

## MRX Owren's PT

### Art.-Nr. GHI131-4, GHI131-10, GHI131-10SI, GHI131-20

Deutsch

#### VERWENDUNGSZWECK

MRX Owren's PT Prothrombinkomplex-Reagenz ist zur Bestimmung der Prothrombinkomplex-Aktivität vorgesehen und stellt Informationen zur Aktivität der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren II, VII und X bereit.

#### IN-VITRO-DIAGNOSTIKUM

#### HINTERGRUND UND PRINZIP DER METHODE

MRX Owren's PT Prothrombinkomplex-Reagenz ist zur Analyse von Plasma, Citratblut und Kapillarblut von Patienten, die mit Vitamin-K-Antagonisten wie Warfarin behandelt werden, und für das Screening zur Auffindung von Defekten in der extrinsischen Gerinnungskaskade geeignet.

Zur Untersuchung der Prothrombinzeit (Prothrombin Time, PT) werden Probe und Reagenz gemischt, anschließend wird die Gerinnungszeit gemessen. Das Endvolumen der Probe ist 4,8 % (1:21). Ionenstärke (0,15 M), pH-Wert (7,3), Calciumionkonzentration (2 mM) und Temperatur (37 °C) liegen nahe an den physiologischen Werten.

Aufgrund der Probenverdünnung ist die Methode relativ unempfindlich gegenüber Schwankungen der FV-Aktivität und auch Heparin. Die Unempfindlichkeit gegenüber Heparin kann durch Verwendung eines Probenverdünnungspuffers mit Polybrene (MRX152 oder GHI152) erhöht werden.

Die Prothrombinzeit-Aktivität wurde früher als Prozentsatz der Normalplasma-Aktivität angegeben (Lit. 1). Aufgrund der Abweichungen zwischen den prozentual angegebenen Prothrombinzeit-Ergebnissen verschiedener Labore wird heute jedoch häufiger der INR-Wert angegeben. Die Prothrombinzeit nach Owren wird normalerweise nicht in Sekunden angegeben.

Die Prothrombinzeit-Aktivität nach Owren wird als INR (International Normalized Ratio) ausgedrückt, d. h. als Quotient aus der Gerinnungszeit der Probe und der Gerinnungszeit von Normalplasma (MNPT), in die Potenz des ISI-Werts (International Sensitivity Index) der Methode gesetzt (Lit. 2).

- $INR = (PT/MNPT)^{ISI}$
- ISI = Lot specific International Sensitivity Index (Chargenspezifischer Internationaler Empfindlichkeitsindex) für Reagenz/Gerätesystem. Der ISI-Wert für das PT-Reagenz wird durch Kalibrierung mit Referenzkalibratoren ermittelt.

ISI und MNPT müssen für jede Reagenzcharge auf jedem einzelnen Messsystem entsprechend den lokalen Verfahren ermittelt werden.

#### PRODUKTBESCHREIBUNG

MRX Owren's PT ist ein gefriergetrocknetes Reagenz, bestehend aus Kaninchen-Thromboplastin und einer Plasmafraktion bovinen Ursprungs. Die bovine Plasmafraktion ist eine Quelle für das Fibrinogen und den Gerinnungsfaktor V. Sie ist äußerst arm an den Gerinnungsfaktoren II, VII und X.

Verpackungseinheit:

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

Benötigtes Material, aber nicht im Kit enthalten:

- GHI155, GHI155-2, GHI155-5, GHI155-10 25 mM CaCl<sub>2</sub>
- MRX150 PT-Puffer oder GHI150 Owren's Puffer oder MRX152 PT-Puffer mit Polybrene oder GHI152 Owren's Puffer mit Polybrene
- GHI154, GHI154-2, GHI154-10 Diluent oder Wasser der Güte CLRW nach CLSI oder gleichwertig (Lit. 3)

#### VORSICHTSMASSNAHMEN

Das Produkt enthält zur Unterbindung von Bakterienwachstum Natriumazid (< 0,1 %). Nicht in Ausgüsse entleeren. Kontakt mit Haut und Augen vermeiden. Weitere Informationen sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

#### REKONSTITUTION

Es ist wichtig, dass das Reagenz, das Diluent (oder Wasser der Güte CLRW nach CLSI oder gleichwertig) und CaCl<sub>2</sub> vor der Rekonstitution Raumtemperatur (15–25 °C) erreichen. Bei Anwendung der 1X-Methode besteht ein geringes Risiko der Ausfällung in Reagenzien, die mit Lösungen rekonstituiert wurden, die kälter als 15°C sind. Siehe Informationen über Ausfällungen unter „Rekonstitution nach 1X-Methode“.

Das MRX Owren's PT-Reagenz kann mit zwei verschiedenen Methoden rekonstituiert werden: der 1X-Methode und der 2X-Methode.

#### 1X-Methode:

Rekonstitution mit Diluent (oder Wasser der Güte CLRW nach CLSI oder gleichwertig)  
 Dem rekonstituierten Reagenz wird anschließend CaCl<sub>2</sub> zugegeben.

#### 2X-Methode:

Rekonstitution mit Diluent (oder Wasser der Güte CLRW nach CLSI oder gleichwertig)  
 CaCl<sub>2</sub> wird während der Analyse im Gerät separat hinzugefügt.

Die 1X-Methode ist praktischer und ermöglicht mit automatischen Instrumenten häufig einen höheren Durchsatz, stellt jedoch höhere Anforderungen an die Sauberkeit des Instruments, da das CaCl<sub>2</sub>-aktivierte Reagenz empfindlicher gegenüber Kontaminationen ist. Daher ist die Verwendung eines PT-Reagenzes, das aufgrund der Abwesenheit von CaCl<sub>2</sub> (2X-Methode) inaktiviert ist, in einigen Fällen vorzuziehen.

#### Rekonstitution nach 1X-Methode:

Fügen Sie raumtemperiertes (15–25 °C) Diluent GHI154 oder Wasser der Güte CLRW nach CLSI oder gleichwertig (Lit. 5) zum Reagenzgefäß hinzu, gemäß der folgenden Tabelle.

	GHI131-4	GHI131-10 GHI131-10SI	GHI131-20
Diluent GHI154 oder Wasser der Güte CLRW nach CLSI oder gleichwertig	2 ml	5 ml	10 ml

10 Minuten inkubieren bei 15–25°C, dabei am Anfang, nach der Hälfte und am Ende mischen. Das Reagenz löst sich zu einer leicht milchigen farblosen Flüssigkeit.

Geben Sie 25 mM raumtemperiertes CaCl<sub>2</sub> (GHI155) in das Reagenzgefäß, gemäß der folgenden Tabelle.

	GHI131-4	GHI131-10 GHI131-10SI	GHI131-20
25 mM CaCl <sub>2</sub> GHI155	2 ml	5 ml	10 ml

Wenn das Reagenz (rekonstituiert nach der 1X-Methode) am selben Tag wie die Rekonstitution verwendet werden soll, warten Sie zwei Stunden nach der Rekonstitution, bevor Sie das Reagenz verwenden.

Wenn das Reagenz für eine mehrtägige Verwendung vorgesehen ist, wird dringend empfohlen, das Reagenz am Tag vor der Verwendung zu rekonstituieren, siehe Abschnitt „Lagerbedingungen und Stabilität“.

Es ist wichtig, das Reagenz vor dem Gebrauch zu mischen. Es ist jedoch kein dauerndes Umrühren nötig, wenn das Reagenz im Instrument aufbewahrt wird.

In seltenen Fällen können geringfügige Ausfällungen im nach 1X rekonstituierten Reagenz auftreten, hauptsächlich wenn das rekonstituierte Reagenz gekühlt gelagert wird oder wenn das Reagenz, das Diluent und CaCl<sub>2</sub> bei der Rekonstitution kälter als 15 °C sind. Die Ausfällung hat keine Auswirkung auf das Ergebnis oder die Leistung. Es wird empfohlen, die Ausfällung vor Gebrauch mit einer sauberen Pipettenspitze zu entfernen.

#### Rekonstitution nach 2X-Methode:

Füllen Sie das Reagenzgefäß mit raumtemperiertem (15–25°C) Diluent oder Wasser der Güte CLRW nach CLSI oder einem gleichwertigen Produkt (Lit. 5) gemäß der folgenden Tabelle.

	GHI131-4	GHI131-10 GHI131-10SI	GHI131-20
Diluent GHI154 oder Wasser der Güte CLRW nach CLSI oder gleichwertig	2 ml	5 ml	10 ml

10 Minuten inkubieren bei 15–25°C, dabei am Anfang, nach der Hälfte und am Ende mischen. Das Reagenz löst sich zu einer leicht milchigen farblosen Flüssigkeit.

Wenn das Reagenz (rekonstituiert nach der 2X-Methode) am selben Tag wie die Rekonstitution verwendet werden soll, warten Sie eine Stunde nach der Rekonstitution, bevor Sie das Reagenz verwenden.

## MRX Owren's PT

### Art.-Nr. GHI131-4, GHI131-10, GHI131-10SI, GHI131-20

Deutsch

Wenn das Reagenz für eine mehrtägige Verwendung vorgesehen ist, wird dringend empfohlen, das Reagenz am Tag vor der Verwendung zu rekonstituieren, siehe Abschnitt „Lagerbedingungen und Stabilität“.

Es ist wichtig, das Reagenz vor dem Gebrauch zu mischen. Es ist jedoch kein dauerndes Umrühren nötig, wenn das Reagenz im Instrument aufbewahrt wird.

#### LAGERUNGSBEDINGUNGEN UND STABILITÄT

Ungeöffnetes Reagenz, das bei 2–8 °C gelagert wird, ist bis zum auf dem Fläschchen angegebenen Verfallsdatum stabil.

Stabilität nach der Rekonstitution

7 Tage bei 2–8°C in der geschlossenen Originalflasche

5 Tage bei 15–25°C in der geschlossenen Originalflasche

Die Lagerung bei Raumtemperatur (15–25°C) wird für Reagenzien empfohlen, die nach der 1X-Methode rekonstituiert wurden.

Wenn das rekonstituierte Reagenz für mehrere Tage verwendet werden soll, wird dringend empfohlen, das Reagenz am Tag vor der Verwendung zu rekonstituieren, um eine Stabilität von 5 Tagen oder 7 Tagen zu gewährleisten. Diese Empfehlung basiert auf den beobachteten Änderungen des International Sensitivity Index (ISI) in den ersten 12–24 Stunden nach der Rekonstitution, gefolgt von einer Stabilisierung des ISI-Wertes über einen Zeitraum von 5 Tagen (Lagerung bei 15–25°C) und 7 Tagen (Lagerung bei 2–8°C) nach der Rekonstitution.

#### PROBENENTNAHME UND -LAGERUNG

Es wird empfohlen, die Probenahme und -lagerung gemäß den CLSI-Anweisungen H21-A5 (Lit. 4) durchzuführen. Neun Teile frisch entnommenes venöses Blut werden einem Teil 0,13 M Tri-Natriumcitrat zugegeben. Ein unverzügliches und gründliches Mischen ist erforderlich. Das Verhältnis ist entscheidend. Unzureichendes Füllvolumen sowie das Vorhandensein eines Gerinnsels in der Probe sind Ausschlussgründe.

Plasma wird durch Zentrifugation des antikoagulierten Blutes für 15 Minuten bei 2500 g innerhalb von 24 Stunden gewonnen. Die Probe vor der Zentrifugation auf Gerinnsel kontrollieren.

#### ANALYSENMETHODE

Eine ausführliche Beschreibung der Testparameter und der Testdurchführung ist den instrumentenspezifischen Verfahren zu entnehmen. Für Plasma, Citrat- und Kapillarblut sind unterschiedliche Verfahren auszuführen.

Vorverdünnungen für Plasma, Citrat- und Kapillarblut

- 100 µl Plasma + 600 µl Owren's Puffer 1:7
- 50 µl Kapillarblut + 200 µl Owren's Puffer 1:5
- 50 µl Citratblut (1+9) + 170 µl Owren's Puffer 1:4,4

Verfahren für Plasma

Analyse mit nach 1X-Methode rekonstituiertem Reagenz

- 100 µl Plasma 1:7 verdünnen und auf 37 °C vorwärmen.
- 200 µl PT-Reagenz 1X auf 37 °C vorwärmen.

Analyse mit nach 2X-Methode rekonstituiertem Reagenz

- 100 µl Plasma 1:7 verdünnen und auf 37 °C vorwärmen.
- 100 µl PT-Reagenz 2X auf 37 °C vorwärmen.
- Plasma und PT-Reagenz mischen.
- 100 µl 25 mM CaCl<sub>2</sub>, vorgewärmt auf 37 °C, zugeben.

Für beide Verfahren gilt: Sofort mischen und bei 37 °C reagieren lassen.

Die Gerinnungszeit ist das Intervall von der letzten Zugabe bis zum Eintritt der Gerinnung. Der PT-INR-Wert wird anhand der Gleichung  $INR = (PT/MNPT)^{ISI}$  berechnet.

Analyseergebnis:

Normalbereich INR: 0,92–1,20 (70–130 %)

Optimale orale Antikoagulationstherapie mit Vitamin-K-Antagonisten:

INR 2–3 (15–25 %) (Lit. 5)

#### KALIBRATION

Das Messsystem entsprechend den lokalen Routineverfahren oder Richtlinien für Prothrombinzeit nach Owren kalibrieren.

#### QUALITÄTSKONTROLLE (nicht im Kit enthalten)

Für eine zuverlässige Qualitätskontrolle der Analyseleistung empfiehlt sich die Verwendung von MediRox Kontroll-Plasma (2-Level-Kontrollen GHI162–GHI170 oder 3-Level-Kontrollen MRX170–MRX183) in guter Laborpraxis entsprechenden Abständen.

#### EINSCHRÄNKUNGEN UND STÖRSUBSTANZEN

Die Prothrombinzeit-Ergebnisse können durch eine unzureichende Blutentnahme (Verhältnis Natriumcitrat/Patientenplasma verschoben) oder durch Störsubstanzen wie Heparin, EDTA und Vitamin K verfälscht werden.

Folgende Substanzen in maximal der angegebenen Konzentration beeinflussen die Prothrombinzeit nicht:

Heparin (UFH)*	0,5 IE/ml
Triglyceride	10 g/l
Bilirubin	0,5 g/l
Hämoglobin	10 g/l

\* Unfraktioniertes Heparin und Verwendung von Diluent-Puffer MRX150/GHI150.

Bei der Verwendung von Puffer mit Polybrene MRX152/GHI152 wird das Reagenz durch unfraktioniertes Heparin bis 1 IE/ml nicht beeinträchtigt.

Es wird empfohlen, dass jedes Labor seinen eigenen therapeutischen Bereich für Heparin festlegt.

Das Reagenz GHI131 ist mit bovinem FV und Fibrinogen angereichert, sodass es unempfindlich ist gegenüber Schwankungen dieser Substanzen in den Patientenproben.

#### TYPISCHE ANALYSELEISTUNG

Analyse durchgeführt auf einem ACL9000 unter Verwendung von Plasma mit zwei INR-Stufen. (n = 81)

	CV% in einer Serie	CV% zwischen den Serien	CV% gesamt
Stufe 1,00	0,7	0,5	0,9
Stufe 2,30	1,5	1,2	1,9

#### LITERATURANGABEN

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.