

MRX Owren's PT

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

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

MRX Owren's PT ist zur Bestimmung der Prothrombinkomplex-Aktivität vorgesehen und stellt Informationen zur Aktivität der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren FII, FVII und FX bereit.

IN-VITRO-DIAGNOSTIKUM.

HINTERGRUND UND PRINZIP DER METHODE

Das MRX Owren's PT-Reagenz wird zur Bestimmung der Prothrombinkomplex-Aktivität und der Prothrombinzeit (PT) in Plasma, Citratblut und Kapillarblut von Patienten, denen Vitamin-K-Antagonisten verabreicht wurden, sowie zum Nachweis eines Mangels an Gerinnungsfaktoren im extrinsischen Signalweg verwendet. Die MRX Owren's PT-Methode ist abhängig von der Aktivität der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren FII, FVII und FX. Bei Patienten, die mit Vitamin-K-Antagonisten behandelt werden, wird die Aktivität der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren gehemmt und führt zu einer verlängerten PT. Eine PT-Methode basiert auf der Aktivierung des extrinsischen Signalwegs von FVII durch Thromboplastin in Gegenwart von CaCl₂. Der aktivierte Komplex (FVIIa-Gewebefaktor) aktiviert FX. FXa aktiviert, im Komplex mit FV, Prothrombin (FII) zu Thrombin, was zur Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin führt, das als Gerinnsel erkannt wird.

Zur Untersuchung der PT werden Probe und Reagenz gemischt, anschließend wird die Gerinnungszeit gemessen. Die Endverdünnung der Probe ist 1:21. Das Reagenz ist mit FV und Fibrinogen aus bovinem Plasma (mit einem Mangel an FII, FVII und FX) angereichert, wodurch es unempfindlich gegenüber Schwankungen der FV- und Fibrinogenspiegel von Patienten ist. Außerdem ist die Methode aufgrund der Probenverdünnung von 1:21 relativ unempfindlich gegenüber Heparin. Die Unempfindlichkeit gegenüber Heparin kann durch Verwendung eines Probenverdünnungspuffers mit Polybrene erhöht werden.

Der PT-Wert wird auf Grundlage von internationalen Empfehlungen in INR (International Normalized Ratio) angegeben, basierend auf dem ISI-Wert (International Sensitivity Index) von Thromboplastinen^{1,2}. Der INR-Wert ist der Quotient aus der Gerinnungszeit einer Probe und der Gerinnungszeit von Normalplasmaproben (MNPT), in die Potenz des ISI-Werts der Methode gesetzt.

Häufig wird als Referenzintervall für PT INR ≤ 1,2 und als Behandlungsintervall für Vitamin-K-Antagonisten (VKA) für PT INR 2–3 verwendet³.

- $INR = (PT \text{ des Patienten} / MNPT)^{ISI}$
- ISI = chargenspezifischer Wert für das Reagenz- und Messsystem.
- MNPT = chargenspezifischer Wert für das Reagenz- und Messsystem.

Jedes Labor sollte die laborspezifischen MNPT- und ISI-Werte aufgrund der Variation der Instrumente und des Reagenzbaus bestimmen. Die ISI- und MNPT-Werte sind spezifisch für jede Reagenzcharge und jede Kombination aus Reagenz und Instrument.

PRODUKTBESCHREIBUNG

MRX Owren's PT: Gefriergetrocknetes Reagenz, bestehend aus Kaninchen-Thromboplastin, bovinem Plasma, Konservierungsmitteln und Stabilisatoren.

Erhältlich in folgenden Größen:

GHI131-4	10 x 4 ml
GHI131-10	10 x 10 ml
GHI131-10SI	10 x 10 ml
GHI131-20	10 x 20 ml

VORSICHTSMASSNAHMEN

Nur zur Verwendung als *In-vitro*-Diagnostikum. Das Produkt enthält zur Unterbindung von Bakterienwachstum Natriumazid (< 0,1%). Das MRX Owren's PT-Reagenz sollte nur von geschultem Laborpersonal verwendet werden. Geeignete Schutzkleidung tragen. Abfall gemäß den lokalen Vorschriften entsorgen. Nicht in Ausgüsse entleeren. Weitere Informationen sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

ERFORDERLICHES MATERIAL (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)

25 mM CaCl₂ (GHI155).

PT-Puffer (MRX150) oder PT-Puffer mit Polybrene (MRX152) oder Owren's Puffer (GHI150) oder Owren's Puffer mit Polybrene (GHI152).

Diluent (GHI154) oder Wasser der Güte CLRW nach CLSI oder gleichwertig⁴.

REKONSTITUTION

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

Der Unterschied zwischen der 1X- und der 2X-Methode besteht darin, dass bei der 1X Methode CaCl₂ dem rekonstituierten MRX Owren's PT-Reagenz und bei der 2X Methode CaCl₂ während der Analyse separat zugegeben wird. Die 1X-Methode ermöglicht mit automatischen Instrumenten häufig einen höheren Durchsatz, stellt jedoch höhere Anforderungen an die Sauberkeit des Instruments, da das CaCl₂-aktivierte Reagenz empfindlicher gegenüber Kontaminationen ist. Daher ist die Verwendung eines PT-Reagenzes, das aufgrund der Abwesenheit von CaCl₂ (2X-Methode) inaktiviert ist, weniger empfindlich gegenüber Kontaminationen.

Wenn MRX Owren's PT nach der 1X Methode rekonstituiert wird, kann es zu Präzipitationen kommen, wenn das Reagenz, das Wasser und das zur Rekonstitution verwendete CaCl₂ kälter als 15 °C sind.

Das Reagenz darf nicht zur Analyse verwendet werden, wenn es zu Präzipitationen kommt.

Zur Vermeidung von Präzipitationen ist es wichtig, dass das Wasser und das zur Rekonstitution des Reagenzes verwendete CaCl₂ raumtemperiert sind (15–25 °C).

Rekonstitution des Reagenzes nach der 1X-Methode:

Lassen Sie das Reagenz Raumtemperatur (15–25 °C) erreichen.

Füllen Sie das Reagenzgefäß mit raumtemperiertem Diluent (GHI154) oder Wasser der Güte CLRW nach CLSI oder einem gleichwertigen Produkt⁴ gemäß der folgenden Tabelle.

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

Reagenz für 10–15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren. **Es ist wichtig**, das Gefäß am Anfang, nach der Hälfte und am Ende der Zeit durch Schwenken sanft zu mischen. Das Reagenz löst sich zu einer leicht milchigen farblosen Flüssigkeit.

Nach 10–15 Minuten raumtemperiertes 25 mM CaCl₂ (GHI155) gemäß der folgenden Tabelle in das Gefäß mit dem rekonstituierten Reagenz geben.

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

Reagenz durch mehrmaliges Schwenken oder Drehen mischen.

Wenn das Reagenz mehrere Tage im Instrument aufbewahrt wird, ist es wichtig, das Reagenz mindestens einmal täglich vor dem Gebrauch zu mischen. Ein kontinuierliches Umrühren ist nicht erforderlich.

Weitere Informationen finden Sie im Abschnitt Lagerungsbedingungen und Stabilität.

Rekonstitution des Reagenzes nach der 2X-Methode:

Lassen Sie das Reagenz Raumtemperatur (15–25 °C) erreichen.

Füllen Sie das Reagenzgefäß mit raumtemperiertem Diluent (GHI154) oder Wasser der Güte CLRW nach CLSI oder einem gleichwertigen Produkt⁴ gemäß der folgenden Tabelle.

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

Reagenz für 10–15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren. **Es ist wichtig**, das Gefäß am Anfang, nach der Hälfte und am Ende der Zeit durch Schwenken sanft zu mischen. Das Reagenz löst sich zu einer leicht milchigen farblosen Flüssigkeit. CaCl₂ wird während der Analyse separat (durch das Instrument) hinzugefügt.

Wenn das Reagenz mehrere Tage im Instrument aufbewahrt wird, ist es wichtig, das Reagenz mindestens einmal täglich vor dem Gebrauch zu mischen. Ein kontinuierliches Umrühren ist nicht erforderlich.

Weitere Informationen finden Sie im Abschnitt Lagerungsbedingungen und Stabilität.

MRX Owren's PT

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

Deutsch

LAGERUNGSBEDINGUNGEN UND STABILITÄT

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

Verwendung des Reagenzes am selben Tag wie die Rekonstitution:
 1X Methode: Halten Sie das rekonstituierte Reagenz vor der Verwendung 2 Stunden lang bei Raumtemperatur (15–25 °C). Das Reagenz ist dann 6 Stunden lang bei 2–8 °C und 15–25 °C stabil.

2X Methode: Halten Sie das rekonstituierte Reagenz vor der Verwendung 1 Stunde lang bei Raumtemperatur (15–25 °C). Das Reagenz ist dann 6 Stunden lang bei 2–8 °C und 15–25 °C stabil.

Verwendung des Reagenzes für mehrere Tage:

Wenn das Reagenz mehrere Tage verwendet soll, rekonstituieren Sie das Reagens 24 Stunden von der Verwendung.

Lagertemperatur während der ersten 24 Stunden:

1X Methode: 15–25 °C

2X Methode: 15–25 °C zur weiteren Lagerung bei 15–25 °C und 2–8 °C zur weiteren Lagerung bei 2–8 °C.

Stabilität nach der Rekonstitution, im verschlossenen Originalfläschchen

Methode der Rekonstitution	Lagertemperatur	Stabilität (Tage)
1X	2–8 °C	5
2X	2–8 °C	7
1X	15–25 °C	5
2X	15–25 °C	5

PROBENENTNAHME UND LAGERUNG

Es wird empfohlen, die Probenentnahme, -verarbeitung und -lagerung gemäß CLSI-Richtlinie H21-A5 Vol. 28 Nr. 5⁵ durchzuführen. Unzureichendes Füllvolumen sowie das Vorhandensein eines Gerinnsels in der Probe sind Gründe, die Probe zu verwerfen.

ANALYSENMETHODE

Für jedes Instrument wird auf die Bedienungsanleitung und auf das instrumentenspezifische MRX Owren's PT-Anwendungsblatt verwiesen.

ANALYSENMETHODE MANUELLE INSTRUMENTE

Vorverdünnungen für Plasma, Citrat- und Kapillarblut

- 100 µl Plasma + 600 µl PT-Puffer oder Owren's Puffer
- 50 µl Kapillarblut + 200 µl PT-Puffer oder Owren's Puffer
- 50 µl Citratblut (1+9) + 170 µl PT-Puffer oder Owren's Puffer

Verfahren für Plasmaproben

Analyse mit nach 1X Methode rekonstituiertem Reagenz

- 100 µl Plasma 1:7 verdünnen und auf 37 °C vorwärmen.
- 200 µl MRX Owren's PT auf 37 °C vorwärmen.

Analyse mit nach 2X Methode rekonstituiertem Reagenz

- 100 µl Plasma 1:7 verdünnen und auf 37 °C vorwärmen.
- 100 µl MRX Owren's PT-Reagenz auf 37 °C vorwärmen.
- Plasma und MRX Owren's PT-Reagenz mischen.
- 100 µl 25 mM CaCl₂ vorgewärmt auf 37 °C, zugeben.

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

Die Gerinnungszeit ist die Zeitspanne von der letzten Zugabe (von Reagenz für die 1X-Methode und von CaCl₂ für die 2X-Methode) bis zur Bildung eines Gerinnsels.

KALIBRATION

Das Messsystem kann gemäß den WHO-Richtlinien⁶ oder unter Verwendung von gefriergetrocknetem Kalibrierplasma^{7,8} kalibriert werden.

QUALITÄTSKONTROLLE

In Übereinstimmung mit einer guten Laborpraxis ist es erforderlich, Kontrollen durchzuführen, um die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten. Es wird empfohlen, 2- oder 3-Level-Kontrollen von MediRox zu verwenden. Jedem Labor wird empfohlen, ein internes Qualitätskontrollprogramm einzurichten.

- 3-Level-Kontrollen MRX170–MRX183 oder
- 2-Level-Kontrollen GHI162–GHI170

EINSCHRÄNKUNGEN UND STÖRSUBSTANZEN

Die MRX Owren's PT-Ergebnisse können durch eine unzureichende Blutentnahme (Verhältnis Natriumcitrat/Patientenplasma verschoben) oder durch Blutproben, die in EDTA anstelle von Natriumcitrat gelagert sind, beeinträchtigt werden. Die PT-Ergebnisse können auch durch Heparin und den Vitamin-K-Spiegel beeinflusst werden.

Folgende Substanzen in maximal der angegebenen Konzentration beeinflussen MRX Owren's PT nicht:

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

*Unfraktioniertes Heparin unter Verwendung von PT-Puffer (MRX150) / Owren's Puffer (GHI150).

PT-Puffer / Owren's Puffer mit zusätzlichem Polybrene (MRX152/GHI152) erhöhen die Unempfindlichkeit gegenüber Heparin und das Reagenz wird durch unfraktioniertes Heparin bis zu 1 IE/ml nicht beeinträchtigt. Es wird jedem Labor empfohlen, seine eigene Empfindlichkeit gegenüber Heparinen zu bestimmen.

TYPISCHE ANALYSELEISTUNG

Genauigkeit

Die Analyse der Genauigkeit wurde gemäß der CLSI-Richtlinie EP05-A3⁹ (20 Tage, 2 Durchläufe pro Tag, 2 Wiederholungen pro Durchlauf) unter Verwendung von normalem Kontrollplasma und anormalem Kontrollplasma durchgeführt. Die Analyse wurde auf dem Instrument Sysmex CS-2100i unter Verwendung von PT Puffer MRX150 durchgeführt.

	Reproduzierbarkeit (CV%)	Zwischen den Instrumenten (CV%)
Normales Kontrollplasma	0.7	1.1
Anormales Kontrollplasma	1.2	1.7

LITERATURANGABEN

1. Loeliger E.A. ICSH/ICTH 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.