

## INTENDED PURPOSE

Lupus Anticoagulants (LA's) are antibodies of the IgG and IgM type which are directed against a variety of anionic phospholipids. The presence of LA's in plasma is increasingly associated with a variety of haemostatic problems such as recurrent foetal loss, thrombocytopaenia, unexplained thrombosis and neurological disorders. LA's prolong phospholipid dependant in vitro clotting assays such as the APTT. The Helena BioSciences DRVVT-Screen kit is intended for the qualitative determination of Lupus Anticoagulants (LA's) in human plasma. Russell's Viper Venom directly activates Factor X to Factor Xa in the presence of phospholipid and calcium, leading to detectable clot formation in plasma. The DRVVT-Screen kit is more sensitive for LA's than the APTT. The DRVVT-Screen kit is intended to be used in conjunction with the DRVVT-Confirm kit (REF 5485).

## 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.

## COMPOSITION

### 1. DRVVT Screen Reagent (10 x 2ml)

Each vial contains a proprietary mixture of Russell's Viper Venom co-lyophilised with calcium chloride and phospholipid. Preparation: Reconstitute each vial with 2ml of distilled/deionised water. Allow to stand for 10 minutes and mix well before use (Do not shake).

### 2. Other kit components

Each kit contains Instructions For Use .

## STORAGE AND SHELF-LIFE

### 1. DRVVT Screen Reagent

Unopened vials are stable until the given expiry date when stored under conditions indicated on the vial or kit label. Reconstituted vials are stable for 24 hours at 15...30°C, 5 days at 2...6°C or 2 weeks at -20°C, AC-4 Pos 37 @ 37°C = 24hrs. . The reagent should be frozen in plastic test tubes and thawed at 37°C before use.

## ITEMS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

REF 5485 DRVVT-Confirm Kit 10 x 1ml  
REF 5499 Normal Plasma (e.g. Norm-Trol 1) 10 x 3ml  
REF 5186 Normal Plasma (e.g. Norm-Trol 1) 10 x 1ml

## 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 - 3000xg for 15 minutes. Residual platelets should be removed by either filtration through a 0.22mm disposable filter, or re-centrifugation. 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

### 1. Automated Methods, AC-4.(x260 samples)

Refer to the appropriate AC-4 Operators Manual for detailed instructions.

START =11s	METHOD =Coag	MIX=0	PATIENT (Pat) vol=75µL pos=36 (CP)	Def. (DP) Vol=0µL	Plasma
INCUB =0s	MATH =lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0µL	R1 Vol=0µL	
RUNTIME =240s	SENS =1	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0µL	R2 Vol=75µL Pos=37(DRVVT -Screen)	

### 2. Manual Method

- Pre-warm sufficient reconstituted reagent to 37°C.
- Pipette 0.2ml of patient or control plasma into a reaction tube. Incubate at 37°C for 2 minutes.
- Add 0.2ml of pre-warmed DRVVT-Screen Reagent and start a timer.
- Measure the clot formation time to the nearest 0.1 seconds.
- Calculate the ratio

Patient DRVVT-Screen Clot Time  
Norm-Trol 1 DRVVT-Screen Clot Time

### 3. Automated Methods

The DRVVT-Screen test may be performed on most automated instruments. The instrument should be programmed to deliver equal volumes of plasma and reagent and both sample and reagent should be pre-warmed to 37°C for at least 2 minutes prior to mixing. Reagent tubing and reservoirs should be thoroughly rinsed and cleaned prior to performing other clotting or chromogenic tests. Refer to the appropriate Operators Manual for specific detailed instructions.

## INTERPRETATION OF RESULTS

Results are best expressed as a ratio relative to the clot times obtained on Norm-Trol 1. Both DRVVT-Screen and DRVVT-Confirm results can be 'normalised' in this way, reducing the effects of instrument variability and reagent batch differences. Results of mixing tests can be treated in the same way.

If the clot time of the patient samples are greater than 3 standard deviations above the mean of the normal range, a lupus anticoagulant may be present. In this case, the plasma should be re-tested after mixing 1:1 with Norm-Trol 1 as well as testing with the DRVVT-Confirm kit (Cat. No. 5485). If the DRVVT-Screen clotting time of the patient plasma mixed 1:1 with Norm-Trol 1 is still greater than 3 standard deviations above the mean of the normal range, a lupus anticoagulant may be present.

If the DRVVT-Screen clotting time of the patient plasma mixed 1:1 with Norm-Trol 1 is corrected to within the normal range, a factor deficiency (II, V or X) is most likely.

The Scientific and Standardisation Sub-Committee for the Standardisation of Lupus Anticoagulants of the International Society of Thrombosis and Haemostasis has recommended that the diagnosis of lupus anticoagulant be made when the DRVVT of a test plasma mixed with normal plasma is greater than 3 standard deviations from the mean normal (non-LA) plasma DRVVT time.

The use of the DRVVT-Confirm kit allows discrimination between LA, factor deficiency and other inhibitors.

## REFERENCE VALUES

Reference values can vary between laboratories depending on the techniques and systems in use. For this reason each laboratory should establish it's own normal range (range = mean ± 3sd's) using a minimum of twenty (20) healthy, male and female donors spanning the adult age range. If only frozen patient samples are tested, the normal reference range should be determined on frozen normal samples.

The normal reference range (mean ± 3sd's) determined at Helena BioSciences for the DRVVT-Screen test was 33.7 ± 8.1 seconds (range 25.6 - 41.8 seconds).

## LIMITATIONS

Plasma deficiencies of Factors II, V or X may lead to abnormal results in neat plasma. Mixing studies should correct this. Plasma from patients with the following may give abnormal results when the plasma is tested neat, and these samples may not correct in mixing studies: heparin (>1U/ml), oral anticoagulants, disseminated intravascular coagulation (DIC). Care must be taken to remove residual platelets from plasma by filtration or centrifugation, as platelet derived phospholipid can interfere with the test.

## QUALITY CONTROL

Each laboratory should establish a quality control program. Normal and abnormal control plasmas should be tested prior to each batch of patient samples, to ensure satisfactory instrument and operator performance. If controls do not perform as expected, patient results should be considered invalid.

Helena BioSciences supply the following controls available for use with this product:

REF 5486 DRVVT Positive Control 1 x 1ml

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Helena bioSciences or their representatives have determined the following performance characteristics as a guideline. Each laboratory should establish it's own performance data. Within run and between run CV's are expected to be <5%.

## BIBLIOGRAPHY

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

## UTILISATION

Les anticoagulants lupiques (LA) sont des anticorps d'isotype IgG ou IgM qui sont dirigés contre divers phospholipides anioniques. La présence de LA dans le plasma est de plus en plus associée à divers troubles hémostatiques comme des fausses couches répétées, une thrombocytopénie, une thrombose inexpliquée et des troubles neurologiques. Les LA allongent le temps de coagulation des tests in vitro dépendant des phospholipides comme le TCA.

Le kit de dépistage DRVVT Helena BioSciences est utilisé pour la détermination qualitative des anticoagulants lupiques (LA) dans le plasma humain.

Le venin de vipère Russell active directement le facteur X en catalisant Xa en présence de phospholipide et de calcium, ce qui entraîne la formation d'un caillot détectable dans le plasma.

Le kit de dépistage DRVVT est plus sensible aux LA qu'au TCA.

Le kit de dépistage DRVVT doit être utilisé conjointement avec le kit de confirmation DRVVT (REF 5485).

## 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.

## COMPOSITION

### 1. Réactif de dépistage DRVVT (10 x 2ml)

Chaque flacon contient un mélange exclusif de venin de vipère Russell co-lyophilisé avec du chlorure de calcium et des phospholipides. Préparation: Reconstituer chaque flacon en ajoutant 2ml d'eau distillée ou désionisée. Laisser reposer 10 minutes et bien mélanger avant utilisation (ne pas agiter).

### 2. Autres composants du kit

Chaque kit contient une fiche technique.

## STOCKAGE ET CONSERVATION

### 1. Réactif de dépistage DRVVT

Les flacons non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée s'ils sont conservés dans les conditions indiquées sur l'étiquette du kit ou du flacon. Une fois reconstitués, les flacons sont stables 24 heures à 15...30°C, 5 jours entre 2...6°C ou 2 semaines à -20°C, AC-4 Pos 37 @ 37°C = 24hrs. . Le réactif doit être congelé dans des tubes à essai en plastique et décongelé à 37°C avant utilisation.

## MATÉRIELS NÉCESSAIRES NON FOURNIS

REF 5485 Kit de confirmation DRVVT 10 x 1ml  
REF 5499 Plasma normal (par ex. Norm-Trol 1) 10 x 3ml  
REF 5186 Plasma normal (par ex. Norm-Trol 1) 10 x 1ml

## 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 2000xg - 3000xg pendant 15 minutes. Les plaquettes résiduelles doivent être éliminées soit par filtrage avec un filtre jetable de 0,22mm soit par une centrifugation supplémentaire.

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

### 1. Méthodes automatisées, AC-4. (x260 échantillons)

Se conformer au manuel d'utilisation de AC-4 correspondant pour avoir des instructions détaillées.

START =11s	METHOD =Coag	MIX=0	PATIENT (Pat) vol=75µL pos=36 (CP)	Def. (DP) Vol=0µL	Plasma
INCUB =0s	MATH =lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0µL	R1 Vol=0µL	
RUNTIME =240s	SENS =1	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0µL	R2 Vol=75µL Pos=37(DRVVT -Screen)	

### 2. Méthode manuelle

- Préchauffer une quantité suffisante de réactif reconstitué à 37°C.
- Pipeter 0,2ml de plasma patient ou contrôle dans un tube à essai. Incuber 2 minute à 37°C.
- Ajouter 0,2ml de réactif de dépistage DRVVT préchauffé et démarrer un chronomètre.
- Relever le temps de formation du caillot en arrondissant au dixième de seconde.
- Calculer le rapport

Temps de coagulation patient avec le réactif de dépistage DRVVT

Temps de coagulation du Norm-Trol 1 avec le réactif de dépistage DRVVT

### 3. Méthodes automatisées

Le test de dépistage DRVVT peut être réalisé sur la plupart des instruments automatisés. L'instrument doit être programmé pour délivrer des volumes égaux de plasma et de réactif et il doit préchauffer l'échantillon et le réactif à 37°C pendant au moins 2 minutes avant de procéder au mélange. Les tuyaux et les réservoirs utilisés pour le réactif doivent être intégralement rincés et nettoyés avant de réaliser d'autres tests chromogéniques ou de coagulation. Se conformer au manuel d'utilisation correspondant pour avoir des instructions détaillées à ce sujet.

## INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les résultats sont exprimés en un rapport dépendant du temps de coagulation obtenu avec le plasma normal NormTrol 1.

Il est ainsi possible « de normaliser » les résultats obtenus avec les réactifs Dépistage DRVVT et Confirmation DRVVT, ce qui réduit les effets de la variabilité de l'instrument et des différences entre les lots de réactifs. Il est possible de traiter les résultats des tests de plasma mélangé de la même façon.

Si le temps de coagulation de l'échantillon patient est supérieur à la moyenne de la plage normale de plus de 3 écarts-types, il est possible que des anticoagulants lupiques soient présents.

Dans ce cas, tester à nouveau le plasma après l'avoir mélangé au 1:1 avec du Norm-Trol 1 et après l'avoir testé avec le kit de confirmation DRVVT (réf. 5485).

Si le temps de coagulation du plasma patient mélangé au 1:1 avec du Norm-Trol 1 obtenu avec le réactif de dépistage DRVVT est encore supérieur à la moyenne de la plage normale de plus de 3 écarts-types, il est probable que des anticoagulants lupiques sont présents. Si le temps de coagulation du plasma patient mélangé au 1:1 avec du Norm-Trol 1 obtenu avec le réactif de dépistage DRVVT est corrigé et se situe dans la plage normale, il est plus probable qu'il s'agit d'un déficit en un facteur (II, V ou X).

Le sous-comité scientifique de normalisation chargé de la normalisation des anticoagulants lupiques de la Société internationale de thrombose et d'hémostase (ISTH) a recommandé de diagnostiquer une présence d'anticoagulants lupiques lorsque le DRVVT d'un plasma échantillon mélangé avec un plasma normal est supérieur à la moyenne du temps DRVVT du plasma normal (sans LA) de plus de 3 écarts-types.

L'utilisation du kit de confirmation DRVVT permet de faire la différence entre les LA, un déficient en un facteur de coagulation et d'autres inhibiteurs.

## 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 sa propre plage normale (plage = moyenne ± 3 écarts-types) avec au moins vingt (20) donneurs sains, hommes et femmes, représentant l'ensemble de l'âge adulte. La plage de référence ne doit être déterminée avec des échantillons normaux congelés que si les échantillons à analyser sont eux aussi congelés.

La plage normale de référence (moyenne ± 3 écarts-types) déterminée chez Helena BioSciences avec le test de dépistage DRVVT est de 33,7 ± 8,1 secondes (soit 25,6 – 41,8 secondes).

## LIMITES

Les plasmas déficients en facteurs II, V ou X peuvent donner des résultats anormaux avec du plasma pur. L'analyse du mélange doit corriger ceci.

Il est possible que le plasma patient donne des résultats anormaux lorsque le plasma est testé pur et que ces échantillons ne soient pas corrigés lors de l'analyse du mélange dans les situations suivantes: héparine (>1 U/ml), anticoagulants oraux, coagulation intravasculaire disséminée (CIVD).

Veiller à ce que les plaquettes résiduelles soient enlevées du plasma par filtrage ou par centrifugation étant donné que les phospholipides provenant de celles-ci peuvent interférer avec le test.

## CONTRÔLE QUALITÉ

Chaque laboratoire doit établir un programme de contrôle qualité. Les plasmas de contrôle, normaux et anormaux, doivent être testés avant chaque lot d'échantillons patients afin de s'assurer que l'instrument et l'opérateur offrent des performances satisfaisantes. Si les contrôles ne donnent pas les résultats prévus, les résultats du patient doivent être considérés comme non valables.

Helena BioSciences distribue les contrôles suivants à utiliser avec ce produit:

REF 5486 Contrôle positif DRVVT 1 x 1ml

## PERFORMANCES

Helena BioSciences ou ses représentants ont déterminé à titre indicatif les performances suivantes. Chaque laboratoire doit établir ses propres données de performance. Les CV intra-analyse et inter-analyse sont prévus <5%.

## BIBLIOGRAPHIE

- National Committee for the National Laboratory (NCCLS) Standards: Collection transport and preparation of blood specimens for coagulation testing and performance of coagulation assays. Document H21-A2, vol. 11, n° 23, 1991.

## ANWENDUNGSBEREICH

Lupus Antikoagulantien (LA) sind Antikörper vom IgG- und IgM-Typ, die sich gegen eine Anzahl von anionischen Phospholipiden richten. Die Anwesenheit von LA im Plasma steht verstärkt mit einer Reihe von hämostatischen Problemen wie rezidivierende Aborte, Thrombozytopenie, unerklärliche Thrombose und neurologische Erkrankungen in Verbindung. LA verlängert in-vitro Phospholipid abhängige Gerinnungstests wie die aPTT. Das Helena BioSciences DRVVT-Screening-Kit ist für die qualitative Bestimmung von Lupus Antikoagulantien (LA) im humanen Plasma bestimmt. „Russell's Viper Venom“ aktiviert unmittelbar Faktor X bis Faktor Xa in Anwesenheit von Phospholipid und Calcium, das zu einer nachweisbaren Gerinnselbildung im Plasma führt. Das DRVVT-Screening-Kit ist wesentlich sensibler auf LA als aPTT. Das DRVVT-Screening-Kit ist zur Verwendung in Verbindung mit dem DRVVT-Bestätigungs-Kit (REF 5485) bestimmt.

## 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.

## INHALT

### 1. DRVVT Screening-Reagenz (10 x 2ml)

Jedes Fläschchen enthält ein zusammen mit Calciumchlorid und Phospholipid lyophilisiertes gesetzlich geschütztes Gemisch von „Russell's Viper Venom“. Vorbereitung: Jedes Fläschchen mit 2ml destilliertem / entionisiertem Wasser rekonstituieren. 10 Minuten stehen lassen und vor Gebrauch gut mischen (nicht schütteln).

### 2. Weitere Kit-Komponenten

Jedes Kit enthält eine Gebrauchsanweisung.

## LAGERUNG UND STABILITÄT

### 1. DRVVT Screening-Reagenz

Ungeöffnete Fläschchen sind unter den auf Verpackung oder Fläschchen angegebenen Lagerbedingungen bis zum aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Rekonstituierte Fläschchen sind bei 15...30°C 24 Stunden, bei 2...6°C 5 Tage oder bei -20°C 2 Wochen stabil, AC-4 Pos 37 @ 37°C = 24hrs. . Das Reagenz sollte in Plastikröhrchen eingefroren und vor Gebrauch bei 37°C aufgetaut werden.

## NICHT MITGELIEFERTES, ABER BENÖTIGTES MATERIAL

REF 5485 DRVVT-Bestätigungs-Kit 10 x 1ml  
REF 5499 Normales Plasma (z. B. Norm-Trol 1) 10 x 3ml  
REF 5186 Normales Plasma (z. B. Norm-Trol 1) 10 x 1ml

## PROBENTNAHME UND VORBEREITUNG

Nur Plastik oder Silikonlag verwenden. Blut (9 Teile) sollte in 3,2% oder 3,8% Natriumcitrat als Antikoagulant (1 Teil) entnommen werden. 15 Minuten bei 2000xg - 3000xg zentrifugieren und Plasma abpipettieren. Restliche Thrombozyten sollten durch Filtration durch ein 0,22mm Einwegfilter oder erneutes Zentrifugieren entfernt werden.

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

### 1. Automatisierte Methoden, AC-4. (x260 Proben)

Siehe Bedienungsanleitung des verwendeten Geräts für eine genaue Anleitung.

START =11s	METHOD =Coag	MIX=0	PATIENT (Pat) vol=75µL pos=36 (CP)	Def. (DP) Vol=0µL	Plasma
INCUB =0s	MATH =lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0µL	R1 Vol=0µL	
RUNTIME =240s	SENS =1	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0µL	R2 Vol=75µL Pos=37(DRVVT -Screen)	

### 2. Manuelle Methode

- Ausreichend rekonstituiertes Reagenz auf 37°C vorwärmen.
- 0,2ml Patienten- oder Kontrollplasma in ein Röhrchen pipettieren. Bei 37°C 2 Minuten inkubieren.
- 0,2ml vorgewärmtes DRVVT-Screening-Reagenz zufügen und Stoppuhr starten.
- Die Zeit bis zur Gerinnselbildung bis auf 0,1 Sekunden genau stoppen.
- Quotienten errechnen:

DRVVT-Screening-Gerinnungszeit des Patienten

Norm-Trol 1 DRVVT-Screening-Gerinnungszeit

### 3. Automatisierte Methoden

Der DRVVT-Screening-Test kann an den meisten Gerinnungsautomaten durchgeführt werden. Das Gerät sollte so programmiert werden, dass es gleiche Mischungen von Plasma und Reagenz abgibt. Probe wie Reagenz sollte vor dem Mischen für mindestens 2 Minuten auf 37°C vorgewärmt sein. Reagenzröhrchen und Behälter sollten gründlich ausgespült und gereinigt sein, bevor andere Gerinnungs- oder chromogene Tests durchgeführt werden. Siehe Bedienungsanleitung des verwendeten Geräts für genaue Anleitung.

## AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Ergebnisse werden am besten als Quotient zu den mit Norm-Trol 1 gewonnenen Gerinnungszeiten angegeben. Sowohl die Ergebnisse des DRVVT-Screening als auch der DRVVT-Bestätigung können auf diese Weise „normalisiert“ werden, und so Effekte von Geräteschwankungen und Unterschiede der Reagenzienchargen ausgleichen. Ergebnisse der Mischteste können genauso behandelt werden. Ist die Gerinnungszeit von Patientenproben höher als 3 Standardabweichungen über dem Mittelwert des Normalbereichs kann ein Lupus Antikoagulant anwesend sein. Das Plasma sollte in diesem Fall noch mal in einer 1:1 Verdünnung mit Norm-Trol 1, sowie auch mit dem DRVVT-Bestätigungs-Kit (Kat. Nr. 5485) getestet werden.

Ist die Gerinnungszeit des Patientenplasmas in der 1:1 Verdünnung mit Norm-Trol 1 immer noch höher als 3 Standardabweichungen über dem Mittelwert des Normalbereichs, kann ein Lupus Antikoagulant anwesend sein.

Liegt die DRVVT-Screening Gerinnungszeit des Patientenplasmas in der 1:1 Verdünnung mit Norm-Trol 1 innerhalb des Normalbereichs, ist ein Faktormangel (II, V oder X) sehr wahrscheinlich.

Das „Scientific and Standardisation Sub-Committee for the Standardisation of Lupus Anticoagulants“ der „International Society of Thrombosis and Haemostasis“ empfiehlt, dass die Diagnose von Lupus Antikoagulant gestellt wird, wenn der DRVVT eines mit einem Normalplasma gemischten Testplasmas höher als 3 Standardabweichungen vom Mittelwert einer DRVVT-Zeit mit Normalplasma (d. h. nicht-LA) ist. Die Anwendung des DRVVT-Bestätigungs-Kits gestattet die

Unterscheidung zwischen LA, Faktormangel und anderen Hemmfaktoren.

## REFERENZWERTE

Referenzwerte können je nach Technik und verwendetem System von Labor zu Labor unterschiedlich sein. Jedes Labor sollte aus diesem Grund seinen eigenen Normalbereich erstellen (Bereich = Mittelwert ± 3-s) mit mindestens zwanzig (20) gesunden, erwachsenen männlichen und weiblichen Spendern aller Altersgruppen. Werden nur tief gefrorene Patientenproben getestet, sollte der normale Referenzbereich an tief gefrorenen Proben bestimmt werden.

Der normale von Helena BioSciences für den DRVVT-Screening-Test bestimmte Referenzbereich (Mittelwert ± 3-s) lag bei 33,7 ± 8,1 Sekunden (Bereich 25.6-41.8 Sekunden).

## EINSCHRÄNKUNGEN

Mangel an Faktor II, V oder X im Plasma kann zu abnormalen Ergebnissen im unverdünnten Plasma führen. Das sollte durch Mischtests behoben werden.

Plasma von Patienten mit Folgendem kann abnormale Ergebnisse hervorrufen, wenn das Plasma unverdünnt verwendet wird. Diese Proben können im Mischtest nicht korrigiert werden: Heparin (> 1 U/ml), orale Antikoagulantien, Verbrauchskoagulopathie (DIC). Besondere Sorgfalt ist darauf zu verwenden, dass die restlichen Thrombozyten durch Filtration oder Zentrifugation entfernt werden, da die in ihnen enthaltenen Phospholipide den Test beeinträchtigen können.

## QUALITÄTSKONTROLLE

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

In Verbindung mit diesem Produkt bietet Helena BioSciences die folgenden Kontrollen an:

REF 5486 DRVVT Positiv-Kontrolle 1 x 1ml

## LEISTUNGSEIGENSCHAFTEN

Die folgenden Leistungseigenschaften wurden von Helena BioSciences oder in ihrem Auftrag als Richtlinien ermittelt: Jede Labor muss seine eigenen Werte ermitteln. Erwartete VKs innerhalb der Tests und zwischen den Tests sind < 5%.

## LITERATUR

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

## PRINCIPIO

I lupus anticoagulanti (LA) sono anticorpi di tipo IgG e IgM che sono diretti contro vari fosfolipidi anionici. La presenza di LA nel plasma è sempre più associata ad una vasta serie di problemi emostatici, quali aborti ricorrenti, trombocitopenia, trombosi inspiegate e disordini neurologici. Gli LA prolungano i test di coagulazione fosfolipidi-dipendenti in vitro, come l'APTT. Il kit DRVVT-Screen di Helena BioSciences è stato formulato per la determinazione qualitativa dei lupus anticoagulanti (LA) nel plasma umano. Il veleno di vipera di Russell attiva direttamente il fattore X in fattore Xa in presenza di fosfolipidi e calcio, determinando una distinguibile formazione del coagulo nel plasma. Il kit DRVVT-Screen è maggiormente sensibile agli LA rispetto all'APTT. Il kit DRVVT-Screen è stato studiato per essere utilizzato in combinazione con il kit DRVVT-Confirm (REF 5485).

## 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. riferimento alle schede tecniche e dati di sicurezza per le avvertenze sui componenti del Kit.

## COMPOSIZIONE

### 1. Reagente DRVVT-Screen (10 x 2ml)

Ogni flacone contiene una miscela esclusiva di veleno di vipera di Russell coliofilizzato con calcio cloruro e fosfolipidi. Preparazione: Ricostituire ogni flacone con 2ml di acqua distillata/deionizzata. Lasciare riposare per 10 minuti e miscelare accuratamente prima dell'uso (non scuotere).

### 2. Altri componenti del kit

Ogni kit contiene un foglio procedurale.

## CONSERVAZIONE E STABILITÀ

### 1. Reagente DRVVT-Screen

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

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

## MATERIALI NECESSARI MA NON IN DOTAZIONE

REF 5485 Kit DRVVT-Confirm 10 x 1ml

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

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

## RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Nel corso dell'intera procedura è necessario utilizzare plastica o vetro 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 2000xg - 3000xg per 15 minuti. Le piastrine residue devono essere rimosse per filtrazione mediante un filtro monouso da 0,22mm oppure per ricentrifugazione.

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

## PROCEDURA

### 1. Metodi automatici, AC4. (x260 campioni)

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

START =11s	METHOD =Coag	MIX=0	PATIENT (Pat) vol=75µL pos=36 (CP)	Def. (DP) Vol=0µL	Plasma
INCUB =0s	MATH =lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0µL	R1 Vol=0µL	
RUNTIME =240s	SENS =1	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0µL	R2 Vol=75µL Pos=37(DRVVT -Screen)	

### 2. Metodo manuale

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

Tempo di coagulazione DRVVT-Screen paziente

Tempo di coagulazione DRVVT-Screen Norm-Trol 1

### 3. Metodi automatici

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

## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

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

Se il tempo di coagulazione dei campioni dei pazienti è superiore a 3 deviazioni standard oltre la media del range normale, può essere presente un lupus anticoagulante.

In tal caso, il plasma deve essere testato nuovamente in seguito a miscelazione in un rapporto di 1:1 con Norm-Trol 1 e a test eseguito con il kit DRVVT-Confirm (Cod. N. 5485). Se il tempo di coagulazione DRVVT-Screen del plasma del paziente miscelato in un rapporto di 1:1 con Norm-Trol 1 è ancora superiore a 3 deviazioni standard oltre la media del range normale, può essere presente un lupus anticoagulante.

Se il tempo di coagulazione DRVVT-Screen del plasma del paziente miscelato in un rapporto di 1:1 con Norm-Trol 1 viene corretto per farlo rientrare nel range normale, è maggiormente probabile la presenza di una carenza di fattori (II, V o X).

Il Scientific and Standardisation Sub-Committee for the Standardisation of Lupus Anticoagulants della International Society of Thrombosis and Haemostasis raccomanda che la diagnosi del lupus anticoagulante venga effettuata quando il DRVVT di un plasma di prova miscelato con plasma normale è superiore a 3 deviazioni standard rispetto al tempo di DRVVT di plasma normale (non LA).

L'utilizzo del kit DRVVT-Confirm consente la discriminazione tra LA, carenza di fattori e altri inibitori.

## 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 definire il proprio range normale (range = media ± 3 DS) utilizzando almeno venti (20) donatori sani di sesso maschile e femminile di età adulta.

Se vengono testati soltanto campioni di pazienti congelati, il range di riferimento normale deve essere determinato su campioni normali congelati.

Il range di riferimento normale (media ± 3 DS) determinato da Helena BioSciences per il test DRVVT-Screen è pari a 33,7 ± 8,1 secondi (range di 25,6-41,8 secondi).

## LIMITI

Le carenze plasmatiche dei fattori II, V o X possono portare a risultati anomali nel plasma non diluito. Gli studi di miscelazione devono correggere questa situazione.

Il plasma proveniente da pazienti e contenente gli elementi indicati di seguito può fornire risultati anomali quando viene testato non diluito e questi campioni potrebbero non correggersi negli studi di miscelazione: eparina (>1U/ml), anticoagulanti orali, coagulazione intravascolare disseminata (DIC).

Prestare attenzione a rimuovere le piastrine residue dal plasma mediante filtrazione o centrifugazione, in quanto i fosfolipidi derivanti dalle piastrine possono interferire con il test.

## CONTROLLO QUALITÀ

Ogni laboratorio deve definire un programma di controllo qualità. I plasmidi 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 mette a disposizione i seguenti controlli utilizzabili con questo prodotto:

REF 5486 Controllo positivo DRVVT 1 x 1ml

## CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Le caratteristiche prestazionali sotto riportate sono state determinate da Helena BioSciences o dai propri rappresentanti a titolo di linee guida. Ciascun laboratorio dovrà pertanto elaborare i propri dati prestazionali.

I CV entro la serie e tra le serie si prevedono <5%.

## BIBLIOGRAFIA

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

## USO PREVISTO

Los anticoagulantes lúpicos Anticoagulants (AL) son anticuerpos del tipo IgG e IgM que van dirigidos contra varios fosfolípidos aniónicos. La presencia de AL en el plasma se asocia cada vez más con diversos problemas hemostáticos como la pérdida recurrente del embarazo, trombocitopenia, trombosis inexplicada y desórdenes neurológicos. Los AL prolongan las valoraciones de coagulación in vitro dependientes de fosfolípidos como, por ejemplo, TTPA.

El kit DRVVT-Screen de Helena BioSciences tiene por objeto determinar cualitativamente la presencia de anticoagulantes lúpicos (AL) en el plasma humano.

El veneno de víbora de Russell activa directamente el Factor X a Factor Xa en presencia de fosfolípidos y calcio, lo que lleva a la formación detectable de coágulos en el plasma. El kit DRVVT-Screen es más sensible para AL que el TTPA.

El kit DRVVT-Screen debe utilizarse junto con el kit DRVVT-Confirm (REF 5485).

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

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

## COMPOSICIÓN

### 1. Reactivo DRVVT Screen (10 x 2ml)

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

Preparación: Reconstituir cada vial con 2ml de agua destilada o desionizada. Dejar reposar durante 10 minutos y mezclar bien antes de usar (no agitar).

### 2. Otros componentes del kit

Cada kit contiene instrucciones de uso.

## ALMACENAMIENTO Y PERÍODO DE VALIDEZ

### 1. Reactivo DRVVT Screen

Los viales no abiertos son estables hasta la fecha de caducidad indicada cuando se conservan en las condiciones indicadas en el vial o en la etiqueta del kit. Los viales reconstituidos permanecen estables 24 horas a 15...30°C, 5 días a 2...6°C ó 2 semanas a -20°C, AC-4 Pos 37 @ 37°C = 24hrs. . Debe congelarse el reactivo en tubos de prueba de plástico y descongelarse a 37°C antes de usarse.

## ARTÍCULOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

REF 5485 Kit DRVVT-Confirm 10x1 ml

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

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

## RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Debe usarse siempre plástico o vidrio silicizado. Debe recogerse sangre (9 partes) en el anticoagulante citrato sódico al 3,2% o al 3,8% (1 parte). Se separa el plasma después de la centrifugación a 2000xg - 3000xg durante 15 minutos. Deben eliminarse las plaquetas residuales, ya sea filtrándolas por un filtro desechable de 0,22mm o centrifugándolas de nuevo.

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

## PROCEDIMIENTO PASO A PASO

### 1. Métodos automatizados, AC-4. (x260 muestras)

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

START =11s	METHOD =Coag	MIX=0	PATIENT (Pat) vol=75µL pos=36 (CP)	Def. (DP) Vol=0µL	Plasma
INCUB =0s	MATH =lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0µL	R1 Vol=0µL	
RUNTIME =240s	SENS =1	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0µL	R2 Vol=75µL Pos=37(DRVVT -Screen)	

### 2. Método manual

- Precalentar suficiente reactivo reconstituido a 37°C.
- Pipetear 0,2ml de plasma del paciente o plasma control en un tubo de reacción. Incubar a 37°C durante 2 minutos.
- Añadir 0,2ml de reactivo DRVVT-Screen precalentado y poner en marcha un cronómetro.
- Medir el tiempo de formación del coágulo procurando afinar en la décima de segundo más próxima.
- Calcular la relación

Tiempo de coagulación de DRVVT-Screen

Tiempo de coagulación de DRVVT-Screen de Norm-Trol 1

### 3. Métodos automatizados

La prueba DRVVT-Screen puede realizarse en la mayoría de los instrumentos automatizados. Debe programarse el instrumento para obtener el mismo volumen de plasma y de reactivo. Debe precalentarse tanto la muestra como el reactivo a 37°C durante al menos 2 minutos antes de mezclarlos.

Deben enjuagarse y limpiarse bien los recipientes y tubos de reactivo antes de realizar cualquier otra prueba cromógena o de coagulación. Consultar el Manual del Operador adecuado para obtener instrucciones detalladas.

## INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

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

Se pueden "normalizar" de este modo tanto los resultados DRVVT-Screen y DRVVT-Confirm, reduciendo así los efectos de la variabilidad del instrumento y las diferencias entre lotes de reactivos. Los resultados de las pruebas de mezcla se pueden tratar del mismo modo.

Si el tiempo de coagulación de las muestras del paciente supera más de 3 desviaciones estándar por encima de la media del intervalo normal, es posible que exista un anticoagulante lúptico.

En este caso, deben volver a realizarse las pruebas después de mezclar 1:1 con Norm-Trol 1 y realizar también las pruebas con el kit DRVVT-Confirm (Nº Cat. 5485).

Si el tiempo de coagulación de DRVVT-Screen del plasma del paciente mezclado 1:1 con Norm-Trol 1 sigue siendo superior a 3 desviaciones estándar por encima de la media del intervalo normal, es posible que exista un anticoagulante lúptico.

Si el tiempo de coagulación de DRVVT-Screen del plasma del paciente mezclado 1:1 con Norm-Trol 1 se corrige dentro del intervalo normal, es muy posible que exista una deficiencia de factores (II, V o X).

El Subcomité Científico y de Normalización para la Normalización de Anticoagulantes Lúpicos de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia recomienda que el diagnóstico de anticoagulante lúptico se realice cuando el DRVVT de un plasma de prueba mezclado con plasma normal sea superior a 3 desviaciones estándar de la media normal (sin AL) del tiempo de DRVVT de plasma.

Si se utiliza el kit DRVVT-Confirm, se puede discriminar entre AL, deficiencia de factores y otros inhibidores.

## 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 (intervalo = media ± 3 desviaciones estándar) utilizando un mínimo de veinte (20) donantes sanos varones y hembras, que abarquen todas las edades adultas. Si sólo se realizan las pruebas sobre muestras de paciente congeladas, se debe determinar el intervalo de referencia normal sobre muestras normales congeladas.

El intervalo normal de referencia (media ± 3 desviaciones estándar) establecido en Helena BioSciences para la prueba DRVVT-Screen fue 33,7 ± 8,1 segundos (intervalo 25,6-41,8 segundos).

## LIMITACIONES

Las deficiencias de plasma en factores II, V o X pueden conllevar resultados anormales en plasma sin diluir. Los estudios de mezcla deberían corregir este aspecto.

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

Hay que tener cuidado de no eliminar plaquetas residuales del plasma al filtrar o centrifugar, ya que los fosfolípidos derivados de las plaquetas pueden interferir en la prueba.

## CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe establecer un programa de control de calidad. Los plasmas de control normales y anormales deben estudiarse antes de cada lote de muestras del paciente, para asegurar un funcionamiento adecuado del instrumento y el operador. Si los controles no se realizan como se esperaba, los resultados del paciente deben considerarse inválidos.

Helena BioSciences suministra los siguientes controles disponibles para usar con este producto:

REF 5486 Control positivo DRVVT 1 x 1ml

## CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

Helena BioSciences o sus representantes han determinado las siguientes características de rendimiento como directriz.

Cada laboratorio debe establecer sus propios datos de rendimiento. Se espera que los CV dentro de cada prueba y entre pruebas sean <5%.

## BIBLIOGRAFÍA

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

## DRVVT Screen Reagent

### Instructions for use

REF 5484 (10 x 2ml)

## Réactif de dépistage DRVVT

### Fiche technique

## DRVVT Screening-Reagenz

### Anleitung

## Reagente DRVVT-Screen

### Istruzioni per l'uso

## Reactivo DRVVT Screen

### Instrucciones de uso

Helena Biosciences Europe

Queensway South

Team Valley Trading Estate

Gateshead

Tyne and Wear

NE11 0SD

Tel. +44 (0)191 482 8440

Fax +44 (0)191 482 8442

Email info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

HL-2-0723P 2008/06 (5)