

Dade® PFA Collagen/EPI Test Cartridge

COLL EPI CARTRIDGE

Dade® PFA Collagen/ADP Test Cartridge

COLL ADP CARTRIDGE

Peržiūrėto leidimo juostoje nurodyta, kuo atnaujinta ankstesnio leidimo versija.

Numatytasis naudojimas

Padėti aptikti trombocitų disfunkciją citruotame visos sudėties žmogaus kraujyje dirbant PFA-100® ir INNOVANCE® PFA-200 sistemomis.

Santrauka ir paaiškinimas

PFA-100® Sistemą ir INNOVANCE® PFA-200 sistemą (PFA sistemas) sudaro prietaisas ir tyrimo kasetės, kuriose trombocitų sukibimo ir agregacijos procesas po kraujagyslių pažeidimo imituojamas *in vitro*. PFA sistemos aptinkamą trombocitų disfunkciją galima įgyti, paveldėti ar sukelti trombocitus slopinančiomis priemonėmis. Dažniausios trombocitų disfunkcijos priežastys yra susijusios su uremija, Vilebrando (von Willebrand) liga (VWD) ir medžiagų, pvz., acetilsalicilo rūgšties (ASA, pvz., ASPIRIN), poveikiu¹.

Dade® PFA kolageno/EPI (Col/EPI) tyrimo kasetė yra pagrindinė, ji naudojama siekiant aptikti trombocitų disfunkciją, sukeltą pačių trombocitų defektų, VWD arba poveikio trombocitus slopinančiomis medžiagomis. Dade® PFA kolageno/ADP (Col/ADP) tyrimo kasetė naudojama siekiant nustatyti, ar patologinį rezultatą, gautą naudojant Col/EPI tyrimo kasetę, galėjo sukelti ASA arba vaistų, kuriuose yra ASA, poveikis.

Visi reagentai, esantys Col/EPI ir Col/ADP kasetėse, pvz., kolagenas, ADP ir epinefrinas, atlieka svarbų vaidmenį pirminės hemostazės *in-vivo* procese. Pažeistos kraujagyslės atskleidžia kolageno gijas, kurios tarpininkauja Vilebrando faktoriaus (VWF) surišimo procese. Net ir esant didelės šlyties sąlygomis, trombocitai gali tvirtintis prie VWF, sąlygodami pirmąjį pirminės hemostazės etapą. Esant kraujagyslių pažeidimams, dideli ADP kiekiai išleidžiami į kraują, o sisteminės reakcijos padidina epinefrino lygį. Visos šios medžiagos, įskaitant kolageną, gali suaktyvinti trombocitus per sąveiką su specifiniais receptoriais, tokiu būdu sustiprinant pirminės hemostazės procesą.

PFA sistema yra naudojama kartu su Col/EPI ir / arba Col/ADP 1 metų ir vyresniems asmenims^{2,3}, ir ypač tiriamiems pacientams su įtariama kraujavimo rizika. Perspektyviniame tyrime⁴, kuriame dalyvavo daugiau nei 5000 nepasirinktų suaugusių pacientų, kuriems numatytos įvairių tipų planinės operacijos, kraujavimo rizika buvo įtariama 12 %⁴ pacientų. Iš jų beveik pusė turėjo bent vieną nenormalų laboratorinių tyrimų testą, kuriame Col/EPI rodo didžiausią jautrumą (98 %). Atliekant tolesnį pacientų su ilgalaikiais Col/EPI rezultatus pacientų testavimą, buvo patvirtintas žemas VWF lygis, acetilsalicilo rūgšties vaistų vartojimas arba kitos trombocitų disfunkcijos priežastys.

Mokslinėje literatūroje pateikiami duomenys rodo, kad ilgalaikis PFA uždarymo laikas (CT) su abiem Col/EPI ir Col/ADP kasetėmis gali tapti tam tikru mastu trumpesnis po desmopresino acetato (1-deamino-8-D-arginino vasopresino; DDAVP) infuzijos⁵. Trumpesni CT rodo atkurtą trombocitų funkciją ir gali rodyti kraujavimo simptomų ir perpylimo poreikių pagerėjimą⁶.

Metodas

PFA sistemomis galima greitai įvertinti trombocitų funkciją mažuose citruoto visos sudėties kraujo mėginiuose remiantis darbu, kurį aprašė Kratzer ir Born^{7,8}. Vienkartinio naudojimo PFA tyrimo kasetes sudaro įvairios integruotos dalys, įskaitant kapiliarą, mėginio rezervuarą ir biochemiškai aktyvią membraną su apskrita apertūra centre. Citruotas visos sudėties kraujas įsiurbiamas iš mėginio rezervuaro pro kapiliarą ir apertūrą, dėl to trombocitus veikia didelio šlyties srauto sąlygos. Membrana padengta kolagenu, subendoteliniu baltymu, kuris paprastai laikomas pradine trombocitų prisitvirtinimo matrica. Manoma, kad trombocitų tvirtinimasis prie kolageno sukelia pradinį fiziologinį trombocitų aktyvinimo stimulą. Be to, membrana padengta epinefrinu arba ADP – kitais fiziologiniais agonistais, kurie kartu su kolagenu plačiai naudojami trombocitams suaktyvinti agregometrijos tyrimuose. PFA tyrimo pradžioje įleidžiama skatinamojo tirpalo, kuriuo sudrėkinama membrana. Atliekant tyrimą trombocitai prikimba prie kolagenu padengtos membranos. Tada, panašiai kaip agregometrijoje⁹, trombocitai suaktyvinami ir palietę agonistus, pvz., ADP ar epinefriną, išleidžia savo granulių turinį. Kai išleidžiamas granulių turinys, trombocitai sukimba vienas su kitu ir taip sudaromi agregatai. Kaip trombocitų funkcijos matas PFA sistemose, trombocitų agregacijos procesas apertūroje sudaro trombocitų trombą, taip laipsniškai mažindamas ir galiausiai sustabdydamas kraujo srautą¹⁰. Optinėje agregometrijoje trombocitų funkcija vertinama pagal agregatų susidarymą, aptinkamą pagal šviesos laidumo pokyčius.

PFA sistemos nustato laiką nuo tyrimo pradžios iki apertūros užkimšimo trombocitų kamščiu ir nurodo šį laiko intervalą kaip uždarymo laiką (angl. Closure Time – CT). CT yra trombocitų funkcijos analizuojamame visos sudėties kraujo mėginyje indikatorius. Trombocitų kamščio susidarymui PFA sistemose įtakos turi mažas trombocitų skaičius ir (arba) aktyvumas, sumažėjęs Vilebrando faktoriaus lygis plazmoje ir, be to, vykstant tekėjimo procesui sumažėjęs hematokritas¹⁰.

Reagentai

Tiekiamos medžiagos

Dade® PFA kolageno/EPI tyrimo kasetė [REF] B4170-20

20 x [COLL][EPI] [CARTRIDGE], Dade® PFA kolageno/EPI tyrimo kasetė

Dade® PFA kolageno/ADP tyrimo kasetė [REF] B4170-21

20 x [COLL][ADP] [CARTRIDGE], Dade® PFA kolageno/ADP tyrimo kasetė

Pastaba: reagentai parduodami atskirai.

Sudėtis

Dade® PFA kolageno/EPI tyrimo kasetė: tyrimo kasetės blokas, kuriame yra membrana, padengta 2 µg I tipo arklio kolageno ir 10 µg epinefrino bitartrato.

Dade® PFA kolageno/ADP tyrimo kasetė: tyrimo kasetės blokas, kuriame yra membrana, padengta 2 µg I tipo arklio kolageno ir 50 µg adenozin-5'-difosfato (ADP).

Įspėjimai ir atsargumo priemonės

Skirta *in vitro* diagnostikai.

Visus kraujo mėginius ir kraujo komponentus reikia laikyti potencialiai infekciniais. Su visais mėginiais reikia dirbti vadovaujantis patikrintais laboratoriniais metodais ir imantis reikiamų atsargumo priemonių.

Įdedant kasetes su visos sudėties krauju į sukamąjį įrenginį ar išimant iš jo reikia naudoti apsaugos priemones.

Tyrimo kasetės ardyti negalima.

Išimant tyrimo kasetę iš sukamojo įrenginio kyla pavojus kontaktuoti su kraujo lašeliais.

Tyrimo kasečių paruošimas

- Prieš atidarydami palaukite, kol maišelis su tyrimo kasetėmis įšils iki 15–25 °C temperatūros. Tai trunka maždaug 15 minučių. Išėmę kasetes vėl sandariai uždarykite maišelį.
- Nuo tyrimo kasečių nuimkite ir išmeskite viršutinę sandarinimo foliją. Ši viršutinė sandarinimo folija saugo nuo dulkių ir kitų dalelių. Jei maišelis ne visiškai sandariai uždaromas sandarinimo folija, tai nekenkia tyrimo kasečių efektyvumui ir stabilumui.
Pastaba: jei viršutinė folija yra akivaizdžiai pažeista arba jos nėra, tyrimo kasetės nenaudokite. Išmeskite ją į atitinkamą atliekų konteinerį.
- Tyrimo kasetę (-es) įdėkite į PFA sistemą ir stumkite, kol tyrimo kasetė (-ės) gerai užsifiksuos savo vietoje. (Žr. atitinkamo naudojimo vadovo skyriuje „Įvadas“ esantį paveikslą).

Stabilumas ir laikymas

Tyrimo kasetės hermetiškuose maišeliuose yra stabilios esant 2–25 °C temperatūrai iki etiketėje nurodytos galiojimo pabaigos datos. Tyrimo kasetės yra stabilios 3 mėn. nuo maišelio atidarymo, jei laikomos 2–25 °C temperatūroje. Tyrimo kasetės, laikomos 15–25 °C temperatūroje nesandariame maišelyje arba išėmus iš maišelio, yra stabilios 4 valandas.

Būtinios, bet netiekiamos medžiagos

- PFA sistema
- Dade® PFA skatinamasis tirpalas, [REF] B4170-50
- Vakuuminiai kraujo ėmimo mėgintuvėliai arba švirkštai, kuriuose yra 3,8 % (0,129 M) arba 3,2 % (0,105 M) buferinio natrio citrato (1 dalis antikoagulianto su 9 dalimis kraujo).
- Pipetės, į kurias telpa iki 800 µl.

Mėginys

Mėginio paėmimas ir paruošimas

Visi trombocitų funkcijos tyrimai labai priklauso nuo tinkamo kraujo paėmimo metodo. Pradurti veną reikia 21G ar didesne adata (20G arba 19G). Kraują reikia traukti tiesiai į vakuuminį plastikinį ar silikonu dengto stiklo mėgintuvėlį ar švirkštą, kuriame yra 3,8 % (0,129 M) arba 3,2 % (0,105 M) **buferinio** natrio citrato tirpalo (1 dalis antikoagulianto su 9 dalimis kraujo). Nerekomenduojama naudoti nebuferinio natrio citrato antikoagulianto.

Svarbu! Paėmę mėginį, būtinai tinkamai išmaišykite antikoagulantą atsargiai vartydami mėgintuvėlį ranka nuo 3 iki 4 kartų. Jei įvyko venų kolapsas arba imant mėginį kraujo srautas sustojo, mėginį atmeskite. Nenaudokite hemolizinio kraujo mėginių. Mėginius reikia ramiai laikyti 15–25 °C temperatūroje, jie būna stabilūs 4 valandas. Kai naudojate Col/EPI tyrimo kasetę, rekomenduojama neatlikti tyrimo nepaėjus 10 min. po kraujo paėmimo. **Būtina išlaikyti paėmimo metodo (ir citrato koncentracijos, ir venos pradūrimo metodo) nuoseklumą.**

Procedūra

Daugiau informacijos žr. atitinkamame PFA sistemos naudojimo vadove.

Nebuvo pastebėta svarbių viengubų ir dvigubų tyrimų skirtumų, susijusių su normos ribomis, diagnostiniu jautrumu ir specifiškumu ir diagnostiniu rezultatų tikslumu. Todėl naudojantis PFA sistemomis galima atlikti ir viengubus, ir dvigubus tyrimus. Informacijos apie viengubus tyrimus žr. šios naudojimo instrukcijos skyriuje „Klinikinis veikimas“.

Atliekant dvigubus tyrimus, reikia nurodyti tyrimo rezultatų vidurkį (įskaitant neatitinkančius rezultatus, viršijančius ir nesiekiančius laboratorijoje nustatytos normos ribos), nebent:

1. vienoje padėtyje buvo neuždaryta, o kitoje padėtyje gautas išmatuojamas CT, atitinkantis normos ribas, arba
2. vienos tyrimo padėties CT buvo didesnis nei dviguba (2x) kitos padėties vertė ar jai lygus. Mėginius, kurių kartotinių tyrimų reikšmės atitinka vieną iš šių kriterijų, reikia kartoti su tuo pačiu mėginiu, jei jis nėra senesnis kaip keturios valandos nuo venos pradūrimo. Jei mėginys senesnis, tyrimą reikia kartoti su naujai paimtu mėginiu. Laboratorijos gali nustatyti kitus individualius pakartotinio tyrimo kriterijus. Jei atlikus pakartotinį tyrimą neatitikimas lieka, kreipkitės pagalbos į Siemens Healthcare Diagnostics.

Mėginio įdėjimas

Toliau nurodytus veiksmus reikia atlikti nurodyta tvarka ir be pertraukų:

- a. Išmaišykite kraujo mėginį atsargiai 3–4 kartus pavartydami paėmimo mėgintuvėlį ranka. Laikydami kasetę su tyrimo kasete (-ėmis) ant lygaus paviršiaus, pipete perkelti 800 µl kraujo į mažesnę tyrimo kasetės angą (mėginio rezervuaro angą) lėtai pildami palei vieną iš vidinių paviršių. Taip sumažinsite tikimybę, kad mėginio rezervuare susidarys oro tarpas.
Pastaba: PFA sistemos tyrimo kasetėje negali aptikti burbulų.
- b. Kasetę su tyrimo kasete (-ėmis) įdėkite į inkubavimo duobutę (-es) prietaise, kad kasetė būtų lygi su sukamojo įrenginio paviršiumi. **Nespauskite mėginio rezervuaro angos.**
- c. Pradėkite tyrimą.

Panaudotų tyrimo kasečių išmetimas

Atsargiai išimkite kasetę iš sukamojo įrenginio. Laikydami kasetę vienoje rankoje, išimkite tyrimo kasetę (-es) atsargiai traukdami kasetės (-ečių) apačią į šonus, kol atsifiksuos. Išmeskite tyrimo kasetę (-es) į tinkamą biologiškai pavojingų atliekų konteinerį.

Kokybės kontrolė

Sistema

Kiekvienos pamainos pradžioje „Techninės priežiūros meniu“ atlikite „savikontrolę“. Daugiau informacijos žr. atitinkamame PFA naudojimo vadove.

Kasetės

Užtikrinant kokybės kontrolę rekomenduojama dukart patikrinti kontrolinį donorą su kiekviena nauja gautų kasečių partija arba įstaigai norint patikrinti sistemos veikimą. Kasetės laikomos visiškai funkcionaliomis, jei vidutinis CT patenka į konkrečioje laboratorijoje nustatytas normos ribas. Jei vidutinis CT nepatenka į normos ribas, kartokite šią procedūrą su kitu asmeniu iš laboratorijos nustatytos kontrolinių donorų grupės. Jei abiejų mėginių vidutiniai CT nepatenka į normos ribas, kreipkitės į Siemens. Jei antrojo asmens vidutinis CT patenka į normos ribas, reikia patikrinti pirmojo asmens trombocitų funkcijos būseną ir vaistų vartojimo istoriją.

KK bandymams rekomenduojama nustatyti kontrolinių donorų grupę. Tinkamų KK donorų CT turi rodyti priimtina pakartojamumą ir laboratorijos normos ribų viduriui artimas reikšmės.

Toliau aprašyta procedūra yra kontrolinių donorų grupės sukūrimo pavyzdys:

1. Nė vienas donoras negali sirgti ligomis ar vartoti vaistus, kurie turi žinomos įtakos trombocitų funkcijai.
2. Išrinkite kiekvieną potencialų donorą atlikdami du kartotinius tyrimus tik su Col/EPI tyrimo kasetėmis.
3. Patvirtinkite donorą, jei dvigubo tyrimo vidurkis yra nuo 102 iki 146 sek., o kartotinis CV (variacijos koeficientas) yra mažesnis arba lygus 15 %. (Pastaba: ši riba buvo nustatyta remiantis vidutiniu CT, lygiu ± 22 sek., kai kraujo mėginiai paimti 3,8 % buferiniame natrio citrato tirpale iš 127 tariamai sveikų suaugusių asmenų Vokietijoje atliktame daugiacentriame tyrime, žr. „Tikėtinos reikšmės“).

Pastaba: priimtina ribą gali reikėti keisti atsižvelgiant į atskirų laboratorijų normaliems suaugusiems asmenims nustatytą vidutinį CT.

Rekomenduojama, kad laboratorija vykdytų kokybės kontrolės procedūrą tokiu būdu, kuris atitinka jos nustatytą kokybės kontrolės programą, ir pagal vietines, valstybines ir (arba) federalines taisykles ar akreditacijos reikalavimus.

Rezultatai

PFA tyrimo rezultatai nurodomi kaip CT, išreikštas sekundėmis (s). PFA tyrimas leidžia nurodyti trombocitų funkciją. Laboratorijos nustatytas normos ribas viršijantis CT gali rodyti tolesnių diagnostinių tyrimų poreikį. Rezultatus visada reikia vertinti atsižvelgiant į klinikinę istoriją, kliniką ir kitus laboratorinius duomenis (pvz., kraujavimo laiką, bendrą kraujo ląstelių tyrimą (CBC) ir trombocitų agregometriją).

Jei PFA rezultatai nesutampa su klinikiniu vertinimu, reikia atlikti papildomus tyrimus. Toliau nurodytas modelis tikėtinas atliekant PFA tyrimą su normaliais subjektais, lyginant su trombocitų disfunkciją turinčiais subjektais:

	Normalūs (n = 176)	ASA^a (n = 120)	VWD (n = 28)	Glanzmano trombastenija (n = 4)
Col/EPI	normalus	patologinis	patologinis	patologinis
Col/ADP	normalus	normalus	patologinis	patologinis

^a Žr. lentelę, esančią skyriuje „ASA sukelta trombocitų disfunkcija“.

Procedūros apribojimai

1. Mėginyje esantys mikrotrombai arba į mėginį iš aplinkos patekusios dalelės gali turėti neigiamos įtakos tyrimo rezultatams ir (arba) priversti atšaukti tyrimą aptikus srauto kliūtį.
2. Kraujo mėginiai, kuriems būdingas greitas nusėdimas, B padėtyje gali šiek tiek nusėsti, laukiant tyrimo po A padėties. Įvykus nusėdimui, gali pakisti mėginio hemodinaminės ypatybės, o tai gali pakeisti rezultatus. Todėl rekomenduojama, kad mėginiai, kuriems būdingas greitas nusėdimas, būtų tiriami kaip atskiri tyrimai. Siekiant gauti kartotinius matavimus, vieną tyrimą reikia atlikti dviem atskirais ciklais.
3. Žinoma, kad įvairūs vaistai turi įtakos trombocitų funkcijai. Todėl reikia susipažinti su paciento vaistų vartojimo istorija.
4. Laboratorijos nustatytą normos ribą viršijantis CT gali reikšti susilpnėjusią trombocitų funkciją, sukelta nenormaliai žemo hematokrito lygio (< 35 %) ir / arba nenormaliai mažo trombocitų skaičiaus (< 150 000/μl). Mėginiai, kurių hematokrito lygis > 50 % arba trombocitų skaičius > 500 000/μl, nebuvo vertinami¹⁰.
5. Žinoma, kad tam tikros riebalų rūgštys ir lipidai, aptinkami įvairiose žmonių dietose, slopina trombocitų funkciją, tad gydytojai turi rekomenduoti pacientams prieš tyrimą vengti riebaus maisto.
6. PFA sistemų eksploatavimo ypatybės nebuvo nustatomos naujagimiams ir vaikams iki 1 metų amžiaus.
7. Col/EPI ir Col/ADP bandymų kasečių eksploatavimo ypatybės nebuvo nustatomos su kitomis trombocitus slopinančiomis medžiagomis, išskyrus ASA.
8. Tiriant patologinius mėginius su ribine trombocitų disfunkcija, sukelta ASA vaistų, gali būti gauti labai skirtingi rezultatai.
9. Šio tyrimo rezultatus visada reikia interpretuoti, įvertinus paciento ligos istoriją, kliniką ir kitus tyrimus.

Interferuojančios medžiagos

1. Hemolizė gali turėti įtakos tyrimo rezultatams. Eritrocitų lizė, kurią rodo laisvojo hemoglobino buvimas, gali turėti įtakos PFA CT dėl dviejų priežasčių:
 - 1) hematokrito sumažėjimo ir
 - 2) ADP išskyrimo.

Todėl PFA tyrimuose nerekomenduojama naudoti hemolizuoto kraujo.

- Žinoma, kad tam tikros riebalų rūgštys ir lipidai, aptinkami įvairiame žmonių maiste, slopina trombocitų funkciją^{11,12}, kurią turi aptikti PFA sistema. Neutralūs lipidai, pvz., cholesterolis, paprastai neturi įtakos trombocitų funkcijai¹³.
- Dažnai vartojami vaistai arba tam tikros maiste esančios medžiagos gali turėti įtakos Col/EPI ir (arba) Col/ADP kasečių uždarymo laikui.

Toliau pateiktoje lentelėje apibendrinamos medžiagos, kurios veikia Col/EPI ir (arba) Col/ADP kasečių uždarymo laiką esant pateiktai ar didesnei koncentracijai (pagal vidinį tyrimą). Prisotinto ir neapdoroto mėginių rezultatai (tas pats donoras ir padėtis sistemoje) buvo įvertinti atliekant porinį t testą. Mažesnė nei 0,05 p vertė buvo nustatyta kaip reikšmingas trukdis.

Vaisto kategorija	Veiklioji medžiaga	Koncentracija	Koncentracija (SI vienetai)	Įtaka uždarymo laikui	
				COL/EPI	COL/ADP
Antibiotikas	Penicilinas G	10 000 IU/ml	10 ⁷ IU/l	pailgėjimas	nėra įtakos
Analgetikas	Ibuprofenas	5 µg/ml	24,2 µmol/l	pailgėjimas	nėra įtakos
Trombolitinė medžiaga	Streptokinazė	100 IU/ml	100 000 IU/l	pailgėjimas	pailgėjimas
Prieštrombocitinis vaistas	Cilostazolis	5 µg/ml	13,5 µmol/l	pailgėjimas	nėra įtakos
	Tirofibanas	0,1 µg/ml	0,2 µmol/l	pailgėjimas	pailgėjimas

Literatūroje yra aprašyta daugiau įtakos Col/EPI ir / arba Col/ADP kasečių uždarymo laikui turinčių vaistų; jie išvardyti šioje lentelėje:

Vaisto kategorija	Veiklioji medžiaga	Įtaka uždarymo laikui		Nuoroda
		COL/EPI	COL/ADP	
Anestetikas	Propofolis ^b	pailgėjimas	jokios	14
	Ropivakaino hidrochloridas ^c	pailgėjimas	pailgėjimas	15
Hemostatikas	Desmopresinas (DDAVP) ^d	sutrumpėjimas	sutrumpėjimas	16
Analgetikas	Diklofenakas ^d	pailgėjimas	n. ^e	17
	Ketorolakas ^d	pailgėjimas	n. ^e	17
	Indometacinas ^d	pailgėjimas	n. ^e	18
	Meloksikamas ^d	pailgėjimas	n. ^e	18
	Nabumetonas ^d	pailgėjimas	n. ^e	18
Plazmos tūrį didinantieji vaistai	Hidroksietilkrakmolas	pailgėjimas	pailgėjimas	19
Prieštrombocitinis vaistas	Abciksimumas ^d	pailgėjimas	pailgėjimas	20
	Eptifibatidas ^d	pailgėjimas	pailgėjimas	20

Vaisto kategorija	Veiklioji medžiaga	Įtaka uždarymo laikui		Nuoroda
		COL/EPI	COL/ADP	
Vazodilektorius	Prostaciklinas ^d	pailgėjimas	pailgėjimas	21
	Iloprostas ^d	pailgėjimas	pailgėjimas	22

^b Koncentracija plazmoje: 20 µg/ml

^c Koncentracija plazmoje: 1,88 mg/ml

^d Ex vivo matavimas paskyrus terapines dozes

^e nenustatytas

Netrukdančios medžiagos

Vidinio tyrimo duomenimis, šios medžiagos ir vaistai, esantys plazmoje nurodytomis koncentracijomis, COL/EPI ir COL/ADP kasečių uždarymo laiko neveikia. Vertinant atitinkamos medžiagos prisotintus ir neapdorotus mėginius (tas pats donoras ir padėtis sistemoje) atlikus porinį t testą p vertė buvo > 0,05.

Vaisto kategorija	Veiklioji medžiaga	Koncentracija	Koncentracija (SI vienetai)
AKF inhibitorius	Kaptoprilis	25 µg/ml	115,1 µmol/l
Alkoholis	Etanolis	5 µl/ml	85,7 mmol/l
Analgetikas	Acetaminofenas	25 µg/ml	165,4 µmol/l
Antiaritminis vaistas	Lidokainas	25 µg/ml	106,7 µmol/l
Antikoaguliantas	Mažos molekulinės masės heparinas	1,5 IU/ml	1500 IU/l
Antidepresantas	Fluoksetinas	25 µg/ml	80,8 µmol/l
Antioksidantas	Katechinas	25 µg/ml	86,2 µmol/l
	α-tokoferolis	25 µg/ml	58,0 µmol/l
Beta blokatorius	Propranololis	25 µg/ml	96,4 µmol/l
Bronchodilektorius	Teofilinas	25 µg/ml	138,8 µmol/l
Diuretikas	Hidrochlorotiazidas	25 µg/ml	84,0 µmol/l
Priešuždegiminis vaistas	5-aminosalicilo rūgštis	50 µmol/l	50,0 µmol/l
Gliukokortikoidas	Betametazonas	25 µg/ml	63,7 µmol/l
Kalcio kanalų blokatorius	Diltiazemas	25 µg/ml	60,3 µmol/l
Vainikinių kraujagyslių vazodilektorius	Nitroglicerinas	0,1 µg/ml	0,4 µmol/l
Fosfodiesterazės inhibitorius	Kofeinas	20 µg/ml	103,0 µmol/l
	Dipiridamolis	10 µg/ml	19,8 µmol/l
Fosfodiesterazės V inhibitorius	Sildenafilis	5 µg/ml	10,5 µmol/l
Statinas	Pravastatinas	25 µg/ml	58,9 µmol/l
Skydliaukės hormonas	L-tiroksinas	0,4 µg/ml	0,5 µmol/l

Tikėtinos reikšmės

Nustatant kasečių tipų Col/EPI ir Col/ADP normos ribas buvo tiriami mėginiai, paimti 3,8 % (atitinkamai 3,2 %) buferiniame natrio citrate iš 127 atitinkamai 309²³ tariamai sveikų asmenų be ankstesnės istorijos arba laboratorinių rezultatų, rodančių trombocitų disfunkciją, sukeltą trombocitų defektų, VWD arba trombocitus slopinančių medžiagų poveikio.

Antikoaguliantas	Donorų skaičius (n)	Kasetės tipas	Vidurkis [s] ^f	Normos ribos [s] ^f (5-oji – 95-asis procentilis)
3,8 % (0,129 M) natrio citrato	127	Col/EPI	124	84 – 160
		Col/ADP	89	68 – 121
3,2 % (0,105 M) natrio citrato	309	Col/EPI	110	82 – 150
		Col/ADP	78	62 – 100

^f remiantis kartotiniu nustatymu

Kadangi dėl donorų populiacijos skirtumų rezultatai gali būti gauti kitokie, nei nurodyta, kiekvienai laboratorijai rekomenduojama patvirtinti ankščiau pateiktų normos ribų perkėlimą (žr. CLSI gaires C28-A3²⁴). Jei negalima patvirtinti normos ribų perkėlimo, laboratorija turėtų nustatyti savo normos ribas.

Specifinės eksploatavimo ypatybės

Tikslumas

Siekiant apibūdinti PFA sistemų kintamumą, buvo atliktas tyrimas. Šiame tyrime tirti mėginiai buvo surinkti vakuuminiuose mėgintuvėliuose su 3,8 % (0,129 M) buferinio natrio citrato tirpalu.

Tyrimas buvo atliktas su trimis kiekvieno tipo kasečių partijomis. Kraujo mėginiai buvo imami iš keturių asmenų, kurių trombocitų funkcija normali, tris skirtingas dienas per aštuonių dienų laikotarpį. Šeši kiekvieno subjekto kartotiniai mėginiai buvo kasdien tiriami su trimis abiejų tipų kasečių partijomis.

Pakartojamumas išreiškia rezultatų kintamumą, kai jie gaunami iš vieno sveiko subjekto, iš vieno ėmimo, išbandžius su viena sistema ir su viena Col/EPI arba Col/ADP kasečių partija.

Be pakartojamumo, bendras tikslumo CV apima kintamumą tarp partijų. Tačiau bendras tikslumo CV neapima kintamumo, susijusio su įvairiais subjektais ir mėginiais, nes tokio kintamumo priskirti analizei negalima.

Gauti šie rezultatai:

Col/ADP	Pakartojamumo CV (%)	Bendras tikslumo CV (%)
PFA-100	8,95	9,02
PFA-200	9,54	9,54

Col/EPI	Pakartojamumo CV (%)	Bendras tikslumo CV (%)
PFA-100	10,51	10,52
PFA-200	9,35	9,48

Be to, duomenys, gauti atliekant daugiacentrį tyrimą, buvo analizuojami tiriant kintamumą dėl tyrimo padėties. Šie duomenys atspindi 176 A ir B padėtyse tirtų subjektų, kurių trombocitų funkcija normali, rezultatus. Kartotinio mėginio Col/EPI kasečių CV buvo apskaičiuotas esant 13,5 %, o Col/ADP kasečių – 10,0 %. Pagal tyrimo vietas Col/EPI kasečių rezultatai svyravo nuo 10,4 % iki 17,4 %, o Col/ADP kasečių – nuo 7,7 % iki 11,2 %. Mėginiuose, kurių CT buvo artimas viršutinei normos ribai, kartotinio mėginio Col/EPI kasečių CV buvo 13,7 %, o Col/ADP kasečių – 10,0 %.

Klinikinis veikimas

Iš viso PFA sistemoje daugiacentriu tyrimu po du kartus buvo ištirti 328 mėginiai. Ši populiacija apėmė 176 subjektų, kurių trombocitų funkcija normali, ir 152 subjektų, turinčių trombocitų disfunkciją, mėginius. Iš viso 115 subjektų, kurie buvo tiriami ir registruoti normalios trombocitų funkcijos grupėje, buvo tiriami po ASA vartojimo ir taip pat įtraukti į trombocitų disfunkcijos grupę. 176 normalių subjektų grupę sudarė 61 % moteris ir 39 % vyrai, kurių amžius svyravo nuo 18 iki 57 metų. 152 subjektų, turinčių trombocitų disfunkciją, grupę sudarė 66 % moteris ir 34 % vyrai, kurių amžius svyravo nuo 16 iki 66 metų.

Kiekvieno mėginio trombocitų funkcijos būseną (PFS) buvo nustatyta remiantis rezultatais iš trombocitų funkcijos tyrimų sąrašo (PT, DATL, trombocitų agregometrija, kraujavimo laikas, CBC [įskaitant trombocitų skaičių], fibrinogenas, VIII:C faktorius, Vilebrando faktoriaus aktyvumas, Vilebrando faktoriaus antigenas ir multimerų nustatymas) ir klinicine istorija. Papildomi mėginiai, kurių trombocitų funkcijos tyrimų sąrašo duomenų rezultatus skirtingi asmenys galėjo skirtingai interpretuoti kaip normalius arba patologinius, PFS buvo pripažinti negalutiniais. Mėginiai su negalutine PFS (n = 26) buvo pašalinti iš tyrimo.

Pastaba: vienintelės trombocitų sutrikimų kategorijos, tirtos PFA sistema, apėmė ASA sukeltus sutrikimus ir sutrikimus pacientų, turinčių istoriją arba Glanzmano trombastenijos ar VWD trombocitų sukeltą disfunkciją rodančius laboratorinius rezultatus. Geriamuosius kontraceptikus vartojančios pacientės, koaguliacijos faktoriaus nukrypimų turintys pacientai ir trombocitopenija sergantys pacientai nebuvo tiriami.

Patologinių rezultatų grupė apėmė subjektų, sergančių (a) VWD (n = 28), (b) ASA sukelta disfunkcija (n = 120) ir (c) Glanzmano trombastenija (n = 4), mėginius. PFA sistemos klinikinis kategorizavimas buvo grindžiamas nurodyta 170 sek. ribine reikšme. Ši ribinė reikšmė buvo nustatyta remiantis ankstesnio tyrimo duomenimis ir atsižvelgiant į normalių ir patologinių populiacijų CT persidengimą. PFA sistemos kategorizacijos sutapimo lentelė pagal trombocitų funkcijos būseną 328 mėginiams parodyta toliau:

PFA sistemos palyginimas su trombocitų funkcijos būseną (PFS)

	PFS normalūs [n]	PFS Patologiniai [n]
Col/EPI PFA normali	156	6
Col/EPI PFA patologinė	20	146

Bendras diagnostinis jautrumas ir specifiškumas buvo apskaičiuoti pagal pirmesnę lentelę ir gauta atitinkamai 96,1 % ir 88,6 %. Be to, rezultatai buvo apskaičiuoti kiekvienai atskirai įstaigai, jų diagnostinis jautrumas svyravo nuo 86,7 % iki 100,0 %, o diagnostinis specifiškumas – nuo 79,3 % iki 100,0 %.

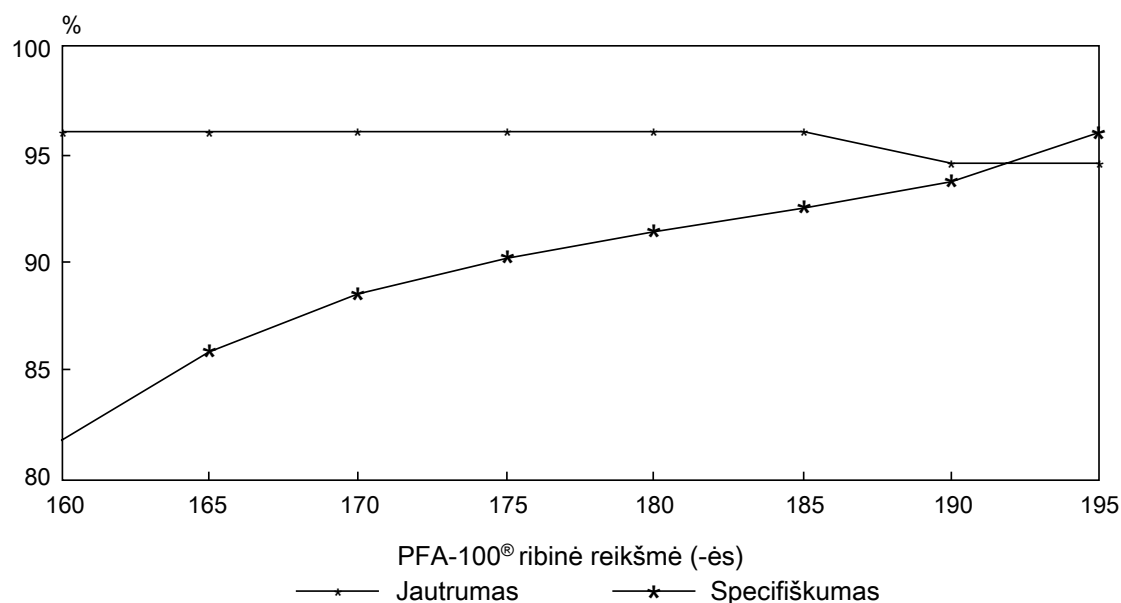
Be skaičiavimo remiantis dvigubų nustatymų vidurkiu, PFA sistemos diagnostinis jautrumas, specifiškumas ir tikslumas dar buvo apskaičiuoti remiantis pavieniais nustatymais. Tolesnėje lentelėje pateikti šių skaičiavimų rezultatai. Šie rezultatai rodo, kad PFA sistemos klinikinis veikimas nesuprastėja atliekant viengubus tyrimus.

	Diagnostinis jautrumas [%]	Diagnostinis specifiškumas [%]	Diagnostinis tikslumas
Viengubi nustatymai, A padėtis	96,1	86,4	0,969
B padėtis	96,7	86,9	0,980

	Diagnostinis jautrumas [%]	Diagnostinis specifiškumas [%]	Diagnostinis tikslumas
Dvigubi nustatymai	96,1	88,6	0,979
Patikimumo ribos	91,6 – 98,5	83,0 – 92,9	0,961 – 0,997

Anksčiau pateikti duomenys atspindi PFA sistemos klinikinį veikimą su Col/EPI tyrimo kasetėmis, naudojant 170 sek. ribinę reikšmę. Tolesnėje iliustracijoje parodytas stebėtas diagnostinis jautrumas ir specifiškumas taikant skirtingas ribines reikšmes tai pačiai tyrimo populiacijai. Rekomenduojama, kad kiekviena laboratorija nustatytų nuosavą ribinę vertę remdamasi vietos populiacija ir vidine procedūra.

PFA sistemos jautrumas ir specifiškumas esant skirtingoms klinikinėms ribinėms reikšmėms



PFA sistemos ir agregometrijos sutapimas parodytas tolesnėje lentelėje. Į šią lentelę neįtraukti 5 atvejai, kai agregometrija pateikė negalutinius trombocitų funkcijos rezultatus. Bendra PFA sistemos ir agregometrijos sutapimo proporcija, išreikšta kaip procentinis dydis, buvo apskaičiuota esant 90,1 % pagal šią lentelę:

	Agregometrija	
	Normalūs [n]	Patologiniai [n]
Col/EPI PFA normalus	145	12
Col/EPI PFA patologinis	20	146

ASA sukelta trombocitų disfunkcija

Mėginiai, paimti iš normalių trombocitų funkciją turinčių pacientų į 3,8 % (0,129 M) buferinį natrio citrato tirpalą po ASA vartojimo, buvo tiriami naudojant Col/EPI tyrimo kasetes kartu su Col/ADP tyrimo kasetėmis PFA analizatoriuje siekiant įvertinti trombocitų disfunkciją dėl ASA vartojimo. Iš viso po du kartus buvo tirta 120 mėginių praėjus nuo 2 iki 30 val. nuo ASA vartojimo (325 mg). Gauti tokie rezultatai:

	Col/ADP normalus PFA CT ≤ 114 s [n]	Col/ADP patologinis PFA CT > 114 s [n]
Col/EPI normalus CT ≤ 170 s	5	1
Col/EPI patologinis CT > 170 s	87	27

PFA sistema aptiko trombocitų disfunkciją 95 % iš 120 ASA vartojimo atvejų, kaip rodo patologiniai rezultatai, gauti Col/EPI tyrimo kasete. Patologinio Col/EPI ir normalaus Col/ADP modelis buvo stebėtas 72,5 % iš šių 120 atvejų.

Subjektų populiacijos, ASA dozės, tyrimo laiko po ASA vartojimo ir imant kraujo mėginį naudojamo koagulianto skirtumai gali lemti kitokius rezultatus, nei nurodyta.

Bibliografija

1. Bick R. Platelet function defects: a clinical review. *Semin Thromb Hemost* 1992;18:167-85.
2. Cariappa R, Hilhite TR, Parvin CA, Luchtman-Jones L. Comparison of PFA-100 and bleeding time testing in pediatric patients with suspected hemorrhagic problems. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003;25:474-9.
3. Lippi G, Manzato F, Franchini M, et al. Establishment of reference values for the PFA-100 platelet function analyzer in pediatrics. *Clin Exp Med* 2001; 1:69-70.
4. Koscielny J, Ziemer S, Radtke H, et al. A practical concept for preoperative identification of patients with impaired primary hemostasis. *Clin Appl Thromb Hemo* 2004;10:195-204.
5. Fressinaud E, Veyradier A, Sigaud M, et al. Therapeutic monitoring of von Willebrand disease: interest and limits of a platelet function analyzer at high shear rates. *Brit J Haematol* 1999;106:777-83.
6. Koscielny J, von Tempelhoff G-F, Ziemer S, et al. A practical concept for preoperative management of patients with impaired primary hemostasis. *Clin Appl Thromb Hemo* 2004;10:155-66.
7. Kratzer MAA, Born GVR Simulation of primary haemostasis in vitro. *Haemostasis* 1985;5:357-62.
8. Kratzer MAA, Bellucci S, Caen JP. Detection of abnormal platelet function with an in vitro model of primary hemostasis. *Haemostasis* 1985;15:363-70.
9. Born GVR. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature* 1962;194:927-9.
10. Kundu SK, Heilmann EJ, Sio R, et al. Characterization of an in vitro platelet function analyzer, PFA-100. *Clin Appl Thromb Hemost* 1996;2:241-9.
11. MacIntyre DE, Hoover RL, Smith M, et al. Inhibition of platelet function by cis-unsaturated fatty acids. *Blood* 1984;63:848-57.
12. Driss F, Vericel E, Lagarde M, et al. Inhibition of platelet aggregation and thromboxane synthesis after intake of small amount of icosapentaenoic acid. *Thromb Res* 1984;36:389-96.
13. Schick PK. Megakaryocyte and platelet lipids. In: Colman RW, Hirsh J, Marden VJ, Salzman EW, eds. *Hemostasis and Thrombosis; Basic Principles and Clinical Practice*, 3rd ed., Philadelphia: JB Lippincott Co., 1994:574-89.
14. Reinhart W, Felix C. Influence of propofol on erythrocyte morphology, blood viscosity and platelet function. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2003;29:33-40.
15. Porter JM, Crowe B, Cahill M, Shorten GD. The effects of ropivacaine hydrochloride on platelet function: an assessment using the platelet function analyser (PFA-100). *Anaesthesia* 2001;56:15-8.

16. Fressinaud E, Veyradier A, Sigaud M, et al. Therapeutic monitoring of von Willebrand disease: interest and limits of a platelet function analyzer at high shear rates. *Brit J Haematol* 1999;106:777-83.
17. Bauer KA, Gerson W, Wright C, et al. Platelet function following administration of a novel formulation of intravenous diclofenac sodium versus active comparators: a randomized, singledose, crossover study in healthy male volunteers. *J Clin Anesth.* 2010;22:510-8.
18. Van Kraaij D, Hovestad-Witterland A, De Metz M, Vollaard E. A comparison of the effects of nabumetone vs meloxicam on serum thromboxane B2 and platelet function in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol.* 2002;53:644-7.
19. Liu FC, Liao CH, Chang YW, et al. Hydroxyethyl Starch interferes with human blood ex vivo coagulation, Platelet Function and Sedimentation. *Acta Anaesthesiol Taiwan* 2009;47:71-8.
20. Madan M, Berkowitz SD, Chrisitie DJ, et al. Determination of platelet aggregation inhibition during percutaneous coronary intervention with the platelet function analyzer PFA-100. *Am Heart J* 2002;144:151-8.
21. Zwerina J, Landsteiner H, Leitgeb U, et al. The influence of VIP and epoprostenol on platelet CD62P expression and primary haemostasis in vitro. *Platelets.* 2004;15:55-60.
22. Kobsar A, Koessler J, Rajkovic M, et al. Prostacyclin receptor stimulation facilitates detection of human platelet P2Y(12) receptor inhibition by the PFA-100(R) system. *Platelets.* 2010;19. 112-6.
23. Böck M, de Haan J, Beck KH, et al. Standardisation of the PFA-100® Platelet Function Test in 105 mmol/l buffered citrate: effect of gender, smoking, and oral contraceptives. *Br J Haematol* 1999;106:898-904.
24. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline - third edition. CLSI document C28-A3 (ISBN 1-56238-682-4). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2008.

Simbolių apibrėžimai

	Nenaudoti pakartotinai		Sunaudoti iki
	Partijos kodas		Katalogo numeris
	Perspėjimas, žr. kartu pateiktus dokumentus		Gamintojas
	Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje		Turinio pakanka atlikti <n> tyrimų
	Biologinis pavojus		In Vitro diagnostikos medicinos įrenginys
	Temperatūros apribojimas		Žr. naudojimo instrukcijas
	Nesterilu		CE ženklas
	Sudėtis		Tirpinimo tūris
	Lygis		

Dade®, PFA-100® ir INNOVANCE® yra Siemens Healthcare Diagnostics prekiniai ženklai.
ASPIRIN yra BAYER prekinis ženklas.

© 2010 Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH.

Visos teisės saugomos.

2012-10



Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
35041 Marburg/Germany
www.siemens.com/diagnostics