

Bestimmung der Prothrombinzeit

5

• Test-Kit enthält:

- 6 x 5 ml Fläschchen mit Reagenz 1 (STA® - NeoPTimal 5)
- 6 x 5 ml Fläschchen mit Reagenz 2 (Solvent)

(REF 01163)

10

• Test-Kit enthält:

- 12 x 10 ml Fläschchen mit Reagenz 1 (STA® - NeoPTimal 10)
- 12 x 10 ml Fläschchen mit Reagenz 2 (Solvent)



(REF 01164)

20

• Test-Kit enthält:

- 12 x 20 ml Fläschchen mit Reagenz 1 (STA® - NeoPTimal 20)
- 12 x 20 ml Fläschchen mit Reagenz 2 (Solvent)

(REF 01165)

März 2017 Deutsch

1/ ANWENDUNGSZWECK

STA® - NeoPTimal enthält Thromboplastinreagenz aus Kaninchenhirnextrakt für die quantitative Bestimmung der Prothrombinzeit in humanen Citratplasma an Geräten der STA-R®, STA Compact® und STA Satellite® Linien. STA® - NeoPTimal wird als Screening-Test des extrinsischen Gerinnungspfad und zur Überwachung der oralen Antikoagulationstherapie mit Vitamin-K-Antagonisten mittels INR (International Normalized Ratio) eingesetzt.

2/ ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Die Prothrombinzeit ist ein Screening-Test in der Gerinnung.

- Eine verlängerte PT wird bei unterschiedlichen klinischen Situationen beobachtet (1), wie etwa:
 - Mängel an den Faktoren II, V, VII, X oder Fibrinogen (3)
 - Leberinsuffizienz (Zirrhose, Hepatitis) (10)
 - Behandlung mit Vitamin-K-Antagonisten (AVK) (5)
 - DIC (3).
- Außerdem wird PT bei Patienten, Vitamin-K-Antagonisten Therapie zur Berechnung des INR (4, 14). Der INR-Wert entspricht dem Verhältnis der Patienten-PT des Standard-PT potenziert mit dem ISI-Wert (International Sensitivity Index) des verwendeten Thromboplastins:

$$INR = \left(\frac{PT \text{ des Patienten}}{\text{Mittlere normale PT}} \right)^{ISI}$$

Der ISI-Wert eines bestimmten Thromboplastins wird folgendermaßen ermittelt: Normale Plasmaproben und Proben von Patienten mit AVK-Therapie werden mit dem Thromboplastin und der Internationalen Referenzpräparation für Thromboplastin getestet (2).

3/ TESTPRINZIP

Das Testprinzip beruht auf der Verwendung von Calciumthromboplastin zur Messung der Gerinnungszeit des Plasmas des Patienten und dessen Vergleich mit einem normalen Standard. Der Test misst insgesamt die Aktivität des Gerinnungsfaktors II (Prothrombin), des Faktors V (Proakzelerin), des Faktors VII (Proconvertin), des Faktors X (Stuart-Faktor) und des Faktors I (Fibrinogen).

4/ KOMPONENTEN

Jedes STA® - NeoPTimal Test-Kit enthält ein mit Barcode versehenes Sollwertblatt. Dieser Barcode enthält die folgenden Informationen: Chargennummer, Codenummer des Test-Kits, Codenummer der Reagenzien, Verfallsdatum, ISI-Wert und Kalibrationsdaten für die Ergebnisausgabe in Prozent der Norm.

- **Reagenz 1:** STA® - NeoPTimal, lyophilisiertes Thromboplastin, gewonnen aus Kaninchenhirn-Extrakt. Der ISI-Wert von STA® - NeoPTimal der von Geräten der STA®-Linie mit einem Sekundärstandard des RBT-Standards (Rabbit Brain Thromboplastin) korreliert wird, ist in dem Barcode-Einsatz in dem Kästchen angegeben. Der ISI-Wert STA® - NeoPTimal liegt nahe 1,0.
- Das Reagenz von STA® - NeoPTimal enthält einen spezifischen Heparininhäbitor. Jede Verlängerung der Prothrombinzeit steht daher in Zusammenhang mit einem tatsächlichen Mangel an Faktor II, V, VII, X und/oder Fibrinogen (siehe Abschnitt 11).
- **Reagenz 2:** Solvent mit Calcium, 5 ml, 10 ml oder 20 ml pro Fläschchen, je nach Packungsgröße.

Reagenz 2 enthält Nickelsulfathexahydrat. In der vorliegenden Konzentration (< 0,1 %) wird dieses Reagens als sensibilisierend eingestuft.

Achtung
Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen.

Das Reagenz 2 enthält Natriumazid (< 1 g/l) als Konservierungsmittel. Reagenzien, die Natriumazid enthalten sollten vorsichtig entsorgt werden, um die Bildung explosiver Metallazide zu verhindern. Beim Entsorgen von Restflüssigkeiten über den Ausguss immer reichlich Wasser nachfließen lassen, um die Abwasserrohre gründlich durchzuspülen.

Bestimmte Reagenzien dieses Test-Kits enthalten Produkte humanen und/oder tierischen Ursprungs. Wenn Humanplasma für die Zubereitung dieser Reagenzien benutzt wurde, wurde nur Material verwendet, welches negativ auf HBs Antigen, Anti-HCV Antikörper, Anti-HIV 1 und Anti-HIV 2 getestet wurde. Dennoch kann kein Test mit absoluter Sicherheit die Abwesenheit infektiöser Stoffe garantieren. Deshalb müssen Reagenzien biologischen Ursprungs unter Berücksichtigung der bei potentiell infektiösen Produkten üblichen Vorsichtsmaßnahmen gehandhabt werden.

5/ VORSICHTSMAßNAHMEN

- Die ungeöffneten Test-Kits sind bei 2 – 8 °C aufzubewahren. Nur zur *in vitro* Diagnostik. Die Reagenzien sollten nur von ausgebildetem und befugtem medizinischem Laborpersonal gehandhabt werden. Bitte achten Sie darauf, Reagenz-1-Fläschchen mit Reagenz-2-Fläschchen derselben Charge zu mischen.
- Lesen Sie vor Testbeginn sorgfältig das "Referenzhandbuch" des zu verwendenden Geräts. Bitte behandeln Sie sowohl die Reagenzien, als auch die Patientenproben mit größtmöglicher Sorgfalt. Die Entsorgung muss entsprechend den lokalen Vorschriften durchgeführt werden.
- Der Rührstab, der in das Reagenzfläschchen zu geben ist, sollte nie eine Kontaminationsquelle darstellen. Es ist sicherzustellen, dass die Rührstäbe nicht kontaminiert sind. Die Rührstäbe sind mit destilliertem Wasser abzuspülen und vollständig zu trocknen. Alle Spuren von Feuchtigkeit sind vor der Überführung der Rührstäbe in die Reagenzfläschchen zu entfernen. Außerdem müssen die Rührstäbe einmal pro Woche wie folgt dekontaminiert werden:
 - die Stäbe in ein Gefäß mit STA® - Desorb U (REF 00975) geben und 5 Minuten unter kontinuierlichem Rühren einwirken lassen;
 - um die Stäbe vom Gefäß mit STA® - Desorb U zu einem Gefäß mit destilliertem Wasser zu transferieren, ist eine Pinzette zu verwenden; Anschließend die Stäbe weitere 5 Minuten im Magnetrührer eingetaucht lassen und danach diesen Spülschritt mit einem anderen Gefäß wiederholen, das ebenfalls mit destilliertem Wasser gefüllt ist;
 - schließlich die Rührstäbe aus dem Gefäß mit destilliertem Wasser entfernen und die Stäbe so lange trocknen, bis alle Feuchtigkeitsspuren entfernt sind.

6/ PROBENTNAHME UND BEHANDLUNG

Die Empfehlungen für die Blutabnahmen zur Blutgerinnungsanalysen müssen befolgt werden.

- Entnahme: 9 Vol. Blut auf 1 Vol. 0,109 M Trinitratricitrat.
- Zentrifugierung: 15 Minuten bei 2000 – 2500 g.
- Aufbewahrung des Plasmas: 24 Stunden bei 20 ± 5 °C (13).
Nicht halten bei 2 – 8 °C (1).

7/ VORBEREITUNG UND AUFBEWAHRUNG DER REAGENZIEN

7.1 Vorbereitung

Den Inhalt eines Fläschchens mit Reagenz 2 (R2) in das Fläschchen von Reagenz 1 (R1) aus dem gleichen Charge überführen. Die Suspension 30 Minuten lang bei Raumtemperatur (18 – 25 °C) stehen lassen. **Das Reagenz-1-Fläschchen dann für 10 Sekunden sehr kräftig schütteln, um eine homogene Suspension zu erhalten.** Einen Rührstab (REF 27425) in das Gefäß geben (STA® - NeoPTimal 5, 10 oder 20), und einen neuen STA® - Reducer (REF 00797 (STA® - NeoPTimal 5) oder REF 00801 (STA® - NeoPTimal 10)) und die Verschlusskapsel verwenden (STA® - NeoPTimal 5 oder 10).

7.2 Aufbewahrung

Im ungeöffneten Originalzustand sind die Reagenzien bei 2 – 8 °C bis zu dem auf dem Test-Kit angegebenen Verfallsdatum haltbar. Nach der Rekonstitution ist das STA® - NeoPTimal 5 haltbar:

- mit eingesetztem Rührstab, STA® - Reducer und angebrachtem gelochten Verschluss:
 - 48 Stunden mit STA-R® und STA Compact® Familien
 - 4 Tage auf STA Satellite® Familie.
- im versch. abgefüllten Originalfläschchen (nicht aufsetzen einen STA® - Reducer): 8 Tage bei 2 – 8 °C.

Nach der Rekonstitution ist das STA® - NeoPTimal 10 haltbar:

- mit eingesetztem Rührstab, STA® - Reducer und angebrachtem gelochten Verschluss:
 - 48 Stunden mit STA-R® und STA Compact® Familien
 - 4 Tage auf STA Satellite® Familie.
- mit eingesetztem Rührstab:
 - 48 Stunden mit STA-R® und STA Compact® Familien.

Nicht einfrieren.

Hinweis: Unter Berücksichtigung der vielfältigen Kombinationen von Lagerungsbedingungen, die denkbar sind (zum Teil Lagerung auf dem Gerät, zum Teil im Kühlschrank), sollte jedes Labor die Reagenzienstabilität unter den vor Ort gebräuchlichen Bedingungen kontrollieren. Die somit festgelegte Stabilität sollte nicht über der wie oben angegebenen liegen, welche unter kontrollierten Bedingungen erhoben wurden. Werden die Reagenzien bei 2 – 8 °C gelagert, sollten diese vor der Verwendung 30 Minuten bei Raumtemperatur (18 – 25 °C) erwärmt werden.

8/ ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE REAGENZIEN UND MATERIALIEN

- STA® - Owren-Koller (REF 00360).
- STA® - System Control [N] + [P] (REF 00678), STA® - Coag Control [N] + [P] (REF 00679), STA® - Routine QC 2 ml (REF 00554) oder STA® - Routine QC [P] PLUS (REF 00714): normalen und anormalen Kontrollen.
- STA-R® oder STA Compact® Familien (STA® - NeoPTimal 5, 10 oder 20).
- STA Satellite® Familie (STA® - NeoPTimal 5 oder 10).
- STA® - mini Reducer (REF 00797) für STA® - NeoPTimal 5.
- STA® - maxi Reducer (REF 00801) für STA® - NeoPTimal 10.
- Rührstab (REF 27425) für STA® - NeoPTimal 5, 10 oder 20.
- Übliche klinische Laborausrüstung und Materialien.

9/ TESTDURCHFÜHRUNG

9.1 Kalibration

Die Präkalibration gilt für alle Fläschchen derselben Charge. Um die Kalibrationsdaten in das Gerät einzulesen, wird der auf dem Sollwertblatt aufgedruckte Barcode am Barcodescanner des Geräts vorbeigeführt. Die Kalibration wird nach der Bestimmung des PT mit zwei Kontrolllösungen für die ganze Charge validiert. Die Kalibrationskurve kann auf dem Bildschirm des Instruments im Menü "Calibration" angezeigt werden (siehe "Referenzhandbuch").

9.2 Plasmaproben

Die Plasmaproben werden unverändert verwendet. Sie werden in das Gerät geladen (siehe "Referenzhandbuch" des verwendeten Geräts). Den (die) an den Patientenplasmen durchzuführenden Test(s) ausführen.

9.3 Kontrollen

Die Kontrollen sind notwendig, um die Richtigkeit und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu überprüfen. Zwei unterschiedliche Kontrollplasmen sollten verwendet werden. Diese Kontrollen vorbereiten und die Informationen vom Barcode des Sollwertblatts in das Gerät einlesen. Die Kontrollen werden unverändert verwendet.

9.4 Bestimmung

Die Durchführung des Tests ist in den "Standardized Operating Procedures" des zu verwendenden Geräts beschrieben. Das Gerät startet den Messdurchgang, sobald der Ladevorgang abgeschlossen ist.

10/ ERGEBNISSE

Der Prothrombinzeit-Gehalt der getesteten Plasmen wird in der Einheit angezeigt, die von dem Anwender gewählt wurde (Sekunden, INR, %, Verhältnis), und zwar auf dem Display "Test Status/Test Panel" des Messgeräts (siehe "Referenzhandbuch"). Das Ergebnis muss in Abhängigkeit vom klinischen und biologischen Zustand des Patienten interpretiert werden.

Es ist sicherzustellen, dass die Kontrollwerte innerhalb des in der Packungsbeilage ausgewiesenen Bereichs liegen. Wenn das Gerät anzeigt, dass Resultate der Kontrollen außerhalb der auf dem Sollwertblatt angegebenen Bereiche liegen, ist die einwandfreie Funktion des Tests zu überprüfen: Arbeitsbedingungen, Reagenzien, Plasmaproben, usw. Gegebenenfalls sind die Bestimmungen wiederholen.

11/ ANWENDUNGSGRENZEN DER METHODE

• Probe

Die geringste Gerinnung (Mikro-Gerinnung) führt zu einer erheblichen Verkürzung der gemessenen Zeiten (autokatalytische Aktivierung aller Faktoren), während die ausgiebige Gerinnung die Gerinnungszeiten wegen des Verbrauchs von Faktoren und Fibrinogen verlängert.

• Antikoagulans

Bei Proben aus Antikoagulans/Blut muss immer das richtige Volumenverhältnis von 1:9 erhalten bleiben. Im Falle einer erheblichen Veränderung beim Hämatokrit ist die Menge des Antikoagulans entsprechend anzupassen.

• Heparins

Die STA® - NeoPTimal-Methode ist unempfindlich gegenüber folgenden Substanzen: unfractioniertes Heparin (bis zu 1,0 IU/ml) und niedermolekulares Heparin (bis zu 1,5 IU anti-Xa/ml). Die Tests wurden gemäß der CLSI-Richtlinie EP07-A2 ausgeführt (9).

• Thrombin und Faktor Xa-Inhibitoren

Sind diese Inhibitoren in zu testenden Probe enthalten, können verlängerte Prothrombinzeiten ermittelt werden (6, 8).

12/ REFERENZINTERVALL

Die Normwerte unterscheiden sich, je nach verwendeten Reagenzien, Geräteausstattung und technischen Verfahren, von einem Labor zum anderen. Aus diesem Grund muss jedes Labor aufgrund der Geräteausrüstung und praktizierter Verfahren seine eigenen zu erwartenden Normwerte definieren.

Wenn PT-Werte als Prozentsatz der Normaktivität angegeben werden, sollten die üblicherweise zu erwartenden Normwerte über 70 % (18) liegen. Über 100 % liegende Werte haben keine pathologische Relevanz. Unter anderem wurden 125 humane Plasmaproben gemessen, deren Ergebnisse mutmaßlich im Normalbereich lagen. Die Messungen wurden mit STA® - NeoPTimal auf STA-R®, STA Compact® und STA Satellite® durchgeführt. Der Mittelwert für die PT wurde gemäß den CLSI Richtlinien EP28-A3c (19) ermittelt und mit 13,5 ± 1,8 Sekunden angegeben.

13/ VITAMIN-K-ANTAGONISTEN THERAPIE

- Vitamin-K-Antagonisten senken den Plasmaspiegel von Faktor II (Prothrombin), VII (Proconvertin), X (Stuart-Faktor) und IX (Antihämophilie-Faktor B).
- Für die Bewertung der Therapie mit Vitamin-K-Antagonisten verweisen wir auf die derzeitigen Empfehlungen.

14/ LEISTUNGSDATEN

Für die laborinterne Überprüfung von Reproduzierbarkeit Messgenauigkeit wurden unterschiedliche Proben verwendet. Die mit STA® - NeoPTimal von STA-R® sind unten aufgeführt. Untersuchungen der Messgenauigkeit wurden laut EP05-A3 entsprechend der CLSI Richtlinie durchgeführt (16).

Probe	Wiederholbarkeit		Genauigkeit innerhalb des Labors	
	Probe 1	Probe 2	Probe 1	Probe 2
n	80	80	80	80
\bar{X} (s)	15,0	28,0	15,0	28,0
SD (s)	0,12	0,36	0,19	0,57
CV (%)	0,8	1,3	1,2	2,0

15/ VERGLEICHSMETHODE

STA® - NeoPTimal wurde in einer Korrelationsstudie mit 403 Proben auf Thromborel® S von Siemens getestet. Folgende Ergebnisse wurden erzielt: r = 0,98, Steigung = 1,09, Y-Abschnitt = -0,01.

LITERATUR

1. GJOINNESS H, FAGERHOL M.K. "Studies on coagulation and fibrinolysis in pregnancy". Acta Obstet. Gynecol. Scand., 54, 363-367, 1975.
2. BEESER H. "Critical evaluation of the so far experience using the WHO model of prothrombin time calibration and outlook for further development". Haemostasis, 18, suppl., 2, 181-182, 1968.
3. LUSHER J.M. "Screening and diagnosis of coagulation disorders". Am. J. Obstet. Gynecol., 175, 778-783, 1996.
4. BCSH. "Guidelines on oral anticoagulation; third edition". Br. J. Haematol., 101, 374-387, 1998.
5. RILEY R.S., ROWE D., FISHER L.M. "Clinical utilization of the international normalized ratio (INR)". J. Clin. Lab. Anal., 14, 101-114, 2000.
6. FENYVESI T., JOERG I., HARENBERG J. "Influence of Lepirudin, Anagraton, and Melagatran on prothrombin time and additional effect of oral anticoagulation". Clin. Chem., 48, 1791-1794, 2002.
7. TOBU M., IQBAL O., MESSMORE H.L. et al. "Influence of different anticoagulant agents on fibrinogen peptide A generation". Clin. Appl. Thromb. Hemost., 9, 273-292, 2003.
8. TOBU M., IQBAL O., HOPPENSTEADT D. et al. "Anti-Xa and anti-IIa drugs alter international normalized ratio measurements: Potential problems in the monitoring of oral anticoagulants". Clin. Appl. Thromb. Hemost., 10, 301-309, 2004.
9. CLSI Document EP07-A2: "Interference testing in clinical chemistry; approved guideline". Second Edition, 25, 27, 2005.
10. TROTTER J.F. "Coagulation abnormalities in patients who have liver disease". Clin. Liver Dis., 10, 665-678, 2006.
11. KAMAL A.H., TEFFERI A., PRUTHI R.K. "How to interpret and pursue an abnormal prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and bleeding time in adults". Mayo Clin. Proc., 82, 864-873, 2007.
12. WEBSTER P.S. et al. "Interaction of daptomycin with two recombinant thromboplastin reagents leads to falsely prolonged patient prothrombin time/International Normalized Ratio results". Blood Coagulation and Fibrinolysis, 19, 32-35, 2008.
13. CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". Fifth Edition, 28, 5, 2008.
14. HOLBROOK A., SCHULLMAN S., WITT D.M., VANDYCK P.O., FISH J., KOVACS M.J., SVENSSON P.J., VEENSTRA D.L., CROWTHER M., GUYATT G.H. "Evidence-based management of anticoagulant therapy: Antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American college of chest physicians, evidence-based clinical practice guidelines", 141, e152S-e184S, Chest 2012.
15. EBY C. "Novel anticoagulants and laboratory testing", International Journal of Laboratory Hematology, 95, 262-268, 2013.
16. CLSI Document EP05-A3: "Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline". Third Edition, 34, 13, 2014.
17. ADCOCK D.M., GOSELIN R. "Direct Oral Anticoagulants (DOACs) in the Laboratory: 2015 Review". Thrombosis Research, 136, 7-12, 2015.
18. SAMPOL J., ARNOUX D., BOUTIERE B. "Manuel d'hémostase". Paris: Editions scientifiques et médicales Elsevier, 147-163, 1995.
19. CLSI Document EP28-A3c: "Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline - Third Edition, 30, 28, 2010.