

Erba Protime R

Protrombinový čas



Kat. č.	Název balení	Obsah balení
EHL00045	Erba Protime R	5 x 5 ml



POUŽITÍ

Souprava Erba Protime R je rekombinantní lidský tromboplastin, produkováný genetickou technologií v *Escherichia Coli* určený ke stanovení protrombinového času (PT).

KLINICKÝ VÝZNAM

Erba Protime R je rekombinantní lidský tromboplastin, který obsahuje rekombinantní lidský tkáňový faktor, lipidy a ionty vápníku. První standardizovaný jednostupňový test na stanovení protrombinového času byl vyvinut Dr. Armando Quickem v roce 1935. V současnosti patří k základním screeningovým koagulačním testům pro diagnostiku vrozených a získaných deficiencí faktorů vnější cesty aktivace přeměny protrombinu na trombin (faktory II, V, VII a X). Je rovněž používán při zavedení a dále k monitorování orální antikoagulační terapie a může být rovněž použit pro posouzení syntézy proteinů v játrech při chronickém nebo akutním onemocnění jater. Souprava je zvláště vhodná pro předoperační vyšetření a pro monitorování orální antikoagulační terapie (OAT) a ve spojení s vhodnou deficientní plazmou pro měření aktivity faktorů vnější dráhy. Erba Protime R má zvýšenou citlivost k faktoru VII, v některých případech to může způsobit prodloužení času srážení ve srovnání s tkáňovým tromboplastinem.

PRINCIP METODY

Jednostupňový PT test měří koagulační čas plazmy po přidání zdroje tkáňového faktoru (tromboplastinu) a vápníku. Rekalcifikace plazmy v přítomnosti tkáňového faktoru generuje vznik aktivovaného faktoru Xa. Aktivovaný faktor Xa následně aktivuje přeměnu protrombinu na trombin, který konvertuje fibrinogen na nerozpustnou fibrinovou sráženu. Čas tohoto srážecího procesu se měří buď manuálně nebo pomocí optických či mechanických koagulačních analyzátorů.

SLOŽENÍ ČINIDEL

Erba Protime R je lyofilizovaný, rekombinantní lidský tromboplastin z *Escherichia Coli* s lipidy a stabilizátory. Rozpouštědlo je pufr, obsahuje vápenaté ionty a azid sodný (< 0,01 %) jako konzervační činidlo.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

- Pouze pro *in vitro* diagnostiku. S těmito činidly mohou pracovat pouze atestovaní laboratorní pracovníci.
- Zabraňte požití.
- Pokud pracujete se soupravou, používejte ochranné rukavice.
- Abyste zabránili kontaminaci, používejte čisté nebo jednorázové laboratorní vybavení.
- Případné zbytky činidel je nutno likvidovat podle vlastních interních předpisů v souladu se Zákonem o odpadech..
- Činidla obsahující azid sodný by měla být likvidována velmi opatrně, aby se zabránilo vzniku výbušných kovových azidů. Pokud je odpad likvidován do výlevky, použijte na spláchnutí větší množství vody, aby bylo potrubí řádně propláchnuto.



VAROVÁNÍ – BIOLOGICKÉ RIZIKO

Některá činidla, která jsou součástí této soupravy, obsahují látky lidského a/nebo živočišného původu. Vždy, když je k přípravě těchto činidel vyžadována lidská plazma, je testována na přítomnost protilátek proti HIV 1, HIV 2 a HCV a na HBsAg a tyto výsledky jsou negativní. Nicméně žádná testovací metoda neposkytuje absolutní jistotu, že infekční agens nejsou přítomna. Proto musí být všichni pracovníci při práci s tímto biologickým materiálem mimořádně opatrní a pracovat zcela ve shodě s platnými bezpečnostními opatřeními jako by se jednalo o infekční materiál.

PŘÍPRAVA PRACOVNÍCH ROZTOKŮ

Jedna lahvička činidla Erba Protime R se rozpustí přidávkem celého obsahu jedné lahvičky rozpouštědla stejné šarže. Lahvičku s činidlem nechejte stát při pokojové teplotě (18–25°C) alespoň po dobu 30 minut. Před každým použitím opatrně promíchejte, netřepat. Činidlo vyteperujte na pracovní teplotu.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA PRACOVNÍCH ROZTOKŮ

Neotevřená činidla, skladovaná při 2–8°C, jsou stabilní do data expirace uvedeného na štítku. Po rekonstituci je činidlo stabilní:

- 8 hodin při 37°C
- 24 hodin při 1–25°C
- 10 dnů při 2–8°C

Činidlo nesmí zmraznout!

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU

Při práci používejte plast nebo silikonizované sklo. Krev (9 objemových dílů) odeberte do 3,2 % citrátu sodného (1 objemový díl), který působí jako antikoagulant. Zabraňte hemolýze a kontaminaci vzorku. Podezřelé vzorky nepracovávávejte. Centrifugujte 15 minut při 1 500 x g a odseparujte plazmu. Plazmu skladujte při teplotě 22–24°C. Plazma může být skladována při teplotě -20°C po dobu 2 týdnů nebo při teplotě -70°C po dobu 6 měsíců.

POSTUP MĚŘENÍ

Erba Protime R je jednostupňový PT test, který může být použit na polo-automatickém koagulačním analyzátoru dle níže uvedeného postupu.

Manuální metoda

- Činidlo temperujte 15 minut při 37°C
- Do kyvety – zkumavky napipetujte 50 µl patientské plazmy nebo kontrolní plazmy a temperujte 2 minuty při 37°C.
- Přidejte 100 µl činidla a současně spusťte stopky.
- Zaznamenejte čas nutný pro vytvoření koagula s přesností na 0,1 sekundy.

Automatická metoda

Postupujte podle informací uvedených v Uživatelském manual.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Výsledky mohou být uvedeny v následujících jednotkách, specifikace šarže je součástí balení:

- Sekundy, vyjadřují čas srážení
- Procenta, vyjadřují proporcionální část normální aktivity PT, která se vypočítá z kalibrační křivky (%PT kalibrační plazmy proti změřenému času nutnému pro vznik koagula).
- International Normalized Ratio (INR), počítán jako $INR = (PT/MNPT)^{ISI}$. Kde PT je čas srážení vzorku, MNPT je normální hodnota PT a ISI Mezinárodní Index Senzitivity. Hodnota ISI je uvedena v návodu a je závislá na použité metodě a šarži.

Poznámky:

- INR je jediná oficiálně uznávaná forma výsledků u pacientů s antagonisty vitamínu K. Normální rozsah INR je 0,8–1,2.
- Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní hodnotu MNPT a referenční rozmezí. Hodnota MNPT uvedená v příloženém atestu je pouze orientační, je závislá na podmínkách měření a populaci.
- Převody z procent na INR (nebo zpět) nejsou možné!

REFERENČNÍ HODNOTY

Referenční hodnoty jsou pouze orientační. Každá laboratoř by si měla stanovit normální referenční rozmezí (NRR) pro vlastní přístroj, metodu odběru vzorku a techniku měření. Normální referenční rozmezí by mělo být znovu stanoveno, nebo alespoň ověřeno, vždy při změně šarže činidel 3,6.

Nová hodnota NRR by měla být stanovena v případě jakékoliv změny činidel, vybavení, techniky odběru krve či antikoagulantu.

Čas srážení abnormální plazmy bude záviset na ISI použité šarže činidel.

KONTROLA KVALITY

Pro zajištění odpovídající kvality stanovení je doporučeno použít kontrolní plazmu. Je doporučeno použít dvě hladiny kontroly, jednu blízko normálních hodnot pacientů (Erba Control N, kat. č. EHL00014 nebo Erba Control N Plus, kat. č. EHL00016) a druhou představující patologické hodnoty (Erba Control P, kat. č. EHL00015 nebo Erba Control P Plus, kat. č. EHL00017).

OMEZENÍ

Výsledky PT získané soupravou Erba Protime R mohou být ovlivněny léky či jinými interferujícími látkami. Potenciální limity těchto interferujících látek byly testovány na analyzátoru Diagon (Coag Line) s následujícími výsledky:
Heparin – 1.25 IU/ml
Hemoglobin – 6.8 g/l
Triglyceridy – 9 mmol/l
Bilirubin – 270 µmol/l

VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Tyto výkonnostní charakteristiky byly získány na optickém koagulačním analyzátoru. Výsledky se mohou lišit v případě použití jiného přístroje nebo manuální metody stanovení.

Přesnost

	Intra-assay (N = 10)		Inter-assay (N = 10)	
Střední hodnota (s)	11.3	16.2	11.8	15.5
CV (%)	0.82	0.49	2.54	1.02

LITERATURA

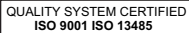
- CLSI: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline- Fifth Edition. CLSI document: H21-A5; 28:5; 2008.
- CLSI: One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test; Approved Guideline-Second Edition. CLSI document: H47-A2; 28:20; 2008.
- De Caterina R et al: Vitamin K antagonists in heart disease: Current status and perspectives (Section III). Thromb Haemost; 110: 1087-1107; 2013.

POUŽITÉ SYMBOLY

LOT	Číslo šarže	IVD	In vitro Diagnostikum	i	Čtěte návod k použití
REF	Katalogové číslo		Výrobce	CONT	Obsah
	Datum expirace		Teplota skladování		



Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbamannheim.com, www.erbamannheim.com



Erba Prottime R

Prothrombin Time



Cat. No.	Pack name	Packaging (Content)
EHL00045	Erba Prottime R	5 x 5 ml



INTENDED USE

Erba Prottime R is a recombinant human thromboplastin reagent, produced by genetic technology in *Escherichia Coli*, with own solvent intended for the determination of the prothrombin time (PT).

CLINICAL SIGNIFICANCE

Erba Prottime R reagent is a recombinant human thromboplastin, which contains recombinant human tissue factor, lipids and calcium ions. The first standardized one-stage prothrombin time test was developed by Dr. Armand Quick in 1935. It has now become the basic coagulation screening test for the diagnosis of congenital and acquired deficiencies of clotting factors from the extrinsic pathway (factors II, V, VII and X). It is also used for the induction and monitoring of oral anticoagulant therapy and can be used to assess the protein synthesis capability of the liver in chronic or acute hepatic disorders.

Therefore, the PT by Erba Prottime R is optimally used for presurgical screening and monitoring for oral anticoagulant therapy (OAT) also. Erba Prottime R reagent with the corresponding deficient plasmas is also suitable for determination of activity of extrinsic coagulation pathway. Furthermore the Erba Prottime R reagent has an increased sensitivity for certain factors, like Factor VII, due to this characteristics in some cases it might cause prolonged coagulation compared with tissue extract thromboplastin.

PRINCIPLE

The one-stage PT measures the clotting time of plasma after adding a source of tissue factor (thromboplastin) and calcium. The recalcification of plasma in the presence of tissue factor generates activated factor Xa. Factor Xa in turn activates prothrombin to thrombin, which converts fibrinogen to an insoluble fibrin clot.

The time of this clotting process is measurable manually or with optical or mechanical coagulation analysers.

COMPOSITION

Erba Prottime R: is a freeze-dried, recombinant human thromboplastin from *Escherichia Coli* with lipids and stabilizers.

Solvent is a buffer, which contains calcium ions and sodium azide (< 0,01 %) as preservative

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- For *in vitro* diagnostic use only. These reagents are to be used by certified medical laboratory personnel only.
- Do not ingest.
- Wear gloves when handling all kit components.
- Only use clean or single use laboratory equipment to avoid contaminations.
- The eventual rest of reagents should be disposed of in accordance with the internal regulations and in compliance with local and national regulations relating to the safe handling of waste.
- Reagents containing sodium azide should be discarded with care to prevent the formation of explosive metallic azides. If waste materials are dumped into sinks, use copious quantities of water to flush plumbing thoroughly.



WARNING – POTENTIAL BIOHAZARDOUS MATERIAL

Some reagents provided in these kits contain materials of human and/or animal origin. *Never human plasma is required for the preparation of these reagents, the plasmas are tested for the antibodies to HIV 1, HIV 2 and HCV, and for hepatitis B surface antigen, and results are found to be negative. However, no test method can offer complete assurance that infectious*

agents are absent. Therefore, users of reagents of these types must exercise extreme care in full compliance with regulatory safety precautions in the manipulation of these biological materials as if they were infectious.

WORKING REAGENT

Erba Prottime R reagent is dissolved with the entire contents of one vial Solvent of the same lot. Keep the reagent at room temperature (20–25°C) for at least 30 minutes for proper reconstitution. Swirl the vial gently, horizontally more times (5–10) before using it, but do not shake. Wait until the reagent reaches the working temperature!

STABILITY AND STORAGE

The unopened reagents are stable till the expiry date stated on the bottle and kit label when stored at 2–8°C.

Once reconstituted, the reagent remains stable for:

- 8 hours at 37°C
- 24 hours at 15–25°C
- 10 days at 2–8°C.

Do not freeze!

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

Plastic or siliconised glass should be used throughout.

Blood (9 parts) should be collected into 3.2 % sodium citrate anticoagulant (1 part). Avoid hemolysis and contamination by tissue fluids. Samples that have less than 90 % of the expected fill volume should be rejected. Centrifuge blood for 15 minutes at 1500 x g. Test within 2 hours if samples are held at 22–24°C. If testing is not completed within 24 hours, plasma should be frozen at -20°C for up to two weeks or -70°C for up to 6 months.

PROCEDURE

Erba Prottime R is a one-stage PT test which can be used with semi-automated coagulation analysers according to the protocol detailed below.

Manual Method

- Incubate reagent at 37°C for 15 minutes.
- Add 50 µl of the patient plasma or control plasma into a reaction tube and incubate at 37°C for 2 minutes.
- Add 100 µl of reagent and start simultaneously a timer.
- Note the time for clot formation to the nearest 0.1 seconds

Automated method

Refer to the instrument's operator's manual.

INTERPRETATION OF RESULTS

Erba Prottime R test results can be reported in the following units, lot specific sheet in the box will help in the calculation:

- Seconds, which means the observed clotting time.
- Percentage, which means the proportional part of the normal PT activity, which is calculable from the calibration curve. Method dependent master curve in the issued sheet can be used for the calculation.
- International Normalized Ratio (INR), calculated as $INR = (PT/MNPT)^{ISI}$. Where PT means the clotting time of the sample, MNPT means Mean Normal Prothrombin Time and ISI means International Sensitivity Index. The ISI method dependent values in the lot specific values sheet can be used for the calculation.

Notes:

- The INR is the only officially recognized dimension of the result at vitamin K antagonists treated patients. The normal range expressed in INR is 0,8–1,2.
- Every laboratory should determine its own MNPT value and reference range. MNPT value in the issued sheet is only for information, because it depends on the measuring circumstances and population.
- Accurate and general conversion of percentage into INR (or back) is not possible!

REFERENCES VALUES

These values are intended as a guideline only. Each laboratory should establish a Normal Reference Range (NRR) using instrumentation, blood collection methods, and testing techniques used in that laboratory. The NRR should be reestablished or at least verified when changing lot numbers of the same reagent. 3,6 A new NRR should be established with any change in reagents, instrumentation, blood collection techniques, or anticoagulant.

The clotting time of abnormal plasmas will depend on the ISI of the reagent lot in use.

QUALITY CONTROL

Each laboratory should establish a quality control program.

To ensure adequate quality, controls plasma are recommended. It is suggested to use two levels of control, one close to the normal patient values (Erba Control N, Cat. No.: EHL00014 or Erba Control N Plus, Cat. No.: EHL00016) and the second representative the pathologic values (Erba Control P, Cat. No.: EHL00015 or Erba Control P Plus, Cat. No.: EHL00017).

LIMITATIONS

The result of PT test with Erba Prottime R reagent may be influenced by drugs and other pre-analytical interfering agents. The potential limits of these parameters were tested on Diagon analysers (Coag Line) with the following result:

Heparin – 1.25 IU/ml
Hemoglobin – 6.8 g/l
Triglycerides – 9 mmol/l
Bilirubin – 270 µmol/l

PERFORMANCES

These performances have been obtained using an optical coagulation analyzer. Results may vary if a different instrument or manual procedure is used.

Precision:

	Intra-assay precision (N = 10)		Inter-assay precision (N = 10)	
Mean (s)	11.3	16.2	11.8	15.5
CV (%)	0.82	0.49	2.54	1.02

REFERENCE

- CLSI: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline- Fifth Edition. CLSI document: H21-A5; 28:5; 2008.
- CLSI: One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test; Approved Guideline-Second Edition. CLSI document: H47-A2; 28:20; 2008.
- De Caterina R et al: Vitamin K antagonists in heart disease: Current status and perspectives (Section III). *Thromb Haemost*; 110: 1087-1107; 2013.

USED SYMBOLS

LOT	Lot Number	IVD	In vitro Diagnostics	i	See Instruction for Use
REF	Catalogue Number	Manufacturer	Manufacturer	CONT	Content
Expiry Date	Expiry Date	Storage Temperature	Storage Temperature		

Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbamannheim.com, www.erbamannheim.com

