

HEMOCLLOT™ Thrombin time (T.T.)



REF CK011K R 6 x 2 ml
REF CK011L R 6 x 8 ml

Souprava pro stanovení Trombinového času v plazmě

IVD

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: 02_2022

POUŽITÍ:

HEMOCLLOT™ Thrombin Time (T.T.) je souprava pro in vitro kvantitativní stanovení Trombinového času (TT) v lidské citrátové plazmě, za použití koagulační metody manuální nebo automatické.

PRINCIP STANOVENÍ:

Technický:

Při testu Trombinového času se měří čas změny fibrinogenu na fibrin.

Klinický¹:

Trombinový čas se měří pro posouzení abnormalit fibrinogenu a pro detekci inhibitorů trombinu nebo fibrinu. Získané informace jsou užitečné pro evaluaci Diseminované Intravaskulární Koagulace (DIC) a poruch jater.

Prodávající Trombinový čas může být důsledkem:

- Přítomnost aktivity antitrombinu způsobené terapií (např.: Heparin, hirudin, argatroban, dabigatran).
- Přítomnost vysoké koncentrace produktů degradace Fibrinu nebo Fibrinogenu.
- Kvalitativní (dysfibrinogenemie) nebo kvantitativní abnormality Fibrinogenu (deficit, DIC, fibrinolýza, poruchy jater včetně cyrhoty).

Trombinový čas je normální u deficitů Faktoru XIII.

PRINCIP:

HEMOCLLOT™ Thrombin Time (T.T.) je souprava pro test Trombinového času. Měří čas koagulace (CT) indukované a udržované konstantním množstvím bovinního trombinu v přítomnosti vápníku v citrátové plazmě. Čas potřebný pro tvorbu stabilního koagula se měří v sekundách.

REAGENCIE:

R Bovinní Trombin, vysoce purifikovaný s vápníkem, lyofilizován. Obsahuje BSA a stabilizátory.

REF CK011K > 6 lahviček po 2 ml.

REF CK011L > 6 lahviček po 8 ml.

Koncentrace bovinního trombinu (kolem 1,0 NIH/ml) se může lišit mezi šaržemi reagentie a je upravena pro každou šarži aby zajistila vyšší citlivost testu Trombinového času na nízké koncentrace Nefraciovaneého Heparinu (UFH) a Nízkomolekulárního Heparinu (LMWH).

VAROVÁNÍ A UPOZORNĚNÍ:

- Některé reagentie v soupravě obsahují materiál zvířecího původu. Manipulujte s reagentiemi dle všech příslušných bezpečnostních regulací, jako by se jednalo o materiál potencionálně infekční.
- Odpad likvidujte dle příslušných místních platných regulací.
- Používejte pouze reagentie stejné šarže.
- Studie stability prokazují, že reagentie mohou být přepravovány při pokojové teplotě bez degradace.
- Reagentie jsou pouze pro in vitro diagnostické použití v laboratoři.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ:

Opatrně odstraňte zátku, abyste zabránili ztrátě lyofilizovaného produktu.

R Rekonstituujte obsah každé lahvičky:

REF CK011K > 2 ml destilované vody.

REF CK011L > 8 ml destilované vody.

Dobře promíchejte, dokud se produkt nerozpustí. Zamezte tvorbě pěny pro míchání ihned vložte reagentie do analyzátoru, dle aplikačního protokolu pro daný stroj.

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

SKLADOVÁNÍ A STABILITA:

Neotevřené reagentie musí být skladovány při 2 – 8°C v originálním balení. Potom jsou stabilní až do data expirace uvedeném na obalu.

R Stabilita reagentie po rozpuštění, pokud je zamezeno kontaminaci nebo odpařování a pokud je reagentie skladována uzavřená, je:

- 7 dní při 2 – 8 °C
- 48 hodin při pokojové teplotě (18 – 25°C)
- Nemrazte.
- Stabilita v analyzátoru: viz aplikační protokol pro daný analyzátor.

MATERIÁL POTŘEBNÝ, ALE V KITU NEOBSAŽENÝ:

Reagentie:

- Destilovaná voda.
- Specifické kontroly, například:

Název produktu	Referenční číslo
BIOPHEN™ Normal Control Plasma	223201
EASYPLASMA™ Control Set	225601

Odkazujeme na specifický aplikační protokol pro použitý analyzátor.

Materiál:

- Vodní lázeň, semi-automatický nebo automatický přístroj pro koagulační měření.
- Stopky, kalibrované pipety, zkumavky z plastu nebo ze silikonového skla.

VZOREK:

Krev (9 dílů) musí být odebrána do 0,109 M tri-sodného citrátového antikoagulantia (1 díl; 0,109M, 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^{2,3}.

PRŮBĚH TESTU:

Souprava může být použita pro manuální nebo automatickou metodu. Test se provádí při 37°C a čas koagulace je měřen od přidání trombinu.



Pro automatické metody jsou na vyžádání dostupné aplikační protokoly. Odkazujeme na specifické aplikační protokoly a bezpečnostní údaje pro daný analyzátor.

Metoda měření:

1. Pokud je zapotřebí, rozpustěte kontroly dle jejich specifických instrukcí.
2. Plazma by měla být testována **neředěná**.
3. Přidejte následující do reakční kvety nebo zkumavky inkubované na **37°C**:

Reagencie	Objem
Neředěné kontroly nebo vzorky	100 µl
Inkubujte při 37°C po 1 minutu a pak přidejte: (zapněte stopky)	
R Bovinní Trombin inkubovaný na 37°C	100 µl
Zaznamenejte přesný čas koagulace (CT, sekundy)	

Pokud jsou pro metodu potřeba jiné reakční objemy, než jsou uvedeny výše, musí být poměr reagentů a vzorku přísně dodržen. Každý uživatel je odpovědný za validaci provedených změn postupu a za jejich vliv na výsledek.

KONTROLA KVALITY:

Použití kontrol slouží k validaci výsledků a homogenity měření v sérii nebo mezi sériemi pro danou šarži reagentů.

Začleňte kontroly kvality do každé série měření, podle pravidel laboratorní praxe. Každá laboratoř si musí stanovit vlastní přijatelné meze pro svůj analytický systém a ověřit jejich výkon.

VÝSLEDKY:

- Získaný CT pro daný vzorek musí být porovnán s referenčním normálovým rozmezím laboratoře (viz platná místní doporučení).
- Výsledky jsou vypsány v poměru:
TT poměr = Vzorek (CT, sekundy) / Poměr normálů (CT, sekundy)
- Výsledky musí být vyloženy dle pacientova klinického a biologického stavu.

LIMITY:

- Pro zajištění optimálního průběhu testu a pro splnění specifikací by měly být dodrženy instrukce validované výrobcem HYPHEN BioMed.
- Reagencie s neobvyklým vzhledem nebo jeví známky kontaminace, by měly být znehodnoceny.
- Vzorky podezřelého vzhledu nebo vzorky vykazující známky aktivace musí být znehodnoceny.
- Některé léky mohou ovlivnit výsledek TT. Proto by měl být neočekávaný výsledek TT dále zkoumán.
- Výsledek CT ze stejného vzorku a šarže reagentů se může měnit dle použitého analyzátoru a nastavení detekce sraženiny. Dále mohou ostatní okolnosti (např.: různé zdroje Heparinu) ovlivnit výsledek. Každá laboratoř by měla stanovit vlastní terapeutické rozmezí pro heparin.
- Test je citlivý na nízké koncentrace heparinu, pokud je měřená plazma odebrána bez aktivace a uvolnění inhibitor heparin PF4, který je v alpha granulích destiček^{1,2}.

OČEKÁVANÉ HODNOTY:

Trombinový čas je většinou < 25 s.

Příklad: Pro jednu šarži je průměrná hodnota od zdravých dospělých jedinců (n=120) na Sysmex CS-5100 18,5 sekund s SD=0,8 sekund. Každá laboratoř si musí stanovit vlastní rozmezí (normálové rozmezí, citlivost na heparin...) pro každou kombinaci šarže a analyzátoru.

CHARAKTERISTIKA:

- Měření je citlivé na nízké koncentrace plazmatického heparinu (od 0,05 do 0,10 IU/ml UFH a od > 0,20 IU/ml pro LMWH v plazmě).

- Studie výkonu byly provedeny vnitřně na Sysmex CS-5100 na laboratorních kontrolách po dobu 5 dní, 2 série denně a 3 opakování každé série pro hladinu kontroly. Byly získány následující hodnoty:

Kontroly	Intra assay			
	N	Průměr	CV%	SD
Kontrola 1	40	23,9	2,2	0,5
Kontrola 2	40	39,4	1,1	0,4
	Inter assay			
	N	Průměr	CV%	SD
Kontrola 1	30	23,9	1,7	0,4
Kontrola 2	30	40,0	1,2	0,5

- Korelace s referenční metodou Test Trombin Reagent (Siemens) na Sysmex CS-5100, pro T.T. v sekundách:
N = 104 $y = 1,64x - 11,64$ $r = 0,883$

- Interference:
Žádné interference byly zjištěny na přístroji Sysmex CS-5100 s molekulami do níže uvedených koncentrací:

Intralipidy	Hemoglobin	Bilirubin (F/C)
100 mg/dl	1000 ml/dl	F : 30 / C : 60 mg/dl
Apixaban	Rivaroxaban	Edoxaban
400 ng/ml	400 ng/ml	400 ng/ml

Dále odkazujeme na specifický aplikační protokol pro použití analyzátoru.

REFERENCE:

1. Appel I.M. *et al.* Age dependency of coagulation parameters during childhood and puberty. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2012.
2. CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008
3. Woodhams B. *et al.* Stability of coagulation proteins in frozen plasma. Blood coagulation and Fibrinolysis. 2001.

SYMBOLY:

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