

## MRX Owren's PT

### Art. No: GHI131-4, GHI131-10, GHI131-10SI, GHI131-20

#### ANVÄNDNINGSMÅL

MRX Owren's PT är avsett för bestämning av Protrombinkomplexaktivitet (Owren's PT-aktivitet) och ger information om den sammanvägda aktiviteten hos de K-vitaminberoende koagulationsfaktorerna II, VII och X.

#### För in vitro diagnostisk användning

#### BAKGRUND OCH METODPRINCIPER

MRX Owren's PT är lämpligt för analys av plasma, citratblod och kapillärblod från patienter som behandlas med vitamin-K-antagonister som warfarin och vid screening för detektion av rubbningar i den s.k yttre vägen (extrinsic pathway) av hemostasen.

Vid analys av PT blandas prov och reagens och koagulationstiden bestäms.

Vid blandningen späds provet så att provets andel av slutvolymen blir 4,8% (1:21).

Jonstyrka (0,15M), pH (7,3), kalciumjonkoncentration (2mM) och temperatur (37°C) är nära det fysiologiska. Tack vare provspädningen är metoden relativt okänslig för variation av FV-aktivitet samt för påverkan av heparin. Heparinkänsligheten kan förstärkas ytterligare genom att använda provspädningsbuffert med polybren (MRX152 eller GHI152).

Owren's PT-aktivitet uttrycks i INR (International Normalized Ratio) vilket är definierat som kvoten mellan provet och en normalplasmas koagulationstid (NKT) upphöjt till reagensets ISI-värde (International Sensitivity Index)<sup>1</sup>

Tidigare uttrycktes PT i procent av normalplasmas aktivitet<sup>2</sup>

$$INR = (\text{Patient PT} / \text{NKT})^{ISI}$$

ISI = Lotspecifikt International Sensitivity Index för reagens/instrumentsystem.

PT-reagensets ISI-värde erhålls genom kalibrering med referenskalibratorer.

ISI och NKT skall bestämmas för varje lot av reagens och på respektive instrument där loten används.

#### PRODUKTBESKRIVNING

MRX Owren's PT är ett frystorkat reagens bestående av tromboplastin från kanin och plasmafraktion från nötkreatur. Plasmafraktionen som är källa till fibrinogen och FV är högradigt bristad på FII, FVII och FX.

Förpackning: Bruksfärdig lösning efter rekonstituering

GHI131-4 10 x 4 mL (flaskstorlek 22 x 40 mm)

GHI131-10 10 x 10 mL (flaskstorlek 22 x 49,5 mm)

GHI131-10SI 10 x 10 mL (flaskstorlek 30 x 50 mm)

GHI131-20 10 x 20 mL (flaskstorlek 27,5 x 60 mm)

Tillhörande produkter som inte är med i förpackningen

- GHI155, GHI155-2, GHI155-5, GHI155-10 25 mM CaCl<sub>2</sub>
- MRX150 PT buffert eller GHI150 Owren's buffert.
- MRX152 PT buffert med polybren eller GHI152 Owren's buffert med polybren
- GHI154, GHI154-2, GHI154-10 diluent eller CLSI CLRW typ vatten eller motsvarande<sup>3</sup>

#### FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

Reagenset innehåller låg halt av natriumazid för att förhindra bakterietillväxt och skall hanteras som farligt avfall och tas om hand enligt gällande föreskrifter.

Undvik kontakt med hud och ögon. Använd lämplig skyddsklädsel.

Håll ej ut i avlopp. För övrig säkerhetsinformation se säkerhetsdatablad.

#### REKONSTITUTION

Det är viktigt att reagens, diluent GHI154 (eller CLSI CLRW typ vatten eller motsvarande) och CaCl<sub>2</sub> rumstempereras (15–25°C) före rekonstituering.

Vid användning av icke rumstempererade reagens och lösningar vid rekonstitution enligt 1X metoden, finns det en liten risk att fällning bildas i reagenset. Se information om fällning under *Rekonstitution 1X metod*.

MRX Owren's PT reagens kan rekonstitueras på två olika sätt, 1X metoden eller 2X metoden

- 1X metod: rekonstituering med diluent GHI154 (alternativt CLSI CLRW typ vatten eller motsvarande). CaCl<sub>2</sub> sätts sedan till det rekonstituerade reagenset.
- 2X metod: rekonstituering med diluent GHI154 (alternativt CLSI CLRW typ vatten eller motsvarande) CaCl<sub>2</sub> sätts till separat vid analys.

1X metoden ger ett enklare handhavande och kan ofta ge en högre genomströmning av prover på flertalet automatiska instrument, men ställer högre krav på analysutrustningen avseende pipettvättning för att undvika kontamination. Därför är i vissa fall 2X metoden ett föredrag eftersom reagenset aktiveras först vid tillsats av CaCl<sub>2</sub> och därmed blir risken för påverkan av reagenset vid eventuell kontamination lägre.

#### Rekonstitution 1X metod:

Till en flaska GHI131 tillsätt (volym enligt tabell nedan) rumstempererad diluent GHI154 alternativt CLSI CLRW typ vatten eller motsvarande<sup>3</sup>

	GHI131-4	GHI131-10 GHI131-10SI	GHI131-20
Diluent GHI154 alt. CLSI CLRW typ vatten eller motsvarande	2 mL	5 mL	10 mL

Inkubera under 10 minuter i 15–25°C med omrörning i början, mitten och slutet av perioden, varvid reagenset löser sig till en svagt opak, färglös vätska.

Tillsätt därefter (volym enligt nedan tabell) rumstempererad 25 mM CaCl<sub>2</sub> (GHI155) till det rekonstituerade reagenset.

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

Reagens upplöst enligt 1X metod som ska användas samma dag som rekonstituering bör stå i minst två timmar efter upplösning innan användning.

För användning av det rekonstituerade reagenset över flera dagar se avsnitt *Förvaring och stabilitet*.

Blanda reagenset innan användning. Kontinuerlig omrörning under användandet är ej nödvändigt.

I sällsynta fall kan det bildas fällning i det X1 rekonstituerade reagenset. Speciellt om det rekonstituerade reagenset förvaras i kylskåp eller vid användandet av icke rumstempererade reagens och lösningar vid rekonstituering. Fällningen påverkar inte analysresultatet eller reagensets prestanda. Dock rekommenderas att fällningen avlägsnas, lämpligen med en ren pipettspets, innan reagenset används.

#### Rekonstitution 2X metod:

Till en flaska GHI131 tillsätt (volym enligt tabell nedan) rumstempererad diluent GHI154 eller CLSI CLRW typ vatten eller motsvarande<sup>3</sup>

	GHI131-4	GHI131-10 GHI131-10SI	GHI131-20
Diluent GHI154 alt. CLSI CLRW typ vatten eller motsvarande	2 mL	5 mL	10 mL

Inkubera under 10 minuter i 15–25°C med omrörning i början, mitten och slutet av perioden, varvid reagenset löser sig till en svagt opak, färglös vätska.

Reagens upplöst enligt 2X metod som ska användas samma dag som rekonstituering bör stå i minst en timme efter rekonstituering innan användning.

För användning av det rekonstituerade reagenset över flera dagar se avsnitt *Förvaring och stabilitet*

Det är viktigt att blanda reagenset innan användning. Kontinuerlig omrörning under användandet är ej nödvändigt.

#### FÖRVARING OCH STABILITET

Öppnade reagens ska förvaras vid 2–8°C och är då hållbara fram till angivet utgångsdatum som står på förpackningen.

Stabilitet efter rekonstituering:

7 dagar vid förvaring i 2–8°C i försluten originalflaska

5 dagar vid förvaring i 15–25°C i försluten originalflaska

Notera att för reagens som rekonstruerats enligt 1X metoden rekommenderas förvaring i rumstemperatur 15–25°C

#### Viktig rekommendation:

Skall det rekonstituerade reagenset användas över flera dagar rekommenderas det att rekonstituera reagenset dagen innan det tas i bruk för att uppnå 5 alternativt 7 dagars stabilitet

Skälet till det är att reagensets känslighet (ISI) förändras något mellan dag för

## MRX Owren's PT

### Art. No: GHI131-4, GHI131-10, GHI131-10SI, GHI131-20

rekonstituering (dag 0) och dag 1 för att sedan vara stabil under 5 dagar om förvaring sker vid 15–25°C och 7 dagar om förvaring sker vid 2–8°C.

#### PROVTAGNING OCH PROVHANTERING

Det rekommenderas att provinsamling och förvaring utförs enligt CLSI guide H21-A5<sup>4</sup> 9 volymsdelar blod samlas i provtagningsrör innehållande en (1) volymsdel 0,13 M trinitratiumcitrat och blandas omedelbart och omsorgsfullt. Prov från ofullständigt fyllda rör eller delvis koagulerat blod ska ej användas.

Plasma erhålles genom att inom 24 timmar centrifugera provet under 15 minuter vid 2500 g.

Kontrollera före centrifugering att provet inte innehåller koagel.

#### ANALYSMETOD

För detaljerade anvisningar om hur testparametrarna fastställs och testet utförs hänvisas till instrumentspecifika applikationsblad. Notera dom olika applikationerna för plasma, citratblod och kapillärblod.

Spädningsförfarande för plasma, citrat och kapillärblod

- Plasma: 100 µl plasma + 600 µl Owren's buffert 1:7
- Kapillärblod: 50 µl kapillärblod + 200 µl Owren's buffert 1:5
- Citrerat helblod: 50 µl citratblod (1:9) + 170 µl Owren's buffert 1:4,4

Analysförfarande plasma

Analysförfarande med 1X metod reagens:

- 100 µl plasma spädd 1:7 förvämt till 37°C
- 200 µl PK-reagens 1X förvämt till 37°C

Analysförfarande med 2X metod reagens:

- 100 µl plasma spädd 1:7 förvämt till 37°C
- 100 µl PK-reagens 2X förvämt till 37°C
- Blanda plasma och reagens
- Tillsätt 100 µl 25 mM CaCl<sub>2</sub> förvämt till 37°C

För båda analysförfarande gäller: blanda omedelbart och låt reagera vid 37°C.

Notera koagulationstiden som är tiden från sista tillsatsen till dess koagulation sker.

Provet PT-aktivitet bestäms genom att jämföra koagulationstiden mot kalibratorer med kända halter PT-aktivitet.

Analysresultat:

Normalområde INR 0,92-1,20 (70-130%)

Optimal oral antikoagulationsbehandling vid trombosprofilax: INR 2-3 (15-25%)<sup>5</sup>

#### KALIBRERING

Följ lokala kalibreringsrekommendationer för Owren's PT.

#### KVALITETSKONTROLL (inte inkluderat i kitet)

För en tillförlitlig kvalitetskontroll av analysen rekommenderas användning av normal kontrollplasma (GHI162, GHI163 eller GHI164) samt onormal kontrollplasma (GHI167B, GHI169 eller GHI170) Kontrollera bör analyseras regelbundet enligt god laboratorepraxis.

#### SPECIFICITET OCH INTERFERENSER

Resultat kan påverkas av provtagningsfel med fel förhållande mellan natriumcitrat och patientplasma eller störande ämnen såsom heparin, EDTA och vitamin K

Reagenset påverkas inte av följande interferenser i koncentration upp till:

Heparin UFH*	0,5 IE/mL
Triglycerides	10 g/L
Bilirubin	0,5 g/L
Hemoglobin	10 g/L

\* Avser ofraktionerat heparin och användandet av spädningsbuffert MRX150/GHI150.

Vid användning av spädningsbuffert MRX152/GHI152 med polybren påverkas inte reagenset av ofraktionerat heparin upp till 1 IE/mL

Det rekommenderas att varje laboratorium åsätter sina egna gränser för heparinterapi.

#### TYPISKA PRESTANDA

Analys utförd på ACL9000 på plasmaprover med två INR-nivåer. (n=81)

	CV% inom serie	CV% mellan serie	CV% Total
Nivå 1,00	0,7	0,5	0,9
Nivå 2,30	1,5	1,2	1,9

#### REFERENSER

1. 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.
2. Besselar A M H P va den. 1991. The significance of the international Normalized Ratio (INR) for oral anticoagulant therapy. *JIFCC* 3; 146-53
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.