

Thrombotest™ και Thrombotest™ Automated



ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ

ΧΡΗΣΗ

Το Thrombotest™ είναι ένα *in vitro* σύνθετο αντιδραστήριο PT που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της από στόματος αντιπηκτικής αγωγής. Το Thrombotest™ Automated είναι το ίδιο αντιδραστήριο με το Thrombotest, αλλά το Thrombotest™ Automated είναι ειδικά σχεδιασμένο για χρήση σε αναλυτές πήξης, βασισμένους σε οπτική μέτρηση τελικού σημείου.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το Thrombotest™ και Thrombotest™ Automated (στη συνέχεια θα αναφέρονται ως Thrombotest™) είναι συνδυασμένες δοκιμασίες χρόνου προθρομβίνης (PT). Το Thrombotest™ είναι λυοφιλιωμένο και περιέχει θρομβοπλαστική βόειο εγκέφαλο και προσροφημένο βόειο πλάσμα. Η θρομβοπλαστική δεν περιέχει παράγοντες πήξης και ενδιάμεσα προϊόντα. Το βόειο πλάσμα είναι πηγή παράγοντα V και ινωδογόνου.

Το Thrombotest™ είναι ευαίσθητο στους παράγοντες πήξης II, VII και X. Η δοκιμασία είναι επίσης ευαίσθητη σε πρωτεΐνες PIVKA (Protein Induced by Vitamin K Absence or Antagonists, πρωτεΐνες επηρεαζόμενες από έλλειψη βιταμίνης K ή ανταγωνιστές). Όταν το Thrombotest™ αναμειχθεί με πλάσμα ή αίμα, ενεργοποιείται ο παράγοντας VII και σχηματίζεται θρόμβος.

ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ

Thrombotest™: 12x2.2 mL (96 τεστ)
6x11 mL (240 τεστ)
Thrombotest™ Automated: 6x11 mL (240 τεστ)

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ (που δεν περιέχονται στη συσκευασία)

- Πιπέττες: 30 μL, 50 μL, 250 μL, 11 mL και 2.2 mL
- Διαλύματα: Χλωριούχο Ασβέστιο 3.2 mmol/L, Απεσταγμένο νερό

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- [IVD] Για χρήση *in vitro*.
- Το Thrombotest™ δεν περιέχει ανθρώπινα συστατικά
- Το Thrombotest™ παράγεται από υγιή Νορβηγικά βοοειδή εγκεκριμένα για κατανάλωση από ανθρώπους. Η Νορβηγία θεωρείται ελεύθερη από τις περισσότερες μεταδοτικές ασθένειες και δεν έχει αναφερθεί ποτέ κρούσμα σπογγώδους εγκεφαλοπάθειας των βοοειδών (BSE)

ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Το Thrombotest™ περιέχει βόειο θρομβοπλαστική ως ενεργοποιητή της διαδικασίας πήξης και παράγοντα V και ινωδογόνο ως πρόσθετα. Το Thrombotest™ είναι ευαίσθητο στο επίπεδο συγκέντρωσης των παραγόντων II, VII και X στο προς μέτρηση δείγμα.

ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ

Η ηκτικότητα εκφράζεται σαν ποσοστό της φυσιολογικής τιμής ή σε μονάδες INR (International Normalized Ratio-Διεθνής Κανονικοποιημένος Λόγος). Η φυσιολογική τιμή εκφράζει την μέση τιμή του ενήλικου πληθυσμού.

Κάθε παρτίδα βαθμονομείται έναντι του Διεθνούς Πρότυπου Παρασκευάσματος για την βόεια θρομβοπλαστική OB7/79 έναντι μιας εσωτερικής παρτίδας αναφοράς του Thrombotest™ σύμφωνα με τις υποδείξεις του Διεθνούς Οργανισμού Υγείας. Το παρασκεύασμα OB7/79 βαθμονομείται έναντι του αρχικού Διεθνούς Πρότυπου Παρασκευάσματος (NIBSC code 67/40).¹

Κάθε παρτίδα συνοδεύεται από πίνακα συσχέτισης για εκτέλεση χωρίς όργανο μέτρησης, με τιμές INR και % ενεργότητας, και με τον σχετικό Διεθνή Δείκτη Ευαισθησίας (ISI) για εκτέλεση χωρίς όργανο μέτρησης.

ΕΥΡΟΣ ΜΕΤΡΗΣΩΝ

Συνιστάται η χρήση του Thrombotest™ στο εύρος ηκτικότητας από 100% έως 3% ή από INR=1.0 έως INR=8.0.

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Εντός της αυτής σειράς προσδιορισμών παρατηρείται συντελεστής διασποράς (CV) 1-2% για το Thrombotest™ με χρήση του Control Plasma AK και του οργάνου Thrombotrack 1 Channel instrument (250-rpm).

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ

Χρησιμοποιείτε μόνο κίτρινο σαν αντιπηκτικό (μη χρησιμοποιείτε EDTA ή ηπαρίνη).

Διορθώσεις λόγω αιματοκρίτη: Βλέπε "Ερμηνεία αποτελεσμάτων".

Η ενεργοποίηση του ηκτικού μηχανισμού προκαλεί σημαντική ελάττωση του χρόνου πήξης. Τα σωληνάρια των δειγμάτων πρέπει να είναι κατασκευασμένα από υλικό που δεν ενεργοποιεί τον μηχανισμό αυτό και να περιέχουν την σωστή ποσότητα κίτριου. Ο προσδιορισμός πρέπει να εκτελείται στους 37 °C.

Πρέπει να αποφεύγεται η ψυχρή ενεργοποίηση των δειγμάτων.

ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Thrombotest™:

Κλειστά, μη ανακτημένα: ≤ 20 °C: 2 έτη
37 °C: 1 ώρα
μετά την ανάκτηση: 15-25 °C: 10 ώρες
2-8 °C: 3 ημέρες
≤ + 20 °C: 2 μήνες

Τα καταψυχθέντα αντιδραστήρια πρέπει να θερμανθούν για τουλάχιστον 10 λεπτά στους 37 °C σε υδατόλουτρο ή για 15 λεπτά 37 °C σε ξηρό επωαστή.

Thrombotest™ Automated:

Κλειστά, μη ανακτημένα: ≤ 20 °C: 2 έτη
37 °C: 1 ώρα
Μετά την ανάκτηση: 15-25 °C: 10 ώρες
2-8 °C: 3 ημέρες

ΣΗΜ! Το ανακτημένο Thrombotest™ Automated ??? □,□?? να καταψυχθεί.

Η ημερομηνία λήξης στην ετικέτα, αναφέρεται σε κλειστά μη ανακτημένα φιαλίδια αποθηκευμένα σε ≤ 20 °C.

Τα πώματα να είναι καλά βιδωμένα κατά την αποθήκευση.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΚΤΕΛΕΣΗΣ

ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Φλεβικό αίμα

Το φλεβικό αίμα συλλέγεται σε σωληνάρια υπό κενό, με τοιχώματα επενδεδυμένα με σιλκόν, κατάλληλα για αναλύσεις αιμόστασης (0.11 ή 0.13 mol/L Na₂-citrate). Εναλλακτικά, 1 όγκος 0.11 ή 0.13 mol/L Na₂-citrate προστίθεται σε 9 όγκους φλεβικού αίματος σε σωληνάρια κατασκευασμένα από υλικό που δεν ενεργοποιεί τον μηχανισμό πήξης.

Παρασκευή πλάσματος

Μετά την φυγοκέντρωση, πάρτε 30μL υπερκείμενου με μία πιπέττα. Εναλλακτικά, αναμίξτε 6 όγκους πλάσματος με 4 όγκους φυσιολογικού ορού σε πλαστικό ή γυάλινο σωληνάρια με τοιχώματα επενδεδυμένα με σιλκόν. Πάρτε 50 μL αραιωμένου πλάσματος με μία πιπέττα.

Τριχοειδικό αίμα

Τρυπήστε το δέρμα αρκετά, ώστε η ροή του αίματος να είναι ελεύθερη. Χρησιμοποιείτε πάντα την πρώτη σταγόνα αίματος.

Προετοιμασία για τη μέθοδο τριχοειδικού αίματος με αντιπηκτικό⁴

- Χρησιμοποιήστε πιπέτα 0.1mL με διαβάθμιση στα 50 uL.
- Λαμβάνουμε με μία πιπέτα 50 uL αραιωμένο διάλυμα κίτριου Na (1 όγκος 0.11 mol/L ή 0.13 mol/L Na₂-Citrate + 8 όγκους φυσιολογικού ορού).
- Λαμβάνουμε με πιπέτα, όγκο 2.1 mL τριχοειδικού αίματος. Πρέπει να χρησιμοποιηθεί η πρώτη σταγόνα αίματος.
- Μεταφέρετε το μίγμα του αίματος (50 uL) του αραιωμένου Na₂-citrate (50 uL) στο δοκιμαστικό σωλήνα.

ΑΝΑΣΥΣΤΑΣΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Είδος δείγματος	Διαλύτης	Μεγάλα φιαλίδια	Μικρά φιαλίδια
Φλεβικό αίμα	3.2 mmol/L CaCl ₂	11 mL	2.2 mL
Πλάσμα	»	»	»
Τριχοειδικό αίμα με αντιπηκτικό:	»	»	»
Τριχοειδικό αίμα	Απεσταγμένο νερό	»	»

ΣΗΜΑΝΤΙΚΟ!

- Ο διαλύτης και το αντιδραστήριο να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου πριν την ανάμιξη.
- Ο διαλύτης προστίθεται στο φιαλίδιο με το λυοφιλιωμένο αντιδραστήριο.
- Ανακινήστε έντονα αμέσως μετά την ανάμιξη.
- Το αντιδραστήριο είναι έτοιμο προς χρήση μετά την παρέλευση 5 λεπτών.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΚΤΕΛΕΣΗΣ

Είδος δείγματος	Ανακτημένο αντιδραστήριο	Δείγμα
Φλεβικό αίμα	250 μL	50 μL
Πλάσμα	250 μL	30 μL
Αραιωμένο πλάσμα	250 μL	50 μL
*Τριχοειδικό αίμα με αντιπηκτικό:	250 μL	100 μL
Τριχοειδικό αίμα	250 μL	50 μL

- Ρίξτε με πιπέττα 250 μL αντιδραστήριου σε ένα μικρό σωληνάρια και προθερμάνετε σε υδατόλουτρο στους 37 °C για τουλάχιστον 3 λεπτά.
- Ρίξτε το δείγμα (δείτε τον πίνακα για τον σωστό όγκο) με την πιπέττα ακριβώς επάνω από την επιφάνεια του αντιδραστήριου και ταυτόχρονα αρχίστε την χρονομέτρηση.
- * Το δείγμα του τριχοειδικού αίματος με αντιπηκτικό, θα πρέπει να επωαστεί στους 37 °C για 2-3 λεπτά. Πιπέταρετε 250 uL προθερμασμένου αντιδραστήριου Thrombotest™ στο δείγμα και ταυτόχρονα εκκινήστε το χρονόμετρο.
- Αναμίξτε το δείγμα με το αντιδραστήριο με ένα ή δύο ελαφρά χτυπήματα και αφήστε το σωληνάρια στο υδατόλουτρο για περίπου 30 δευτερόλεπτα για κοινά δείγματα ή 50 δευτερόλεπτα για δείγματα από ασθενείς σε αντιπηκτική θεραπεία.
- Κατά μικρά διαστήματα, γέρνετε ελαφρά το σωληνάρια για να παρατηρήσετε και να καταγράψετε το τέλος του σχηματισμού θρόμβου.
- Για δείγμα φλεβικού αίματος και πλάσματος, η ηκτικότητα ευρίσκεται από την αντίστοιχη στήλη του πίνακα.
- Για τη μέθοδο τριχοειδικού – και τριχοειδικού αίματος με αντιπηκτικό, η ενεργότητα της πήξης διαβάξεται από τη στήλη για το τριχοειδικό αίμα στον Πίνακα Συσχέτισης.

ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΕ ΑΝΑΛΥΤΕΣ

Εάν χρησιμοποιείτε το Thrombotest™ στο Thrombotrack™ 1 Channel (250 rpm), Thrombotrack™ Solo και στο Thrombotrack™ Select 2, μπορείτε να χρησιμοποιήσετε τον πίνακα που αναφέρεται σε μετρήσεις χωρίς όργανο για την μετατροπή των τιμών σε % ενεργότητα ή σε τιμές INR.

Εάν χρησιμοποιείτε το Thrombotest™ σε αυτόματους αναλυτές και θέλετε τιμές INR, πρέπει να προσδιορίσετε έναν δείκτη ευαισθησίας ISI για τον συγκεκριμένο αναλυτή που χρησιμοποιείτε. Η Axis-Shield προσφέρει ένα σετ βαθμονόμησης που περιέχει πλάσμα σε τρία διαφορετικά επίπεδα με τιμές INR ειδικά για το Thrombotest™, για να χρησιμοποιηθεί για την εύρεση της τιμής ISI και της φυσιολογικής τιμής σε αναλυτή. Η βαθμονόμηση αυτή πρέπει να εκτελείται για κάθε νέα παρτίδα του Thrombotest™.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- Φλεβικό αίμα/πλάσμα:

Τα δείγματα πρέπει να αποθηκεύονται σε πλαστικά ή γυάλινα φιαλίδια κατασκευασμένα από υλικό που δεν ενεργοποιεί τον μηχανισμό πήξης. Δείγματα από ασθενείς σε αντιπηκτική θεραπεία πρέπει να μετρούνται εντός 48 ωρών. Δείγματα γενικού πληθυσμού να μετρούνται εντός 3 ωρών.

- Τριχοειδικό αίμα:

Δείγματα τριχοειδικού αίματος πρέπει να μετρούνται αμέσως.

- Τριχοειδικό αίμα με αντιπηκτικό:

Τα δείγματα θα πρέπει να μεταφέρονται σε πλαστικά σωληνάρια. Τα δείγματα των ασθενών που ακολουθούν από του στόματος αντιπηκτική αγωγή, θα πρέπει να εξετάζονται εντός 5 ωρών. Τα δείγματα από υγιή άτομα, θα πρέπει να εξετασθούν εντός 1 ώρας.

ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Η Axis-Shield διαθέτει πλάσματα ελέγχου (Normal, Abnormal και AK) για τον έλεγχο της ποιότητας των αποτελεσμάτων.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Φυσιολογικές τιμές²

INR <1.08

Θεραπευτικό εύρος

Για τις ενδείξεις και τη διάρκεια της αντιπηκτικής θεραπείας δια του στόματος, παρακαλούμε να αναφερθείτε στις τοπικές ισχύουσες οδηγίες.

Διόρθωση λόγω αιματοκρίτη

Εάν χρησιμοποιείτε ολικό αίμα, το αποτέλεσμα εξαρτάται από την τιμή του αιματοκρίτη. Αυτό επιτυγχάνεται με τον πολλαπλασιασμό της % τιμής με έναν συντελεστή. Πρακτικά, αυτό είναι απαραίτητο μόνο σε περιπτώσεις ασθενών με σοβαρή αναιμία ή πολυκυταίμια. Λόγω της επίδρασης των πρωτεϊνών PIVKA, υπάρχει διαφορετικός συντελεστής για ασθενείς σε αντιπηκτική θεραπεία (AC-patients).

Αιματοκρίτης %	Συντελεστής (φυσιολογικοί)	Συντελεστής (AC-patients)
20	0.70	0.85
30	0.80	0.90
40	0.90	0.95
50	1.10	1.05
60	1.38	1.20
70	1.80	1.40

Συνδυασμένη θεραπεία κουμαρίνης και ηπαρίνης

Η συνεχής στάθμη ενδοφλέβια παροχή ηπαρίνης σε θεραπευτικά επίπεδα έχει ελάχιστη επίδραση στα αποτελέσματα του Thrombotest™. Πάντως, η συνδυασμένη θεραπεία με κουμαρίνη συνεχής στάθμη ενδοφλέβια παροχή ηπαρίνης μπορεί να ρυθμιστεί με το Thrombotest™ με τον συνηθισμένο τρόπο. Όταν το αποτέλεσμα του Thrombotest™ μειωθεί σε περίπου 5% ή INR 4.8, η ηπαρίνη μπορεί να διακοπεί. Το αποτέλεσμα του Thrombotest™ θα αυξηθεί κατά 2-5%, αλλά θα εξακολουθεί να είναι εντός του θεραπευτικού εύρους. Η βέλτιστη δοσολογία αντιπηκτικού μπορεί να επιτευχθεί με μικρές ρυθμίσεις της δόσης κουμαρίνης.

Επίδραση της ηπαρίνης στην τιμή του Thrombotest™

Με διαλείπουσα ένεση ηπαρίνης η ηπαρίνης χαμηλού μοριακού βάρους (LMWH), ο χρόνος πήξης του Thrombotest™ παρατείνεται σε διάφορο βαθμό εξαρτώμενο από τον τύπο της ηπαρίνης, την δόση και την ευαισθησία του ασθενούς. Μετά από ενδοφλέβια ένεση 15,000 I.E. αδιάσπαστης ηπαρίνης, η επίδραση μπορεί να διαρκέσει για περίπου 8 ώρες.

Η δόση προφίλαξης (5,000 I.E. ανά 8 ώρες) δεν έχει σημαντικό αποτέλεσμα στην τιμή του Thrombotest™.

Για την επίτευξη οριστών αποτελεσμάτων με το Thrombotest™, δεν πρέπει να ληφθεί δείγμα έως την παρέλευση της επίδρασης της ηπαρίνης, ή, εάν συλλεχθεί νωρίτερα, η προσθήκη 0.08 mg θειικής πρωταμίνης ανά ml αίματος μπορεί να αδρανοποιηθεί την δράση της ηπαρίνης.³

Για τον έλεγχο συνηθισμένων θεραπειών ηπαρίνης, συνιστάται η μέτρηση του χρόνου ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστικής (APTT - Cephrotest™).

ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ

- Πάντα χρησιμοποιείτε τις πρώτες σταγόνες του τριχοειδικού αίματος, μη χρησιμοποιείτε βαμβάκι πριν από τη λήψη δείγματος γιατί ενεργοποιεί τον μηχανισμό πήξης.
- Χρησιμοποιείτε καθαρές πιπέττες και σωληνάρια.
- Χρησιμοποιείτε το υγρό ανασύστασης (χλωριούχο ασβέστιο ή απεσταγμένο νερό) σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η χαμηλή θερμοκρασία μπορεί να προκαλέσει ίωση του ψυχρού μη διαλυτού ινωδογόνου του βόειου πλάσματος.
- Ελέγξτε ότι ο αριθμός του πίνακα συσχέτισης συμφωνεί με τον αριθμό παρτίδας του φιαλιδίου.
- Ελέγξτε ότι έχει ευρεθεί η σωστή τιμή ευαισθησίας ISI για τον αναλυτή, με τη χρήση του πλάσματος βαθμονόμησης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- WHO Expert Committee on biological standardization. 48th. Report. WHO Technical Report 1999; Series 889.
- Owren P.A. :Thrombotest. A new method for controlling anticoagulant therapy. Lancet II, 1959; 754-758.
- Nordoy A.: Difference in the heparin - neutralizing effect of protamine and polybrene as tested by Thrombotest. Scand. J. clin. Lab. Invest. 1963; 15: 205-210.
- Hjort P. F. et al.: Thrombotest with citrated capillary blood. Farmokoterapi, XVII, No. 1, 1961.

2008 - 08

1115414

Thrombotest™ and Thrombotest™ Automated



AVAILABLE PRODUCTS

Thrombotest™ 6x11 mL	240 tests
Thrombotest™ 12x2.2 mL	96 tests
Thrombotest™ Automated 6x11 mL	240 tests
Calcium Chloride 3.2 mmol/L	6x12 mL

DISTRIBUTORS

Distributør i Norge:

Medinor ASA

Postboks 94 Bryn
Nils Hansensvei 4
0611 Oslo
Tlf: 22 07 65 00
Faks: 22 07 65 05
E-mail: medinor@medinor.no
www.medinor.no

Jakelija Suomessa:

Medinor Finland Oy Ab

Rajatorpantie 41 C
01640 VANTAA
puh. (09) 8520 2400
fax (09) 8520 2410
E-mail:
etunimi.sukunimi@medinorfinland.fi
www.medinorfinland.fi

Distributör i Sverige:

Medinor AB

Box 1215
181 24 Lidingö
Tel: 08-544 812 00
E-post: kundservice@medinor.com
www.medinor.se

Distributor in UK:

Axis-Shield UK

Ouse Road
Bicton Industrial Park
Kimbolton
Cambridgeshire PE 28 0LP
Tel: 01480 862100
Fax: 01480 862101
E-mail:
sue.youngusband@axis-shielduk.com
www.axis-shield.com/uksales

Distributør i Danmark:

Medinor AS

Langebjerg 35 B
Postboks 321
4000 Roskilde
Tlf.: 7015 1041
E-mail: info@medinor.dk
www.medinor.dk

A distributor list is available at www.axis-shield-poc.com
Eine Distributorenliste kann unter www.axis-shield-poc.com gefunden werden
Une liste des distributeurs est disponible sur le site www.axis-shield-poc.com
Per un elenco dei distributori, consultare il sito www.axis-shield-poc.com
Una lista de distribuidores está disponible en www.axis-shield-poc.com
Een lijst van distributeurs kan worden gevonden op www.axis-shield-poc.com
Μπορείτε να βρείτε τον κατάλογο διανομέων στη διεύθυνση www.axis-shield-poc.com

**AXIS-SHIELD PoC AS**

P.O. Box 6863 Rodeløkka
NO-0504 Oslo, Norway
www.axis-shield-poc.com

ISO 9001 and ISO 13485 certified company

SYMBOLS/ SYMBOLE/ SYMBOLES/ SIMBOLI/ SÍMBOLOS/ SYMBOLEN/ ΣΥΜΒΟΛΑ



Conformity to the IVD directive 98/79/EC
Geprüft nach IVD Direktive 98/79/CE
Conforme à la directive IVD 98/79/CE
Conforme alla direttiva IVD 98/79/CE
De conformidad con la directiva IVD 98/79/EC
Conform IVD richtlijn 98/97/EC
Συμμόρφωση με την οδηγία 98/79/EK για IVD προϊόντα



In Vitro Diagnostic Medical Device
In Vitro Diagnostikum
Dispositif médical de diagnostic in vitro
Dispositivo medico-diagnostico in vitro
Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek
In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν



Instructions for use.
Gebrauchsanweisung
Mode d'emploi
Guía de uso
Istruzioni per l'uso
Gebruiksaanwijzing
Οδηγίες χρήσεως

≤ +20°C

Storage temperature
Lagerungstemperatur
Température de conservation
Temperatura di conservazione
Temperatura de almacenaje
Opslag temperatuur
Θερμοκρασία αποθήκευσης



Expiration date (year-month)
Verfallsdatum (Jahr-Monat)
Date de péremption (année-mois)
Data di scadenza (anno-mese)
Fecha de vencimiento (año-mes)
Niet gebruiken na (jaar-maand)
Ημερομηνία λήξης (έτος-μήνας)



Lot number
Lotnummer
Numéro de lot
Numero di Lotto
Lote número
Lot nummer
Αριθμός παρτίδας



Catalogue number
Katalognummer
Numéro de code du produit
Codice prodotto
Catálogo número
Catalogus nummer
Αριθμός καταλόγου



Manufacturer
Hersteller
Fabricant
Produttore
Fabricante
Fabriikant
Κατασκευαστής

Thrombotest™ and Thrombotest™ Automated

PRODUCT DESCRIPTION

INTENDED USE

Thrombotest™ is an *in vitro* combined PT reagent to be used for control of oral anticoagulant therapy. Thrombotest™ Automated is the same reagent as the ordinary Thrombotest reagent, but Thrombotest™ Automated is especially designed to be used with coagulation instruments based on optical end point reading.

TEST PRINCIPLE

Thrombotest™ and Thrombotest™ Automated (hereafter called Thrombotest™) are combined Prothrombin Time (PT) tests. Thrombotest™ is lyophilized and contains bovine brain thromboplastin and adsorbed bovine plasma. The thromboplastin is free from coagulation factors and intermediates. The adsorbed plasma is added as a source of factor V and fibrinogen.

Thrombotest™ is sensitive to the coagulation factors II, VII and X. The test is also sensitive to the PIVKA Proteins (Protein Induced by Vitamin K Absence or Antagonists). When Thrombotest™ reagent is mixed with plasma or blood, factor VII will be activated and ultimately, a clot will be formed.

PRESENTATION

Thrombotest™:	12x2.2 mL (96 tests)
	6x11 mL (240 tests)
Thrombotest™ Automated:	6x11 mL (240 tests)

MATERIAL REQUIRED (not supplied with the kit)

- Pipettes: 30 µL, 50 µL, 100 µL, 250 µL, 2.2 mL and 11 mL
- Solutions: Calcium Chloride 3.2 mmol/L, Distilled water

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- [IVD] For *in vitro* diagnostic use.
- Thrombotest™ contains no human material
- Thrombotest™ has been derived from norwegian healthy bovine animals approved for human consumption. Norway is known to be free from the most contagious diseases, and Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) has never been reported in Norway.

ANALYTICAL SPECIFICITY

Thrombotest™ contains bovine thromboplastin as activator of the coagulation process and factor V and fibrinogen are added. Thrombotest™ is sensitive to the concentration of factors II, VII and X in the sample to be measured.

STANDARDISATION

The coagulation activity is expressed as percentage of normal value or in INR units (International Normalized Ratio). The normal value represents the mean of an adult population.

Each lot is calibrated against the International Reference Preparation for bovine thromboplastin OBT/79 through a house reference lot of Thrombotest™ according to WHO recommendations. OBT/79 is in turn standardized against the primary International Reference Preparation (NIBSC code 67/40).¹

Each lot is supplied with a correlation table for manual testing with INR and percent (%) activity, and with the specific International Sensitivity Index (ISI) for manual testing.

MEASURING RANGE

It is recommended to use Thrombotest™ in the range from 100 % to 3% coagulation activity or from INR= 1.0 to INR = 8.0.

PRECISION

A coefficient of variation (CV) of 1- 2 % (within runs) is observed for Thrombotest™ tested with Control Plasma AK on the Thrombotrack™ 1 (250-rpm).

LIMITATION OF THE TEST

Only citrate should be used as anticoagulant (neither EDTA nor heparin).

Corrections for hematocrit deviation: See "Interpretation of Results".

Activation of the coagulation system will induce considerable shortening of the clotting time. Sample tubes used should be made from "non-activating" material and contain correct citrate concentration. Testing should be performed at 37 °C.

Cold activation of the plasma samples should be avoided.

STABILITY AND STORAGE

Thrombotest™:

Unopened vials:	≤ 20 °C: 2 years
Reconstituted reagent:	37 °C: 1 hour
	15-25 °C: 10 hours
	2-8 °C: 3 days
	≤ ±20 °C: 2 months

Deep-frozen reagent should be thawed for at least 10 minutes at 37 °C in a waterbath or in a heating block at 37 °C for 15 minutes.

Thrombotest™ Automated:

Unopened vials:	≤ 20 °C: 2 years
Reconstituted reagent:	37 °C: 1 hour
	15-25 °C: 10 hours
	2-8 °C: 3 days

NB! Reconstituted Thrombotest™ Automated can not be frozen.

The expiry date printed on the labels applies to storage of the unopened bottles at ≤ 20 °C. Upon storage, caps should be screwed tightly.

TEST PROCEDURE

BLOOD SAMPLE COLLECTION

Venous blood

Venous blood is collected in evacuated siliconized blood collection tubes for coagulation analysis (0.11 or 0.13 mol/L Na₂-citrate). Alternatively, 1 volume of 0.11 or 0.13 mol/L Na₂-citrate is added to 9 volumes of whole blood in a non-activating tube.

Preparation of plasma

After centrifugation, measure 30µL of the supernatant plasma into a pipette. Alternatively, dilute 6 volumes of plasma with 4 volumes of saline in a plastic or siliconized glass tube. Measure 50 µL of the diluted plasma into a pipette.

Capillary blood

Make a skin puncture sufficiently deep to produce a free flow of blood. The first drop of blood should always be used.

Preparation of citrated capillary blood⁴

- Use a 0.1 mL pipette with graduation at 50 µL.
- Draw 50 µL of diluted Na₂-citrate solution (1 volume of 0.11 mol/L or 0.13 mol/L Na₂-citrate + 8 volumes of physiological saline) into the pipette.
- Fill the pipette to a volume of 0.1 mL with capillary blood. The first drop of blood should be used.
- Transfer the mixture of blood (50 µL) and diluted Na₂-citrate (50 µL) to the test tube.

RECONSTITUTION OF THE REAGENT

Method	Liquid	Large vials	Small vials
Venous blood	3.2 mmol/L CaCl ₂	11 mL	2.2 mL
Plasma	"	"	"
Citrated capillary blood	"	"	"
Capillary blood	Distilled water	"	"

IMPORTANT!

- The reconstitution liquid and reagent have to reach room temperature before mixing.
- The reconstitution liquid is added to the lyophilized reagent.
- Shake *vigorously* immediately.
- The reagent is ready for use after 5 minutes.

TEST PROCEDURE, MANUAL METHOD

Method	Reconstituted Reagent	Sample
Venous blood	250 µL	50 µL
Plasma	250 µL	30 µL
Diluted plasma	250 µL	50 µL
*Citrated capillary blood	250 µL	100 µL
Capillary blood	250 µL	50 µL

- Pipette 250 µL of reagent into small clotting tubes and prewarm in a waterbath at 37 °C for at least 3 minutes.
- Dispense the blood sample (for correct volume, see Table) from the pipette just above the surface of the reagent and simultaneously start the stopwatch.
- * The citrated capillary blood sample should be incubated at 37 °C for 2-3 minutes. Pipette 250 µL of pre-warmed Thrombotest reagent into the sample, simultaneously starting the stopwatch.
- Mix blood and reagent by flicking the tube once or twice and leave the tube in the waterbath for about 30 seconds for normal blood and 50 seconds for blood from patients on oral anticoagulant therapy.
- At short intervals, tilt gently to observe and record the endpoint of coagulation.
- For the venous blood- and plasma methods, the coagulation activity is read from the column for venous blood or plasma in the Correlation table.
- For the capillary- and citrated capillary blood method, the coagulation activity is read from the column for capillary blood in the Correlation table.

APPLICATION ON INSTRUMENTS

When using Thrombotest™ with Thrombotrack™ 1 (250 rpm), Thrombotrack™ Solo and Thrombotrack™ Select 2, the table for manual testing can be used for translation into % or INR values. When using Thrombotest™ on automatic instruments, an instrument specific ISI value must be established if the results should be reported in INR values. Axis-Shield offers a Calibration Set containing three different plasmas with INR values for Thrombotest™, to be used for establishing the ISI value and normal value on instruments. This calibration should be performed for every new lot of Thrombotest™.

STORAGE AND STABILITY OF THE SAMPLE MATERIAL

- **Venous blood/plasma:** The samples should be stored in plastic tubes or non-activating vials. Blood samples from patients on oral anticoagulant treatment should be tested within 48 hours. Samples from normal individuals within 3 hours.
- **Capillary blood:** Capillary blood samples should be tested immediately.
- **Citrated capillary blood:** Samples should be transferred to plastic tubes. Samples from patients on oral anticoagulant treatment should be tested within 5 hours. Samples from normal individuals should be tested within 1 hour.

INTERNAL QUALITY CONTROL

Axis-Shield offers Control Plasmas (Normal, Abnormal and AK) to control the performance of the test system used.

INTERPRETATION OF RESULTS

Normal range²

INR < 1.08

Therapeutic range

For oral anticoagulant treatment indications and duration of treatment, please make reference to local guidelines.

Correction for abnormal hematocrit

When using whole blood, the result depends on the hematocrit value. This can be corrected by multiplying the **percent value** by a factor. In practice, this is only necessary in cases of patients with severe anemia or polycythemia. Because of the PIVKA effect, there is a different factor for patients receiving oral anticoagulant therapy (AC-patients).

Hematocrit vol. %	Factor (normal)	Factor (AC-patients)
20	0.70	0.85
30	0.80	0.90
40	0.90	0.95
50	1.10	1.05
60	1.38	1.20
70	1.80	1.40

Combined coumarin and heparin therapy

Administration of heparin as continuous intravenous drip in therapeutic doses has minimal influence on the Thrombotest™ time. However, combined therapy with coumarin and continuous intravenous heparin can be controlled with Thrombotest™ in the usual way. When the Thrombotest™ value has decreased to about 5% or INR 4.8, the heparin can be discontinued. The Thrombotest™ value will then increase by 2-5%, but still be within the therapeutic range. The optimal level of anticoagulation can be obtained by minor adjustments of the coumarin dosage.

Influence of heparin on the Thrombotest™ value

By intermittent injection of heparin or LMWHeparin, the Thrombotest™ time is prolonged to varying degrees depending on the brand of heparin, the dosage and the individual sensitivity. After intravenous injection of 15,000 I.E. unfractionated heparin, the effect may last up to about 8 hours. The prophylactic low dosage regime (5,000 I.E. 8 hourly) has no significant effect on the Thrombotest™ value.

In order to obtain correct Thrombotest™ values, the blood sample should not be collected until the heparin effect has vanished, or if collected earlier, adding 0.08 mg of protamine sulphate per mL blood can neutralize the heparin effect.³

For the control of ordinary heparin therapy, a standardized Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) method (Cephotest™) is recommended.

TROUBLESHOOTING

1. Always use the first drops of capillary blood. Do not use cotton wool before sampling because it initiates coagulation.
2. Use only clean pipettes, collecting and clotting tubes.
3. Use reconstitution liquid (Calcium Chloride or distilled water) at room temperature. Low temperature might cause flocculation of cold insoluble fibrinogen in the bovine plasma component of the reagent.
4. Control that the number on the Correlation table corresponds to the batch number of the vial.
5. Check that correct instrument specific ISI value is established by checking with Control Plasmas.

BIBLIOGRAPHY

1. WHO Expert Committee on biological standardization. 48th. Report. WHO Technical Report 1999; Series 889.
2. Owen P.A.: Thrombotest. A new method for controlling anticoagulant therapy. Lancet II, 1959; 754-758.
3. Nordoy A.: Difference in the heparin - neutralizing effect of protamine and polybrene as tested by Thrombotest. Scand. J. clin. Lab. Invest. 1963; 15: 205-210.
4. Hjort P. F. et al.: Thrombotest with citrated capillary blood. Farmokoterapi, XVII, No. 1, 1961.

Thrombotest™ und Thrombotest™ Automated

Produktbeschreibung

Verwendungszweck:

Thrombotest™ ist ein kombiniertes in vitro PTZ Reagenz und wird für die Kontrolle der oralen Antikoagulantientherapie eingesetzt. Thrombotest™ Automated ist das gleiche Reagenz wie das normale Thrombotest Reagenz, Thrombotest™ Automated ist jedoch speziell bestimmt für die Anwendung mit Gerinnungsautomaten mit optischer Endpunkt Bestimmung.

Test Prinzip

Thrombotest™ und Thrombotest™ Automated (im folgenden Thrombotest™ genannt) sind kombinierte Thromboplastinzeit Teste. Thrombotest™ ist lyophilisiert und enthält Rinderhirnthromboplastin und adsorbiertes Rinderplasma. Das Thromboplastin ist frei von Gerinnungsfaktoren und Zwischenprodukten. Das adsorbierte Plasma dient als F V - und Fibrinogenquelle. Thrombotest™ ist empfindlich auf die Faktoren II, VII und X. Der Test ist auch empfindlich auf die PIVKA Proteine (Proteine induziert durch Vitamin K Abwesenheit oder Antagonisten). Wird das Thrombotest™ Reagenz mit Plasma oder Blut gemischt, so kommt es letztlich zu einer Gerinnungsbildung.

Packungsgrößen

Thrombotest™: 12x2,2 mL (96 Tests)
6x11 mL (240 Tests)

Thrombotest™ Automated: 6x11 mL (240 Tests)

Benötigtes Material (nicht im Testkit enthalten)

- Pipetten: 30 µL, 50 µL, 250 µL, 11 mL und 2,2 mL
- Lösungen: Calcium Chlorid 3,2 mmol/L, destilliertes Wasser

Warnhinweise

- [IVD] Nur zur Anwendung als *in vitro* Diagnostikum
- Thrombotest™ beinhaltet kein menschliches Material
- Thrombotest™ wurde aus gesunden, norwegischen Rindern, die für den menschlichen Verzehr vorgesehen sind, hergestellt. Norwegen ist bekannt als frei von den meisten ansteckenden Krankheiten, und es sind keine Fälle von BSE (bovine spongiforme enzephalitis) bekannt.

Analytische Spezifität

Thrombotest™ enthält Rinderthromboplastin zur Aktivierung des Gerinnungsprozesses, sowie Faktor V und Fibrinogen. Thrombotest™ ist sensitiv auf die Konzentration der Faktoren II, VII und X in der zu messenden Probe.

Standardisierung

Die Gerinnungsaktivität wird als Prozent der Norm oder in INR (International Normalized Ratio) angegeben. Der Normalwert repräsentiert den Durchschnitt der erwachsenen Bevölkerung. Unter Verwendung der internationalen Referenz Präparation für bovines Thromboplastin (Code OBT/79) wird jede Charge entsprechend der WHO Empfehlung standardisiert. Diese zertifizierte Referenzpräparation wurde in einer internationalen Studie gegen die primäre internationale Referenzpräparation (Code 67/40) kalibriert.¹ Für jede Charge werden in einer Vergleichstabelle für die manuelle Testmethode die INR-Werte und die Prozent der Norm angegeben. Der dazu verwendete lotspezifische ISI-Wert (Internationaler Sensitivitäts Index) ist ebenfalls angegeben.

Meßbereich

Thrombotest™ kann im Bereich von 100% bis 3 % Gerinnungsaktivität oder von INR=1.0 bis INR=8.0 angewendet werden.

Präzision

Der Variationskoeffizient (VK) innerhalb einer Messserie, ermittelt mit Kontrollplasma AK auf dem Thrombotrack 1 (250 Upm), beträgt für den Thrombotest™ 1-2 %.

Grenzen der Methode

Als Antikoagulant sollte nur Zitrat verwendet werden (weder EDTA noch Heparin). Korrekturen für die Hämatokrit Abweichung: siehe „Interpretation der Ergebnisse“. Eine Aktivierung des Gerinnungssystems bewirkt eine Verkürzung der Gerinnungszeit. Deshalb sollten nur Teströhrchen aus „nicht aktivierendem“ Material verwendet werden. Das Verhältnis Blut (9 Teile) und 0,11 mL Na-Zitrat (1 Teil) muß eingehalten werden. Der Test wird bei 37 °C durchgeführt. Kälteaktivierung der Plasmaproben sollte vermieden werden.

Lagerung und Stabilität

Thrombotest™:

Ungeöffnete Fläschchen: ≤ 20 °C: 2 Jahre
37 °C: 1 Stunde
Rekonstituierte Reagenzien:
15-25 °C: 10 Stunden
2-8 °C: 3 Tage
≤ 20 °C: 2 Monate

Tiefgefrorenes Reagenz mindestens 10 Minuten bei 37 °C in einem Wasserbad oder 15 Minuten bei 37 °C in einem Heizblock auftauen.

Thrombotest™ Automated:

Ungeöffnete Fläschchen: ≤ 20 °C: 2 Jahre
37 °C: 1 Stunde
Rekonstituierte Reagenzien:
15-25 °C: 10 Stunden
2-8 °C: 3 Tage

Bitte beachten! Rekonstituierter Thrombotest™ Automated kann nicht eingefroren werden.

Das Haltbarkeitsdatum ist auf die Etiketten aufgedruckt und bezieht sich auf die ungeöffneten Flaschen bei ≤ 20 °C. Während der Lagerung sollten die Schutzkappen fest verschlossen sein.

Testablauf

Blutentnahme

Venöses Blut

Venöses Blut wird mit evakuierten, silikonisierten Blutentnahmeröhrchen für Gerinnungsanalysen abgenommen. (0,11 oder 0,13 mL Na₃-Citrat)
Alternativ werden 1 Volumeteil 0,11 oder 0,13 mmol/L Na₃-Citrat mit 9 Volumteilen Vollblut in einem nicht aktivierenden Röhrchen gemischt.

Plasma Vorbereitung

Venöses Blut (9 Volumenteile) ist in nicht aktivierenden Röhrchen mit 0,11 mL Na-Zitrat (1 Volumenteil) zu mischen und bei 2500 bis 3000 Upm für 10 Minuten zentrifugieren. Nach der Zentrifugation, werden zur Testung 30 µL des überstehenden Plasmas mit einer Pipette entnommen. Alternativ dazu kann man 6 Volumenteile Plasma mit 4 Volumenteilen isotoner NaCl in einem silikonisierten Röhrchen verdünnen. Vom verdünnten Plasma 50 µL zur Testdurchführung mit einer Pipette entnehmen.

Kapillarblutmethode

Der Einstich in die Haut sollte genügend tief sein, um einen freien Ausfluß des Blutes zu gestatten. Die ersten Tropfen sind zu verwenden.

Herstellung von Citrat-Kapillarblut⁴

- Verwenden Sie eine 0,1 mL Pipette mit einer Graduierung bei 50 µL.
1. Ziehen sie 50 µL verdünnte Natriumcitratlösung (1 Teil einer 0,11 mol/L oder 0,13 mol/L Na₃-Citrat + 1 Teil physiologische Kochsalzlösung) in die Pipette auf.
 2. Füllen Sie die Pipette bis zur 0,1 ml Graduierung mit Kapillarblut. Es sollte der erste Tropfen Blut verwendet werden.
 3. Überführen Sie die Mischung aus Blut (50 µL) und verdünntem Na₃-Citrat (50 µL) in das Teströhrchen.

Rekonstitution des Reagenzes

Methode	Flüssigkeit	Große Flaschen	Kleine Flasche
Venöses Blut	3,2 mmol/L CaCl ₂	11 mL	2,2 mL
Plasma	3,2 mmol/L CaCl ₂	11 mL	2,2 mL
Citrat-Kapillarblut	3,2 mmol/L CaCl ₂	11 mL	2,2 mL
Kapillarblut	Destilliertes Wasser	11 mL	2,2 mL

Wichtig!

- Die Flüssigkeit und das Reagenz müssen vor dem Mischen Raumtemperatur haben.
- Nach Zugabe der Rekonstitutionslösung zum lyophilisierten Reagenz wird dieses sofort geschüttelt.
- Sofort kräftig schütteln.
- Das Reagenz ist nach 5 Minuten gebrauchsfertig.

Testdurchführung, manuelle Methode

Methode	Rekonstituiertes Reagenz	Probe
Venöses Blut	250 µL	50 µL
Plasma	250 µL	50 µL
Verdünntes Plasma	250 µL	50 µL
*Citrat-Kapillarblut	250 µL	100 µL
Kapillarblut	250 µL	50 µL

- Pipettieren Sie 250 µL des Reagenzes in ein Gerinnungsröhrchen und temperieren Sie es bei 37 °C für mindestens 3 Minuten.
- Geben Sie die Blutprobe (Volumenangabe siehe Tabelle) mit der Pipette direkt in das Reagenz und starten Sie die Messung gleichzeitig.
- * Inkubieren Sie die Citrat-Kapillarblutprobe 2 – 3 Minuten bei 37°C. 250 µL vorgewärmtes Thrombotest Reagenz werden in die Probe pipettiert und gleichzeitig die Stoppuhr gestartet.
- Mischen Sie das Blut und das Reagenz durch ein- oder zweimaliges Schütteln und belassen Sie das Röhrchen dann etwa 30 Sekunden bei Normalblut und 50 Sekunden bei Blut von Patienten unter Antikoagulantientherapie im Wasserbad. In kurzen Intervallen kippen Sie nun, um den Endpunkte der Gerinnung zu erkennen und zu registrieren.
- Für die Venenblut- und die Plasmamethode ist die Gerinnungsaktivität der Spalte Plasma/ Venenblut in der Tabelle zu entnehmen.
- Für die Kapillarblutmethode und die Methode für citriertes Kapillarblut werden die Gerinnungsaktivitäten von der Spalte für Kapillarblut der Bezugswerttabelle abgelesen.

Anwendung der Geräte

Bei der Verwendung von Thrombotest™ mit dem Thrombotrack™ 1 (250 rpm), Thrombotrack™ Solo und Thrombotrack™ Select 2 kann die Tabelle für manuelle Messung verwendet werden. Wenn Sie den Thrombotest™ auf anderen Geräten durchführen, muß eine Kalibrierung durchgeführt werden und ein gerätespezifischer ISI Wert ermittelt werden, wenn die Resultate als INR Werte ausgegeben werden. Axis-Shield bietet hierzu ein Kalibrierset an, welcher drei verschiedene Plasmen mit INR Vorgaben für den Thrombotest™ enthält. Diese Kalibrierung sollte für jede neue Charge durchgeführt werden.

Lagerung und Haltbarkeit des Probenmaterials

- **Venöses Blut/Plasma**
Die Aufbewahrung der Proben erfolgt in Plastikröhrchen. Blutproben von oral antikoagulierten Patienten sollten innerhalb von 48 Stunden, andere Proben innerhalb 3 Stunden getestet werden.
- **Kapillarblut**
Kapillarblutproben sind sofort zu testen.
- **Citrat-Kapillarblut:**
Die Proben sollten in Röhrchen aus Kunststoff überführt werden. Proben von Patienten unter oraler Antikoagulantientherapie sollten innerhalb von 5 Stunden, von Normalpersonen innerhalb einer Stunde getestet werden.

Interne Qualitätskontrolle

Axis-Shield bietet Kontrollplasmen im normalen und abnormalen Bereich zur Überprüfung des Testsystems an.

Interpretation der Ergebnisse

Normalbereich²

INR < 1,08

Therapeutischer Bereich

Die Indikationen und Dauer von Behandlungen mit oralen Antikoagulantien sind den lokalen Richtlinien zu entnehmen.

Korrektur für abnormales Hämatokrit

Bei Verwendung von Vollblut hängt das Resultat vom Hämatokritwert ab. Dies kann durch die Multiplikation des Prozentwertes mit einem Faktor korrigiert werden, was aber in der Praxis nur bei Patienten mit schwerer Anämie oder Polyzythämie notwendig ist. Für Patienten unter oraler Antikoagulantientherapie ergibt sich wegen des PIVKA Effektes ein anderer Faktor.

Hämatocrit Vol. %	Faktor (normal)	Faktor (AK-Patienten)
20	0,70	0,85
30	0,80	0,90
40	0,90	0,95
50	1,10	1,05
60	1,38	1,20
70	1,80	1,40

Kombinierte Cumarin und Heparin Therapie

Die Anwendung von Heparin als intravenöser Dauertropf in therapeutischen Dosen beeinflusst die Thrombotest™ Zeit nur minimal. Die kombinierte Therapie mit Cumarin und kontinuierlich intravenös gegebenem Heparin kann daher mit Thrombotest™ auf die gewohnte Art kontrolliert werden. Wenn sich der Thrombotest™ Wert auf 5 % oder INR 4,8 gesenkt hat, kann das Heparin abgesetzt werden. Der Thrombotest™ Wert steigt dann um 2-5 %, liegt aber danach immer noch innerhalb des therapeutischen Bereichs. Das optimale Niveau der oralen Antikoagulantien kann jetzt durch kleinere Anpassungen der Cumarin Dosis erhalten werden.

Einfluß von Heparin auf die Thrombotest™ Werte

Bei fallweiser intravenöser Injektion von Heparin wird die Thrombotest™ Zeit in unterschiedlichem Grad verlängert, abhängig von der Art des Heparins, der Dosis und der individuellen Empfindlichkeit. Nach intravenöser Injektion von 15.000 I.U. Heparin kann dieser Effekt bis zu 8 Stunden anhalten. Die prophylaktische Behandlung mit niedrigen Dosen (5000 I.U. in 8 Stunden) hat auf den Thrombotestwert keinen signifikanten Einfluß. Um korrekte Thrombotestwerte zu erhalten, empfiehlt sich nach Abklingen der Heparineffektes die Abnahme einer weiteren Blutprobe. Bei vorheriger Entnahme kann der Effekt durch Zugabe von 0,04 ml einer 1% igen Protaminsulfatlösung pro 5 mL Blut neutralisiert werden.³ Für die Kontrolle der Heparin Therapie, empfehlen wir eine standardisierte, aktivierte partielle Thromboplastin Zeit (APTT) (Cephotest™).

Fehlerquelle

1. Immer den ersten Tropfen vom Kapillarblut verwenden. Um eine Aktivierung der Blutgerinnung zu vermeiden, bitte keine Baumwollpads benutzen, bevor die Probe entnommen wird.
2. Immer saubere Pipetten, Abnahme- und Gerinnungsröhrchen verwenden.
3. Zur Rekonstitution nur Calciumchloridlösung oder destilliertes Wasser mit Raumtemperatur verwenden. Zu niedrige Temperatur kann zur Ausflockung des Reagenzes führen.
4. Die Chargennummern der Tabelle und der Packung müssen übereinstimmen.
5. Überprüfen Sie durch Einsatz eines geeigneten Kontrollplasmas, ob der gerätespezifische ISI-Wert korrekt ermittelt wurde.

Literatur

1. WHO Expert Committee on biological standardization. 48th. Report. WHO Technical Report 1999; Series 889.
2. Owen P.A.: Thrombotest. A new method for controlling anticoagulant therapy. Lancet II, 1959; 754-758.
3. Nordoy A.: Difference in the heparin - neutralizing effect of protamine and polybrene as tested by Thrombotest. Scand. J. clin. Lab. Invest. 1963; 15: 205-210.
4. Hjort P. F. et al.: Thrombotest with citrated capillary blood. Farmokoterapi, XVII, No. 1, 1961.

Thrombotest™ et Thrombotest™ Automated

DESCRIPTION DU PRODUIT

APPLICATION

Thrombotest™ est une préparation combinée *in vitro* recommandée pour le contrôle du traitement anticoagulant par voie orale. Thrombotest™ Automated est un réactif identique à Thrombotest™, mais il est spécialement indiqué pour l'utilisation sur coagulomètres à détection optique.

PRINCIPE DU TEST

Thrombotest™ et Thrombotest™ Automated (ci-après appelé Thrombotest™) sont des tests combinés dosant le Taux de Prothrombine (TP). Thrombotest™ est un réactif lyophilisé contenant de la thromboplastine bovine tissulaire (cerveau) et du plasma bovin adsorbé. La thromboplastine est dépourvue des facteurs de la coagulation ainsi que de leurs intermédiaires. Le plasma adsorbé constitue une source de facteur V et de fibrinogène.

Thrombotest™ est sensible aux facteurs II, VII et X. Ce réactif est également sensible aux inhibiteurs PIVKA (Protein Induced by Vitamin K Absence or Antagonists). Quand le réactif Thrombotest™ est mélangé au plasma ou au sang complet, le facteur VII est activé et cela entraîne finalement la coagulation de l'échantillon.

PRÉSENTATION

Thrombotest™: 12x2.2 mL (96 tests)
6x11 mL (240 tests)
Thrombotest™ Automated: 6x11 mL (240 tests)

MATÉRIEL NÉCESSAIRE (non fourni avec le kit)

- Pipettes: 30 µL, 50 µL, 250 µL, 2.2 mL et 11 mL
- Solutions: Chlorure de Calcium 3.2 mmol/L, Eau distillée

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- [IVD] Pour usage diagnostique *in vitro*.
- Thrombotest™ ne contient pas de matériel d'origine humaine.
- Thrombotest™ est un réactif dérivé de bovins norvégiens sains, approuvés pour la consommation humaine. Le bétail norvégien est exempt des maladies les plus contagieuses et l'Encéphalopathie Spongiforme Bovine (ESB) n'a jamais été rapportée en Norvège.

SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

Thrombotest™ contient une thromboplastine bovine comme activateur de la coagulation; le facteur V ainsi que le fibrinogène y sont également ajoutés. Thrombotest™ est sensible aux taux des facteurs II, VII et X dans l'échantillon à doser.

ÉTALONNAGE

L'activité coagulante est exprimée en pourcentage de la valeur normale ou en unités INR (International Normalized Ratio). Cette valeur normale correspond à la moyenne obtenue pour une population adulte. Chaque lot est étalonné par rapport à la Préparation Internationale de Référence pour la thromboplastine bovine (OBT/79), et ce via un lot domestique de Thrombotest™ servant de référence, selon les recommandations de l'OMS (Organisation mondiale pour la Santé). OBT/79 est à son tour étalonné par rapport à la Préparation Internationale de Référence primaire (NIBSC code 67/40).¹ Chaque lot est accompagné d'un tableau de corrélation pour la méthode manuelle, dans lequel l'activité coagulante est exprimée en unités INR et en pourcentage (%) d'activité, ainsi que de l'ISI (Index de Sensibilité International) spécifique pour la méthode manuelle.

GAMME DE MESURE

Il est recommandé d'utiliser Thrombotest™ dans la zone thérapeutique de 100% à 3% d'activité coagulante, ou de INR= 1.0 jusqu'à INR= 8.0.

PRÉCISION

Un coefficient de variation (CV) égal à 1- 2% (intra-groupe) est obtenu pour Thrombotest™ testé avec le plasma de contrôle AK et le coagulomètre Thrombotrack™ 1 (250-rpm).

LIMITATION DU TEST

Seul le citrate de sodium peut être utilisé comme anticoagulant (pas EDTA ou héparine). Correction pour les anomalies de l'hématocrite: consulter "Interprétation des Résultats". Une activation de la coagulation entraîne un raccourcissement important du temps de coagulation. Les tubes à essai utilisés doivent être fabriqués à partir de matériaux non-actifs et ils doivent contenir une concentration correcte de citrate. Les échantillons doivent être analysés à 37°C. L'activation des échantillons de plasma par le froid doit être évitée.

STABILITÉ ET CONSERVATION

Thrombotest™:

Flacons intacts: ≤ 20 °C: 2 ans
37 °C: 1 heure
Réactif reconstitué: 15-25 °C: 10 heures
2-8 °C: 3 jours
≤ ±20 °C: 2 mois

Tout réactif congelé doit être réchauffé pendant au moins 10 minutes dans un bain-marie à 37°C ou pendant 15 minutes dans un bloc chauffant à 37°C.

Thrombotest™ Automated:

Flacons intacts: ≤ 20 °C: 2 ans
37 °C: 1 heure
Réactif reconstitué: 15-25 °C: 10 heures
2-8 °C: 3 jours

NB! Une fois reconstitué, Thrombotest™ Automated ne peut pas être congelé.

La date de péremption indiquée sur les étiquettes est valable lorsque les réactifs sont conservés dans leurs flacons d'origine, intacts, à ≤ 20 °C. Les bouchons doivent être bien serrés pendant la conservation.

RÉALISATION DU TEST

PRÉLÈVEMENT DE L'ÉCHANTILLON DE SANG

Sang veineux

L'échantillon de sang veineux est prélevé dans un tube à essai sous vide, siliconé et destiné aux tests de coagulation (Na₂-citrate à 0.11 ou 0.13 mol/L). Alternativement, ajouter 1 volume de Na₂-citrate (0.11 ou 0.13 mol/L) à 9 volumes de sang complet dans un tube à essai non-actif.

Préparation du plasma

Après centrifugation, recueillir 30 µL du plasma surnageant à l'aide d'une pipette. Alternativement, diluer 6 volumes de plasma avec 4 volumes de solution physiologique dans un tube à essai en plastique ou en verre siliconé. Recueillir 50 µL du plasma dilué à l'aide d'une pipette.

Sang capillaire

Inciser la peau de façon suffisamment profonde afin de provoquer un écoulement continu de sang. Il faut toujours utiliser la première goutte de sang.

Préparation de sang capillaire citraté⁴

- Utiliser une pipette de 100 microlitres avec une graduation à 50 microlitres.
- Aspirer 50 microlitres de la solution diluée de Na-citrate (1 volume de 0.11 mol/L ou de 0.13 mol/L de Na₂-Citrate + 8 volumes de sérum physiologique) dans la pipette.
- Compléter la pipette au volume de 100 microlitres avec le sang capillaire. La première goutte de sang devrait être utilisée.
- Transférer le mélange de sang (50 µL) et de solution diluée de citrate sodique (50 µL) dans le tube à essai.

RECONSTITUTION DU RÉACTIF

Méthode	Diluant	Grands flacons	Petits flacons
Sang veineux	3.2 mmol/L CaCl ₂	11 mL	2.2 mL
Plasma	"	"	"
Sang capillaire citraté	"	"	"
Sang capillaire	Eau distillée	"	"

IMPORTANT!

- Le diluant et le réactif doivent être amenés à température ambiante avant la reconstitution.
- Ajouter le diluant au réactif lyophilisé.
- Agiter immédiatement avec *vigueur*.
- Le réactif est prêt à l'emploi après 5 minutes.

RÉALISATION DU TEST

Méthode	Réactif reconstitué	Échantillon
Sang veineux	250 µL	50 µL
Plasma	250 µL	30 µL
Plasma dilué	250 µL	50 µL
*Sang capillaire citraté	250 µL	100 µL
Sang capillaire	250 µL	50 µL

- Pipetter 250 microlitres de réactif dans de petits tubes à coagulation et préchauffer au bain-marie à 37°C pendant au moins 3 minutes.
- Ajouter l'échantillon de sang (pour volume correct, voir Tableau) contenu dans la pipette juste au-dessus de la surface du réactif et, simultanément, déclencher le chronomètre.
- * L'échantillon de sang capillaire citraté doit être incubé à 37°C pour 2 à 3 minutes. Prélever 250 microlitres de réactif Thrombotest préchauffé et l'ajouter à l'échantillon. Simultanément, démarrer le chronomètre.
- Mélanger le sang et le réactif en agitant le tube une ou deux fois et laisser reposer au bain-marie pendant environ 30 secondes pour du sang normal, et 50 secondes pour du sang de patients sous traitement anticoagulant par voie orale.
- Ensuite, à brefs intervalles, incliner doucement le tube afin d'observer et de noter le moment précis de la coagulation.
- Pour les méthodes sur sang veineux et sur plasma, l'activité coagulante est indiquée dans les colonnes correspondantes dans le Tableau de corrélation.
- Pour le sang capillaire et la méthode de sang capillaire citraté, l'activité de coagulation est interprétée à partir de la colonne de sang capillaire dans la table de corrélation.

APPLICATION SUR INSTRUMENTS

Quand Thrombotest™ est utilisé avec Thrombotrack™ 1 (250 rpm), Thrombotrack™ Solo et Thrombotrack™ Select 2, le tableau correspondant à la méthode manuelle peut être utilisé pour traduire les résultats en % ou en unités INR. Quand Thrombotest™ est utilisé avec des coagulomètres automatiques, une valeur spécifique de l'ISI doit être établie pour chaque instrument si les résultats doivent être exprimés en unités INR. Axis-Shield propose un Coffret de Calibration contenant trois plasmas différents présentant des valeurs en unités INR pour Thrombotest™. Ce coffret peut être utilisé afin d'établir l'ISI et la valeur normale pour différents instruments. Cet étalonnage doit être exécuté pour chaque nouveau lot de Thrombotest™.

CONSERVATION ET STABILITÉ DE L'ÉCHANTILLON

- **Sang veineux/plasma:** Les échantillons doivent être conservés dans des tubes en plastique ou des flacons non-actifs. Les échantillons de sang prélevés chez des patients traités aux anticoagulants par voie orale doivent être analysés dans les 48 heures. Les échantillons provenant de patients normaux doivent l'être dans les 3 heures.
- **Sang capillaire:** Les échantillons de sang capillaire doivent être analysés immédiatement.
- **Sang capillaire citraté:** Les échantillons devraient être transférés dans des tubes en plastic. Les échantillons de patients sous anticoagulation orale devraient être examinés dans les 5 heures. Les échantillons de patient «normaux» devraient être analysés sous 1 heure.

CONTRÔLE INTERNE DE QUALITÉ

Axis-Shield propose des Plasma de Contrôle (Normal, Anormal et AK) qui permettent de vérifier la réalisation correcte du test utilisé.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Valeurs usuelles²

INR < 1.08

Fourchette thérapeutique

Concernant les indications et al durée du traitement par anticoagulants oraux, veuillez consulter les recommandations locales.

Correction pour hémocrités anormaux

Du fait de l'utilisation de sang complet, les résultats dépendent de la valeur de l'hématocrite. Une correction peut être effectuée en multipliant la valeur exprimée en pourcentage par un coefficient. En pratique, cela n'est nécessaire que dans le cas de patients présentant une anémie sévère ou une polycythémie. En raison de l'effet PIVKA, le coefficient est différent pour des patients traités aux anticoagulants par voie orale (AC-patients).

Hématocrite vol. %	Coefficient (normal)	Coefficient (AC-patients)
20	0.70	0.85
30	0.80	0.90
40	0.90	0.95
50	1.10	1.05
60	1.38	1.20
70	1.80	1.40

Traitement combiné par les antivitamines K et l'héparine

L'administration de doses thérapeutiques d'héparine par perfusion continue n'a pas d'influence significative sur le temps de Thrombotest™. De ce fait, le traitement combiné par les antivitamines K et la perfusion continue d'héparine peut être contrôlé à l'aide de Thrombotest™, selon la méthode habituelle. Lorsque la valeur du Thrombotest™ est abaissée à environ 5% ou INR 4.8, l'héparine peut être discontinuée. La valeur du Thrombotest™ augmente alors de 2 à 5%, tout en demeurant dans la fourchette thérapeutique. Le niveau optimal d'anticoagulation peut être atteint par de faibles ajustements de la dose d'antivitamines K.

Influence de l'héparine sur les valeurs de Thrombotest™

Lors d'injections discontinues d'héparine non fractionnée (HNF) ou d'héparine de bas poids moléculaire (HBPM), le temps du Thrombotest™ est prolongé à des degrés variables en fonction du choix d'héparine, de la posologie et de la sensibilité individuelle. Après injection intraveineuse de 15,000 UI d'héparine non fractionnée, l'effet peut persister jusqu'à environ 8 heures.

Un traitement prophylactique à faibles doses (5,000 UI toutes les 8 heures) n'a pas d'effet significatif sur la valeur du Thrombotest™. Afin d'obtenir des valeurs correctes avec le Thrombotest™, l'échantillon de sang ne doit pas être prélevé tant que l'effet de l'héparine n'a pas disparu; cependant, s'il est prélevé plus tôt, l'addition de 0.08 mg de sulfate de protamine/mL peut neutraliser l'effet de l'héparine.³ Pour la surveillance d'un traitement par héparine standard, il est recommandé d'utiliser la méthode Temps de Céphaline + Activateur (TCA), c'est-à-dire Cephotest™.

CAUSES D'ERREURS

- Toujours utiliser les premières gouttes de sang capillaire. Ne pas utiliser d'ouate avant le prélèvement car cela risque d'amorcer la coagulation.
- Les pipettes, les tubes à essai et les tubes à coagulation doivent être rigoureusement propres.
- Le diluant (Chlorure de Calcium ou eau distillée) doit être amené à température ambiante avant utilisation. Une basse température peut entraîner la floculation du fibrinogène insoluble à froid de la composante plasma bovin du réactif.
- Vérifier que le numéro inscrit sur le Tableau de corrélation correspond bien au numéro de lot du flacon.
- Vérifier que l'ISI spécifique de l'instrument utilisé est correctement établi en contrôlant à l'aide des Plasmas de Contrôle.

BIBLIOGRAPHIE

- WHO Expert Committee on biological standardization. 48th. Report. WHO Technical Report 1999; Series 889.
- Owren P.A.: Thrombotest. A new method for controlling anticoagulant therapy. Lancet II, 1959; 754-758.
- Nordoy A.: Difference in the heparin - neutralizing effect of protamine and polybrene as tested by Thrombotest. Scand. J. clin. Lab. Invest. 1963; 15: 205-210.
- Hjort P. F. et al.: Thrombotest with citrated capillary blood. Farmokoterapi, XVII, No. 1, 1961.

Thrombotest™ e Thrombotest™ Automated

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

USO

Il Thrombotest™ è un reattivo "combinato" per l'esecuzione del Tempo di Protrombina (PT) *in vitro* ed usato per il controllo della terapia anticoagulante orale. Il Thrombotest™ Automated è lo stesso reattivo, ma adattato in modo particolare all'utilizzo su coagulometri con lettura ottica a punto finale.

PRINCIPIO DEL TEST

Il Thrombotest™ ed il Thrombotest™ Automated (da ora in avanti chiamato Thrombotest™) sono tests "combinati" per l'esecuzione del Tempo di Protrombina (PT). Il Thrombotest™ è un reattivo liofilizzato contenente tromboplastina di cervello e plasma bovino. La tromboplastina è priva dei fattori della coagulazione e dei fattori intermedi. Il plasma viene aggiunto quale fonte di fattore V e fibrinogeno. Il Thrombotest™ è sensibile ai fattori della coagulazione II, VII e X. Il test è inoltre sensibile alle proteine PIVKA (Proteine Indotte dall'Assenza di Vitamina K o Antagonisti). Quando il reattivo Thrombotest™ viene aggiunto al plasma o al sangue da esaminare, il fattore VII si attiva e determina la formazione di un coagulo.

CONFEZIONI

Thrombotest™: 12x2.2 mL (96 tests)
6x11 mL (240 tests)
Thrombotest™ Automated: 6x11 mL (240 tests)

MATERIALI RICHIESTI (non forniti nel kit)

- Pipette : 30 µL, 50 µL, 250 µL, 11 mL, 2.2 mL
- Soluzioni : Calcio Cloruro 3.2 mmol/L, Acqua Distillata

PRECAUZIONI

- [IVD] Per uso diagnostico *in vitro*.
- Il Thrombotest™ non contiene materiale di derivazione umana
- Il Thrombotest™ è stato ottenuto da bovini norvegesi sani destinati al consumo alimentare umano. La Norvegia è nota per essere esente dalla diffusione delle malattie più contagiose, inoltre in Norvegia non sono mai stati riportati casi di Encefalopatia Bovina Spongiforme (BSE).

SPECIFICITA' ANALITICA

Il Thrombotest™ contiene tromboplastina bovina quale attivatore del processo coagulativo, con l'aggiunta di fattore V e fibrinogeno. Il Thrombotest™ è sensibile alla concentrazione dei fattori II, VII e X nel campione da testare.

STANDARDIZZAZIONE

L'attività coagulante è espressa come percentuale rispetto al valore normale oppure in unità INR (International Normalized Ratio). Il valore normale è rappresentato dal valore medio riscontrato in una popolazione adulta.

Ogni lotto viene calibrato contro la Preparazione di Riferimento Internazionale per la tromboplastina bovina, OBT/79, attraverso un lotto Thrombotest™ di riferimento e secondo le raccomandazioni WHO. La tromboplastina OBT/79 è a sua volta standardizzata contro la Preparazione primaria di Riferimento Internazionale (NIBSC codice 67/40).¹

Ciascun lotto è accompagnato da una tabella di correlazione per i tests eseguiti manualmente, riportante le unità INR, l'attività percentuale (%) e lo specifico Indice di Sensibilità Internazionale (ISI).

INTERVALLO DI MISURA

Si raccomanda di usare il Thrombotest™ in un intervallo di attività coagulante compreso tra il 100% ed il 3% oppure tra INR = 1.0 e INR = 8.0.

PRECISIONE

Il Thrombotest™, testato con il Plasma di Controllo AK sullo strumento Thrombotrack 1 Channel (250-rpm), determina un coefficiente di variazione (CV) dell'1-2% (entro le serie).

LIMITAZIONI DEL TEST

Solamente il Sodio Citrato può essere utilizzato quale anticoagulante per il prelievo del campione di sangue (né EDTA, né eparina).

Correzioni dei risultati dipendenti dal valore di ematocrito : Vedere il paragrafo "Interpretazione dei Risultati". L'attivazione del sistema coagulativo causa un considerevole accorciamento del tempo di coagulazione rilevato dal test.

Le provette utilizzate per il prelievo del campione devono essere costituite da materiali "non-attivanti" e contenere Sodio Citrato nella corretta concentrazione. I tests vanno eseguiti alla temperatura di 37° C. Deve essere evitata l'attivazione da freddo (cold activation) del campione di plasma.

STABILITA' E CONSERVAZIONE

Thrombotest™:

Flacone chiuso : ≤ 20 °C: 2 anni
37 °C: 1 ora
Reattivo ricostituito : 15-25 °C: 10 ore
2-8 °C: 3 giorni
≤ ± 20 °C: 2 mesi

Il reattivo congelato deve essere riscaldato, prima dell'utilizzo, per almeno 10 minuti a 37° C in un bagno termostato oppure per 15 minuti a 37° C in una stufa.

Thrombotest™ Automated:

Flacone chiuso : ≤ 20 °C: 2 anni
37 °C: 1 ora
Reattivo ricostituito : 15-25 °C: 10 ore
2-8 °C: 3 giorni

NB! Il Thrombotest™ Automated non può essere congelato una volta ricostituito.

La data di scadenza stampata sulle etichette si riferisce alla conservazione dei flaconi intatti ad una temperatura ≤ 20° C. Durante la conservazione i tappi devono essere avvitati saldamente.

ESECUZIONE DEL TEST

PRELIEVO DEL CAMPIONE DI SANGUE

Sangue venoso

Raccogliere il sangue venoso sotto vuoto in provette siliconate per coagulazione (0.11 o 0.13 mol/L Na₂-citrato). In alternativa aggiungere 1 volume di 0.11 o 0.13 mol/L Na₂-citrato a 9 volumi di sangue intero in una provetta con parete non-attivante.

Preparazione del plasma

Dopo la centrifugazione, prelevare 30 µL di plasma surnatante con una pipetta. In alternativa diluire 6 volumi di plasma con 4 volumi di soluzione fisiologica in una provetta di plastica o di vetro siliconato e prelevare 50 µL di plasma diluito con una pipetta.

Sangue capillare

Effettuare una puntura intradermica sufficientemente profonda da provocare una fuoriuscita di sangue. Si deve sempre utilizzare la prima goccia di sangue.

Preparazione del metodo per sangue capillare citratato*

Utilizzare una pipetta da 0.1 mL graduata a 50 µL.
1. Prelevare 50 µL di soluzione Na₂-citrato diluita (1 volume di 0.11 mol/L o 0.13 mol/L Na₂-citrato + 8 volumi di soluzione fisiologica).
2. Riempire la pipetta con sangue capillare fino ad un volume di 0.1 mL. Utilizzare la prima goccia di sangue.
3. Trasferire la miscela di sangue (50 µL) e Na₂-citrato diluito (50 µL) nella provetta da testare.

RICOSTITUZIONE DEL REAGENTE

Metodo	Diluente	Volume di diluente Flaconi grandi	Volume di diluente Flaconi piccoli
Sangue venoso	3.2 mmol/L CaCl ₂	11 mL	2.2 mL
Plasma	"	"	"
Sangue capillare citratato	"	"	"
Sangue capillare	Acqua distillata	"	"

IMPORTANTE !

- Il reattivo ed il diluente devono raggiungere la temperatura ambiente prima di essere miscelati.
- Aggiungere il diluente al reattivo liofilizzato.
- Agitare immediatamente in modo vigoroso.
- Il reattivo è pronto all'uso dopo 5 minuti.

ESECUZIONE DEL TEST

Metodo	Reattivo ricostituito	Campione
Sangue venoso	250 µL	50 µL
Plasma	250 µL	30 µL
Plasma diluito	250 µL	50 µL
*Sangue capillare citratato	250 µL	100 µL
Sangue capillare	250 µL	50 µL

- Pipettare 250 µL di reattivo in piccole provette da coagulazione e preriscaldare le provette in bagno termostato a 37° C per almeno 3 minuti.
- Pipettare il campione (per il volume attenersi alla tabella) appena sopra la superficie del reattivo e contemporaneamente far partire il cronometro.
- * Il campione di sangue capillare citratato deve essere incubato 2-3 minuti a 37° C. Pipettare 250 µL di reagente Thrombotest preriscaldato nella provetta da testare e contemporaneamente far partire il cronometro.
- Miscelare il campione con il reattivo agitando la provetta una o due volte e lasciarla nel bagno termostato circa 30 secondi per i campioni di pazienti non anticoagulati e 50 secondi per i campioni di pazienti in terapia anticoagulante orale.
- Inclinare la provetta a brevi intervalli per osservare e registrare la formazione del coagulo.
- Per il metodo con sangue venoso e plasma l'attività coagulante è riportata nelle rispettive colonne della tabella allegata al kit.
- Sia per il metodo con sangue capillare che per il metodo con sangue capillare citratato l'attività coagulante è riportata nella colonna della tabella di correlazione relativa al sangue capillare.

APPLICAZIONE SUGLI STRUMENTI

Utilizzando il Thrombotest™ con il Thrombotrack™ 1 Channel (250-rpm), Thrombotrack™ Solo ed il Thrombotrack™ Select 2 è possibile esprimere i risultati in % o in INR basandosi sulla tabella per i tests manuali. Utilizzando il Thrombotest™ su strumenti automatici occorre stabilire, per ogni tipo di strumento, uno specifico valore di ISI nel caso sia necessario esprimere i risultati in unità INR. La Axis-Shield offre un Set di Calibrazione contenente 3 plasmidi con diverso INR, in grado di stabilire il valore di ISI del lotto di Thrombotest™ utilizzato ed il tempo normale di coagulazione. Questa calibrazione deve essere eseguita per ogni nuovo lotto di Thrombotest™.

CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI CAMPIONI

- Sangue venoso/plasma :

I campioni devono essere conservati in provette di plastica, o comunque, in provette "non attivanti". I campioni di pazienti in terapia anticoagulante orale devono essere testati entro 48 ore, i campioni non anticoagulati entro 3 ore.

- Sangue capillare :

I campioni di sangue capillare devono essere testati immediatamente.

- Sangue capillare citratato :

I campioni devono essere dispensati in provette di plastica. I campioni dei pazienti in trattamento anticoagulante orale devono essere testati entro 5 ore. I campioni di soggetti normali devono essere testati entro 1 ora.

CONTROLLO DI QUALITA' INTERNO

La Axis-Shield offre Plasmidi di Controllo (Normal, Abnormal e AK) per il controllo delle prestazioni del sistema utilizzato.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Valori normali²

INR < 1.08

Intervallo terapeutico

Per le indicazioni e la durata del trattamento anticoagulante orale fare riferimento alle linee guida locali.

Correzione dei risultati per valori di ematocrito anomali

Nel caso si utilizzi sangue intero come campione, il risultato dipende dal valore di ematocrito. Questo risultato può essere corretto moltiplicando il **valore percentuale** per un Fattore. In pratica questa procedura è necessaria solamente in presenza di pazienti con anemia grave o policitemia. Per i pazienti in terapia anticoagulante orale (pazienti-AC) il Fattore è differente a causa dell'effetto delle PIVKA.

Volume Ematocrito %	Fattore (pazienti non AC)	Fattore (pazienti AC)
20	0.70	0.85
30	0.80	0.90
40	0.90	0.95
50	1.10	1.05
60	1.38	1.20
70	1.80	1.40

Terapia cumarinica-eparinica combinata

La somministrazione di eparina in dosi terapeutiche, mediante infusione endovenosa continua, ha un'influenza minima sul tempo di coagulazione eseguito con il Thrombotest™. La terapia con cumarina, combinata all'infusione endovenosa continua di eparina, può essere monitorata mediante la normale metodica Thrombotest™.

L'eparina deve essere sospesa quando il valore ottenuto con il Thrombotest™ diminuisce fino ad arrivare a circa il 5% o INR 4.8. Il valore ottenuto con il Thrombotest™ in questo caso aumenterà del 2-5% ma rimarrà ugualmente all'interno dell'intervallo terapeutico. Il livello anticoagulante ottimale può essere raggiunto attraverso piccoli aggiustamenti del dosaggio cumarinico.

Influenza dell'eparina sui valori ottenuti con il Thrombotest™

Infusioni intermittenti di eparina o di eparina a basso peso molecolare (LMWHeparin) determinano un prolungamento in vario grado del tempo di coagulazione eseguito con il Thrombotest™. Questa evidenza dipende dal tipo di eparina, dal suo dosaggio e dalla risposta individuale. L'eparina non frazionata, somministrata in iniezione endovenosa di 15000 Unità Internazionali (U.I.), può avere un effetto della durata di circa 8 ore.

Il regime a basso dosaggio (5000 U.I. ogni 8 ore), somministrato a scopo profilattico, non ha effetti significativi sul valore ottenuto con il Thrombotest™.

Per ottenere valori corretti con il Thrombotest™ i campioni di sangue non dovrebbero essere prelevati prima che sia cessato l'effetto dell'eparina, altrimenti aggiungere al prelievo 0.08 mg di solfato di protamina/mL quale neutralizzante.³

Per il monitoraggio della terapia eparinica si consiglia un metodo standardizzato (Cephotest™) per la determinazione del tempo di tromboplastina parziale attivato (APTT).

INCONVENIENTI POSSIBILI

1. Utilizzare sempre la prima goccia di sangue capillare. Il cotone idrofilo attiva la coagulazione : non utilizzarlo prima del campionamento.
2. Le pipette e le provette per il prelievo e la coagulazione devono essere pulite.
3. Ricostituire il reattivo Thrombotest™ con Calcio Cloruro o acqua distillata portati a temperatura ambiente. A temperature inferiori il fibrinogeno del plasma bovino, complessato con il reattivo, è insolubile e può determinare la formazione di flocculati.
4. Controllare che il numero di lotto riportato sull'etichetta del flacone corrisponda esattamente al numero riportato sulla tabella di correlazione.
5. Controllare che lo specifico valore di ISI dello strumento sia stato correttamente stabilito attraverso la procedura eseguita con i Plasmidi di Controllo del Set di Calibrazione.

BIBLIOGRAFIA

1. WHO Expert Committee on biological standardization. 48th. Report. WHO Technical Report 1999; Series 889.
2. Owren P.A.: Thrombotest. A new method for controlling anticoagulant therapy. Lancet II, 1959; 754-758.
3. Nordoy A.: Difference in the heparin - neutralizing effect of protamine and polybrene as tested by Thrombotest. Scand. J. clin. Lab. Invest. 1963; 15: 205-210.
4. Hjort P. F. et al.: Thrombotest with citrated capillary blood. Farmokoterapi, XVII, No. 1, 1961.

Thrombotest™ y Thrombotest™ Automated

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

UTILIZACIÓN

Thrombotest™ es un reactivo de TP combinado "in vitro" para ser utilizado en el control de la terapia anti-coagulante oral. Thrombotest™ Automated es el mismo reactivo que el reactivo Thrombotest™ normal aunque Thrombotest™ Automated está especialmente diseñado para usarse con coagulómetros basados en lectura óptica end point.

PRINCIPIO DEL TEST

Thrombotest™ y Thrombotest™ Automated (a partir de ahora llamados Thrombotest™) son test combinados de Tiempo de Protrombina (TP). Thrombotest™ está liofilizado y contiene tromboplastina de cerebro bovino y plasma bovino adsorbido. La tromboplastina está libre de los factores de la coagulación y sus intermediarios. El plasma adsorbido se añade como aporte de Factor V y fibrinógeno. Thrombotest™ es sensible a los factores de la coagulación II, VII y X. El test es también sensible a las Proteínas PIVKA (Proteínas Inducidas por Ausencia de Vitamina K o Antagonistas). Cuando el reactivo Thrombotest™ se mezcla con sangre o plasma, el Factor VII se activa y posteriormente, se formará un coágulo.

PRESENTACIÓN

Thrombotest™:	12x2.2 mL (96 tests)
	6x11 mL (240 tests)
Thrombotest™ Automated	6x11 mL (240 tests)

MATERIAL NECESARIO (no suministrado con el kit)

- Pipetas de: 30 µL, 50 µL, 250 µL, 11 mL y 2.2 mL.
- Soluciones: Cloruro cálcico 3.2 mmol/L, Agua destilada.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- [IVD] Para uso diagnóstico "in vitro".
- Thrombotest™ no contiene material de origen humano.
- Thrombotest™ se obtiene de animales bovinos noruegos sanos acreditados para consumo humano. Noruega está reconocida de estar libre de la mayoría de enfermedades contagiosas, y nunca ha sido reportada en Noruega la encefalopatía espongiiforme bovina (EEB).

ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Thrombotest™ contiene tromboplastina bovina como activador del proceso de la coagulación, y además tiene añadidos Factor V y fibrinógeno. Thrombotest™ es sensible a la concentración de los factores II, VII y X de la muestra que ha de ser medida.

ESTANDARIZACIÓN

La actividad de coagulación se expresa como un porcentaje (%) del valor normal o en unidades INR (Ratio Internacional Normalizado). El valor normal corresponde a la media de una población adulta. Cada lote se calibra respecto a la preparación de referencia internacional para la tromboplastina bovina OBT/779 por medio de un lote de referencia propia según las recomendaciones de la OMS. Esta preparación de referencia OBT/779 se estandariza a su vez respecto a la preparación de referencia internacional primaria (NIBSC código 67/40).¹ Cada lote se suministra con una tabla de correlación para los tests manuales con el INR y el porcentaje de actividad (%), y con el índice de sensibilidad internacional específico (ISI) para técnica manual.

RANGO DE MEDIDA

Se recomienda utilizar Thrombotest™ en el rango de 100% a 3% de actividad de coagulación o de INR = 1.0 a 8.0.

PRECISIÓN

Cuando se utiliza Thrombotest™ con el Plasma Control AK en el coagulómetro Thrombotrack-1 (250 rpm) se observa un coeficiente de variación (CV) del 1-2 % (mientras se realiza la prueba).

LIMITACIÓN DEL TEST

Sólo debe utilizarse como anticoagulante citrato (no utilizar EDTA o heparina). Para correcciones en desviaciones del hematocrito: Ver "Interpretación de resultados". La activación de la cascada de la coagulación producirá un acortamiento considerable del tiempo de formación del coágulo. Los tubos de ensayo utilizados deberían de estar fabricados con materiales no activantes y conteniendo una concentración de citrato correcta. La prueba debe realizarse a 37° C. Se debe evitar que la muestra de plasma se active por el frío.

ESTABILIDAD Y ALMACENAJE

Thrombotest™:

Viales no abiertos:	≤ 20 °C: 2 años
	37 °C: 1 hora
Reactivo reconstituido:	15-25 °C: 10 horas
	2-8 °C: 3 días
	≤ ± 20 °C: 2 meses

El reactivo congelado deberá ser descongelado a 37° C bien al baño maría durante al menos 10 minutos, o bien en un calentador durante 15 minutos.

Thrombotest™ Automated:

Viales no abiertos:	≤ 20 °C: 2 años
	37 °C: 1 hora
Reactivo reconstituido:	15-25 °C: 10 horas
	2-8 °C: 3 días

Nota: El Thrombotest™ Automated una vez reconstituido no puede ser congelado.

La fecha de caducidad impresa en las etiquetas se aplica a los viales no abiertos almacenados a ≤ 20° C. Cuando se almacenen los frascos, los tapones deberán estar apretados con firmeza.

REALIZACIÓN DEL TEST

RECOGIDA DE LA MUESTRA DE SANGRE

Sangre venosa

La sangre venosa se recoge en tubos de recogida de sangre vacíos y siliconados para análisis de coagulación (Citrato-Na, 0.11 o 0.13 mol/L).

Otra alternativa es añadir 1 volumen de citrato-Na, 0.11 o 0.13 mol/L a 9 volúmenes de sangre total en un tubo no activante.

Preparación del plasma

Después de la centrifugación, tomar 30 µL del plasma sobrenadante en una pipeta. Otra alternativa es, diluir 6 volúmenes de plasma con 4 volúmenes de solución salina en un tubo de plástico o vidrio siliconado. Tomar 50 µL del plasma diluido en una pipeta.

Sangre capilar

Hacer una punción en la piel lo suficientemente profunda para producir un flujo libre de sangre. Siempre debe utilizarse la primera gota de sangre.

Preparación en el método de sangre capilar citratada⁴

Utilizar una pipeta graduable de 0.1 – 50 µL.

1. Verter dentro de la pipeta : 50 µL de solución de citrato sódico (1 volumen de citrato sódico 0.11 mol/L o 0.13 mol/L + 8 volúmenes de solución salina fisiológica).
2. Introducir en la pipeta un volumen de 0.1 mL de sangre capilar. Utilizar siempre la primera gota de sangre.
3. Trasvasar la mezcla de sangre (50 µL) y de citrato sódico diluido (50 µL) a un tubo para realizar el test.

RECONSTITUCIÓN DEL REACTIVO

Método	Líquido	Volumen	
		Viales grandes	Viales pequeños
Sangre venosa	Cl ₂ Ca 3.2 mmol/L	11 mL	2.2 mL
Plasma	"	"	"
Sangre capilar citrada	"	"	"
Sangre capilar	Agua destilada	"	"

¡IMPORTANTE!

- El líquido de reconstitución y el reactivo deben de alcanzar la temperatura ambiente antes de la mezcla.
- El líquido de reconstitución se añade al reactivo liofilizado.
- Agitar con fuerza inmediatamente.
- El reactivo está listo para ser utilizado al cabo de 5 minutos.

REALIZACIÓN DEL TEST

Método	Reactivo reconstituido	Muestra
Sangre venosa	250 µL	50 µL
Plasma	250 µL	30 µL
Plasma diluido	250 µL	50 µL
*Sangre capilar citratada	250 µL	100 µL
Sangre capilar	250 µL	50 µL

- Pipetear 250 µL del reactivo en tubos pequeños de coagulación y precalentar en baño maría a 37° C durante al menos 3 minutos.
- Aplicar la muestra de sangre desde la pipeta (para el volumen correcto, ver la tabla) justo encima de la superficie del reactivo, y poner en marcha simultáneamente el cronómetro.
- * La muestra de sangre capilar citratada deberá incubarse a 37° C durante 2-3 minutos. Pipetear sobre la muestra 250 µL del reactivo Thrombotest previamente precalentado al mismo tiempo que se pone en marcha el cronómetro.
- Mezclar la sangre y el reactivo dando uno o dos golpecitos al tubo y dejar el tubo en el agua durante unos 30 segundos para la sangre normal, y 50 segundos para pacientes bajo terapia anticoagulante oral.
- A intervalos cortos, inclinar con suavidad para observar y determinar el momento de coagulación.
- Para el método venoso y de plasma, la actividad de coagulación se lee en la columna de la tabla de correlación correspondiente a sangre venosa o plasma.
- La actividad de coagulación tanto en el método de sangre capilar como en el de sangre capilar citratada se lee en la columna correspondiente de sangre capilar de la tabla de Correlación.

UTILIZACIÓN EN COAGULÓMETROS

Cuando se utiliza Thrombotest™ con Thrombotrack™-1 (250 rpm), Thrombotrack™ Solo y Thrombotrack™-2 Select, se puede utilizar la tabla de test manual para la interpretación de valores en (%) o INR. Cuando se utiliza Thrombotest™ en aparatos automáticos, es imprescindible establecer un valor específico del ISI en el instrumento si se quieren obtener resultados en valores INR. Axis-Shield ofrece un kit de calibración que contiene tres plasmas diferentes con valores INR para Thrombotest™ con el fin de ser utilizados para establecer el valor ISI y el valor normal en los instrumentos. Esta calibración debe realizarse cada vez que se cambia de lote de Thrombotest™.

ALMACENAJE Y ESTABILIDAD DE LOS MATERIALES DE LA MUESTRA

Sangre venosa/plasma:

Las muestras deben de almacenarse en tubos de plástico o en viales no activantes. Las muestras de sangre procedentes de pacientes en tratamiento anticoagulante oral deben de ser testadas en 48 horas. Las muestras procedentes de personas normales en 3 horas.

Sangre capilar:

Las muestras de sangre capilar deben de ser testadas inmediatamente.

Sangre capilar citratada:

Las muestras deben ser transferidas a tubos de plástico. Las muestras procedentes de pacientes en tratamiento de anticoagulación oral deberán ser testadas en las primeras 5 horas. Las muestras procedentes de individuos normales deberán ser testadas durante la primera hora.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO

Axis-Shield ofrece Plasmas Control (Normal, Anormal y AK) para controlar la realización del sistema analítico utilizado.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Rango normal²

INR < 1.08

Rango terapéutico

Para el tratamiento de la anticoagulación oral y la duración del mismo, por favor, seguir las normas locales.

Corrección para hematocrito anormal

Utilizando sangre total el resultado depende del valor del hematocrito. Este puede corregirse multiplicando el porcentaje del valor por un factor. En la práctica, esto solo es necesario en casos de pacientes con anemia severa o policitemia. Debido al efecto PIVKA, los pacientes que reciben tratamiento anticoagulante oral (pacientes en TAO) tienen un valor distinto.

% vol. hematocrito	Factor (normal)	Factor (pacientes en TAO)
20	0.70	0.85
30	0.80	0.90
40	0.90	0.95
50	1.10	1.05
60	1.38	1.20
70	1.80	1.40

Terapia combinada de cumarina y heparina

La administración de heparina en goteo intravenoso continuo a dosis terapéuticas tiene una influencia mínima sobre el tiempo de Thrombotest™. Por tanto, una terapia combinada con cumarina y heparina intravenosa continua puede controlarse con Thrombotest™ en la forma habitual. Cuando el valor de Thrombotest™ disminuye hasta alrededor del 5% o INR 4.8, la heparina puede interrumpirse. El valor de Thrombotest™ aumentará entonces en un 2-5%, aunque estará todavía dentro del rango terapéutico. El nivel óptimo de anticoagulación puede obtenerse mediante ajustes menores en la dosis de cumarina.

Influencia de la heparina en el valor de Thrombotest™

Mediante una inyección intravenosa intermitente de heparina de bajo peso molecular el tiempo de Thrombotest™ se prolonga de forma variable dependiendo de la marca de heparina, la dosis y la sensibilidad individual. Después de una inyección intravenosa de 15.000 U.I. de heparina no fraccionada, el efecto puede durar hasta 8 horas.

El régimen profiláctico de baja dosis (5.000 U.I. cada 8 horas) no tiene un efecto significativo en el valor de Thrombotest™.

A fin de obtener unos valores de Thrombotest™ correctos, la muestra de sangre no debería recogerse hasta que el efecto de la heparina hubiera desaparecido, y si se recogiera antes, el efecto puede ser neutralizado añadiendo 0.08 mg de sulfato de protamina/mL.³

Para el control de la terapia con heparina, se recomienda un método estandarizado (Cephotest) de tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA).

CORRECCIÓN DE PROBLEMAS

1. Utilizar siempre la primera gota de sangre capilar. No utilizar algodón hidrófilo antes de recoger la muestra ya que ello da inicio a la coagulación.
2. Utilizar sólo pipetas y tubos de recogida y coagulación que estén limpios.
3. Utilizar el líquido de reconstitución (cloruro cálcico o agua destilada) a temperatura ambiente. Las temperaturas bajas pueden producir floculación del fibrinógeno insoluble en frío del plasma bovino que contiene el reactivo.
4. Controlar que la tabla de correlación de resultados que se está usando se corresponde con la del número de lote del vial de Thrombotest™.
5. Comprobar que se está utilizando un coagulómetro adecuado al ISI específico del reactivo, realizando un chequeo del mismo por medio de los Plasmas Control.

BIBLIOGRAFÍA

1. WHO Expert Committee on biological standardization. 48th. Report. WHO Technical Report 1999; Series 889.
2. Owen P.A.: Thrombotest. A new method for controlling anticoagulant therapy. Lancet II, 1959; 754-758.
3. Nordoy A.: Difference in the heparin - neutralizing effect of protamine and polybrene as tested by Thrombotest. Scand. J. clin. Lab. Invest. 1963; 15: 205-210.
4. Hjort P. F. et al.: Thrombotest with citrated capillary blood. Farmokoterapi, XVII, No. 1, 1961.

Thrombotest™ en Thrombotest™ Automated

PRODUCT BESCHRIJVING

GEBUIK

Thrombotest™ is een *in vitro* gecombineerd PT reagens voor de controle van orale antistollings therapie. Thrombotest™ Automated is vrijwel identiek aan het Thrombotest reagens, Thrombotest™ Automated is echter speciaal ontwikkeld voor gebruik op stollingsapparaten die gebaseerd zijn op een foto-optische eindpunts aflezing.

TEST PRINCIPE

Thrombotest™ en Thrombotest™ Automated (hierna genoemd Thrombotest™) zijn gecombineerde Prothrombine Tijd (PT) testen. Thrombotest™ reagens is gelyophiliseerd en bevat thromboplastine uit runderhersen en geadsorbeerd runder plasma. Het thromboplastine bevat geen stollingsfactoren of afgeleiden daarvan. Het geabsorbeerde plasma is toegevoegd als een basis van factor V en fibrinogeen. Thrombotest™ is gevoelig voor de stollingsfactoren II, VII en X. De test is ook gevoelig voor PIVKA eiwitten (Protein Induced by Vitamin K Absence or Antagonists). Als Thrombotest™ reagens aan plasma of bloed wordt toegevoegd, wordt factor VII geactiveerd en zal er uiteindelijk een stolsel worden gevormd.

BESCHIKBARE KIT

Thrombotest™: 12x2,2 mL (96 testen)
6x11 mL (240 testen)

Thrombotest™ Automated: 6x11 mL (240 testen)

BENODIGDE MATERIALEN (niet in de kit bijgeleverd)

- Pipetten: 30 µL, 50 µL, 250 µL, 11 mL en 2,2 mL
- Calcium Chloride 3.2 mmol/L, gedestilleerd water

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

- **[IVD]** Voor *in vitro* diagnostic gebruik.
- Thrombotest™ bevat geen humaan materiaal
- Thrombotest™ wordt verkregen uit gezonde Noorse runderen die geschikt zijn voor consumptie. Noorwegen staat erom bekend dat het vrij is van de meeste besmettelijke ziekten, en BSE is nooit aange- toond in Noorwegen.

ANALYTISCHE SPECIFICITEIT

Thrombotest™ bevat een runder thromboplastine als activator voor het stollingsproces waar factor V en fibrinogeen aan zijn toegevoegd. Thrombotest™ is gevoelig voor de concentratie van factor II, VII en X in het te testen monster.

STANDARDISATIE

De stollingsactiviteit wordt uitgedrukt als een percentage van de normaalwaarde of in INR eenheden (International Normalized Ratio). De normaalwaarde is representatief voor het gemiddelde van de volwassen bevolking.

Elke batch is gecalibreerd tegen een Internationaal Referentie Preparaat voor runder thromboplastine, OB7/79, middels een in-house referentie batch van Thrombotest™ volgens de WHO aanbevelingen. OB7/79 is gestandaardiseerd tegen de primary International Reference Preparation (NIBSC code 67/40).¹ Iedere batch wordt geleverd met een correlatie tabel voor manuele testen, met INR, percentage (%) activiteit, en een specifieke International Sensitivity Index (ISI) voor manuele testen.

MEETBEREIK

Het wordt aanbevolen om Thrombotest™ te gebruiken in de range van 100 % tot 3 % stollingsactiviteit of een INR range van 1.0 tot 8.0.

PRECISIE

De variatie coëfficiënt (CV) van Thrombotest™ is 1- 2 % (within run) getest met Control Plasma AK op de Thrombotrack 1 Channel instrument (250 rpm).

TESTBEPERKINGEN

Alleen citraat gebruiken als anti-stollingsmiddel in de afnamebuis (geen EDTA of Heparine). Correcties voor hematocriet afwijkingen: zie "Interpretatie van resultaten". Stollingsactiviteit zal aanzienlijke kortere stolltijden induceren.. Afnamebuizen dienen van "niet-activerend" materiaal te zijn gemaakt en dienen de juiste citraat concentratie te bevatten. Alle testen moeten geschieden bij 37 °C. Koude activatie van het plasma dient te worden voorkomen.

STABILITEIT EN OPSLAG

Thrombotest™:

Ongeopend: ≤ 20 °C: 2 jaar
Gereconstitueerd reagens 37 °C: 1 uur
15-25 °C: 10 uur
2-8 °C: 3 dagen
≤ ± 20 °C: 2 maanden

Diepbevoren materiaal moet minimaal 10 minuten bij 37 °C worden ontdooid in een waterbad of gedurende 15 minuten in een heating blok bij 37 °C.

Thrombotest™ Automated:

Ongeopend: ≤ 20 °C: 2 jaar
Gereconstitueerd: 37 °C: 1 uur
15-25 °C: 10 uur
2-8 °C: 3 dagen

NB! Gereconstitueerd Thrombotest™ Automated kan niet worden ingevroren.

De expiratie datum die op het label is geprint refereert naar opslag van ongeopende flesjes bij een temperatuur ≤ 20 °C. Tijdens de opslag dienen de schroefdoopjes strak aangedraaid te worden.

TEST PROCEDURE

BLOED AFNAME

Veneus bloed

Veneus bloed wordt afgenomen in vacuüm gesiliconeerde afnamebuizen voor stollingsanalyse (0.11 of 0.13 mol/L Na₃-citraat).

Als alternatief kan 1 deel 0.11 of 0.13 mol/L Na₃-citraat worden toegevoegd aan 9 delen volbloed in een niet activerende reageerbuis.

Plasma voorbereiding

Pipetteer, na centrifugeren, 30 µL plasma. Als alternatief kan 6 delen plasma worden gemengd met 4 delen fysiologisch zout in een plastic of een gesiliconeerde buis. Pipetteer 50 µL van het verdunde plasma.

Capillair bloed

Maak een voldoende diepe incisie in de huid om voldoende volbloed te verkrijgen. De eerste druppel dient te worden gebruikt.

Bereiding van capillair citraatbloed⁴

- Gebruik een 0,1 mL pipet met een maatverdelingsstreepje bij 50 µL.
- Zuig 50 µL verdunde Na₃-Citraat oplossing (1 volume van 0,11 mol/L of 0,13 mol/L Na₃-Citraat + 8 volumes Saline) op.
- Vul de pipet aan tot 0,1 mL met capillair bloed. De eerste druppel bloed dient gebruikt te worden.
- Breng het mengsel van bloed (50 µL) en verdund Na₃-Citraat (50 µL) over in een test buis.

OPLOSSEN VAN HET REAGENS

Methode	vloeistof	Grote flesjes	Kleine flesjes
Veneus bloed	3.2 mmol/L CaCl ₂	11 mL	2.2 mL
Plasma	3.2 mmol/L CaCl ₂	11 mL	2.2 mL
Capillair citraatbloed	3.2 mmol/L CaCl ₂	11 mL	2.2 mL
Capillair bloed	gedestilleerd water	11 mL	2.2 mL

BELANGRIJK!

- De reconstitutie vloeistof en reagens moet op kamertemperatuur zijn voor gebruik.
- De reconstitutie vloeistof wordt toegevoegd aan het gelyophiliseerde materiaal.
- Schud krachtig na toevoeging
- Na 5 minuten is het reagens klaar voor gebruik

TEST PROCEDURE

Methode	Reagens	Sample
Veneus bloed	250 µL	50 µL
Plasma	250 µL	30 µL
Verdund plasma	250 µL	50 µL
*Capillair citraatbloed	250 µL	100 µL
Capillair bloed	250 µL	50 µL

- Pipetteer 250 µL reagens in een klein buisje en verwarm in een waterbad van 37°C gedurende minimaal 3 minuten.
- Voeg het bloed toe (voor correct volume, zie tabel) door de pipet vlak boven het reagens niveau te houden en daarna simultaan te pipetteren en de stopwatch in te drukken.
- * Incubeer het capillair citaatbloed sample gedurende 2-3 minuten bij 37°C. Pipetteer 250 µL voorverwarmd Thrombotest reagens bij het sample en start gelijktijdig de stopwatch.
- Meng bloed en reagens door enkele keren met de vinger tegen het buisje aan te tikken en zet het buisje in een waterbad gedurende 30 seconden voor normaal bloed en gedurende 50 seconden voor plasma van patiënten op orale antistolling.
- Kijk met korte intervallen of het plasma gestold is door het buisje even schuin te houden.
- Voor veneus bloed -en plasma methoden kan de stollingsactiviteit afgelezen worden in de correlatie tabel onder de kolom van veneus bloed of plasma.
- De stollingsactiviteit, van de capillaire methode en de capillaire citaatbloed methode, kan afgelezen worden uit de Correlatie tabel (kolom capillair bloed).

BIJ GEBUIK OP STOLLINGSANALYZER

Indien Thrombotest™ wordt gemeten op Thrombotrack™ 1 Channel (250 rpm), Thrombotrack™ Solo en Thrombotrack™ Select 2, kan de tabel voor manueel testen worden gebruikt om het resultaat om te zetten naar % of INR waarden.

Indien Thrombotest™ wordt gebruikt op vol automatische systemen dan moet er een apparaat specifieke ISI waarde worden vastgesteld indien de resultaten in INR worden gerapporteerd.

Axis-Shield heeft een Calibration Set die 3 verschillende plasma's bevat met INR waarden voor Thrombotest™, om de ISI en normaalwaarde vast te stellen op systemen. Deze calibratie moet bij elke nieuwe batch Thrombotest™ opnieuw worden uitgevoerd.

OPSLAG EN STABILITEIT VAN PATIENTEN MATERIAAL.

- Veneus bloed/plasma:

Het sample moet worden opgeslagen in plastic buizen of niet activerende flesjes. Bloed van patiënten met orale antistolling dient te worden getest binnen 48 uur. Samples van andere individuen binnen 3 uur.

- Capillair bloed:

Capillair bloed dient onmiddellijk te worden getest.

- Capillair citaatbloed:

Samples moeten overgebracht worden in plastic buizen. Test de samples van patiënten die behandeld worden met orale antistolling binnen 5 uur. Test samples van normale individuen binnen 1 uur.

INTERNE KWALITEITS CONTROLE

Axis-Shield heeft Control Plasma's (Normal, Abnormal en AK) om de kwaliteit van de testuitvoering te checken.

INTERPRETATIE VAN DE RESULTATEN

Normaal waarde²

INR < 1.08

Therapeutische range

Voor indicaties en de duur voor de orale antistollings- therapie wordt verwezen naar de lokale richtlijnen.

Correctie voor abnormale hematocriet

Bij gebruik van volbloed is het resultaat afhankelijk van de hematocriet waarde. Deze kan worden gecorrigeerd door het percentage te vermenigvuldigen met een factor. In praktijk gebeurt dit alleen bij patiënten met een anemie of een polycytemie. Vanwege het PIVKA effect wordt er een andere factor gebruikt bij patiënten met een orale antistollings therapie (AC-patiënten).

Hematocriet vol. %	Factor (normaal)	Factor (AC-patiënten)
20	0.70	0.85
30	0.80	0.90
40	0.90	0.95
50	1.10	1.05
60	1.38	1.20
70	1.80	1.40

Gecombineerde coumarine en heparine therapie

Heparine dat continue wordt toegediend in therapeutische doses heeft weinig invloed op de Thrombotest™ tijd. Een gecombineerde therapie van heparine en orale antistolling kan prima gecontroleerd worden met Thrombotest™. Indien de Thrombotest™ waarde is gedaald tot ongeveer 5% of INR 4.8, kan de heparine therapie worden gestopt. De Thrombotest™ waarde zal daarna verhogen met 2-5%, maar nog steeds binnen de therapeutische range vallen.

Het optimale niveau voor antistolling kan worden bijgesteld via kleine aanpassingen in de coumarine dosering.

Invoed van heparine op de Thrombotest™ waarde

Bij intermitterende injecties heparine of Laag Moleculaire Heparine (LMWH), zal de Thrombotest™ tijd worden verlengd die varieert afhankelijk van het type heparine, dosis en de individuele gevoeligheid. Na een intraveneuze injectie van 15,000 I.E. ongefractioneerde heparine is er een effect gedurende ongeveer 8 uur. Het profylactische laag dosis regime (5,000 I.E. / 8 uur) heeft geen significant effect op de Thrombotest™ waarde.

Om correcte Thrombotest™ waarden te verkrijgen dient er geen bloed te worden afgenomen voordat de heparine effecten zijn verdwenen. Indien het bloed al eerder is afgenomen kan het heparine effect worden geneutraliseerd door het toevoegen van 0.08 mg protamine sulfaat per mL bloed.³

Voor de controle van een heparine therapie wordt een geactiveerde partiële thromboplastine tijd (APTT) methode (Cephotest™) aanbevolen.

TROUBLESHOOTING

- Gebruik altijd de eerste druppel bloed bij afname van capillair bloed. Gebruik geen katoenen doekje voor afname aangezien katoen de stolling initieert.
- Gebruik schone pipetten en buisjes
- Gebruik reconstitutie vloeistof (calcium chloride of gedestilleerd water) alleen op kamertemperatuur. Lagere temperaturen kan een uitvlokking veroorzaken van onoplosbaar fibrinogeen in het runder plasma van het reagens.
- Controleer of het nummer van de correlatie tabel correspondeert met het batchnummer op het flesje.
- Controleer of de instrument specifieke ISI waarde correct is vastgesteld door het te controleren met controle plasma's.

LITERATUUR

- WHO Expert Committee on biological standardization. 48th. Report. WHO Technical Report 1999; Series 889.
- Owren P.A. :Thrombotest. A new method for controlling anticoagulant therapy. Lancet II, 1959; 754-758.
- Nordoy A.: Difference in the heparin - neutralizing effect of protamine and polybrene as tested by Thrombotest. Scand. J. clin. Lab. Invest. 1963; 15: 205-210.
- Hjort P. F. et al.: Thrombotest with citrated capillary blood. Farmokoterapi, XVII, No. 1, 1961.