

Thromboplastin-DS

I. POUŽITIE

Thromboplastin-DS (Pacific Hemostasis®) je diagnostikum, založené na jednostupňovom tromboplastinovom teste (PT – *Prothrombin time*), ktoré je určené na stanovenie koagulačných faktorov.

II. SÚHRN A PRINCÍP

PT sa používa ako screeningový nástroj a ako kvantitatívny test na stanovenie koagulačných faktorov, zúčastňujúcich sa tzv. vonkajšej a spoločnej cesty koagulačného systému. Test je predĺžený u pacientov so získanými alebo vrodenými poruchami, ktoré znižujú funkčnú aktivitu koagulačných faktorov I (fibrinogén), II (protrombín), V, VII a X. PT sa tiež často používa na monitorovanie perorálnej antikoagulačnej liečby^{1,2}. Perorálne antikoagulačné prípravky znižujú aktivitu koagulačných faktorov závislých na vitamíne K (II, VII, IX, X, Proteínu C a Proteínu S), čo má za následok predĺženie PT. Pri jednostupňovom PT sa meria čas zrážania plazmy po pridaní tkanivového faktoru (tromboplastínu) a kalcia. Pri rekalcifikácii plazmy v prítomnosti tkanivového faktora vzniká aktivovaný faktor Xa (F.Xa). F. Xa aktivuje protrombín na trombín, ktorý premieňa fibrinogén na nerozpustné fibrínové vlákno.

III. DIAGNOSTIKUM

Na diagnostické použitie *in vitro*.

Zloženie: <2% králičie mozgové tkanivo; 0,013% azid sodný; 5% pufre; soli a stabilizátory.

Neotvorené fľaštičky skladujte pri +2 až +8°C. Rozpusťte v destilovanej/deionizovanej vode podľa údajov na etikete fľaštičky, jemne zamiešajte a nechajte stáť asi 15 minút pri izbovej teplote. Fľaštičku neotáčajte a prudko nemiešajte. Pokiaľ existujú pochybnosti o kvalite vody, je možné použiť Rekonštitučný roztok. Po rozpustení je uzatvorené diagnostikum stabilné 7 dní pri teplote +2 až +8°C, 8 hodín pri 37°C a 24 hodín pri izbovej teplote (+15 až +25°C)⁹. Nepoužívané diagnostikum uchovávajte pri teplote +2 až +8°C. **Diagnostikum nezamrazujte.**

Pred každým použitím obsah fľaštičky jemne zamiešajte. Používajte nejaký mechanizmus, napr. magnetické miešalo, aby bola pri testovaní zachovaná homogénna suspenzia. Absencia vákua vo fľaštičke, chybné výsledky, hodnoty kontroly kvality ležiace mimo stanovené rozmedzia alebo zmena farby výrobu môžu indikovať jeho poškodenie. Chybné vykonanie testu však môže byť spôsobené tiež inými faktormi v testovacom systéme.

Upozornenie: Thromboplastin-DS obsahuje azid sodný. Azid sodný tvorí v kyslom prostredí vysoko toxické zlúčeniny. Pred vyhodením by mali byť azidy nariadené pod tečúcou vodou. Zvyšky azidových zlúčenín by mali byť spláchnuté veľkým množstvom vody. Tieto opatrenia sú odporúčané preto, aby sa zabránilo usadzovaniu v kovových trúbkach, kde by mohlo dochádzať k nebezpečenstvu výbuchu.

IV. ODBER VZORIEK

Pre koagulačné vyšetrenie je doporučené používať 3,2% (0,105 M) citrát sodný. Vyhnite sa hemolýze a kontaminácii tkanivovou tekutinou. Vzorky, ktoré majú menej ako 90 % požadovaného odberového objemu, by mali byť vyradené. Krv centrifugujte 15 minút pri 1500 g. Pokiaľ vzorky uchováte pri +22°C až +24°C, vyšetrujte ich do 2 hodín od odberu. Pokiaľ nebude vyšetrenie dokončené do 24 hodín, plazma by mala byť zamrazená a uchovávaná pri –20°C po dobu najviac 2 týždňov, alebo 6 mesiacov pri –70°C. Viac podrobností o odbere a skladovaní vzoriek je uvedené v dokumente NCCLS H21-A3.³

- Neodďaľujte zmiešanie krvi s antikoagulačným roztokom.
- Zamedzte spenieniu vzoriek
- Používajte iba plastové alebo silikonované sklenené nádoby.
- Zakalené, ikterické, lipemické alebo hemolyzované vzorky môžu spôsobovať chybné výsledky.
- Zmrazovanie a rozmrazovanie plazmy, ktorá obsahuje zvyškové bunky, poškodzuje bunkové membrány, čo môže ovplyvniť výsledky testu.
- Ku skráteniu koagulačného času môže dôjsť pri akútnom zápale, vďaka zvýšenej hladine fibrinogénu.
- Vzorky s hodnotou hematokritu mimo rozmedzie 20 – 55 % môžu byť neprimerane antikoagulované, a preto by sa mali upraviť.

V. POSTUP

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

Ďalšie požadované prostriedky:

Destilovaná alebo deionizovaná voda, alebo Rekonštitučný roztok od Pacific Hemostasis.

Stopky

Presné pipety: 0,1 ml a 0,2 ml

Normálne a abnormálne kontroly ako napr. Coagulation Control Plasmas, Level 1, 2 a 3.

Thromboplastin-DS je vhodný na použitie s manuálnym, mechanickým, fotooptickým, nefelometrickým alebo iným typom detekcie. Dodržujte odporúčania výrobcu pre správne zaobchádzanie s prístrojom. Pri manuálnom vyšetrení:

A. Predhrejte Thromboplastin-DS na 37 °C.

B. Do testovacie kyvetky aplikujte 0,1 ml testovanej plazmy a predhrejte na 37 °C.

C. K plazme rázne pridajte 0,2 ml predhriateho Thromboplastinu- DS a zmerajte koagulačný čas.

VI. KONTROLA KVALITY

Súčasne so vzorkami by mali byť testované tiež normálne a abnormálne plazmy, ako napr. Pacific Hemostasis Coagulation Control Level 1, 2 a 3. Level 1 je lyofilizovaná normálna plazma. Level 2 a 3 nahradzujú mierne resp. viac deficientné plazmy.

Normálne a abnormálne kontroly by mali byť zmerané na začiatku každého testovacieho dňa a najmenej jedenkrát pri každom posune alebo s každou skupinou vyšetrení. Kontroly by mali byť tiež testované pri každej zmene diagnostika alebo nastavení prístroja. V laboratóriách s veľkým počtom vykonávaných PT a APTT vyšetrení testujte normálne a abnormálne kontroly najmenej po každých 40 vzorkách. Každé laboratórium by si malo stanoviť kontrolné rozmedzie, reprezentujúce prípustnú medzidennú variabilitu testu pre každú kontrolu.

VII. VÝSLEDKY

Koagulačné časy zaznamenajte s presnosťou na 0,1 sekundy. Na porovnanie je možné uvádzať tiež normálne referenčné rozpätie. Nevyjadrujte pacientovi hodnoty v pomere ku koagulačnému času komerčne vyrábané kontrolnej plazmy. Kontrolné plazmy sú určené iba na overenie kvality testovacieho systému.

STANOVENIE INR

Nežiaducim dôsledkom perorálnej antikoagulačnej liečby môže byť sklon ku krvácaniu. V snahe dosiahnuť maximálneho terapeutického efektu a minimalizovať krvácanie odporučila Svetová Zdravotnícka Organizácia (WHO) postup na štandardizáciu testovaní a liečby. Tento postup je založený na medzinárodnom normalizovanom pomere INR.^{7,8}

INR sa vypočíta z pomeru tromboplastínového času pacienta a priemeru normálneho referenčného rozmedzia (NRR) podľa nasledujúceho matematického vzťahu:

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

Napríklad, s ISI 1,00 a priemerom normálu 12 sekúnd sa pre PT 40,0 sekúnd vypočítajte INR nasledujúco:

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

Medzinárodný index citlivosti (ISI) je miera citlivosti použitej kombinácie tromboplastín/prístroj ku koagulačným faktorom. Hodnota ISI sa stanovuje porovnaním s referenčným materiálom. Vysoko citlivé diagnostika majú nízku hodnotu ISI. Podľa doporučení WHO hodnota INR väčšia než 5,5 znamená pre pacienta riziko krvácajúcich komplikácií. Všeobecne sa odporúča, aby sa pacienti so stabilizovanou perorálnou antikoagulačnou liečbou udržiavali na hodnote INR 2,0 až 3,5 v závislosti na klinických prejavoch.² Hodnota ISI pre každú šaržu Thromboplastinu-DS je uvedená na etikete krabičky. Ohľadne hodnôt ISI pre ostatné prístroje kontaktujte prosím produkt manažéra pre koagulačné diagnostiká firmy EXBIO Olomouc s.r.o.

VIII. OMEZENIA

Biochemický mechanizmus koagulácie zahŕňa sériu reakcií, ktoré sú ovplyvnené mnohými preanalytickými podmienkami. Na dosiahnutie reprodukovateľných výsledkov musia byť tieto variabilné faktory kontrolované.³ Bolo zistené, že pokiaľ výsledky pacientovej vzorky presiahnu doporučený terapeutický rozsah hodnôt INR 2,0 – 3,5, môže sa v ojedinelých prípadoch objaviť chybové hlásenie „Coag Error 3“ na prístroji ACL. Pokiaľ sa objaví chybové hlásenie, mala by byť vzorka testovaná s Tromboplastinom-DS inou metódou.

Technika vyšetrenia

- Pokiaľ je plazma vystavená otvorenej atmosfére, dochádza ku zvýšeniu pH. Vzorky skladujte uzatvorené v plaste alebo silikonovanom skle.
- U plazmy uchovanej pri +4 až +8°C môže dochádzať ku chladovej aktivácii, ktorá spôsobuje signifikantné skrátenie PT.⁴
- Thromboplastin-DS bol optimalizovaný pre teplotu 37°C ± 0,5°C. Kontrolujte často teplotu všetkých zahrievaných elementov.
- Všetko laboratórne náčinie musí byť čisté a nesmie obsahovať stopy detergentov.
- Vždy dodržiajte pokyny výrobcu prístrojov pre ich správnu údržbu.

Ovplyvňujúce látky

- Oxalát sodný, EDTA a heparin nie sú vhodnými antikoagulanciami.
- PT môžu predlžovať látky ako orálna antikoncepcia, kortikosteroidy, EDTA, asparagináza, klofibrát, erytromycín, etanol, tetracyklín a antikoagulancia ako napr. heparin a warfarín.⁵
- PT môžu skracovať látky obsahujúce antihistaminiká, butabarbital, kafeín, orálna antikoncepcia, fenobarbital a vitamín K.⁵

IX. OČAKÁVANÉ HODNOTY

V multi-centrických štúdiách pri testovaní Thromboplastinu-DS na normálnej populácii boli získané tieto výsledky:¹⁰

Prístroj	Priemer PT (s)	Rozmedzie (± 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

Tieto hodnoty sú určené len ako vodítko. Každé laboratóriu by si malo stanoviť normálne referenčné rozmedzie (NRR) použitím prístrojov, metódy odberu krvných vzoriek a testovacej techniky používanej v tomto laboratóriu. NRR by malo byť znova stanovené alebo aspoň overené pri zmene šarže diagnostika.^{3,6} Nové NRR by malo byť stanovené pri akejkoľvek zmene v reagentoch, vybavení, technike odberu krvi alebo antikoagulačného roztoku. Koagulačný čas abnormálnych plaziem bude závisieť na hodnote ISI použitej šarže diagnostika.

X. VLASTNOSTI

Presnosť: Presnosť stanovenia tromboplastínového času závisí na mnohých faktoroch, hlavne na prístroji, technike vykonaniu a použitom diagnostiku. Presnosť Thromboplastínu-DS bola overená testovaním normálnej a abnormálnej plazmy na niekoľkých odlišných prístrojoch. Nasleduje súhrn výsledkov.¹¹

Výsledky štúdie presnosti *within-run*, % CV (N=20)

Vzorka	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 %

Citlivosť: Thromboplastin-DS, použitý v teste PT, detekuje defekty vonkajšej koagulačnej cesty. Testovanie citlivosti k faktorom bolo vykonané pomocou nariadenia normálnej zmesnej plazmy s faktor-deficitnou plazmou tak, aby sa výsledná koncentrácia faktoru pohybovala v rozmedzí 10 – 100 %. Testovanie vzoriek bolo vykonané na prístroji MLA-1000C.¹²

Faktor (%)	Tromboplastínový 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

Korelácia: Korelačná štúdia bola vykonaná oproti dvom iným citlivým tromboplastínovým diagnostikám testovaniam PT na normálnych a abnormálnych vzorkách. Testovanie bolo vykonané na prístroji Stago STA.13

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

XI. LITERATÚRA

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-A3. NCCLS, Wayne, PA, 1998.
4. Palmer, R.N., Gralnick, H.R.: *Inhibition of the Cold Activation of Factor VII and the Prothrombin Time*. Am J Clin Path. 81:18-622, 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. NCCLS: *One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test; Approved Guideline*. NCCLS document H47-A. NCCLS, Wayne, PA, 1996.
7. 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.
8. 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.
9. Stabilitní data dostupná v DHF.
- 10-13. Data dostupná v souboru 510(K).

OBMEDZENIE ZÁRUKY FISHER DIAGNOSTICS®

Fisher Diagnostics (FD) zaručuje, že produkty firmy FD budú fungovať tak, ako je popísané na štítkoch a dokumentoch priložených k produktu. V prípade špecifických aplikácií musí sám zákazník rozhodnúť o vhodnosti produktov FD. FD sa zaväzuje, že na základe svojej voľby buď vymení nevyhovujúci alebo poškodený produkt, alebo vráti nákupnú cenu. FD NEUZŇAVÁ ŽIADNE INÉ ZÁRUKY, VÝSLOVENÉ ALEBO MLČKY PREDPOKLADANÉ, VRÁTANE ZÁRUK OBCHODOVATEĽNOSTI A SPÔSOBILOSTI NA ŠPECIÁLNE ÚČELY. FD ani ich pobočky nebudú v žiadnom prípade zodpovedať za náhodné alebo nepriame straty alebo poškodenia.












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

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

ACL™ je registrovaná ochranná známka spoločnosti Instrumentation Laboratory.

MLA Electra 900C™ a MLA Electra 1000C™ sú registrované ochranné známky spoločnosti Instrumentation Laboratory.

Amelung KC10™ je registrovaná ochranná známka spoločnosti Trinity Biotech.

Symbols Key	Symboly	Symbols Key	Symboly
	Výrobca		In vitro diagnostický zdravotnícky prostriedok
	Číslo šarže		Spotrebujte do
	Označenie CE		Obmedzenie teploty
	Katalógové číslo		Pozrite sa do návodu na použitie
	Dátum balenia		Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve
	Upozornenie, pozrite sa do sprievodného listu		

Dovozca:



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