


Prothrombin Time

REF		CONTENT		SYSTEM
09344667190	09344667500	▽ 255	N.-d'ident. 07 2007 5	cobas t 511 cobas t 711

Italiano

Informazioni relative al sistema

Nome abbreviato	ACN (application code number: codice di applicazione)	Informazioni
PT Owren A	28141	INR (calcolato in base all'MNPT e all'ISI) Secondi (risultati non calibrati) Applicazione estesa
PT Owren B	28161	INR (risultati calibrati) Secondi (risultati non calibrati) Applicazione estesa
PT Owren C	28171	% (risultato calibrato) INR (calcolato in base all'MNPT e all'ISI) Applicazione estesa
PT Owren s A	28142	INR (calcolato in base all'MNPT e all'ISI) Secondi (risultati non calibrati) Applicazione standard
PT Owren s B	28162	INR (risultati calibrati) Secondi (risultati non calibrati) Applicazione standard
PT Owren s C	28172	% (risultato calibrato) INR (calcolato in base all'MNPT e all'ISI) Applicazione standard

Per ulteriori informazioni, consultare la sezione "Calcolo e calibrazione".

Finalità d'uso

Test *in vitro* per la determinazione del tempo di protrombina di Owren nel plasma citratato sugli analizzatori **cobas t** indicati.

Il tempo di protrombina di Owren è destinato all'uso come aiuto nella gestione della terapia con antagonisti della vitamina K.

Sommaro

Il test PT Owren viene impiegato per la valutazione della via estrinseca della coagulazione e per la sorveglianza dei pazienti sottoposti a terapia anticoagulante orale.¹

Il reagente PT Owren è costituito da una tromboplastina a base di cervello di coniglio con plasma bovino aggiunto, dal quale sono stati rimossi i fattori coagulativi II, VII e X.² Il plasma bovino serve come fonte per il fattore V ed il fibrinogeno. Per questo motivo, una deficienza di fattore V o di fibrinogeno non viene rilevata da questo reagente.

Principio del test

Il reagente PT Owren viene incubato insieme al campione prelevato dal paziente. L'attivazione della cascata coagulativa estrinseca viene innescata dall'aggiunta di cloruro di calcio. Si misura il tempo intercorso dal momento dell'aggiunta di cloruro di calcio fino al momento dell'inizio della coagulazione. Dato che il reagente contiene un agente neutralizzante l'eparina, viene inibita l'eparina non frazionata (*unfractionated heparin*: UFH) o l'eparina a basso peso molecolare (*low molecular weight heparin*: LMWH) presente nel campione in concentrazioni terapeutiche, non influenzando quindi sul tempo di coagulazione PT misurato.

Reattivi – soluzioni pronte all'uso

cobas t pack

R1 Reattivo di tromboplastina liofilizzato, ottenuto da cervello di coniglio e plasma bovino.

Precauzioni e avvertenze

Per uso diagnostico *in vitro* per i professionisti del settore sanitario. Osservare le precauzioni normalmente adottate durante la manipolazione dei reagenti di laboratorio.

Rifiuti infettivi e microbici:

Avvertenza: trattare i rifiuti come materiale a potenziale rischio biologico. Smaltire i rifiuti a seconda delle istruzioni e procedure di laboratorio riconosciute.

Rischi ambientali:

Per garantire lo smaltimento sicuro, applicare tutte le normative locali rilevanti in materia di rifiuti.

Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.

Evitare la formazione di schiuma in tutti i reattivi e tipi di campione (campioni, calibratori e controlli).

Utilizzo dei reattivi

Il reattivo contenuto nella cassetta è stato assemblato in un'unità pronta all'uso (**cobas t pack**).

Tutte le informazioni necessarie per l'utilizzo corretto sono disponibili tramite **cobas link**.

Conservazione e stabilità

Conservare a 2-8 °C.

Conservare il **cobas t pack** in posizione verticale.

Stabilità del **cobas t pack** integro: fino alla data di scadenza indicata.

Stabilità del cobas t pack aperto:	
sull'analizzatore cobas t	Per ogni flacone: 5 giorni dopo ricostituzione

Non congelare.

Prelievo e preparazione dei campioni

Solo i tipi di campione elencati di seguito sono stati testati e risultano accettabili.

Plasma umano citratato al 3.2 %.

Impiegare provette standard per prelievi di campioni in materiale plastico o in vetro siliconato. Il rapporto tra sangue (9 parti) e soluzione di citrato di sodio (0.11 M; 1 parte) deve essere esattamente rispettato.^{3,4}

I tipi di campione elencati sono stati testati impiegando una selezione di provette per il prelievo di campioni disponibili in commercio al momento dell'analisi; non sono, quindi, state testate tutte le provette disponibili di tutte le case produttrici. Alcuni sistemi per il prelievo di campioni di vari produttori possono contenere diversi materiali e in alcuni casi possono interferire sui risultati del test. Quando si trattano i campioni in provette primarie (sistemi per il prelievo di campioni), seguire le istruzioni del produttore delle provette.

Centrifugare 15 minuti a 2500 g oppure finché il conteggio delle piastrine è < 10000 piastrine/ μ L, quindi testare i campioni entro il periodo di stabilità indicato.

Stabilità:	
a 15-25 °C	24 ore
a -20 °C (\pm 5 °C)	6 settimane
a -80 °C (\pm 5 °C)	3 mesi

PT Owren

Prothrombin Time



Le aliquote del plasma congelato dovrebbero essere scongelate entro 5 minuti a 37 °C a bagnomaria ed omogeneizzate agitandole con cautela ed evitando la formazione di schiuma. Si consiglia di analizzare i campioni il prima possibile dopo averli scongelati. Non ricongelare i campioni.

Materiali a disposizione

Vedere la sezione "Reattivi – soluzioni pronte all'uso".

Materiali necessari (ma non forniti)

- [REF] 09617990190, UniCon N
 - [REF] 09618163190, UniCon P
- oppure
- [REF] 07539355190, Con N
 - [REF] 07539665190, Con P
-
- [REF] 06754180190, NaCl
 - [REF] 07154984190, CC 25mM
- Per PT Owren B, PT Owren s B, PT Owren C e PT Owren s C utilizzare anche:
- [REF] 07575416190, PT Cal Set
 - Normale attrezzatura da laboratorio
 - Acqua distillata o deionizzata
- Analizzatore di coagulazione **cobas t**. Per ulteriori materiali necessari consultare l'Assistenza Clienti del relativo analizzatore.

Esecuzione

Per una performance ottimale dei test, attenersi alle indicazioni riportate in questo documento. Per le istruzioni specifiche dell'analizzatore relative all'esecuzione del test, consultare l'Assistenza Clienti dello strumento.

Roche non risponde delle performance delle applicazioni che non sono state validate dalla stessa Roche – tali performance devono quindi essere definite dall'utilizzatore.

Calcolo e calibrazione

I risultati del test PT Owren possono essere espressi:

- come tempo (in secondi); il PT del paziente viene confrontato con quello di un plasma normale
- come rapporto normalizzato internazionale (INR)
- come percentuale (%) dell'attività normale

a. Calcolo dell'INR in base all'ISI e al tempo di protrombina normale medio (Mean Normal Prothrombin Time: MNPT)

Nei reagenti di tromboplastina, la sensibilità alla riduzione dei livelli dei fattori coagulativi dipendenti dalla vitamina K può variare in modo significativo. In assenza di correzione, ciò può provocare differenze inaccettabili nei regimi di dosaggio degli anticoagulanti orali.¹

Per compensare le differenze tra le sensibilità della tromboplastina, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha introdotto l'indice di sensibilità internazionale (International sensitivity Index: ISI), con il quale è possibile ottenere risultati indipendenti dal reagente durante la fase stabile della terapia anticoagulante.⁵

L'ISI specifico del lotto di reagente consente di convertire il risultato di PT del paziente, espresso in secondi (PT del paziente), nel rapporto normalizzato internazionale (INR) utilizzando la seguente formula:

$$\text{INR} = (\text{PT del paziente}/\text{MNPT})^{\text{ISI}}$$

L'MNPT è la media geometrica dei risultati del test PT espressi in secondi, ottenuto da almeno 20 donatori sani.^{6,7}

Il valore dell'ISI di uno specifico reagente di tromboplastina viene rilevato tramite un confronto tra metodi, utilizzando il reagente di tromboplastina da standardizzare e una tromboplastina di riferimento internazionale. Per la determinazione del valore dell'ISI si impiegano, a seconda di uno schema predefinito, sia plasmi normali che plasmi di pazienti sottoposti a terapia anticoagulante orale stabile.⁵

I tempi misurati con i due reagenti di tromboplastina vengono riportati, l'uno contro l'altro, su carta grafica doppio-logaritmica. Lo slope della retta di regressione ortogonale moltiplicato per il valore dell'ISI della tromboplastina di riferimento corrisponde al valore dell'ISI della tromboplastina in esame.⁵

I valori ISI e MNPT, specifici per ogni lotto di reagente, sono disponibili come codice a barre elettronico e foglietto relativo ai valori teorici elettronico, tramite cobas link.

Tracciabilità: questo metodo è stato standardizzato contro l'International Standard for thromboplastin, rabbit, plain dell'OMS.

Alternativamente, l'ISI e l'MNPT locali possono essere determinati impiegando il PT Cal Set (per ulteriori informazioni, vedere la metodica del PT Cal Set, [REF] 07575416190). Si consiglia l'impiego dell'INR per la valutazione del PT nei pazienti sottoposti a terapia anticoagulante orale. Gli intervalli terapeutici raccomandati per l'INR sono stati pubblicati.^{1,8,9,10}

b. Calibrazione

Per la calibrazione, impiegare la confezione di calibratori indicata nella sezione "Materiali necessari (ma non forniti)".

INR determinato mediante calibrazione

Alternativamente alla determinazione dell'INR attraverso i valori ISI e MNPT, è possibile determinare l'INR mediante la calibrazione dell'INR. Per la calibrazione dell'INR utilizzare i livelli del calibratore 1-5 del PT Cal Set, indicati nella sezione "Materiali necessari (ma non forniti)" ed i valori INR ad essi assegnati, indicati nel foglietto allegato.

Tracciabilità: questo metodo è stato standardizzato contro l'International Standard for thromboplastin, rabbit, plain dell'OMS.

Intervallo di calibrazione: è richiesta una calibrazione completa

- 1 volta per ogni lotto di reagente.
- se richiesto dai procedimenti del controllo di qualità.

Calibrazione in %

Per la calibrazione in % della norma, utilizzare i livelli del calibratore 1-5 del PT Cal Set, indicati nella sezione "Materiali necessari (ma non forniti)" ed i valori % ad essi assegnati, indicati nel foglietto allegato.

Tracciabilità: questo metodo è tracciabile ad un pool di plasma preparato secondo DIN 5893.

Intervallo di calibrazione: è richiesta una calibrazione completa

- 1 volta per ogni lotto di reagente.
- se richiesto dai procedimenti del controllo di qualità.

Controllo di qualità

Per la verifica dell'accuratezza e della riproducibilità dei risultati è necessario l'impiego di controlli.

Per il controllo di qualità, impiegare le confezioni di controlli indicate nella sezione "Materiali necessari (ma non forniti)".

Gli intervalli ed i limiti del controllo dovranno essere conformi alle esigenze individuali di ogni laboratorio. I valori ottenuti devono rientrare nei limiti definiti. Ogni laboratorio deve definire delle misure correttive da attuare nel caso che alcuni valori siano al di fuori dei limiti definiti.

Per il controllo di qualità, attenersi alle normative vigenti e alle linee guida locali.

Limiti del metodo – interferenze

È stato testato l'effetto delle seguenti sostanze endogene e dei seguenti composti farmaceutici sulla performance del test. Non è stata osservata alcuna influenza sui risultati fino alle concentrazioni elencate:

Sostanze endogene

Composto	Concentrazione
Bilirubina coniugata	Per i campioni con tempo di misurazione normale (≤ 164 s): 66 mg/dL Per i campioni con tempo di misurazione prolungato (> 164 s): 35 mg/dL
Bilirubina non coniugata	66 mg/dL
Emoglobina	1300 mg/dL
Intralipid	2000 mg/dL

Criterio di valutazione: recupero entro $\pm 10\%$ del valore iniziale.

Le interferenze da lipemia, emoglobina e bilirubina sono state testate secondo Glick.¹¹

La presenza di anticoagulanti lupici può provocare tempi di coagulazione prolungati e alterare, quindi, i valori in % della norma ed i valori INR.

Farmaci: non si è osservata alcuna interferenza a concentrazioni terapeutiche impiegando le più comuni famiglie di farmaci.^{12,13}

L'azione fibrinolitica della streptochinasi altera i tempi di coagulazione e quindi i valori in % della norma e i valori INR.

Eparina: Eparina: non è stata osservata alcuna interferenza significativa in un pool di plasma con INR 2.2, addizionato con eparina fino ad una concentrazione di 1.0 IU/mL per l'eparina non frazionata (UFH), e in un pool di plasma con INR 2.4, addizionato con eparina fino ad una concentrazione di 1.5 IU/mL per l'eparina a basso peso molecolare (LMWH).

La presenza nel campione di inibitori diretti della trombina, quali argatroban, bivalirudina e dabigatran, o di inibitori del fattore X attivato (FXa), quali apixaban, edoxaban e rivaroxaban, influenza i risultati del test PT Owren (prolungamento in [sec], aumento in [INR], diminuzione in [%]), il che può essere importante dal punto di vista clinico.

La presenza di oritavancina nel campione influenza i risultati del test di PT Owren.

Ai fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati congiuntamente con la storia clinica del paziente, con gli esami clinici e con altre evidenze cliniche.

Cicli di lavaggio extra: l'uso dei lavaggi extra è obbligatorio quando certe combinazioni di test vengono eseguite insieme sugli analizzatori **cobas t**. Per ulteriori istruzioni, consultare la versione più recente dell'elenco dei possibili carry-over allegato alle metodiche CLEAN e Deproteinizer e rivolgersi all'Assistenza Utente. Se richiesto, i cicli di lavaggio extra/evacuazione del carryover devono essere implementati prima di generare i report dei risultati con questo test.

Valori di riferimento

18.2-27.2 secondi

Questi valori corrispondono al 2.5o percentile ed al 97.5o percentile dei risultati ottenuti con un totale di 200 campioni di plasma umano.

I risultati con INR > 5 devono essere validati ripetendo la misura.

74.2%-155%

Questi valori corrispondono al 2.5° e al 97.5° percentile dei risultati ottenuti con un totale di 146 campioni di plasma umano.

Ogni laboratorio deve controllare l'applicabilità dei valori di riferimento alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare intervalli di riferimento propri.

Dati specifici sulla performance del test

Qui di seguito sono riportati i dati rappresentativi delle prestazioni sugli analizzatori. I risultati dei singoli laboratori possono differire da questi.

Precisione

La ripetibilità e la precisione intermedia sono state determinate usando campioni umani e controlli, eseguiti in conformità ai requisiti EP05 del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) (2 aliquote per serie, 2 serie al giorno, 21 giorni). Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

▪ Risultati in secondi

Campione	Media (s)	Ripetibilità		Precisione intermedia	
		DS (s)	CV (%)	DS (s)	CV (%)
Controllo normale	20.9	0.0919	0.4	0.164	0.8
Controllo anomalo	45.6	0.296	0.6	0.442	1.0
Plasma 1	19.8	0.0880	0.4	0.147	0.7
Plasma 2	34.3	0.197	0.6	0.240	0.7
Plasma 3	76.4	0.397	0.5	0.773	1.0
Plasma 4	100	0.837	0.8	1.22	1.2
Plasma 5	131	1.52	1.2	2.36	1.8
Plasma 6	194	3.69	1.9	5.29	2.7

Campione	Media (s)	Ripetibilità		Precisione intermedia	
		DS (s)	CV (%)	DS (s)	CV (%)
Plasma 7	229	3.39	1.5	6.79	3.0

▪ Risultati in INR in base all'ISI e all'MNPT

Campione	Media (INR)	Ripetibilità		Precisione intermedia	
		DS (INR)	CV (%)	DS (INR)	CV (%)
Controllo normale	1.02	0.00512	0.5	0.00825	0.8
Controllo anomalo	2.04	0.0126	0.6	0.0185	0.9
Plasma 1	0.970	0.00362	0.4	0.00614	0.6
Plasma 2	1.58	0.00859	0.5	0.0101	0.6
Plasma 3	3.22	0.0152	0.5	0.0290	0.9
Plasma 4	4.11	0.0298	0.7	0.0439	1.1
Plasma 5	5.21	0.0541	1.0	0.0829	1.6
Plasma 6	7.20	0.119	1.7	0.174	2.4
Plasma 7	8.37	0.108	1.3	0.128	2.6

▪ Risultati in INR in base alla calibrazione dell'INR

Campione	Media (INR)	Ripetibilità		Precisione intermedia	
		DS (INR)	CV (%)	DS (INR)	CV (%)
Controllo normale	1.03	0.00408	0.4	0.00741	0.7
Controllo anomalo	2.05	0.00125	0.6	0.0179	0.9
Plasma 1	0.975	0.00378	0.4	0.00622	0.6
Plasma 2	1.59	0.00831	0.5	0.0105	0.7
Plasma 3	3.24	0.0146	0.5	0.0290	0.9
Plasma 4	4.13	0.0304	0.7	0.0438	1.1
Plasma 5	5.23	0.0537	1.0	0.0834	1.6
Plasma 6	6.95	0.114	1.6	0.165	2.4
Plasma 7	8.05	0.101	1.3	0.205	2.6

▪ Risultati in % in base alla calibrazione %

Campione	Media (%)	Ripetibilità		Precisione intermedia		
		DS (%)	CV (%)	Media (%)	DS (%)	CV (%)
Controllo normale	111	1.13	1.0	111	3.67	3.3
Controllo anomalo	32.6	0.379	1.2	32.6	0.902	2.8
Plasma 1	104	1.52	1.5	104	2.82	2.7
Plasma 2	40.1	0.382	1.0	39.1	0.860	2.2
Plasma 3	17.3	0.137	0.8	17.4	0.339	1.9
Plasma 4	9.88	0.131	1.3	9.88	0.226	2.3
Plasma 5	5.59	0.0856	1.5	5.59	0.143	2.6
Plasma 6	3.88	0.0413	1.1	3.88	0.106	2.7

Confronto tra metodi

▪ INR calcolato in base all'ISI e all'MNPT

PT Owren

Prothrombin Time

Il confronto dei valori INR del reagente PT Owren sull'analizzatore **cobas t 711** (y) con quelli ottenuti con un test di coagulazione automatico (x) ha prodotto le seguenti correlazioni:

Numero di campioni misurati: 141

Deming¹⁴

$$y = 0.953x + 0.147$$

$$r = 0.977$$

I tempi di protrombina ottenuti utilizzando il reagente PT Owren erano compresi tra 0.913 e 4.22 INR.

▪ **INR calcolato in base all'ISI e all'MNPT vs. INR determinato in base alla calibrazione dell'INR**

Il confronto dei valori INR calcolati con il reagente PT Owren sull'analizzatore **cobas t 711** in base all'ISI e all'MNPT (y) con i valori INR determinati sull'analizzatore **cobas t 711** in base alla calibrazione dell'INR (x) ha prodotto le seguenti correlazioni:

Numero di campioni misurati: 141

Passing/Bablok¹⁵

$$y = 1.037x - 0.0342$$

$$r = 1.000$$

I tempi di protrombina ottenuti utilizzando il reagente PT Owren erano compresi tra 0.913 e 4.22 INR.

▪ **INR calcolato in base all'ISI e all'MNPT (incluso l'intervallo di misura esteso)**

Il confronto dei valori INR del reagente PT Owren sull'analizzatore **cobas t 711** (y) con quelli ottenuti con un test di coagulazione automatico (x) ha prodotto le seguenti correlazioni:

Numero di campioni misurati: 148

Deming¹⁴

$$y = 0.841x + 0.172$$

$$r = 0.978$$

I tempi di protrombina ottenuti utilizzando il reagente PT Owren erano compresi tra 0.876 e 9.41 INR.

▪ **INR calcolato in base all'ISI e all'MNPT vs. INR determinato in base alla calibrazione dell'INR (incluso l'intervallo di misura esteso)**

Il confronto dei valori INR del reagente PT Owren sull'analizzatore **cobas t 711** (y) con quelli ottenuti con un test di coagulazione automatico (x) ha prodotto le seguenti correlazioni:

Numero di campioni misurati: 153

Passing/Bablok¹⁵

$$y = 1.038x - 0.0525$$

$$r = 1.000$$

I tempi di protrombina ottenuti utilizzando il reagente PT Owren erano compresi tra 0.876 e 9.41 INR.

Letteratura

- Hirsh J, Fuster V, Ansell J, et al. American Heart Association/American College of Cardiology Foundation Guide to warfarin therapy. *Circulation* 2003; 107: 1692-1711.
- Owren PA. Thrombotest. A new method for controlling anticoagulant therapy. *Lancet* 1959; 2: 754-758.
- CLSI Document H21-A5, Vol.28, No.5, 2008. Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline, 5th edition.
- CLSI Document H3-A6. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard - Sixth Edition, vol. 27, No. 26, 2007.
- WHO technical report series No. 889, 1999, Annex 3.
- Poller L. The Prothrombin Time. WHO/LAB/98.3.

- Fairweather RB, Ansell J, van den Besselaar AMHP, et al. College of American Pathologists. Conference XXXI on Laboratory Monitoring of Oral Anticoagulant Therapy. Laboratory Monitoring of Oral Anticoagulant Therapy. *Arch Pathol Lab Med* 1998;122:768-781.
- Hirsh J, Dalen JE, Deykin D, et al. Oral Anticoagulants. Mechanism of action, clinical effectiveness and optimal therapeutic range. *Chest* 1995;108:231S-S46S.
- Baglin TP, Keeling DM, Watson HG. Guidelines on oral anticoagulation (warfarin): third edition - 2005 update, British Society for Haematology 2005;132:277-285.
- BCGuidelines.ca, Guidelines & Protocols, Warfarin Therapy management; Effective Date: October 1, 2010
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470-475.
- Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996;34:385-386.
- Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. *Ann Clin Biochem* 2001;38:376-385.
- Martin RF. General Deming Regression for Estimating Systematic Bias and its Confidence Interval in Method Comparison Studies. *Clinical Chemistry* 2000;46(1):100-104.
- Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988 Nov;26(11):783-790.

In questa metodica, per separare la parte intera da quella frazionaria in un numero decimale si usa sempre il punto. Il separatore delle migliaia non è utilizzato.

Per ulteriori informazioni, consultare l'Assistenza Clienti appropriata per il relativo analizzatore e le metodiche di tutti i componenti necessari.

Esiste la necessità di segnalare qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo sia al fabbricante che all'autorità competente dello Stato membro in cui l'utilizzatore e/o il paziente è stabilito.

Il riassunto del rapporto su sicurezza e prestazioni (*Summary of Safety & Performance Report*: SS&PR) è disponibile nel seguente sito web: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Simboli

Oltre a quelli indicati nello standard ISO 15223-1, Roche Diagnostics impiega i seguenti simboli:

	Contenuto della confezione
	Analizzatori/strumenti su cui i reagenti possono essere usati
	Reagente
	Calibratore
	Volume per la ricostituzione
	Global Trade Item Number

Le aggiunte, cancellazioni o modifiche sono indicate mediante una linea verticale posizionata al margine.
© 2024, Roche Diagnostics

0123

Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com
+800 5505 6606

