

## Přínos různé citlivosti aPTT reagensie pro diagnostiku inhibitoru lupus antikoagulans

Buliková A.<sup>1</sup>, Zavřelová J.<sup>1</sup>, Némethová D.<sup>2</sup>, Penka M.<sup>1</sup>, Dušek L.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Oddělení klinické hematologie Fakultní nemocnice Brno

<sup>2</sup>Centrum biostatistiky a analýz Masarykova Univerzita Brno

### Souhrn

Autoři shrnují zkušenosti využití různé citlivosti aPTT reagens k přítomnosti lupus antikoagulans v diagnostice tohoto nespecifického inhibitoru krevního srážení. Na retrospektivní analýze 100 pozitivních a 100 negativních nálezů jsme prokázali, že hodnota R (poměr času pacienta/čas normální plazmy) je statisticky významně odlišná u pozitivních a negativních nálezů diagnostikovaných při použití standardní diagnostické techniky zohledňující kritéria standardizačního výboru Mezinárodní společnosti pro trombózu a hemostázu. Využití indexu  $R_{LA}$  tyto rozdíly zvýrazňuje a použití logistické regrese umožňuje rozlišení LA pozitivních a LA negativních vzorků jen na základě tohoto jediného kritéria. Specifické nastavení umožňuje využití i u nemocných na antikoagulační léčbě, kde je jinak diagnostika ještě více komplikovaná.

**Klíčová slova:** lupus antikoagulans, diagnostika, citlivost aPTT reagensie

### Summary

**Buliková A., Zavřelová J., Némethová D., Penka M., Dušek L.: Benefit of the different sensitivity of aPTT reagent for diagnosis of lupus anticoagulant inhibitor**

The authors summarise their own experience concerning to the application of the different sensitivity of aPTT reagents to lupus anticoagulant (LA) presence in the diagnostic process of the unspecific inhibitor of blood coagulation. By retrospective analysis of 100 LA positive and 100 LA negative samples we proved that value R (ratio of patient time/normal plasma time) is statistically different in LA positive and LA negative findings, in which lupus anticoagulant presence was determined by standard diagnostic procedures using criteria of the Standardisation Committee of International Society of Thrombosis and Haemostasis. These differences become more significant if use the index  $R_{LA}$ . The application of logistic regression permits differentiation of LA positive and LA negative samples on the basis of only this one criterion. The specific adjustment allows application even in patients with anticoagulant therapy, in whom the diagnostic procedure is otherwise much more complicated.

**Key words:** lupus anticoagulant, diagnostic procedure, aPTT reagent sensitivity

*Trans. Hemat. dnes, 11, 2005, No. 3, p. 98–103.*

### Úvod

Jako lupus antikoagulans je označována schopnost antifosfolipidových protilátek ovlivňovat koagulační reakce závislé na fosfolipidech in vitro. Tento fenomén byl vysvětlen Arnoutem v roce 1998 (1) tvorbou bivalentních komplexů protilátky a cílového antigenu na fosfolipidových površích, které mají k těmto mnohem vyšší afinitu, nežli samotné cílové antigeny. Ty pak mohou vstupovat do kompetice s prokoagulačními faktory krevního srážení o tyto povrchy a ovlivňovat jejich vzájemné působení v kaskádě krevního srážení. Průkaz tohoto působení antifosfolipidových protilátek má klinický význam, neboť takto působící fosfolipid-dependentní protilátky mají nejvyšší asociaci s trombotickými projevy (2).

Přestože doporučení k vyšetření lupus antikoagulans vzešla z mezinárodního konsenzu již v roce 1994 (3), do současné doby patří tato diagnostika k nejvíce problematickým metodám koagulační laboratoře (4–6). Zvýšení diagnostických možností přineslo zavedení kontrolních materiálů, ať již připravených z plazmy, či monoklonální technologií (7, 8).

Situace je ještě komplikovanější při vyšetřování přítomnosti lupus antikoagulans u pacientů na antikoagulační léčbě, která ovlivňuje řadu screeningových testů, které jsou k této diagnostice používány – zejména nejvíce specifický test s řaděným jedem Russelovy zmije (dRVVT), ale v jisté míře i aktivovaný parciální tromboplastinový test (aPTT) a jeho modifikace (9, 10). Většinou je k umožnění diagnózy LA u nemocných na antikoagulační léčbě doporučováno ředění bezdestičkovou normální plazmou před vyšetřením. Zde nelze vyloučit „poddagnostikování“ některých slabých, časově závislých inhibitorů (9).

Také aPTT reagensie se vyznačují různou citlivostí vůči přítomnosti lupus antikoagulans (11, 12). Tato citlivost je dána jednak okolnostmi, které mohou obecně aPTT u nemocného ovlivnit – gravidita, reakce akutní fáze, zvýšená hladina fibrinogenu a/nebo faktoru VIII, ale je dána i obsahem a strukturou fosfolipidů v daném použitém laboratorním přípravku. Tak lze mezi dnes komerčně dostupnou poměrně širokou škálou aPTT reagensií určit ty, které jsou v přítomnosti inhibitoru LA relativně málo prodlouženy, nebo naopak ty, které byly

k detekci LA přímo sestrojeny a vyznačují se zvláště zřetelným prodloužením doby tvorby koagula v přítomnosti tohoto inhibitoru (13, 14). Po přidání fosfolipidů (ať již v lamelární nebo hexagonální fázi) dochází obvykle k jejich významnému zkrácení a tím jsou využívány jako testy konfirmační (13–15).

## Materiál a metodika

Na našem pracovišti používáme pro stanovení inhibitoru LA jako screeningové testy ředěný aktivovaný parciální tromboplastinový test – PTT-LA (Diagnostica Stago), ředěný test s jedním Russelovy zmije – reagenzie Russel viper venom (Diagnostica Stago) a kaolinový čas za použití 2% kaolinové suspenze (Kaolin Diagnostica Stago). U vzorků, u nichž poměr k normální směsné plazmě (R) přesáhne hodnotu 1,2, je proveden korekční test normální směsnou plazmou. Ve vzorcích, v nichž nedochází ke korekci, je přítomnost inhibitoru ověřena nebo vyloučena konfirmačním testem – neutralizací inhibitoru fosfolipidy trombocytů. U nejednoznačných výsledků je doplněn další konfirmační test s neutralizací fosfolipidy v hexagonální fázi II – Hexagonal Neutralization Procedure (HNP) – Staclot®LA (Diagnostica Stago). Toto diagnostické schéma je od ledna 2002 na našem pracovišti doplněno o použití aPTT s diagnostickým reagens necitlivým k přítomnosti LA (Actin® FS, Dade Behring). Veškeré testy jsou prováděny ze speciálně preanalyticky připravené bezdestičkové plazmy; stejná příprava, směřující k odstranění fosfolipidů z destiček, je použita pro přípravu normální plazmy používané ke směsným studiím. Pro rutinní screeningové vyšetření testu aPTT využíváme PTT Automate (Diagnostica Stago). Všechny výsledky aPTT jsou bez ohledu na použitou reagenzii vyjadřovány poměrem R, který vyjadřuje čas pacienta/čas normální plazmy.

Vyhodnotili jsme retrospektivně 100 výsledků vyšetření hodnocených jako pozitivní na přítomnost inhibitoru lupus antikoagulans a 100 výsledků hodnocených jako negativní při použití běžné výše uvedené procedury k porovnání rutinně používaného aPTT (dále označeno aPTT), dále aPTT s vysokou (dále označeno PTT-LA) a nízkou citlivostí k přítomnosti inhibitoru (dále označeno Actin FS). V dalším jsme porovnávali „citlivé“ a „necitlivé“ aPTT u nemocných na antikoagulační léčbě, u nichž byla známa přítomnost inhibitoru a u nichž byla přítomnost inhibitoru vyloučena předchozím testováním. Mezi vzorky se známou přítomností LA bylo 18 vyšetřeno bez diluce (skupina 1) a u 33 vzorků byla před testováním provedena diluce

1:1 normální bezdestičkovou plazmou ke zrušení účinku antikoagulační léčby (skupina 2). Vzorky bez přítomnosti inhibitoru (24 testování) byly vyšetřovány bez předchozí diluce (skupina 3).

Pro potřeby srovnání byl vytvořen index  $R_{LA}$ , který je dán vztahem:

$$R_{LA} = (PTT-LA - \text{Actin FS}) / \text{Actin FS}$$

## Statistická analýza

Pro porovnání hodnot aPTT, PT, PTT-LA, Actin FS a indexu  $R_{LA}$  u pozitivních a negativních pacientů bez antikoagulační léčby byl použit Mannův-Whitneyův U test. Pro srovnání hodnot PT, PTT-LA, Actin FS a indexu  $R_{LA}$  mezi skupinami pacientů s antikoagulační léčbou (pozitivní pacienti bez diluce, pozitivní pacienti s dilucí, negativní pacienti) byl také použit Mannův-Whitneyův U test, a to vždy pro všechny možné dvojice skupin pacientů.

Pomocí logistické regrese byl vytvořen model závislosti přítomnosti lupus antikoagulans na hodnotě indexu  $R_{LA}$  a to jak pro pacienty bez antikoagulační léčby, tak i pro pacienty s antikoagulační léčbou.

## Výsledky

Porovnání hodnot aPTT, PTT-LA a Actin FS u pozitivních a negativních vzorků ukazuje tabulka 1 a 2 a obrázky 1 – 3. Hodnoty se statisticky významně lišily ve všech případech – aPTT bylo více prodlouženo u LA pozitivních nemocných jak při použití aPTT, tak i PTT-LA, zatímco významně kratší hodnoty u LA pozitivních pacientů byly nalezeny při použití Actin FS. Poměr R se však při použití všech tří typů reagenzií překrývá a nedovoluje tedy rozlišení pozitivní – negativní. Proto bylo použito srovnání za pomoci indexu  $R_{LA} = (PTT-LA - \text{Actin FS}) / \text{Actin FS}$ .

Tab. 1. Popisné statistiky parametrů aPTT, PT, PTT-LA, Actin FS a indexu  $R_{LA}$  u pozitivních a negativních vzorků pacientů bez antikoagulační léčby, resp. pacientů léčených warfarinem.

	pac./skup.	N	Průměr	Sm. odch.	Medián	Min.	Max.
aPTT (R)	pozitivní	100	1,64	0,57	1,47	0,98	3,35
	negativní	100	1,26	0,20	1,25	0,88	1,87
PTT-LA (R)	pozitivní	100	2,63	1,19	2,35	1,38	6,50
	negativní	100	1,50	0,18	1,47	1,26	2,11
Actin FS (R)	pozitivní	100	1,25	0,20	1,20	0,90	1,88
	negativní	100	1,40	0,21	1,36	1,06	2,08
Index $R_{LA}$	pozitivní	100	1,12	0,92	0,88	0,14	4,19
	negativní	100	0,08	0,10	0,09	-0,25	0,31
PT (INR)	1	18	2,33	0,49	2,30	1,44	3,30
	2	33	2,32	0,58	2,40	1,35	3,69
	3	24	2,39	0,54	2,29	1,44	3,76
PTT-LA (R)	1	18	2,89	1,08	2,80	1,32	4,62
	2	33	2,49	0,99	2,37	1,22	5,54
	3	24	1,42	0,27	1,40	1,08	2,17
Actin FS (R)	1	18	1,65	0,28	1,74	1,24	2,04
	2	33	1,28	0,13	1,27	1,09	1,76
	3	24	1,51	0,21	1,50	1,28	2,04
Index $R_{LA}$	1	18	0,76	0,64	0,55	-0,13	2,30
	2	33	0,93	0,69	0,85	-0,09	2,90
	3	24	-0,06	0,12	-0,05	-0,27	0,24

Vysvětlivky: skupina 1 = pozitivní pacienti bez diluce; skupina 2 = pozitivní pacienti s dilucí; skupina 3 = negativní pacienti; PT = protrombinový čas; Sm. odch. = směrodatná odchylka

**Tab. 2.** Porovnání hodnot aPTT, PT, PTT-LA, Actin FS a indexu  $R_{LA}$  u pozitivních a negativních vzorků pacientů bez antikoagulační léčby, resp. pacientů léčených warfarinem.

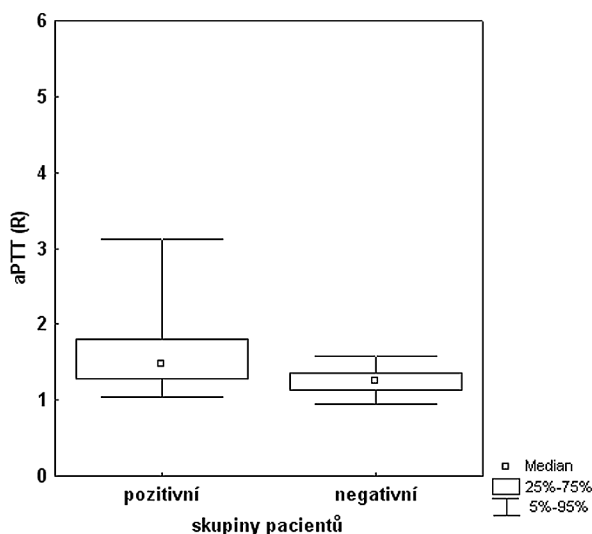
	srovnávané skupiny	Mannův-Whitneyův U test
aPTT	pozitivní vs. negativní pac.	U = 2515 N = 200 p < 0,001
aPTT-LA	pozitivní vs. negativní pac.	U = 805,5 N = 200 p < 0,001
aPTT -necitl. LA	pozitivní vs. negativní pac.	U = 2804 N = 200 p < 0,001
index	pozitivní vs. negativní pac.	U = 106 N = 200 p < 0,001
PT	skupina 1 vs. skupina 2	U = 289 N = 51 p = 0,875
	skupina 1 vs. skupina 3	U = 209 N = 42 p = 0,859
	skupina 2 vs. skupina 3	U = 368 N = 57 p = 0,651
PTT-LA	skupina 1 vs. skupina 2	U = 227 N = 51 p = 0,168
	skupina 1 vs. skupina 3	U = 29 N = 42 p < 0,001
	skupina 2 vs. skupina 3	U = 102 N = 57 p < 0,001
Actin FS	skupina 1 vs. skupina 2	U = 64,5 N = 51 p < 0,001
	skupina 1 vs. skupina 3	U = 149,5 N = 42 p = 0,091
	skupina 2 vs. skupina 3	U = 125,5 N = 57 p < 0,001
Index $R_{LA}$	skupina 1 vs. skupina 2	U = 253 N = 51 p = 0,386
	skupina 1 vs. skupina 3	U = 21 N = 42 p < 0,001
	skupina 2 vs. skupina 3	U = 22 N = 57 p < 0,001

Vysvětlivky: skupina 1 = pozitivní pacienti bez diluce; skupina 2 = pozitivní pacienti s dilucí; skupina 3 = negativní pacienti; PT = protrombinový čas

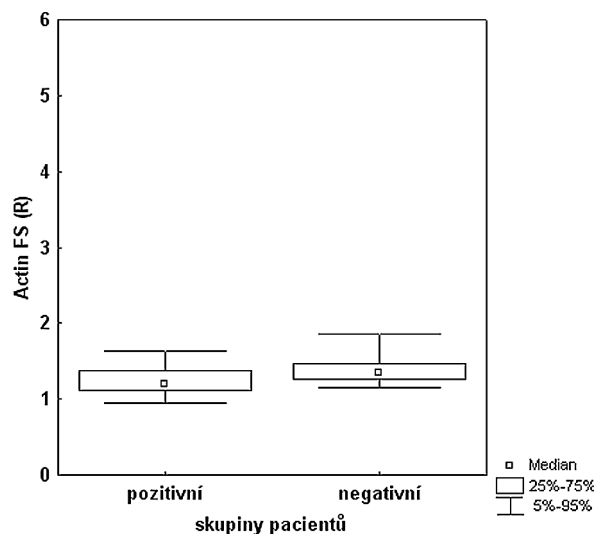
Tento index je nejen statisticky významně odlišný u LA pozitivních a LA negativních nemocných, ale navíc nedochází k překrývání hodnot LA pozitivních a LA negativních nemocných (tab. 1 a 2, obr. 4). Pomocí logistické regrese byl vytvořen predikční model, který na základě hodnoty  $R_{LA}$  umožňuje pacienta zařadit do skupiny LA pozitivních nebo LA negativních pacientů.

$$p = 1/[1+\exp(5.986-22.356x R_{LA})]$$

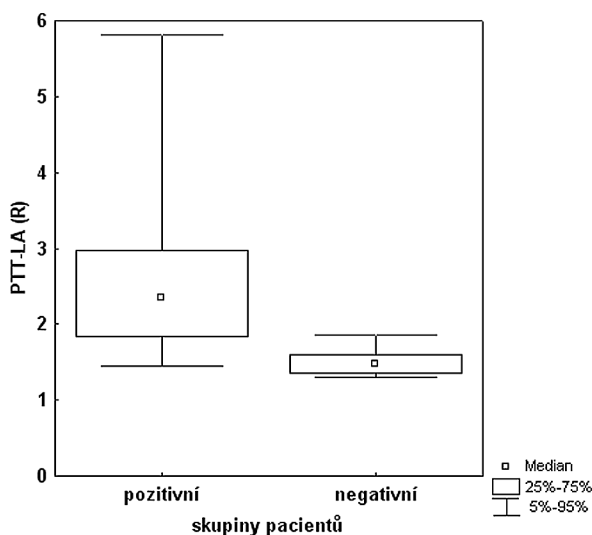
Nastavíme-li hodnotu dělicího bodu  $R_{LA} = 0,268$  (což odpovídá hladině dělicího bodu  $p = 0,5$ ), má tento model korektní predikci u 95,5 % pacientů. Pacienti s hodnotou indexu  $R_{LA}$  vyšší než 0,268 budou vytvořeným modelem klasifikováni jako pozitivní na lupus antikoagulans, pacienti s nižší hodnotou indexu  $R_{LA}$  jako negativní. Použitý index  $R_{LA}$  je významným prediktorem, zda pacient má lupus antikoagulans (test podílem věrohodností  $\chi^2 = 229,76$ , d.f. = 1,  $p < 0,001$ ).



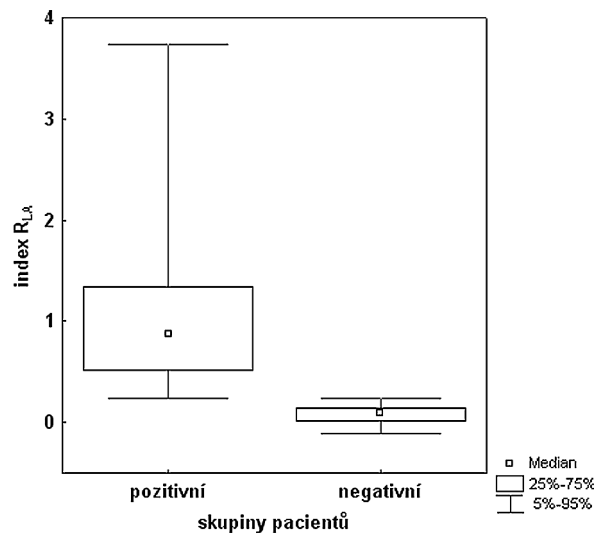
**Obr. 1.** Porovnání hodnot aPTT u pozitivních a negativních vzorků.



**Obr. 3.** Porovnání hodnot Actin FS u pozitivních a negativních vzorků.



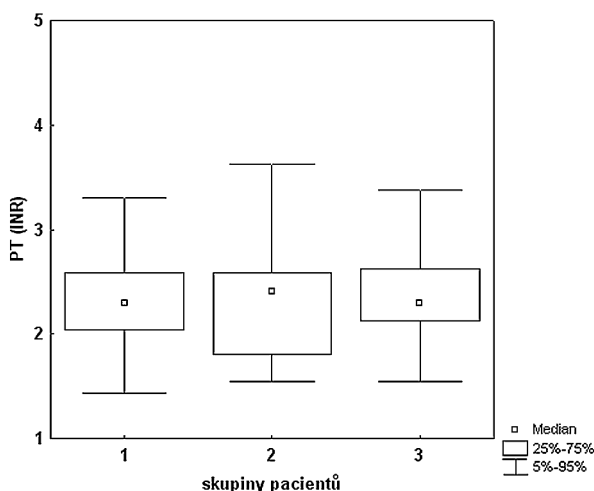
**Obr. 2.** Porovnání hodnot PTT-LA u pozitivních a negativních vzorků.



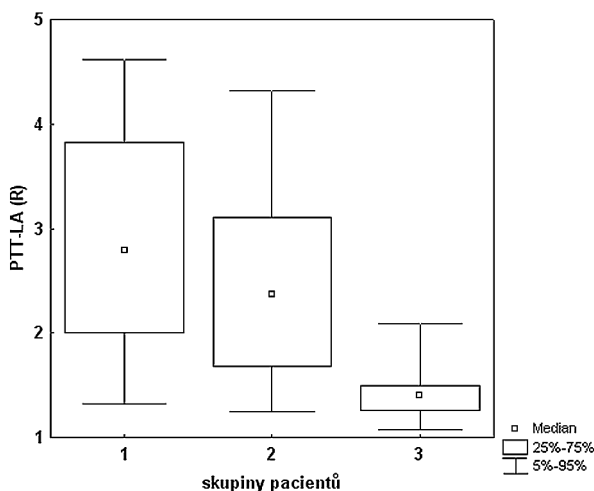
**Obr. 4.** Porovnání hodnot indexu  $R_{LA}$  u pozitivních a negativních vzorků.

Následně jsme provedli testování hodnot PTT-LA a Actin FS u pacientů na antikoagulační léčbě. Nastavení antikoagulační léčby bylo ve všech skupinách testovaných vzorků stejné – hodnoty INR se statisticky významně v jednotlivých skupinách nelišily (tab. 1 a 2, obr. 5). Hodnota PTT-LA byla statisticky významně prodloužena více u pacientů s nálezem lupus antikoagulans (skupiny 1 a 2), nežli u LA negativních nemocných (skupina 3), zatímco nedošlo i významnému rozdílu mezi vzorky vyšetřovanými v diluci normální bezdestičkovou plazmou a bez ní (tab. 1 a 2, obr. 6). Naopak hodnoty Actin FS se lišily pouze u vzorků preanalyticky ošetřených dilucí – zde dochází ke zkrácení hodnot vlivem korekce deficitu faktorů navozených antikoagulační léčbou (skupina 2), nebyl rozdíl mezi vzorky s přítomností inhibitoru lupus antikoagulans a bez ní (tab. 1 a 2, obr. 7).

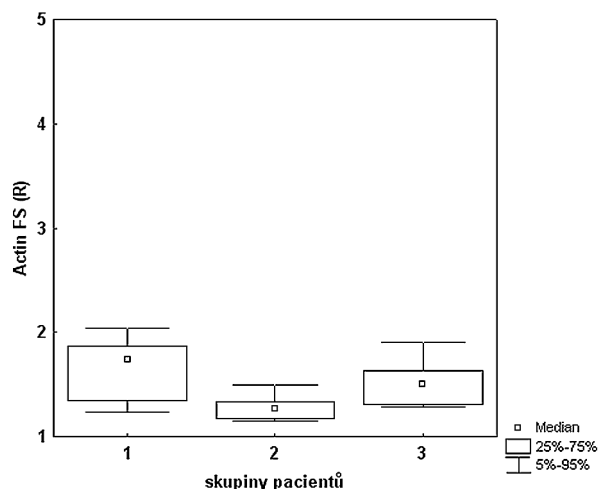
Použití námi vytvořeného indexu  $R_{LA}$  u LA pozitivních a LA negativních vzorků ovlivněných antikoagulační léčbou ukazuje tabulky 1 a 2, obr. 8. Index rozlišuje LA pozitivní a LA negativní nálezy bez ohledu na použití či nepoužití preanalytické diluce. Proto byly do logis-



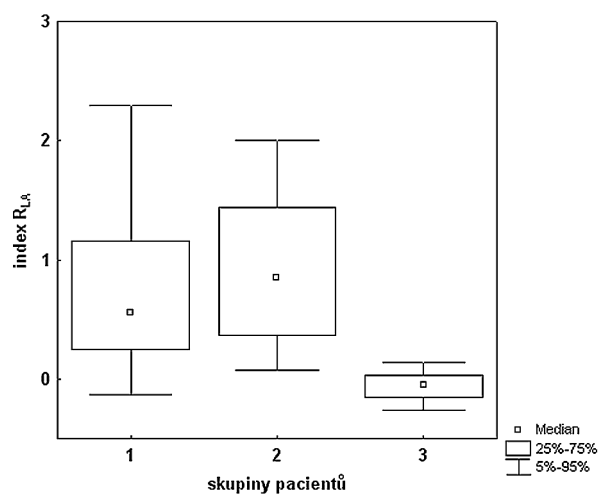
Obr. 5. Porovnání hodnot PT u pozitivních pacientů bez diluce (skupina 1), pozitivních pacientů s dilucí (2) a negativních pacientů (3).



Obr. 6. Porovnání hodnot PTT-LA u pozitivních pacientů bez diluce (skupina 1), pozitivních pacientů s dilucí (2) a negativních pacientů (3).



Obr. 7. Porovnání hodnot Actin FS u pozitivních pacientů bez diluce (skupina 1), pozitivních pacientů s dilucí (2) a negativních pacientů (3).



Obr. 8. Porovnání hodnot indexu  $R_{LA}$  u pozitivních pacientů bez diluce (skupina 1), pozitivních pacientů s dilucí (2) a negativních pacientů (3).

tické regrese zařazeny skupiny 1 a 2 společně. Byl vytvořen model:  $p = 1/[1+\exp(0,980-11,895 \times R_{LA})]$ .

Model má statisticky významnou schopnost predikce pacientů s lupus antikoagulans a antikoagulační léčbou. Při nastavení hodnoty dělicího bodu  $R_{LA} = 0,082$  (což odpovídá hladině dělicího bodu  $p = 0,5$ ), má tento model korektní predikci u 90,7 % pacientů. Pacienti s hodnotou indexu  $R_{LA}$  vyšší než 0,082 budou vytvořeným modelem klasifikováni jako pozitivní na lupus antikoagulans, pacienti s nižší hodnotou indexu  $R_{LA}$  jako negativní. Použitý index  $R_{LA}$  je významným prediktorem, zda pacient s antikoagulační léčbou má lupus antikoagulans (test podílem věrohodností  $\chi^2 = 60,04$ , d.f. = 1,  $p < 0,001$ ).

## Diskuse

Průkaz inhibitoru lupus antikoagulans je obvykle založen na principu detekce ovlivnění dostatečně citlivého screeningového testu a následně konfirmací danou průkazem zkrácení téhož testu po zvýšení koncentrace fosfolipidů (3). Na tomto principu je založena řada komerč-

ně dostupných laboratorních diagnostik určených pro průkaz lupus antikoagulans. Jak screeningové testy, tak i koagulační testy obvykle odrážejí vliv na jinou část koagulační kaskády, která je inhibítoem ovlivněna. Tak rozlišujeme testování na bázi aPTT, ředěného času s jedním Russelovy zmije (dRVVT), kaolinového času (KCT), či ředěného tromboplastinového času (dPT). Neexistuje žádný test se 100% senzitivitou a specificitou. Z tohoto důvodu se doporučuje použití nejméně dvou, lépe tří screeningových testů, které mapují jinou část koagulační kaskády (16). Zatímco senzitivita tohoto testování je obvykle vysoká a pohybuje se mezi 96–100 %, specificita je obvykle mnohem nižší a je udávána mezi 60–73 % (16). Za nejvíce senzitivní i specifický test nejen pro přítomnost lupus antikoagulans ale i ve vztahu k riziku trombózy je považován dRVVT (16–19). Sami jsme taktéž prokázali významnou pozitivní korelaci mezi pozitivitou screeningového testu dRVVT a výskytem trombotických komplikací u našich nemocných (20).

Sakakura (21) však v roce 2000 prokázal, že rozdíl mezi aPTT reagenty citlivou a necitlivou k lupus antikoagulans je u pozitivních pacientů stejně velký, jako rozdíl mezi screeningovým a konfirmačním dRVVT – tedy po přidání fosfolipidů. Vzhledem k tomu, že citlivé aPTT však nevykazovalo vysokou specificitu ve vztahu k přítomnosti LA a pro koagulační vyšetření na přítomnost LA, doporučuje dRVVT a KCT. Lindhoff-Last se svými spolupracovníky (22) využili dvě odlišné aPTT reagens s různou koncentrací fosfolipidů k vytvoření metodiky MIXCON-LA assay, využívající použití analyzátoru, ředění normální plazmou a rozdílu citlivosti obou reagentů. Přítomnost heparinu ve vzorku byla neutralizována. Prokazovali 100% specificitu vůči deficitům koagulačních faktorů a ovlivnění antikoagulační léčbou, metoda však nebyla schopna odlišit získaný inhibitor FVIII u hemofilika. Při interpretaci nálezů z jiných pracovišť je nutno brát ohled nejen na typ použité reagenty, ale do jisté míry i na typ použitého koagulačního přístroje a metody detekce, kterou používá (23, 24). Proto nelze výsledky testování v jiné laboratoři většinou použít beze zbytku a je nutné vlastní nastavení.

V naší studii jsme využili různé citlivosti reagentů aPTT k přítomnosti lupus antikoagulans s retrospektivnímu zhodnocení pozitivních a negativních vzorků. Při zavedení indexu  $R_{LA}$  a metody logistické regrese je tento model schopen predikovat pozitivní nález u pacientů v podmínkách našeho nastavení s vysokou citlivostí a to i u pacientů na antikoagulační léčbě.

V roce 2002 bylo použito jiné aPTT reagenty necitlivé k lupus antikoagulans včetně vytvoření různých indexů (rozdíl citlivé a necitlivé reagenty k necitlivé resp. i rozdíl citlivé a necitlivé ku citlivé) využito k odlišení LA pozitivních a negativních nemocných argentinskými autory (25). I oni zjistili možnost využití těchto kalkulovaných indexů při antikoagulační léčbě nemocných jako jediného kritéria. Metoda spočívala v kalkulaci akceptovatelné senzitivity a specificity vyšetření v podmínkách jejich nastavení.

Rutinně používané screeningové aPTT do celkového vyhodnocení nálezu použito nebylo. I když bylo provedeno u každého vyšetření z téhož odběru, preanalytické zpracování vzorku bylo použito pro přípravu plazmy chudé na destičky, nikoli však pro přípravu bezdestičkové plazmy ( $< 5 \times 10^9/l$ ), jak je tomu u vzorků zpracovávaných na vyšetření lupus antikoagulans. Tento fakt může hrát v hodnotě času i poměru R významnou roli, bez ohledu na citlivost vlastní reagenty díky možnému neutralizačnímu efektu trombocytů (26). Přesto však hodnoty R vyšetřené touto reagenty byly u pozitivních vzorků zřetelně delší, nežli při vyšetření aPTT reagenty necitlivou k přítomnosti lupus antikoagulans (tab. 1 a 2, obr. 1 a 3). To dokládá dostatečnou senzitivitu námi používané rutinní aPTT reagens k přítomnosti tohoto inhibítora pro běžná screeningová vyšetření.

Použití aPTT necitlivé k přítomnosti lupus antikoagulans považujeme za přínosné ve spektru diagnostických metod k průkazu antifosfolipidových protilátek ovlivňujících koagulační reakce a v diferenciální diagnostice stavů provázených prodlouženým aPTT. Vzhledem k přítomnosti celé řady vlivů, které se mohou na výsledcích testování podílet, považujeme za nutné nastavení diskriminačního rozhraní podle použitých reagentů a přístrojového vybavení individuálně pro každou laboratoř.

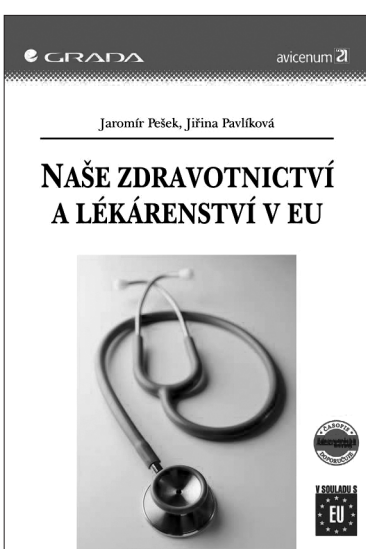
## Literatura

1. **Arnout J, Wittevrongel C, Vanrusselt M, et al.** Beta-2-glycoprotein I dependent lupus anticoagulants form stable bivalent antibody beta-2-glycoprotein I complexes on phospholipid surfaces. *Thromb Haemost* 1998; 79: 79–86.
2. **Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T.** Lupus anticoagulans are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. *Blood* 2003; 101: 1827–32.
3. **Brandt JT, Barma LK, Triplett DA, et al.** Laboratory identification of lupus anticoagulants. *Thromb Haemost* 1995; 74: 1597–603.
4. **Jennings I, Kitchen S, Woods TAL, Presto FE, Greaves M.** (on behalf of the UK National external duality assessment scheme for blood coagulation): Potentially clinically important inaccuracies in testing for the lupus anticoagulant: an analysis of results from three surveys of the UK National external Duality assessment scheme (NEQAS) for blood coagulation. *Throm Haemost* 1997; 77: 934–7.
5. **Arnout J, Vermeylen J.** Current status and implications of autoimmune antiphospholipid antibodies in relation to thrombotic disease. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 931–42.
6. **Myers B, Dolan G, Gould J.** Audit of laboratory investigation of antiphospholipid syndrome. *British J Haematol* 2001; 115: 229.
7. **Tripoldi A, Biasiolo A, Chantarangkul V, Pengo V.** Lupus anticoagulant (LA) testing: Performance of clinical laboratories assessed by a national survey using lyophilized affinity-purified immunoglobulin with LA activity. *Clin Chemistry* 2003; 49: 1608.
8. **Jennings I, Arnout J, Kitchen S, et al.** Use plasma spiked with monoclonal antibodies in lupus anticoagulant (LA) screening: experience with UK NEQAS (blood coagulation) proficiency testing program. *J Thromb Haemost* 2003; Suppl. P1562a.
9. **Bick RL.** Antiphospholipid thrombosis syndromes. *Clin Appl Thromb/Hemost* 2001; 7: 241–258.
10. **Tripoldi A, Chantarangkul V, Clerici M, Mannucci PM.**

- Laboratory diagnosis of lupus anticoagulants for patients on oral anticoagulant treatment. *Thromb Haemost* 2002; 88: 583–6.
11. **Brandt JT, Triplett DA, Rock WA, et al.** Effect of lupus anticoagulants on the activated partial thromboplastin time. *Arch Patol Lab Med* 1991; 115: 109–14.
  12. **Adcock DM, Malar RA.** Activated partial thromboplastin time reagent sensitivity to the presence of the lupus anticoagulant. *Arch Pathol Lab Med* 1992; 116: 837–40.
  13. **Denis-Magdelaine A, Flahault A, Verdy E.** Sensitivity of sixteen aPTT reagents for the presence of lupus anticoagulants. *Haemostasis* 1995; 25: 98–105.
  14. **Hartung KJ, Lutze G, Luley C.** Untersuchungen zur "Lupusantikoagulanz-Empfindlichkeit" verschiedener APTT-Reagenzien. *J Lab Med* 1997; 21:162–66.
  15. **Goudemand J, Caron C, De Prost D, et al.** Evaluation of sensitivity and specificity of a standardized procedure using different reagents for the detection of lupus anticoagulants. *Thromb Haemost* 1997; 77: 336–42.
  16. **Triplett DA.** Use of the dilute Russel viper venom time (dRVVT): Its importance and pitfalls. *J Autoimmunity* 2000; 15: 173–8.
  17. **Galli M, Finazzi G, Norbis F, et al.** The risk of thrombosis in patient with lupus anticoagulants is predicted by their specific coagulation profile. *Thromb Haemost* 1999; 81: 695–700.
  18. **Pengo V, Biastiole A, Rampazzo P, Brocco T.** dRVVT is more sensitive than KCT or TTI for detecting lupus anticoagulant activity of anti- $\alpha$ 2-glycoprotein I autoantibodies. *Thromb Haemost* 1999; 81: 258.
  19. **Galli M, Dlott J, Norbis F, et al.** Lupus anticoagulants and thrombosis: clinical association of different coagulation and immunologic tests. *Thromb Haemost* 2000; 84: 1012–16.
  20. **Bulíková A, Matýšková M, Dušek L, et al.** Význam screeningových testů pro diagnostiku lupus antikoagulans. *Hematológia a transfuziologie* 2000; 10: 102–11.
  21. **Sakakura M, Wada H, Watanabe R, et al.** Coagulation tests anti anti-phospholipid antibodies in patients positive for lupus anticoagulant. *Clin Appl Thrombosis/Hemostasis* 2000; 6: 144–50.
  22. **Lindhoff-Last E, Humpich M, Schmitt J, et al.** MIXCON-LA: A precise, sensitive and specific aPTT-based assay for detection of lupus anticoagulant. *Clin Appl Thrombosis/Hemostasis* 2002; 8: 163–167.
  23. **Lawrie AS, Mackie IJ, Purdy G, Machin SJ.** The sensitivity and specificity of commercial reagents for the detection of lupus anticoagulant show marked differences in performance between photo-optical and mechanical coagulometers. *Thromb Haemost* 1999; 81: 758–62.
  24. **Exner T, Hohnen-Behrens C, Newmann P, Dargan W.** Effect of instruments on lupus anticoagulant testing. *Thromb Haemost* 2000; 83: 345–6.
  25. **Gennari LC, Blanco AN, Grosso SH, et al.** A simple relationship between two aPTT reagents as a confirmatory test in the diagnosis of lupus anticoagulants (LA) in oral anticoagulated (OA) patients. *Lupus* 2002; Suppl.: 626.
  26. **Triplett DA.** Diagnosis of antiphospholipid antibodies. *Hämostaseologie* 2001; 21: 54–9.

*MUDr. A. Bulíková*  
*Oddělení klinické hematologie*  
*Fakultní nemocnice Brno*  
*Jihlavská 20*  
*625 00 Brno*  
*e-mail: abulik@fnbrno.cz*

*Došlo do redakce: 15. 3. 2005*  
*Přijato: 22. 6. 2005*



## NAŠE ZDRAVOTNICTVÍ A LÉKÁRENSTVÍ V EU

*Jaromír Pešek, Jiřina Pavlíková*

Příručka je určena pro subjekty působící v oblasti zdravotnictví v období po vstupu ČR do EU. Najdete zde základní informace o EU, přehled vybraných právních předpisů, informace výrobcům, dovozcům, distributorům, a prodejcům zdravotnických prostředků.

*Vydala Grada Publishing v roce 2005. ISBN 80-247-1392-6, kat. číslo 3000, A5, brož. vazba, 152 stran, cena 195 Kč.*

**Objednávku můžete poslat na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz**