



I. Indicazioni d'Uso

Thromboplastin è un reagente tessutale a base di tromboplastina (cervello di coniglio) utilizzato per un test rapido modificato del tempo di protrombina.

II. Riepilogo e Principio

Il test del tempo di protrombina (PT) è sensibile alle carenze del sistema estrinseco di coagulazione (fattori II, V, VII e X).^{3,4} Il PT trova impiego come screening pre-chirurgico per l'individuazione di potenziali coagulopatie. Un tempo di protrombina prolungato indica generalmente un livello ridotto di uno o più fattori del sistema estrinseco della coagulazione dovuto a coagulopatie ereditarie, carenze di vitamina K, epatopatie o terapie farmacologiche. Il tempo di protrombina è il test di laboratorio più comune per il monitoraggio della terapia anticoagulante orale^{1,2} in quanto sensibile ai fattori VII e X. Anticoagulanti orali riducono l'attività dei fattori della coagulazione vitamina K dipendenti (II, VII, IX, X, Proteina C e Proteina S) allungando il tempo di protrombina.

Il test del PT misura il tempo di coagulazione del plasma dopo l'aggiunta di fattore tessutale (tromboplastina) e calcio. La ricalcificazione del plasma in presenza di fattore tessutale attiva il FX (FXa) che a sua volta attiva la protrombina (FII) in trombina. La trombina è responsabile della trasformazione finale del fibrinogeno in fibrina.

III. Il Reagente

Per uso diagnostico *in vitro*.

Conservazione

Conservare i flaconi chiusi a 2 - 8 °C. Il reagente, se impiegato e conservato secondo buona prassi di laboratorio, è stabile fino alla scadenza riportata in etichetta.

Contenuto del Kit

HD11.302

Thromboplastin 10x2 ml
tromboplastina tessutale da cervello di coniglio, ioni calcio, tamponi e stabilizzanti liofila.

Preparazione

Ricostituire un flacone di reagente a base di **Thromboplastin** con acqua distillata come indicato in etichetta. Ritappare il flacone e capovolgerlo delicatamente varie volte per garantire una reidratazione completa. Lasciare riposare per 15 minuti a temperatura ambiente. Prima dell'uso, capovolgere delicatamente il flacone alcune volte per garantire l'omogeneità del reagente.

La mancanza di vuoto nel flacone al momento dell'apertura, risultati erratici, valori di controllo di qualità al di fuori dei range attesi o colorazione anomala del prodotto possono indicare il deterioramento. Tuttavia, prestazioni scadenti possono essere anche causate da altri fattori del sistema in uso.

Avvertenza: Questo prodotto contiene sodio azide come conservante. Lo smaltimento di questi reagenti nelle tubature deve essere effettuato insieme ad abbondanti quantità di acqua, per evitare la formazione di azidi metalliche che, se presenti in tubature metalliche in alte concentrazioni, possono essere potenzialmente esplosive.

Stabilità

La data di scadenza sul flacone indica i limiti di stabilità per il prodotto non ricostituito. Il reagente è stabile per 7 giorni, se conservato nel flacone originale (accuratamente tappato) a 2-8°C, 8 ore a 37 °C e 24 ore a temperatura ambiente (15-25 °C).

Conservare a 2-8°C quando il prodotto non è in uso.

Non congelare.

IV. Raccolta dei campioni e preparazione

Prelievo

Non occorre una particolare preparazione del paziente e non è necessario che sia a digiuno. Si consiglia plasma anticoagulato con citrato di sodio al 3,2% (0,109 M).^{7,8,9} Per ottenere risultati accurati, utilizzare nove parti di sangue con una parte di anticoagulante. I risultati di campioni plasmatici emolizzati, itterici o lipemici devono essere interpretati con attenzione. Centrifugare i campioni per 15 minuti a 1500 x g.

Conservazione

Eseguire i test entro 2 ore dal prelievo se i campioni sono conservati a 22-24°C. Qualora i test non sono eseguiti entro 24 ore dal prelievo, i plasmi possono essere conservati a -20 °C per 2 settimane o a -70 °C per 6 mesi. Per ulteriori informazioni sulla raccolta e conservazione dei campioni vedere il documento NCCLS H21-A3³.

V. Procedura

Avvertenze e Precauzioni

- Non pipettare con la bocca alcun materiale. Non fumare, mangiare o bere nelle aree in cui si trattano campioni o reagenti del kit.
- Utilizzare guanti monouso e trattare tutti i campioni utilizzati per il test come potenzialmente infetti. Consultare immediatamente un medico in caso di ingestione di materiali ematici o di loro contatto con ferite aperte, lesioni o soluzioni di continuo della pelle.
- Qualora si sia versato del liquido, pulire immediatamente con una soluzione 1:10 di ipoclorito di sodio al 5% (candeggina). Eliminare il materiale di pulizia con un metodo adatto.
- Trattamento degli emoderivati prima dell'eliminazione
 - Mettere in autoclave per 60 minuti a 121°C.
 - Incenerire i materiali monouso.
 - Miscelare i rifiuti liquidi con una soluzione al 5% di ipoclorito di sodio, in modo che la concentrazione finale contenga circa lo 1% di ipoclorito di sodio. Lasciare riposare la soluzione per 30 minuti prima di eliminarla.

Materiali necessari ma non forniti

- Acqua distillata
- Cronometro o timer
- Pipette di precisione 0,1 e 0,2 ml
- Plasma di controllo

Thromboplastin è utilizzabile con sistemi di rilevamento del coagulo manuali, meccanici fotometrici e nefelometrici. Seguire le istruzioni del costruttore della propria strumentazione.

Procedura Manuale

- Preriscaldare **Thromboplastin** a 37 °C
- Dispensare 0,1 ml di plasma in una cuvetta ed incubare a 37 °C
- Aggiungere energicamente 0,2 ml di **Thromboplastin** nella cuvetta e rilevare il tempo di formazione del coagulo

Precauzioni e note procedurali

- È importante che le provette in vetro (o plastica) utilizzate siano pulite. La superficie del contenitore e l'area della superficie possono influire sull'attivazione dei campioni. Si raccomanda di adottare tecniche costanti per tutte le procedure di coagulazione. Si consiglia di eseguire determinazioni in duplicato.
- La procedura riportata per il test rapido del tempo di protrombina è adatta per i metodi manuali. Le determinazioni automatizzate devono essere eseguite in conformità alle istruzioni specifiche allegate allo strumento utilizzato.
- Si consiglia l'uso di plasma di controllo (HaemoDiagnostics Level 1, 2 e 3) per il monitoraggio dei test di coagulazione.

VI. Controllo di Qualità

Si consiglia l'uso di plasma di controllo (HaemoDiagnostics Level 1, 2) per monitorare i test di coagulazione, in accordo alle procedure di controllo di qualità stabilite dal laboratorio. CLSI raccomanda che i controlli siano analizzati all'inizio del test, almeno una volta per turno, oppure contestualmente a ciascuna analisi. Nei laboratori che trattano volumi elevati, i controlli devono essere analizzati almeno ogni 40 campioni.³

Se i valori del controllo non rientrano nel range di riferimento, non comunicare i risultati al paziente. Determinare quale parte dello strumento/reagente/sistema di controllo che non abbia funzionato in modo appropriato e risolvere il problema. Dopo aver attuato e documentato tutte le correzioni in base alla buona pratica di laboratorio, ri-analizzare i controlli. Se i valori ottenuti rientrano nel range, è possibile analizzare i campioni del paziente e comunicarne i risultati.

VII. Risultati

INR

Il tempo di protrombina ottenuto può essere convertito in rapporto di tempo di protrombina o International Normalized Ratio (INR, ovvero rapporto normalizzato internazionale).

Rapporto di tempo di protrombina

Il rapporto di tempo di protrombina (PT) viene calcolato dividendo il PT del paziente per il PT medio dell'intervallo di riferimento del laboratorio.

VIII. Interpretazione dei risultati

Sebbene con **Thromboplastin** sia possibile usare la maggior parte dei metodi manuali o automatizzati per la rilevazione del coagulo, è possibile che metodi diversi rilevino end-point leggermente differenti. Prestare estrema attenzione in sede di comparazione dei risultati ottenuti con metodi diversi.

Simbologia utilizzata



Scadenza Lotto



Numero di Lotto



Codice Prodotto



Conservare a 2 - 8 °C



Solo per uso *in vitro*



Consultare le istruzioni

IFU 11.302 Rev1.0 Mar2017



Produttore

P.R.I.S.M.A. srl

Via Cavour 42
I-20865 Usmate Velate MB
info@prismaonline.it
www.prismaonline.it
☎ +39 039 6076708



IX. Risultati Previsti

I risultati ottenuti dipendono da svariati fattori, tra cui temperatura, qualità dell'acqua, pH, forza ionica, metodo di test usato, prelievo e conservazione del campione nonché popolazione di pazienti valutata. Ogni laboratorio deve stabilire intervalli di riferimento specifici.

In uno studio comparativo **Thromboplastin** sono stati ottenuti i seguenti risultati:

| Strumento | Media | Range (+/- 2SD) | N. |
|--------------------|-------|-----------------|----|
| MLA Electra 1000C | 13,2 | 11,4 - 15,0 | 40 |
| MLA Electra 9000C | 13,7 | 12,4 - 15,0 | 20 |
| IL ACL 300/3000+ | 10,5 | 8,9 - 12,1 | 61 |
| Amelung KC10 | 12,7 | 9,3 - 14,2 | 20 |
| Thromboscreen 400C | 13,5 | 12,2 - 14,8 | 38 |
| Thromboscreen 200 | 13,5 | 12,0 - 15,1 | 60 |

Questi valori devono ritenersi puramente indicativi. Ciascun laboratorio deve stabilire un proprio Range Normale di Riferimento (NRR) applicando le proprie tecniche di raccolta e preparazione campione, la propria strumentazione e le proprie procedure di esecuzione dei test. Il NRR dovrà essere ristabilito o confermato al cambio del lotto del reagente in uso.

X. Performance

Precisione

La precisione del tempo di protrombina dipende da numero di fattori come lo strumento, la procedura applicata ed il reagente utilizzato. La precisione di **Thromboplastin** è stata determinata misurando su diversi strumenti plasmi sia normali che patologici con i seguenti risultati:

Precisione intra-run, % CV (N=20)

| Campione | Electra 1000C | Trombo screen 400C | Trombo Screen 200C | Amelung KC10 |
|------------|---------------|--------------------|--------------------|--------------|
| Normale | 1,1% | 1,9% | 1,9% | 2,9% |
| Patologico | 2,8% | 2,5% | 2,3% | 1,1% |

Sensibilità

Thromboplastin è sensibile a deficienze della via estrinseca della cascata coagulativa. La sensibilità a deficit dei singoli fattori è stata determinata analizzando diluizioni di un pool di plasma con plasmi carenti dei singoli fattori così da ottenere concentrazioni finali dei fattori variabili tra 10 e 100%

| % Fattore | Tempo di protrombina (sec) | | | |
|-----------|----------------------------|-----------|-------------|-----------|
| | Fattore II | Fattore V | Fattore VII | Fattore X |
| 100 | 11,6 | 11,6 | 11,8 | 11,7 |
| 50 | 11,7 | 13,9 | 12,8 | 13,3 |
| 40 | 12,3 | 14,9 | 13,5 | 14,1 |
| 30 | 12,8 | 15,9 | 13,9 | 14,8 |
| 20 | 14,1 | 18,3 | 15,2 | 17,0 |
| 10 | 16,6 | 22,2 | 17,1 | 20,4 |

Correlazione

La correlazione con altre due tromboplastine è stata determinata analizzando campioni normali e patologici. Lo studio è stato eseguito utilizzando uno strumento Stago STA:

| | Correlazione PT | Correlazione INR |
|---|------------------------------|------------------------------|
| Thromboplastin vs Reagente A N=49 | R = 0,98 Y = 1,16x + 1,30 | R = 0,98 Y = 0,89x + 0,05 |
| Thromboplastin vs Reagente B N=49 | R = 0,95 Y = 1,01x + 2,20 | R = 0,95 Y = 0,82x + 0,10 |

XI. Riferimenti

1. Errichetti A.M., Holden A., Ansell J.: Management of Oral Anticoagulant Therapy. Experience with an Anticoagulation Clinic. Arch Inter Med 144, 1966-1968 (1984)
2. Hirsh J., Dalen J.E., Deykin D., Poller L.: Oral Anticoagulants: Mechanisms of Action, Clinical Effectiveness and Optimal Therapeutic Range. Chest 102 (Suppl) 312s - 315s (1992)
3. NCCLS: Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and General Performance of Coagulation

Assays; Approved Guideline. NCCLS document H21 - A3, NCCLS Wayne PA. (1998)

4. Palmer R. N., Grainick H. R.: Inhibition of the Cold Activation of Factor VII and the Prothrombin Time. Am. J. Clin. Path 81, 618 - 622 (1984)
5. Young D. S., Thomas D. W., Friedman R. B. et al: Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests Clin. Chem. 18, 1041 (1972)
6. NCCLS: One - Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test; Approved Guideline. NCCLS document H47 - A, NCCLS Wayne, PA. (1996)
7. Dalen J. E., Hirsh J.: American College of Chest Physicians and the National Heart, Lung, and Blood Institute National Conference on Antithrombotic Therapy. Arch. Inter. Med. 146, 462 - 472 (1966)
8. Palareti G., Cocchieri S., Poggi M. et al: Oral Anticoagulant Therapy Control; Evidence that the INR Expression Improves the interlaboratory Comparability of Results. The Bologna Oral Anticoagulant Control Exercise. Thrombosis Haemostasis 58:905 - 910 (1987)
9. Guidelines on preparation, certification, and use of certified plasmas for ISI calibration and INR determination. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2: 1946- 1953, Novembre 2004.

XII. Informazioni per l'ordine

| Codice | Denominazione | Quantità |
|-----------------|--------------------------------------|-----------|
| HD11.302 | Thromboplastin 10 x 4 mL | 10 x 4 mL |
| HD14.101 | Normal Coagulation Control Level 1 | 10 x 1 mL |
| HD15.101 | Abnormal Coagulation Control Level 2 | 10 x 1 mL |
| HD33-201 | ARN Reference Plasma Normal | 10 x 1 mL |

XIII. Valori Lotto specifici

LOT 117016  31/07/2018

| Strumento | ISI |
|----------------------|--------------|
| Thrombolyzer* | 0,99 |
| AMAX Destiny | 1,00 |
| MTX III | 1,00 |
| ACL TOP | 0,95 |
| Manuale | su richiesta |

*: valore riportato in etichetta

Simbologia utilizzata



Scadenza Lotto



Numero di Lotto



Codice Prodotto



Conservare a 2 - 8 °C



Solo per uso in vitro



Consultare le istruzioni

IFU 11.302 Rev1.0 Mar2017



Produttore

P.R.I.S.M.A. srl

Via Cavour 42
I-20865 Usmate Velate MB
info@prismaonline.it
www.prismaonline.it
☎ +39 039 6076708