

MRX Owren's PT Art.-Nr. GHI131-4, GHI131-10, GHI131-10SI, GHI131-20

Svenska

ANVÄNDNINGSSOMRÅDE

MRX Owren's PT är avsett för bestämning av protrombinkomplexaktivitet och ger information om aktiviteten hos de vitamin K-beroende koagulationsfaktorerna FII, FVII och FX.

För in vitro diagnostisk användning.

BAKGRUND OCH METODPRINCIPER

MRX Owren's PT används för bestämning av protrombinkomplex (PK) aktivitet, (protrombintid, PT) i plasma, citratblod och kapillärblod hos patienter som behandlas med vitamin K-antagonister och för detektion av brist på koagulationsfaktorer i den externa vägen av koagulationskaskaden.

MRX Owren's PT-metoden är beroende av aktiviteten hos de vitamin K-beroende koagulationsfaktorerna, FII, FVII och FX. Hos patienter som behandlas med vitamin K-antagonister hämmas aktiviteten av de vitamin K-beroende koagulationsfaktorerna och resulterar i en förlängd PT. En PT-metod är baserad på aktivering av den externa vägen med FVII och tromboplastin, i närvaro av CaCl₂. Det aktiverade komplexet (FVIIa-vävnadsfaktor) aktiverar FX. FXa, i komplex med FV, aktiverar protrombin (FII) till trombin vilket leder till omvandling av fibrinogen till fibrin, vilket detekteras som en klott.

Vid PT-analys blandas prov och reagens och koagulationstiden bestäms. Den slutliga provspädningen är 1:21. Reagenset är berikat med FV och fibrinogen från bovin plasma (bristad på FII, FVII och FX) vilket gör att PT bestämningen är okänslig för variation i FV och fibrinogen nivåer hos patienterna. På grund av 1:21 spädning av provet är metoden även relativt okänslig mot heparin. Heparinkänsligheten kan förstärkas ytterligare genom att använda provspädningsbuffert med polybren.

De internationella rekommendationerna för rapportering av PT är i International normalized ratio (INR), som relaterar till internationellt känslighetsindex (ISI) för tromboplastiner^{1,2}. INR är kvoten mellan koagulationstiden för ett prov och koagulationstiden för normala plasmaprover (MNPT) upphöjt till metodens ISI-värde.

Ett referensintervall om PT INR ≤1,2 och ett behandlingsintervall för vitamin K-antagonister om PT INR 2-3 är vanligen använt³.

- INR = (patient PT/MNPT)^{ISI}
- ISI = lotspecifikt värde för reagens och mätsystem.
- MNPT = lotspecifikt värde för reagens och mätsystem.

Varje laboratorium behöver bestämma sitt laboratoriespecifika ISI och MNPT på grund av variation i instrument och reagenskombination. ISI- och MNPT-värdena är specifika för varje lot av reagens och varje reagens/instrumentkombination.

PRODUKTBESKRIVNING

MRX Owren's PT: Frystorkat reagens bestående av tromboplastin från kanin, bovin plasma, konserveringsmedel och stabilisatorer.

Tillgänglig i följande förpackningar:

GHI131-4	10 x 4 mL
GHI131-10	10 x 10 mL
GHI131-10SI	10 x 10 mL
GHI131-20	10 x 20 mL

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

Endast för *in vitro* diagnostik. Reagenset innehåller en låg halt av natriumazid (<0.1%) för att förhindra bakterietillväxt. MRX Owren's PT reagens skall enbart användas av utbildad laboratoriepersonal. Använd lämpliga skyddskläder. Undvik kontakt med hud och ögon.

Avfall ska hanteras enligt gällande föreskrifter.

Håll ej ut i avlopp. För detaljerad säkerhetsinformation, se säkerhetsdatablad.

NÖDVÄNDIGT MATERIAL SOM INTE INGÅR I FÖRPACKNINGEN

25 mM CaCl₂ (GHI155)

PT buffert (MRX150) eller PT buffert med polybren (MRX152) eller Owren's Buffer (GHI150) eller Owren's buffert med polybren (GHI152).

Diluent (GHI154) eller CLSI CLRW vatten eller motsvarande⁴.

Revision: 2020-02-26
Ändring: Förvaring och stabilitet: Stabilitet för rekonstituerad 1X-reagens lagrad vid 2-8 °C ändrat från 7 dagar till 5 dagar. Uppdaterad information om användning av reagens under samma dag och under flera dagar. Rekonstitution: Förändrad information angående fällning; Använd inte reagens med fällning. Bakgrund och princip och kalibrering: Allmän uppdatering, information om PT% borttaget. Prestandaegenskaper: precision har ändrats till CS2100-data. Referenser: uppdaterad. Ersätter: 2019-01-14

REKONSTITUTION

MRX Owren's PT reagens kan rekonstitueras enligt två metoder, 1X eller 2X metoden.

Skillnaden mellan 1X och 2X metoden är att för 1X metoden tillsätts CaCl₂ till det rekonstituerade MRX Owren's PT-reagenset och för 2X metoden tillsätts CaCl₂ vid analys. 1X metoden kan ofta ge en högre genomströmning av prover på automatiska instrument, men kräver högre krav på systemets renhet (t.ex. tvätt av nålen) eftersom ett CaCl₂-aktiverat reagens kommer att vara mer känsligt för kontamination. Ett PT-reagens inaktiverat genom frånvaro av CaCl₂ (2X metod) är därav mindre känsligt för kontamination.

Om MRX Owren's PT rekonstitueras enligt 1X metoden kan fällning uppstå om reagenset, vattnet och CaCl₂ som används för rekonstitution är kallare än 15 °C. Använd inte reagenset för analys om fällning uppstår.

För att undvika att fällning uppstår är det viktigt att vattnet och CaCl₂ som används för rekonstitution av reagenset är rumstempererade (15-25 °C).

Rekonstitution av reagens enligt 1X metoden.

Låt reagenset anta rumstemperatur (15-25 °C).

Tillsätt rumstempererad Diluent (GHI154) eller CLSI CLRW vatten eller motsvarande⁴ till reagensflaskan, enligt tabellen nedan.

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

Förvara reagenset i rumstemperatur i 10-15 minuter. Det är viktigt att blanda om reagenset genom försiktig omrörning i början, mitten och slutet av denna period. Reagenset löser sig till en svagt opak, färglös vätska.

Efter dessa 10-15 minuter tillsätts rumstempererad 25 mM CaCl₂ (GHI155) till det rekonstituerade reagenset enligt tabellen nedan.

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

Blanda reagenset genom att vicka eller invertera flaskan flera gånger.

Om reagenset förvaras i instrumentet under flera dagar är det viktigt att blanda reagenset minst dagligen innan användning. Kontinuerlig omrörning är ej nödvändigt.

Se avsnittet förvaring och stabilitet för mer information.

Rekonstitution 2X metoden:

Låt reagenset anta rumstemperatur (15-25 °C).

Tillsätt rumstempererad Diluent (GHI154) eller CLSI CLRW vatten eller motsvarande⁴ till reagensflaskan, enligt tabell nedan.

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

Förvara reagenset i rumstemperatur i 10-15 minuter. Det är viktigt att blanda om reagenset genom försiktig omrörning i början, mitten och slutet av denna period. Reagenset löser sig till en svagt opak, färglös vätska. CaCl₂ tillsätts separat (i instrumentet) vid analys.

Om reagenset förvaras i instrumentet under flera dagar är det viktigt att blanda reagenset minst dagligen innan användning. Kontinuerlig omrörning är ej nödvändigt.

Se avsnittet förvaring och stabilitet för mer information.

MRX Owren's PT Art.-Nr. GHI131-4, GHI131-10, GHI131-10SI, GHI131-20

Svenska

Revision: 2020-02-26
Ändring: Förvaring och stabilitet: Stabilitet för rekonstituerad 1X-reagens lagrad vid 2-8 °C ändrat från 7 dagar till 5 dagar. Uppdaterad information om användning av reagens under samma dag och under flera dagar. Rekonstitution: Förändrad information angående fällning; Använd inte reagens med fällning. Bakgrund och princip och kalibrering: Allmän uppdatering, information om PT% borttaget. Prestandaegenskaper: precision har ändrats till CS2100-data. Referenser: uppdaterad. Ersätter: 2019-01-14

FÖRVARING OCH STABILITET

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

Användning av reagens samma dag som rekonstitution:

1X metoden: Förvara reagenset i rumstemperatur (15-25 °C) i 2 timmar före användning, reagenset är sedan stabilt i 6 timmar vid förvaring vid 2-8 °C och 15-25 °C.
2X metoden: Förvara reagenset i rumstemperatur (15-25 °C) i 1 timme före användning, reagenset är sedan stabilt i 6 timmar vid förvaring vid 2-8 °C och 15-25 °C.

Användning av reagenset över flera dagar:

Om reagenset är avsett att användas över flera dagar ska reagenset lösas 24 timmar före användning.

Lagringstemperatur under dom första 24 timmarna:

1X metoden: 15-25 °C
2X metoden: 15-25 °C för fortsatt förvaring vid 15-25 °C och 2-8 °C för fortsatt förvaring vid 2-8 °C.

Stabilitet efter rekonstitution i försluten originalflaska:

Rekonstitueringsmetod	Förvaringstemperatur	Stabilitet (dagar)
1X	2-8 °C	5
2X	2-8 °C	7
1X	15-25 °C	5
2X	15-25 °C	5

PROVTAGNING OCH PROVHANTERING

Det är rekommenderat att provtagning, hantering och förvaring utförs enligt riktlinjerna i CLSI H21-A5⁵. Prov från ofullständigt fyllda rör eller prov med koagel ska ej användas för analys.

ANALYSMETOD

Se bruksanvisning och instrumentspecifikt MRX Owren's PT-applikationsblad för respektive instrument.

ANALYSMETOD MANUELLA INSTRUMENT

Spädningsförfarande för plasma, citrat och kapillärblod

- 100 µl plasma +
600 µl PT Buffer or Owren's Buffer
- 50 µl capillary blood +
200 µl PT Buffer or Owren's Buffer
- 50 µl citrated blood (1+9) +
170 µl PT Buffer or Owren's Buffer

Analysförfarande plasma

Analysförfarande med reagens rekonstituerat enligt 1X metoden:

- 100 µl plasma spädd 1:7 förvärd till 37 °C
- 200 µl MRX Owren's PT förvärd till 37 °C

Analysförfarande med reagens rekonstituerat enligt 2X metoden:

- 100 µl plasma spädd 1:7 förvärd till 37 °C
- 100 µl MRX Owren's PT förvärd till 37 °C
- Blanda plasma och MRX Owren's PT reagens
- Tillsätt 100 µl 25 mM CaCl₂ förvärd till 37 °C

För båda analysförfarandena gäller: blanda omedelbart och låt reagera vid 37 °C. Koagulationstiden är tiden från den sista tillsatsen (reagens vid 1X metoden och CaCl₂ vid 2X metoden) till dess koagulation sker.

KALIBRERING

Mätssystemet kan kalibreras enligt WHO:s riktlinjer⁶ eller med frystorkade kalibreringsplasma^{7,8}.

KVALITETSKONTROLL

I enlighet med god laboratoriesed är det nödvändigt att analysera kontroller för att säkerställa resultatens noggrannhet och reproducerbarhet. Det är rekommenderat att använda två eller tre nivåer av kontroller från MediRox. Varje laboratorium rekommenderas att inrätta ett internt program för kvalitetskontroll.

- 3-Nivå kontroller MRX170-MRX183 eller
- 2-Nivå kontroller GHI162-GHI170

BEGRÄNSNINGAR OCH INTERFERENSER

MRX Owren's PT-resultat kan påverkas av provtagning med fel förhållande av natriumcitrat i förhållande till patientplasma (underfyllda rör) och av provtagning i EDTA istället för natriumcitrat. PT-resultaten kan också påverkas av heparin och vitamin K-nivåerna i provet.

MRX Owren's PT påverkas inte av följande interfererande substanser i koncentrationer upp till:

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

* Avser ofraktionerat heparin och användandet av PT Buffer (MRX150) eller Owren's buffert (GHI150).

PT-buffert/Owren's buffert med polybren (MRX152/GHI152) ökar okänsligheten för heparin och reagenset påverkas inte av ofraktionerat heparin upp till 1 IE/ml. Varje laboratorium bör bestämma sin egen gräns för heparinkänslighet.

PRESTANDA EGENSKAPER

Precision

Analys av precision utfördes enligt riktlinjerna i CLSI EP05-A3⁹ (20 dagar, 2 analyser per dag, 2 replikat per analys) med normal och abnormal kontrollplasma. Analyserna utfördes på Sysmex CS-2100i med PT buffert MRX150.

	Repetierbarhet (CV%)	Intra-device (CV%)
Normal kontrollplasma	0.7	1.1
Abnormal kontrollplasma	1.2	1.7

REFERENSER

1. Loeigler E.A. ICISH/ICIT Recommendations for reporting prothrombin time in oral anticoagulant control Thromb Haemost, 54 (1985), pp. 155-156
2. WHO Expert Committee on Biological Standardization Forty-eighth report. WHO Technical Report Series, No. 889 World Health Organization, Geneva (1999) pp. 64-93
3. Theodorsson E. and Berggren Söderlund M. (red). Laurells Klinisk Kemi i praktisk medicin. Studentlitteratur 2018. ISBN: 978-91-44-11974-8
4. 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.
5. CLSI Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-based Coagulation Assays 5th Ed. CLSI document H21-A5 Vol. 28 No.5
6. WHO Expert Committee on Biological Standardization. Sixty-second report. WHO Technical Report Series, No. 979 World Health Organization, Geneva (2013) pp. 271-316
7. Lindahl T.L. et al. INR calibration of Owren-type prothrombin time based on the relationship between PT% and INR utilizing normal plasma samples. Thromb Haemost. 2004 91:1223-31.
8. Hillarp A. et al. Local INR calibration of the Owren type prothrombin assay greatly improves the intra- and interlaboratory variation. A three-year follow-up from the Swedish national external quality assessment scheme. Thromb Haemost. 2004 91:300-7.
9. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. EP05 – A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standard Institute; 2014.