorsicht wie humane Plasmaproben behandelt werden.

INHALT

Komponente	Inhalt	Beschreibung	Vorbereitung
Thromboplastin LI	4 x 2,5 mL (REF 5265H) 10 x 2,5 mL (REF 5265) 10 x 5 mL (REF 5267) 10 x 10 mL (REF 5269)	Jedes Fläschchen enthält eine Suspension von Thromboplastin aus Kaninchenhirn. Das Reagenz besteht aus einer feinen Suspension aus Kaninchenhirn gewebe.	Den Inhalt des Fläschchens vor und während des Gebrauchs gut mischen.
Calcium Chloride: 0.025M	4 x 2,5 mL (REF 5265H) 10 x 2,5 mL (REF 5265) 10 x 5 mL (REF 5267) 10 x 10 mL (REF 5269)	Jedes Fläschchen enthält 0,025 M Calcium Chloride-Lösung. Das Reagenz ist eine klare, farblose Flüssigkeit.	Das Reagenz ist gebrauchsfertig verpackt.

Jedes Kit enthält eine Gebrauchsanweisung

Jedes Kit enthält chargenspezifischen Referenzwerten

NICHT MITGELIEFERTES, ABER BENÖTIGTES MATERIAL

REF 5519	ISI Calibrant Plasma Set
REF 5490	INR Reference Set
REF 5186	Routine Control N
REF 5187	Routine Control A
REF 5183	Routine Control SA

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

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

Thromboplastin LI Geöffnete Fläschchen sind bei *2 –8°C 1 Monat und bei *15 –30°C 5 Tage stabil. Die Gebrauchslösung (vermischt mit Calcium Chloride) ist bei *2 –8°C 10 Tage oder bei 15-30°C 5 Tage stabil. NICHT EINFRIEREN. Große Verklumpungen oder Veränderungen in den Normalwerten können auf eine Verfall des Produkts hinweisen.

Calcium Chloride: 0.025M Geöffnete Fläschchen sind bei *2 –8°C 1 Monat oder bei *15 –30°C 5 Tage stabil. Schwebstoffe, Trübung oder eine Veränderung in der erwarteten Leistung des Tests kann auf einen Verfall des Produkts hinweisen.

PROBENENTNAHME UND VORBEREITUNG

Nur Plastik oder Silikon Glas verwenden. Blut (9 Teile) sollte in 3,2% oder 3,8% Natriumcitrat als Antikoagulant (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. Der Testen schnell bei *37°C auftauen. Nicht länger als 5 Minuten bei *37°C belassen⁶.

VERFAHREN

Um einen korrekten INR zu erhalten wird empfohlen, den laborspezifischen ISI für das Reagenz mit dem verwendeten Testsystem zu bestimmen. Helena Biosciences Europe empfiehlt zu diesem Zweck das Plasma-Kalibrator-Set REF 5519^{7,8}. Das sollte mit jeder neuen Reagenzien-Charge durchgeführt werden. Das Helena Biosciences Europe INR Reference Set (REF 5490) dient zur Überprüfung von Verschiebungen im ISI vor Ort, die unter anderem durch Veränderungen der Labortemperatur und nach Wartungsarbeiten an den Geräten festgestellt worden sind.

Manuelle Methode

- Ausreichend Thromboplastin LI und Calcium Chloride-Lösung für das erwartete Probenaufkommen 1 + 1 mischen und bei *37°C nicht länger als 8 Stunden inkubieren.
- 0,1 mL des zu testenden Plasmas bei *37°C 2 Minuten vorwärmen.
- 0,2 mL des frisch zubereiteten Thromboplastin-Reagenz zum Plasma pipettieren, dabei gleichzeitig Stoppuhr drücken.
- Die Zeit bis zur Gerinnselbildung bis auf 0,1 Sekunden genau stoppen.

Automatisierte Methoden

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

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Ergebnisse sollten bis auf 0,1 Sekunden genau gemessen werden und Doppelbestimmungen nicht mehr als 5% abweichen. % TPZ-Werte können ausgehend von der Kalibratorkurve interpoliert werden. (% TPZ des TP-Kalibrationsplasmas zu gemessener Gerinnungszeit) und sollten auf doppellogarithmischem Millimeterpapier eine gerade Linie ergeben.

INR-Werte können anhand der folgenden INR = (PT Zeit Patient / Mittelwert normale TPZ)^{ISI} Formel berechnet werden:

Für klare Leitlinien zu den Indikationen für und der Versorgung von Patienten unter Warfarin siehe die aktuelle Ausgabe der "Guidelines on oral anticoagulation with warfarin" der British Society for Haematology. Zum Zeitpunkt der Drucklegung ist das die 4. Ausgabe, 2011⁹.

EINSCHRÄNKUNGEN

Die Verwendung einer Serienverdünnung von Referenzplasma ist für die %PT-Kurve nicht zu empfehlen, da das zu Diskrepanzen aufgrund von niedrigem Fibrinogen in den Referenzplasma-Verdünnungen führen kann, das nicht den Patientenproben entspricht, die in der Regel normale Fibrinogen-Werte haben.

QUALITÄTSKONTROLLE

Jedes Labor muss für eine eigene Qualitätskontrolle sorgen. Vor jeder Testreihe mit Patientenproben müssen normale und pathologische Plasmas gemessen 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 5186	Routine Control N
REF 5187	Routine Control A
REF 5183	Routine Control SA
REF 5490	INR Reference Set

REFERENZWERTE

Referenzwerte können je nach Technik und verwendetem System von Labor zu Labor unterschiedlich sein. Aus diesem Grund sollte jedes Labor seine eigenen Referenzwertbereiche erstellen. Dieses ist besonders für die ISI-Kalibration vor Ort wichtig. Normalwerte für die manuelle Technik (Kippmethode) liegen bei 12,5–16,5 Sekunden.

LEISTUNGSEIGENSCHAFTEN

Die folgenden Leistungseigenschaften wurden von Helena Biosciences Europe oder in ihrem Auftrag mit einem optomechanischen Gerinnungsgerät ermittelt. Jedes Labor muss seine eigenen Werte ermitteln.

Reproduzierbarkeit

	Intra-assay-Präzision				Inter-assay-Präzision				Inter-batch-Präzision			
Probe	n	Gerinnseilbildung (sekunden)	CV (%)		n	Gerinnseilbildung (sekunden)	CV (%)		n	Gerinnseilbildung (sekunden)	CV (%)	
Normale	10	17,0	0,92	100	13,7	2,09	3	13,1	2,0			
Pathologische	10	26,9	1,09	100	23,0	2,38	3	27,3	3,3			
Pathologische				100	25,6	2,15	3	44,0	2,2			

Helena Thromboplastin LI ist unempfindlich gegenüber Heparinwerten bis zu 2 Einheiten/mL.

Methodenvergleich:

Der Vergleich von INR-Werten bestimmt mit Thromboplastin LI und zwei WHO Referenzthromboplastinen ergab die folgenden Korrelationsgleichungen:

Thromboplastin LI = 0,9936 (RTF95) + 0,0129	r ² = 0,9834	n = 79
Thromboplastin LI = 0,9589 (BCT441) + 0,1543	r ² = 0,9500	n = 79

REFERENZEN

- Quick AJ (1935) A Study of the Coagulation Defect in Hemophilia and Jaundice, *Am. J. Med. Sci*, **190**: 501.
- Biggs R (1976) Human Blood Coagulation, Haemostasis and Thrombosis, 2nd Edition, Blackwell Scientific Publications, London.
- Hirsh J, Poller L, Deykin D, Levine J, Dalen JE (1989) Optimal Therapeutic Range for Oral Anticoagulants, *Chest*, **95**: 5S-11S.
- Poller L (1986) Laboratory Control of Anticoagulant Therapy, *Sem. Thromb. Haemostasis*, **12**: 13-19.
- World Health Organisation (1984) Expert Committee on Biological Standards, *Technical Series*,

Thromboplastin LI

Istruzioni per l'uso

USO PREVISTO

Il primo test del tempo di protrombina standardizzato venne messo a punto dal Dr. Armand Quick nel 1935. Attualmente, questo test è diventato il metodo basilare di screening della coagulazione per la diagnosi di deficienze congenite ed acquisite dei fattori di coagulazione dal percorso estrinseco (fattori II, V, VII e X)^{1,2}. Questo test viene utilizzato anche per l'induzione e il monitoraggio della terapia anticoagulante orale^{3,4} e può essere impiegato per valutare la capacità di sintesi proteica del fegato in disordini epatici cronici o acuti.

Il kit Thromboplastin LI è realizzato a partire da cervello di coniglio, ma rassomiglia a BCT umano in termini di basso indice di sensibilità internazionale (ISI). L'ISI del kit Thromboplastin LI è approssimativamente pari a 1,1 (se si utilizzano tecniche di calibrazione manuali) ed è calibrato rispetto alla preparazione di riferimento internazionale dell'OMS⁵. Il kit Thromboplastin LI è particolarmente indicato per il monitoraggio della terapia anticoagulante orale e, in combinazione con plasma carente del fattore appropriato, per la misurazione dell'attività del fattore nel percorso estrinseco. In presenza di ioni di calcio, la tromboplastina tissutale è un attivatore che dà inizio al percorso di coagulazione estrinseco. Quando una miscela di tromboplastina tissutale e di ioni di calcio viene aggiunta a normale plasma citrato, si attiva il meccanismo di coagulazione che porta alla formazione di un coagulo di fibrina. Qualora sussista una deficienza all'interno del percorso estrinseco, il tempo richiesto per la formazione del coagulo risulterà prolungato in funzione della gravità della deficienza.

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. 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

Componente	Contiene	Descrizione	Preparazione
Thromboplastin LI	4 x 2,5 mL (REF 5265H) 10 x 2,5 mL (REF 526S) 10 x 5 mL (REF 5267) 10 x 10 mL (REF 5269)	Ogni flacone contiene una sospensione di tromboplastina di cervello di coniglio. Il reagente è costituito da una sospensione fine di tessuto cerebrale di coniglio.	Il contenuto del flacone deve essere miscelato accuratamente prima e durante l'uso.
Calcium Chloride: 0,025M	4 x 2,5 mL (REF 5265H) 10 x 2,5 mL (REF 526S) 10 x 5 mL (REF 5267) 10 x 10 mL (REF 5269)	Ogni flacone contiene 0,025 M di soluzione di Calcium Chloride. Il reagente è costituito da una soluzione incolore trasparente.	Il reagente è in confezione pronta all'uso.
Ogni kit contiene un Istruzioni per l'uso.			
Ogni kit contiene un inserto recante i valori di riferimento specifici per il lotto.			

MATERIALI NECESSARI, MA NON IN DOTAZIONE

REF 5519	ISI Calibrant Plasma Set
REF 5490	INR Reference Set
REF 5186	Routine Control N
REF 5187	Routine Control A
REF 5183	Routine Control SA

CONSERVAZIONE 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

Thromboplastin LI	I flaconi aperti sono stabili per 1 mese a *2 –8°C e per 5 giorni a *15 –30°C. Il reagente attivo (miscelato con Calcium Chloride) è stabile per 10 giorni a *2 –8°C o per 5 giorni a *15 –30°C. NON CONGELARE. Ammassi consistenti di particelle o variazioni nei valori previsti possono essere indice di deterioramento del prodotto.
Calcium Chloride: 0.025M	I flaconi aperti sono stabili per 1 mese a *2 –8°C o per 5 giorni a *15 –30°C. La contaminazione particellare, la torbidità o una variazione delle prestazioni previste possono essere indice di deterioramento del prodotto.

RACCOLTA DEI CAMPIONI E PREPARAZIONE

Nel corso dell'intera procedura è necessario utilizzare plastica o vetro silicizzato. Il sangue (9 parti) deve essere raccolto in sodio citrato al 3,2% o al 3,8% come anticoagulante (1 parte). Separare il plasma in seguito a centrifugazione a 1500 x g per 15 minuti. Il plasma deve essere conservato a *2 –8°C o *18 –24°C. I test devono essere completati entro 4 ore dalla raccolta dei campioni; in alternativa, il plasma può essere conservato congelato a -20°C per 2 settimane o a -70°C per 6 mese. Decongelare rapidamente a *37°C prima di eseguire i test. Non conservare a *37°C per oltre 5 minuti⁶.

PROCEDURA

Per un rilevamento accurato dell'INR si raccomanda di determinare l'ISI specifico del laboratorio per il reagente con il sistema di test in uso. A tale scopo si raccomanda il ISI Calibrant Plasma Set (REF 5519) di Helena Biosciences Europe[®]. Questa procedura deve essere eseguita per ogni nuovo lotto di reagente. L'INR Reference Set (REF 5490) di Helena Biosciences Europe deve invece essere utilizzato per rilevare eventuali spostamenti dell'ISI del sistema locale osservati in concomitanza con cambiamenti della temperatura del laboratorio e in seguito a manutenzione dello strumento, tra le altre variazioni locali.

Metodo Manuale

- Miscelare una quantità sufficiente di Thromboplastin LI e soluzione di Calcium Chloride 1 + 1 per completare i test previsti per la giornata e incubare a *37°C per un massimo di 8 ore.
- Preiscaldare 0,1 mL di plasma di prova a *37°C per 2 minuti.
- Aggiungere al plasma 0,2 mL di reagente a base di tromboplastina appena miscelato, azionando contemporaneamente un cronometro.
- Annotare il tempo di formazione del coagulo con un'approssimazione a 0,1 secondi.

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 devono essere indicati con un'approssimazione a 0,1 secondi e le ripetizioni devono corrispondere con una tolleranza del 5%. I valori di %PT possono essere interpolati dal grafico di calibrazione (%PT del plasma di calibrazione PT vs tempo di coagulazione rilevato), che, se tracciato su carta a doppia scala logaritmica, deve apparire sotto forma di linea retta.

I valori di INR possono essere calcolati utilizzando la seguente formula:

INR = (Tempo di PT Paziente / Tempo di PT normale medio)^{ISI}

Per una guida chiara sulle indicazioni per la gestione dei pazienti con warfarina fare riferimento a The British Society for Haematology per la loro edizione più aggiornata delle "Linee guida sull'anticoagulazione orale con warfarina". Al momento della stampa questa è la quarta edizione del 2011⁶.

LIMITAZIONI

Si consiglia l'impiego di diluizioni seriali di un plasma di riferimento per la curva %PT, che infatti possono dare luogo a discrepanze dovute al basso livello di fibrinogeno nelle diluizioni del plasma di riferimento, che non compaiono invece nei campioni dei pazienti con livelli di fibrinogeno prevalentemente normali.

CONTROLLO QUALITÀ

Ogni laboratorio deve definire un programma di controllo qualità. I plamsi 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 5186	Routine Control N
REF 5187	Routine Control A
REF 5183	Routine Control SA
REF 5490	INR Reference Set

VALORI DI RIFERIMENTO

Per la sicurezza del paziente, è necessario che il sistema sia monitorato continuamente da un operatore qualificato. Per tale motivo ciascun laboratorio dovrà elaborare i propri range di riferimento. Ciò è particolarmente importante per la calibrazione dell'ISI locale. Utilizzando la tecnica manuale (con inclinazione della provetta), i valori normali compresi tra 12,5 e 16,5 secondi sono tipici.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Le seguenti caratteristiche prestazionali sono state determinate da Helena Biosciences Europe o dai propri rappresentanti con l'utilizzo di uno strumento di coagulazione opto-meccanico. Ciascun laboratorio dovrà pertanto elaborare i propri dati prestazionali.

Riproducibilità		Precisione intra-dosaggio			Precisione tra i dosaggi			Precisione tra i lotti		
<i>Campione</i>	<i>n</i>	<i>Formazione del coagulo (secondi)</i>	<i>CV (%)</i>		<i>n</i>	<i>Formazione del coagulo (secondi)</i>	<i>CV (%)</i>		<i>n</i>	<i>Formazione del coagulo (secondi)</i>
Normali	10	17,0	0,92	100	100	13,7	2,09	3	13,1	2,0
Anormali	10	26,9	1,09	100	23,0	2,38	3	27,3	3,3	
Anormali				100	25,6	2,15	3	44,0	2,2	

La tromboplastina LI Helena non è sensibile ai livelli di eparina di oltre 2 U/mL.

Confronto dei metodi:

Il confronto dei valori di INR determinati utilizzando il kit Thromboplastin LI e due tromboplastine di riferimento dell'OMS ha portato alle seguenti equazioni di correlazione:

Thromboplastin LI = 0,9936 (RTF95) + 0,0129	<i>r</i> ² = 0,9834	<i>n</i> = 79
Thromboplastin LI = 0,9589 (BCT441) + 0,1543	<i>r</i> ² = 0,9500	<i>n</i> = 79

RIFERIMENTI

- Quick AJ (1935) A Study of the Coagulation Defect in Hemophilia and Jaundice, *Am. J. Med. Sci.* **190**: 501.
- Biggs R (1976) Human Blood Coagulation, Haemostasis and Thrombosis, 2nd Edition, Blackwell Scientific Publications, London.
- Hirsh J, Poller L, Deykin D, Levine J, Dalen JE (1989) Optimal Therapeutic Range for Oral Anticoagulants, *Chest*, **95**: 5S-11S.
- Poller L (1986) Laboratory Control of Anticoagulant Therapy, *Sem. Thromb. Haemostasis*, **12**: 13-19.
- World Health Organisation (1984) Expert Committee on Biological Standards, *Technical Series*, **700**: 19.
- 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.
- Poller L, Triplett DA, Hirsh J, Carroll J, Clarke K (1995) The value of plasma calibrants in correcting coagulometer effects on International Normalised Ratios (INR): An international multicentre study, *Amer. J. Clin. Pathol*, **103**: 358-365.
- Poller L, Triplett DA, Hirsh J, Carroll J, Clarke K (1995) A comparison of lyophilised artificially depleted plasmas and lyophilised plasmas from warfarin treated patients in correcting for coagulometer effects on International Normalised Ratios, *Amer. J. Clin. Pathol*, **103**: 366-371.
- Keeling D (2011) Guidelines on Oral Anticoagulation with warfarin: Forth Edition, *British Journal of Haematology*, **154**(3): 311-324.

Thromboplastin LI

Instrucciones de uso

USO PREVISTO

La primera prueba estandarizada de la protrombina en una sola etapa fue desarrollada por el Dr. Armand Quick en 1935. Ahora se ha convertido en la prueba de cribado básico de la coagulación para el diagnóstico de deficiencias congénitas y adquiridas de factores de coagulación de la vía extrínseca (factores II, V, VII y X)^{1,2}. Se usa también para la inducción y monitorización del tratamiento anticoagulante oral^{3,4} y puede usarse para valorar la capacidad de síntesis de proteínas del hígado en trastornos hepáticos crónicos o agudos.

La Tromboplastin LI tiene su origen en cerebro de conejo, pero se parece a la BCT humana en su bajo Índice de Sensibilidad Internacional (ISI). El ISI de Tromboplastin LI es de aproximadamente 1,1 (usando técnicas de calibración manual) y se calibra contra el preparado de referencia internacional de la OMS⁵. La prueba de Tromboplastin LI está especialmente adaptada a la monitorización del tratamiento anticoagulante oral y, conjuntamente con el plasma deficiente en el factor oportuno, la medición de la actividad de los factores en la vía extrínseca. La tromboplastina tisular, en presencia de iones calcio, es un activador que inicia la vía extrínseca de la coagulación. Cuando se añade una mezcla de tromboplastina tisular e iones calcio al plasma normal citratado, se activa el mecanismo de coagulación, conduciendo a un coágulo de fibrina. Si se produce una deficiencia dentro de la vía extrínseca, el tiempo necesario para la formación de coágulos se prolongará dependiendo de la intensidad de la deficiencia.

AVERTENCIAS 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, avisos de seguridad y consejos para su eliminación. Los productos plasmáticos se han sometido a pruebas 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

Componente	Contiene	Descripción	Preparación
Thromboplastin LI	4 x 2,5 mL (REF 5265H) 10 x 2,5 mL (REF 526S) 10 x 5 mL (REF 5267) 10 x 10 mL (REF 5269)	Cada vial contiene suspensión de tromboplastina de cerebro de conejo. El reactivo es una suspensión fina de tejido cerebral de conejo.	Los contenidos del vial deben mezclarse bien antes y durante su uso.
Calcium Chloride: 0,025M	4 x 2,5 mL (REF 5265H) 10 x 2,5 mL (REF 526S) 10 x 5 mL (REF 5267) 10 x 10 mL (REF 5269)	Cada vial contiene solución de Calcium Chloride 0,025 M. El reactivo es una solución transparente, incolora.	El reactivo viene envasado listo para usar.
Cada kit contiene instrucciones de uso.			
Cada kit contiene valores de referencia específicos insertados del lote.			

ARTÍCULOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

REF 5519	ISI Calibrant Plasma Set
REF 5490	INR Reference Set
REF 5186	Routine Control N
REF 5187	Routine Control A
REF 5183	Routine Control SA

ALMACENAJE 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.

Thromboplastin LI	Los viales abiertos son estables 1 mes a *2 –8°C y 5 días a *15 –30°C. El reactivo de trabajo (mezclado con Calcium Chloride) es estable durante 10 días a *2 –8°C o 5 días a *15 –30°C. NO CONGELAR. Los grumos grandes de partículas o los cambios en los valores esperados pueden indicar deterioro del producto.
Calcium Chloride: 0.025M	Los viales abiertos son estables durante 1 mes a *2 –8°C 6 5 días a *15 –30°C. La contaminación particulada, la turbiedad o un cambio en el rendimiento esperado pueden indicar deterioro del producto.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Debe usarse siempre plástico o vidrio silicizado. Debe recogerse sangre (9 partes) en el anticoagulante citrato sódico al 3,2% o al 3,8% (1 parte). Separar el plasma después de la centrifugación a 1500 x g durante 15 minutos. El plasma debe conservarse a *2 –8°C o *18 –24°C. Las pruebas deberían terminarse en 4 horas desde la recogida de las muestras o el plasma puede conservarse congelado a -20°C durante 2 semanas o -70°C durante 6 mes. Descongelar rápidamente a *37°C antes de realizar la prueba. No conservar a *37°C durante más de 5 minutos⁶.

PROCEDIMIENTO

Para la calibración exacta del INR, se recomienda determinar la ISI específica del laboratorio del reactivo con el sistema de prueba in uso. Se recomienda el ISI Calibrant Plasma Set de Helena Biosciences Europe (REF 5519) para este fin⁶. Esto debe realizarse para cada nuevo lote de reactivos. Debe usarse el Set de Referencia de INR de Helena Biosciences Europe (REF 5490) para comprobar las desviaciones en el ISI del sistema local que se han observado con cambios en la temperatura del laboratorio y el mantenimiento posinstrumental, entre otras variaciones locales.

Método Manual

- Mezcle suficiente Tromboplastina LI y solución de Calcium Chloride 1 + 1, para realizar la prueba esperada para el día e incube a *37°C durante no más de 8 horas.
- Precalente 0,1 mL del plasma de prueba a *37°C durante 2 minutos.
- Añada 0,2 mL de reactivo de tromboplastina recién mezclado al plasma mientras pone en marcha simultáneamente un cronómetro.
- observa el tiempo hasta la formación del coágulo procurando afinar en la décima 0,1 de segundo más próxima.

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 RESULTADOS

Los resultados deben comunicarse en los 0,1 segundos más próximos y las pruebas duplicadas deben estar de acuerdo entre sí dentro del 5%. Los valores de %TP pueden interpolarse a partir del gráfico de calibración (%TP de los plasmas de calibración del TP frente al tiempo de coágulo medio) que debe ser una línea recta cuando se representa en un papel de gráficos log-log.

Los valores de INR pueden calcularse usando la siguiente fórmula:

INR = (Tiempo de TP Paciente / Tiempo de TP normal medio)^{ISI}

Si necesita una guía clara de indicaciones y tratamiento de pacientes con warfarina, consulte The British Society for Haematology y su última edición de "Guidelines on oral anticoagulation with warfarin" que, en el momento de impresión de este documento, se encuentra en su cuarta edición de 2011⁶.

LIMITACIONES

El uso de diluciones seriadas de un plasma de referencia para la curva de %TP no se recomienda, porque puede llevar a discrepancias producidas por el bajo fibrinógeno en las diluciones del plasma de referencia, que no se reflejan en las muestras de pacientes que tienen fundamentalmente niveles normales de fibrinógeno.

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 5186	Routine Control N
REF 5187	Routine Control A
REF 5183	Routine Control SA
REF 5490	INR Reference Set

VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia pueden variar entre los laboratorios dependiendo de las técnicas y sistemas usados. Por esta razón, cada laboratorio debe establecer su propio intervalo normal. Esto es especialmente importante para la calibración local del ISI. Usando la técnica manual (tubo inclinado), son típicos los valores normales que van de 12,5 a 16,5 segundos.

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

Las siguientes características de rendimiento han sido determinadas por Helena Biosciences Europe o sus representantes usando un instrumento de coagulación opto-mecánico. Cada laboratorio debe establecer su propios datos de rendimiento.

Reproducibilidad		Precisión intra-ensayo			Precisión inter-ensayo			Precisión inter-lote		
<i>Muestra</i>	<i>n</i>	<i>Formación del coágulo (segundo)</i>	<i>CV (%)</i>		<i>n</i>	<i>Formación del coágulo (segundo)</i>	<i>CV (%)</i>		<i>n</i>	<i>Formación del coágulo (segundo)</i>
Normales	10	17,0	0,92	100	100	13,7	2,09	3	13,1	2,0
Anormales	10	26,9	1,09	100	23,0	2,38	3	27,3	3,3	
Anormales				100	25,6	2,15	3	44,0	2,2	

Helena Tromboplastin LI no detecta niveles de heparina inferiores a 2 U/mL.

Comparación del método:

La comparación de los valores de INR determinados usando Tromboplastina-LI de y dos Tromboplastinas de Referencia de la OMS dio las siguientes ecuaciones de correlación:

Thromboplastin LI = 0,9936 (RTF95) + 0,0129	<i>r</i> ² = 0,9834	<i>n</i> = 79
Thromboplastin LI = 0,9589 (BCT441) + 0,1543	<i>r</i> ² = 0,9500	<i>n</i> = 79

REFERENCIAS

- Quick AJ (1935) A Study of the Coagulation Defect in Hemophilia and Jaundice, *Am. J. Med. Sci.* **190**: 501.
- Biggs R (1976) Human Blood Coagulation, Haemostasis and Thrombosis, 2nd Edition, Blackwell Scientific Publications, London.
- Hirsh J, Poller L, Deykin D, Levine J, Dalen JE (1989) Optimal Therapeutic Range for Oral Anticoagulants, *Chest*, **95**: 5S-11S.
- Poller L (1986) Laboratory Control of Anticoagulant Therapy, *Sem. Thromb. Haemostasis*, **12**: 13-19.
- World Health Organisation (1984) Expert Committee on Biological Standards, *Technical Series*, **700**: 19.
- 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.
- Poller L, Triplett DA, Hirsh J, Carroll J, Clarke K (1995) The value of plasma calibrants in correcting coagulometer effects on International Normalised Ratios (INR): An international multicentre study, *Amer. J. Clin. Pathol*, **103**: 358-365.
- Poller L, Triplett DA, Hirsh J, Carroll J, Clarke K (1995) A comparison of lyophilised artificially depleted plasmas and lyophilised plasmas from warfarin treated patients in correcting for coagulometer effects on International Normalised Ratios, *Amer. J. Clin. Pathol*, **103**: 366-371.
- Keeling D (2011) Guidelines on Oral Anticoagulation with warfarin: Forth Edition, *British Journal of Haematology*, **154**(3): 311-324.

Тест-система "Жидкий тромбопластин"

инструкция

ПРИМЕНЕНИЕ

Впервые стандартизированный одностадийный тест для определения протромбинового времени был предложен д-ром Армандом Квиком в 1935г. Сейчас он стал основным скрининговым тестом для диагностики врожденного и приобретенного дефицитов факторов свертывания крови по внешнему пути (факторы II, V, VII и X)^{1,2}. Он также используется для мониторинга терапии оральными антикоагулантами^{3,4}, а также может применяться и для оценки белок синтетической функции печени при ее острых либо хронических заболеваниях.

Реагент приготовлен из экстракта ткани мозга кролика и по значению своего МИЧ (Международного Индекса Чувствительности) сопоставим со Стандартом Тромбопластина Британии (BCT – British Comparative Thromboplastin). МИЧ Жидкого тромбластина примерно равен 1.1 (при использовании ручного метода калибровки) и откалиброван относительно международного референса ВОЗ⁵. Жидкий тромбопластин особенно подходит для мониторинга терапии оральными антикоагулянтами и для измерения активности факторов внешнего пути свертывания(вместе с соответствующей фактор-дефицитной плазмой). Такевый тромбопластин в присутствии йонов кальция является активатором внешнего пути свертывания крови. При добавлении смеси тканевого тромбластина с кальцием к нормальной цитратной плазме активируется механизм её свертывания, приводящий к образованию фибринового сгустка. Если у пациента имеет место дефицит факторов внешнего пути, то время, необходимое для образования сгустка будет удлиняться прямо пропорционально степени дефицита факторов.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Реактивы, содержащиеся в наборе, предназначены только для *in-vitro* диагностики. При работе с любым из компонентов набора применяйте соответствующую защитную одежду (одноразовые резиновые или пластиковые перчатки и т.д.). Ознакомьтесь с инструкцией по мерам предосторожности. Тестирование контрольной плазмы (либо реагента) на содержание антигена вируса гепатита В (HBSAg), антиген к HIV I и II антиген и HCV дадо отрицательный результат (за исключением, если последнее не указано на упаковке или флаконе), тем не менее, при работе с ней/ним следует соблюдать такую же осторожность, как и при работе с образцами плазмы крови человека.

СОСТАВ РЕАГЕНТОВ

Компоненты	Состав набора	Описание	Приготовление реагентов
Жидкий тромбопластин	4 x 2,5 mL (Kat.№ 5265H) 10 x 2,5 mL (Kat.№ 526S) 10 x 5 mL (Kat.№ 5267) 10 x 10 mL (Kat.№ 5269)	Каждый флакон содержит суспензию реагента тромбластина, приготовленного из экстракта ткани мозга кролика.	Перед и в процессе использования содержимое флакона нужно тщательно перемешивать.
Хлорид кальция: 0,025M	4 x 2,5 mL (Kat.№ 5265H) 10 x 2,5 mL (Kat.№ 526S) 10 x 5 mL (Kat.№ 5267) 10 x 10 mL (Kat.№ 5269)	Каждый флакон содержит 0,025 M раствор хлорида кальция. Реактив представляет собой прозрачную, бесцветную жидкость.	Реагент поставляется в готовом для использования виде.

Каждый набор содержит инструкцию по применению.

Вкладыш с указанием референсных значений к различным анализаторам и методам исследования, характерным для данного лота.