



BIOPHEN™ Plasminogen LRT

REF 221511

R1 R2 3 x 3 ml

Chromogenní metoda pro měření aktivity Plasminogenu v plazmě s tekutými reagensy připravenými k použití.



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

Revize: 02-2022

POUŽITÍ:

BIOPHEN™ Plasminogen LRT je souprava pro chromogenní manuální nebo automatickou metodu in vitro kvantitativního stanovení aktivity Plasminogenu v lidské citrátové plazmě. Reagencie jsou tekuté, připravené k použití (LRT).

OBSAH A INFORMACE:

Technický^{5,8,13}:

Jako hlavní součást fibrinolytického systému, Plasminogen zymogen je předělán na plasmin specifickými aktivátory a jeho funkční aktivita je měřena chromogenní metodou. Proteolytická aktivita plasminu je cílena hlavně na fibrin (štěpení koagula); Plg je ve fyziologických podmínkách aktivován na plasmin na povrchu fibrinové sraženiny. Aktivita je regulována aktivátory (endogenní uPA, tPA a exogenní streptokináza) a inhibitory (PAI1, α2 antiplasmin).

Klinický^{1-4,6-7,10-13}:

Měření aktivity plasminogenu v lidské plazmě je součástí diagnózy vrozeného nebo získaného deficitu Plg.

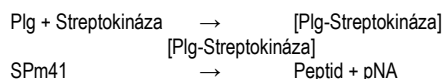
Získané deficity jsou pozorovány například u poruch jater, DIC, sepse, trombolytické terapie plasminovými aktivátory a u hyperfibrinolytickém kontextu.

Vrozené deficity jsou Typu I – kvantitativní, nebo Typ II – kvalitativní. Oba mohou být spojeny zvýšeným trombotickým rizikem, stále diskutováno.

Ligneózní konjunktivitida a léze mohou představovat komplikace spojené s deficitem plasminogenu. Abnormální Plg aktivita je indikátorem fibrinolytických potíží. Koncentrace plasminogenu jsou sníženy u novorozenců.

PRINCIP TESTU:

BIOPHEN™ Plasminogen LRT používá specifickou aktivaci plasminogenu přebytkem streptokinázy a derivátů fibrinogenu bez Plg. Komplex plasminogenu s streptokinázou se chová velmi podobně jako plasmin a hydrolyzuje chromogenní substrát (SPm-41), který uvolňuje paranitroanalín (pNA). Množství pNA ve vzorku, měřené při 405 nm, je přímo úměrné koncentraci Plg ve vzorku.



REAGENCIE:

R1 Streptokináza: Aktivační reagencie obsahující streptokinázu (kolem 15000 IU/ml) a deriváty fibrinogenu bez plasminogenu, stabilizováno, tekutá reagencie. Obsahuje BSA.

R2 Chromogenní substrát specifický pro Plasmin a Plg-Streptokináza komplex (SPm41), kolem 2,5 mg/ml, stabilizováno, tekutá reagencie. Obsahuje kombinaci 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-jedna a 2-methyl-2H-isothiazol-3-jedna (3:1).

R1 R2 3 lahvičky po 3 ml.

VAROVÁNÍ:

- Některé reagencie v soupravě obsahují materiál lidského a zvířecího původu. Lidská plazma použitá pro výrobu byla testována registrovanými metodami a sledována negativní na HIV 1, HIV 2, HCV a povrchový antigen Hepatitidy B. Přesto žádná metoda nemůže zaručit úplnou bezinfekčnost. Proto zacházejte s materiálem jako s potenciálně infekčním se všemi náležitými bezpečnostními opatřeními.
- Odpad likvidujte dle platných lokálních předpisů.
- Používejte pouze reagencie stejné šarže.
- Studie stability prokázaly, že reagencie mohou být převáženy při pokojové teplotě bez degradace.
- Pouze pro in vitro použití v laboratoři vyškoleným personálem.

PŘÍPRAVA REAGENCIE:

R1 R2 Reagencie jsou připraveny k použití; homogenizujte obsah opatrným převrácením, zabraňte tvorbě pěny. Po promíchání vložte do analyzátoru dle aplikačního protokolu.

Pro manuální metodu nechte stabilizovat 30 minut při pokojové teplotě (18-25°C), homogenizujte před použitím.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA:

Neotevřené reagencie skladujte při 2-8°C v originálním balení. Pak jsou stabilní do data expirace uvedeného na obalu.

Distributor: Diagnostica s.r.o., Za Trati 686, Praha 9, Česká republika, tel.+420 266 315 909, Fax.+420 266 316 000, e-mail: info@diagnostica.cz, www.diagnostica.cz



R1 R2 Stabilita otevřené reagentie, pokud je zabráněno kontaminaci nebo odpařování a pokud jsou reagencie skladovány uzavřené, je:

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

Pokud substrát zežloutne, je kontaminovaný. Takový substrát znehodnoťte a načněte novou lahvičku.

REAGENCIE A MATERIÁL POTŘEBNÝ, V KITU NEPŘÍTOMNÝ:

Reagencie:

- Destilovaná voda.
- 20% kyselina octová nebo 2% kyselina citronová (end point metoda).
- Ředidlo: Fyziologický roztok (0,9% NaCl) nebo Imidazolový pufr (AR021K/L/B/M/N). Použijte stejný pufr pro ředění.
- Specifická kalibrační plazma se známou hladinou, jako jsou:

Jméno produktu	Referenční číslo
BIOPHEN™ Plasma Calibrator	222 101
BIOPHEN™ Normal Control Plasma	223 201
BIOPHEN™ Abnormal Control Plasma	223 301

Viz specifický aplikační protokol pro použitý analyzátor.

Materiál:

- Spektrofotometr nebo automatický analyzátor pro chromogenní 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; 0,109M, 3,2%), přímou venepunkcí. První odebraná zkumavka by měla být znehodnocena.

Vzorky by měly být připraveny a skladovány dle relevantních rádí⁹.

Pro skladování plazmy viz reference⁹.

POSTUP:

Souprava je pro kinetickou metodu automatickou nebo manuální (endpoint). Test probíhá při 37°C a zbarvení se měří při 405 nm.

Pro automatickou metodu je k dispozici aplikační protokol pro použitý analyzátor.

Postup:

1. Rozpusťte kalibrátory a kontroly dle jejich specifických instrukcí. Pro stanovení kalibrační křivky naředte kalibrátory v fyziologickém roztoku viz níže („C“ je definován jako koncentrace Plasminogenu).

1:30 ředění odpovídá vyznačené koncentraci (C) Plasminogenu a 1:20 ředění 1,5krát této koncentrace (3C/2).

Připravte 2 ml 150% koncentrace Plasminogenu (C1, v podmínkách měření) použitím 20x C/100 dilučního faktoru.

Kalibrační rozmezí může být připraveno následovně:

Plg	C1	C2	C3	C4	0
% Plg	150	100	75	37,5	0
Objem Kalibrátoru při 150%	500 µl	333 µl	250 µl	1250 µl	0 µl
Objem fyziologického roztoku	0 µl	167 µl	250 µl	375 µl	500 µl

2. Naředte vzorky a kontroly v fyziologickém roztoku, viz tabulka níže:

Vzorek	Katalogové číslo	Ředění
Kontroly	223201 / 233301	1:30
Vzorky	-	1:30

Stanovte kalibrační křivku a proveďte kontrolu kvality. Pokud jsou vzorky skladovány při pokojové teplotě, proveďte měření co nejdříve. Přesné koncentrace kalibrátorů a kontrol jsou uvedeny na letáčích přiložených k balení.

3. Do jamek mikrodestičky nebo zkumavky inkubované na 37°C vložte:

	Mikrodestička	Zkumavka
Vzorky, kalibrátory nebo kontroly, ředěné.	50 µl	200 µl
R1 Streptokináza (inkubovaná na 37°C)	50 µl	200 µl
Míchejte a inkubujte při 37°C 3 minuty přesně		
R2 Chromogenní substrát (inkubovaný na 37°C)	50 µl	200 µl
Reakci zastavíte přidáním:		
Kyseliny citronové (2%)*	50 µl	200 µl
Promíchejte a měřte optickou hustotou při 405 nm proti odpovídajícímu blank vzorku.		

*Nebo kyselinu Octovou (20%). Žluté zbarvení je stabilní 2 hodiny.

Blank vzorku je získán mícháním reagií v opačném pořadí ku měření, tedy kyselina, R2, R1, ředěný vzorek.

Měřte optickou hustotou při 405 nm. Odečtěte od naměřené hodnoty blank vzorku.

Vytvořte blank vzorku pokud je vzorek ikterický lipemický, hemolyzovaný, nebo pokud je jeho barva mimo standard plazmy.

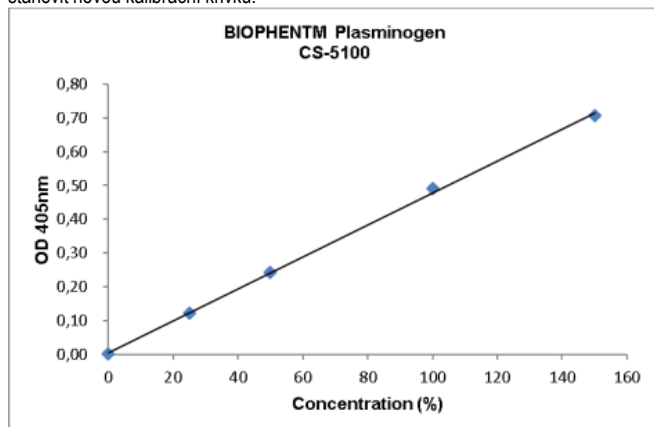
Pokud je potřeba jiného reakčního objemu, než je uvedeno výše, poměry reagií musí být striktně uchovány. Uživatel je zodpovědný za validaci jakýchkoliv změn na proces a jejich dopadu na výsledek testu.

KALIBRACE:

BIOPHEN™ Plasminogen LRT může být kalibrováno pro test aktivity Plasminogenu. Kalibrátor zahrnující kalibrační rozmezí metody je k dispozici od výrobce Hyphen BioMed (viz REAGENCIE A MATERIÁL POTŘEBNÝ, V KITU NEPŘÍTOMNÝ).

- Kalibrační rozmezí je přibližně od 0 do 150% (na CS-sérii).

Kalibrační křivka uvedená níže je pouze příklad. Pro samotné testování je třeba stanovit novou kalibrační křivku.



KONTROLA KVALITY:

Použití komerčních kontrolních materiálů umožní validaci kalibrační křivky stejně jako homogenity v sérii a mezi sériemi při použití stejné šarže reagentie.

Začleňte kontrolu kvality do každé série testů, dle doporučení pro správnou laboratorní praxi. Kalibrace by měla být provedena pro každou sérii testů, nejméně při změně šarže reagentie, po významné opravě nebo údržbě analyzátoru, nebo když jsou výsledky kontrol kvality mimo přijatelné meze.

Každá laboratoř si musí definovat vlastní přijatelné rozmezí a verifikovat průběh měření na analytickém systému.

VÝSLEDEK:

- Pro End-Point metodu vykreslete kalibrační křivku lin-lin s OD 405 nm na ose Y a koncentrací Plasminogenu v % na ose X.
- Pro kinetickou metodu použijte ΔOD_{405} místo OD₄₀₅.
- Koncentrace Plasminogenu (%) v měřeném vzorku je přímo odečtena z kalibrační křivky, pokud je použito standardní ředění.
- Výsledky by měly být hodnoceny dle biologického a klinického stavu pacienta.

LIMITY:

- Pro zajištění optimálního výkonu testu a dodržení specifikací dodržujte technické instrukce validované společností HYPHEN BioMed.
- Jakákoliv reagentie neobvyklého vzhledu nebo vykazující známky kontaminace musí být znehodnocena.
- Jakýkoliv podezřelý vzorek nebo vzorek vykazující známky kontaminace musí být znehodnocen.
- Neočekávaný abnormální výsledek by měl být potvrzen jinou metodou, a/nebo opakovan s novým odběrem a posouzen dle klinického stavu pacienta.

PŘEDPOKLÁDANÉ HODNOTY:

Koncentrace Plasminogenu u dospělých jedinců je přibližně mezi 80 a 140% dle interních dat a literatury (s variacemi s věkem, etnicitou, kouřením, graviditou, antikoncepcí, atd.^{1,3,4,10,11}).

Každá laboratoř si musí stanovit vlastní přijatelné rozmezí.

VLASTNOSTI:

- Nízký detekční limit závisí na použitém analytickém systému (<2% na Sysmex CS-5100).
- Rozmezí měření závisí na použitém analyzátoru (přibližně od 2 do 150% Plasminogenu na Sysmex CS-sérii).
- Studie výkonu byly provedeny interně na Sysmex CS-5100. Rp měření byly použity laboratorní kontroly po dobu 5 dnů, 2 série denně, 2 opakování v sérii pro každou kontrolní hladinu. Následující výsledky byly získány:

Intra assay				
Vzorky	N	Průměr v %	CV%	SD
Hladina 1	10	91,3	0,8	0,8
Hladina 2	10	29,1	1,3	0,4
Inter assay				
Vzorky	N	Průměr v %	CV%	SD
Hladina 1	20	91,5	1,1	1,0
Hladina 2	20	29,1	1,8	0,5

- Korelace s referenční metodou (Berichrom Plasminogen vs BIOPHEN™ Plasminogen LRT na Sysmex CS-5100):
N = 63 $y = 1,11x - 14,20$ $r = 0,995$
- Interference:
Nebyly zaznamenány žádné interference následujících látek do uvedeného množství. Měřeno na Sysmex CS-5100:

Hemoglobin	Bilirubin (C/F)	Intralipidy	Hepariny (UFH/LMWH)
500 mg/dl	28 mg/dl	300 mg/dl	2 UI/ml

Nebyly zjištěny žádné interference koncentrace plazmatického fibrinogenu. Viz specifický aplikační protokol pro použité analyzátor.

LITERATURA:

1. Okamoto A. *et al.* Population-based distribution of plasminogen activity and estimated prevalence and relevance to thrombotic diseases of plasminogen deficiency in the Japanese: the Suita study. *J. Thromb Haemost.* 2003.
2. Duboscq C. *et al.* Plasminogen: an important parameter in septic patients. *Thromb Haemost.* 1997.
3. Azuma H. *et al.* Congenital plasminogen deficiency caused by a Ser572 to Pro mutation. *Blood.* 1993.
4. Tait RC. *et al.* Plasminogen levels in healthy volunteers - influence of age, sex, smoking and oral contraceptives. *Thromb Haemost.* 1992.
5. Ponting CP. *et al.* Plasminogen: a structural review. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 1992.
6. Schutta HS. *et al.* Cerebral venous thrombosis with plasminogen deficiency. *Stroke.* 1991.
7. Aoki N. *et al.* Abnormal Plasminogen: a hereditary molecular abnormality found in a patient with recurrent thrombosis. *J. Clin. Invest.* 1978.
8. Reddy KNN. and Markus G. Mechanism of activation of human plasminogen by streptokinase. *J. Biol. Chem.* 1972.
9. CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008.
10. Kratz A. *et al.* Laboratory Reference Values. *The New England Journal of Medicine.* 2004.
11. Andrew M. *et al.* Maturation of the hemostatic system during childhood. *Blood.* 1992.
12. Mehta R. and Shapiro AD. Plasminogen deficiency. *Haemophilia.* 2008.
13. Shapiro AD. *et al.* An international registry of patients with plasminogen deficiency (HISTORY). *Haematologica.* 2020.

SYMBOLY:

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

R2 H317: Může způsobit alergickou kožní reakci.

