

MRX Owren's PT. Gaminio Nr. GHI131-10

PASKIRTIS

Protrombino komplekso reagentas GHI 131-10 skirtas protrombino komplekso aktyvumui (Owren'o PT aktyvumui) nustatyti ir suteikia informacijos apie nuo vitamino K priklausiančių II, VII ir X koaguliacijos faktorių aktyvumą.

IN VITRO DIAGNOSTINIAM NAUDOJIMUI

METODO PAGRINDAI IR PRINCIPAS

Protrombino komplekso reagentas GHI 131-10 tinkamas iš pacientų, kurie gydyti vitamino K antagonistais, pavyzdžiui, varfarinu, paimtų plazmos, citratu apdoroto kraujo ir kapiliarinio kraujo mėginių analizei ir sveikatos patikrai, ieškant išorinio krešėjimo mechanizmo defektų.

Analizuojant PT mėginys sumaišomas su reagentu ir matuojama krešėjimo trukmė. Galutinis mėginio kiekis yra 4,8 % (1:21). Jonų koncentracija (0,15 M), pH (7,3), kalcio jonų aktyvumas (2 mM) ir temperatūra (37 °C) mažai skiriasi nuo fiziologinių rodiklių.

Dėl mėginio skiedimo šis metodas palyginti nejautus FV aktyvumo pokyčiams ir heparinui. Jeigu reikia, kad tyrimas būtų dar mažiau jautrus heparinui, galima naudoti mėginio skiedimo buferį su polibrenu (GHI152).

Owren'o PT aktyvumas išreiškiamas INR (tarptautiniu normalizavimo santykiu), kuris yra mėginio ir normalios plazmos koaguliacijos trukmių dalmuo, padaugintas iš metodo ISI (tarptautinio jautrio indekso) reikšmės (1).

Anksčiau PT aktyvumas būdavo išreiškiamas normalios plazmos aktyvumo procentais (2).

- $INR = (\text{paciento PT} / \text{normalus PT}) / ISI$.
- ISI = reagento ir prietaiso sistemos tarptautinis jautrio indeksas, kuris priklauso nuo reagento partijos.
- PT reagento ISI reikšmė nustatoma kalibruojant pagal etaloninius kalibratorius.

Reagentą galima naudoti su kalcio jonais, esančiais paruoštame reagente (vienkomponenčio reagento metodas, 1X) ir su kalciumu, kurio papildomai dedama analizuojant dvikomponenčio reagento metodą, 2X).

Vienkomponenčio reagento metodas 1X patogesnis ir tinkamas daugumai prietaisų, tačiau jį taikant reikia geriau išplauti adatą, kad būtų apsisaugota nuo užteršimo. Kai kuriais atvejais geriau taikyti dvikomponenčio reagento metodą 2X, kurį taikant reagentas paruošiamas tik skiedžiant skiedikliu, o CaCl₂ dedama analizei pradėti. Taršos rizika sumažėja, nes reagentas neaktyvinamas be CaCl₂.

GAMINIO APRAŠAS

GHI131-10 yra šaldant išdžiovintas reagentas, sudarytas iš triušių tromboplastino ir galvijų plazmos frakcijos. Plazmos frakcija yra fibrinogeno ir V koaguliacijos faktoriaus šaltinis, o II, VII ir X koaguliacijos faktorių joje yra labai mažai. Pakuotės turinys: 10 x 10 ml reagento.

Reikalingos, tačiau nepateikiamos medžiagos:

- GHI155, GHI155-5 CaCl₂,
- Owren'o buferis GHI150,
- Owren'o buferis su polibrenu GHI152,
- skiediklis GHI154.

ATSARGUMO PRIEMONĖS

Saugoti, kad nepatektų ant odos arba į akis. Vilkėti tinkamą apsauginę aprangą. Reagente yra nedidelis kiekis konservanto natrio azido, todėl reagentą reikia išmesti pagal nacionalinius ir vietos reikalavimus. Nepilti į kanalizaciją.

Daugiau informacijos žr. saugos duomenų lapę.

PARUOŠIMAS

Prieš ruošdami palaukite, kol reagentas, skiediklis ir CaCl₂ sušils iki kambario temperatūros.

Paruošimas taikant vienkomponenčio reagento metodą 1X

Į protrombino komplekso reagento GHI 131-10 vieno buteliuko turinį įpilkite 5 ml skiediklio (GHI154).

10 minučių inkubuokite; maišykite inkubavimo laikotarpio pradžioje, viduryje ir pabaigoje. Reagentas ištirpsta ir susidaro šiek tiek neskaidrus bespalvis skystis.

Įpilkite 5 ml 25 mM CaCl₂ (GHI155-5)

Paruošimas taikant dvikomponenčio reagento metodą 2X

Į protrombino komplekso reagento GHI 131-10 vieno buteliuko turinį įpilkite 5 ml skiediklio (GHI154).

10 minučių inkubuokite; maišykite inkubavimo laikotarpio pradžioje, viduryje ir pabaigoje. Reagentas ištirpsta ir susidaro šiek tiek neskaidrus bespalvis skystis.

LAIKYMO SĄLYGOS IR STABILUMAS

2–8 °C temperatūroje laikomi neatidaryti reagentai stabilūs iki galiojimo laiko pabaigos, nurodytos ant buteliuko. 15–25 °C ir 2–8 °C temperatūroje laikomas paruoštas reagentas stabilus 7 dienas.

Reagentas skirtas naudoti paruošimo dieną.

- PT 1X reagentas: paruoštą reagentą prieš naudodami dvi valandas palaikykite.
- PT 2X reagentas: paruoštą reagentą prieš naudodami vieną valandą palaikykite.

Prieš naudojant reagentą svarbu išmaišyti, tačiau to daryti nereikia, jeigu reagentas prietaise nuolat maišomas.

Svarbi rekomendacija

Jeigu paruoštą reagentą ketinate sunaudoti per keletą dienų, itin rekomenduojama reagentą atskiesti dieną prieš naudojant, kad būtų užtikrintas 7 dienų stabilumas. Tai daryti rekomenduojama todėl, kad per laiko tarpą nuo paruošimo dienos (0 dienos) iki 1-osios dienos jautris (ISI) šiek tiek pakinta, tačiau vėliau ISI stabilus 7 dienas. (Žr. sertifikate nurodytus stabilumo duomenis.) Rekomenduojama vienu metu paruošti tiek reagento, kad pakaktų 7 dienoms.

MĖGINIŲ ĖMIMAS IR LAIKYMAS

Rekomenduojama mėginius imti ir laikyti pagal CLSI instrukcijos H21-A5 (4) reikalavimus: 9 dalys šviežiai paimto veninio kraujo surenkamos vienoje (1) dalyje 0,13 M trinitratu citrato, mišinys turi būti nedelsiant kruopščiai išmaišytas. Šis santykis labai svarbus; nepakankamai pripildžius ir esant krešuliui mėginys atmetamas. Plazma gaunama, antikoagulantais apdorotą kraują per 24 valandas centrifuguojant 2500g greičiu 15 minučių. Prieš centrifuguodami patikrinkite, ar mėginyje nėra koagelio.

ANALIZĖS METODAS

Testo parametrai išsamiai aprašyti ir analitinės charakteristikos nurodytos konkrečių prietaisų aprašuose. Paisykite skirtingų plazmos, citratu apdoroto ir kapiliarinio kraujo naudojimo būdų.

Plazmos, citratu apdoroto ir kapiliarinio kraujo išankstinis skiedimas

- 100 µl plazmos + 600 µl Owren'o buferio 1:7
- 50 µl kapiliarinio kraujo + 200 µl Owren'o buferio 1:5
- 50 µl citratu apdoroto kraujo (1+9) + 170 µl Owren'o buferio 1:4,4

Plazmos procedūra

Analizė vienkomponenčių reagentu

- 100 µl plazmos, atskiestos santykiu 1:7, pašildytos iki 37 °C.
- 200 µl 1X PT reagento, pašildyto iki 37 °C.

Analizė dvikomponenčių reagentu

- 100 µl plazmos, atskiestos santykiu 1:7, pašildytos iki 37 °C.
- 100 µl 2X PT reagento, pašildyto iki 37 °C.
- 100 µl 25 mM CaCl₂, pašildyto iki 37 °C.

Nepriklausomai nuo taikomo metodo: nedelsdami sumaišykite ir leiskite reaguoti 37 °C temperatūroje. Nustatykite koaguliacijos trukmę, kuri lygi intervalui nuo paskutinio pridėjimo iki koaguliacijos. Nustatant PT aktyvumą, gautoji koaguliacijos trukmė palyginama su atitinkamais kalibratoriais, kurių PT aktyvumas žinomas.

Analizės rezultatų interpretavimas

Normalus diapazonas INR 0,92–1,20 (70–130 %).

Optimali reikšmė gydymui geriamaisiais antikoagulantais skirti trombozės profilaktikai: INR 2–3 (15–25 %) (3).

KALIBRAVIMAS

Kalibruojama pagal Owren'o PT vietines procedūras.

KOKYBĖS KONTROLĖ (rinkinyje nepateikiama)

Kad analitinės kokybės kontrolė būtų patikima, rekomenduojama naudoti normalią kontrolinę plazmą (GHI 162, GHI163 ir GHI164) ir nenormalią kontrolinę plazmą OKP (GHI 167B, GHI169 ir GHI170), o kokybės kontrolės procedūras atlikti gerą laboratorinę praktiką atitinkančiu dažniu.

MRX Owren's PT. Gaminio Nr. GHI131-10

SPECIFIŠKUMAS IR TRUKDŽIAI (plazma)

Reagentui neturi įtakos bilirubino koncentracija iki 0,5 g/l, trigliceridų koncentracija iki 10 g/l, hemoglobino koncentracija iki 10 g/l ir heparino* koncentracija iki 1 TV/ml.

* Nefrakcionuotas heparinas, kai naudojamas skiedimo buferis GHI150. Jeigu naudojamas buferis su polibrenu GHI152, reagentui neturi įtakos nefrakcionuoto heparino koncentracija iki 4 TV/ml

Kiekvienai laboratorijai rekomenduojama nusistatyti savo heparino gydomąjį diapazoną.

TIPINĖS ANALITINĖS CHARAKTERISTIKOS

Analizuotas ACL9000 su plazma, esant dviem INR reikšmėms (n=81).

	Variacijos koeficientas serijos viduje (CV%)	Variacijos koeficientas tarp serijų (CV%)	Bendras variacijos koeficientas (CV%)
Reikšmė 1,00	0,7	0,5	0,9
Reikšmė 2,30	1,5	1,2	1,9

LITERATŪRA

1. Besselar A M H P va den. 1991. The significance of the international Normalized Ratio (INR) for oral anticoagulant therapy. JIFCC 3; 146-53
2. Besselar A M H P va den. Lewis SM, Mannucci P M Poller L. 1993. Status of present and candidate International Reference Preparations (IRP) of thromboplastin for prothrombin time. Thromb Haemostas 69:85.
3. Schulman S et al 1995. A comparison of six weeks with six months of oral anticoagulant therapy after a first episode of venous thromboembolism. New Eng J Med 332:1661.
4. CLSI Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-based Coagulation Assays 5th Ed. CLSI document H21-A5 Vol. 28 No.5