



HEMOCLOT™ Thrombin Inhibitors

REF CK002K R1 R2 3 x 1 ml

REF CK002L R1 R2 3 x 2,5 ml



Anti-IIa koagulační metoda pro měření Dabigatranu a jiných přímých inhibitorů.



www.hyphen-biomed.com

155, rue d'Eragny
95000 NEUVILLE SUR OISE
FRANCE
Tel. : +33 (0)1 34 40 65 10
Fax : +33 (0)1 34 48 72 36
info@hyphen-biomed.com

Datum Revize: 04_2025

POUŽITÍ:

HEMOCLOT™ Thrombin Inhibitors souprava je koagulační metoda pro in vitro kvantitativní měření přímých inhibitorů trombinu (DTI) v lidské citrátové plazmě automatickou nebo manuální metodou.

Měření koncentrace DTI je vhodné pro monitorování hladin pacientů s Argatrobanem nebo bivalirudinem, nebo jako detekce léčiv (Dabigatran) u pacientů s antikoagulační léčbou.

Souprava je pro in vitro použití vyškoleným personálem v laboratoři.

SHRNUTÍ:

Technické¹⁻³:

HEMOCLOT™ Thrombin Inhibitors je souprava pro koagulační anti-IIa metodu, kde je konstantní hladina trombinu inhibována DTI ve vzorku. Jsou potřeba specifické kalibrátory.

Klinické³⁻⁷:

Měření koncentrace přímých inhibitorů trombinu může pomoci nastavit správné hladiny terapie u pacientů (např.: před operacemi, při riziku krvácení, při trombotických a krvácivých příhodách nebo při podezření na předávkování).

PRINCIP:

HEMOCLOT™ Thrombin Inhibitors metoda je koagulační test pro měření koncentrace Dabigatranu a jiných DTI v lidské plazmě. Koagulace je zahájena přidáním vysoce purifikovaného lidského trombinu v α -trombin podobě za přítomnosti vápníku. Získaný Trombinový čas závisí na koncentraci DTI v měřeném vzorku.

REAGENCE:

R1 Normální poolová plazma, lyofilizováno v přítomnosti stabilizátorů.

R2 Lidský trombin s vápníkem, vysoce purifikováno, cca 1 NIH/ml na (h)IIa; lyofilizováno v přítomnosti stabilizátorů. Obsahuje BSA.

Koncentrace enzymu v **R2** je upravena pro každou šarži tak, aby se zajistila optimální reaktivita a linearita měření.

Produkt není klasifikován jako nebezpečný a nepodléhá regulaci EC 1272/2008 (CLP) o označení chemikálií.

VAROVÁNÍ A UPOZORNĚNÍ:

- Některé reagencie v soupravě obsahují materiál lidského původu. Plazma použitá k výrobě takového materiálu byla testována registrovanými metodami a sledována negativně na přítomnost protilátek HIV 1, HIV 2 a HCV a antigenu Hepatitidy B. Přesto žádná metoda testování nemůže kompletně vyloučit přítomnost infekčních agens. Proto musí být tyto reagencie považovány za potenciálně infekční se všemi odpovídajícími bezpečnostními opatřeními.
- Odpadní materiál zlikvidujte dle lokálních směrnic o zacházení s odpadem.
- Používejte pouze reagencie ze stejné šarže.

PŘÍPRAVA REAGENCÍ:

Abyste zabránili ztrátě produktu, lahvičky otevřete opatrně.

R1 **R2** Rozpusťte obsah každé lahvičky s přesně:

REF CK002K 1 ml destilované vody

REF CK002L 2,5 ml destilované vody

Řádně promíchejte, dokud se obsah nerozpustí. Zabraňte tvorbě pěny při míchání a vložte do analyzátoru dle specifického aplikačního protokolu.

Pro manuální metodu nechte stabilizovat 15 minut při pokojové teplotě (18 - 25°C) a homogenizujte před použitím.

Plazmatická reagencie může být po rozpuštění zakalená. Turbidita je způsobená lipidy, které jsou po lyofilizaci méně rozpustné a mohou tvořit

depozita. Nechte každou lahvičku stabilizovat 10 minut při pokojové teplotě a promíchejte před použitím.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA:

Reagencie musí být skladována při 2-8°C ve svém originálním obalu. Je pak stabilní do data expirace uvedeného na krabičce.

R1 **R2** Stabilita otevřené reagencie po rozpuštění, pokud je zabráněno kontaminaci nebo odpařování a je skladována uzavřená, je:

- 24 hodin při 2 - 8°C
- 8 hodin při pokojové teplotě (18 - 25°C)
- 2 měsíce při -20°C a méně*
- Stabilita v analyzátoru: viz specifický aplikační protokol.

*Rozmrazujte pouze jednou, co nejrychleji při 37°C a ihned použijte.

Nekombinujte způsoby skladování.

REAGENCE A MATERIÁL POTŘEBNÝ, ALE V SOUPRAVĚ NEPŘÍTOMNÝ:

- Ředící pufr - Imidazol pufr (AR021A/K/L) nebo fyziologický roztok (0,9% NaCl). Použijte stejný pufr pro všechna měření.
- Referenční materiál pro měření DTI. Specifické kalibrátory a kontroly jako jsou:

| Název produktu | Referenční číslo |
|---------------------------------------|------------------|
| Argatroban Plasma Calibrator | SC030K |
| Argatroban Control Plasma | SC035K |
| BIOPHEN™ Dabigatran Plasma Calibrator | 222801 |
| BIOPHEN™ Dabigatran Control Plasma | 224701 |
| BIOPHEN™ Dabigatran Calibrator Low | 222901 |
| BIOPHEN™ Bivalirudin Calibrator | 226701 |
| BIOPHEN™ Bivalirudin Control | 225701 |

- Vodní lázeň, semi-automatický nebo automatický analyzátor pro koagulační měření.
- Stopy; Kalibrované pipety; Zkumavky z plastu nebo silikonového skla.

PŘÍPRAVA A ODBĚR VZORKU:

Krev (9 dílů) musí být odebrána do 0,109 M citrátového antikoagulantia (1 díl; 3,2%), přímou venepunkcí. První odebraná zkumavka by měla být znehodnocena.

Vzorky by měly být připraveny a skladovány dle relevantních řádů.

Pro skladování plazmy se odkažte na reference^{6,8}.

PROVEDENÍ TESTU:

Souprava může být použita pro manuální nebo automatickou metodu. Provádějte test při 37°C a měřte čas koagulace, který je započatý přidáním **R2**.

Pro automatickou metodu jsou aplikační protokoly dostupné na vyžádání. Viz aplikační protokol pro použitý analyzátor.

Manuální metoda:

1. Připravte kalibrátory a kontroly dle jejich specifických instrukcí. Kalibrátor by měl být ředěn v dilučním pufru, viz níže:

| Kalibrátor | Katalogové číslo | Ředění |
|--------------------------------------|------------------|--------|
| BIOPHEN Dabigatran Plasma Calibrator | 222801 | 1:8 |
| BIOPHEN Dabigatran Calibrator Low | 222901 | 1:2 |
| Argatroban Plasma Calibrator | SC030K | 1:8 |
| BIOPHEN Bivalirudin Calibrator | 226701 | 1:10 |

2. Naředte vzorky a kontroly v dilučním pufru, viz níže:

| Vzorky | Katalogové číslo | Ředění |
|------------------------------------|------------------|---|
| BIOPHEN™ Dabigatran Control Plasma | 224701 | 1:8 |
| BIOPHEN™ Dabigatran Control Low | 225001 | 1:2 |
| Vzorky (Dabigatran) | - | 1:8 (standard rozmezí) 1:2 (nízké rozmezí) |
| Argatroban Control Plasma | SC035K | 1:8 |
| Vzorky (Argatroban) | - | 1:8 |
| BIOPHEN Bivalirudin Control | 225701 | 1:10 |
| Vzorky (Bivalirudin) | - | 1:10 |

Stanovte kalibrační křivku a proveďte kontrolu kvality, abyste zajistili optimální výkon testu. Pokud jsou vzorky skladovány při pokojové teplotě, otestujte je co nejdříve. Přesné koncentrace kontrol a kalibrátorů jsou uvedeny na letáku v balení každého testu.

3. Do zkumavky při 37°C přidejte:

| | Objem |
|---|--------|
| Kalibrátor nebo ředěné vzorky nebo kontroly | 50 µl |
| R1 Normální poolová plazma | 100 µl |
| Míchejte a inkubujte 1 minutu při 37°C (2 minuty pro Bivalirudin), pak přidejte a zapněte stopky: | |
| R2 Lidský trombin s vápníkem, inkubovaný na 37°C | 100 µl |
| Zaznamenejte čas koagulace (CT, sekundy). | |

Pokud jsou zapotřebí jiné reakční objemy, než je uvedeno výše, poměry objemů musí být zachovány. Uživatel je zodpovědný za validaci všech změn a jejich dopadu na výsledky.

KONTROLA KVALITY:

Kontrola kvality umožňuje validaci souladu metody a homogenitu mezi sériemi pro danou šarži reagensie.

Pro validaci měření zařadte kvalitu kontroly do každé série testů podle správné laboratorní praxe. Nová kalibrační křivka by měla být stanovena nejlépe pro každou novou sérii testů, při nové šarži reagensií, po opravě analyzátoru, nebo pokud jsou naměřené kontroly kvality mimo přijatelné rozmezí.

Každá laboratoř si musí stanovit svoje vlastní přijatelné rozmezí a verifikovat předpokládaný výkon na svém analyzátoru.

VÝSLEDEK:

- Pro manuální end-point metodu vypište kalibrační křivku bi-lineární s koagulačním časem (v sekundách) podél osy Y a koncentrací DTI podél osy X.
- Výsledky Dabigatranu (a ostatních DTI) jsou přímo odečteny z kalibrační křivky, pokud je použito standardní ředění.
- Výsledky jsou vyjádřeny v ng/ml pro Dabigatran a v µg/ml pro Argatroban a Bivalirudin.
- Výsledky by měly být interpretovány dle klinického a biologického stavu pacienta.

LIMITY:

- Abyste zajistili optimální výkon testu, přesně následujte technické instrukce validované výrobcem HYPHEN BioMed.
- Jakákoliv reagensie neobvyklého vzhledu nebo vykazující známky kontaminace musí být znehodnocena.
- Jakýkoliv podezřelý vzorek nebo vzorek vykazující známky aktivace musí být znehodnocen.
- Vzorky s vysokou předpokládanou koncentrací mohou být předem ředěny poolovou plazmou nebo Imidazolovým pufrům. Naměřená hodnota koncentrace musí být násobena použitým ředícím faktorem.
- Uživatelem definované léky nejsou podporovány výrobcem HYPHEN BioMed, jelikož mohou ovlivnit výsledky měření. Jakékoliv změny metody a jejich dopad na výsledky musí být validovány.

PŘEDPOKLÁDANÉ HODNOTY:

Anti-IIa léky nejsou přítomny v normální plazmě.

Normální rozmezí, terapeutické rozmezí a krvácivé riziko definujte dle současných doporučení.

CHARAKTERISTIKA:

Nižší limit detekce analyzátoru a rozmezí měření záleží na použitém analytickém systému.

Kalibrační rozmezí je přibližně:

| Dabigatran Nízké rozmezí | Dabigatran Standardní rozmezí |
|--------------------------|-------------------------------|
| 0,120 ng/ml | 50-500 ng/ml |
| Argatroban | Bivalirudin |
| 0-2 µg/ml | 0-5 µg/ml |

HEMOCLLOT Thrombin Inhibitors reagensie **neobsahují inhibitory heparinu**. Přítomnost jiných inhibitorů heparinu nebo trombinu v testovaném vzorku, než které jsou testovány, může způsobit prodloužený čas koagulace.

Studie výkonu metody byly prováděny dle CLSI směrnic na Sysmex-CS sérii a STAR-sérii. Výkon byl posouzen laboratorními kontrolami po dobu 5 dní, 2 série denně, 2 opakování v každé sérii pro každou kontrolní hladinu.

| Kontroly | Intra assay | | | |
|----------------|-------------|------------|-----|------|
| | N | Průměr | CV% | SD |
| Dabigatran Low | 30 | 80 ng/ml | 3,7 | 3,0 |
| Dabigatran | 20 | 292 ng/ml | 2,4 | 6,9 |
| Bivalirudin | 40 | 4,27 µg/ml | 2,1 | 0,09 |
| Argatroban | 20 | 1,24 µg/ml | 1,8 | 0,02 |
| Kontroly | Inter assay | | | |
| | N | Průměr | CV% | SD |
| Dabigatran Low | 20 | 77 ng/ml | 2,1 | 1,6 |
| Dabigatran | 20 | 286 ng/ml | 4,1 | 11,7 |
| Bivalirudin | 10 | 4,14 µg/ml | 3,1 | 0,13 |
| Argatroban | 12 | 1,32 µg/ml | 2,5 | 0,03 |

Dle principu testu není očekávána interference deficitu koagulačních faktorů, jako jsou FII, FV, FX, AT nebo nízký fibrinogen.

Korelace s referenční metodou (LCMS:MS vs HEMOCLLOT™ Thrombin Inhibitors, Dabigatran)²:

Sysmex CS-2000i:

$$n=100 \quad y = 0,926x + 10,46 \quad r = 0,987$$

Pro ostatní molekuly a specifické interference viz specifický aplikační protokol pro daný analyzátor.

REFERENCE:

- Antovic J.P. *et al.* Evaluation of coagulation assays versus LC-MS/MS for determinations of dabigatran concentrations in plasma. Eur J Clin Pharmacol. 2013.
- Amiral J. *et al.* An update on laboratory measurements of Dabigatran: Smart specific and calibrated dedicated assays for measuring anti-IIa activity in plasma. Transfusion and Apheresis Science. 2016
- Amiral C. *et al.* Measurement of Bivalirudin Thrombin Inhibition Activity in Plasma with Clotting or Chromogenic Assays and Dedicated Calibrators and Controls. Thrombosis & Haemostasis: Research. 2021.
- Van Cott EM *et al.* Laboratory Monitoring of Parenteral Direct Thrombin Inhibitors. Semin. Thromb. Haemost. 2017.
- Kyrle P.A. *et al.* Dabigatran :patient management in specific clinical settings. Wien Klin Wochenschr. 2014.
- Gosselin R.C. *et al.* International council for standardization in haematology (ICSH) recommendations for laboratory measurement of direct oral anticoagulants. Thrombosis and Haemostasis. 2018
- Amiral C. *et al.* Measurement of Bivalirudin Thrombin Inhibition Activity in Plasma with Clotting or Chromogenic Assays and Dedicated Calibrators and Controls. Thrombosis & Haemostasis: Research. 2021
- CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008

SYMBOLY:

Použité symboly a znaky jsou uvedeny v seznamu ISO 15223-1 Standard, viz dokument Definice symbolů.

| | | | | | |
|---------------------|--|-------------------------|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------------|
| REF | Katalogové číslo | LOT | Číslo šarže | IVD | In Vitro diagnostický prostředek |
| Rx | Numerický identifikátor reagentie Teplota | | Viz návod k použití | WHO STD | WHO kód standardu |
| | CE značka s číslem certifikovaného orgánu | | Výrobce | | Expirace |
| Cx | Numerický identifikátor kontroly | | Rekonstituční objem | CONTENTS | Obsah |
| EXP | Doba Expirace | i-MA | Viz aplikační protokol | CONTAINS | Obsahuje |
| TARGET VALUE | Cílová hodnota | | Počet testů | UNIT | Jednotky |
| UDI | Identifikátor produktu | | Skladujte mimo sluneční světlo | CALx | Numerický identifikátor kalibrátoru |
| DANGER | Nebezpečí | | Obsahuje materiál biologického původu | | Obsahuje lidskou plazmu nebo deriváty |
| | Biologické riziko | WARNING | Varování | UK CA | UKCA značení konformity |
| | | ACCEPTANCE RANGE | Přijatelné rozmezí | | |