

CE HEMOCLOT Thrombinzeit (TZ)

CK011K

Gerinnungstest zur Bestimmung der Thrombinzeit im Plasma

6 x 20 Tests

In-vitro-Diagnostikum

VERWENDUNGSZWECK:

Reagenz zur Bestimmung der Thrombinzeit (TZ) in humanem Citratplasma. Der Gerinnungstest kann manuell, semi-automatisiert oder vollautomatisiert durchgeführt werden.

TESTPRINZIP:

Messung der Zeit bis zur Gerinnungsbildung ausgelöst durch ein bovines Thrombin in Gegenwart von Calcium im Plasma und zur Untersuchung der Anti-Thrombin (Faktor IIa) Aktivität. Hohe Sensitivität auf niedrige Heparinkonzentrationen im Plasma (ab 0,05 bis 0,10 IE/ml unfraktioniertes Heparin (UFH) und ab etwa 0,20 IE/ml niedermolekulares Heparin (NMH)).

PROBENMATERIAL:

Humanes Citrat-Plasma

REAGENZIEN:

Jede Packung enthält 6 Flaschen lyophilisiertes und stabilisiertes bovines Calcium-Thrombin.

ERFORDERLICHE MATERIALIEN, NICHT IM KIT ENTHALTEN :

- 100 µl Pipette
- Halbautomatischer oder automatischer Koagulometer
- Aqua dest.
- Normale und Abnormale Kontrollplasmen (BIOPHEN® Kontrollplasma Normal, Ref.Nr. 223201 und BIOPHEN® Kontrollplasma Abnormal, Ref.Nr. 223301).

VORBEREITUNG DER REAGENZIEN, LAGERUNG & STABILITÄT

Ungeöffnete Reagenzien müssen bei 2-8°C in der Originalverpackung gelagert werden und sind bis zum, auf dem Etikett aufgedruckten, Verfalldatum stabil.

Vorbereitung: Calcium-Thrombin: Jede Flasche ist mit 2 ml aqua dest. zu rekonstituieren. Bis zur vollständigen Auflösung des Inhalts gut durchmischen (Vortex). 15 Minuten bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren und dabei gelegentlich schütteln. Den rekonstituierten Inhalt vor jedem Gebrauch homogenisieren. Die erhaltene Calcium-Thrombin-Konzentration beträgt etwa 1 NIH/ml. Die genaue Thrombin-Konzentration kann von Charge zu Charge variieren und wird für jede Charge optimiert.

Stabilität der rekonstituierten Reagenzien:

- 48 Stunden bei Raumtemperatur (18-25 °C)
- 7 Tage bei 2-8°C.

Anmerkungen: Stabilitätsstudien bei 30°C zeigen, dass das Reagenz ohne Beeinträchtigung bei Raumtemperatur verschickt werden kann. Das Reagenz für die Hemoclot® Thrombinzeit wurde aus bovinem Plasma hergestellt, das auf die Abwesenheit infektiöser Substanzen getestet und aus

BSE-freien Tieren gewonnen wurde. Kein Test kann jedoch die Anwesenheit infektiöser Stoffe vollständig ausschließen. Jedes Produkt biologischen Ursprungs muss deshalb mit allen erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen als potenziell infektiös behandelt werden

TESTDÜRFÜHRUNG:

Probengewinnung:

Blut (9 Volumenteile) wird in 0,109M (oder 0,129M) Trinatrium-Citrat als Antikoagulant (1 Volumenteil) abgenommen. Nach Zentrifugation für 20 Minuten bei 2500 g wird der Plasmaüberstand abgenommen.

Das Citratplasma sollte innerhalb folgender Zeitspannen gemessen werden:

- 4 Stunden oder 2 Stunden bei Patienten unter Heparintherapie.
- Bei -20°C oder tiefer kann das Plasma für bis zu einem Monat gelagert und kurz vor Gebrauch für 15 Minuten bei 37°C aufgetaut werden.

Anmerkung: Weitere Empfehlungen für die Probengewinnung, -handhabung und -lagerung sind den GEHT und NCCLS/CLSI Dokumenten zu entnehmen. Ikterische, hämolytierte, lipämische Plasmen sind zu verwerfen.

Probenplasma:

Für den Test muss unverdünntes Plasma verwendet werden.

Testdurchführung:

Manuelle Methode:

Der Test wird bei 37°C in einem Plastikröhrchen durchgeführt. In das Röhrchen bzw. in die Küvette eines Gerinnungsgerätes werden pipettiert:

- 100 µl Citratplasma
1 Minute bei 37°C inkubieren, danach Zugabe von
- 100 µl Calcium-Thrombin, Starten der Stoppuhr
Aufzeichnung der exakten Gerinnungszeit.

Automatisierte Methode:

Anleitungen für Gerinnungsautomaten sind auf Anfrage erhältlich.

ERGEBNISSE & ÜBLICHE WERTE:

Thrombinzeiten normaler Plasmen, die mit KC10 oder STA gemessen werden, liegen in der Regel in folgendem Bereich:

15 Sek. bis 25 Sek.

Die Thrombinzeit (TZ) ist abnormal, wenn: **TZ >25 Sekunden.**

Jedes Labor sollte einen eigenen Normalbereich festlegen, der in Abhängigkeit von der Reagenzcharge und des verwendeten Gerätes leichte Schwankungen zeigen kann.

QUALITÄTSKONTROLLE:

Die Verwendung von Qualitätskontrollplasmen gewährleistet, bei Verwendung der gleichen Reagenzchargen, die Beständigkeit der Methode von Analysenserie zu Analysenserie. Folgende Qualitätskontrollplasmen können für die Testvalidierung verwendet werden: BIOPHEN® Normal Kontrollplasma (Ref.Nr. 223201)

BIOPHEN® Abnormal Kontrollplasma (Ref.Nr. 223301)

Die Gerinnungszeiten bei Wiederholungsmessungen mit der gleichen Reagenzcharge können, in Abhängigkeit vom verwendeten Gerinnungsgerät und der jeweiligen Sensitivität der Bestimmung des Gerinnungsendpunktes, leicht variieren. Jedes Labor sollte Werte für einen eigenen Normalbereich (inkl. Mittelwert und Standardabweichung) unter den gegebenen spezifischen Testbedingungen ermitteln und validieren.

VERLÄNGERTE THROMBINZEIT & KLINISCHE RELEVANZ:

- Eine verlängerte Thrombinzeit (≥ 25 Sekunden) kann durch folgende Situationen hervorgerufen werden:
 - thrombinhemmende Therapien (Heparin, Hirudin, Dabigatran, ...).
 - Anwesenheit von hohen Fibrin/Fibrinogen Konzentrationen oder dessen Spaltprodukte.
 - Qualitativ (Dysfibrinogenämie) oder quantitativ Veränderungen von Fibrinogen (Mangel, DIC, Fibrinolyse, Leberfunktionsstörungen einschließlich Zirrhose).
- Die Thrombinzeit wird von Faktor XIII Mangel nicht beeinflusst.

LEISTUNGSMERKMALE:

- Beispielhaft wurden die « üblichen TZ Bereiche » für humanes Citrat-Normalplasma ermittelt:

| Instrument | KC10 | STA | Amax Destiny (mechanisch) | Amax Destiny (optisch) | ACL (optisch) |
|-------------------|-----------|-----------|---------------------------|------------------------|---------------|
| N | 56 | 31 | 31 | 31 | 31 |
| TZ Mittelwert (s) | 20,8 | 21,6 | 23,2 | 18,0 | 17,3 |
| SA | 1,7 | 1,8 | 1,7 | 1,6 | 1,2 |
| Min-Max | 16,9-24,5 | 17,0-25,8 | 20,9-26,9 | 15,8-21,6 | 15,4-20,3 |

(Bei Verwendung des KC10 Analysengerätes wurden Thrombinzeiten von $\leq 22,5$ Sekunden für $\approx 86\%$ der Plasmen ermittelt.)

- Eine sehr hohe Sensitivität wurde bei niedrigen Heparinkonzentrationen ermittelt (ab 0,05 bis 0,10 IE/ml unfraktioniertes Heparin (UFH) und ab 0,20 IE/ml niedermolekulares Heparin (NMH)). Als Richtwerte wurden die folgenden TZ (in Sekunden) für humanes Citrat-Normalplasma, mit einem Zusatz von UFH oder NMH, gemessen:

| Instrument | KC10 | STA | Amax Destiny (mechanisch) | Amax Destiny (optisch) | ACL (optisch) |
|----------------|------|------|---------------------------|------------------------|---------------|
| Normalplasma | 19,3 | 21,5 | 23,2 | 18,2 | 17,2 |
| UFH 0.05 IE/ml | 30,6 | 41,7 | 36,7 | 25,2 | 25,6 |
| UFH 0.10 IE/ml | >120 | >120 | >120 | >120 | >120 |
| NMH 0.20 IE/ml | 35,0 | 53,3 | >120 | 32,1 | 29,1 |
| NMH 0.30 IE/ml | 84,0 | >120 | >120 | 82 | 41,7 |

- Gute Empfindlichkeit auf Hirudin unter Verwendung des KC10 Analysengerätes bei Konzentrationen $>0,25$ ATU/ml im Plasma.
- Präzision: Beispielhaft wurden die folgenden Thrombinzeiten am KC10 bei einem humanem Normalplasma gemessen:

| TZ (Sek) | N | Intra CV | N | Inter CV |
|----------|----|----------|---|----------|
| 21,6 | 10 | 1,8% | 8 | 4,0% |

EINSCHRÄNKUNGEN:

- Verschiedene Medikamente bzw. Therapien können die Thrombinzeit beeinflussen. Weiterführende Untersuchungen sollten durchgeführt werden, um den Ursprung jedes unerwarteten bzw. abnormalen Ergebnisses zu bestimmen.
- Wiederholungsmessungen der Gerinnungszeit einer Probe können, auch unter Verwendung der gleichen Reagenzcharge, in Abhängigkeit vom verwendeten Gerinnungsgerät bzw. der Methode der Gerinnungsbestimmung und den Geräteeinstellungen (Sensitivität der Bestimmung des Gerinnungsendpunktes) leicht variieren. Jedes Labor sollte Werte für einen eigenen Normalbereich unter den gegebenen spezifischen Testbedingungen ermitteln und validieren. Gleichermaßen gilt dies für viele Variablen, welche sich auf das Ergebnis auswirken können (z. B. verschiedene Heparine). Deshalb empfiehlt sich hier auch einen laborspezifischen therapeutischen Bereich für Heparine festzulegen.
- Unter Verwendung des KC10 Analysengerätes gab es keine signifikante Beeinflussung der Ergebnisse bei Konzentrationen von <1 mg/ml Fibrin(ogen)-spaltprodukte (FDP), $<0,25$ mg/ml Bilirubin oder von $<2,5$ mg/ml Hämoglobin im Plasma.
- Jegliche Plasmaproben, bei denen Auffälligkeiten festgestellt werden (z.B. lipämische und hämolytische Plasmen, partiell geronnene Plasmen ...) sind zu verwerfen.

LITERATUR:

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