

## INTENDED PURPOSE

The first standardized one-stage prothrombin time test was developed by Dr. Armand Quick in 1935<sup>2</sup>. It is used for the induction and monitoring of oral anticoagulant therapy<sup>2,3</sup> and can be used to assess the protein synthesis capability of the liver in chronic or acute hepatic disorders. The Helena BioSciences Capillary Reagent is of rabbit brain origin but resembles human BCT in its low International Sensitivity Index (ISI). The ISI of Capillary Reagent is approximately 1.1 (using manual calibration techniques) and is calibrated against the WHO international reference preparation<sup>1</sup>. Capillary Reagent is particularly suited to the monitoring of oral anticoagulant therapy.

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 capillary or citrated blood, 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.

## COMPOSITION

- Capillary Reagent (10 x 2.5ml)** Each vial contains rabbit brain thromboplastin suspension. Preparation: The contents of the vial should be mixed well before and during use.
- Calcium Chloride (10 x 2.5ml)** Each vial contains 0.010M calcium chloride solution.
- Other Kit Components** Each kit Contains Instructions For Use and lot specific reference values insert.

## STORAGE AND SHELF LIFE

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

- Capillary Reagent** **Opened vials:** 1 month at 2...6°C and 5 days at 15...30°C. The working reagent (mixed with calcium chloride) is stable for 10 days at 2...6°C or 5 days at 15...30°C. **DO NOT FREEZE.** Signs of **Deterioration:** The reagent is a fine suspension of rabbit brain tissue. Large clumps of particles or changes in expected values may indicate product deterioration.
- Calcium Chloride** **Opened vials:** 1 month at 2...6°C or 5 days at 15...30°C. Signs of **Deterioration:** The reagent is a clear, colourless solution. Particulate contamination, cloudiness or a change in expected performance may indicate product deterioration.

## ITEMS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

REF 90.200.0001 CoaData 501WB Fibrin Timer or any other whole blood coagulometer

## SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

Throughout the procedure, all test tubes, syringes and pipettes must be plastic or siliconized glass. Venous blood should be collected into 3.2% sodium citrate – 9 parts blood + 1 part sodium citrate. Capillary blood should be collected into the first drop of blood produced from a skin puncture of suitable depth. Testing on venous blood should be completed within 4 hours of sample collection and the sample kept at room temperature<sup>2</sup>.

## STEP-BY-STEP 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 Calibrant Plasma Set (REF 5519) is recommended for this purpose<sup>3</sup>. This should be performed for each new reagent batch. The Helena BioSciences 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.

### Running instructions for the CoaData 501 WB:

- Prior to use the instrument should be allowed to equilibrate to 37°C.
- Pre-warm sample cups (including str bars) in the appropriate positions.
- Mix reagent and calcium chloride 1 + 1 and pre-warm in the reagent well on the instrument.
- Once warm the instrument sit at running temperature, press ‘Esc’, the screen will show <1PT-WB>.
- Press ‘Enter’, the screen will show ‘Start’.
- Insert a pre-warmed cup (containing 150µl reagent) into the channel and press ‘Start’.
- Wait for incubation, set at 1 second.
- At the prompt, ‘Go-S’, add 25µl blood (15µl plasma) into the cup in the measuring channel and simultaneously press ‘Start’.
- Wait for clot time/INR.
- After recording results remove cup and press ‘Reset’.

### Running instructions for the Thrombostat:

- Prior to use the instrument should be allowed to equilibrate to 37°C.
- Mix Reagent and Calcium Chloride (1 + 1) and pre-warm in the incubation position for reagents for 5 minutes.
- i) Thrombostat 1 users:** Once temperature is reached the Thrombostat is ready to run a PT. **ii) Thrombostat 2 users:** Press ‘Test’ until ‘PT test is selected. Place cuvette(s) into the incubation position for sample(s) and dispense 1 ball bearing into each.
- Whole Blood Method:**
  - Pipette 150µl of pre-warmed Reagent and Calcium Chloride (1 + 1) mix into cuvette(s). Incubate for 2 minutes:
    - Thrombostat 1 users:** Press the ‘Reset/Incubation’ to start the timer.
    - Thrombostat 2 users:** Press cuvettes to activate timer, the Thrombostat will beep to indicate the end of incubation.
  - Following incubation transfer cuvette(s) to the measuring channel position.
- Thrombostat 1 users:** Press ‘Start’
  - Thrombostat 2 users:** Press ‘Reset/Start’ The instrument will count down to the start of measurement (Thrombostat 2 users: channel 1). Just before measurement starts pipette 25µl of whole blood into the cuvette. **Thrombostat 2 users:** To run a duplicate press ‘Reset/Start’ again to begin measurement in channel 2.

### Plasma Method:

- Pipette 50µl of plasma into cuvette(s). Incubate for 2 minutes:
  - Thrombostat 1 users:** Press the ‘Reset/Incubation’ to start the timer.
  - Thrombostat 2 users:** Press cuvettes to activate timer, the Thrombostat will beep to indicate the end of incubation.
- Following incubation transfer cuvette(s) to the measuring channel position.
- i) Thrombostat 1 users:** Press ‘Start’
  - Thrombostat 2 users:** Press ‘Reset/Start’ The instrument will count down to the start of measurement (Thrombostat 2 users: channel 1). Just before measurement starts pipette 250µl of Reagent and Calcium Chloride (1 + 1) mix into the cuvette. **Thrombostat 2 users:** To run a duplicate press ‘Reset/Start’ again to begin measurement in channel 2. **NOTE:** If using the start pipette the measuring time is automatically started in step (c) eliminating the need to press ‘Start’ or ‘Reset/Start’.
- Wait for clot time/INR
- i) Thrombostat 1 users:** Record results, remove cuvette and press ‘Reset/Incubation’ to erase the results of the former test. The instrument is now ready for next test. **ii) Thrombostat 2 users:** After results have been printed remove cuvettes and press ‘Reset/Start’ to erase the results of the former test. The instrument is now ready for next test.

## INTERPRETATION OF RESULTS

Results should be reported to the nearest 0.1 seconds and duplicates should agree within 5% of each other.

INR values can be calculated using the following formula:

INR = (PT Time Patient) / (Mean Normal PT Time)<sup>ISI</sup>

%PT values can be interpolated from the calibration graph (%PT of PT Calibration plasmas versus measured clot time) which should be joined point-to-point when plotted on log-log graph paper.

## 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 5186 / 5499 Norm-Trol 1  
REF 5187 Ab-Trol 2  
REF 5183 Ab-Trol 3

## 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.

This is particularly important for local ISI calibration.

Using the CoaData 501WB, normal values ranging from 19.5 - 29.0 seconds are typical.

### Therapeutic Ranges

The British Society for Haematology<sup>9</sup> recommend the following INR ranges for various clinical conditions:

| INR     | Clinical State  |
|---------|---|
| 2.0-2.5 | Prophylaxis of deep vein thrombosis, including surgery on high risk patients (2.0-3.0 for hip surgery and fractured femur operations).  |
| 2.0-3.0 | Prevention of pulmonary embolism. Systemic embolism. Prevention of venous thrombo-embolism in myocardial infarction. Mitral stenosis with embolism. Transient ischaemic attacks. Atrial fibrillation. |
| 3.0-4.5 | Recurrent deep vein thrombosis and pulmonary embolism. Arterial disease, including myocardial infarction. Mechanical prosthetic heart valves.   |

## 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.

### Precision

The precision of the PT determination is highly dependent of the method and technique used. Typical values for within- run and between run precision are:

|          | Within Run (n=10) |        | Between Run (n=10) |        |      |
|----------|-------------------|--------|--------------------|--------|------|
|          | Mean (secs)       | CV (%) | Mean (secs)        | CV (%) |      |
| Sample 1 | 21.3              | 2.36   | Sample 1           | 23.7   | 6.48 |
| Sample 2 | 66.0              | 3.18   | Sample 2           | 67.9   | 3.07 |

**Method Comparison:** Comparison of INR values determined using Helena Capillary Reagent and three other commercially available reagents yielded the following correlation equations:

**Venous Blood**  
Capillary Reagent = 1.1632 (A) - 0.1828 r<sup>2</sup> = 0.9559 n = 20

Capillary Reagent = 0.8317 (B) + 0.1541 r<sup>2</sup> = 0.9593 n = 20

**Capillary Blood**  
Capillary Reagent = 0.9985 (C) - 0.1608 r<sup>2</sup> = 0.9053 n = 29

## BIBLIOGRAPHY

- Quick, A.J. 'A Study of the Coagulation Defect in Hemophilia and Jaundice', Am. J. Med. Sci., 1935; 190: 501.
- Biggs, Rosemary (Ed.), Human Blood Coagulation, Haemostasis and Thrombosis, 2nd Edition, Blackwell Scientific Publications, London, 1976
- Hirsh, J., Poller, L., Deykin, D., Levine, J. and Dalen, J.E., 'Optimal Therapeutic Range for Oral Anticoagulants', Chest, 1989, 95: 55-11S
- Poller, L. 'Laboratory Control of Anticoagulant Therapy', Sem. Thromb. Haemostasis, 1986; 12: 13-19.
- World Health Organisation. Expert Committee on Biological Standards 1984. Technical Series 700:19
- World Health Organisation. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. 2002; 99.1, Rev.2.
- Poller, L., Triplett, D.A., Hirsh, J., Carroll, J. and Clarke, K. 'The value of plasma calibrants in correcting coagulometer effects on International Normalised Ratios (INR): An international multicentre study' Amer. J. Clin. Pathol., 1995,103 : 358-365.
- Poller, L., Triplett, D.A., Hirsh, J., Carroll, J. and Clarke, K. '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., 1995, 103 : 366-371.
- The British Society for Haematology, 'Guidelines on Oral Anticoagulation: Second Edition', J. Clin. Pathol., 1990, 43 : 177-183.

## UTILISATION

La première méthode de détermination normalisée du temps de prothrombine en une étape a été développée en 1935 par le Dr. Armand Quick<sup>1</sup>. Elle sert à l'induction et au monitoring des thérapies avec anticoagulants oraux<sup>2,3</sup> et elle peut être utilisée pour évaluer la capacité de biosynthèse des protéines par le foie chez les patients souffrants de troubles hépatiques chroniques ou aigus<sup>2</sup>. Le réactif capillaire Helena BioSciences est fabriqué à partir de cerveau de lapin, mais il se rapproche du BCT humain en raison de son indice de sensibilité international (ISI) fiable. L'ISI du réactif capillaire est d'environ 1,1 (en utilisant des méthodes d'étalonnage manuelles) et est étalonné en comparaison avec la préparation internationale de référence de l'OMS<sup>1</sup>. Le réactif capillaire convient tout particulièrement au monitoring des thérapies avec anticoagulants oraux. 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 du sang capillaire ou citraté, le processus de coagulation, qui doit conduire à la production d'un caillot fibrineux, s'active. Si la voie extrinsèque présente une anomalie, le temps nécessaire à la formation du caillot est allongé en fonction de la gravité du trouble de la coagulation.

## PRÉCAUTIONS

Les réactifs du kit sont à usage diagnostiqe *in vitro* uniquement. **NE PAS INGERER**. 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

- Réactif capillaire (10 x 2.5ml)** Chaque flacon contient une suspension de thromboplastine de cerveau de lapin. Préparation : Le contenu du flacon doit être bien mélangé avant et pendant l'utilisation.
- Chlorure de calcium (10 x 2.5ml)** Chaque flacon contient une solution de chlorure de calcium à 0,010 M.
- Autres composants du kit** Chaque kit contient une fiche technique et une notice indiquant les valeurs de référence spécifiques du lot.

## STOCKAGE ET CONSERVATION

Les flacons de réactif non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée s'ils sont conservés dans les conditions suivantes sur l'étiquette du kit ou du flacon.

- Réactif capillaire** **Flacons ouverts :** 1 mois entre 2...6°C ou 5 jours entre 15...30°C. Le réactif de travail (mélange avec du chlorure de calcium) est stable 10 jours entre 2...6°C ou 5 jours entre 15...30°C. **NE PAS CONGELER.** **Signes de détérioration :** Le réactif est une suspension fine de tissu cérébral de lapin. La présence de d'amas de particules ou un écart par rapport aux valeurs prévues indique une détérioration du produit.
- Chlorure de calcium** **Flacons ouverts :** 1 mois entre 2...6°C ou 5 jours entre 15...30°C. **Signes de détérioration :** Le réactif est une solution transparente et incolore. Une contamination, un aspect floconneux ou un écart par rapport aux valeurs prévues indique une détérioration du produit.

## MATÉRIELS NÉCESSAIRES NON FOURNIS

REF 90.200.0001 Chronomètre de fibrine CoaData 501WB ou un autre coagulomètre pour sang total

## PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

Les tubes d'analyse, les seringues et les pipettes doivent être en plastique ou en verre siliconé. Le sang veineux doit être prélevé sur du citrate de sodium à 3,2% (9 volumes de sang + 1 volume de citrate de sodium). Le sang capillaire doit être prélevé dans la première goutte provenant de la ponction cutanée réalisée à une profondeur appropriée. L'analyse doit être réalisée dans les 4 heures suivant le prélèvement de l'échantillon qui doit être conservé entre à température ambiante<sup>2</sup>.

## MÉTHODOLOGIE

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 kit de plasmas d'étalonnage Helena BioSciences (REF. 5519) pour cela<sup>3</sup>. Cette opération doit être réalisée pour chaque nouveau lot de réactif. Le kit RNI de référence Helena BioSciences (REF 5490) doit être utilisé pour vérifier l'existence d'une dérive de l'ISI du système local, qui peut se produire en raison d'une variation de la température du laboratoire, suite à une opération de maintenance réalisée sur l'instrument ou à toute autre variable locale.

### Méthode opératoire pour le CoaData 501 WB :

- Laisser la température de l'instrument s'équilibrer à 37°C avant de l'utiliser.
- Préchauffer des cupules échantillons (y compris les liges d'agitation) placées de façon appropriée.
- Mélanger le réactif et du chlorure de calcium 1+1 et préchauffer le réactif dans l'instrument.
- Une fois que l'instrument a atteint la température de fonctionnement, appuyer sur 'Echap'; l'écran affiche <1TP-WB>.
- Appuyer sur 'Entrée', l'écran affiche 'cuve dedans'.
- Insérer une cupule préchauffée (contenant 150µl de réactif) dans le canal et appuyer sur 'Démarrer'.
- Attendre l'incubation, régler à 1 seconde.
- Lors le message 'Aller échant.' s'affiche, ajouter 25µl de sang (15µl de plasma) dans la cupule du canal de mesure et appuyer en même temps sur 'Démarrer'.
- Attendre le temps de coagulation/RNI.
- Une fois les résultats relevés, enlever la cupule et appuyer sur 'Réinitialiser'.

### Instructions d'utilisation du Thrombostat :

- Laisser la température de l'instrument s'équilibrer à 37 °C avant de l'utiliser.
- Mélanger le réactif et le chlorure de calcium (1 + 1) et préchauffer le mélange dans la position d'incubation des réactifs pendant 5 minutes.
- i) Thrombostat 1 :** Une fois que la température est atteinte, le Thrombostat est prêt à déterminer un TP. **ii) Thrombostat 2 :** Appuyer sur Test (Analyse) jusqu'à ce que PT Test (Détermination du TP) soit sélectionné.
- Placer une ou plusieurs cuvettes dans la position d'incubation du ou des échantillons, puis distribuer 1 roulement à billes dans chacune.
- Méthode avec du sang total :**
  - Pipeter 150 µl de mélange préchauffé de réactif et de chlorure de calcium (1 + 1) dans la ou les cuvettes. Incuber pendant 2 minutes:
    - Thrombostat 1 :** Appuyer sur Reset/Incubation (Réinitialiser/Incubation) pour démarrer le chronomètre.
    - Thrombostat 2 :** Appuyer sur les cuvettes pour activer le chronomètre, le Thrombostat émettra un bip pour indiquer la fin de l'incubation.
  - Une fois l'incubation terminée, transférer la ou les cuvettes dans la position de mesure du canal.
- Thrombostat 1 :** Appuyer sur Start (Démarrer). **Thrombostat 2 :** Appuyer sur Reset/Start (Réinitialiser/Démarrer). L'instrument effectue un compte à rebours jusqu'au démarrage de la mesure (Thrombostat 2 : canal 1). Juste avant le démarrage de la mesure, pipeter 25 µl de sang total dans la cuvette. **Thrombostat 2 :** Pour réaliser une deuxième détermination, appuyer à nouveau sur Reset/Start (Réinitialiser/Démarrer) pour commencer la mesure du canal 2.

### Méthode avec du plasma :

- Pipeter 50 µl de plasma dans la ou les cuvettes. Incuber pendant 2 minutes :
  - Thrombostat 1 :** Appuyer sur Reset/Incubation (Réinitialiser/Incubation) pour démarrer le chronomètre.
  - Thrombostat 2 :** Appuyer sur les cuvettes pour activer le chronomètre, le Thrombostat émettra un bip pour indiquer la fin de l'incubation.
- Une fois l'incubation terminée, transférer la ou les cuvettes dans la position de mesure du canal.
- Thrombostat 1 :** Appuyer sur Start (Démarrer). **Thrombostat 2 :** Appuyer sur Reset/Start (Réinitialiser/Démarrer). L'instrument effectue un compte à rebours jusqu'au démarrage de la mesure (Thrombostat 2 : canal 1). Juste avant le démarrage de la mesure, pipéter 250 µl mélange de réactif et de chlorure de calcium (1 + 1) dans la cuvette. **Thrombostat 2 :** Pour réaliser une deuxième détermination, appuyer à nouveau sur Reset/Start (Réinitialiser/Démarrer) pour commencer la mesure du canal 2. **REMARQUE :** Si vous utilisez la pipette de démarrage, le temps de mesure démarre automatiquement à l'étape (c), ce qui fait qu'il n'est plus nécessaire d'appuyer sur Start (Démarrer) ou sur Reset/Start (Réinitialiser/Démarrer).
- Attendre le temps de coagulation/RNI.
- i) Thrombostat 1 :** Relever les résultats, retirer la cuvette et appuyer sur Reset/Incubation (Réinitialiser/Incubation) pour effacer les résultats de la mesure précédente. L'instrument est alors prêt pour la mesure suivante. **ii) Thrombostat 2 :** Une fois que les résultats sont imprimés, retirer la cuvette et appuyer sur Reset/Start (Réinitialiser/Démarrer) pour effacer les résultats de la mesure précédente. L'instrument est alors prêt pour la mesure suivante.

## INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les résultats doivent être indiqués en arrondissant au dixième de seconde et l'écart maximal entre eux est de 5%.

La formule suivante permet de calculer les valeurs du RNI :

RNI = (Temps TP patient) / (Temps TP moyen normal)<sup>ISI</sup>

Il est possible d'interpoler les valeurs de %TP à partir de la courbe d'étalonnage (%TP des plasmas d'étalonnage du TP en fonction du temps de coagulation mesuré), qui doit donner une ligne droite quand elle est représentée sur du papier logarithmique.

## CONTRÔLE QUALITÉ

Chaque laboratoire doit établir un programme de contrôle qualité.

Les plasmas de contrôle, normaux et anormaux, doivent être testés avant chaque lot d'échantillons patients afin de s'assurer que l'instrument et l'opérateur offrent des performances satisfaisantes. S'ils ne donnent pas les résultats prévus, les résultats du patient doivent être considérés comme non valables.

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

REF 5186 / 5499 Norm-Trol 1  
REF 5187 Ab-Trol 2  
REF 5183 Ab-Trol 3

## VALEURS DE RÉFÉRENCE

Les valeurs de référence peuvent varier d'un laboratoire à l'autre suivant les techniques et les systèmes utilisés. C'est pour cette raison qu'il appartient à chaque laboratoire de déterminer ses propres valeurs usuelles.

Ceci est particulièrement important pour l'étalonnage de l'ISI local.

Avec le CoaData 501WB, l'intervalle type des valeurs normales est 19,5 – 29,0 secondes.

### Plages thérapeutiques

La British Society for Haematology<sup>9</sup> recommande les plages de RNI suivantes en fonction de diverses conditions cliniques :

- RNI**
  - État clinique**
    - Prophylaxie de la thrombose veineuse profonde, y compris opération chirurgicale chez les patients à haut risque.
    - (2,0-3,0 pour les opérations des hanches ou de fracture du fémur).
  - Traitement de la thrombose veineuse profonde. Embolie pulmonaire. Embolie systémique. Prévention des thrombo-embolies veineuses dans l'infarctus du myocarde. Sténose mitrale avec embolie. Accident ischémique transitoire. Fibrillation auriculaire.
  - Thrombose veineuse profonde et embolie pulmonaire récidivantes. Pathologie artérielle, dont infarctus du myocarde. Prothèses mécaniques des valves cardiaques.

## PERFORMANCES

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

### Précision

La précision de la détermination du TP dépend énormément de la méthode et de la technique utilisée. Voici les valeurs-typées de précision intrarun et inter-run en fonction de la méthode et de la technique utilisée. Ces résultats ont été obtenus en utilisant le réactif capillaire Helena et trois autres réactifs disponibles sur le marché ont donné les équations de corrélation suivantes :

|               | Intra-analyse (n=10) |        | Inter-analyses (n=100) |        |      |
|---------------|----------------------|--------|------------------------|--------|------|
|               | Moyenne (s)          | CV (%) | Moyenne (s)            | CV (%) |      |
| Echantillon 1 | 21,3                 | 2,36   | Echantillon 1          | 23,7   | 6,48 |
| Echantillon 2 | 66,0                 | 3,18   | Echantillon 2          | 67,9   | 3,07 |

**Sang veineux**  
Réactif capillaire = 1,1632 (A) – 0,1828 r<sup>2</sup> = 0,9559 n = 20

Réactif capillaire = 0,8317 (B) + 0,1541 r<sup>2</sup> = 0,9593 n = 20

**Sang capillaire**  
Réactif capillaire = 0,9985 (C) – 0,1608 r<sup>2</sup> = 0,9053 n = 29

## BIBLIOGRAPHIE

- Quick, A.J. 'A Study of the Coagulation Defect in Hemophilia and Jaundice', Am. J. Med. Sci., 1935; 190: 501.
- Biggs, Rosemary (Ed.), Human Blood Coagulation, Haemostasis and Thrombosis, 2nd Edition, Blackwell Scientific Publications, London, 1976
- Hirsh, J., Poller, L., Deykin, D., Levine, J. and Dalen, J.E., 'Optimal Therapeutic Range for Oral Anticoagulants', Chest, 1989, 95: 55-11S
- Poller, L. 'Laboratory Control of Anticoagulant Therapy', Sem. Thromb. Haemostasis, 1986; 12: 13-19.
- World Health Organisation. Expert Committee on Biological Standards 1984. Technical Series 700:19
- World Health Organisation. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. 2002; 99.1, Rev.2.
- Poller, L., Triplett, D.A., Hirsh, J., Carroll, J. and Clarke, K. 'The value of plasma calibrants in correcting coagulometer effects on International Normalised Ratios (INR): An international multicentre study' Amer. J. Clin. Pathol., 1995,103 : 358-365.
- Poller, L., Triplett, D.A., Hirsh, J., Carroll, J. and Clarke, K. '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., 1995, 103 : 366-371.
- The British Society for Haematology, 'Guidelines on Oral Anticoagulation: Second Edition', J. Clin. Pathol., 1990, 43 : 177-183.

## ANWENDUNGSBEREICH

Der erste standardisierte Einstufen-Test für die Prothrombinzeit wurde 1935 von Dr. Armand Quick entwickelt<sup>1,2</sup>. Er wird zur Einstellung und Kontrolle von oralen Antikoagulation-Therapien<sup>2,3</sup> und bei chronischen oder akuten Lebererkrankungen zur Beurteilung der Synthesefähigkeit der Leber verwendet.

Die Helena BioSciences Kapillar-Reagenz wird aus Kaninchengirn gewonnen, ähnelt aber mit seinem niedrigen 'International Sensitivity Index' (ISI) humaner Blutgerinnungszeit. Der ISI des Capillary Reagent liegt bei ca. 1,1 (mit manuellen Kalibrationsmethoden) und ist gegen WHO „International Reference Preparation“ kalibriert<sup>1</sup>. Das Capillary Reagent ist ganz besonders zur Kontrolle von oralen Antikoagulanzien-Therapien geeignet. Gewebethromboplastin ist in Anwesenheit von Calcium-Ionen ein Aktivator, der das extrinsische Gerinnungssystem auslöst. Gibt man eine Mischung von Gewebethromboplastin und Calcium-Ionen zu Kapillar- oder Citratblut, wird die Gerinnungskaskade aktiviert und es bildet sich ein Fibrinerginnet. Besteht innerhalb des extrinsischen Systems ein Mangel, verlängert sich, je nach Schwere dieses Mangels, die Zeit bis zur Ausbildung eines Gerinnsets.

## WARNHINWEISE UND VERSICHTSMASSNAHMEN

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

- Capillary Reagent (10 x 2.5ml)** Jedes Fläschchen enthält eine Suspension von Thromboplastin aus Kaninchenheim. Vorbereitung: Der Inhalt des Fläschchens vor und während des Gebrauchs gut mischen.
- Calciumchlorid (10 x 2.5ml)** Jedes Fläschchen enthält 0,010 mol Calciumchlorid-Lösung.
- Weitere Kit-Komponenten** Jedes Kit enthält eine Gebrauchsanweisung mit den chargenspezifischen Referenzwerten.

## LAGERUNG UND STABILITÄT

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

- Capillary Reagent** **Geöffnete Fläschchen:** Bei 2...6°C 1 Monat und bei 15...30°C 5 Tage. Die Gebrauchslösung (vermischt mit Calciumchlorid) ist bei 2...6°C 10 Tage oder bei 15...30°C 5 Tage stabil. **NICHT EINFRIEREN. Anzeichen für Verfall:** Das Reagenz besteht aus einer feinen Suspension aus Kanincheningewebe. Große Verklumpungen oder Veränderungen in den Normalwerten können auf einen Verfall des Produkts hinweisen
- Calciumchlorid** **Geöffnete Fläschchen:** 1 Monat bei 2...6°C oder 5 Tage bei 15...30°C. **Anzeichen für Verfall:** Das Reagenz ist eine klare, farblose Flüssigkeit. Schwebstoffe, Trübung oder eine Veränderung in der

## PRINCIPIO

Il primo test del tempo di protrombina standardizzato ad uno stadio fu messo a punto da Dr. Armand Quick nel 1935<sup>1</sup>. Questo test è utilizzato anche per l'induzione e il monitoraggio della terapia anticoagulante orale<sup>1,2</sup> e può essere impiegato per valutare la capacità di sintesi proteica del fegato nei disordini epatici cronici o acuti. Il reagente capillare Helena BioSciences è realizzato a partire da cervello di coniglio, ma rasmaggiola a BCT umano in termini di basso indice di sensibilità internazionale (ISI). L'ISI del reagente capillare è approssimativamente pari a 1,1 (se si utilizzano tecniche di calibrazione manuali) ed è calibrato rispetto alla preparazione di riferimento internazionale dell'OMS<sup>3</sup>. Il reagente capillare è particolarmente indicato per il monitoraggio della terapia anticoagulante orale. 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 sangue citrato o capillare, 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 i guanti durante la manipolazione di tutti i componenti del kit. Fare riferimento alle schede tecniche e ai dati di sicurezza per le avvertenze sulla sicurezza e sui rischi e per le informazioni sullo smaltimento.

## COMPOSIZIONE

- Reagente capillare (10 × 2.5ml)**

Ogni fialone contiene una sospensione di tromboplastina di cervello di coniglio.
**Preparazione:** Il contenuto del fialone deve essere miscelato accuratamente prima e durante l'uso.
- Calcio cloruro (10 × 2.5ml)**

Ogni fialone contiene 0,010M di soluzione di calcio cloruro.
- Altri componenti del kit**

Ogni kit contiene le istruzioni per l'uso e un foglietto recante i valori di riferimento specifici per il lotto.

## CONSERVAZIONE E STABILITÀ

I reagenti non aperti sono stabili fino alla data di scadenza indicata se conservati nelle condizioni riportate sul fialone o sull'etichetta del kit.

- Reagente capillare**

**Fialoni aperti:** 1 mese a 2...6°C e 5 giorni a 15... 30°C. Il reagente attivo (miscelato con calcio cloruro) è stabile per 10 giorni a 2...6°C o per 5 giorni a 15...30°C. **NON CONGELARE.** Segni di deterioramento:il reagente è costituito da una sospensione fine di tessuto cerebrale di coniglio. Larghi ammassi consistenti di particelle o variazioni nei valori previsti possono essere indice di deterioramento del prodotto.
- Calcio cloruro**

**Fialoni aperti:** 1 mese a 2...6°C o 5 giorni a 15...30°C. Segni di deterioramento:il reagente deve apparire sotto forma di soluzione trasparente incolora. La contaminazione particellare, l'intorbidamento e una variazione nella performance prevista possono essere indici di un deterioramento del prodotto.

## MATERIALI NECESSARI MA NON IN DOTAZIONE

REF 90.200.0001 Timer fibrina CoaData501WB o qualsiasi altro coagulometro per sangue intero

## RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Nel corso dell'intera procedura, tutte le provette, le siringhe e le pipette utilizzate devono essere in plastica o vetro silicizzato. Il sangue venoso (9 parti) deve essere raccolto in sodio citrato (1 parte) al 3,2%. Prelevare il sangue capillare dalla prima goccia di sangue ottenuta pungendo la cute a una profondità adeguata. I test eseguiti su sangue venoso devono essere completati entro 4 ore dalla raccolta dei campioni e il campione deve essere conservato a temperatura ambiente<sup>4</sup>.

## 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 Set plasma calibrante Plasma (REF 5519) di Helena BioSciences<sup>5</sup>. Questa procedura deve essere eseguita per ogni nuovo lotto di reagente. Il set di riferimento INR (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.

**Istruzioni riguardanti il funzionamento del CoaData 501 WB:**

- Prima dell'uso fare equilibrare lo strumento a 37°C.
- Preriscaldare le coppette di campione (compresi i bastoncini di miscelazione) nelle posizioni corrette.
- Miscelare reagenti a calcio cloruro 1 + 1 e preriscaldare nel pozzetto reagente sullo strumento.
- Una volta riscaldato, lo strumento ha raggiunto la temperatura operativa, quindi premere 'Esc'; lo schermo visualizzerà <IPT-WB>".
- Premere 'Enter', lo schermo visualizzerà 'cuv in'.
- Inserire una coppetta preriscaldata (contenente 150µl di reagente) nel canale e premere 'Start'.
- Attendere l'immissione di secondi e il tempo di coagulazione.
- Al prompt, 'Go-S', aggiungere 25µl di sangue (15µl di plasma) nella coppetta all'interno del canale di misurazione e premere contemporaneamente 'Start'.
- Attendere il tempo di coagulazione /INR.
- Dopo aver registrato i risultati togliere la coppetta e premere 'Reset'.

**Istruzioni correnti per l'uso del dispositivo Thrombostat:**

- Prima di utilizzare lo strumento attendere che si stabilizzi su una temperatura di 37°C.
  - Miscelare il reagente e il calcio cloruro (1 + 1) e preriscaldarli nella posizione di incubazione dei reagenti per 5 minuti.
  - i) Utilizzatori del dispositivo Thrombostat 1:** Una volta raggiunta la temperatura, il dispositivo Thrombostat è pronto per eseguire un esame PT. **ii) Utilizzatori del dispositivo Thrombostat 2:** Tenere premuto "Test" fin quando non verrà selezionato "PT test".
  - Posizionare la/e cuvetta/e nella posizione di incubazione del/dei campione/i e inserire in ciascuna 1 cucinetto a sfera.
- Metodo del sangue intero:**
    - Pipettare e miscelare 150 µl di reagente e calcio cloruro preriscaldati (1 + 1) nella/e cuvetta/e. Incubare per 2 minuti:
      - Utilizzatori del dispositivo Thrombostat 1:** Premere "Reset/Incubation" per azionare il timer.
      - Utilizzatori del dispositivo Thrombostat 2:** Premere le cuvette per azionare il timer, il dispositivo Thrombostat emetterà un segnale acustico ad indicare la fine dell'incubazione.
    - Al termine dell'incubazione trasferire la/e cuvetta/e nel canale di misurazione.
    - i) Utilizzatori del dispositivo Thrombostat 1:** Premere "Start". **ii) Utilizzatori del dispositivo Thrombostat 2:** Premere "Reset/Start"
Lo strumento inizia il count down per l'avvio della misurazione (Utilizzatori del dispositivo Thrombostat 2: canale 1). Poco prima dell'inizio della misurazione, pipettare 25 µl di sangue intero nella cuvetta.
    - Utilizzatori del dispositivo Thrombostat 2:** Per eseguire una ripetizione, premere nuovamente "Reset/Start" per avviare la misurazione nel canale 2.
  - Metodo del plasma:**
    - Pipettare 50 µl di plasma nella/e cuvetta/e. Incubare per 2 minuti:
      - Utilizzatori del dispositivo Thrombostat 1:** Premere "Reset/Incubation" per azionare il timer.
      - Utilizzatori del dispositivo Thrombostat 2:** Premere le cuvette per azionare il timer, il dispositivo Thrombostat emetterà un segnale acustico ad indicare la fine dell'incubazione.
    - Al termine dell'incubazione trasferire la/e cuvetta/e nel canale di misurazione.
    - i) Utilizzatori del dispositivo Thrombostat 1:** Premere "Start". **ii) Utilizzatori del dispositivo Thrombostat 2:** Premere "Reset/Start"
Lo strumento inizia il count down per l'avvio della misurazione (Utilizzatori del dispositivo Thrombostat 2: canale 1). Poco prima dell'inizio della misurazione, pipettare e miscelare 250 µl di reagente e calcio cloruro (1 + 1) nella cuvetta.
    - Utilizzatori del dispositivo Thrombostat 2:** Per eseguire una ripetizione, premere nuovamente "Reset/Start" per avviare la misurazione nel canale 2.
NOTA: In caso di utilizzo di una pipetta automatica, il tempo di misurazione si avvia automaticamente nel punto (c) senza dover premere "Start" o "Reset/Start".
    - Attendere la misurazione del tempo di coagulazione/INR
    - i) Utilizzatori del dispositivo Thrombostat 1:** Prendere nota dei risultati, rimuovere la cuvetta e premere "Reset/Incubation" per cancellare i risultati del test precedente. A questo punto lo strumento è pronto per il test successivo. **ii) Utilizzatori del dispositivo Thrombostat 2:** Dopo aver stampato i risultati, rimuovere le cuvette e premere "Reset/Start" per cancellare i risultati del test precedente. A questo punto lo strumento è pronto per il test successivo.

## 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 INR possono essere calcolati utilizzando la seguente formula:

INR = (Tempo di PT Paziente) / (Tempo PT normale medio)<sup>6B</sup>

I valori della %PT possono essere interpolati dal grafico di calibrazione (%PT dei plasmi di calibrazione PT vs tempo di coagulazione rilevato), che, se tracciato su carta a doppia scala logaritmica, deve apparire sotto forma di linea retta.

## CONTROLLO QUALITÀ

Ogni laboratorio deve definire un programma di controllo qualità. I plasmi di controllo normale e anomali devono essere testati prima di ogni lotto di campioni di pazienti, per garantire un livello prestazione 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 5186/5499 Norm-Trol 1
REF 5187 Ab-Trol 2
REF 5183 Ab-Trol 3

## VALORI DI RIFERIMENTO

I valori di riferimento possono variare tra i singoli laboratori in funzione delle tecniche e dei sistemi utilizzati. Per tale motivo ciascun laboratorio dovrà elaborare un proprio range normale. Ciò è particolarmente importante per la calibrazione dell'ISI locale.

Con l'impiego del CoaData 501WB, i valori normali che variano tra 19,5 e 29,0 secondi sono ritenuti tipici.

**Range terapeutici:**

La British Society for Haematology<sup>9</sup> raccomanda i seguenti range di INR per varie condizioni cliniche:

|            |   |
|------------|---|
| <b>INR</b> | <b>Stato clinico</b>  |
| 2.0-2.5    | Profilassi della trombosi delle vene profonde, compresi gli interventi chirurgici in pazienti ad alto rischio. (2,0-3,0 per le protesi d'anca e gli interventi per la frattura del femore).   |
| 2.0-3.0    | Trattamento della trombosi delle vene profonde. Embolia polmonare. Embolia sistemica. Prevenzione della tromboembolia venosa nell'infarto del miocardio. Stenosi mitralica con embolia. Attacchi ischemici transitori. Fibrillazione atriale. |
| 3.0-4.5    | Trombosi delle vene profonde ricorrente e embolia polmonare. Malattia arteriosa, compreso l'infarto del miocardio. Valvole cardiache protesiche meccaniche.   |

## 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.

### Precisione

La precisione della determinazione del PT dipende in larga misura dal metodo e dalla tecnica in uso. I valori tipici per la precisione entro la serie e tra le serie sono :
Confronto del metodo: Dal confronto dei valori INR determinati utilizzando il reagente capillare Helena con altri tre reagenti commercialmente reperibili sono emerse le seguenti equazioni di correlazione:

| Entro la serie (n=10) |        | Tra le serie (n=10) |        |
|-----------------------|--------|---------------------|--------|
| Media (sec.)          | CV (%) | Media (sec.)        | CV (%) |
| Campione 1            | 21,3   | Campione 1          | 23,7   |
| Campione 2            | 66,0   | Campione 2          | 67,9   |

**Sangue venoso**  
Reagente capillare = 1,1632 (A) - 0,1828      r<sup>2</sup> = 0,9559      n = 20  
Reagente capillare = 0,8317 (B) + 0,1541      r<sup>2</sup> = 0,9593      n = 20

**Sangue capillare**  
Reagente capillare = 0,9985 (C) - 0,1608      r<sup>2</sup> = 0,9053      n = 29

## BIBLIOGRAFIA

- Quick, A.J. 'A Study of the Coagulation Defect in Hemophilia and Jaundice', Am. J. Med. Sci., 1935; 190: 501.
- Biggs, Rosemary (Ed.), Human Blood Coagulation, Haemostasis and Thrombosis, 2nd Edition, Blackwell Scientific Publications, London, 1976
- Hirsh, J., Poller, L., Deykin, D., Levine, J. and Dalen, J.E.,'Optimal Therapeutic Range for Oral Anticoagulants', Chest, 1989, 95: 55-115
- Poller, L. 'Laboratory Control of Anticoagulant Therapy', Sem. Thromb. Haemostasis, 1986; 12: 13-19.
- World Health Organisation. Expert Committee on Biological Standards 1984. Technical Series 700-19.
- World Health Organisation. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. 2002; 99.1, Rev.2.
- Poller, L., Triplett, D.A., Hirsh, J., Carroll, J. and Clarke, K. 'The value of plasma calibrants in correcting coagulometer effects on International Normalised Ratios (INR): An international multicentre study' Amer. J. Clin. Pathol., 1995; 103: 358-365.
- Poller, L., Triplett, D.A., Hirsh, J., Carroll, J. and Clarke, K. '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., 1995, 103 : 366-371.
- The British Society for Haematology, 'Guidelines on Oral Anticoagulation: Second Edition', J. Clin. Pathol., 1990; 43 : 177-183.

## USO PREVISTO

La primera prueba del tiempo de protrombina estandarizada en una etapa fue desarrollada por el Dr. Armand Quick en 1935<sup>1</sup>. Se emplea para la iniciación y monitorización del tratamiento anticoagulante oral<sup>1,2</sup> y se puede utilizar para evaluar la capacidad de la síntesis de proteínas del hígado en trastornos hepáticos crónicos o agudos.

El reactivo capilar Helena BioSciences tiene su origen en cerebro de conejo, pero se parece a la BCT humana en su bajo índice de Sensibilidad Internacional (ISI). El ISI del Reactivo capilar es de aproximadamente 1,1 (usando técnicas de calibración manual) y se calibra contra el preparado de referencia internacional de la OMS<sup>3</sup>. El reactivo capilar está especialmente adaptado a la monitorización del tratamiento anticoagulante oral. La tromboplastina tisular, en presencia de iones de calcio, es un activador que inicia la vía extrínseca de la coagulación. Cuando se añade una mezcla de tromboplastina tisular e iones de calcio a sangre citrada o capilar, 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.

## 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, avisos de seguridad y consejos para su eliminación.

## COMPOSICIÓN

- Reactivo capilar (10 × 2.5ml)**

Cada vial contiene suspensión de tromboplastina de cerebro de conejo.
**Preparación:** Los contenidos del vial deben mezclarse bien antes y durante su uso.
- Calcium Chloride (10 × 2.5ml)**

Cada vial contiene solución de cloruro cálcico 0,010M.
- Otros componentes del kit**

Cada kit contiene instrucciones de uso y valores de referencia específicos insertados del lote.

## ALMACENAMIENTO Y PERIODO DE VALIDEZ

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.

- Reactivo capilar**

**Viales abiertos:** 1 mes a 2...6°C y 5 días a 15...30°C. El reactivo de trabajo (mezclado con cloruro cálcico) es estable durante 10 días a 2...6°C o 5 días a 15...30°C. **NO CONGELAR.** **Signos de deterioro:** El reactivo es una suspensión fina de tejido cerebral de conejo. Los grumos grandes de partículas o los cambios en los valores esperados pueden indicar deterioro del producto.
- Calcium Chloride**

**Viales abiertos:** 1 mes a 2...6°C o 5 días a 15...30°C. **Signos de deterioro:** El reactivo es una solución transparente, incolora. La contaminación particulada, la turbiedad o un cambio en el rendimiento esperado pueden indicar deterioro del producto.

## ARTÍCULOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

REF 90.200.0001 Temporizador de fibrina CoADATA 501WB o cualquier otro coagulómetro de sangre entera

## RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Durante todo el procedimiento, todos los tubos de ensayo, jeringas y pipetas deben ser de plástico o de vidrio silicizado. La sangre venosa debe recogerse en citrato sódico al 3,2% - 9 partes de sangre + 1 parte de citrato sódico. La sangre capilar debe recogerse de la primera gota de sangre que salga al realizar una punción cutánea con suficiente profundidad. Las pruebas en sangre venosa deben realizarse en un plazo de 4 horas desde la recogida de la sangre y la muestra debe conservarse a temperatura ambiente.<sup>6</sup>

## PROCEDIMIENTO PASO A PASO

Para la comunicación exacta del INR, se recomienda determinar la ISI específica del laboratorio del reactivo con el sistema de prueba en uso. Se recomienda utilizar el Set de calibración del plasma de (REF 5519) de Helena BioSciences para este fin<sup>5</sup>. Esto debe realizarse para cada nuevo lote de reactivos. Debe usarse el Set de Referencia de INR de Helena BioSciences (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.

**Instrucciones de funcionamiento para el CoaData 501 WB:**

- Antes de utilizar el instrumento, hay que dejar que se equilibre a 37°C.
- Precalentar los vasos de recogida de muestras (incluidas las barras de agitación) en las posiciones adecuadas.
- Mezclar reactivo y cloruro cálcico 1 + 1 y precalentar en el pozo de reactivo en el instrumento.
- Una vez calentado el instrumento a la temperatura de funcionamiento, presionar 'Esc'; en la pantalla aparecerá <IPT-WB>".
- Presionar 'Enter', en la pantalla aparecerá 'cuv in'.
- Insertar un vaso precalentado (con 150µl de reactivo) en el canal y presionar 'Start' (Empezar).
- Esperar a la incubación, fijada a 1 segundo.
- Cuando aparezca el mensaje 'Go-S', añadir 25µl de sangre (15µl de plasma) en el vaso del canal de medición y presionar al mismo tiempo 'Start'.
- Esperar al tiempo de coagulaci6n/INR.
- Después de anotar los resultados, retirar el vaso y presionar 'Reset'.

**Instrucciones de funcionamiento del Thrombostat:**

- Antes de utilizar el instrumento, hay que dejar que se equilibre a 37°C.
  - Mezclar el reactivo y el cloruro cálcico (1 + 1) y precalentar en la posición de incubación para reactivos durante 5 minutos.
  - i) Usuarios de Thrombostat 1: Una vez alcanzada la temperatura, el Thrombostat está listo para realizar un TP. **ii) Usuarios de Thrombostat 2:** Pulsar "Test" (Prueba) hasta que se seleccione "PT test" (Prueba de TP).
  - Colocar la(s) cubeta(s) en la posición de incubación de la(s) muestra(r) y dispensar 1 cojnete de bolas en cada una.
- Método de sangre entera:**
    - Pipetear 150 µl de mezcla precalentada de reactivo y cloruro cálcico (1 + 1) en la(s) cubeta(s). Incubar durante 2 minutos:
      - Usuarios del Thrombostat 1:** Pulsar el botón 'Reset/Incubation' (Reinicio/incubación) para poner en marcha el temporizador.
      - Usuarios del Thrombostat 2:** Presionar las cubetas para activar el temporizador, el Thrombostat pitará para indicar el final de la incubación.
    - Después de la incubación, transferir la(s) cubeta(s) a la posición del canal de medición.
    - i) Usuarios de Thrombostat 1:** Pulsar "Start" (Inicio) **ii) Usuarios de Thrombostat 2:** Pulsar "Reset/Start" (Reiniciar/Inicio)
El instrumento hará una cuenta atrás hasta el comienzo de la medición (Usuarios de Thrombostat 2: canal 1). Justo antes de que comience la medición, pipetear 25µl de sangre entera en una cubeta.
    - Usuarios de Thrombostat 2: Para realizar una prueba por duplicado pulsar "Reset/Start" (Reiniciar/Inicio) nuevamente para comenzar la medición en el canal 2.
  - Método de plasma:**
    - Pipetear 50 µl de plasma en la(s) cubeta(s). Incubar durante 2 minutos:
      - Usuarios de Thrombostat 1:** Pulsar "Reset/Incubation" (Reiniciar/incubación) para encender el temporizador.
      - Usuarios de Thrombostat 2:** Pulsar las cubetas para activar el temporizador, el Thrombostat pitará para indicar el final de la incubación.
    - Después de la incubación, transferir la(s) cubeta(s) a la posición del canal de medición.
    - i) Usuarios de Thrombostat 1:** Pulsar "Start" (Inicio) **ii) Usuarios de Thrombostat 2:** Pulsar "Reset/Start" (Reiniciar/Inicio)
El instrumento hará una cuenta atrás hasta el comienzo de la medición (Usuarios de Thrombostat 2: canal 1). Justo antes de que comience la medición, pipetear 250 µl de mezcla de reactivo y cloruro cálcico (1 + 1) en la cubeta.
    - Usuarios de Thrombostat 2:** Para realizar un duplicado, pulsar "Reset/Start" (Reiniciar/Inicio) de nuevo para comenzar la medición en el canal 2.
NOTA: Si está utilizando la pipeta de inicio, el tiempo de medición comienza automáticamente en el paso (c) eliminando la necesidad de pulsar "Start" (Inicio) o "Reset/Start" (Reiniciar/Inicio).
    - Esperar al tiempo de coagulaci6n/INR.
      - Usuarios de Thrombostat 1:** Registrar los resultados, retirar la cubeta y pulsar "Reset/Incubation" (Reinicio/incubación) para borrar los resultados de la prueba anterior. El instrumento ya está listo para la siguiente prueba. **ii) Usuarios de Thrombostat 2:** Después de que se hayan impreso los resultados, retirar las cubetas y pulsar "Reset/Start" (Reiniciar/Inicio) para borrar los resultados de la prueba anterior. El instrumento está ya listo para la prueba siguiente.

## INTERPRETACION DE RESULTADOS

Los resultados deben comunicarse en la décima de segundo más próxima y las pruebas duplicadas deben estar de acuerdo entre sí dentro del 5%.

Los valores de INR pueden calcularse usando la siguiente fórmula:

INR = (Tiempo de TP Paciente) / (Tiempo de TP normal medio)<sup>6B</sup>

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 unirse punto a punto cuando se representa en un papel de gráficos log-log.

## 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 suministra los siguientes controles disponibles para usar con este producto:

REF 5186 / 5499 Norm-Trol 1
REF 5187 Ab-Trol 2
REF 5183 Ab-Trol 3

## 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.

Utilizando CoaData 501WB, son habituales los valores normales en un intervalo de 19,5 – 29,0 segundos.

**Intervalos terapéuticos**

La British Society for Haematology<sup>9</sup> recomienda los siguientes intervalos de INR para diversos estados clínicos:

|            |  |
|------------|--|
| <b>INR</b> | <b>Estado Clínico</b>  |
| 2.0-2.5    | Profilaxis de la trombosis venosa profunda, incluida la cirugía en pacientes de alto riesgo (2,0-3,0 para la cirugía de cadera y las operaciones en fémures fracturados).  |
| 2.0-3.0    | Tratamiento de la trombosis venosa profunda. Embolia pulmonar. Embolia sistémica. Prevención del tromboembolismo venoso en el infarto de miocardio. Estenosis mitral con embolia. Accidentes isquémicos transitorios. Fibrilación auricular. |
| 3.0-4.5    | Trombosis venosa profunda y embolia pulmonar recidivante. Enfermedad arterial, incluido el infarto de miocardio. Válvulas cardíacas protésicas mecánicas.  |

## CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

Helena BioSciences o sus representantes han determinado las siguientes características de rendimiento como directr. Cada laboratorio debe establecer sus propios datos de rendimiento.

### Precision

La precisión de la determinación de TP depende en gran medida del método y de la técnica empleados. Los valores típicos para la precisión dentro de cada prueba y entre pruebas son :
Comparación del método: Al comparar los valores de INR determinados utilizando el reactivo capilar de Helena y otros tres reactivos disponibles comercialmente se obtuvieron las siguientes ecuaciones de correlación:

| Dentro de cada prueba (n=10) |        | Entre pruebas (n=10) |        |
|------------------------------|--------|----------------------|--------|
| Media (seg)                  | CV (%) | Media (seg)          | CV (%) |
| Muestra 1                    | 21,3   | Muestra 1            | 23,7   |
| Muestra 2                    | 66,0   | Muestra 2            | 67,9   |

**Sangre venosa**  
Reactivo capilar = 1,1632 (A) – 0,1828      r<sup>2</sup> = 0,9559      n = 20  
Reactivo capilar = 0,8317 (B) + 0,1541      r<sup>2</sup> = 0,9593      n = 20

**Sangre capilar**  
Reactivo capilar = 0,9985 (C) – 0,1608      r<sup>2</sup> = 0,9053      n = 29

## BIBLIOGRAFÍA

- Quick, A.J. 'A Study of the Coagulation Defect in Hemophilia and Jaundice', Am. J. Med. Sci., 1935; 190: 501.
- Biggs, Rosemary (Ed.), Human Blood Coagulation, Haemostasis and Thrombosis, 2nd Edition, Blackwell Scientific Publications, London, 1976
- Hirsh, J., Poller, L., Deykin, D., Levine, J. and Dalen, J.E.,'Optimal Therapeutic Range for Oral Anticoagulants', Chest, 1989, 95: 55-115
- Poller, L. 'Laboratory Control of Anticoagulant Therapy', Sem. Thromb. Haemostasis, 1986; 12: 13-19.
- Poller, L., Triplett, D.A., Hirsh, J., Carroll, J. and Clarke, K. 'The value of plasma calibrants in correcting coagulometer effects on International Normalised Ratios (INR): An international multicentre study' Amer. J. Clin. Pathol., 1995; 103 : 358-365.
- Poller, L., Triplett, D.A., Hirsh, J., Carroll, J. and Clarke, K. '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., 1995, 103 : 366-371.
- The British Society for Haematology, 'Guidelines on Oral Anticoagulation: Second Edition', J. Clin. Pathol., 1990; 43 : 177-183.

# Capillary Reagent

Instructions for use

REF 5506

Réactif capillaire

Fiche technique

Reagenz zur Bestimmung der TPZ im Kapillarblut

Anleitung

Reagente capillare

Istruzioni per l'uso

Reactivo capilar

Instrucciones de uso

Helena BioSciences Europe

Queensway South

Team Valley Trading Estate

Gateshead

Tyne and Wear

NE11 OSD

Tel. +44 (0)191 482 8440

Fax +44 (0)191 482 8442

Email info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com



HL-2-1316P 2007/05 (6)