



ClotPro HU

TPA-test

Viszkoelasztikus véralvadási vizsgálatához

REF 113011 CE IVD

2°C - 8°C

enicor GmbH
Reichenbachstr. 27 - 80469 München - Németország
Telefonszám: +49 89 997 428 181 - www.clot.pro - info@clot.pro

113011PI-HU(AA)_2021_08

In vitro diagnosztikai felhasználásra.

Rendeltetése

A TPA-test azonnal felhasználható rendszerreagens a szöveti plazminogén aktivátorra (t-PA) adott fibrinolitikus válasz értékelésére citrátos vérben a ClotPro® analízatorhoz ⁽¹⁻²⁾. Az TPA-test ClotPro analízatoron használatos félautomata szemikvantitatív teszt.

Célfelhasználó

Szakképzett egészségügyi szakemberek általi használatra. Szakemberek számára betegágy melletti és laboratóriumi felhasználásra.

Alapelv

A ClotPro új generációs viszkoelasztometriás rendszer a véralvadás és a fibrinolízis kimutatására a vérrögök tömörségének folyamatos mérésével ⁽¹⁻²⁾. A lízisdő (LT), a maximális lízis (ML) és egyéb paraméterek automatikusan kiszámításra kerülnek, és a ClotPro felhasználói kézikönyvében ⁽³⁾ részletesebben le vannak írva. Az LT a véralvadás észlelésétől (véralvadási idő (clotting time) - CT) az 50%-os fibrinolízis megállapításáig eltelt idő. Az ML a fibrinolízis %-os értéke (a vérrög maximális tömörségéhez viszonyítva).

A TPA-test során ⁽²⁾ a véralvadás és a fibrinolízis rekombináns szöveti faktor (TF, a véralvadás extrinsic úton történő aktiválója) és rekombináns szöveti plazminogén-aktivátor váltja ki. Ezenkívül a rendszerreagens kalcium-kloridot (CaCl₂) tartalmaz a minta rekalcifikálásához, valamint heparin-inhibitorként polibrént. A TF és a CaCl₂ hatására trombin képződik, amely a fibrinogént fibrinné hasítja, aktiválja a vérelemekket és a XIII. faktort, amelyek a

vérrögképződéshez vezetnek, ezt a ClotPro-n a vérrög tömörségének növekedésével lehet kimutatni. Ezzel párhuzamosan a t-PA a plazminogén plazminná történő aktiválódásához vezet, amely a fibrint hasítja, és így fibrinolízist eredményez, amelyet a vérrög tömörségének csökkenése mutat. A TPA-test során a nagy dózisú t-PA (650 ng/ml-nek felel meg) általában gyors fibrinolitikus hatást vált ki, amelyet rövid LT és a 80%-ot meghaladó ML segítségével lehet kimutatni. Ugyanakkor különböző endogén és exogén faktorok akadályozhatják a plazmin aktiválását vagy működését: a plazminogén-aktivátor 1 (PAI-1), valamint az antifibrinolitikus gyógyszerek, például a tranexámsav (TXA) gátolják a plazminogén plazminná történő aktiválását ⁽⁴⁾. A közvetlen plazminantagonisták, mint például az aprotinin, zavarják a fibrinolízist a TPA-test során. A t-PA-ra adott csökkent fibrinolitikus választ a TPA-testben az LT meghosszabbodása és az ML csökkenése mutatja.

Mellékelt anyagok

10 lezárt, egyszer használatos, egy-egy Active Tip™-et tartalmazó tasak, amely rekombináns szövetfaktort, rekombináns t-PA-t, polibrént és stabilizátorokat tartalmazó száraz kémiai reagens. Mindegyik tasak egy nedvszívó zacskót tartalmaz.

További szükséges anyagok

- ClotPro analízator
- Vértvételi cső (~0,109 M nátrium-citrát) a véralvadási tesztekhez
- ClotPro tesztcellák és tesztcellafedők
- Pipetta

Reagens előkészítése

A reagens használatra kész.

Tárolás és stabilitás

A terméket +2 és +8°C között kell tárolni. A felbontatlan Active Tip™ termékek a tasak címkéjén feltüntetett lejárati dátumig stabilak.

A felbontatlan tasakok szobahőmérsékleten legfeljebb 1 hónapig tárolhatók. A felnyitott tasakok késedelem nélkül, azonnal felhasználandók (a felbontást követő egy percen belül el kell végezni a tesztelést).

Figyelmeztetések és óvintézkedések

Szakképzett egészségügyi szakemberek általi használatra. Sérült tasakból vett hegyet nem szabad felhasználni.

Az emberi vérminták és a kontrollanyagok **potenciálisan fertőzőek**, és körültekintően kell kezelni őket, a biológiai veszélyes anyagokra ajánlott általános óvintézkedések betartásával ⁽⁵⁾.

Minden anyag kezelése során általános óvintézkedéseket (pl. kesztyű viselése és a minták és reagensek bőrrel való érintkezésének minimalisra csökkentése) kell követni. A hulladékokat a helyi előírásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani. Külön kérésre rendelkezésre áll a megfelelő biztonsági adatlap.

További kockázatok

Reagenshiba források:

- A reagens helytelen használata téves vizsgálati eredményekhez és a beteg véralvadási státuszának hibás megítéléséhez vezethet.

Eljárési hiba forrásai:

- Meghibásodott elektronikus pipetta vagy annak helytelen használata a kiadagolt mennyiségek pontatlanságát, és emiatt a beteg véralvadási státuszának hibás megítélését okozhatja.
- Az Active Tip™ termékbe szívott vért nem szabad visszaengedni a vércsőbe, mivel a hegyben lévő vér reagenssel szennyezett. Ezenkívül a vérről érintkezett Active Tip™ nem használható újra.
- A minta preanalitikai problémák miatti rossz minősége pontatlan teszteredményhez és a beteg véralvadási státuszának helytelen megítéléséhez vezet.
- A minta nem megfelelő tárolásból (pl. a minta túl hosszú ideig történő tárolása a felhasználás előtt) eredő rossz minősége téves vizsgálati eredményekhez és a beteg véralvadási állapotának hibás megítéléséhez vezethet.
- A minta nem megfelelő hőmérséklete a vizsgálati eredmények minőségének romlásához és a beteg véralvadási státuszának hibás megítéléséhez vezethet.
- Ha túl sok idő telik el a pipettázási lépések között, az téves teszteredményekhez és a beteg véralvadási státuszának helytelen megítéléséhez vezet.

Mintavétel

A mintát az ajánlott eljárásoknak megfelelően vegye le ^(3, 6, 12). A mintákat a vérvételtől számított 3 órán belül kell elemezni. A túlzott citrátaszint elkerülése érdekében mindig gondoskodjon arról, hogy a vérvételi csöveket a megadott töltési térfogatra töltsse fel.

Vizsgálati eljárás

- Várja meg, hogy az Active Tip™ tasak elérje a szobahőmérsékletet, és helyezze a vérmintát a ClotPro egyik előmelegítő helyzetébe. Ha a minta hideg (< 22°C), ajánlatos 5 percig (vagy tovább) melegedni hagyni. Az előzőleg szobahőmérsékletű vércsövek előmelegítésének hatását vizsgáló felmérések során a nem előmelegített csövekhez képest alig vagy egyáltalán nem tapasztaltak semmilyen hatást.
- A ClotPro szoftverben hozza létre a megfelelő tesztet a ClotPro felhasználói kézikönyvében ⁽³⁾ található utasításoknak megfelelően.
- Vegyen ki egy tesztcellát és egy tesztcellafedőt a dobozból (együtt), és helyezze a tesztcellafedőt a tesztcellafedő tartójára a tesztcellát határozottan, ütkezésig megnyomva.
- Távolítsa el a tesztcellát és helyezze a tesztcellafedő tartót alaphelyzetbe.
- Helyezze a tesztcellát az adott csatornához tartozó vizsgálati helyzetbe.
- Tépje fel az Active Tip™ tasakot, csatlakoztassa az Active Tip™-et a pipettához, és szívjon 340 µl mintát a vért tartalmazó csőből a ClotPro készülékhez mellékelt elektronikus pipettával.

- Adagolja a vérmintát a tesztcellába.
- Szívja fel és adagolja ki még egyszer a mintát, hogy a reagens alaposan összekeveredjen a vérmintával. Ügyeljen arra, hogy a minta pipettázása az eljárás megszakitása nélkül történjen. A helyi előírásoknak megfelelően ártalmatlanítsa az Active Tip™-et.
- Vegye ki a tesztcellafedő tartót az alaphelyzetben, és helyezze a tesztcellára a vizsgálati helyzetben. A teszt automatikusan elindul.
- Állítsa le a csatornát alkalmas időben, és fordítsa el a tesztcellafedő tartót az óramutató járásával ellentétes irányba (balra), hogy a tesztcellafedőt kioldja.
- Távolítsa el a tesztcellafedő tartót és helyezze alaphelyzetbe.
- Távolítsa el a tesztcellát és a tesztcellafedőt (együtt), és a helyi előírásoknak megfelelően ártalmatlanítsa.

Minőségellenőrzés

A plazmaalapú liofilizált minőségellenőrző (QC) anyag 2 szinten (QC 1 és QC 2) áll rendelkezésre.

A szabályszerű minőségellenőrzéshez kontrollanyagok használata ajánlott. A szokásos gyakorlat a minőségellenőrzés lefuttatása egy extrinsic és egy intrinsic aktivált viszkoelasztometriás próbán (azaz EX-test és IN-test egy ClotPro készüléken) egy szinten, hetente egyszer.

A QC-anyagok használatára vonatkozó további információk a megfelelő termékek használati utasításaiban találhatók.

Teljesítményjellemzők

Precizitás

A precizitás meghatározása egészséges donorból származó vérről történt, amelyet 10 µg TXA/ml hozzáadásával és anélkül teszteltek 4 ClotPro analízatoron, egyenként 6 csatornán (n=24).

	Reprodukálhatóság (csatornák/készülékek közötti)		
	Átlag	Szórás	CV
Citrátos vér:			
ML [%]	94,5	0,5	0,5%
LT [sec]	198,5	25,1	12,7%
Citrátos vér + TXA:			
ML [%]	17,0	3,6	20,9%
LT [sec]	>3500		

Várható értékek

A várható értékeket egészségesnek tűnő donorokból álló referencia kohorsz (n=72) elemzésével állapították meg (kontrollcsoportok a ⁽²⁾ és a ⁽⁷⁾ szerint, a 95%-os központi intervallum felhasználásával számítva).

ML [%]	LT [sec]	MCF [mm]	CT [s]
88 - 96	151 - 411	20 - 44	29 - 58

Egy tranexámsav-kezelés (TXA) alatt álló betegek mintáit tanulmányozó vizsgálatban (n=208, 42 ortopédiai műtéten áteső beteg ⁽⁸⁾) a következő fibrinolitikus választ találták a meghatározott TXA-koncentrációkkal kapcsolatban (átlag±SD, zárójelben a tartomány):

TXA [µg/ml]	ML [%]	LT [sec]	n
0-1	96,4±0,7 (94,5 - 98)	394±176 (206 - 1289)	75
1-4	93,1±14,5 (22,5 - 98)	1248±923 (382 - 4500)	45
4-7	55,2±33,8 (11,5 - 98)	3366±1219 (1279 - 4500)	25
7-10	30,8±23,9 (5,5 - 96,5)	4209±733 (2149 - 4500)	26
>10	11,9±6,8 (2,5 - 36,5)	>4500	37

Ez azt mutatja, hogy 10 µg/ml TXA-koncentráció felett teljesen vagy majdnem teljesen blokkolt fibrinolitikus választ rögzítettek, míg nagyon alacsony, azaz kevesebb mint 1 µg/ml TXA-koncentráció esetén a fibrinolízis normális vagy közel normális volt. 1 és 10 µg/ml között a fibrinolízis koncentrációfüggő csökkenését mérték, a különböző minták között jelentős eltérésekkel.

Az ugyanebből a vizsgálatból ⁽⁸⁾ (n=24) a TXA alkalmazása előtt nyert minták 245±68 sec (161-529) LT- és 95±1% (92,5-97) ML-értéket, tehát a korábban leírt kontrollcsoportokhoz képest hasonló eredményeket adtak.

A t-PA-ra adott fibrinolitikus válasz a TPA-test során több vizsgálatban is csökkent a súlyos COVID-19 fertőzésben szenvedő betegek körében:

Az intenzív osztályon (ICU) kezelt COVID-19 betegek (n=27) szignifikánsan hosszabb, 530±327 másodperces lízisidőt mutattak a kontrollcsoporthoz képest ⁽²⁾. A kritikus állapotú COVID-19 betegek (n=20) szignifikánsan meghosszabbodott lízisidőt (508 mp (365-827) (medián / 25°-75° percentilis) mutattak a kontrollcsoporthoz képest ⁽⁷⁾. Az intenzív osztályon kezelt COVID-19 betegek (n=20) szignifikánsan hosszabb lízisidőt (365,7±44,6 sec) mutattak a kontrollszemélyekhez (n=10) képest (193,2±16,3 sec) ⁽⁹⁾. Az utóbbi vizsgálatban a lízisidő szignifikánsan korrelált (r=0,7) a növekvő PAI-1-szinttel a COVID-19-es betegeknél.

Ezek a vizsgálati eredmények azt mutatják, hogy a TPA-tesztel meghatározott t-PA-ra adott fibrinolitikus válasz mind az endogén tényezőktől, mind az antifibrinolitikus gyógyszerek jelenlététől függ.

Megjegyzés: A referenciatartományok nem feltétlenül azonosak az egyes klinikai körülményekre vonatkozó céltartományokkal. Minden egyes klinikai központnak meg kell vizsgálnia a referenciatartományok saját betegpopulációjára való átvihetőségét, és adott esetben meg kell határozni saját referenciatartományait.

Korlátozások és interferenciák





A közvetlen FXa- vagy trombinantagonisták, különösen az utóbbiak rövidebb lízisidőt eredményezhetnek. Ez valószínűleg a TAFI (trombinnal aktiválható fibrinolízis inhibitor) fibrinolitikus rendszerre gyakorolt hatásának köszönhető. A frakcionálatlan heparin antagonistálja a TPA-testben lévő polibrin reagens, és kimutatták, hogy 5 U/ml koncentrációig nincs releváns hatása.

Ami a t-PA-ra adott fibrinolitikus válasz értékelését illeti a TXA alkalmazását követő TPA-test segítségével, a fibrinolízis blokkolására meghatározott 5-10 µg TXA/ml hatékony koncentráció jó összhangban van a klinikai vizsgálatokban a tranexámsav hatékonyságára vonatkozó irodalmi adatokkal¹⁰. Azonban figyelembe kell venni, hogy a TPA-test értékelése a mintában aktuálisan jelenlévő TXA-koncentráció pillanatfelvételét jelenti, és a TXA felezési ideje viszonylag rövid, körülbelül 2,3 óra ⁽¹⁰⁾. Ezért célszerű lehet megismételni a TPA-test értékelését, ha tartós antifibrinolitikus hatás elérése a cél.

A TPA-test által vizsgált biológiai mechanizmusok összetettek, és magukban foglalják a véralvadás aktiválódását, a vérrögződést, a fibrinolízis aktiválódását és a tényleges fibrinolitikus folyamatot. Ezért a mérések között megállapított kisebb eltérések a vizsgálat kiindulási változékonyságának tudhatók be, míg az antifibrinolitikus kezelések vagy a súlyos betegeknél észlelt különbségek jellemzően nagyobb nagyságrendűek.

A t-PA-ra adott fibrinolízisválasz kimutatása a TPA-test során a véralvadás aktiválódásától és a vérrögződéstől függ. Olyan klinikai helyzetekben, ahol a véralvadás aktiválódása és/vagy a vérrögződés jelentősen megváltozhat, érdemes lehet a ClotPro-val párhuzamosan a fibrinolízis aktiválódása nélküli véralvadást meghatározni, ami segítheti a ClotPro eredményeinek értelmezését. Az EX-test (11) révén olyan vizsgálat áll rendelkezésre a ClotPro-n, amely egyenértékű a TPA-tesztel, azzal a kivétellel, hogy ebben a tesztben nem történik meg a fibrinolízis t-PA általi stimulálása.

Csomagolási szimbólumok

Szimbólum	Leírás
	Betegágy melletti vizsgálat
	Távolítsa el a tesztcellákat és a tesztcellafedőket együtt a csomagolásból
	Ne érintse meg a tesztcellafedőket
	A tesztcellákat és a tesztcellafedőket az Active Tip™ termékkel együtt használja

Korábbi átdolgozások

Verzió	Módosítás
AA	Eredeti verzió

Irodalom

- Calatzis A et al. ClotPro – a new generation viscoelastic whole blood coagulation analyser. *Hämostaseologie* 2018; 4a, A32, P013
- Heinz C et al. Greater Fibrinolysis Resistance but No Greater Platelet Aggregation in Critically Ill COVID-19 Patients. *Anesthesiology*. 2021 Mar 1;134(3):457-467.
- ClotPro felhasználói kézikönyv
- Medcalf RL et al. The Fibrinolytic System: Mysteries and Opportunities. *Hemisphere*. 2021 Jun 1;5(6):e570.
- Biosafety in microbiological and biomedical laboratories; U.S. Department of Health and Human Services, Washington, 5th Edition
- CLSI/NCCLS H03-A6; Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture
- Bachler M et al. Impaired fibrinolysis in critically ill COVID-19 patients. *Br J Anaesth*. 2021 Mar;126(3):590-598.
- Groene P et al. Functional testing of tranexamic acid effects in patients undergoing elective orthopaedic surgery. *J Thromb Thrombolysis*. 2021 May;51(4):989-996.
- Hammer S et al. Severe SARS-CoV-2 Infection Inhibits Fibrinolysis Leading to Changes in Viscoelastic Properties of Blood Clot: A Descriptive Study of Fibrinolysis in COVID-19. *Thromb Haemost*. 2021 Feb 25.
- Lanoiselée J et al. PeriOperative Tranexamic acid in hip arthroplasty (PORTO) study investigators. Is tranexamic acid exposure related to blood loss in hip arthroplasty? A pharmacokinetic-pharmacodynamic study. *Br J Clin Pharmacol*. 2018 Feb;84(2):310-319.
- EX-test, Instructions for Use
- CLSI H21-A5 Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays

Technikai segítségnyújtás

Technikai segítségért forduljon hozzánk – lásd az alábbi elérhetőségeket.

Rendkívüli események bejelentése

Az eszközzel kapcsolatban bekövetkezett minden súlyos rendkívüli eseményt jelenteni kell a gyártónak és a felhasználó és/vagy a beteg letelepedése szerinti tagállam illetékes hatóságának.

Gyártó

enicor GmbH - Reichenbachstr. 27 - 80469 München-
Németország - Telefonszám: +49 89 997 428 181 -
www.clot.pro - info@clot.pro