

MRX Owren's PT

Art. nr.: GHI131-4, GHI131-10, GHI131-10SI, GHI131-20

Norsk

BRUKSOMRÅDE

MRX Owren's PT protrombinkompleksreagens er beregnet for bestemmelse av protrombinkompleksaktivitet og gir informasjon om aktiviteten til de vitamin K-avhengige koagulasjonsfaktorene II, VII og X.

FOR IN VITRO-DIAGNOSTISK BRUK

BAKGRUNN OG METODENS PRINSIPPER

MRX Owren's PT, protrombinkompleksreagens, er egnet for analyse av citrert blodplasma og kapillærblod fra pasienter behandlet med vitamin K-antagonister som warfarin og for screening for påvisning av forstyrrelser i den ytre aktiveringsveien for hemostase (extrinsic pathway).

Ved analyse av PT blandes prøve og reagens, og koagulasjonstiden bestemmes. Den fortyntede prøven utgjør 4,8 % av det endelige volumet ved blanding med reagens (1:21). Ionestyrke (0,15 M), pH (7,3), kalsiumionkonsentrasjon (2 mM) og temperatur (37 °C) er tilnærmet lik den fysiologiske.

På grunn av prøvefortynning er metoden relativt ufølsom overfor variasjonen av FV-aktivitet og effekt av heparin. Heparinufølsomhet kan bli ytterligere forbedret ved å fortynne buffer med polybren (MRX152 eller GHI152).

PT-aktiviteten ble tidligere uttrykt i prosent av normal plasmaaktivitet (ref.1), men rapporteres oftere som INR på grunn av inkonsekvens i PT%-resultater mellom laboratorier. PT Owrens blir normalt ikke rapportert som sekunder.

Owrens PT-aktivitet uttrykkes i INR (internasjonal normalisert ratio), som er kvotienten mellom koaguleringstiden for prøven og koaguleringstiden for normalt plasma (MNPT) hevet til metodens ISI-verdi (internasjonal sensitivitetsindeks) (ref.2).

- $INR = (PT/MNPT)^{ISI}$
- ISI = lotsesifikk internasjonal sensitivitetsindeks for reagens/instrumentsystem. ISI-verdien for PT-reagenset oppnås ved å kalibrere med referansekalibratoren.

ISI og MNPT bør etableres for hver reagensbatch på hvert enkelt målesystem i henhold til lokal praksis.

PRODUKTBESKRIVELSE

MRX Owrens PT er et lyofilisert reagens som består av tromboplastin fra kanin og plasmafraksjon fra bovint materiale. Den bovine plasmafraksjonen er en kilde til fibrinogen og koagulasjonsfaktor V og mangler i stor grad koagulasjonsfaktorene II, VII og X.

Emballasje:

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

RELATERTE PRODUKTER SOM IKKE ER MED I PAKKEN

- GHI155, GHI155-2, GHI155-5, GHI155-10 25 mM CaCl₂
- MRX150 PT-buffer eller GHI150 Owrens buffer eller MRX152 PT-buffer med polybren eller GHI152 Owrens buffer med polybren
- GHI154, GHI154-2, GHI154-10 diluent eller vann av type CLSI CLRW eller tilsvarende (ref. 3).

FORHOLDSREGLER

Produktet inneholder natriumazid (< 0,1 %) for å hindre bakterievekst. Må ikke helles i avløp. Unngå kontakt med hud og øyne. For ytterligere informasjon se HMS-datablad.

REKONSTITUERING

Det er viktig å la reagens, diluent GHI154 (eller vann av type CLSI CLRW eller tilsvarende) og CaCl₂ nå romtemperatur (15–25°C) for rekonstituering. Det fins en liten risiko for utfelling i reagenser rekonstituert med løsninger kaldere enn 15°C for 1X-metoden. Les mer om utfelling under Rekonstituering med 1X-metoden.

MRX Owrens PT-reagens kan rekonstitueres ved hjelp av to ulike metoder; 1X- og 2X-metoden.

1X-metoden:

Rekonstituering med diluent (eller vann av type CLSI CLRW eller tilsvarende)

CaCl₂ tilsettes deretter i det rekonstituerte reagenset

2X-metoden:

Rekonstituering med diluent (vann av type CLSI CLRW eller tilsvarende)

CaCl₂ tilsettes separat under analyse i instrumentet

1X-metoden er mer praktisk og kan ofte brukes til å oppnå høyere kapasitet på mange automatiske instrumenter, men krever større krav til renheten i systemet, ettersom et CaCl₂-aktivert reagens vil være mer følsomt for kontaminasjon. Bruk av PT-reagens, inaktivert på grunn av fravær av CaCl₂ (2X-metoden), kan være foretrukket i noen tilfeller.

Rekonstituering med 1X-metoden:

Tilsett romtemperert (15–25°C) diluent GHI154 eller vann av type CLSI CLRW eller tilsvarende (ref. 5) i reagensflasken, i henhold til tabellen nedenfor.

	GHI131-4	GHI131-10 GHI131-10SI	GHI131-20
Diluent GHI154 eller vann av type CLSI CLRW eller tilsvarende	2 ml	5 ml	10 ml

Inkuber i 10 minutter i 15–25°C; bland i begynnelsen, i midten og i slutten av perioden. Reagenset vil løse seg opp til en lett blakket, fargelos væske.

Tilsett 25 mM romtemperert CaCl₂ (GHI155) i reagensflasken, i henhold til tabellen nedenfor.

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

Hvis reagenset rekonstituert i henhold til 1X-metoden skal brukes samme dag det rekonstitueres, må det gå to timer fra rekonstitueringen før reagenset tas i bruk.

Hvis reagenset skal brukes i flere dager, anbefales det sterkt å rekonstituere reagenset dagen før bruk, se avsnittet Oppbevaring og stabilitet.

Det er viktig å blande reagenset før bruk, men reagenset trenger ikke kontinuerlig omrøring når det brukes i instrumentet.

I sjeldne tilfeller kan det oppstå små utfellinger i reagens rekonstituert med 1X-metoden, først og fremst hvis det rekonstituerte reagenset oppbevares i kjøleskap, eller hvis reagens, diluent og CaCl₂ er kaldere enn 15 °C ved rekonstituering. Utfellingen har ingen innvirkning på resultat eller ytelse. Det anbefales å fjerne utfelling med en ren pipettespiss for bruk.

Rekonstituering med 2X-metoden:

Tilsett romtemperert (15–25°C) diluent eller vann av type CLSI CLRW eller tilsvarende (ref. 5) i reagensflasken, i henhold til tabellen nedenfor.

	GHI131-4	GHI131-10 GHI131-10SI	GHI131-20
Diluent GHI154 eller vann av type CLSI CLRW eller tilsvarende	2 ml	5 ml	10 ml

Inkuber i 10 minutter i 15–25°C; bland i begynnelsen, i midten og i slutten av perioden. Reagenset vil løse seg opp til en lett blakket, fargelos væske.

Hvis reagenset (rekonstituert i henhold til 2X-metoden) skal brukes samme dag det rekonstitueres, må det gå én time fra rekonstitueringen før reagenset tas i bruk.

Hvis reagenset skal brukes i flere dager, anbefales det sterkt å rekonstituere reagenset dagen før bruk, se avsnittet Oppbevaring og stabilitet.

MRX Owren's PT

Art. nr.: GHI131-4, GHI131-10, GHI131-10SI, GHI131-20

Norsk

Det er viktig å blande reagenset før bruk, men reagenset trenger ikke kontinuerlig omrøring når det brukes i instrumentet.

OPPBEVARING OG STABILITET

Uåpnet reagens som oppbevares ved 2–8 °C, er stabilt til utløpsdatoen på flasken.

Stabilitet etter rekonstituering

7 dager ved 2–8°C, i det lukkede originale flasken

5 dager ved 15–25°C, i det lukkede originale flasken

Oppbevaring ved romtemperatur (15–25 °C) anbefales for reagens rekonstituert i henhold til 1X-metoden.

Hvis det rekonstituerte reagenset skal brukes i flere dager, anbefales det sterkt å rekonstituere reagenset dagen før bruk for å oppnå 5 dagers stabilitet (oppbevaring ved 15–25°C) eller 7 dagers stabilitet (oppbevaring ved 2–8°C). Denne anbefalingen er basert på de observerte endringene for internasjonal sensitivitetsindeks (ISI) i løpet av de første 12–24 timene etter rekonstituering, etterfulgt av en stabilisering av ISI-verdien i 5 (oppbevaring ved 15–25°C) og 7 dager (oppbevaring ved 2–8°C) etter rekonstituering.

PRØVEINNSAMLING OG PRØVETILBEREDELSE

Det anbefales at prøvetaking og oppbevaring utføres i henhold til CLSI-retningslinjene H21-A5 (ref. 4), 9 volumer av blod samles i citratplasmarør inneholdende 1 del av volumet av 0,13 M trinatriumcitrat og blandes øyeblikkelig og grundig. Prover fra ufullstendig fylte rør eller delvis levert blod bør ikke brukes.

For å oppnå plasma sentrifugeres prøven i 15 minutter ved 2500 g innen 24 timer etter prøvetaking. Sjekk for sentrifugering at prøven ikke inneholder levring.

ANALYSEMETODE

For detaljerte instruksjoner om hvordan testens parametere er angitt og testen er utført, refereres det til instrumentets spesifikke applikasjon. Bemerk de forskjellige programmene for plasma, citrat- og kapillærblod.

Fortynningsmetoder for plasma, citrat- og kapillærblod

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

Analyseprosedyre plasma

Analyse med reagens iht. 1X-metode

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

Analyse med reagens iht. 2X-metode

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

For begge metodene gjelder følgende: Bland umiddelbart og la reagere ved 37 °C.

Koagulasjonstiden er tiden fra siste tilsetning til koagulasjon inntreffer. PT-INR beregnes med ligningen $INR = (PT/MNPT)^{ISI}$.

Analysesresultat:

Normalområde INR 0,92–1,20 (70–130 %)

Optimal oral antikoagulasjonsbehandling med vitamin K-antagonister:

INR 2–3 (15–25 %).(ref 5)

KALIBRERING

Kalibrer målesystemet i henhold til lokale rutiner eller retningslinjer for Owrens PT.

KVALITETSKONTROLL (Ikke inkludert i pakken)

For en pålitelig kvalitetskontroll av analysen anbefales bruk av MediRox kontrollplasma (2 nivåkontroll GHI 162-GHI170 eller 3-nivåkontroll MRX170-MRX183) med jevne mellomrom i samsvar med god laboratoriepraksis.

BEGRENSNINGER OG INTERFERERENDE STOFFER

PT-resultatene kan påvirkes av utilstrekkelig blodprovetaking med forskjøvet natriumcitratforhold i pasientens plasma eller ved interfererende stoffer slik som heparin, EDTA og vitamin K.

PT påvirkes ikke av stoffer i konsentrasjoner opp til:

Heparin UFH*	0,5 IU/ml
Triglycerider	10 g/L
Bilirubin	0,5 g/L
Hemoglobin	10 g/L

* Ufraksjonert heparin og bruk av fortyringsbuffer MRX150/GHI150. Ved bruk av buffer med MRX152/GHI152 med polybren påvirkes ikke reagenset av ufraksjonert heparin opp til 1 IU/ml

Det anbefales at hvert laboratorium fastsetter egne grenser for heparinbehandling.

GHI131-reagenset er beriket med bovint FV og fibrinogen som gjør det ufolsomt for variasjoner av disse i pasientprover.

TYPISK YTTELSE

Analysen er utført på ACL 9000 på plasmaprøver med to INR nivåer. (N = 81);

	CV% innen serie	CV% mellom serie	CV% Total
Nivå 1,00	0,7	0,5	0,9
Nivå 2,30	1,5	1,2	1,9

REFERANSER.

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.