

## MRX Owren's PT

### Delnr.: GHI131-4, GHI131-10, GHI131-10SI, GHI131-20

Dansk

#### TILSIGTET ANVENDELSE

MRX Owren's PT er beregnet til bestemmelse af protrombinkompleksaktivitet og giver information om aktiviteten af K-vitaminafhængige koagulationsfaktorer FII, FVII og FX.

#### KUN TIL IN VITRO-DIAGNOSTICERING.

#### BAGGRUND OG METODEPRINCIP

MRX Owren's PT-reagens anvendes til bestemmelse af protrombinkompleksaktivitet, protrombintid (PT), i plasma, citratblod og kapillærblod fra patienter, der behandles med vitamin-K-antagonister, og til påvisning af mangel på koagulationsfaktorer i den eksterne del. MRX Owren's PT-metode er afhængig af aktiviteten af vitamin K-afhængige koagulationsfaktorer, FII, FVII og FX. Hos patienter, der behandles med vitamin K-antagonister, vil aktiviteten af de vitamin K-afhængige koagulationsfaktorer hæmme og resultere i en forlænget PT. En PT metode er baseret på aktivering af den eksterne vej af FVII af tromboplastin, ved tilstedeværelse af CaCl<sub>2</sub>. Det aktiverede kompleks (FVIIa-vævsfaktor) aktiverer FX. FXa, i kompleks med FV, aktiverer protrombin (FII) til trombin, hvilket fører til omdannelse af fibrinogen til fibrin, detekteret som en klot.

Ved analysering af PT blandes prøve og reagens og koagulationstiden bestemmes. Den endelige fortynding af prøven er 1:21. Reagenset er beriget med FV og fibrinogen fra bovine plasma (mangel på FII, FVII og FX), hvilket gør det ufølsomt over for variationer i patienternes FV- og fibrinogenniveauer. På grund af prøvefortyndingen på 1:21 er metoden desuden relativt ufølsom over for heparin. Denne ufølsomhed for heparin kan forstærkes yderligere ved at bruge en fortyndingsbuffer med polybren.

De internationale anbefalinger til rapportering af PT er i international normaliseret ratio (INR) og refererer til det internationale følsomhedsindeks (ISI) for tromboplastiner<sup>1,2</sup>. INR er kvotienten mellem koagulationstiden for en prøve og koagulationstiden for normale plasmaprøver (MNPT), hævet til metodens ISI-værdi.

Et referenceinterval på PT INR ≤ 1,2 og et behandlingsinterval for vitamin K-antagonister (VKA) på PT INR 2-3 er almindeligt anvendt<sup>3</sup>.

- INR = (patient PT/MNPT)<sup>ISI</sup>
- ISI = Et lottspecifikt værdi for reagens- og målesystemet.
- MNPT = Et lottspecifikt værdi for reagens- og målesystemet.

Hvert laboratorium bør fastsætte laboratoriets specifikke MNPT og ISI som følge af variationer i instrumenter og reagensopsætning. ISI- og MNPT-værdierne er specifikke for hvert parti reagens og hver kombination af reagens/instrument.

#### PRODUKTBESKRIVELSE

MRX Owren's PT: Lyofiliseret reagens bestående af tromboplastin fra kanin, bovine plasma, konserveringsmiddel og stabilisatorer.

Fås i følgende pakker:

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

#### FORHOLDSREGLER

Kun til *in vitro*-diagnostisering. Produktet indeholder natriumazid (< 0,1%) for at forhindre bakterievækst. MRX Owren's PT-reagens bør kun håndteres af uddannede laboratoriepersonale. Bær egnet beklædning til beskyttelse. Affald skal bortskaffes i henhold til lokale regler. Må ikke hældes i afløb. For yderligere information henvises til sikkerhedsdatabladet.

#### MATERIALE, DER ER ANMODET OM, MEN SOM IKKE MEDFØLGER

25 mM CaCl<sub>2</sub> (GHI155).

PT-buffer (MRX150) eller PT-buffer med polybren (MRX152) eller Owren's buffer (GHI150) eller Owren's buffer med polybren (GHI152).

Diluent (GHI154) eller CLSI CLRW-type vand eller tilsvarende<sup>4</sup>.

#### REKONSTITUTION

MRX Owren's PT-reagens kan rekonstitueres efter to metoder, 1X eller 2X metoden.

Forskellen mellem 1X og 2X metoden er, at for 1X metoden tilføjes der CaCl<sub>2</sub> i det rekonstituerede MRX Owren's PT-reagens, og for 2X metoden tilsættes CaCl<sub>2</sub> separat under analysen. 1X metoden kan ofte opnå større gennemløb på mange automatiske instrumenter, men der stilles større krav til systemet renhed, da et CaCl<sub>2</sub>-aktiveret reagens er mere følsomt over for kontaminering. Derfor er et PT-reagens, der er inaktiveret på grund af fraværet af CaCl<sub>2</sub> (2X metoden), mindre følsomt over for kontaminering.

Hvis MRX Owren's PT er rekonstitueret efter 1X metoden, kan der forekomme bundfald, hvis reagens, vand og CaCl<sub>2</sub>, som anvendes til rekonstitution, er koldere end 15 °C.

Reagenset må ikke anvendes til analyse, hvis der forekommer bundfald.

For at undgå bundfald er det vigtigt, at vandet og CaCl<sub>2</sub>, der anvendes til reagensrekonstitution, har stuetemperatur (15-25 °C).

#### Rekonstitution af reagens i henhold til 1X metoden:

Lad reagenset opnå stuetemperatur (15-25 °C).

Tilsæt Diluent (GHI154) eller CLSI CLRW-vand eller tilsvarende<sup>4</sup> i hætteglasset med reagens, i henhold til tabellen nedenfor.

	GHI131-4	GHI131-10 GHI131-10SI	GHI131-20
GHI154 Diluent eller CLSI CLRW-vand eller tilsvarende	2 ml	5 ml	10 ml

Hold reagenset i 10-15 minutter ved stuetemperatur, det er vigtigt at blande forsigtigt med hvirlvende bevægelser i begyndelsen, i midten og i slutningen af perioden. Reagenset opløses til en lettere uigennemsigtig, farveløs væske.

Efter 10-15 minutter tilsæt 25 mM CaCl<sub>2</sub> (GHI155), som har stuetemperatur, i hætteglasset med rekonstitueret reagens, i henhold til tabellen nedenfor.

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

Bland reagenset med hvirlvende bevægelser eller ved at invertere flere gange.

Hvis reagenset opbevares i instrumentet i flere dage, er det vigtigt at blande reagenset mindst én gang dagligt for brug. Kontinuerlig omrøring er ikke nødvendig.

Se afsnittet om opbevaringsbetingelser og stabilitet for yderligere information.

#### Rekonstitution af reagens i henhold til 2X metoden:

Lad reagenset opnå stuetemperatur (15-25 °C).

Tilsæt Diluent (GHI154) eller CLSI CLRW-vand eller tilsvarende<sup>4</sup> i hætteglasset med reagens, i henhold til tabellen nedenfor.

	GHI131-4	GHI131-10 GHI131-10SI	GHI131-20
GHI154 Diluent eller CLSI CLRW-vand eller tilsvarende	2 ml	5 ml	10 ml

Hold reagenset i 10-15 minutter ved stuetemperatur, det er vigtigt at blande forsigtigt med hvirlvende bevægelser i begyndelsen, i midten og i slutningen af perioden. Reagenset opløses til en lettere uigennemsigtig, farveløs væske. CaCl<sub>2</sub> tilsættes separat (af instrumentet) under analyse.

Hvis reagenset opbevares i instrumentet i flere dage, er det vigtigt at blande reagenset mindst én gang dagligt for brug. Kontinuerlig omrøring er ikke nødvendig.

Se afsnittet om opbevaringsbetingelser og stabilitet for yderligere information.

## MRX Owren's PT

### Delnr.: GHI131-4, GHI131-10, GHI131-10SI, GHI131-20

Dansk

#### OPBEVARING OG STABILITET

Det uåbnede reagens, der opbevares ved 2-8 °C, er stabilt indtil udløbsdatoen, der er angivet på hætteglasset.

Anvendelse af reagens samme dag som rekonstitution:

1X metode: Opbevar det rekonstituerede reagens ved stuetemperatur (15-25 °C) i 2 timer før brug, reagenset er derefter stabilt i 6 timer ved 2-8 °C og 15-25 °C.

2X metode: Opbevar det rekonstituerede reagens ved stuetemperatur (15-25 °C) i 1 time før brug, reagenset er derefter stabilt i 6 timer ved 2-8 °C og 15-25 °C.

Anvendelse af reagens i flere dage:

Hvis reagenset er beregnet til at blive brugt i flere dage, rekonstitueres reagenset 24 timer før brug.

Opbevaringstemperatur i løbet af de første 24 timer:

1X metode: 15-25 °C

2X metode: 15-25 °C til fortsat opbevaring ved 15-25 °C og 2-8 °C til fortsat opbevaring ved 2-8 °C.

Stabilitet efter rekonstitution, i lukket original hætteglas

Rekonstitutionsmetode	Opbevaringstemperatur	Stabilitet (dage)
1X	2-8 °C	5
2X	2-8 °C	7
1X	15-25 °C	5
2X	15-25 °C	5

#### PRØVETAGNING OG PRØVEFORBEREDELSE

Det anbefales, at indsamling, håndtering og opbevaring af prøver udføres i overensstemmelse med CLSI-retningslinjerne H21-A5 Vol. 28 No.5<sup>5</sup>. Utilstrækkelig påfyldning og tilstedeværelse af en størknet masse i en prøve er årsag til afvisning.

#### ANALYSEMETODE

For hvert instrument henvises der til betjeningsvejledningen og til det instrument-specifikke MRX Owren's PT-applikationsark.

#### PROCEDURE MANUELLE INSTRUMENTER

Fortynding af plasma, citrat- og kapillærblod

- 100 µl plasma +  
600 µl PT buffer eller Owren's buffer
- 50 µl kapillærblod +  
200 µl PT buffer eller Owren's buffer
- 50 µl citratblod (1+9) +  
170 µl PT buffer eller Owren's buffer

Procedure plasmaprøver

Analyse med reagens rekonstitueret med 1X-metoden

- 100 µl plasma fortyndet 1:7, forvarmet til 37 °C
- 200 µl MRX Owren's PT, forvarmet til 37 °C

Analyse med reagens rekonstitueret med 2X-metoden

- 100 µl plasma fortyndet 1:7, forvarmet til 37 °C
- 100 µl MRX Owren's PT-reagens, forvarmet til 37 °C
- Bland plasma og MRX Owren's PT-reagens
- Tilsæt 100 µl 25 mM CaCl<sub>2</sub> forvarmet til 37 °C

For begge metoder gælder følgende: Bland med det samme, og lad reagere ved 37 °C. Koagulationstiden er tidsperioden fra den sidste tilsætning (af reagens til 1X-metoden og CaCl<sub>2</sub> til 2X-metoden) indtil koagulering.

#### KALIBRERING

Målesystemet kan kalibreres i henhold til retningslinjerne fra WHO<sup>6</sup> eller ved hjælp af lyofiliserede kalibrantplasmaer<sup>7,8</sup>.

#### KVALITETSKONTROL

I overensstemmelse med god laboratoriepraksis er det nødvendigt at køre kontroller for at sikre nøjagtighed og reproducerbarhed af resultaterne. Det anbefales at bruge kontroller med to eller tre niveauer fra MediRox. Hvert laboratorium anbefales at oprette et internt kvalitetskontrolprogram.

- Kontroller med 3 niveauer MRX170-MRX183 eller
- Kontroller med 2 niveauer GHI162-GHI170

#### BEGRÆNSNINGER OG INTERFERERENDE STOFFER

MRX Owren's PT-resultater kan påvirkes af utilstrækkelig blodprøvetagning med et ændret forhold mellem natriumcitrat og patientplasma og blodprøvetagning i EDTA i stedet for natriumcitrat. PT-resultaterne kan også blive påvirket af niveauerne af heparin og K-vitamin.

MRX Owren's PT påvirkes ikke af stoffer i koncentrationer op til:

Heparin UFH*	0,5 IE/ml
Triglycerid	10 g/l
Bilirubin	0,5 g/l
Hæmoglobin	10 g/l

\*Ikke-fraktioneret heparin ved hjælp af PT-buffer (MRX150)/Owren's buffer (GHI150).

PT-buffer/Owren's buffer med yderligere polybren (MRX152/GHI152) øger ufolsomhed over for heparin, og reagenset påvirkes ikke af ikke-fraktioneret heparin op til 1 IU/ml. Hvert laboratorium anbefales at fastlægge folsomheden over for hepariner.

#### NORMAL PERFORMANCE

Præcision

Præcisionsanalysen blev udført i henhold til CLSI-retningslinjerne EP05-A3<sup>9</sup> (20 dage, 2 korsler pr. dag, 2 replikater pr. korsel) ved hjælp af normalt kontrolplasma og unormalt kontrolplasma. Analysen blev udført på Sysmex CS-2100i med PT buffer MRX150.

	Repeterbarhed (CV%)	Intra-enhed (CV%)
Normalt kontrolplasma	0.7	1.1
Unormalt kontrolplasma	1.2	1.7

#### REFERENCER

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 Benggren 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.I. 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.