

MRX Owren's PT

Delnr.: GHI131-4, GHI131-10, GHI131-10SI, GHI131-20

DANSK

ANVENDELSESOMRÅDE

MRX Owren's PT, Protrombinkompleksreagens er beregnet til bestemmelse af Protrombinkompleksaktivitet og giver information om den sammenvejede aktivitet af de K-vitaminafhængige koagulationsfaktorer II, VII og X.

KUN TIL DIAGNOSTICERING "IN VITRO"

BAGGRUND OG METODEPRINCIP

MRX Owren's PT, Protrombinkompleksreagens egner sig til analyse af plasma, citratblod og kapillarblod fra patienter der behandles med vitamin-K-antagonister som warfarin og ved screening for detektering af forstyrrelser i den såkaldte eksterne del (extrinsic pathway) af hæmostasen.

Ved analysering af PT blandes prøve og reagens og koagulationstiden bestemmes. Ved blanding fortyndes prøven, så prøvedelen af slutvolumen er 4,8 % (1:21). Ionstyrke, pH, calciumionkoncentration og temperatur ligger tæt på det fysiologiske; 0,15M; 7,3; 2mM respektive 37 °C.

På grund af prøvefortyndingen er denne metode relativ ufølsom over for variation af FV-aktivitet og over for Heparin. Ufølsomheden kan yderligere øges ved at bruge fortyndingsbuffer med polybren (MRX152 eller GHI152).

PT-aktivitet blev tidligere udtrykt i procent af normalplasma-aktiviteten¹ men rapporteres oftest som INR på grund af uoverensstemmelser i PT %-resultater mellem laboratorier. PT Owren's rapporteres normalt ikke som sekunder.

Owren's PT-aktivitet (PK-aktivitet) er udtrykt i INR (Internationalt Normaliseret Ratio), som er forholdet mellem prøveplasmaets og normalplasmaets (MNPT) koagulationstider, hævet til metodens ISI-værdi, (International Sensitivity Index)²

- $INR = (PT/MNPT)^{ISI}$
- ISI = Et lotspecifikt internationalt sensitivitetsindex for reagens/instrument-system. PT-reagensets ISI-værdi fås gennem kalibrering med reference kalibratorer.

ISI og MNPT skal bestemmes for hvert enkelt reagenslot på hver enkelt målesystem i henhold til lokal praksis.

PRODUKTBESKRIVELSE

MRX Owren's PT er et frysetorret reagens, der består af tromboplastin fra kanin og plasmafraktioner fra kvæg. Kvægplasmafraktionen er en kilde til fibrinogen og koagulationsfaktor V og har i høj grad mangel på koagulationsfaktorerne II, VII og X.

Forpakning:

GHI131-4	10 x 4 ml (størrelse på hætteglas 22 x 40 mm)
GHI131-10	10 x 10 ml (størrelse på hætteglas 22 x 49,5 mm)
GHI131-10SI	10 x 10 ml (størrelse på hætteglas 30 x 50 mm)
GHI131-20	10 x 20 ml (størrelse på hætteglas 27,5 x 60 mm)

Eksterne produkter, der ikke følger med i pakningen

- GHI155, GHI155-2, GHI155-5, GHI155-10 25 mM CaCl₂
- MRX150 PT Buffer eller GHI150 Owren's Buffer eller MRX152 PT Buffer med polybren eller GHI152 Owren's Buffer med polybren
- GHI154, GHI154-2, GHI154-10 diluent eller CLSI CLRW type vand eller tilsvarende³

FORHOLDSREGLER

Produktet indeholder natriumazid (< 0,1 %) for at forhindre bakterievækst. Må ikke hældes i afløb. Undgå kontakt med øjne og hud.

For yderligere information henvises til sikkerhedsdatabladet.

REKONSTITUTION

Det er vigtigt at lade reagens, diluent (CLSI CLRW-vand eller tilsvarende) og CaCl₂, nå stuetemperatur (15-25 °C) før rekonstitution. Der er en mindre risiko for bundfald i reagenser, der er rekonstitueret med opløsninger, der er koldere end 15 °C, i forbindelse med 1X-metoden. Se information om bundfald under 1X-rekonstitutionsmetode.

MRX Owren's PT-reagens kan rekonstitueres ved hjælp af forskellige metoder; 1X- og 2X-metoden.

1X metode:

Rekonstitution med diluent (eller CLSI CLRW- vand eller tilsvarende) CaCl₂ føjes derefter til det rekonstituerede reagens

2X metode:

Rekonstitution med diluent (eller CLSI CLRW- vand eller tilsvarende.) CaCl₂ tilføjes separat under analysen i instrumentet

1X-metoden er mere praktisk og kan ofte opnå større gennemløb på mange automatiske instrumenter, men der stilles større krav til systemet renhed, da et CaCl₂-aktiveret reagens er mere følsomt over for kontaminering. Derfor er brug af et PT-reagens, der er inaktiveret på grund af fraværet af CaCl₂ (2x metode), at foretrække i nogle tilfælde.

1X-rekonstitutionsmetode:

Tilsæt diluent GHI154 eller CLSI CLRW- vand ved stuetemperatur (15-25 °C) eller tilsvarende (ref. 5) til hætteglasset med reagens i henhold til nedenstående tabel.

	GHI131-4	GHI131-10 GHI131-10SI	GHI131-20
Diluent GHI154 eller CLSI CLRW-vand eller tilsvarende	2 ml	5 ml	10 ml

Inkubér i 10 minutter i 15-25°C, bland i starten, i midten og i slutningen af perioden. Reagenset opløses til en lettere uigennemsigtig, farveløs væske.

Tilsæt 25 mM CaCl₂ (GHI155) ved stuetemperatur til hætteglasset med reagens i henhold til nedenstående tabel.

	GHI131-4	GHI131-10 GHI131-10SI	GHI131-20
25 mM CaCl ₂ GHI155	2 ml	5 ml	10 ml

Hvis reagenset rekonstitueret i henhold til 1X-metoden er beregnet til at blive anvendt samme dag som det rekonstitueres, må det først anvendes to timer efter rekonstitution.

Hvis reagenset er beregnet til brug over flere dage, anbefales det på det kraftigste at rekonstituere reagenset dagen for anvendelsen, se afsnittet Opbevaring og stabilitet.

Det er vigtigt at blande reagenset før brug, men det kræver ikke kontinuerlig omrøring, når reagenset er placeret i instrumentet.

I sjældne tilfælde kan der forekomme små bundfald i det 1X rekonstituerede reagens, primært hvis det rekonstituerede reagens opbevares nedkølet, eller hvis reagens, diluent og CaCl₂ er koldere end 15 °C ved rekonstitution. Bundfaldet påvirker hverken resultatet eller performance. Det anbefales at fjerne bundfaldet med en ren pipette spids for brug.

2X-rekonstitutionsmetode:

Tilsæt diluent eller CLSI CLRW-vand eller tilsvarende ved stuetemperatur (15-25 °C) (ref. 5) til hætteglasset med reagens, i henhold til tabellen nedenfor.

	GHI131-4	GHI131-10 GHI131-10SI	GHI131-20
Diluent GHI154 eller CLSI CLRW-vand eller tilsvarende	2 ml	5 ml	10 ml

Inkubér i 10 minutter i 15-25°C, bland i starten, i midten og i slutningen af perioden. Reagenset opløses til en lettere uigennemsigtig, farveløs væske.

Hvis reagenset (rekonstitueret i henhold til 2X-metoden) er beregnet til at blive anvendt samme dag som det rekonstitueres, må det først anvendes en time efter rekonstitution.

Hvis reagenset er beregnet til brug over flere dage, anbefales det på det kraftigste at rekonstituere reagenset dagen for anvendelsen, se afsnittet Opbevaring og stabilitet.

MRX Owren's PT

Delnr.: GHI131-4, GHI131-10, GHI131-10SI, GHI131-20

DANSK

Det er vigtigt at blande reagenset før brug, men det kræver ikke kontinuerlig omrøring, når reagenset er placeret i instrumentet.

OPBEVARING OG STABILITET

Det uåbnede reagens, der opbevares ved 2-8 °C, er stabilt indtil udløbsdatoen, der er angivet på hætteglasset.

Stabilitet efter rekonstitution:

7 dage ved 2-8 °C, i det lukkede originale hætteglas

5 dage ved 15-25 °C, i det lukkede originale hætteglas

Opbevaring ved stuetemperatur (15-25°C) anbefales til reagenser, der rekonstitueret ifølge 1X-metoden.

Hvis det rekonstituerede reagens er beregnet til at blive anvendt i flere dage, anbefales det kraftigt at rekonstituere reagenset dagen for brug for at opnå 5 dages stabilitet eller 7 dages stabilitet. Denne anbefaling er baseret på de observerede ændringer for det internationale sensitivitetsindex (ISI) i løbet af de første 12-24 timer efter rekonstitution, efterfulgt af en stabilisering af ISI-værdien for 5 dage i opbevaring ved 15-25°C og 7 dage opbevaring i 2-8°C efter rekonstituering.

PRØVETAGNING OG PRØVEFORBEREDELSE

Det anbefales at prøveindsamling og opbevaring sker i henhold til CLSI anvisninger H21-A5⁴ volumendele blod samles i prøverør med indehold af 1 volumendel 0,13 M tri-natriumcitrat der straks blandes grundigt. Prøve med utilstrækkelig fyldning af glasset eller med delvist koaguleret blod skal ikke bruges.

Plasma fremstilles ved centrifugering af antikoaguleret blod i 15 minutter ved 2500 g inden for 24 timer. Det kontrolleres lige inden centrifugering, at prøven ikke indeholder koagel.

ANALYSEMETODE

For en detaljeret beskrivelse med hensyn til bestemmelse af testparametrene såvel som testperformance, henvises til instrumentspecifikke applikationer. Se de forskellige applikationer for plasma, citrat- og kapillærblod.

Fortynding af plasma, citrat- og kapillærblod

- 100 µl plasma + 600 µl Owren's buffer 1:7
- 50 µl kapillærblod + 200 µl Owren's buffer 1:5
- 50 µl citratblod (1+9) + 170 µl Owren's buffer 1:4,4

Plasmaprocedure

Analyse med 1X-metode reagens

- 100 µl plasma fortyndet 1:7, forvarmet til 37 °C
- 200 µl PT-reagens 1X, forvarmet til 37 °C

Analyse med 2X-metode reagens

- 100 µl plasma fortyndet 1:7, forvarmet til 37 °C
- 100 µl PT-reagens 2X, forvarmet til 37 °C
- Bland plasma og PT-reagens
- Tilsæt 100 µl 25 mM CaCl₂ forvarmet til 37 °C

Følgende gælder for begge metoder: Bland straks, og lad det reagere ved 37 °C.

Koagulationstiden er intervallet fra den sidste tilsætning, indtil koagulering. PT-INR beregnes med ligningen $INR = (PT/MNPT)^{ISI}$.

Analyseresultat:

Normalområde INR 0,92-1,20 (70-130 %)

Optimal oral antikoagulationsbehandling med vitamin-K-antagonister:

INR 2-3 (15-25 %)⁵

KALIBRERING

Kalibrer målesystemet i henhold til lokal praksis eller retningslinjer for Owren's PT.

KVALITETSKONTROL (medfølger ikke)

For en pålidelig kvalitetskontrol af analysen anbefales brug af MediRox-kontrolplasma (2-niveau-kontrol GHI 162-GHI170 eller 3-niveau-kontrol MRX170-MRX183) ved en hyppighed, der er fastsat i henhold til god laboratoriepraksis.

BEGRÆNSNINGER OG INTERFERENDE STOFFER

PT-resultaterne kan blive påvirket af utilstrækkelige blodprøver med forskelligt indhold af natriumcitrat til patientplasma eller ved interfererende stoffer som f.eks. heparin, EDTA og K-vitamin.

PT påvirkes ikke af stoffer i koncentrationer op til:

Heparin UFH*	0,5 IE/ml
Triglycerid	10 g/l
Bilirubin	0,5 g/l
Hæmoglobin	10 g/l

* Ufraktioneret heparin og ved brug af fortyndingsbuffer MRX150/GHI150. Ved brug af fortyndingsbuffer MRX152/GHI152 med Polybren påvirkes reagenset ikke af ufraktioneret heparin op til 1 IE/ml.

Det anbefales hvert laboratorium at sætte sine egne grænseværdier for heparinterapi.

GHI131-reagenset beriges med FV fra kvæg og fibrinogen, hvilket gør det ufølsomt over for variationer patientprøver.

NORMAL PERFORMANCE

Analysen er udført på ACL9000 på plasmaprøver med to INR-niveauer. (n=81)

	CV% inden for serie	CV% mellem serie	CV% Total
Niveau 1,00	0,7	0,5	0,9
Niveau 2,30	1,5	1,2	1,9

REFERENCER

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. Clinical and Laboratory Standards Institute. Preparation and Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory, Fourth Edition, CLSI Document C3-A4; Vol. 26 No. 22.
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
5. 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.