



Thromboplastin-DS

I. POUŽITÍ

Thromboplastin-DS (Pacific Hemostasis®) je diagnostikum určené pro použití v jednodupňovém tromboplastinovém testu (PT – Prothrombin time) a stanovení faktorů, založeném na tomto testu.

II. SOUHRN A PRINCIP

PT se používá jako screeningový nástroj a jako kvantitativní test pro stanovení koagulačních faktorů, účastnících se tzv. vnější a společné cesty koagulačního systému. Test je prodloužen u pacientů se získanými nebo vrozenými poruchami, které snižují funkční aktivitu koagulačních faktorů I (fibrinogen), II (protrombin), V, VII a X. PT se také často používá k monitorování perorální antikoagulační léčby^{1,2}. Perorální antikoagulační přípravky snižují aktivitu koagulačních faktorů závislých na vitamínu K (II, VII, IX, X, Proteinu C a Proteinu S), což má za následek prodloužení PT.

Při jednodupňovém PT se měří čas srážení plazmy po přidání tkáňového faktoru (tromboplastinu) a kalcia. Při rekalifikaci plazmy v přítomnosti tkáňového faktoru vzniká aktivovaný faktor Xa (F.Xa). F.Xa aktivuje protrombin na trombin, který přeměňuje fibrinogen na nerozpustné fibrinové vlákno.

III. DIAGNOSTIKUM

Pro diagnostické použití *in vitro*.

Složení: <2% králičí mozková tkáň; 0,013% azid sodný; 5% pufrý; soli a stabilizátory.

Neotevřené lahvičky skladujte při +2 až +8°C. Rozpusťte v destilované/deionizované vodě podle údajů na etiketě lahvičky, jemně zamíchejte a nechte stát asi 15 minut při pokojové teplotě. Lahvičku nepřevracujte a prudce nemíchejte. Pokud jsou pochybnosti o kvalitě vody, lze použít Rekonstituční roztok. Po rozpuštění je uzavřené diagnostikum stabilní 7 dní při teplotě +2 až +8°C, 8 hodin při 37°C a 24 hodin při pokojové teplotě (+15 až +25°C)⁸. Nepoužívané diagnostikum uchovávejte při teplotě +2 až +8°C. **Diagnostikum nezamrazujte.**

Před každým použitím obsah lahvičky jemně zamíchejte. Používejte nějaký mechanismus, např. magnetické míchadlo, aby při testování byla zachována homogenní suspenze. Absence vakua v lahvičce, chybné výsledky, hodnoty kontroly kvality ležící mimo stanovená rozmezí nebo změna barvy výrobku mohou indikovat jeho poškození. Chybné provedení testu však může být způsobeno také jinými faktory v testovacím systému.

Upozornění: Thromboplastin-DS obsahuje azid sodný. Azid sodný tvoří v kyselém prostředí vysoce toxické sloučeniny. Před vyhozením by měly být azidy naředěny pod tekoucí vodou. Zbytky azidových sloučenin by měly být opláchnuty velkým množstvím vody. Tato opatření jsou doporučována proto, aby se zabránilo usazování v kovových trubkách, kde může docházet k nebezpečí výbuchu.

IV. ODBĚR VZORKŮ

Pro koagulační vyšetření je doporučeno používat 3,2% (0,109 M) citrát sodný. Vyhněte se hemolýze a kontaminaci tkáňovou tekutinou. Vzorky, které mají méně než 90% požadovaného odběrového objemu, by měly být vyřazeny. Krev centrifugujte 15

minut při 1500 g. Pokud vzorky uchovávejte při +22°C až +24°C, vyšetřujte je do 2 hodin od odběru. Pokud nebude vyšetření dokončeno do 24 hodin, plazma by měla být zamrzána a uchovávána při -20°C po dobu nejdéle 2 týdnů, nebo 6 měsíců při -70°C. Více podrobností o odběru a skladování vzorků je uvedeno v dokumentu NCCLS H21-A4.³

- Neopozďujte smíchání krve s antikoagulačním roztokem.
- Zamezte pění vzorků.
- Používejte pouze plastové nebo silikonované skleněné nádoby.
- Zakalené, ikterické, lipemické nebo hemolyzované vzorky mohou způsobovat chybné výsledky.
- Mražení a rozmrazování plazmy, která obsahuje zbylé buňky, poškozuje buněčné membrány, což může ovlivnit výsledky testu.
- Ke zkrácení koagulačního času může dojít při akutním zánětu, díky zvýšené hladině fibrinogenu.
- Vzorky s hodnotou hematokritu mimo rozpětí 20 - 55% mohou být nepřiměřeně antikoagulovány, a proto by se měly upravit.

V. POSTUP

Dodaný materiál: Diagnostikum Thromboplastin-DS, 10 x 4 ml, 10 x 10 ml, nebo 10 x 2 ml.

Další požadované prostředky:

Destilovaná nebo deionizovaná voda, nebo Rekonstituční roztok od Pacific Hemostasis.

Stopky

Přesné pipety: 0,1 ml a 0,2 ml

Normální a abnormální kontroly jako např. Coagulation Control Plasmas, Level 1, 2 a 3.

Thromboplastin-DS je vhodný pro použití s manuálním, mechanickým, fotooptickým, nefelometrickým nebo jiným typem detekce. Dodržujte doporučení výrobce pro správné zacházení s přístrojem. Při manuálním vyšetření:

- A. Předehřejte Thromboplastin-DS na 37°C.
- B. Do testovací kyvetky aplikujte 0,1 ml testované plazmy a předehřejte na 37°C.
- C. K plazmě rázně přidejte 0,2 ml předehřátého Thromboplastinu-DS a změřte koagulační čas.

VI. KONTROLA KVALITY

Současně se vzorky by měly být testovány také normální a abnormální plazmy, jako např. Pacific Hemostasis Coagulation Control Level 1, 2 a 3. Level 1 je lyofilizovaná normální plazma. Level 2 a 3 nahrazují mírně resp. více deficientní plazmy. Normální a abnormální kontroly by měly být změřeny na začátku každého testovacího dne a nejméně jednou při každém posunu nebo s každou skupinou vyšetření. Kontroly by měly být testovány také při každé změně diagnostika nebo nastavení přístroje. Každá laboratoř by si měla stanovit kontrolní rozmezí, reprezentující přípustnou mezidenní variabilitu testu pro každou kontrolu.

VII. VÝSLEDKY

Koagulační časy zaznamenejte s přesností na 0,1 sekundy. Pro srovnání lze uvádět také normální referenční rozpětí. Nevyjadřujte pacientovy hodnoty v poměru ke koagulačnímu času komerčně vyráběné kontrolní plazmy. Kontrolní plazmy jsou určeny pouze k ověření kvality testovacího systému.

STANOVENÍ INR

Nežádoucím důsledkem perorální antikoagulační léčby může být sklon ke krvácení. Ve snaze dosáhnout maximálního terapeutického efektu a minimalizovat krvácení doporučila Světová Zdravotnická Organizace (WHO) postup pro standardizaci testování a léčby. Tento postup je založen na mezinárodním normalizovaném poměru INR.^{6,7}

INR se vypočítá z poměru trombotoplastinového času pacienta a průměru normálního referenčního rozmezí (NRR) podle následujícího matematického vztahu:

$$INR = \left(\frac{PT_{pacienta}}{\text{průměrNRR}} \right)^{ISI}$$

Například, s ISI 1,00 a průměrem normálu 12 sekund se pro PT 40,0 sekund vypočte INR následovně:

$$INR = \left(\frac{40,0}{12,0} \right)^{1,00} = (3,33)^{1,00} = 3,33$$

Mezinárodní index citlivosti (ISI) je míra citlivosti použité kombinace trombotoplastin/přístroj ke koagulačním faktorům. Hodnota ISI se stanovuje srovnáním s referenčním materiálem. Vysoce citlivá diagnostika mají nízkou hodnotu ISI. Podle doporučení WHO hodnota INR větší než 5,5 znamená pro pacienta riziko krvácivých komplikací. Všeobecně se doporučuje, aby se pacienti se stabilizovanou perorální antikoagulační léčbou udržovali na hodnotě INR 2,0 až 3,5 v závislosti na klinických projevech.² Hodnota ISI pro každou šarži Thromboplastinu-DS je uvedena na etiketě krabičky. Ohledně hodnot ISI pro ostatní přístroje kontaktujte prosím produkt manažera pro koagulační diagnostika firmy EXBIO Olomouc s.r.o.

VIII. OMEZENÍ

Biochemický mechanismus koagulace zahrnuje sérii reakcí, které jsou ovlivněny mnoha preanalytickými podmínkami. K dosažení reprodukovatelných výsledků musí být tyto variabilní faktory kontrolovány.³ Bylo zjištěno, že pokud výsledky pacientova vzorku přesáhnou doporučený terapeutický rozsah hodnot INR 2,0 – 3,5, může se v ojedinělých případech objevit chybové hlášení „Coag Error 3“ na přístroji ACL. Pokud se objeví chybové hlášení, měl by být vzorek testován s Tromboplastinem-DS jinou metodou.

Technika vyšetření

- Pokud je plazma vystavena otevřené atmosféře, dochází ke zvýšení pH. Vzorky skladujte uzavřené v plastu nebo silikonovaném skle.
- U plazmy uchovávané při +4 až +8°C může docházet ke chladové aktivaci, která způsobuje signifikantní zkrácení PT.⁴
- Thromboplastin-DS byl optimalizován pro teplotu 37°C ± 0,5°C. Kontrolujte často teplotu všech zahřívacích elementů.
- Veškeré laboratorní náčiní musí být čisté a nesmí obsahovat stopy detergentu.
- Vždy dodržujte pokyny výrobce přístrojů pro jejich správnou údržbu.

Ovlivňující látky

- Oxalát sodný, EDTA a heparin nejsou vhodnými antikoagulancii.
- PT mohou prodlužovat látky jako orální antikoncepce, kortikosteroidy, EDTA, asparagináza, klofibrát, erytromycin, etanol, tetracyklin a antikoagulační látky jako např. heparin a warfarin.⁵
- PT mohou zkracovat látky obsahující antihistaminika, butabarbital, kafein, orální antikoncepce, fenobarbital a vitamín K.⁵

IX. OČEKÁVANÉ HODNOTY

V multi-centrických studiích při testování Thromboplastinu-DS na normální populaci byly získány tyto výsledky:⁹

Přístroj	Průměr PT (s)	Rozmezí (± 2 S.D.)	N
MLA™ Electra 1000C™	13,2	11,4 – 15,0	40
MLA™ Electra 900C™	13,7	12,4 – 15,0	20
IL ACL™ 300/3000+	10,5	8,9 – 12,1	61
Amelung KC 10™	12,7	9,3 – 14,2	20
PH ThromboScreen 400C	13,5	12,2 – 14,8	38
PH ThromboScreen 200	13,5	12,0 – 15,1	60

Tyto hodnoty jsou určeny jen jako vodítko. Každá laboratoř by si měla stanovit normální referenční rozmezí (NRR) použitím přístrojů, metody odběru krevních vzorků a testovací techniky používané v této laboratoři. NRR by mělo být znovu stanoveno nebo alespoň ověřeno při změně šarže diagnostika.^{3,6} Nové NRR by mělo být stanoveno při jakékoliv změně v reagentech, vybavení, technice odběru krve nebo antikoagulačního roztoku. Koagulační čas abnormálních plazem bude záviset na hodnotě ISI použité šarže diagnostika.

X. VLASTNOSTI

Přesnost: Přesnost stanovení trombotoplastinového času závisí na mnoha faktorech, zejména pak na přístroji, technice provedení a použitém diagnostiku. Přesnost Thromboplastinu-DS byla ověřena testováním normální a abnormální plazmy na několika odlišných přístrojích. Následuje souhrn výsledků.¹⁰

Výsledky studie přesnosti *within-run*, % CV (N=20)

Vzorek	MLA Electra 1000C	Thrombo-Screen 400C	Thrombo-Screen 200	Amelung KC 10
Normál	1,1 %	1,9 %	1,9 %	2,9 %
Abnormál	2,8 %	2,5 %	2,3 %	1,1 %

Citlivost: Thromboplastin-DS, použitý v testu PT, detekuje defekty vnější koagulační cesty. Testování citlivosti k faktorům bylo provedeno pomocí naředění normální směsné plazmy s faktor-deficitní plazmou tak, aby se výsledná koncentrace faktoru pohybovala v rozmezí 10 – 100 %. Testování vzorků bylo provedeno na přístroji MLA-1000C.¹¹

Faktor (%)	Tromboplastinový čas (s)			
	Faktor II	Faktor V	Faktor VII	Faktor X
100	11,6	11,6	11,8	11,7
50	11,6	13,2	12,6	12,8
40	11,7	13,9	12,8	13,3
30	12,3	14,9	13,5	14,1
20	12,8	15,9	13,9	14,8
10	14,1	18,3	15,2	17,0

Korelace: Korelační studie byly provedeny proti dvěma jiným citlivým tromboplastinovým diagnostikům testováním PT na normálních a abnormálních vzorcích. Testování bylo provedeno na přístroji Stago STA.¹²

N = 49	Korelace PT	Korelace INR
Thromboplastin-DS vs. Diagnostikum A	R = 0,98 y = 1,16x + 1,30	R = 0,98 y = 0,89x + 0,05
Thromboplastin-DS vs. Diagnostikum B	R = 0,95 y = 1,01x + 2,20	R = 0,95 y = 0,82x + 0,10

XI. LITERATURA

1. Errichetti, A.M., Holden, A., Ansell, J.: *Management of Oral Anticoagulant Therapy: Experience with an Anticoagulation Clinic*. Arch Inter Med. 144: 1966-68, 1984.
2. Hirsh, J., Dalen, J.E., Deykin, D., Poller, L.: *Oral Anticoagulants: Mechanisms of Action, Clinical Effectiveness, and Optimal Therapeutic Range*. Chest 102(Suppl): 312S-316S, 1992.
3. NCCLS: *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and General Performance of Coagulation Assays: Approved Guideline*. NCCLS document H21-A4. NCCLS, Wayne, PA, 2003.
4. Palmer, R.N., Gralnick, H.R.: *Inhibition of the Cold Activation of Factor VII and the Prothrombin Time*. Am J Clin Path. 81: 618-622, 1984.
5. Young, D.S., Thomas, D.W., Friedman, R.B., et al: *Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests*. Clin Chem 18:1041, 1972.
6. Dalen, J.E., Hirsh, J.: *American College of Chest Physicians and the National Heart, Lung, and Blood Institute National Conference on Antithrombotic Therapy*. Arch Inter Med. 146:462-472, 1986.
7. Palaereti, G., Coccheri, S., Poggi, M., et al: *Oral Anticoagulant Therapy Control: Evidence that the INR Expression Improves the Interlaboratory Comparability of Results. The Bologna Oral Anticoagulant Control Exercise*. Thromb Haemostasis 58:905-910, 1987.
8. Stabilitní data dostupná v DHF.
- 9-12. Data dostupná v souboru 510(K).

OMEZENÍ ZÁRUKY FISHER DIAGNOSTICS®

Fisher Diagnostics (FD) zaručuje, že produkty firmy FD budou fungovat tak, jak je popsáno na štítcích a dokumentech přiložených k produktu. V případě specifických aplikací musí sám zákazník rozhodnout o vhodnosti produktů FD. FD se zavazuje, že na základě své volby buď vymění nevyhovující nebo poškozený produkt, nebo vrátí pořizovací cenu. FD NEUZNÁVÁ ŽÁDNÉ JINÉ ZÁRUKY, VÝSLOVNÉ NEBO MLČKY PŘEDPOKLÁDANÉ, VČETNĚ ZÁRUK OBCHODOVATELNOSTI A ZPŮSOBILOSTI PRO SPECIÁLNÍ ÚČELY. FD ani její pobočky nebudou v žádném případě zodpovídat za náhodné nebo nepřímé ztráty nebo poškození.












Pacific Hemostasis® je registrovaná ochranná známka společnosti Fisher Scientific Company L.L.C.

Fisher Diagnostics® je registrovaná ochranná známka společnosti Fisher Scientific Company L.L.C.

ACL™ je registrovaná ochranná známka společnosti Instrumentation Laboratory.

MLA Electra 900C™ a MLA Electra 1000C™ jsou registrované ochranné známky společnosti Instrumentation Laboratory.

Amelung KC10™ je registrovaná ochranná známka společnosti Trinity Biotech.

Symbols Key	Symboly	Symbols Key	Symboly
	Výrobce		In vitro diagnostický zdravotnický prostředek
	Číslo šarže		Spotřebujte do
	Označení CE		Omezení teploty
	Katalogové číslo		Podívejte se do návodu k použití
	Datum balení		Autorizovaný zástupce v Evropském společenství
	Upozornění, podívejte se do průvodního listu		

Distributed By:



EXBIO Olomouc s.r.o.
Ovesná 14
779 00 Olomouc



MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL
UK



Fisher Diagnostics®
8365 Valley Pike
Middletown, VA 22645-0307, USA
1-(800)-528-0494 jen USA