

Gebrauchsanweisung [DE]

MRX PT Owren

REF K5026

Zur Verwendung als *In-vitro*-Diagnostikum.

1 Verwendungszweck

Gerinnungstest zur quantitativen Bestimmung der Prothrombinzeit (PT) in zitriertem Humanplasma nach der Owren-Methode. Kann zur Überwachung der Warfarin-Therapie und zur Bewertung der Funktion des extrinsischen Signalweges der Gerinnungskaskade verwendet werden. Zur Verwendung durch professionelles Laborpersonal auf Koagulationsanalysatoren.

2 Hintergrund und Prinzip der Methode

Die Bestimmung der Prothrombinzeit unter Verwendung von MRX PT Owren ist abhängig von der Aktivität der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren FII, FVII und FX. Die Owren-PT-Methode basiert auf der Anregung des extrinsischen Gerinnungssignalweges durch Aktivierung von FVII durch Thromboplastin bei Vorhandensein von Calcium. Der aktivierte Komplex (FVIIa-Gewebefaktor) aktiviert FX. Anschließend aktiviert FXa, im Komplex mit FV, Prothrombin zu Thrombin, was zur Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin führt, das als Gerinnsel erkannt wird. Bei Patienten, die mit Vitamin-K-Antagonisten behandelt werden, ist die Aktivität der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren niedriger und führt zu einer verlängerten PT.

Bei der Analyse der PT mit MRX PT Owren werden die in MRX PT Buffer verdünnte Probe und das Reagenz gemischt und die Gerinnungszeit gemessen. Die Endverdünnung der Probe ist 1:21. Das Reagenz ist mit FV und Fibrinogen aus bovinem Plasma (mit einem Mangel an FII, FVII und FX) angereichert, wodurch es unempfindlich gegenüber Schwankungen der FV- und Fibrinogenspiegel von Patienten ist. Außerdem ist die Owren-PT-Methode aufgrund der Probenverdünnung von 1:21 relativ unempfindlich gegenüber Beeinträchtigungen.

3 Komponenten

MRX PT Owren besteht aus:
10 × 10 ml lyophilisiertes Thromboplastin aus Kaninchenhirn, bovines Plasma, Konservierungsmittel und Stabilisatoren.

4 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Geeignete Schutzkleidung tragen. Kontakt mit Haut und Augen vermeiden. Nicht in Ausgüsse entleeren. Abfall muss gemäß den örtlichen Vorschriften entsorgt werden.

MRX PT Owren enthält Natriumazid (weniger als 0,1 %), um mikrobielles Wachstum zu verhindern. Die Produkte ordnungsgemäß entsorgen.

MRX PT Owren enthält bovines Serumalbumin und bovines Plasma. Die Tiere wurden von Tierärzten im Rahmen von Untersuchungen vor und nach der Schlachtung freigegeben. Da jedoch keine Methode absolute Sicherheit bieten kann, ist dieses Material als potenziell infektiös zu behandeln.

Wenn MRX PT Owren nach der 1X-Methode rekonstituiert wird, kann es zu Präzipitationen kommen, wenn Reagenz, Wasser und Calciumchlorid, die zur Rekonstitution verwendet werden, kälter als 15 °C sind. Das Reagenz nicht für die Analyse verwenden, wenn es zu Präzipitationen kommt.

5 Vorbereitung

MRX PT Owren sollte vor der Anwendung rekonstituiert und 24 Stunden lang zur Reifung stehen gelassen werden (siehe Abschnitt 6 Lagerung und Stabilität).

Das Reagenz kann mit zwei verschiedenen Methoden rekonstituiert werden: der 1X-Methode und der 2X-Methode. Bei der 1X-Methode wird Calciumchlorid dem MRX PT Owren-Reagenz zum Zeitpunkt der Rekonstitution zugesetzt, während Calciumchlorid bei der 2X-Methode während der Analyse separat zugesetzt wird.

Wenn das Reagenz mehrere Tage im Instrument aufbewahrt wird, ist es wichtig, das Reagenz mindestens einmal täglich vor dem Gebrauch zu mischen. Ein kontinuierliches Umrühren ist nicht erforderlich.

5.1 Rekonstitution nach der 1X-Methode

- **Hinweis:** Die Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen beachten.

- Das Reagenz, das deionisierte Wasser und die Calciumchloridlösung auf Raumtemperatur bringen (15–25 °C).
- 5 ml deionisiertes Wasser (z. B. MRX Laboratory Water, K5036) zum Reagenzfläschchen hinzufügen.
- Das Reagenz 10–15 Minuten lang bei Raumtemperatur (15–25 °C) stehen lassen. Es ist wichtig, das Fläschchen zu Beginn, in der Mitte und am Ende dieses Zeitraums vorsichtig durch Schwenken zu durchmischen. Das Reagenz löst sich zu einer leicht milchigen farblosen Flüssigkeit.
- Nach 10–15 Minuten 5 ml 25 mM Calciumchlorid (z. B. MRX Calcium Chloride, K5049/K5050/K5051) zum Fläschchen mit dem rekonstituierten Reagenz hinzufügen. Reagenz durch mehrmaliges Schwenken oder Drehen mischen.
- Das rekonstituierte Reagenz vor der Verwendung 24 Stunden lang zur Reifung bei 15–25 °C stehen lassen.

5.2 Rekonstitution nach der 2X-Methode

- Das Reagenz und das deionisierte Wasser auf Raumtemperatur bringen (15–25 °C).
- 5 ml deionisiertes Wasser (z. B. MRX Laboratory Water, K5036) zum Reagenzfläschchen hinzufügen.
- Das Reagenz 10–15 Minuten lang bei Raumtemperatur (15–25 °C) stehen lassen. Es ist wichtig, das Fläschchen zu Beginn, in der Mitte und am Ende dieses Zeitraums vorsichtig durch Schwenken zu durchmischen. Das Reagenz löst sich zu einer leicht milchigen farblosen Flüssigkeit.
- Das rekonstituierte Reagenz vor der Verwendung 24 Stunden lang zur Reifung bei 2–8 °C stehen lassen.

6 Lagerung und Stabilität

Bei 2–8 °C lagern. Stabil für 4 Tage (1X-Methode) oder 6 Tage (2X-Methode) nach Rekonstitution und 24-stündiger Inkubation (Abbildung 1). Die Stabilität im Instrument beträgt 4 Tage (1X-Methode) bzw. 6 Tage (2X-Methode) nach Rekonstitution und 24-stündiger Inkubation (Abbildung 1) beim ACL Top.

Wichtig: MRX PT Owren, das mit der 1X-Methode rekonstituiert wurde, muss während der ersten 24 Stunden

bei 15–25 °C gelagert werden, bevor es bei 2–8 °C aufbewahrt wird, während MRX PT Owren, das mit der 2X-Methode rekonstituiert wurde, bei 2–8 °C gelagert werden sollte (Abbildung 1).

Die Stabilitätsdaten gelten unter der Voraussetzung, dass das rekonstituierte Reagenz verschlossen im Originalfläschchen aufbewahrt wird und keine Kontamination auftritt.

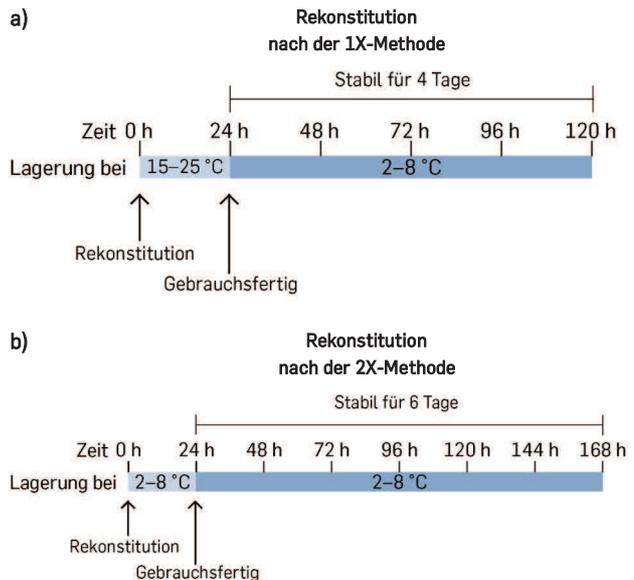


Abbildung 1. Stabilität und Lagertemperaturen für MRX PT Owren, rekonstituiert nach der 1X- (a) und 2X-Methode (b).

7 Probenentnahme und -vorbereitung

Venöses Blut wird in 3,2%igem Natriumcitrat in einem Verhältnis von 9 Teilen Blut zu 1 Teil Antikoagulans (1:10-Verhältnis) entnommen. Dieses Verhältnis ist entscheidend. Verletzungen oder Stauungen bei der Blutentnahme sind zu vermeiden. Das Blut darf nicht mithilfe eines Heparin-Verschlusses oder einer anderen heparinisierten Leitung entnommen werden. Direkt nach der Entnahme umdrehen. Das Vorhandensein eines Gerinnsels in der Probe ist ein Grund, die Probe zu verwerfen. Zentrifugieren, um thrombozytenarmes Plasma für die Analyse zu gewinnen. Weitere Anweisungen zur Entnahme, Handhabung und Lagerung von Proben finden sich in der CLSI-Richtlinie H21-A5.¹

8 Verfahren

8.1 Kalibrierung

Jede Charge von MRX PT Owren muss vor der INR-Bestimmung in Plasmaproben von Patienten kalibriert

werden. Während der Kalibrierung werden die für die INR-Bestimmung erforderlichen reagenzien- und instrumentenspezifischen Werte für die normale Gerinnungszeit (NCT, Normal Clotting Time) und den internationalen Empfindlichkeitsindex (ISI, International Sensitivity Index) ermittelt (siehe Abschnitt 11 Ergebnisse). Die Kalibrierung muss für jede Methode (1X- und 2X-Methode) durchgeführt werden. Es wird empfohlen, eine neue Kalibrierung durchzuführen, wenn eine neue Charge von MRX PT Buffer verwendet wird.

Die lokale ISI-Kalibrierung kann mit lyophilisiertem Kalibrierplasma durchgeführt werden,^{2,3} z. B. mit dem Kalibrierkit von Equalis. Die Anweisungen des Kalibratorherstellers zum Kalibrierungsverfahren beachten. Es ist auch möglich, die chargen- und instrumentenspezifische mittlere normale Prothrombinzeit (MNPT, Mean Normal Prothrombin Time) und den ISI nach den Richtlinien der WHO zu bestimmen.⁴

8.2 Automatische Instrumente

Für jedes Instrument wird auf die Bedienungsanleitung und auf das instrumentenspezifische Anwendungsblatt verwiesen.

8.3 Halbautomatische und manuelle Instrumente

Analyse mit nach der 1X-Methode rekonstituiertem Reagenz

- Sicherstellen, dass das Endvolumen in der Küvette innerhalb der Instrumentenspezifikation liegt.
- Die Plasmaproben durch Mischen von 100 µl der Plasmaprobe mit 600 µl MRX PT Buffer (K5037/K5038/K5061) vorverdünnen und die verdünnte Plasmaprobe auf 37 °C vorwärmen.
- MRX PT Owren auf 37 °C vorwärmen.
- Die Reaktion durch Mischen von 100 µl der verdünnten Plasmaprobe mit 200 µl MRX PT Owren starten. Bei 37 °C inkubieren und mit der Aufzeichnung der Zeit beginnen.
- Die Gerinnungszeit in Sekunden festhalten.

Analyse mit nach 2X-Methode rekonstituiertem Reagenz

- Sicherstellen, dass das Endvolumen in der Küvette innerhalb der Instrumentenspezifikation liegt.
- Die Plasmaproben durch Mischen von 100 µl der Plasmaprobe mit 600 µl MRX PT Buffer (K5037/K5038/K5061) vorverdünnen und die verdünnte Plasmaprobe auf 37 °C vorwärmen.
- MRX PT Owren und 25 mM Calciumchlorid (z. B. MRX Calcium Chloride) auf 37 °C vorwärmen.

- 100 µl der verdünnten Plasmaprobe mit 100 µl MRX PT Owren mischen.
- Die Reaktion durch Zugabe von 100 µl 25 mM Calciumchlorid starten. Bei 37 °C inkubieren und mit der Aufzeichnung der Zeit beginnen.
- Die Gerinnungszeit in Sekunden festhalten.

9 Erforderliches Material, das nicht im Lieferumfang enthalten ist

Koagulationsanalysator, Küvetten, Pipetten und Folgendes:

Kalibrator	REF
Siehe Abschnitt 8.1	-

Kontrollmaterial	REF
MRX Routine Normal Control	K5039
MRX Routine Abnormal Control	K5040

Lösungen	REF
MRX PT Buffer	K5037 K5038 K5061
Calciumchlorid (25 mM), z. B. MRX Calcium Chloride	K5049 K5050 K5051
Deionisiertes Wasser zur Rekonstitution z. B. MRX Laboratory Water	K5036

10 Qualitätskontrolle

Um konsistente Testergebnisse zu erhalten, wird empfohlen, das Kontrollplasma in regelmäßigen Abständen zu testen. MRX Routine Controls (K5039/K5040) werden für MRX PT Owren empfohlen. Jedes Labor sollte einen Kontrollbereich festlegen, um die zulässigen Schwankungen bei der täglichen Leistung des Tests zu bestimmen, sowie geeignete Intervalle für die Analyse der Kontrollen in Übereinstimmung mit der guten Laborpraxis.

11 Ergebnisse

Die Ergebnisse werden als INR (International Normalised Ratio) angegeben. Die INR wird berechnet, indem die ermittelte Gerinnungszeit durch die normale Gerinnungszeit oder die mittlere normale PT (siehe Abschnitt 8.1 Kalibrierung) geteilt und gemäß der nachstehenden Formel in die Potenz des chargenspezifischen ISI-Werts für das Reagenz und das Messsystem gesetzt wird.^{5,6}

$$\text{INR} = (\text{PT des Patienten/Kontroll-PT})^{\text{ISI}}$$

PT des Patienten = Die PT des Patienten in Sekunden.

Kontroll-PT = Die normale PT-Zeit (NCT oder MNPT) in Sekunden. Bei der Kalibrierung ermittelter, chargenspezifischer Wert für die Kombination aus Reagenz und Instrument.

ISI = Der bei der Kalibrierung ermittelte, chargenspezifische Wert für die Kombination aus Reagenz und Instrument.

Hinweis: Die ISI- und NCT/MNPT-Werte sind spezifisch für jede Reagenzcharge, jede Reagenz-/Instrumentenkombination und die Rekonstitutionsmethode (1X- oder 2X-Methode).

12 Erwartete Werte

Die erwarteten Werte für die nicht betroffene Population liegen bei INR 0,9–1,2,⁷ während die erwarteten Werte für die betroffene Population (z. B. Patienten, die mit Vitamin-K-Antagonisten behandelt werden) bei INR 2,0–3,5 liegen.⁸

13 Einschränkungen und Störsubstanzen

Die Ergebnisse können durch eine unzureichende Blutentnahme (Verhältnis Natriumcitrat/Patientenplasma verschoben) beeinträchtigt werden. Die PT-Ergebnisse können auch durch Heparin beeinträchtigt werden. MRX PT Owren wird durch direkte/neue orale Antikoagulanzen (DOAKs/NOAKs) beeinträchtigt. Daher wird die Analyse von DOAK-haltigen Plasmaproben mit MRX PT Owren nicht empfohlen.

MRX PT Owren ist gegenüber den folgenden Substanzen auf dem ACL Top 500 CTS unempfindlich:

Störsubstanz	Toleranz
Bilirubin	Bis zu 100 mg/dl
Hämoglobin	Bis zu 1000 mg/dl
Triglyceride	Bis zu 1500 mg/dl
Unfraktioniertes Heparin	Bis zu 50 U/dl

Es wird jedem Labor empfohlen, seine eigene Empfindlichkeit gegenüber Heparinen zu bestimmen.

14 Analytische Leistungsmerkmale

Die folgenden Leistungsdaten wurden mit dem CTS Instrument ACL Top 500 CTS ermittelt. Die Leistung hängt von dem verwendeten Instrument ab.

Wiederholbarkeit (1X-Methode):

Probe	INR-Mittelwert	Wiederholbarkeit (VK)
Stufe 1	1,0	1,5 %
Stufe 2	2,8	1,6 %
Stufe 3	4,2	2,4 %
Stufe 4	5,8	2,2 %

Wiederholbarkeit (2X-Methode):

Probe	INR-Mittelwert	Wiederholbarkeit (VK)
Stufe 1	1,0	1,5 %
Stufe 2	2,7	2,5 %
Stufe 3	3,9	2,2 %
Stufe 4	5,7	2,8 %

Reproduzierbarkeit⁹:

Probe	INR-Mittelwert	Reproduzierbarkeit (VK)
Stufe 1	2,1	4,0 %
Stufe 2	2,6	5,1 %
Stufe 3	3,1	4,9 %
Stufe 4	3,3	5,5 %

15 Melden von Vorfällen

Alle schwerwiegenden Vorfälle im Zusammenhang mit diesem Produkt sind Nordic Biomarker sowie der zuständigen nationalen Behörde, in der der Anwender niedergelassen ist, zu melden.

16 Zusätzliche Informationen

Ein Papierexemplar dieser Gebrauchsanweisung ist auf Anfrage erhältlich. Wenden Sie sich an Ihren örtlichen Händler. Das instrumentenspezifische Anwendungsblatt ist bei Ihrem örtlichen Händler erhältlich.

17 Literaturangaben

1. 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. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
2. LINDAHL, Tomas L., et al. INR calibration of Owren-type prothrombin time based on the relationship between PT% and INR utilizing normal plasma samples. *Thrombosis and haemostasis*, 2004, 91.06: 1223-1231.
3. HILLARP, Andreas, et al. Local INR calibration of the Owren type prothrombin assay greatly improves the intra-and interlaboratory variation. *Thrombosis and haemostasis*, 2004, 91.02: 300-307.
4. WHO EXPERT COMMITTEE ON BIOLOGICAL STANDARDIZATION. MEETING; WORLD HEALTH ORGANIZATION; WORLD HEALTH ORGANIZATION. EXPERT COMMITTEE ON BIOLOGICAL STANDARDIZATION. *Who Expert Committee on Biological Standardization: Sixty-second Report*. World Health Organization, 2013.
5. LOELINGER, E. A. ICSH/ICTH recommendation for reporting prothrombin time in oral anticoagulant control. *Thromb Haemostas*, 1985, 53: 155-156.
6. WHO EXPERT COMMITTEE ON BIOLOGICAL STANDARDIZATION, et al. *WHO Expert Committee on Biological Standardization: forty-eighth report*. World Health Organization, 1999.
7. ZIERK, Jakob, et al. Data mining of reference intervals for coagulation screening tests in adult patients. *Clinica Chimica Acta*, 2019, 499: 108-114.
8. HIRSH, Jack, et al. Oral anticoagulants: mechanism of action, clinical effectiveness, and optimal therapeutic range. *Chest*, 1998, 114.5: 445S-469S.
9. Meijer, Piet, et al. International normalized ratio (INR) testing in Europe: between-laboratory comparability of test results obtained by Quick and Owren reagents. *Clin Chem Lab Med*. 2018 Sep 25;56(10):1698-1703.

18 Definition von Symbolen



Hersteller



Elektronische Gebrauchsanweisung
beachten

nordicbiomarker.com/IFU



CE-Kennzeichnung



Verfallsdatum



Medizinisches In-vitro-
Diagnostikum



Temperaturgrenzwert



Katalognummer



Biologische Risiken



Chargencode



Enthält biologisches Material
tierischen Ursprungs

19 Versionsverlauf

Version	Änderungen zur vorherigen Version
3,0	Daten zur Stabilität im Instrument und analytische Leistungsmerkmale hinzugefügt. Übersetzungen ins Dänische, Finnische, Deutsche, Norwegische und Schwedische hinzugefügt.