

Silica Clotting Time - 0020004800

Aplicação Prevista

Reagentes para a detecção de Anticoagulantes Lúpicos em plasma humano citratado, para os Sistemas de Coagulação IL pela utilização de reagentes de rastreio (SCT Screen) e de confirmação (SCT Confirm) sensibilizados para anticorpos dependentes de fosfolípidos.

Resumo e Princípio

O Anticoagulante Lúpic (AL) pertence a um grupo heterogéneo de anticorpos que são dirigidos contra fosfolípidos de carga negativa ou contra complexos formados entre fosfolípidos e proteínas (por ex., beta-2-glicoproteína 1 ou factores de coagulação, como a protrombina). Estes anticoagulantes interferem com as provas de coagulação em que participam os fosfolípidos, tais como o Tempo de Tromboplastina Parcial Activada (TPPA), o Teste de Veneno de Víbora de Russell Diluído (TVVRD) e outros. Doentes com AL têm maior probabilidade de sofrer manifestações trombóticas e abortos de repetição.^{1,4} O SCT Screen e o SCT Confirm foram desenvolvidos para simplificar e padronizar a detecção de AL em avaliações clínicas.^{5,7} O SCT Screen possui uma concentração baixa de fosfolípidos, o que faz com que o reagente seja altamente sensível à presença do AL, alargando o tempo de coagulação na presença deste. Uma alta concentração de fosfolípidos no SCT Confirm neutraliza o AL e encurta os tempos de coagulação. O Silica Clotting Time na presença de cálcio, activa directamente a via intrínseca da coagulação. SCT Screen e SCT Confirm não são afectados por anormalidades no factor VII ou inibidores. Não existe interferência por níveis de heparina até 0,4 U/mL uma vez que é neutralizada pelo polibrene. Usando um rácio de rastreio e confirmação permite que o SCT seja insensível às amostras tratadas com varfarina.⁹ Em conclusão, o SCT Screen e o SCT Confirm são técnicas mais específicas que o TPPA ou diluição da PT, no que diz respeito à detecção do AL.⁹

Composição

O kit **Silica Clotting Time (Tempo de coagulação em Silica)** é composto por:

- Sc SCT Screen** (Núm. Cat. 0020004821): recipientes 3 x 5 mL de uma preparação líquida que contém de sílica coloidal em dispersão com tampão e conservantes.
- Cf SCT Confirm** (Núm. Cat. 0020004822): recipientes 3 x 5 mL de uma preparação líquida que contém de sílica coloidal em dispersão com fosfolípidos sintéticos, tampão e conservantes.
- Ca SCT CaCl₂** (Núm. Cat. 0020004823): recipientes 3 x 10 mL de cloreto de cálcio (0,025 mol/L) com polibrene e conservante.

AVISOS E PRECAUÇÕES:

Evitar o contacto com a pele e os olhos (S 24/25). Não deitar os resíduos no esgoto (S 29). Usar vestuário de protecção adequado (S 36). O cloreto de cálcio contém azida sódica que pode provocar reacções com canalizações metálicas, dando lugar a azidas explosivas. Tomar as precauções adequadas no que diz respeito aos resíduos.

Para uso em diagnóstico *in vitro*.

Preparação

SCT Confirm: Antes de utilizar agite manual e vigorosamente a dispersão de sílica durante aproximadamente 15 segundos ou agite no vortex durante 5 segundos. A manipulação subsequente após a mistura inicial requer uma inversão suave, repetida 3 ou 4 vezes.

SCT Screen: Adicione 50 µL de reagente SCT Confirm misturado a um frasco de reagente SCT Screen. Antes de utilizar agite manual e vigorosamente a dispersão de sílica durante aproximadamente 15 segundos ou agite no vortex durante 5 segundos. A manipulação subsequente após a mistura inicial requer uma inversão suave, repetida 3 ou 4 vezes.

SCT CaCl₂: Misturar invertendo o recipiente antes da sua utilização.

Conservação e estabilidade do reagente

Os reagentes fechados, que ainda não foram utilizados, são estáveis até ao final do prazo de validade, que consta no rótulo, desde que conservados entre 2-8°C.

SCT Screen e Confirm: 20 dias a 2-8° dentro do recipiente original ou 5 dias a 15°C nos IL Coagulation System sem qualquer agitação. Não recongelar.

SCT CaCl₂: 20 dias a 2-8° dentro do recipiente original.

Para obter uma estabilidade óptima retire os reagentes do aparelho e conserve-os entre 2-8°C, nos recipientes originais.

Métodos de ensaio

Seguir as instruções da técnica de acordo com o Manual do Operador dos aparelhos IL.

Recolha, preparação e manuseamento das amostras

Adicionar nove partes de sangue extraído recentemente por punção venosa a uma parte de citrato trissódico. Para efectuar a recolha, o manuseamento e a conservação da amostra devem seguir-se as recomendações referidas no CLSI anteriormente NCCLS¹⁰ documento H21-A4.

A congelação dos plasmas pode libertar fosfolípidos provenientes das plaquetas, os quais podem encurtar os tempos de coagulação do SCT Screen. É aconselhável efectuar uma

centrifugação dupla ou uma filtração com filtros de 0,2 microns, para eliminar as plaquetas antes de congelar.

Reagentes adicionais e plasmas de controlo

Este kit não inclui os produtos abaixo mencionados, pelo que deverão ser pedidos em separado:

	Américas e Pacífico Núm. Cat. 0020003120	Europa Núm. Cat. 0020003110
Controlo Normal		

Controlo de Qualidade

Para realizar um programa completo de Controlo de Qualidade, recomenda-se a utilização dos controlos normais e dos controlos de lúpus.¹¹ Cada laboratório deve estabelecer a sua própria média e desvio padrão e deve efectuar um programa de controlo de qualidade para monitorizar os seus resultados. Os controlos devem ser analisados uma vez em cada turno de 8 horas, de acordo com a norma vigente no Laboratório. Ver Manual do Operador para mais informações. Consultar a publicação de Westgard e col. para identificar e solucionar situações anormais do Controlo de Qualidade.¹²

Resultados

Para calcular os Rácios do SCT Screen e do SCT Confirm aconselha-se o seguinte método:

- Cada novo instrumento e para cada lote específico do kit SCT Screen SCT Confirm, determine novo intervalo normal de acordo com o Documento CLSI C28-A2, Vol. 20, No. 13.¹³
- Calcular a Média de cada Limite de Normalidade em segundos.
- A Média de cada Limite de Normalidade será utilizada como denominador comum para calcular os Rácios.

SCT Screen

- O resultado (em segundos) de cada doente será dividido pela Média do Limite de Normalidade do SCT Screen.

$$\text{Rácio SCT Screen} = \frac{\text{Resultado do doente (segundos)}}{\text{Média do Limite de Normalidade (segundos)}}$$

SCT Confirm

- O resultado (em segundos) de cada doente será dividido pela Média do Limite de Normalidade do SCT Confirm.

$$\text{Rácio SCT Confirm} = \frac{\text{Resultado do doente (segundos)}}{\text{Média do Limite de Normalidade (segundos)}}$$

- O Rácio do SCT Screen será dividido pelo Rácio do SCT Confirm, para obter o Rácio Normalizado de SCT.

$$\text{Rácio Normalizado SCT} = \frac{\text{Rácio do SCT Screen}}{\text{Rácio do SCT Confirm}}$$

Interpretação

- O resultado final será expresso como Rácio Normalizado do SCT:

Sistema

ACL TOP	Rácio > 1,16	Presença de AL
ACL Futura/ACL Advance	Rácio > 1,24	Presença de AL
ACL ELITE/ELITE PRO 8/9/10000	Rácio > 1,20	Presença de AL

- Se o rácio ≤ 1.16 (ACL TOP), ≤ 1.24 (ACL Futura/ACL Advance) ou ≤ 1.20 (ACL ELITE/ELITE PRO/8/9/10000) e se os tempos de coagulação SCT Screen e SCT Confirm são prolongados, então devem-se realizar estudos de misturas para investigar deficiências de factor ou inibidores. Se o teste de mistura continuar a ser prolongado, tal indica que pode estar presente na amostra, um outro coagulante que não é o LA.

Limitações/Interferências

Concentrações de Bilirrubina até 30 mg/dL, Triglicéridos até 500 mg/dL e heparina até 0,4 U/mL não alteram os resultados da SCT Screen/SCT Confirm nos Sistemas ACL Futura/ACL Advance e ACL ELITE/ELITE PRO 8/9/10000. Não utilizar amostras hemolisadas.

Os resultados do SCT Screen/SCT Confirm no ACL TOP não são afectados pela bilirrubina até 30 mg/dL, triglicéridos até 850 mg/dL, Heparina não fraccionada até 0,5 U/mL e Heparina BPM até 1,0 U/mL. Não utilize amostras hemolisadas.

Os ensaios LA baseados em diferentes propriedades, parecem ser mais ou menos sensíveis a determinados sub-grupos de LA. Portanto, devem ser realizados, pelo menos dois testes de rastreio, baseados em propriedades diferentes, antes da exclusão da possibilidade de LA.¹⁴

Valores esperados

Efectuou-se um estudo ao limite de normalidade utilizando os SCT Screen/SCT Confirm para os Sistemas de Coagulação IL.

Sistema	N	Intervalo (unidades)
ACL TOP	118	0,84 - 1,16 (Rácio Normalizado de SCT)
ACL Futura/ACL Advance	120	0,70 - 1,24 (Rácio Normalizado de SCT)
ACL ELITE/ELITE PRO 8/9/10000	124	0,75 - 1,20 (Rácio Normalizado de SCT)

Os limites foram calculados de acordo com as recomendações referidas no documento C28-A2 da CLSI.¹³

Estes resultados foram obtidos utilizando o mesmo lote de reagentes. Devido às variáveis que podem afectar os tempos de coagulação, cada laboratório deve estabelecer o seu próprio limite de normalidade.

Características técnicas

A precisão foi avaliada, intra e na totalidade (de análise para análise e de dia para dia), ao longo de vários ensaios, com amostras normais e anormais.

ACL TOP	Média (Rácio Normalizado de SCT)	CV % (Intra-série)	CV % (Total)
Amostra normal	1,1	3,1	4,3
Controlo baixo LA	1,8	3,6	4,7
Controlo alto LA	2,2	3,4	5,4

ACL Futura/ACL Advance	Média (Rácio Normalizado de SCT)	CV % (Intra-série)	CV % (Total)
Amostra normal	1,05	2,47	2,95
Controlo baixo LA	1,90	4,05	6,00
Controlo alto LA	2,77	5,24	5,60

ACL ELITE/ELITE PRO 8/9/10000	Média (Rácio Normalizado de SCT)	CV % (Intra-série)	CV % (Total)
Amostra normal	1,08	2,22	2,69
Controlo baixo LA	2,25	2,49	3,47
Controlo alto LA	3,16	4,27	5,25

Correlação:

Num estudo interno de 210 amostras de plasma citratado (120 normais/90 anormais), comparando o kit Silica Clotting Time com um teste TVVRD disponível no mercado, obtiveram-se os seguintes dados no ACL Advance. As amostras foram adquiridas num fornecedor conhecido, que utilizou kits de ELISA disponíveis no mercado para classificar as amostras de Lúpus. Num estudo interno, comparou-se o Silica Clotting Time Kit num ACL 10000 com o mesmo kit num ACL Advance (196 amostras de plasma citratado; 124 normais/72 anormais), e obtiveram-se os seguintes dados:

Unidade	sistema	declive	intersecção	r	Método de Referência
Rácio Normalizado de SCT	ACL TOP	1,123	-0,092	0,988	SCT Screen/Confirm em ACL Advance
Rácio Normalizado de SCT	ACL Futura/ACL Advance	1,099	-0,086	0,874	LAC Screen/Confirm em ACL Advance
Rácio Normalizado de SCT	ACL ELITE/ELITE PRO 8/9/10000	1,24	-0,22	0,985	SCT Screen/Confirm em ACL Advance

A diferença no declive, entre os ACL ELITE/ELITE PRO 8/9/10000 e o ACL Futura/ACL Advance é atribuída aos diferentes rácios dos aparelhos.

Amostras	ACL Futura/ACL Advance
AL (ACA, APA, Acβ2GP1)	100% (30/30)
Normais	1% (1/120)
Deficiência de Factores	6% (1/16)
Heparina (HNF e HBPM)	7% (1/14)
Varfarina	5% (1/20)
CID	0% (0/10)

Num estudo clínico de 206 amostras de plasma citratado (121 normais/85 anormais), comparando o kit Silica Clotting Time (cut-off > 1,24) com um teste TVVRD disponível no mercado (cut-off $\geq 1,20$) num ACL Futura, determinaram-se uma sensibilidade relativa de 92,4% (95% C.I. = 82,1-97,0) e uma especificidade relativa de 100% (95% C.I. = 97,6-100,0). Todas as amostras com anticoagulantes lúpicos (n=48) testadas como parte deste estudo tinham rácios normalizados de SCT > 1,24.






A precisão e os dados de correlação foram obtidos através da utilização de lotes específicos de reagentes e de controlos.

Bibliography / Literatur / Bibliografía / Bibliographie / Bibliografia / Bibliografía

- Love PE, Santoro SA. Antiphospholipid Antibodies: Anti Cardiolipin and the Lupus Anticoagulant in Systemic Lupus Erythematosus (SLE) and in Non-SLE Disorders, *Ann. Int. Med.* 1990; 112: 682-698.
- Exner T, Triplett DA, Taberner D, Machin SJ. Guidelines for Testing and Revised Criteria for Lupus Anticoagulants, *Thromb. Haemostas.* 1991; 65: 320-322.
- Rauch J, Tannebaum M and Janoff AS. Distinguishing Plasma Lupus Antifactor Antibodies using Hexagonal Phase II Phospholipids, *Thromb. Haemostas.* 1989; 62: 892-896.
- Feinstein DJ. Lupus Anticoagulant, Thrombosis and Fetal Loss, *N. Eng. J. Med.* 1985; 313: 1248-1350.
- Chantarangkul V, Tripodi A, Arbini A, Mannucci PM. Silica clotting time (SCT) as a screening and confirmatory test for detection of the lupus anticoagulants. *Thromb. Res.* 1992; 67:355-65.
- Chantarangkul V, Tripodi A, Clerici M, Bressi C, Mannucci PM. Laboratory Diagnosis of Lupus Anticoagulants: Effect of Residual Platelets in Plasma, Assessed by Staclot LA and Silica Clotting Time. *Thromb. Haemost.* 2002; 87:854-8.
- Tripodi A, Chantarangkul V, Clerici M, Mannucci PM. Laboratory Diagnosis of Lupus Anticoagulants for Patients on Oral Anticoagulant Treatment. Performance of Dilute Russell Viper Venom Test and Silica Clotting Time in Comparison with Staclot LA. *Thromb. Haemost.* 2002; 88:583-586.
- Tripodi A, Chantarangkul V, Clerici M, Negri B, Galli M, Mannucci PM. Laboratory control of oral anticoagulant treatment by the INR system in patients with the antiphospholipid syndrome and lupus anticoagulant. Results of a collaborative study involving nine commercial reagents. *Brit. J. Haematol.* 2001; 115:672-8.
- Thiagarajan P, Pengo V, Shapiro SS. The use of the Dilute Russell's Viper Venom Time for the Diagnosis of Lupus Anticoagulants, *Blood Coag. Fibrinol.* 1990; 1: 259-266.
- Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Plasma Based Coagulation Assays and Approved Guideline, Fourth Edition, NCCLS/CLS Document H21-A4; Vol. 23 No. 35.
- Zucker S, Cathey MH, West B. Preparation of Quality Control Specimen for Coagulation, *Am. J. Pathol.* 1970; 53: 924-927.
- Westgard JO and Barry PL. Cost-Effective Quality Control: Managing the Quality and Productivity of Analytical Process, AACC Press 1986.
- Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline, NCCLS/CLSI Document C28-A2; Vol. 15 No. 4.
- Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I, Criteria for the Diagnosis of Lupus Anticoagulants: An Update. *Thromb. Haemostas.* 1995, 74 (4), 1185-90.

ACL®, ACL Futura® and ACL TOP™ are trademarks of Instrumentation Laboratory.
 ©2005 Instrumentation Laboratory
 Issued January 2007

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

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