

CONTINUT		
REF	3510101 PT-HS	10 x 5 ml
Numai pentru diagnosticarea <i>in vitro</i>		

PT-HS

*PT – Timp de protrombina
Timp de protrombina cu calciu
Tromboplastina calcica*

PRINCIPIUL

Capacitatea sangelui de a forma cheaguri de fibrina pe calea extrinseca a hemostazei necesita tromboplastina, calciu, factori I, II, V, VII si X^(4,5). Reactivul PT-HS furnizeaza o sursa de tromboplastina si calciu care activeaza specific factorul VII in calea de coagulare extrinseca. Factorii implicati in coagularea intrinseca sunt ignorati⁶. De aceea, deficientele caii intrinsece prin factorii (VIII, IX si XII) NU sunt detectate folosind testul PT.

COMPOZITIA REACTIVULUI

PT-HS Tromboplastina liofilizata din creier de iepurie si clorura de calciu. Solutii tampon si conservanti (0.05% azida de sodiu). International Sensitivity Index (ISI): 1.07 – 1.39.

DIL Diluent pentru reactivul liofilizat

Optionale, neincluse in trusa.

Clorura de calciu (0.02M) Ref 3510401 si 3510411 Plasma Control Level 1 Ref. 3520101, Level 2 Ref. 3520201, Level 3 Ref. 3520301.

PASTRARE SI STABILITATE

Reactivul este stabil pana la data inscrisa pe ambalaj daca se respecta conditiile de pastrare la 2-8 °C.

Reactivul reconstituit este stabil 5 zile la 2-8 °C daca se pastreaza in flaconul original.

RECONSTITUIRE SI METODA DE LUCRU

Reconstituiti continutul fiecarei fiole cu cate o fiola de Diluent decicat.

Puneti la loc dopul si amestecati bine continutul fiolei. Lasati sa stea cel putin 30 minute pentru a asigura completa hidratare a continutului.

PROBELE

Plasma de tesare trebuie preparata din sange integral recoltat fara heparina, EDTA sau oxalati.

1. Recoltarea sangelui Folositi un tub de plastic sau o seringa siliconizata. Transferati imediat 9.0 mL de sange intr-un tub continand 1.0 mL de solutie de citrat de sodiu 3.2% sau 3.8%.

Puteti folosi si un tub vacuumat comercial continand solutie de citrat de sodiu 3.2% sau 3.8%.

Asigurati-va ca recoltarea s-a facut corect si ca este respectata proportia de 9 parti sange la 1 parte citrat. Nu trebuie sa folositi o branza heparinizata sau o linie de transfer heparinizata. Se recomanda, ca in general pentru testele de coagulare sa fie folosit al doilea sau al treilea tub in ordinea recolatarii.

2. Prepararea plasmei

Amesecati bine prin inversie si centrifugati la 2500 x g pentru 15 minute cat ai repede dupa recoltare. Daca probele nu sunt procesate imediat, transferati plasma intr-un tub de plastic. Plasma care este in mod clar hemolizata sau contine mi mult de 10000 plachete pe milimetrul cub sau celule rosii nu este corespunzatoare testarii.

3. Pastrarea plasmei

Probele de plasma pot fi pastrate la temperatura camerei (18 - 26°C) pana la 2 ore; refrigerate (2 - 8°C) pana la 4 ore; inghetate la -20°C pana la 2 luni, iar la -70°C pana la 6 luni. Plasma poate fi recentrifugata inainte de congelare, pentru a ne asigura ca toate celulele au fost indepartate. Dezghetati rapid probele inghetate si testati-le imediat. Probele NU trebuie sa intre in contact cu sticla. NU incubati probele la 37°C pentru mai mult de 5 minutes pentru a evita pierderea factorilor V si VII. Pierderea factorului V poate prelungi PT.

INTERFERENTE

Timpul de coagulare PT poate fi prelungit de substante ce contin corticosteroizi, EDTA, contraceptive orale, asparaginaza, cloribrat, eritromicina, etanol, tetraciclina si alti anticoagulanti ce contin heparina si Coumadin.

PT poate fi scurtat de substante ce includ antihistaminicele, barbituricele, cafeina, contraceptivele orale, fenobarbitalul si vitamina K¹⁰.

ECHIPAMENT NECESAR DAR NELIVRAT

Coagulometru sau ceas de laborator si baie de apa termostata la 37°C ± 0.5°C. Echipament general de laborator.

PROCEDURA

Procedura este aplicabila procedurilor manuale sau semi-automate.

Pentru rezultate optime se recomanda lucrul in duplicat.

1. Preincubati reactivul PT reconstituit la 37°C pentru cel putin 10 minute. Mentineti suspensia reactivului prin amestecare magnetica sau prin inversie, imediat inainte de utilizare.
2. Pipetati 100 µL de plasma pacient sau plasma de control in cuveta de test.

3. Incubati la 37°C pentru 1 minut.
4. Adaugati rapid 200 µL de reactiv PT preincubat, pornind simultan cronometrul.
5. Notati timpul de coagulare, in secunde.

Pentru informatii si mai detaliate consultati manualul aparatului folosit.

CALCULE

Calculati media timpului de coagulare al probelor efectuate in duplicat, precum si a controalelor. Diferentele intre rezultatele efectuate in duplicat nu trebuie sa fie mai mari de 5%.
Daca este necesar repetati testarea.

Rezultatele testelor PT pot fi raportate dupa cum urmeaza: (1) timp in secunde, necesar pentru formarea cheagului, (2) raport PT (PR)* referitor la timpul de coagulare la pacientului raportat la timpul normal de coagulare, (3) procent de activitate, sau (4) International Normalized Ratio (INR). Calculul ca INR se recomanda pentru utilizarea la pacientii aflati sub terapie cu anticoagulante.

$$\text{RaportPT (PR)} = \text{PT pacient} / \text{PT plasma normala}$$

INR – Raport international normalizat

Comitetul International pentru Standardizare in Hematologie si Comitetul International pentru Tromboza si Hemostaza au cazut de acord in privinta recomandarilor pentru raportarea rezultatului Timpului de Protrombina ca INR. INR este bazat pe baza ISI – index de sensibilitate internationala pentru reactivul Tromboplastina⁷⁻⁹.

Reactivii PT primesc o valoare ISI prin calibrare fata de un Preparat International de REferinta (IRP 67/40) cu un ISI atribuit 1.0. Valoarea ISI pentru fiecare lot aparae inscris pe eticheta fiecarei fiole.

Valoarea INR se calculeaza cu urmatoarea formula.

$$\text{INR} = (\text{PT pacient} / \text{PT Mediu Normal})^{\text{ISI}}$$

ISI = Index International de Sensibilitate, specific instrumentului / reactivului folosit.

PT Mediu Normal = valoare specifica lotului, deetminata de fiecare laborator, pentru reactivii si aparatul propriu. Se bazeaza in general pe PT mediu plus sau minus 2-3 deviatii standard, pe 20 sau mai multi indivizi.

VALORI DE REFERINTA

Rezultatele PT pot fi influentate de metoda de determinare a cheagului, si pot varia intre laboratoare. In general, testele PT efectuate cu plasmе normale, dau rezultate cuprinse intre 13 - 15 secunde pe un coagulometru foto-optic si de 11 - 15 secunde pe un coagulometru mecanic, iar pentru metoda manuala rezultatele vor fi cuprinse in intervalul 12 - 15 secunde. Cu toate acestea, fiecare laborator trebuie sa-si stabileasca propriul domeniu de valori normale, reprezentativ pentru populatia de pacienti explorata. Daca se face o schimbare a aparatului folosit sau a tehnicii, a anticoagulantului sau a metodologiei de recoltare, trebuie redifinit intervalul de normalitate. O valoare medie a timpului PT trebuie recalculata sau verificata daca se schimba lotul pentru acelasi reactiv.⁽¹¹⁾

Domeniile terapeutice pentru monitorizarea anticoagulantelor orale variaza intre laboratoare. De aceea, este esential ca fiecare laborator sa-si stabileasca domeniul de valori PT pentru populatia explorata.

Rezultatele anormale obtinute la un pacient neafiat sun terpie anticoagulanta pot indica o deficienta de factor sau prezenta unui inhibitor. Rezultatele poti fi deasemenea invalidate de efectele unor

anumite medicamente sau substante⁽¹²⁾. In general se recomanda si efectuarea unor teste suplimentare, ca de exemplu APTT.

CONTROLUL DE CALITATE

Pentru monitorizarea rezultatelor determinarilor se recomanda folosirea serurilor de control.

REF 3520101 PLASMA CONTROL LEVEL 1

REF 3520201 PLASMA CONTROL LEVEL 2

Fiecare laborator trebuie sa-si stabileasca propria schema de control al calitatii si sa adopte masurile de corectie, daca acestea se impun, in cazul in care determinarile asupra serurilor de control nu se incadreaza in tolerantele acceptate.

SEMNFICATIA CLINICA

Reactivul PT se foloseste doar pentru teste in vitro pentru determinarea intr-un singur pas a timpului de protrombina (PT) si atestelor bazate pe modificarea timpului de protrombina.

Metoda timpului de protrombina este metoda aleasa pentru monitorizarea terapiei de anticoagulare orala si este testul fundamental de triere pentru tulburarile de coagulare redobandite sau mostenite. In timpul terapiei de anticoagulare orale, activitatea factorilor de coagulare dependenti de vitamin K (II, VII, IX, X, Protein C and Protein S) este redusa si timpul PT creste. Aceste teste se mai foloseste pentru determinarea factorilor de coagulare pe modurile (VII) si pe caile comune ale coagularii (II, V and X)^{2,3}.

PERFORMANTA ANALIZEI

Linearitate: INR 0.8 -5.0

Domeniu sensibilitate: ISI: 1.07-1.39

Domeniu normal PT: 12.0 -14.7 s

Sensibilitate analitica: 3%

Trasabilitate: 2 laboratoare de referinta ale OMS, prin Standard Rabbit Plain Thromboplastin (WHO Thrombosis Center Leiden, and Univ. Ontario, Canada).

Acuratete: rezultatele obtinute cu acest reactiv nu au prezentat diferente semnificative in comparatia cu reactivi de referinta. Detalii sunt disponibile la cerere.

BIBLIOGRAFIE

1. Deykin, D, Anticoagulant therapy. In: Colman, R.W., Hirsh, J, Marder, V., Salzman, EW (Eds.); Hemostasis and Thrombosis, JB Lippincott, Philadelphia, p1000 (1982).
2. Errichette AM, Holden A, Ansell J; Management of Oral Anticoagulant Therapy: experience with an Anticoagulation Clinic. Arch. Inter. Medicine 144; p1966 (1984).
3. Hirsh J, Dalen JE, Deykin D., Polter L; Oral Anticoagulants: Mechanisms of Action, Clinical Effectiveness and Optimal Therapeutic Range, Chest 102 (suppl):312S, (1992).
4. Miale JB; Laboratory Medicine-Hematology, 4th edition, CV Mosby, St Louis, (1972).
5. Furie B, Furie BC; Molecular and Cellular Biology of Blood Coagulation, N Eng J Medicine 326;p800 (1992).
6. Hougie C; The Biochemistry of Blood Coagulation; In Triplett DA, Laboratory Evaluation of Coagulation, American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, p2 (1982).
7. WHO Expert Committee on Biological Standardization, 33 Report. Technical Report Series 687, WHO, Geneva (1983).
8. Kirkwood T; Calibration of Reference Thromboplastins and Standardization of the Prothrombin Time Ratio, Thromb Haemostasis 49; p238 (1983).
9. International Committee for Standardization in Haematology and International Committee on Thrombosis and Haemostasis. Amer J Clin Path 88; p779 (1985).
10. Young DS, Thomas DW, Friedman RB, et al.; Effect of Drugs in Clinical Tests, Clin Chem 18; p1041 (1972).
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards: One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test, NCCLS Document H47-A (1996).
12. Laposala M, Connor A, Hicks D, Phillips D: The Clinical Hemostasis handbook, Year Book Medical Publishers Inc. (1989).