

MRX Owren's PT

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

Norsk

BRUKSOMRÅDE

MRX Owren's PT er beregnet for bestemmelse av protrombinkompleksaktivitet og gir informasjon om aktiviteten til de vitamin K-avhengige koagulasjonsfaktorene FII, FVII og FX.

FOR IN VITRO-DIAGNOSTISK BRUK.

BAKGRUNN OG METODENS PRINSIPPER

MRX Owren's PT-reagens brukes til bestemmelse av protrombinkompleksaktivitet, protrombintid (PT), i plasma, citrert blod og kapillærblod fra pasienter behandlet med vitamin K-antagonister og for påvisning av forstyrrelser i koagulasjonsfaktorer i den ytre aktiveringsveien for hemostase (extrinsic pathway). MRX Owren's PT-metoden er avhengig av aktiviteten til de vitamin K-avhengige koagulasjonsfaktorene FII, FVII og FX. Hos pasienter behandlet med vitamin K-antagonister vil aktiviteten til de K-avhengige koagulasjonsfaktorene bli hemmet og resultere i forlenget PT. En PT-metode er basert på aktivering av den ytre aktiveringsveien for hemostase for FVII ved tromboplastin i nærvær av CaCl₂. Det aktiverede komplekset (FVIIa-vevsfaktor) aktiverer FX. FXa, i kompleks med FV, aktiverer protrombin (FII) til trombin, noe som fører til at fibrinogen omdannes til fibrin, som påvises som et koagel.

Ved analyse av PT blandes prøve og reagens, og koagulasjonstiden måles. Den endelige prøvfortynningen er 1:21. Reagens tilsettes FV og fibrinogen fra bovint plasma (uten FII, FVII og FX), slik at det ikke er folsomt overfor variasjoner i pasientens FV- og fibrinogennivåer. På grunn av 1:21 prøvfortynning er metoden også relativt ufølsom overfor heparin. Heparinufølsomhet kan bli ytterligere forbedret ved å bruke en prøvfortynningsbuffer med polybren.

De internasjonale anbefalingene for rapportering av PT er i internasjonal normalisert ratio (INR) og refererer til den internasjonale følsomhetsindeksen (ISI) for tromboplastiner^{1,2}. INR er kvotienten mellom koagulasjonstiden for en prøve og koagulasjonstiden for normale plasmaprøver (MNPT) hevet til metodens ISI-verdi.

Et referanseintervall for PT INR ≤ 1,2 og et behandlingsintervall for vitamin K-antagonister (VKA) for PT INR 2-3 blir ofte brukt³.

- INR = (pasientens PT/MNPT)^{ISI}
- ISI = batch-spesifikk verdi for reagens og målesystem.
- MNPT = batch-spesifikk verdi for reagens og målesystem.

Hvert laboratorium bør bestemme laboratoriespesifikk MNPT og ISI på grunn av variasjon i instrumenter og reagensoppsett. ISI- og MNPT-verdiene er spesifikke for hver reagensbatch og hver reagens/instrument-kombinasjon.

PRODUKTBEKRIVELSE

MRX Owren's PT: Lyofilisert reagens som består av tromboplastin fra kanin, bovint plasma, konserveringsmidler og stabilisatorer.

Tilgjengelig 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*-diagnostisk bruk. Produktet inneholder natriumazid (< 0,1 %) for å hindre bakterievekst. MRX Owren's PT-reagens skal kun håndteres av opplært laboratoriepersonell. Bruk egnede verneklær. Unngå øye- og hudkontakt. Avfall kastes i henhold til lokale forskrifter. Må ikke helles i avløp. Detaljert informasjon finner du i sikkerhetsdatabladet.

NØDVENDIG MATERIALE SOM IKKE FØLGER MED

25 mM CaCl₂ (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 vann av type CLSI CLRW eller tilsvarende⁴.

REKONSTITUERING

MRX Owren's PT-reagens kan rekonstitueres på to måter, 1X metoden og 2X metoden.

Forskjellen mellom 1X- og 2X-metoden er at for 1X metoden tilsettes CaCl₂ i det rekonstituerte MRX Owren's PT-reagenset, og for 2X metoden tilsettes CaCl₂ separat ved analyse. 1X metoden kan ofte brukes til å oppnå høyere kapasitet på automatiske instrumenter, men setter større krav til renheten i systemet, ettersom et CaCl₂-aktivert reagens vil være mer følsomt for kontaminasjon. Et PT-reagens, inaktivert på grunn av fravær av CaCl₂ (2X metoden), er mindre følsomt for kontaminasjon.

Hvis MRX Owren's PT er rekonstituert i henhold til 1X metoden, kan det forekomme utfelling hvis reagens, vann og CaCl₂ som brukes for rekonstituering, er kaldere enn 15 °C.

Ikke bruk reagenset for analyse hvis det forekommer utfelling.

For å unngå utfelling er det viktig at vannet og CaCl₂ som brukes til reagensrekonstituering, er romtemperert (15-25 °C).

Rekonstituering av reagens i henhold til 1X metoden:

La reagenset nå romtemperatur (15-25 °C).

Tilsett romtemperert Diluent (GHI154) eller vann av type CLSI CLRW eller tilsvarende⁴ i reagensflasken, i henhold til tabellen nedenfor.

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

Oppbevar reagenset i 10-15 minutter ved romtemperatur. Det er viktig å blande forsiktig ved å virvle reagenset i begynnelsen av, halvveis i og i slutten av perioden. Reagenset vil løse seg opp til en lett blakket, fargeløs væske.

Etter 10-15 minutter tilsett romtemperert 25 mM CaCl₂ (GHI155) i flasken med rekonstituert reagens, i henhold til tabellen nedenfor.

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

Bland reagenset ved å virvle eller vende flere ganger.

Hvis reagenset oppbevares i instrumentet over en periode på flere dager, er det viktig å blande reagenset minst én gang per dag for bruk. Kontinuerlig omrøring er ikke nødvendig.

Se avsnittet Oppbevaring og stabilitet for mer informasjon.

Rekonstituering av reagens i henhold til 2X metoden:

La reagenset nå romtemperatur (15-25 °C).

Tilsett romtemperert Diluent (GHI154) eller vann av type CLSI CLRW eller tilsvarende⁴ i reagensflasken, i henhold til tabellen nedenfor.

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

Oppbevar reagenset i 10-15 minutter ved romtemperatur. Det er viktig å blande forsiktig ved å virvle i begynnelsen av, halvveis i og i slutten av perioden. Reagenset vil løse seg opp til en lett blakket, fargeløs væske. CaCl₂ tilsettes separat (av instrumentet) ved analyse.

Hvis reagenset oppbevares i instrumentet over en periode på flere dager, er det viktig å blande reagenset minst én gang per dag for bruk. Kontinuerlig omrøring er ikke nødvendig.

Se avsnittet Oppbevaring og stabilitet for mer informasjon.

MRX Owren's PT

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

Norsk

OPPBEVARING OG STABILITET

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

Bruk av reagenset samme dag som rekonstituering:

1X metoden: Oppbevare det rekonstituerte reagenset ved romtemperatur (15-25 °C) i 2 timer før bruk, reagenset er deretter stabilt i 6 timer ved 2-8 °C og 15-25 °C.

2X metoden: Oppbevare det rekonstituerte reagenset ved romtemperatur (15-25 °C) i 2 timer før bruk, reagenset er deretter stabilt i 6 timer ved 2-8 °C og 15-25 °C.

Bruk av reagens i flere dager:

Hvis reagenset skal brukes over en periode på flere dager, rekonstituer reagenset 24 timer før bruk.

Oppbevaringstemperatur i løpet av de første 24 timene:

1X metoden: 15-25 °C

2X metoden: 15-25 °C for fortsatt lagring ved 15-25 °C, og 2-8 °C for fortsatt lagring ved 2-8 °C.

Stabilitet etter rekonstituering, i lukket originalflaske

Rekonstrueringsmetode	Oppbevaringstemperatur	Stabilitet (dager)
1X	2-8 °C	5
2X	2-8 °C	7
1X	15-25 °C	5
2X	15-25 °C	5

PRØVEINNSAMLING OG PRØVETILBEREDELSE

 Det anbefales at prøveinnsamling, håndtering og oppbevaring utføres i henhold til CLSI-retningslinjen H21-A5 vol. 28 nr. 5⁵. Prover fra ufullstendig fylte rør eller med koagel skal ikke brukes.

ANALYSEMETODE

Se bruksanvisningen og det instrumentspesifikke MRX Owren's PT-applikasjonsarket for hvert instrument.

ANALYSEMETODE MANUELLE INSTRUMENTER

Fortynningsmetoder for 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 citrert blod (1+9) +
170 µl PT-buffer eller Owren's buffer

Analyseprosedyre for plasmaprøver

Analyse med reagens rekonstituert i henhold til 1X-metoden

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

Analyse med reagens rekonstituert i henhold til 2X-metoden

- 100 µl plasma fortynt 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
- Tilsett 100 µl 25 mM CaCl₂ forvarmet til 37 °C

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

 Koagulasjonstiden er tiden fra siste tilsetning (av reagens for 1X-metoden og CaCl₂ for 2X-metoden) til koagulasjon inntreffer.

KALIBRERING

 Målesystemet kan kalibreres i henhold til WHO's retningslinjer⁶ eller ved å bruke lyofiliserte kalibreringsplasma^{7,8}.

KVALITETSKONTROLL

I henhold til god laboratoriepraksis er det nødvendig å kjøre kontroller for å sikre nøyaktige og reproducerbare resultater. Det anbefales å bruke kontroller fra MediRox på to eller tre nivåer. Hvert laboratorium anbefales å sette opp et internt kvalitetskontrollprogram.

- Kontroller på 3 nivåer MRX170-MRX183 eller
Kontroller på 2 nivåer GHI162-GHI170

BEGRENSNINGER OG INTERFERERENDE STOFFER

MRX Owren's PT-resultatene kan påvirkes av utilstrekkelig blodprøvetaking med et forskjøvet forhold av natriumcitrat til pasientplasma og blodprøvetaking i EDTA i stedet for natriumcitrat. PT-resultatene kan også bli påvirket av heparin- og vitamin K-nivåene.

MRX Owren's PT påvirkes ikke av stoffer i konsentrasjoner opptil:

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

*Ufraksjonert heparin ved bruk av PT-buffer (MRX150) / Owren's buffer (GHI150).

PT-buffer / Owren's buffer med polybren (MRX152/GHI152) øker ufølsomheten for heparin, og reagenset påvirkes ikke av ufraksjonert heparin opptil 1 IU/ml. Det anbefales at hvert laboratorium fastsetter egne grenser for heparinfølsomhet.

TYPISK YTELSE

Presisjon

 Presisjonsanalysen ble utført i henhold til CLSI-retningslinje EP05-A3⁹ (20 dager, 2 kjøring per dag, 2 replikater per kjøring) ved bruk av normalt kontrollplasma og unormalt kontrollplasma. Analysen ble utført på Sysmex CS-2100i med PT Buffer MRX150

	Repeterbarhet (CV%)	Innenfor enhet (CV%)
Normalt kontrollplasma	0.7	1.1
Unormalt kontrollplasma	1.2	1.7

REFERANSER

1. Loeliger E.A. ICSH/ICHT 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.J. 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.