



1/ PASKIRTIS

Aktyvinto dalinio tromboplastino laiko plazmoje (ADTL) nustatymas pagal Langdell R.D. et al. (1) ir Larrieu M.J., Weiland C. (3) metodą STA[®] linijos analizatoriaus su šiuo reagentu.

2/ SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAI

- Aktyvinto dalinio tromboplastino laikas (ADTL) - tai bendras krešėjimo sistemos aktyvumo atrankinis tyrimas, įvertinantis XII, XI, IX, VIII, X, V, II krešėjimo faktorių ir fibrinogeno veiklą. Stebint gydymą nefrakcionuotu heparinu (UFH), taip pat pravartu matuoti ADTL (aktyvintą dalinį tromboplastino laiką).
- Aktyvinto dalinio tromboplastino laiko pailgėjimas pastebimas šiais atvejais (7):
 - Ilgimti faktorių aktyvumo deficitai
 - Jei protrombino laikas yra normalus, faktorių aktyvumo stokos išeikosmė:
 - faktoriuje VIII (STA[®] - Deficient VIII, REF 00725)
 - faktoriuje IX (STA[®] - Deficient IX, REF 00724)
 - faktoriuje XI (STA[®] - Deficient XI, REF 00723)
 - faktoriuje XII (STA[®] - ImmunoDef XII, REF 00315).
 - Jei visų šių faktorių aktyvumas normalus, išeikosmė didelio molekulinio svorio kininogeno stokos (Fitzgerald faktorius).
 - Ilgyti sutrikimai arba patologinės situacijos
 - kepenų ligos
 - suvartojimo koagulopatijos
 - fibrinolizė
 - cirkuliuojantys antikoagulantai (LA tipo arba cirkuliuojantys prieš atskirus faktorius nukreipti antikoagulantai)
 - oralinių antikoagulantų ar heparino terapija
 - gydymas trombinio inhibitoriais (pvz. hirudinu, argatrobanu...).

3/ TYRIMO PRINCIPAS

ADTL sąlygoja plazmos rekalcifikacija, dalyvaujant standartizuotam kefalino kiekiui (trombocitų pakaitalui) ir XII faktoriaus aktyvatoriui (polifenolio komponentui). Tokie būdu ADTL įvertina XII, XI, IX, VIII, X, V, II ir I faktorių aktyvumą išskyrus trombocitų aktyvumą.

4/ RINKINIO SUDĖTIS

Kiekvienoje STA[®] - Cephascreen[®] dėžutėje yra lapelis su brūkšninio kodu. Brūkšniniame kode yra ši informacija: serijos numeris, rinkinio kodo numeris, reagento kodo numeris ir galiojimo data.

STA[®] - Cephascreen[®]: reagento sudėtyje yra kefalino (trombocitų pakaitalo), paruošto iš triušio smegenų audinio (2) ir polifenolio reagento, kurie patalpinti buferinėje terpėje, yra 4 ml (REF 00308) arba 10 ml (REF 00310) buteliukai.

Šiame reagentu yra 5-chloro-2-metil-2H-izotiazol-3-one / 2-metil-2H-izotiazol-3-one mišinys, kurio santykis 3:1. Tiekiamos koncentracijos (< 0,06 %) šis mišinys klasifikuojamas kaip jautrinantis. Gali sukelti alerginę odos reakciją. Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemonės. PATEKUS ANT ODOŠ: Nuplauti dideliu kiekiu muilo ir vandens.

Šiame reagentu yra žmogiškos ir/ar gyvulinės kilmės medžiagų. Kai šių reagentų paruošimui reikia žmogaus plazmos, plazmoje tiriant HIV 1, HIV 2 ir HCV antikūnius bei tiriant B hepatito paviršinius antigenus, laikomi gerai žinomi metodai ir gauti rezultatai yra neigiami. Visgi nė vienas tyrimo metodas nesuteikia visiškos garantijos, kad užkrėtimo sukėlėjų nėra. Šių reagentų naudotojai turi būti ypatingai atsargūs ir laikytis visų šių biologinių preparatų naudojimo atsaugumo reikalavimų, tartum šie būtų pavojingi ir galintys užkrėsti.

5/ ĮSPĖJIMAI

Pakuotę laikyti esant 2-8 °C temperatūrai. Tik in vitro diagnostikai. Šį reagentus gali naudoti tik sertifikuoti medicininės laboratorijos darbuotojai, įgiję laboratorijos vadovybės. STA[®] - Cephascreen[®] skirtas naudoti tik su STA[®] linijos analizatoriais su šiuo reagentu. Prieš pradėdami darbus, atidžiai perskaitykite analizatoriaus "Naudotojo vadovą". Su šiais reagentais ir paciento plazmomis elkitės ypač rūpestingai. Atliekas reikia utilizuoti laikantis vietinių saugaus atliekų sunaikimo reikalavimų.

6/ TIRIAMIEJI MĖGINIAI

Mėginių paėmimas turi atitikti hemostazės tyrimų rekomendacijas.

- Mėginių ėmimas**
Kraują (9 tūrio dalis) 0,109 M (t. y. 3,2 proc.) antikoagulianto trinatricio citrato tirpale (1 tūrio dalis) paimkite į hidrofobinį (plastikinį arba silikonuoto stiklo) mėgintuvėlį arba naudokite mėgintuvėlį su CTAD tirpalu, kuris specialiai skirtas mėginiams imti, kad būtų išvengta heparino inaktyvacijos (6).
- Centrifugavimas**
Centrifugavimas: 1 minučių esant 2000-2500 g.
- Stabilumas**
20 ± 5 °C temperatūroje plazma lieka stabili 4 valandas (9). Jeigu gydoma heparinu, su įprastiniu citrato antikoagulantu gautą plazmą galima laikyti ne ilgiau kaip 2 valandas 20 ± 5 °C temperatūroje; jeigu imant plazmą naudotas mėgintuvėlis su CTAD tirpalu, plazmą laikyti galima ne ilgiau kaip 4 valandas 20 ± 5 °C temperatūroje.

7/ REAGENTO PARUOŠIMAS IR LAIKYMAS

- Paruošimas**
Prieš naudojimą palaikykite reagentą 30 minučių kambario temperatūroje (18-25 °C). Tada buteliuką **labai energingai** supurtykite arba pasukite kratyklėje (3-5 sekundes didžiausiu greičiu), kad suspensija taptų vienalytė. Paskui, įdėkite naują STA[®] - Reducer (REF 00797 arba 00801) ir užsukite perforuotą dangtelį. Reagentas paruoštas naudojimui.
- Laikymas**
Neatidaryti reagentai laikomi 2-8 °C temperatūroje iki etiketėje nurodyto galiojimo datos. Pagamintas ir pradarytas reagentas su STA[®] - Reducer ir plastmasiniu perforuotu dangteliu laikomas:
 - 7 dienas (REF 00308) arba 10 dienų (REF 00310) su STA-R[®] ir STA Compact[®]
 - 8 dienas (REF 00308) arba 10 dienų (REF 00310) su STA Satellite[®].**Neužšaldyti.**

8/ PAPILDOMI REAGENTAI IR ĮRANGA

- STA[®] - CaCl₂ 0.025 M** (REF 00367).
- STA[®] - Coag Control [N] + [P]** (REF 00679), **STA[®] - System Control [N] + [P]** (REF 00678) arba **STA[®] - Routine QC 2 ml** (REF 00554): normalių ir patologinių verčių kontrolė.
- STA-R[®], STA Compact[®] arba STA Satellite[®].**
- STA[®] - mini Reducer** REF 00797 (STA[®] - Cephascreen[®] ④) arba STA[®] - maxi Reducer REF 00801 (STA[®] - Cephascreen[®] ⑤).
- Įprasta medicininis tyrimų laboratorijų įranga.

9/ TYRIMO EIGA

Palyginkite paciento ADTL su referentine kontroline konkretės laboratorijos ADTL reikšme. Kai naudojama sąlyginai sveikų individų plazmos kontrolė (serologikai patikrinta plazma), įsitikinkite, kad plazmos mėginiai surinkti iš sąlyginai sveikų 18 - 55 metų amžiaus vyrų ir moterų, nenaudojančių jokių vaistų ir duodančių kraują savanoriškai.

- 9.1. Paciento plazmos**
Paciento plazmos tiriamos nepraskiestos. Jos įdedamos į prietaisą (žr. analizatoriaus "Naudotojo vadovą"). Pasirinkite norimą(us) atlikti tyrimą(us) su paciento plazma.

- 9.2. Kontrolinės plazmos**
Kontrolinių tyrimų atlikimas yra būtinas, norint užtikrinti tyrimų tikslumą ir atkartojamumą. Kiekvienos darbo paminamos metu turi būti naudojamos dviejų skirtingų lygių kontrolinės plazmos. Paruoškite kontrolinės plazmas ir perkeltkite į analizatorių informaciją, esančią brūkšniniame kode ant kiekvieno iš lapelių. Kontrolinės plazmos tiriamos nepraskiestos.

- 9.3. ADTL tyrimas**
Apie ADTL, skaitykite analizatoriaus darbo instrukcijoje "Standardized Operating Procedures" esančiame parabolė.
Plazmų ADTL nustatymas atliekamas automatiškai analizatoriumi, kai tik tiriamas mėgins yra įdėtas į analizatorių.

10/ REZULTATAI

Ištirtų mėginių ADTL rodomas operatoriaus pasirinktais vienetais analizatoriaus ekrane (žr. "Naudotojo vadovą"). Rezultatas turi būti interpretuojamas atsižvelgiant į klinikinę ir biologinę paciento būklę. Jei gauti rezultatai viršija arba nesiekia nustatytų ribų, nurodytų atitinkamų kontrolinių plazmų informaciniuose lapeliuose, patikrinkite ar visi tyrimo sistemos komponentai funkcionuoja teisingai: tyrimo atlikimo sąlygos, reagentai, tiriamas plazmas ir t.t. Jei reikia, pakartokite tyrimus.

11/ APRIBOJIMAI

- STA[®] - Cephascreen[®] nėra jautrus prekalikreino stokai. Literatūroje nurodoma, kad "pacientams, turintiems homozigotiškai apspręstą prekalikreino stoką, nepasireiškia ypatingi hemoraginiai reiškiniai" (8).
- Kai atliekamas nefrakcionuoto heparino terapijos monitoringas, bet koks 4 trombocitino faktoriaus, potencialaus heparino inhibitoriaus, išlaisvinimas ir buvimas plazmos mėginyje yra pagrindinis klaidų šaltinis: - kraują surinkite tik į plastinius, CTAD tipo arba silikonuoto stiklo vakuuminius mėgintuvėlius. - atlikite centrifugavimą per 1 valandą po kraujo surinkimo mėginiams, paimtiems su standartiniu natrio citratu, ir 4 valandas mėginams su CTAD.

12/ VERČIŲ RIBOS

Įprastų tyrimų rezultatų vertės varijuoja priklausomai nuo vietinių tyrimo sąlygų. Todėl rekomenduojama kiekvienai laboratorijai nusistatyti savo normos verčių intervalą savo klinikos pacientių populiacijai. Pritaikant, kad tyrimo rezultatas yra normalus, jei ADTL reikšmė neviršija ± 2 standartinių nukrypimų nuo viduriko ($\bar{x} \pm 2 SD$) (5). Pavyzdžiui, 357 normalių žmonių plazma buvo ištirta STA[®] - Cephascreen[®] su STA[®]. Gautas vidutinis laikas 29,2 sekundės su 2,8 sekundžių standartiniu nukrypimu.
Statistiškai patvirtinta, kad jaunų žmonių ADTL (aktyvintas dalinis tromboplastino laikas) yra ilgesnis. Priešingai, vyresnio amžiaus žmonių ADTL rodiklis yra trumpesnis (4).

13/ ANALIZĖS SAVYBĖS

Atskartojamumo tyrimų rezultatai, atliekant intra-laboratorinę bei tarplaboratorinę analizę su STA[®], pateikiami lentelėje:

	Intralaboratorių bandinių atskartojamumas		Tarplaboratorių bandinių atskartojamumas	
Mėginsys	Mėginsys 1	Mėginsys 2	Mėginsys 3	Mėginsys 4
n	21	21	10	10
$\bar{X}$ (s)	29,8	47,2	29,8	48,0
SD (s)	0,19	0,40	0,42	0,44
CV (%)	0,6	0,8	1,4	0,9

14/ ALTERNATYVI METODIKA

Straipsniai 1, 2, 3, 4, 5, 6 ir 11, išdėstyti aukščiau, galioja ir nustatant aktyvinto dalinio tromboplastino laiką pusiau automatinio būdu.

- 14.1. Reagento paruošimas ir laikymas**
Prieš naudojimą palaikykite reagentą 30 minučių kambario temperatūroje (18-25 °C). Tada buteliuką **labai energingai** supurtykite arba pasukite kratyklėje (3-5 sekundes didžiausiu greičiu), kad suspensija taptų vienalytė (nedėti STA[®] - Reducer, nei plastikinio dangtelio). Pagaminus bei atidarius buteliuką, reagentas yra stabilus 24 valandas 20 ± 5 °C ir 14 dienų 2-8 °C, užkietusiose buteliukuose.
- 14.2. Papildomi reagentai ir įranga**
 - STA[®] - CaCl₂ 0.025 M** (REF 00367).
 - Coag Control [N] + [P]** (REF 00621) arba **System Control [N] + [P]** (REF 00617): normalių ir patologinių verčių kontrolė.
 - Tokie instrumentai, kaip ST art[®].
 - Įprasta klinikinės laboratorijos įranga.
- 14.3. Paciento plazmos ir kontrolinės plazmos**
Tiriama plazma ir kontrolinės medžiagos naudojamos nepraskiestos.
- 14.4. ADTL tyrimas**
Paciento aktyvintas dalinis tromboplastino laikas turi būti palyginamas su referentinės plazmos laiku. Prieš naudojimą reagentas STA[®] - Cephascreen[®] laikomas kambario temperatūroje (18-25 °C). Nustatydami aktyvinto dalinio tromboplastino laiką, laikykites prietaiso gamintojo rekomendacijų, pavyzdžiui:

Kiuvetėje, pašildytoje 37 °C:	
● Nepraskiesta Plazma (paciento, referentinė ar kontrolinė)	1 tūris
● STA [®] - Cephascreen [®]	1 tūris
● Inkubuoti 37 °C	4 min
● Įjungiant chronometrą pridėti STA [®] - CaCl ₂ 0.025 M, pašildyto 37 °C temperatūroje	1 tūris
Pažymėti krešėjimo laiką (sekundėmis).	

14.5. Rezultatai

Pažymėti tiriamų plazmų ir referentinės plazmos krešėjimo laiką (s). Rezultatas turi būti interpretuojamas atsižvelgiant į klinikinę ir biologinę paciento būklę. Būtinyje užtikrinti, kad kontrolinių plazmų tyrimo rezultatai patektų į nustatytas ribas, taip kaip nurodyta kontrolinių plazmų informaciniuose lapeliuose. Jei gauti rezultatai viršija arba nesiekia nustatytų ribų, nurodytų atitinkamų kontrolinių plazmų informaciniuose lapeliuose, patikrinkite ar visi tyrimo sistemos komponentai funkcionuoja teisingai: tyrimo sąlygos, reagentus, tiriamas plazmas ir t.t. Jei būtina, pakartokite tyrimus.

14.6. Verčių ribos

Pavyzdžiui, buvo tiriamos 30 sąlyginai sveikų žmonių plazmos su STA[®] - Cephascreen[®] reagentu ir ST art[®] aparatu. Gautas vidutinis laikas 28,7 sekundės su 2,5 sekundžių standartiniu nukrypimu.

- 14.7. Analizės sąvaybės**
Atskartojamumo tyrimų rezultatai atliekant intra-laboratorinę bei tarplaboratorinę analizę su ST art[®] pateikiami lentelėje:

	Intralaboratorių bandinių atskartojamumas		Tarplaboratorių bandinių atskartojamumas	
Mėginsys	Mėginsys a	Mėginsys b	Mėginsys c	Mėginsys d
n	24	24	10	10
$\bar{X}$ (s)	29,8	50,5	30,8	49,9
SD (s)	0,26	0,50	0,45	0,59
CV (%)	0,9	1,0	1,4	1,2

NUORODOS

- LANGDELL R.D., WAGNER R.H., BRINKHOUS K.M.: "Effect of antihemophilic factor on one-stage clotting tests". J. Lab. Clin. Med., **41**, 637-647, 1953.
- BELL W.N., ALTON H.G.: "A brain extract as a substitute for platelet suspensions in the thromboplastin generation test". Nature, **174**, 880-881, 1954.
- LARRIEU M.J., WEILLAND C.: "Utilisation de la "céphaline" dans les tests de coagulation". Nouv. Rev. Fr. Hématol., **12**, 2, 199-210, 1957.
- CAWKWELL R.D.: "Patient's age and the activated partial thromboplastin time test". Thromb. Haemostasis, **39**, 780-781, 1978.
- LEVIN HILLMAN C.R., LUSHER J.M.: "Determining the sensitivity of coagulation screening reagents: a simplified method". Lab. Med., **13**, 3, 162-165, 1982.
- CONTANT G., GOUAULT-HEILMANN M., MARTINOLI J.L.: "Heparin inactivation during blood storage: its prevention by blood collection in citric acid, theophylline, adenosine, dipyridamole - C.T.A.D. mixture". Thromb. Res., **31**, 365-374, 1983.
- SAMAMA M., CONARD J., HORELLOU M.H., LECOMPTTE T.: "Physiologie et exploration de l'hémostase". Paris: Doin, 152-153, 1990.
- BORG J.Y.: "Déficits constitutionnels en facteur de la coagulation en dehors de l'hémophilie" in "Manuel d'hémostase", J. Sampol, D. Arnoux, B. Bouthière, Paris: Elsevier, 359-377, 1995.
- "Etude des différents paramètres intervenant dans les variables préanalytiques (revue de la littérature)". Sang Thromb. Vaiss., **10**, 5-18, 1998.