



CEPHEN 5

Ref **CK515L**

R1 12 x 5 ml



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

Kit pro stanovení aPTT, tekutá reagensie

Datum revize: 02-2018

POUŽITÍ:

Cephen 5 souprava je určena pro měření aktivovaného parciálního tromboplastinového času (aPTT) manuální, poloautomatickou nebo automatickou koagulační metodou. Reagensie je tekutá, připravená k použití. Tato reagensie má nízkou citlivost na Lupus Antikoagulant a může být pro tuto vlastnost využita v rámci jeho vyšetřování.

SOUHRN:

Prodloužený čas aPTT může být způsoben¹:
Přítomností antikoagulační aktivity navozené terapií (heparin, Hirudin, Argatroban®, Angiox®, antagonisty K vitamin...).
Deficitem faktorů: II, V, X (<5 až 10%), VIII:C, IX, XI, XII (<20%), vysokomolekulárního kininogenu (<5%).
Abnormalitami nebo získaným deficitem při nadměrné konzumaci koagulačních faktorů, při jaterních chorobách...
Přítomností inhibitorů koagulace jako je Lupus antikoagulant nebo autoprotilátky proti koagulačním faktorům.
Nicméně, citlivost reagensie CEPHEN na Lupus Antikoagulant je nižší než jiných rutinních reagensií na aPTT.

PRINCIP:

Měření recalcifikačního času lidské citrátové plazmy za přítomnosti aPTT reagensie (cephalin a aktivátor) zkoumá aktivitu vnitřní koagulační cesty – faktory XII, XI, IX, VIII a společné cesty – X, V, II. Tato reagensie je méně citlivá na Lupus Antikoagulant než rutinní reagensie. Jinak je podobná reagensii CEPHEN LS.

REAGENCIE:

R1 aPTT, tekutá reagensie, připravená k použití.

12 lahviček po 5 ml.

Reagensie obsahuje malé množství azidu sodného (0.9 g/l) – viz Varování a upozornění.

VAROVÁNÍ A UPOZORNĚNÍ:

- Reagensie je biologickým produktem a proto je třeba s ní zacházet jako s možným zdrojem infekce.
- V kontaktu s měděným a oloveným potrubím může obsažený azid sodný vytvářet explozivní azidy kovů.
- Reagensie může být opalescentní, mohou v ní být přítomny bělavé nebo naředlé sedimenty křemičitanů, které se rozpustí po promíchání.
- S odpadními produkty by mělo být zacházeno dle lokálních předpisů.
- Používejte reagensie ze stejné šarže.
- S reagensiemi zacházejte opatrně, aby nedošlo ke kontaminaci během užívání. Pokud je to možné, vyvarujte se odparu během používání redukcí kontaktní plochy tekutiny se vzduchem. Odpařování reagensie může snížit stabilitu reagensie v analyzátoru.
- Pro uchování stability reagensie uzavírejte lahvičky po použití jejich vlastními zátkami.
- Studie, provedené po dobu 3 týdnů při 30°C prokázaly, že reagensie může být přepravována za pokojové teploty po kratší dobu bez poškození.
- Pro diagnostické použití In Vitro.

PŘÍPRAVA REAGENCIE A STABILITA:

R1 Reagent 1: aPTT

Připravena k použití. Před použitím nechte stabilizovat po dobu 30 minut za pokojové teploty (18-25°C) a promíchejte.

Před každým použitím promíchejte.

Stabilita reagensie po otevření, pokud je vyloučena kontaminace nebo odpařování a pokud je skladována v originální lahvičce je:

- **3 měsíce** při 2-8°C
- **7 dní** při pokojové teplotě 18-25°C
- **Nemrazte.**

SKLADOVACÍ PODMÍNKY:

Neotevřenou reagensii skladujte v originálním balení při 2-8°C. Za těchto podmínek je možné ji použít až do data uvedeného na obalu.

REAGENCIE A MATERIÁL POTŘEBNÝ, V KITU NEPŘÍTOMNÝ:

Reagensie:

Destilovaná voda

CaCl₂ 0,025M (AR001A/K)

Specifické kontrolní plazmy pro aPTT a LA jako např.

Název produktu	Referenční číslo
BIOPHEN™ Normal Control Plasma	223201
BIOPHEN™ Abnormal Control Plasma	223301
LA Control Plasma	SC081K/SC082K/SC083K

Materiál:

Vodní lázeň, poloautomatický nebo automatický koagulometr pro koagulační testy.

Stopky, kalibrované pipety.

VZOREK:

Vzorek by měl být odebrán a skladován dle lokálních pravidel (např. v USA CLSI H21-A5).

• **Vzorek:**

Lidská plazma získaná z antikoagulované krve (citrát sodný).

• **Odběr:**

Krev (9 dílů) by měl být odebrána do citrátu sodného (1 díl) (0,109M) přímou venepunkcí. První zkumavka by měla být znehodnocena.

• **Centrifugace:**

Centrifugujte do 2 hodin po odběru. K centrifugaci použijte lokálně validovanou metodu umožňující získání plazmy chudé na destičky např. 15 minut při 2500 g. Centrifugujte za pokojové teploty (18-25°C) a plazmu přeneste do plastové zkumavky.

• **Skladování plazmy^{2,3}:**

- 4 hodiny za pokojové teploty 18-25°C
- 1 měsíc při -20°C
- 18 měsíců při -70°C

Zmrazené vzorky by měly být rozmrazeny rychle při 37°C, poté promíchány a ihned testovány. Případné precipitáty rozmíchejte delším promícháváním.

POSTUP:

Souprava je určena pro koagulační automatizovanou nebo manuální (endpoint) metodu. Test provádějte při 37°C a měření spouštějte přidáním 0,025M chloridu vápenatého.

Automatizované metody:

Aplikace na různé analyzátory jsou na vyžádání dostupné. Viz specifické aplikace pro každý analyzátor.

Pracovní postup:

Dle měřicího principu použitého přístroje je detekována koagulace např. kovovou kuličkou atp.. Plazma musí být testována **neředěná**. Test při manuálním stanovení provedte v plastové zkumavce po inkubaci vzorku při 37°C:

	Objem
Vzorek nebo kontrola, neředěné	100 µl
CEPHEN	100 µl
Smíchejte a inkubujte při 37°C po dobu 3 minut přesně. Potom přidejte (a stiskněte stopky)	
0,025 M chlorid vápenatý	100 µl
přehřátý na 37°C	
Zaznamenejte koagulační čas v sekundách – měření ukončete po vytvoření koagula nebo zastavení kovové kuličky	

Pokud jsou reakční objemy jiné než uvedené výše, musí být poměr reagensů 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 měření v serii nebo mezi seriami a při změně šarže reagensie. Začleňte kontroly kvality do každé serie měření, po změně šarže reagensie, po významné opravě nebo údržbě analyzátoru.

Každá laboratoř si musí stanovit vlastní přijatelné meze pro svůj analytický systém.

VÝSLEDEK:

- Koagulační čas může lehce kolísat dle použitého citrátu.
- Výsledky by měly být interpretovány společně s posouzením klinického stavu pacienta.

LIMITY:

- Pro zajištění optimálního průběhu testu by měly být dodrženy instrukce výrobce Hyphen-BioMed. Laboratoř musí každou změnu postupu validovat.
- Reagent neobvyklého vzhledu, nebo jevící známky kontaminace, by měl být vyloučen z používání.
- Vzorky, které mají známky aktivace koagulace nebo kontaminace by měly být vyloučeny z testování.
- Vzorky neobvyklého vzhledu by neměly být testovány.
- Některé léky mohou ovlivnit výsledky aPTT. Proto by měl být neočekávaný výsledek aPTT dále zkoumán.
- Opakování aPTT stejného vzorku v krátké době se stejnou šarží reagensie může dávat mírně odlišné časy – dle použitého přístroje a jeho nastavení. Proto by měla každá laboratoř stanovit na svoje podmínky obvyklé rozmezí výsledků. Variabilitu mohou též způsobit i další okolnosti – např. různé zdroje použitého heparinu.
- Čas inkubace 3 minuty by měl být preferován. Pokud je potřeba čas inkubace změnit (např. na 4 minuty), musí být tímto postupem měřeny všechny vzorky.
- Reagent dává dobrou citlivost na deficit prekalkreinu (<1%), ale není citlivý pro poklesy koncentrace >5%.
- Při použití přístroje KC 10 nebyly zaznamenány žádné interference do bilirubinu < 0,25 mg/ml, hemoglobinu do <5 mg/ml přidaných do plazmy.
- Reagensie je velmi citlivá na nefrakcionovaný heparin (UFH). Koagulační čas se prodlužuje při přítomnosti 0,1 IU/ml heparinu v plazmě. Tato citlivost je nižší pro nízkomolekulární hepariny (LMWH).
- Citlivost na heparin je u různých reagensů aPTT na trhu rozdílná. Může lehce kolísat v rámci jedné reagensie mezi jednotlivými šaržemi. Citlivost na heparin by proto měla být kontrolována pro každou šarži. Plazma s obsahem heparinu tedy může mít různé výsledky při měření různými typy reagensů a tedy mohou být i jiné poměry Pacient/Normální plazma.

OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY:

Hodnoty aPTT normální plazmy, získané na koagulometru KC 10, jsou obvykle mezi 28 a 37 sekundami. Abnormální výsledky jsou > 40 sekund.

Výsledky pacientů musí být porovnány s normálními hodnotami stanovenými laboratořmi pro jejich podmínky.

Časy aPTT může též ovlivnit použitý antikoagulant – 0,109 M nebo 0,129 M citrát sodný, stejně tak i způsob detekce koagula – optická detekce x mechanická. Koagulační časy jsou kratší při použití 0,109 M citrátu a při optické detekci koagula.

Reagensie může být použita jako součást detekce Lupus Antikoagulant⁴⁻⁵⁻⁶.

LA není v lidské plazmě normálně přítomen.

Koagulační časy normální plazmy jsou <45 sec a normalizovaný poměr je <1,20.

Přesto by si měla každá laboratoř stanovit vlastní normální meze.

CHARAKTERISTIKA:

- Obvyklý výsledek aPTT lidské citrátové plazmy při použití:

Šarže 070622B	KC10	STA-R	ACL700 – výzkumný software, optický mod
N	30	50	30
M - Průměr, sec.	28,8	31,4	25,1
SD sec	2,01	2,66	1,77
M±2SD sec	24,8-32,8	26,1-36,7	21,6-28,6
28,6Min-Max sec	25,6-33,5	27,1-39,2	22,2-30,0

- Koagulační čas získaný reagensi CEPHEN pro normální plazmy má dobou shodu s STA-PTT reagensi, provedeno na STA-R přístroji a s CK-Prest provedeno na přístroji KC10:

	Cephen 070622B STA-R	STA-PTT STA-R	CK Prest KC10
Průměr N=30 normálních, sec	33,2	32,4	32,7
Prů,měr ±2SD	28,1-38,3	28,3-36,5	28,3-37,1

- Byla prokázána dobrá citlivost na hirudin při použití KC10 pro koncentrace 0,1-0,2 µg/ml v plazmě.

REFERENCE:

1. "Hémorragies et thromboses – Du diagnostic au traitement", M.M. Samama et coll., Abrégés, Masson, 2004.
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. W oodhams B. et al. Stability of coagulation proteins in frozen plasma. Blood coagulation and Fibrinolysis. 2001.
4. W HO Reference Panel 1st International Reference Panel for Lupus Anticoagulant NIBSC code: 13/172, 2015.
5. Kumano O. et al. Use of a lupus anticoagulant-resistant routine APTT reagent as a convenient confirmatory test. ISTH 2016 Abstract.
6. H60-A Document: "Laboratory Testing for the Lupus Anticoagulant; Approved Guideline". 2014.

SYMBOLY:

Použité symboly jsou ve shodě s ISO 15223-1.