Direct Thrombin Inhibitor Assay - 0020302800

ENGLISH - Insert revision 06/2014

Intended use

The HemosIL Direct Thrombin Inhibitor (DTI) Assay is an *in vitro* diagnostic assay for the quantitative determination of the Direct Thrombin Inhibitor Dabigatran in citrated human plasma on the ACL TOP Family of analyzers. The product is intended to be used for the measurement of active Dabigatran levels in situations where measurement is warranted.[1,2]

Summary and Principle

Direct thrombin inhibitors (DTIs) are anticoagulants that bind to thrombin without the mediation of Antithrombin. Dabigatran etexilate is a prodrug that, once absorbed in the GI tract, is converted to its active form, Dabigatran. Dabigatran is an oral DTI that has been approved for use as an alternative to Warfarin for various therapeutic indications.

The HemosIL DTI assay is a modified (dilute) thrombin time test performed on citrated patient plasma. Citrated patient plasma is diluted in pooled normal plasma (DTI Plasma Diluent - supplied as part of the assay) to reduce interferences from pre-analytical variables. A fixed concentration of reconstituted bovine thrombin is then added to the diluted patient sample, activating the coagulation cascade and converting fibrinogen into fibrin. The presence of Dabigatran in patient samples will have an inhibitory effect on the procoagulant activity of the exogenous thrombin added to the patient sample. The associated clotting time in seconds is measured on the ACL TOP Family. A Dabigatran reference curve is plotted on the ACL TOP Family from the clotting time results of a known reference plasma standard (HemosIL Dabigatran Calibrators). The concentration of Dabigatran in the patient plasma samples is determined by comparing clotting time values to the reference curve.

Composition

Each Direct Thrombin Inhibitor Assay consists of:

R **DTI Thrombin Reagent** (Cat. No. 0020302810): 3 x 2 mL vials of a lyophilized bovine thrombin (~1.5 UNIH/mL) with bovine albumin and buffer.

TD **DTI Thrombin Diluent** (Cat. No. 0020302820): 3 x 2.2 mL vials of a solution containing buffer and heparin neutralizer.

PD **DTI Plasma Diluent** (Cat. No. 0020302830): 3 x 2 mL vials of a lyophilized human plasma containing buffer, stabilizers and preservatives.

PRECAUTIONS AND WARNINGS:

The Direct Thrombin Inhibitor Reagent contains bovine material. All donor animals were sourced from BSE-free herds. The cattle received ante- and post mortem health inspection by a veterinarian, and they were apparently free from infectious and contagious material. However, the material should be treated as potentially infectious.

The Plasma Diluent uses human material. The human material used in this product was tested by FDA approved test methods and found nonreactive for Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg), Anti-HCV and HIV 1/2 antibodies. Handle as if potentially infectious.

The Direct Thrombin Inhibitor Reagent and Plasma Diluent are not classified as hazardous.

- Hazard class: **none**
- Risk phrases: **none**
- Safety phrases: **none**

This product is for *in vitro* Diagnostic Use.

Preparation

DTI Thrombin Reagent – Pipette 2 mL of DTI Thrombin Diluent into a vial of DTI Thrombin Reagent. Replace the stopper and swirl gently. Make sure of the complete reconstitution of the product. Keep the reagent at 15-25°C for 30 minutes and invert to mix before use. Do not shake.

DTI Thrombin Diluent – Ready to use with DTI Thrombin Reagent.

DTI Plasma Diluent – Dissolve the contents of each vial with 2 mL of CLSI Type CLR water or equivalent.[3] Replace the stopper and swirl gently. Make sure of the complete reconstitution of the product. Keep the plasma diluent at 15-25°C for 30 minutes and invert to mix before use. Do not shake.

Instrument/test procedures

Refer to the appropriate IL instrument's Operator's Manual and/or Application/Reference Manual for the complete assay procedure instructions.

Reagent storage and stability

Unopened reagent and diluents are stable until the expiration date shown on the vial when stored at 2-8°C.

DTI Thrombin Reagent – Reconstituted reagent is stable: 48 hours at 2-8°C in closed original vial, or 6 hours on-board the ACL TOP Family at 15°C in the original vial, or 30 days at -20°C in the closed original vial (single thaw only).

DTI Plasma Diluent – Reconstituted plasma is stable: 48 hours at 2-8°C in the closed original vial, or 6 hours on-board the ACL TOP Family at 15°C in the original vial, or 30 days at -20°C in the closed original vial (single thaw only).

For optimal stability remove reagents from the system and store them, closed, at 2-8°C, in their original vials.

NOTE: Low relative humidity is associated with increased evaporation of uncapped reagents, which may decrease onboard stability. For optimum on-board stability, laboratory temperature and humidity should be controlled.

Specimen collection, preparation and handling

Nine parts of freshly drawn venous blood are collected into one part trisodium citrate. Refer to CLSI Document H21-A5 for instructions on specimen collection, handling and storage.[4]

Additional reagents and control plasmas

The following are not supplied with the kit and must be purchased separately:

	Cat No.
Dabigatran Calibrators	0020013400
Dabigatran Controls	0020013500
Cleaning Agent	0009832700
Factor Diluent	0009757600

Quality control

Normal and abnormal controls are recommended for a complete quality control program.[5] HemosIL Dabigatran Low and High Controls are designed for this program. Each laboratory should establish its own mean and standard deviation and should establish a quality control program to monitor laboratory testing. Controls should be analyzed at least once every 8-hour shift in accordance to good laboratory practice. Refer to Westgard *et al* for identification and resolution of out-of-control situtations.[6]

Results

DTI assay results are reported in ng/mL. Refer to the instrument's Operator's Manual for additional information.

Limitations/Interfering Substances

Samples with excessive hemolysis, icterus, or lipemia, should not be used; DTI assay results on the ACL TOP Family are not affected by Hemoglobin up to 300 mg/dL, Triglycerides up to 873 mg/dL, Bilirubin up to 40 mg/dL and Unfractionated / Low Molecular Weight Heparin up to 2.2 IU/mL.

Expected Values

The predictable pharmacokinetic profile of Dabigatran supports a fixed-dose regimen without the need for routine coagulation monitoring. The peak and trough Dabigatran plasma concentration levels have been measured in some clinical trials by the Dabigatran manufacturer and depend on the fixed dosage regime.[2]

Performance characteristics

Precision

Precision was assessed utilizing 3 lots of plasma on representative members of the ACL TOP Family (ACL TOP 700, ACL TOP 500 CTS, and ACL TOP 300 CTS). Precision was evaluated in accordance with CLSI EP05-A2[7], for 20 days, with 2 runs per day and 2 replicates per run for each sample level (n=80/instrument/lot), using a specific lot of DTI reagent and both normal and abnormal samples. Test data from a representative instrument, reagent and plasma lot is included below.

ACL TOP Family	Mean (ng/mL)	CV% (Within run)	CV% (Total)
Dabigatran Low Control	45	2.2	3.6
Dabigatran High Control	196	1.8	4.1
Clinical Sample	123	2.0	3.4
Internal Control 1	77	2.8	4.2
Internal Control 2	505	3.5	5.4
Internal Control 3	957	2.3	4.2
Internal Control 4	2035	3.1	4.3

Correlation System:	n	slope (95%CI)	intercept (95% CI)	r	Reference Method
ACL TOP Family	147	1.002 (0.987 to 1.016)	12.01 (5.64 to 18.38)	0.996	Hemoclot Thrombin Inhibitors on ACL TOP Family

A method comparison between the HemosIL Direct Thrombin Inhibitor Assay and the Hemoclot Thrombin Inhibitors (Hyphen Biomed) kit was performed in accordance with EP09-A3, on 147 samples (102 unadulterated Dabigatran patient samples/45 Dabigatran-spiked samples), on a representative member of the ACL TOP Family.

Linearity: System	
ACL TOP Family	20 ng/mL – 2000 ng/mL

Detection limit: System	
ACL TOP Family	2 ng/mL

Direct Thrombin Inhibitor Assay - 0020302800

DEUTSCH - Packungsbeilage Version 06/2014

Verwendungszweck

Der HemosIL Test direkter Thrombininhibitor (DTI) ist ein für die In-vitro-Diagnostik bestimmter Test für die quantitative Bestimmung des direkten Thrombininhibitors Dabigatran in humanem Citratplasma auf den Analysesystemen der ACL TOP Familie. Das Produkt ist für die Messung der aktiven Dabigatran-Konzentration in Situationen, in denen eine Messung angezeigt ist, bestimmt.[1,2]

Zusammenfassung und Testprinzip

Direkte Thrombininhibitoren (DTIs) sind Antikoagulanzien, die sich ohne die Vermittlung durch Antithrombin direkt an Thrombin binden. Dabigatranetexilat ist ein Prodrug, das nach der Absorption im Magen-Darm-Trakt in seine aktive Form, das Dabigatran, umgewandelt wird. Dabigatran ist ein oraler DTI, der eine Zulassung zur Verwendung als Alternative zu Warfarin bei verschiedenen therapeutischen Indikationen erhalten hat.

Bei dem HemosIL DTI Test handelt es sich um eine modifizierte (verdünnte) Thrombinzeit-Bestimmung im Citratplasma des Patienten. Dieses wird in gepooltem Normalplasma (DTI Plasma-Diluent, im Testkit enthalten) verdünnt, um Interferenzen durch präanalytische Variablen zu minimieren. Zur verdünnten Patientenprobe wird anschließend eine festgelegte Konzentration des rekonstituierten Rinderthrombins gegeben, wodurch die Gerinnungskaskade aktiviert und Fibrinogen in Fibrin umgewandelt wird. Die zugehörige Gerinnungszeit in Sekunden wird auf dem System der ACL TOP Familie gemessen. Anhand der Ergebnisse zur Gerinnungszeit eines bekannten Referenzplasma-Standards (HemosIL Dabigatran-Kalibratoren) wird auf dem System der ACL TOP Familie eine Dabigatran-Referenzkurve aufgetragen. Die Dabigatran-Konzentration in den Plasmaproben von Patienten wird durch Vergleich der Werte für die Gerinnungszeit mit der Referenzkurve bestimmt.

Inhalt

Jedes Testkit **direkter Thrombininhibitor** besteht aus:

R **DTI-Thrombinreagenz** (Art.-Nr. 0020302810): 3 Flaschen x 2 mL lyophilisiertes Rinderthrombin (~1,5 UNIH/mL) mit Rinderalbumin und Puffer.

TD **DTI-Thrombin-Diluent** (Art.-Nr. 0020302820): 3 Flaschen x 2,2 mL einer Lösung mit Puffer und Heparin-Neutralisator.

PD **DTI-Plasma-Verdünnungsmittel** (Art.-Nr. 0020302830): 3 Flaschen x 2 mL lyophilisiertes Humanplasma, das Puffer, Stabilisatoren und Konservierungsmittel enthält.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNUNGEN:

Das direkte Thrombininhibitor-Reagenz enthält Material bovinen Ursprungs. Alle Spendertiere wurden aus BSE-freien Herden bezogen. Die Rinder wurden vor und nach der Schlachtung von einem Veterinär auf ihre Gesundheit untersucht und waren augenscheinlich frei von infektiösem und ansteckendem Material. Das Material ist jedoch wie potenziell infektiöses Material zu behandeln.

Das Plasma-Diluent enthält Material humanen Ursprungs. Das in diesem Produkt enthaltene Material humanen Ursprungs wurde mit FDA-anerkannten Testmethoden auf Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HBsAg), Anti-HCV und HIV-1- und HIV-2-Antikörper geprüft und für nicht reaktiv befunden. Das Produkt ist wie potenziell infektiöses Material zu behandeln.

Das direkte Thrombininhibitor-Reagenz und das Plasma-Diluent sind nicht als gefährlich eingestuft.

- Gefahrenklasse: **keine**
- R-Sätze: **keine**
- S-Sätze: **keine**

Dieses Produkt ist zur Verwendung als *In-vitro*-Diagnostikum bestimmt.

Vorbereitung

DTI-Thrombinreagenz – 2 mL DTI-Thrombin-Diluent in eine Flasche mit DTI-Thrombinreagenz pipettieren. Den Stopfen wieder aufsetzen und die Flasche sanft schwenken. Die vollständige Rekonstitution des Produktes sicherstellen. Das Reagenz 30 Minuten bei 15 °C bis 25 °C stehen lassen und vor Gebrauch durch Umdrehen mischen. Nicht schütteln.

DTI-Thrombin-Diluent – Fertig zum Gebrauch mit DTI-Thrombinreagenz.

DTI-Plasma-Diluent – Den Inhalt jeder Flasche mit jeweils 2 mL CLSI-Wasser (CLRW) oder vergleichbarem lösen.[3] Den Stopfen wieder aufsetzen und die Flasche sanft schwenken. Die vollständige Rekonstitution des Produktes sicherstellen. Das Plasma-Diluent 30 Minuten bei 15 °C bis 25 °C stehen lassen und vor Gebrauch durch Umdrehen mischen. Nicht schütteln.

Bestimmungsansatz

Vollständige Anweisungen zum Testablauf bitte dem Bedienerhandbuch und/oder Applikations-/Referenzhandbuch des jeweiligen IL Geräts entnehmen.

Lagerung und Stabilität der Reagenzien

Ungeöffnet sind Reagenz und Diluent bei Lagerung bei 2 °C bis 8 °C bis zum auf der Flasche angegebenen Verfallsdatum haltbar.

DTI-Thrombinreagenz – Das rekonstituierte Reagenz ist wie folgt haltbar: 48 Stunden bei 2 °C bis 8 °C in der verschlossenen Originalflasche oder 6 Stunden auf Systemen der ACL TOP Familie bei 15 °C in der Originalflasche oder 30 Tage bei -20 °C in der verschlossenen Originalflasche (nur ein Auftauvorgang).

DTI-Plasma-Diluent – Das rekonstituierte Plasma ist wie folgt haltbar: 48 Stunden bei 2 °C bis 8 °C in der verschlossenen Originalflasche oder 6 Stunden auf Systemen der ACL TOP Familie bei 15 °C in der Originalflasche oder 30 Tage bei -20 °C in der verschlossenen Originalflasche (nur ein Auftauvorgang).

Um die optimale Stabilität zu erzielen, die Reagenzien aus dem System entfernen und bei 2 °C bis 8 °C in den verschlossenen Originalflaschen aufbewahren.

HINWEIS: Eine niedrige relative Luftfeuchtigkeit ist mit einer erhöhten Verdunstungsrate von unverschlossenen Reagenzien verbunden, sodass die Stabilität im System reduziert sein kann. Im Sinne der optimalen Stabilität im System sollten im Labor regulierte Temperatur und Luftfeuchtigkeit herrschen.

Entnahme, Vorbereitung und Handhabung der Patientenproben

Neun Teile frisches venöses Blut werden in einen Teil Trinatriumcitrat entnommen. Anweisungen zur Entnahme, Handhabung und Aufbewahrung der Patientenproben sind dem CLSI-Dokument H21-A5 zu entnehmen.[4]

Zusätzliche Reagenzien und Kontrollplasmen

Die folgenden Reagenzien sind nicht im Kit enthalten und müssen separat erworben werden.

	Art.-Nr.
Dabigatran-Kalibratoren	0020013400
Dabigatran-Kontrollen	0020013500
Reinigungslösung	0009832700
Faktor-Diluent	0009757600

Qualitätskontrolle

Für ein umfassendes Qualitätskontrollprogramm wird empfohlen, normale und abnormale Kontrollen zu verwenden.[5] HemosIL Dabigatran niedrige und hohe Kontrolle sind für dieses Programm konzipiert. Jedes Labor sollte seinen eigenen Mittelwert mit Standardabweichung festlegen und ein Qualitätskontrollprogramm einführen, um die im Labor durchgeführten Tests zu überwachen. Gemäß guter Laborpraxis sollten Kontrollen mindestens ein Mal pro 8-Stunden-Schicht analysiert werden. Zur Identifikation und Auflösung von Situationen, in denen die Kontrollen vom Zielbereich abweichen, siehe Westgard et al.[6] Siehe auch: „Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen“ in der jeweils gültigen Fassung.

Ergebnisse

Die Ergebnisse des DTI-Tests werden in ng/mL ausgegeben. Weitere Informationen gehen aus dem Bedienerhandbuch des Geräts hervor.

Einschränkungen/Störsubstanzen

Stark hämolysierte, ikterische oder lipämische Proben sollten nicht verwendet werden. Die Ergebnisse des DTI-Tests auf Systemen der ACL TOP Familie werden durch Hämoglobin bis zu 300 mg/dL, Triglyceride bis zu 873 mg/dL, Bilirubin bis zu 40 mg/dL und unfraktioniertes/niedermolekulares Heparin bis zu 2.2 IE/mL nicht beeinflusst.

Erwartungswerte

Das vorhersagbare pharmakokinetische Profil von Dabigatran spricht für ein festes Dosisschema, bei dem keine routinemäßige Überwachung der Gerinnung erforderlich ist. Spitzen- und Talspiegel von Dabigatran im Plasma wurden in einigen klinischen Studien durch den Hersteller von Dabigatran ermittelt; diese Werte hängen vom festen Dosisschema ab.[2]

Leistungsmerkmale

Präzision

Die Präzision wurde anhand von 3 Plasmachargen auf repräsentativen Systemen aus der ACL TOP Familie (ACL TOP 700, ACL TOP 500 CTS und ACL TOP 300 CTS) beurteilt. Die Präzision wurde in Übereinstimmung mit den CLSI EP05-A2-Richtlinien[7] an 20 Tagen mit 2 Läufen pro Tag und 2 Replikaten pro Lauf für jede Probenkonzentration (n=80/Gerät/Charge) ermittelt. Dabei wurden eine spezifische DTI-Reagenziencharge sowie normale und abnormale Proben eingesetzt. Die Testergebnisse eines repräsentativen Gerätes, Reagenzes und einer Plasmacharge sind nachstehend aufgeführt.

ACL TOP Familie	Mittel (ng/mL)	VK% (im Lauf)	VK% (insgesamt)
Niedrige Dabigatran-Kontrolle	45	2,2	3,6
Hohe Dabigatran-Kontrolle	196	1,8	4,1
Klinische Probe	123	2,0	3,4
Interne Kontrolle 1	77	2,8	4,2
Interne Kontrolle 2	505	3,5	5,4
Interne Kontrolle 3	957	2,3	4,2
Interne Kontrolle 4	2035	3,1	4,3

Korrelation: System:	n	Steigung (95%-KI)	Ordinatenabschnitt (95%-KI)	r	Referenzmethode
ACL TOP Familie	147	1,002 (0,987 bis 1,016)	12,01 (5,64 bis 18,38)	0,996	Hemoclot-Thrombininhibitoren auf einem System der ACL TOP Familie

In Übereinstimmung mit EP09-A3 wurde ein Methodenvergleich an 147 Proben (102 unverfälschte Proben von Dabigatran-Patienten/45 Proben mit Zusatz von Dabigatran) zwischen dem HemosIL Test direkter Thrombininhibitor und dem Hemoclot Thrombininhibitor-Kit (Hyphen Biomed) auf einem repräsentativen System aus der ACL TOP Familie durchgeführt.

Linearität: System	
ACL TOP Familie	20 ng/mL – 2000 ng/mL

Nachweisgrenze: System	
ACL TOP Familie	2 ng/mL

Direct Thrombin Inhibitor Assay - 0020302800

ESPAÑOL - Revisión Folleto 06/2014

Aplicación

El ensayo HemosIL Direct Thrombin Inhibitor Assay (DTI) es un ensayo de diagnóstico in vitro para la determinación cuantitativa del inhibidor directo de la trombina dabigatran en plasma humano citratado realizada en la familia de analizadores ACL TOP. El producto está indicado para la medición de los niveles de dabigatran activo en situaciones en las que se requiera dicha medición.[1,2]

Principio

Los inhibidores directos de la trombina (DTI) son anticoagulantes que se unen a la trombina sin la mediación de la antitrombina. El etexilato de dabigatran es un profármaco que, una vez absorbido en el tracto gastrointestinal, se convierte en su forma activa, dabigatran. El dabigatran es un DTI oral cuyo uso se ha aprobado como alternativa a la warfarina para varias indicaciones terapéuticas.

El ensayo de HemosIL DTI es una prueba de tiempo de trombina modificada (diluida) que se realiza en plasma citratado de pacientes. El plasma citratado del paciente se diluye con un pool de plasma normal DTI Plasma Diluent (incluido en el kit) para reducir las interferencias de variables preanalíticas. A continuación se añade a la muestra del paciente diluida una concentración fija de trombina bovina reconstituida, lo que activa la cascada de la coagulación y convierte el fibrinógeno en fibrina. El tiempo de coagulación asociado en segundos se mide en la familia ACL TOP. En la familia ACL TOP se traza una curva de referencia de dabigatran a partir de los resultados de tiempo de coagulación de un patrón de plasma de referencia conocido (HemosIL Dabigatran Calibrators). La concentración de dabigatran en las muestras de plasma de los pacientes se determina comparando los valores de tiempo de coagulación con la curva de referencia.

Composición

Cada **ensayo de inhibidor directo de la trombina** consta de:

R **DTI Thrombin Reagent** (N.º de cat. 0020302810): 3 viales de 2 mL de una trombina bovina liofilizada (~1,5 UNIH/mL) con albúmina bovina y tampón.

TD **DTI Diluent Thrombin** (N.º de cat. 0020302820): 3 viales de 2,2 mL de una solución con tampón y neutralizante de heparina.

PD **DTI Plasma Diluent** (N.º de cat. 0020302830): 3 viales de 2 mL de plasma humano liofilizado con tampón, estabilizantes y conservantes.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS:

DTI Thrombin Reagent contiene material bovino. Todos los animales donantes pertenecían a manadas libres de encefalopatía espongiforme bovina. El ganado fue sometido a una inspección veterinaria aantes y después de su sacrificio, y determinó que aparentemente estaban libres de material infeccioso o contagioso. No obstante, el material debe tratarse como potencialmente infeccioso.

EDTI Plasma Reagent utiliza material humano. El material humano utilizado en este producto se analizó mediante métodos aprobados por la FDA y se determinó que no era positivo para el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), para anticuerpos anti-VHC ni para anticuerpos anti-VIH 1 y 2. Manipúlelo como potencialmente infeccioso.

El reactivo de inhibidor directo de la trombina y el diluyente de plasma no están clasificados como peligrosos.

- Clase de peligro: **ninguna**
- Frases de riesgo: **ninguna**
- Frases de seguridad: **ninguna**

Este producto es para uso diagnóstico *in vitro*.

Preparación

DTI Thrombin Reagent: Pipetee 2 mL de DTI Thrombin Diluent en un vial de DTI Thrombin Reagent. Vuelva a tapar el vial y mueva este en círculos suavemente. Asegúrese de que el producto se reconstituya por completo. Mantenga el reactivo a 15-25 °C durante 30 minutos e inviértalo para mezclarlo antes del uso. No lo agite.

DTI Plasma Diluent: Disuelva el contenido de cada vial en 2 mL de agua destilada tipo CLSI o equivalente.[3] Vuelva a tapar el vial y homogeneice suavamente. Asegúrese de que el producto se reconstituya por completo. Mantenga el diluyente de plasma a 15-25 °C durante 30 minutos e inviértalo para mezclarlo antes del uso. No lo agite.

DTI Thrombin: Preparado para el uso con el reactivo de trombina de IDT.

DTI Diluent Thrombin: Preparado para el uso con el reactivo de trombina de IDT.

Método de ensayo

Consulte el manual del operador o el manual de aplicación o referencia del instrumento IL correspondiente para obtener instrucciones completas sobre el procedimiento del ensayo.

Conservación y estabilidad de los reactivos

Cuando se conservan a 2-8 °C, el reactivo y los diluyentes contenidos en viales que no se hayan abierto son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el vial.

DTI Thrombin Reagent: El reactivo reconstituido es estable: 48 horas a 2-8 °C en el vial original cerrado, 6 horas en analizadores de la familia ACL TOP a 15 °C en el vial original o 30 días a –20 °C en el vial original cerrado (el producto solamente puede descongelarse una vez).

DTI Plasma Diluent: El reactivo reconstituido es estable: 48 horas a 2-8 °C en el vial original tapado, 6 horas en analizadores de la familia ACL TOP a 15 °C en el vial original o 30 días a –20 °C en el vial original cerrado (el producto solamente puede descongelarse una vez).

Para obtener una estabilidad óptima, retire los reactivos del sistema y consérvelos a 2-8 °C en los viales originales tapados.

NOTA: La baja humedad relativa se asocia a un aumento de la evaporación de los reactivos contenidos en viales no tapados, lo que puede reducir su estabilidad cuando se conservan en analizadores. Para obtener una estabilidad óptima en el analizador, la temperatura y la humedad del laboratorio deben estar controladas.

Obtención y preparación de las muestras

Se recogen nueve partes de sangre venosa recién extraída en una parte de citrato de trisodio. Consulte el documento H21-A5 del CLSI para obtener instrucciones sobre la recogida, manipulación y conservación de muestras.[4]

Reactivos adicionales y plasmas de control

Lo siguiente no se suministra con el kit y debe adquirirse por separado:

	N.º de cat.
Dabigatran Calibrators	0020013400
Controles de dabigatran	0020013500
Cleaning agent	0009832700
Diluyente de factores	0009757600

Control de calidad

SPara realizar un programa completo de Control de Calidad, se recomienda el uso de controles normales y anormales.[5] Los controles de HemosIL adecuados para este programa son Dagibatran Low Control y Dagibatran High Control. Cada laboratorio deberá establecer su propia media, su propia desviación estándar y un programa de control de calidad para monitorizar los análisis realizados en él. Los controles deberán analizarse al menos una vez cada turno de 8 horas siguiendo las Buenas Prácticas de Laboratorio. Consulte Westgard et al para identificar y resolver situaciones fuera de control.[6]

Resultados

Los resultados del ensayo de IDT se informan en ng/mL. Para obtener más información, consulte el manual del operador del instrumento.

Limitaciones / interferencias

Las muestras con exceso de hemólisis, amarilleo o lipemia no deben utilizarse. Los resultados del ensayo de IDT en la familia ACL TOP no se ven afectados por la hemoglobina a niveles inferiores a 300 mg/dL, por los triglicéridos a niveles inferiores a 873 mg/dL, por la bilirrubina a niveles inferiores a 40 mg/dL ni por la heparina no fraccionada o de peso molecular bajo a niveles inferiores a 2,2 UI/mL.

Valores esperados

El perfil farmacocinético predecible del dabigatran respalda un régimen de dosis fija sin la necesidad de una monitorización periódica de la coagulación. El fabricante del dabigatran ha medido los niveles máximo y mínimo (pico y valle) de la concentración plasmática de dabigatran en algunos ensayos clínicos, y ha establecido que dichos niveles dependen del régimen de dosis fija.[2]

Características técnicas

Precisión

La precisión se determinó utilizando 3 lotes de plasma en modelos representativos de la familia ACL TOP (ACL TOP 700, ACL TOP 500 CTS y ACL TOP 300 CTS). La precisión se evaluó conforme a las pautas CLSI EP05-A2[7], durante 20 días, procesando 2 series al día y 2 réplicas por serie para cada nivel de muestra (n=80/instrumento/lote), utilizando un lote específico de reactivo de IDT y muestras tanto normales como anormales. A continuación se incluyen los datos de las pruebas realizadas con un instrumento, el lote de reactivo y el lote de plasma representativos.

Familia ACL TOP	Media (ng/mL)	% de CV (intraserial)	% de CV (total)
Dabigatran Low Control	45	2,2	3,6
Dabigatran High Control	196	1,8	4,1
Muestra clínica	123	2,0	3,4
Internal Control 1	77	2,8	4,2
Internal Control 2	505	3,5	5,4
Internal Control 3	957	2,3	4,2
Internal Control 4	2035	3,1	4,3

Correlación Sistema:	n	Pendiente (IC del 95 %)	Intersección (IC del 95 %)	r	Método de referencia
Familia ACL TOP	147	1,002 (de 0,987 a 1,016)	12,01 (de 5,64 a 18,38)	0,996	Inhibidores de la trombina Hemoclot en la familia ACL TOP

Se realizó una comparación de métodos entre el ensayo HemosIL Direct Thrombin Inhibitor Assay y el kit de inhibidores de la trombina Hemoclot (Hyphen Biomed) conforme a las pautas EP09-A3, en 147 muestras (102 muestras de pacientes de dabigatran sin adulterar y 45 muestras a las que se les había añadido dabigatran), en un modelo representativo de la familia ACL TOP.

Linealidad: Sistema	
Familia ACL TOP	20 ng/mL-2000 ng/mL

Límite de detección: Sistema	
Familia ACL TOP	2 ng/mL

Symbols used / Verwendete Symbole / Símbolos utilizados / Symboles utilisés / Simboli impiegati / Símbolos utilizados

IVD	LOT				CONTROL			EC REP
In vitro diagnostic medical device *In-vitro* Diagnostikum De uso diagnóstico *in vitro* Dispositif médical de diagnostic *in vitro* Per uso diagnostico *in vitro* Dispositivo médico para utilização em diagnóstico *in vitro*	Batch code Chargen-Bezeichnung Identificación número de lote Désignation du lot Numero del lotto Número de lote	Use by Verwendbar bis Caducidad Utilisable jusqu'à Da utilizzare prima del Data límite de utilização	Temperature limitation Festgelegte Temperatur Temperatura de Almacenamiento Températures limites de conservation Limiti di temperatura Límite de temperatura	Consult instructions for use Beilage beachten Consultar la metódica Lire le mode d'emploi Vedere istruzioni per l'uso Consultar as instruções de utilização	Control Kontrollen Control Contrôle Controllo Controlo	Biological risks Biologisches Risiko Riesgo biológico Risque biologique Rischio biologico Risco biológico	Manufacturer Hergestellt von Fabricado por Fabricant Prodotto da Fabricado por	Authorised representative Bevollmächtigter Representante autorizado Mandataire Rappresentanza autorizzata Representante autorizado

Instrumentation Laboratory

Instrumentation Laboratory Company - Bedford, MA 01730-2443 (USA)
Instrumentation Laboratory SpA - V.le Monza 338 - 20128 Milano (Italy) EC REP

303993 R0 06/2014

Direct Thrombin Inhibitor Assay - 0020302800

FRANÇAIS - Révision de la notice 06/2014

Utilisation

Le réactif HemosIL Direct Thrombin Inhibitor (DTI) est utilisé comme test de diagnostic in vitro pour la détermination quantitative du dabigatran, inhibiteur direct de la thrombine, dans les plasmas humains citratés sur les analyseurs de la famille ACL TOP. Ce réactif est utilisé pour la détermination des concentrations de dabigatran actif dans les contextes où cela s'avère pertinent.[1,2]

Principe

Les inhibiteurs directs de la thrombine (DTI) sont des anticoagulants qui se lient à la thrombine sans utiliser l'antithrombine comme médiateur. Le dabigatran étexilate est une prodrogue qui, une fois absorbée dans les voies digestives, est convertie en dabigatran, sa forme active. Le dabigatran est un DTI administré par voie orale dont l'utilisation est approuvée comme alternative à la warfarine dans différentes indications thérapeutiques.

Le réactif HemosIL DTI est un test de temps de thrombine modifié (dilué) réalisé sur les plasmas citratés de patients. Le plasma citraté du patient est dilué dans un pool de plasma normal (DTI Plasma Diluent, fourni avec le coffret) afin de réduire les interférences relatives aux conditions pré-analytiques. Une concentration fixe de thrombine bovine reconstituée est ensuite ajoutée à l'échantillon dilué de patient, activant la cascade de la coagulation et la conversion du fibrinogène en fibrine. La présence de dabigatran dans l'échantillon de patient a un effet inhibiteur sur l'activité pro-coagulante de la thrombine exogène ajoutée à l'échantillon de patient. Le temps de coagulation associé, en secondes, est mesuré sur les analyseurs de la famille ACL TOP. Une courbe de référence du dabigatran est tracée par Les analyseurs de la famille ACL TOP à partir des résultats de temps de coagulation d'une norme plasmatique de référence connue (calibrateurs HemosIL Dabigatran Calibrators). La concentration de dabigatran dans les échantillons de plasma du patient est déterminée en comparant les valeurs du temps de coagulation à la courbe de référence.

Composition

Chaque **coffret Inhibiteurs Directs de la Thrombine** comprend :

R **DTI Thrombin Reagent** (Réf. 0020302810) : 3 flacons de 2 ml de thrombine bovine lyophilisée (~1,5 UNIH/ml) avec de l'albumine bovine et un tampon.

TD **DTI Thrombin Diluent** (Réf. 0020302820) : 3 flacons de 2,2 ml d'une solution contenant un tampon et un neutraliseur héparine.

PD **DTI Plasma Diluent** (Réf. 0020302830) : 3 flacons de 2 ml d'une solution contenant un tampon et un neutralisateur de l'héparine.

PRÉCAUTIONS:

Le réactif HemosIL DTI Thrombin Reagent contient des produits d'origine bovine. Les animaux sources ont été déterminés comme indemnes d'ESB. Les animaux sources ont été l'objet d'une inspection des services sanitaires vétérinaires ante et post-mortem et déterminés comme indemnes de tout agent infectieux ou contagieux. Cependant, ce matériel doit être considéré comme potentiellement infectieux et manipulé en conséquence.

Le réactif DTI Plasma Diluent contient des produits d'origine humaine et a été trouvé négatif pour les anticorps anti-VIH 1/2, anti-VHC et l'antigène de surface de l'hépatite B (AgHBs) (en utilisant des procédures approuvées par la FDA). Cependant, ce matériel doit être considéré comme potentiellement infectieux et manipulé en conséquence.

Les réactifs DTI Thrombin Reagent et DTI Plasma Diluent ne sont pas classés comme dangereux.

- Classification du risque: **Aucune**
- Phrases de risque: **Aucune**
- Phrases de sécurité: **Aucune**

Ce produit est à usage diagnostique *in vitro*.

Préparation

DTI Thrombin Reagent – Pipeter 2 mL de DTI Thrombin Diluent dans un flacon de réactif DTI Thrombin Reagent. Reboucher le flacon et agiter doucement. S'assurer de la complète reconstitution du produit. Conserver le réactif à 15-25°C pendant 30 minutes. Mélanger par inversion avant utilisation. Ne pas agiter violemment.

DTI Thrombin Diluent – Prêt à l'emploi pour reconstituer le réactif DTI Thrombin Reagent.

DTI Plasma Diluent – Dissoudre le contenu de chaque flacon avec 2 mL d'eau de type CLR selon les normes CLSI ou équivalent.[3] Reboucher le flacon et agiter doucement. S'assurer de la complète reconstitution du produit. Conserver le réactif à 15-25°C pendant 30 minutes. Mélanger par inversion avant utilisation. Ne pas agiter violemment.

Procédures de test/instrument

Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument IL approprié et/ou au manuel d'application/référence pour des instructions complètes sur la procédure de test.

Conservation et stabilité du réactif

Conservés à 2-8°C, le réactif et les diluants non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le flacon.

DTI Thrombin Reagent – Le réactif reconstitué est stable pendant: 48 heures à 2-8°C dans le flacon d'origine bouché, 6 heures à 15°C sur les analyseurs de la famille ACL TOP dans le flacon d'origine ou 30 jours à -20°C dans le flacon d'origine bouché (une seule décongélation possible).

DTI Plasma Diluent – Le plasma reconstitué est stable pendant: 48 heures à 2-8°C dans le flacon d'origine bouché, 6 heures à 15°C sur les analyseurs de la famille ACL TOP dans le flacon d'origine ou 30 jours à -20°C dans le flacon d'origine bouché (une seule décongélation possible).

Pour une stabilité optimale, retirer les réactifs du système et les conserver à 2-8°C dans les flacons d'origine bouchés.

Note : Une humidité relative basse est associée à une augmentation de l'évaporation des réactifs ouverts, ce qui peut réduire leur stabilité à bord de l'instrument. Pour une stabilité optimale à bord de l'instrument, la température et l'humidité du laboratoire devraient être contrôlées.

Recueil des spécimens et préparation

Neuf parts de sang fraîchement prélevé sont collectées avec 1 part de citrate trisodique. Se référer au document CLSI H21-A5 pour plus d'informations sur le prélèvement des échantillons, leur manipulation et leur stockage.[4]

Réactifs et plasmas de contrôle supplémentaires

Non fournis avec la trousse, ils doivent faire l'objet d'une commande séparée.

	Réf.
Calibrateurs dabigatran	0020013400
Contrôles dabigatran	0020013500
Agent nettoyant	0009832700
Factor diluent	0009757600

Contrôle de la qualité

L'utilisation des contrôles normal et anormal est recommandée pour un programme de contrôle de qualité complet.[5] Les contrôles Dabigatran Bas et Haut HemosIL sont spécifiques à ce programme. Chaque laboratoire doit établir ses propres moyenne et écart type et son programme de contrôle de qualité afin de vérifier l'état de fonctionnement de son système analytique. À titre d'exemple, les contrôles pourraient être analysés une fois toutes les 8 heures en regard des bonnes pratiques de laboratoire. Se reporter à Westgard et al. pour l'identification et la résolution des contrôles hors limites.[6]

Résultats

Les résultats des tests des DTI sont exprimés en ng/ml. Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour des informations supplémentaires.

Limites de la méthode et substances interférentes

Les échantillons par trop hémolysés, ictériques ou lipémiques ne devraient pas être utilisés. Les résultats du test DTI sur les analyseurs de la famille ACL TOP ne sont pas affectés par l'hémoglobine jusqu'à 300 mg/dL, les triglycérides jusqu'à 873 mg/dL, la bilirubine jusqu'à 40 mg/dL et l'héparine non fractionnée/de bas poids moléculaire jusqu'à 2,2 UI/mL.

Valeurs attendues

Le profil pharmacocinétique prévisible de dabigatran permet le traitement à dose fixe sans nécessité d'une surveillance systématique de la coagulation. Les concentrations plasmatiques maximale et minimale de dabigatran ont été déterminées lors d'essais cliniques par le fabricant de dabigatran et dépendent du traitement à dose fixe.[2]

Caractéristiques de performance

Fidélité

La fiabilité a été évaluée en testant 3 lots de plasma sur des modèles d'analyseurs représentatifs de la famille ACL TOP (ACL TOP 700, ACL TOP 500 CTS et ACL TOP 300 CTS). La fidélité a été évaluée selon les recommandations du document CLSI EP05-A2,[7] sur une période de 20 jours, à raison de 2 séries par jour et 2 réplicats de chaque niveau d'échantillon par série (n=80/instrument/lot), en utilisant un lot spécifique de réactif DTI ainsi que des échantillons normaux et anormaux. Les données relatives à un instrument, un réactif et un lot de plasma représentatifs sont présentées ci-dessous.

Famille ACL TOP	Moyenne (ng/mL)	CV %(Intra-séries)	CV % (Total)
Dabigatran Low Control	45	2,2	3,6
Dabigatran High Control	196	1,8	4,1
Échantillon clinique	123	2,0	3,4
Contrôle interne 1	77	2,8	4,2
Contrôle interne 2	505	3,5	5,4
Contrôle interne 3	957	2,3	4,2
Contrôle interne 4	2035	3,1	4,3

Corrélation Analyseur:	N	Pente (IC à 95 %)	Ordonnée à l'origine (IC à 95 %)	r	Méthode de référence
Famille ACL TOP	147	1,002 (0,987 à 1,016)	12,01 (5,64 à 18,38)	0,996	Inhibiteurs Hemoclot Thrombin Inhibitors sur les analyseurs de la famille ACL TOP

Une comparaison de méthodes entre les réactifs HemosIL Direct Thrombin Inhibitor Assay et Hemoclot Thrombin Inhibitors (Hyphen Biomed) a été réalisée selon les recommandations du document CLSI EP09-A3, à partir de 147 échantillons (102 échantillons de patient dabigatran non manipulés/45 échantillons enrichis en dabigatran), sur un modèle d'analyseur représentatif de la famille ACL TOP.

Linéarité: Analyseur	
Famille ACL TOP	20 ng/mL – 2000 ng/mL

Seuil de détection: Système	
Famille ACL TOP	2 ng/mL

Direct Thrombin Inhibitor Assay - 0020302800

ITALIANO - Revisione dell'inserto 06/2014

Utilizzo

Il kit HemosIL Direct Thrombin Inhibitor (DTI) Assay è un test di diagnostica in vitro per la determinazione quantitativa dell'inibitore diretto della trombina Dabigatran nel plasma umano citratato, in analizzatori della famiglia ACL TOP. Il prodotto è da utilizzarsi per quantificare il livello attivo di Dabigatran nelle situazioni in cui ne è previsto il dosaggio.[1,2]

Principio del metodo

Gli inibitori diretti della trombina (DTI) sono farmaci anticoagulanti che si legano alla trombina senza la mediazione dell'antitrombina. Il Dabigatran etexilate è un profarmaco inattivo che, dopo essere stato assorbito nel tratto gastrointestinale, è convertito nella sua forma attiva Dabigatran. Dabigatran è un DTI somministrato per via orale il cui utilizzo è stato approvato per diverse indicazioni terapeutiche come alternativa al farmaco Warfarin.

HemosIL DTI Assay è un test Tempo di Trombina (TT) modificato diluito eseguito utilizzando un campione di. plasma umano citratato. Il campione è diluito utilizzando un pool di plasmi normali (DTI Plasma Diluente, fornito nel kit) per ridurre le possibili interferenze derivanti da variabili preanalitiche. Al campione diluito è aggiunto il reagente trombina che, attivando la coagulazione, converte il fibrinogeno in fibrina. La presenza di Dabigatran nel plasma del paziente ha un effetto inibitorio sull'attività procoagulante della trombina esogena aggiunta al campione. Il tempo di coagulazione, espresso in secondi, è misurato sui sistemi ACL TOP. La concentrazione di Dabigatran, nei campioni di plasma, è determinata interpolando il valore del tempo di coagulazione del campione rispetto alla curva di riferimento ottenuta sul sistema ACL TOP utilizzando i calibratori HemosIL Dabigatran Calibrators.

Composizione

Il kit **Direct Thrombin Inhibitor Assay** è composto da:

R **DTI Thrombin Reagent** (Nr. Cat. 0020302810): 3 flaconi da 2 mL di trombina bovina liofilizzata (~1,5 UNIH/mL) con aggiunta di albumina bovina e tampone.

TD **DTI Thrombin Diluent** (Nr. Cat. 0020302820): 3 flaconi da 2,2 mL di una soluzione contenente un tampone e un neutralizzante dell'eparina.

PD **DTI Plasma Diluent** (Nr. Cat. 0020302830): 3 flaconi da 2 mL di plasma umano liofilizzato contenente tampone, stabilizzanti e conservanti.

ATTENZIONE:

Il reagente Direct Thrombin Inhibitor contiene materiale di origine bovina. Tutti gli animali donatori provengono da mandrie non affette da encefalopatia spongiforme bovina. I bovini sono stati sottoposti a controllo veterinario pre e post mortem e sono risultati apparentemente immuni da malattia infettiva e contagiosa. Ciò nonostante, il materiale deve essere trattato come potenzialmente infetto.

Il reagente Plasma Diluent utilizza materiale umano. Il materiale di origine umana utilizzato per questo prodotto è stato verificato all'origine con metodi raccomandati dalla FDA e trovato non reattivo per la ricerca dell'antigene di superficie dell'epatite B (HbsAg), per gli anticorpi anti-HCV e HIV 1/2. Trattare come materiale potenzialmente infetto. I reagenti Direct

Thrombin Inhibitor e Plasma Diluent non sono classificati come pericolosi.

- Simbolo di pericolo: **nessuno**
- Frasi di rischio: **nessuno**
- Frasi di sicurezza: **nessuno**

Per uso diagnostico *in vitro*.

Preparazione

DTI Thrombin Reagent – Pipettare esattamente 2 mL di DTI Thrombin Diluent in un flacone di DTI Thrombin Reagent. Chiudere il flacone con il tappo e miscelare delicatamente. Attendere la completa ricostituzione del prodotto. Lasciare il reagente a 15-25 °C per 30 minuti e miscelare nuovamente prima dell'uso. Non agitare.

DTI Thrombin Diluent – Pronto all'uso, da utilizzare per ricostituire il DTI Thrombin Reagent..

Plasma Diluent – Sciogliere il contenuto di ciascun flacone con 2 mL di acqua distillata CLSI Tipo CLR o equivalente.[3] Chiudere con il tappo e miscelare delicatamente. Assicurarsi della completa ricostituzione del prodotto. Mantenere il diluente-plasma a 15-25 °C per 30 minuti e miscelare nuovamente prima dell'uso. Non agitare.

Metodo

Per le metodiche e le procedure di lavoro fare riferimento al Manuale dell'Operatore degli strumenti IL.

Conservazione e stabilità del reagente

I reagenti sigillati sono stabili a 2-8°C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta.

DTI Thrombin Reagent – Stabilità dopo ricostituzione: 48 ore a 2-8 °C nel flacone originale chiuso o 6 ore a bordo dei sistemi ACL TOP a 15 °C nel flacone originale o 30 giorni a -20 °C nel flacone originale chiuso (con un unico scongelamento).

DTI Plasma Diluent – Stabilità dopo ricostituzione: 48 ore a 2-8 °C nel flacone originale chiuso o 6 ore a bordo dei sistemi ACL TOP a 15 °C nel flacone originale o 30 giorni a -20 °C nel flacone originale chiuso (con un unico scongelamento).

Al termine dei cicli lavorativi si consiglia di conservare i reagenti a 2-8°C nei flaconi originali chiusi per una migliore stabilità.

NOTA: Una umidità relativa bassa è associata a una aumentata evaporazione dei reagenti non tappati, ciò può far diminuire la stabilità a bordo macchina. Per ottimizzare la stabilità a bordo, la temperatura e l'umidità del laboratorio devono essere mantenute sotto controllo.

Preparazione dei campioni

Aggiungere a nove parti di sangue fresco venoso una parte di trisodio citratato. Per informazioni aggiuntive sulla preparazione, il trattamento e la conservazione dei campioni fare riferimento al documento CLSI H21-A5.[4]

Reagenti ausiliari e plasma di controllo

I seguenti prodotti non sono forniti insieme al kit e devono essere ordinati separatamente.

	Codice
Calibratore per dabigatran	0020013400
Controlli per dabigatran	0020013500
Agente detergente	0009832700
Factor Diluent	0009757600

Controllo di qualità

Per un completo programma di controllo di qualità si raccomanda l'uso di plasmi normali e patologici.[5] I plasmi di controllo HemosIL Dabigatran livello Basso e Alto sono indicati per questo programma. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri valori medi e le deviazioni standard per ogni controllo ed individuare le corrette procedure di analisi. I controlli dovrebbero essere analizzati almeno una volta ogni 8 ore in accordo con le esigenze del laboratorio. Per l'identificazione e la risoluzione di situazioni particolari, fare riferimento all'articolo di Westgard et al.[6]

Risultati

I valori di DTI dei campioni sono riportati in ng/mL. Per ulteriori informazioni, consultare il Manuale dell'Operatore dello strumento.

Limitazioni / sostanze interferenti

Campioni che mostrano una eccessiva emolisi, ittero o lipemia non devono essere utilizzati. I risultati del test DTI su analizzatori della famiglia ACL TOP non sono influenzati dalla presenza di emoglobina fino a 300 mg/dL, trigliceridi fino a 873 mg/dL, bilirubina fino a 40 mg/dL ed eparina non frazionata/a basso peso molecolare fino a 2,2 IU/mL.

Valori attesi

Poiché il profilo farmacocinetico di Dabigatran è prevedibile è possibile somministrare il farmaco a dose fissa senza la necessità di un costante monitoraggio dello stato coagulativo. I livelli della concentrazione plasmatica di Dabigatran al tempo di picco e al tempo di valle sono stati misurati in alcuni studi clinici dall'azienda produttrice Dabigatran e dipendono dal dosaggio fisso una volta a regime.[2]

Prestazioni

Precisione

La precisione è stata valutata utilizzando 3 lotti di plasma in analizzatori della famiglia ACL TOP (ACL TOP 700, ACL TOP 500 CTS e ACL TOP 300 CTS). La precisione è stata valutata in accordo con il documento CLSI EP05-A2,[7] per 20 giorni, eseguendo 2 sessioni giornaliere e 2 replicati per sessione per ciascun livello di campioni (n=80/strumento/lotto), utilizzando un lotto specifico di reagente DTI e campioni sia normali che patologici. Di seguito sono riportati i dati ottenuti con uno strumento rappresentativo e con uno specifico lotto di reagente e plasma.

Famiglia ACL TOP	Media (ng/mL)	CV % (nella serie)	CV % (totale)
Dabigatran Low Control	45	2,2	3,6
Dabigatran High Control	196	1,8	4,1
Campione clinico	123	2,0	3,4
Controllo interno 1	77	2,8	4,2
Controllo interno 2	505	3,5	5,4
Controllo interno 3	957	2,3	4,2
Controllo interno 4	2035	3,1	4,3

Correlazione Sistema:	n	Pendenza (IC 95%)	Intercetta (IC 95%)	r	Metodo di riferimento
Famiglia ACL TOP	147	1 ,002 (da 0,987 a 1,016)	12,01 (da 5,64 a 18,38)	0,996	Hemoclot Thrombin Inhibitors su sistemi ACL TOP

È stato eseguito un confronto tra il kit HemosIL Direct Thrombin Inhibitor Assay e il kit Hemoclot Thrombin Inhibitors (Hyphen Biomed), in conformità con il documento EP09-A3, su 147 campioni (102 campioni di pazienti con Dabigatran non adulterato/45 campioni con Dabigatran addizionato), su un analizzatore rappresentativo della famiglia ACL TOP.

Linearità: Sistema	
Famiglia ACL TOP	20 ng/mL – 2000 ng/mL

Limite di rilevazione: Sistema	
Famiglia ACL TOP	2 ng/mL

Direct Thrombin Inhibitor Assay - 0020302800

PORTUGUÊS - Revisão do folheto 06/2014

Utilização prevista

O inibidor directo da trombina (DTI) HemosIL é um ensaio de diagnóstico in vitro para a determinação quantitativa do dabigatrano enquanto inibidor directo da trombina em plasma humano citratado nos analisadores da família ACL TOP. O produto destina-se a ser utilizado para a medição dos níveis de dabigatrano activo em situações em que a medição é requerida.[1,2]

Resumo e princípio

Os inibidores directos da trombina (DTI) são anticoagulantes que se ligam à trombina sem a mediação da antitrombina. O dabigatrano etexilato é um profármaco que, uma vez absorvido no tracto gastrointestinal, é convertido na sua forma activa: o dabigatrano. O dabigatrano é um DTI oral aprovado para ser utilizado como alternativa à varfarina para várias indicações terapêuticas.

O ensaio DTI HemosIL consiste num teste do tempo de trombina (diluído) modificado, realizado no plasma citratado do doente. O plasma citratado do doente é diluído em plasma normal agrupado (diluente para plasma DTI – fornecido como parte do ensaio) para reduzir as interferências de variáveis pré-analíticas. De seguida, é adicionada à amostra do doente diluída uma concentração fixa de trombina bovina reconstituída, activando a cascata da coagulação e convertendo o fibrinogénio em fibrina. A presença de dabigatrano em amostras de doentes terá um efeito inibidor na actividade pró-coagulante da trombina exógena adicionada à amostra do doente. O tempo de coagulação associado em segundos é medido na família ACL TOP. É representada graficamente na família ACL TOP uma curva de referência do dabigatrano a partir dos resultados do tempo de coagulação de uma norma de plasma de referência conhecida (calibradores do dabigatrano HemosIL). A concentração de dabigatrano nas amostras de plasma do doente é determinada comparando os valores do tempo de coagulação à curva de referência.

Composição

Cada **ensaio inibidor directo da trombina** é composto por:

R **Reagente da trombina DTI** (Refª 0020302810): 3 frascos de 2 ml de uma trombina bovina liofilizada (~1,5 UNIH/ml) com albumina bovina e tampão.

TD **Diluente da trombina DTI** (Refª 0020302820): 3 frascos de 2,2 ml de uma solução contendo tampão e neutralizador de heparina.

PD **Diluente para plasma DTI** (Refª 0020302830): 3 frascos de 2 ml de plasma humano liofilizado contendo tampão, estabilizadores e conservantes.

PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS:

O reagente inibidor directo da trombina contém material de origem bovina. Todos os dadores animais foram obtidos a partir de manadas sem BSE. O gado foi sujeito a inspecções sanitárias antes e após a morte realizadas por um veterinário, e estavam aparentemente livres de material infeccioso e contagioso. Contudo, o material deve ser tratado como sendo potencialmente infeccioso.

O diluente para plasma utiliza material de origem humana. O material de origem humana presente neste produto foi testado através de métodos de teste aprovados pela FDA e concluiu-se que não era reactivo ao antigénio de superfície do vírus da Hepatite B (HBsAg), Anti-VHC e anticorpos do VIH 1 e VIH 2. Manusear como se fosse potencialmente infeccioso.

O reagente inibidor directo da trombina e o diluente para plasma não estão classificados como perigosos.

- Classe de risco: **nenhuma**
- Frases de risco: **nenhuma**
- Frases de segurança: **nenhuma**

Este produto destina-se a ser utilizado em diagnóstico *in vitro*.

Preparação

Reagente da trombina DTI – Pipete 2 ml de diluente da trombina DTI para um frasco de reagente da trombina DTI. Coloque novamente a tampa e homogeneize suavemente. Certifique-se de que ocorreu a reconstituição completa do produto. Mantenha o reagente a uma temperatura entre 15 °C e 25 °C durante 30 minutos e inverta para misturar antes de utilizar. Não agite.

Diluente da trombina DTI – Pronto para ser utilizado com o reagente da trombina DTI.

Diluente para plasma DTI – Dissolva o conteúdo de cada frasco em 2 ml de água reagente para laboratório clínico do tipo CLSI ou equivalente.[3] Coloque novamente a tampa e homogeneize suavemente. Certifique-se de que ocorreu a reconstituição completa do produto. Mantenha o diluente para plasma a uma temperatura entre 15 °C e 25 °C durante 30 minutos e inverta para misturar antes de utilizar. Não agite.

Procedimentos do instrumento/teste

Consulte o Manual do operador adequado do instrumento IL e/ou o Manual de aplicação/referência para obter as instruções completas do procedimento do ensaio.

Armazenamento e estabilidade do reagente

O reagente e os diluentes não abertos são estáveis até à data de validade indicada no frasco quando conservados a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C.

Reagente da trombina DTI – O reagente reconstituído é estável: 48 horas entre 2 °C e 8 °C no frasco original fechado, ou 6 horas no instrumento da família ACL TOP a 15 °C no frasco original, ou 30 dias a -20 °C no frasco original fechado (apenas uma única descongelação).

Diluente para plasma DTI – O plasma reconstituído é estável: 48 horas entre 2 °C e 8 °C no frasco original fechado, ou 6 horas no instrumento da família ACL TOP a 15 °C no frasco original, ou 30 dias a -20 °C no frasco original fechado (apenas uma única descongelação).

Para obter uma estabilidade óptima remova os reagentes do sistema e conserve-os fechados entre 2 °C e 8 °C nos respectivos frascos originais.

NOTA: A humidade relativa baixa está associada ao aumento da evaporação de reagentes não tapados, o que pode diminuir a estabilidade no instrumento. Para obter uma estabilidade óptima no instrumento, a temperatura do laboratório e a humidade devem ser controladas.

Recolha, preparação e manuseamento das amostras

São colhidas nove partes de sangue venoso recentemente colhido numa parte de citrato trissódico. Consulte o documento H21-A5 do CLSI para obter as instruções relativamente à recolha, manuseamento e armazenamento das amostras.[4]

Reagentes e plasmas de controlo adicionais

Os seguintes produtos não são fornecidos com o kit e devem ser adquiridos separadamente.

	Refª
Calibrador de dabigatrano	0020013400
Controlos de dabigatrano	0020013500
Agente de limpeza	0009832700
Diluente de factor	0009757600

Controlo de qualidade

São recomendados controlos normais e anormais para um programa de controlo de qualidade completo.[5] Os controlos do dabigatrano alto e baixo HemosIL foram concebidos para este programa. Cada laboratório deve estabelecer a sua própria média e desvio padrão e deve estabelecer um programa de controlo de qualidade para monitorizar os testes laboratoriais. Os controlos devem ser analisados pelo menos uma vez a cada turno de 8 horas, de acordo com as boas práticas laboratoriais. Consulte Westgard et al para a identificação e resolução de situações que estejam fora do controlo.[6]

Resultados

Os resultados do ensaio do DTI são reportados em ng/ml. Consulte o Manual do operador do instrumento para obter informação adicional.

Limitações/substâncias interferentes

Amostras com hemólise, icterícia ou lipemia excessivas não devem ser utilizadas; os resultados do ensaio do DTI na família ACL TOP não são afectados por hemoglobina até 300 mg/dl, triglicerídeos até 873 mg/dl, bilirrubina até 40 mg/dl e heparina não fraccionada/de baixo peso molecular até 2,2 IU/ml.

Valores esperados

O perfil farmacocinético previsível do dabigatrano supõe um regime de dose fixa sem a necessidade de monitorização de coagulação de rotina. Os níveis de concentração máximos e mínimos de dabigatrano no plasma foram medidos em alguns ensaios clínicos pelo fabricante do dabigatrano e dependem do regime de dose fixa.[2]

Características de desempenho

Precisão

A precisão foi verificada utilizando 3 lotes de plasma em membros representativos da família ACL TOP (ACL TOP 700, ACL TOP 500 CTS e ACL TOP 300 CTS). A precisão foi avaliada de acordo com o CLSI EP05-A2,[7] durante 20 dias com 2 execuções por dia e 2 réplicas por execução para cada nível de amostra (n=80/instrumento/lote), utilizando um lote específico do reagente do DTI e ainda amostras normais e anormais. Os dados dos testes provenientes de um instrumento, reagente e lote de plasma representativos estão incluídos abaixo.

Família ACL TOP	Média (ng/mL)	CV % (na execução)	CV % (Total)
Controlo de dabigatrano baixo	45	2,2	3,6
Controlo de dabigatrano alto	196	1,8	4,1
Amostra clínica	123	2,0	3,4
Controlo interno 1	77	2,8	4,2
Controlo interno 2	505	3,5	5,4
Controlo interno 3	957	2,3	4,2
Controlo interno 4	2035	3,1	4,3

Correlação Sistema:	n	declive (95% IC)	intersecção (95% IC)	r	Método de referência
Família ACL TOP	147	1,002 (0,987 a 1,016)	12,01 (5,64 a 18,38)	0,996	Inibidores da trombina Hemoclot na família ACL TOP

Foi realizado um método de comparação entre o ensaio inibidor directo da trombina HemosIL e o kit de inibidores da trombina Hemoclot (Hyphen Biomed) de acordo com o EP09-A3 em 147 amostras (102 amostras de doentes não adulteradas com Dabigatrano/45 amostras aditivadas com dabigatrano) num membro representativo da família ACL TOP.

Linearidade: Sistema	
Família ACL TOP	20 ng/mL – 2000 ng/mL

Limite de detecção: Sistema	
Família ACL TOP	2 ng/mL

Bibliography / Literatur / Bibliografía / Bibliographie / Bibliografia /Bibliografia

1. Pengo V, Crippa L, Falanga A, *et al*. Questions and answers on the use of dabigatran and perspectives on the use of other new oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation. A consensus document of the Italian Federation of Thrombosis Centers (FCSA). Thromb Haemost 2011; 106: 868–876.
2. Van Ryn J, Stangier J, Haertter S, Liesenfeld K-H, Wienen W, Feuring M, and Clemens A. "Dabigatran Etexilate - a Novel, Reversible, Oral Direct Thrombin Inhibitor: Interpretation of Coagulation Assays and Reversal of Anticoagulant Activity." Thromb Haemost 2010; 103:1116-1127.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. Preparation and Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory; Approved Guideline. Fourth, Edition, CLSI Document C3-A4; Vol. 26 No.22.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation and Molecular Haemostasis Assays; Approved Guideline – Fifth Edition, CLSI Document H21-A5; Vol. 28 No. 5.
5. Zucker S, Cathey MH, West B. Preparation of Quality Control Specimen for Coagulation, Am. J. Pathol. 1970; 53: 924-927.
6. Westgard JO and Barry PL. Cost-Effective Quality Control: Managing the Quality and Productivity of Analytical Process, AACC Press 1986.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline - 2nd Edition, CLSI Document EP05-A2; Vol. 24 No. 25.

The Instrumentation Laboratory logo, HemosIL, ACL, and ACL TOP are trademarks of Instrumentation Laboratory Company and/or one of its subsidiaries or parent companies, and may be registered in the United States Patent and Trademark Office and in other jurisdictions.
©2014 Instrumentation Laboratory

LOT

Instrumentation Laboratory

Instrumentation Laboratory Company - Bedford, MA 01730-2443 (USA)
Instrumentation Laboratory SpA - V.le Monza 338 - 20128 Milano (Italy) EC REP

303993 R0 06/2014

Printed Insert Sheet: 303993
Revision: Rev 0
Issued: 06/2014
C.O.: 444254

LANGUAGES

ENGLISH
GERMAN
SPANISH
FRENCH
ITALIAN
PORTUGUESE

TECHNICAL SPECS

PAPER: White paper, 50-60 g/m^2 weight.
SIZE: 11 x 17" (280 x 432 mm.).
PRINT: Front/Back.
PRINT COLOR: Front - Top band Green Pantone 382, all remaining type in black.
Back - All type in black.