

# CE Hemoclot Thrombinový čas CK011K

Souprava pro stanovení Trombinového času v plazmě  
6 x 20 testů

**HYPHEN BioMed**

ZAC Neuville Université – 155, rue d'Eragny  
95000 Neuville-sur-Oise – France  
Tél. : 01 34 40 65 10 – Fax : 01 34 48 72 36  
www.hyphen-biomed.com



Poslední revize: 22/08/2006

Pouze pro diagnostické účely "In Vitro"

## **POUŽITÍ:**

Reagent pro stanovení Trombinového času (TT) v lidské citrátové plazmě koagulační metodou – manuální, poloautomatickou nebo automatickou.

## **PRINCIP STANOVENÍ:**

Měření koagulačního času v plazmě po indukci boviním thrombinem za přítomnosti vápníku a testování anti-trombinové (anti IIa) aktivity. Výborná citlivost k nízkým koncentracím heparinu v plazmě (od 0.05 do 0.10 IU/ml nefrakcionovaného heparinu – UFH, nebo od >0.20 IU/ml nízkomolekulárního heparinu (LMWH) v plazmě).

## **VZOREK PRO STANOVENÍ:**

Lidská plazma odebraná do citrátu sodného jako antikoagulantu.

## **REAGENCIE:**

6 lahvíček vysoce čistěného **boviního Thrombinu** stabilizovaného a lyofilizovaného v přítomnosti vápníku.

## **REAGENCIE A MATERIÁL POTŘEBNÝ, ALE V KITU NEOBSAŽENÝ:**

- 100 µL pipeta
- Koagulační automat nebo poloautomat, fibrometr nebo elektromagnetická vodní lázeň
- Destilovaná voda
- Plazmy pro kontrolu kvality

## **PŘÍPRAVA A STABILITA REAGENCIÍ:**

Neotevřená reagentie musí být skladována při teplotě 2-8°C ve svém originálním balení. Potom je stabilní do data expirace vytištěného na obalu.

**Příprava: Kalcium-Thrombin** : každá lahvička musí být rozpuštěna 2 ml destilované vody aby byl získán roztok vápníku a thrombinu o koncentraci kolem 1.0 NIH/ml kalcium-thrombinu\*, připraveného k použití. Míchejte opatrně, dokud se obsah kompletně nerozpustí (vortex). Inkubujte při pokojové teplotě (18-25°C) 15 minut, za občasného promíchání obsahu lahvičky. Před každým použitím opět promíchejte.

### **Stabilita reagentie po naředění:**

Roztok je stabilní :

- 48 hodin za pokojové teploty
- 7 dní při 2-8°C

**\*Přesná koncentrace Thrombinu se může mezi šaržemi lišit a je uvedena pro každou šarži, aby byla zajištěna vysoká citlivost testu pro Thrombinový čas**

**Upozornění:** Zdroje boviní plazmy užitých pro extrakci proteinů přítomných v Hemoclot TT byly testovány registrovanými metodami a sledovány negativními pro boviní infekční choroby, zejména pro boviní spongiformní encefalopatii. Přesto, žádný test nemůže zcela zajistit nepřítomnost infekčních agens. S každým produktem boviního původu musí být tedy zacházeno s opatrností, jako s potenciálně infekčním.

**Upozornění:** Studie stability při 30°C ukázaly, že reagentie mohou být dopravovány při pokojové teplotě, aniž by došlo k jejich poškození

## **PROVEDENÍ TESTU:**

### **Odběr vzorku:**

Krev (9 dílů) musí být odebrána do 0.109 M citrátu sodného (1 díl) jako antikoagulantu. Plazma se oddělí centrifugací při 2 500g po dobu 20 min.; musí být testována do 4 hodin (nebo do 2 hodin u plazmy od heparinovaných nemocných), nebo skladována zmrazená při teplotě -20°C nebo nižší maximálně 1 měsíc. Rozpouštět 15 minut při teplotě 37°C před použitím.

Viz. směrnice GEHT nebo NCCLS pro další instrukce týkající se odběru vzorků, manipulace a skladování.

### **Příprava testované plazmy:**

Plazma musí být testována neředěná.

## **POSTUP STANOVENÍ:**

### **Manuelní metoda:**

Thrombin musí být inkubován při 37°C v originální lahvičce nebo v plastové zkumavce.

Do zkumavky nebo kyvety přístroje přidejte:

- 100µl testované plazmy

Inkubujte 1 min. při 37°C a potom přidejte:

- 100µl reagentie Calcium-Thrombin

a zapněte stopky. Zaznamenejte koagulační čas.

### **Automatizované metody:**

Aplikace pro základní koagulační analyzátoři jsou dostupné na vyžádání.

## **VÝSLEDKY a OBVYKLÉ HODNOTY:**

Na základě výsledků obdržených na KC10 nebo STA pro normální plazmy, je Thrombinový čas obvykle v rozmezí **15 sec až 25 sec**.

Thrombinový čas je patologický pro TT > 25 sec.

Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní obvyklé rozmezí, které se může lišit dle šarže a použitého přístroje.

## **KONTROLA KVALITY:**

Pro kontrolu kvality a validaci homogenity reaktivity mezi sériemi a v sérii použijte kontrolní plazmy. Získané koagulační časy se mohou pro stejný vzorek i stejnou šarži reagentie lišit dle použitého přístroje a typu detekce koagula.

Každá laboratoř by měla stanovit a validovat svoje vlastní obvyklé rozmezí, průměr a směrodatnou odchylku pro svoje specifické podmínky.

## **PRODLOUŽENÝ THROMBINOVÝ ČAS:**

- Prodloužený Thrombinový čas (≥ 25 sekund) může být způsoben:
  - Přítomností anti-thrombinové aktivity vyvolané terapií (Heparin, Hirudin)
  - Přítomností vysoké koncentrace Fibrin/Fibrinogen degradačních produktů

Distributor: Diagnostica a.s., Za Tratí 686, Praha 9, Česká republika, tel. 283 109 137, Fax. 283 109 132, e-mail: [info@diagnostica.cz](mailto:info@diagnostica.cz)



D.750.23.CK.011L

- Kvalitativní (dysfibrinogenemie) nebo kvantitativní abnormalitou fibrinogenu (deficit, DIC, fibrinolyza, jaterní onemocnění včetně cirhozy)
- Thrombinový čas je normální v přítomnosti deficitu Faktoru XIII

#### PROVEDENÍ:

- Příklad „obvyklého TT rozmezí“ byl stanoven z lidské citrátové plazmy za užití:

Přístroj	KC10	STA	Amax Destiny (mechanický)	Amax Destiny (optický)	ACL (výzkumný, optický)
N	56	31	31	31	31
Průměr TT (sec)	20.8	21.6	23.2	18.0	17.3
SD	1.7	1.8	1.7	1.6	1.2
Min-Max	16.9-24.5	17.0-25.8	20.9-26.9	15.8-21.6	15.4-20.3

(Použitím KC10 byly získané TT časy  $\leq 22.5$  sec pro  $\approx 86\%$  plazem)

- Výborná citlivost na nízkou koncentraci heparinu v testované plazmě (od 0.05 do 0.10 IU/ml nefrakcionovaného heparinu – UFH a do 0.20 IU/ml nízkomolekulárního heparinu – LMWH). Udané následující hodnoty TT (v sekundách) byly obdrženy z normální lidské citrátové plazmy s přídavkem UFH nebo LMWH užitím:

Přístroj	KC10	STA	Amax Destiny (mechanický)	Amax Destiny (optický)	ACL (výzkumný, optický)
původní plazma	19.3	21.5	23.2	18.2	17.2
UFH 0.05 IU/ml	30.6	41.7	36.7	25.2	25.6
UFH 0.10 IU/ml	>120	>120	>120	>120	>120
LMWH 0.20 IU/ml	35.0	53.3	>120	32.1	29.1
LMWH 0.0 IU/ml	84.0	>120	>120	82	41.7

- Dobrá citlivost na Hirudin při užití KC10 od 0.25 ATU/ml v plazmě
- Přesnost: jako příklad následující výsledky obdržené přístrojem KC10 z normální lidské plazmy:

TT(sec)	N	Intra assay CV (%)	N	Inter assay CV (%)
21,6	10	1,8	8	4,0

#### LIMITY:

- Různé běžné látky nebo léčiva mohou ovlivnit výsledek. V případě neočekávané abnormality je potřeba zjistit příčinu.

- Získané koagulační časy pro tentýž vzorek se stejnou šarží reagensie mohou kolísat dle použitého přístroje a dle citlivosti detekce koagula. Každá laboratoř by měla ustanovit a validovat vlastní obvyklé rozmezí, průměr a směrodatnou odchylku ve svých specifických podmínkách.

Při stejném postupu mohou mnohé skutečnosti ovlivnit výsledek (např. různé zdroje heparinu). Proto by každá laboratoř měla stanovit i vlastní terapeutické rozmezí pro heparin.

- Při užití přístroje KC10 nebyly žádné významné interference s purifikovanými fibrinogen degradačními produkty (FDP) do 1 mg/ml, s bilirubinem do 0.25 mg/ml nebo s hemoglobinem přidaným do plazmy do 2.5 mg/ml

- Žádný vzorek s abnormálním komentářem (např. částečná koagulace) nebyl vyloučen.

#### REFERENCE:

Samama MM., Elalamy I., Conard J., Achkar A., Horellou MH., « Hémorragies et thromboses : du diagnostic au traitement », Paris : Masson, 15-16, 60, 2004.