

i-STAT®

TECHNISCHES BULLETIN

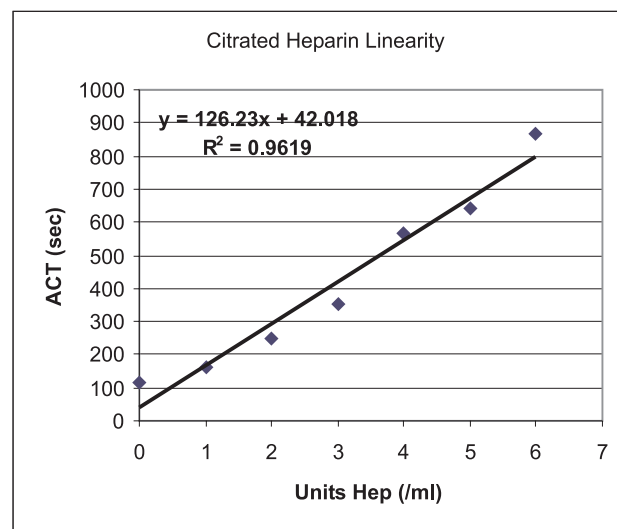
i-STAT Celite® ACT* und i-STAT Kaolin* ACT-Verfahren für Heparinlinearität

EINFÜHRUNG

Die Tests i-STAT Celite ACT und i-STAT Kaolin ACT sind für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt. Diese Tests können am Patientenbett mit venösem oder arteriellem Vollblut durchgeführt werden. Der i-STAT Celite ACT wird üblicherweise für die Heparin-Antikoagulationsüberwachung bei Erwachsenen während einer kardiopulmonalen Bypass-Operation (CPB) und einer perkutanen transluminalen Angioplastie (PTCA) eingesetzt. Der i-STAT Kaolin ACT wird für die Heparin-Antikoagulationsüberwachung während einer kardiopulmonalen Bypass-Operation (CPB) verwendet und kann in Gegenwart von Aprotinin verwendet werden. Die i-STAT ACT-Tests können mit dem i-STAT Portable Clinical Analyzer oder i-STAT 1 Analyzer durchgeführt werden. Der Nachweisbereich des i-STAT ACT Tests liegt bei 50–1000 Sekunden.

Die i-STAT ACT-Tests zeigten eine Linearität zwischen 0,0 und 6,0 Einheiten Heparin in Blutproben von normalen, gesunden Probanden.

Eine Heparin-Sensitivitätskurve wurde *in vitro* durch Zugabe einer zunehmenden Menge Heparin zu Aliquots von normalem Spenderblut generiert (siehe Kurve unten, diese dient nur als Beispiel; jeder Patient zeigt eine einzigartige Dosisreaktionskurve).



* Es sind nicht alle Kartuschen in allen Ländern verfügbar. Erkundigen Sie sich beim zuständigen Kundendienstmitarbeiter nach der Verfügbarkeit auf bestimmten Märkten.



Beim Versuch die Ansprüche des Herstellers zu reproduzieren und nachzuweisen, da sie die Linearität und Sensitivität eines ACT-Tests betreffen, kann das folgende Verfahren verwendet werden. Ein *In-vitro*-Laborassay der Heparin-Sensitivität ist eine allgemein anerkannte Methode zur Beurteilung der ACT-Assayleistung. Ein akzeptabler Grad an Linearität in einer Heparin-Dosisreaktions-Sensitivitätskurve ist ein Hinweis auf die ACT-Leistungsvalidierung. Heparin-Sensitivitätskurven werden entweder mit citriertem oder frischem Spender-Vollblut erzeugt, wobei den Aliquots der Blutprobe inkrementelle Konzentrationen von Heparin zugesetzt werden. Die i-STAT ACT-Tests können mit diesen Proben durchgeführt werden.

Analysieren Sie Proben bei der Durchführung des Verfahrens auf einem i-STAT Analyser im „Patient Mode“ (Patientenmodus), da es zu viele Levels für die Analyse im „Calibration Verification Mode“ (Kalibrierungsverifizierungsmodus) gibt.

LINEARITÄTSVERFAHREN FÜR DIE VERWENDUNG VON CITRIERTEM VOLLBLUT

Materialien

- i-STAT Celite ACT-Kartuschen oder i-STAT Kaolin ACT-Kartusche (14). Hinweis: Es sind nicht alle Kartuschen in allen Ländern verfügbar. Erkundigen Sie sich beim zuständigen Kundendienstmitarbeiter nach der Verfügbarkeit auf bestimmten Märkten.
- Kunststoffteströhrchen, ohne Zusätze (7)
- Großes Entnahmeröhrchen für die Heparinverdünnung, mindestens 10 mL, ohne Zusätze (1)
- Großes Kunststoffentnahmeröhrchen für Blutpooling, mindestens 10 mL, ohne Zusätze (1)
- 1.000 Einheiten/mL USP-Heparin (Rinderlunge oder Schwein)
- Isotonische Kochsalzlösung (9,0 mL)
- 0,025 M Calciumchlorid
- Präzisionspipetten (1.000 µL)
- 3,2 oder 3,8 % Natriumcitrat-evakuierte Blutentnahmeröhrchen (blauer Deckel) für die Entnahme von 9 mL (d. h. 2 x 4,5-mL-Röhrchen).

Verfahren

Hinweis: *Obwohl für klinische Tests ausschließlich frisches Vollblut verwendet wird, kann für die Zwecke der Linearitätsbewertung citriertes Vollblut werden.*

Hinweis: *Bei Verwendung einer citrierten Vollblutquelle können die Gerinnungszeiten etwas höher sein als bei Verwendung von frischem Vollblut.*

1. Stellen Sie 14 i-STAT ACT-Kartuschen und zwei i-STAT Analyzers desselben Modells bereit.
2. Verdünnen Sie unter Verwendung eines standardmäßigen pharmazeutischen Heparinpräparats (entweder vom Rindfleisch oder Schwein stammendes Material von einem beliebigen Hersteller) das Heparin mit Kochsalzlösung auf eine Konzentration von 100 Einheiten/mL Gesamtvolumen. Dies erreichen Sie durch Zugabe von 9,0 mL Kochsalzlösung zu 1,0 mL Standard-USP-Heparin, das in 1.000 Einheiten/mL geliefert wird.
3. Beschriften Sie sieben (7) Kunststoffteströhrchen wie folgt: „A“, „B“, „C“, „D“, „E“, „F“ und „G“. Geben Sie die folgenden Mengen des verdünnten Heparins in die entsprechenden Teströhrchen. Die Endkonzentration von Heparin in den Kunststoffröhrchen nach der Zugabe von Blut und Calcium kann der nachstehenden Tabelle entnommen werden.

Röhrchen	Heparinmenge (µL)	Endkonzentration von Heparin (Einheiten/mL)	Heparineinheiten insgesamt
A	0	0	0
B	10	1,0	1,0
C	20	2,0	2,0
D	30	3,0	3,0
E	40	4,0	4,0
F	50	5,0	5,0
G	60	6,0	6,0

4. Stellen Sie mindestens zwei 4,5-cc-Röhrchen mit blauem Deckel (3,8 % oder 3,2 % Natriumcitrat) bereit. Mischen Sie die Röhrchen vorsichtig 10 Mal Ende-zu-Ende. (Hinweis: Es sind insgesamt 9,0 mL citriertes Vollblut erforderlich, das in dem größeren Entnahmeröhrchen gepoolt wird.)
5. Geben Sie genau 0,70 mL der citrierten Blutprobe in jedes der sieben in Schritt 3 vorbereiteten Teströhrchen („A“, „B“, „C“, „D“, „E“, „F“ und „G“). Das sind die Röhrchen, denen zuvor das Heparin hinzugefügt wurde. Mischen Sie nach Zugabe der Blutprobe die Röhrchen vorsichtig durch Umdrehen.
6. Geben Sie beginnend mit dem Teströhrchen „A“ 0,30 mL Calciumchlorid 0,025 M in das Röhrchen. Mischen Sie den Inhalt gründlich. (Geben Sie erst Calciumchlorid in das Röhrchen, wenn die Kartusche(n) für die Analyse dieses Heparinlevels bereit ist/sind.)
7. Dispensieren Sie das Gemisch umgehend mit einer Kunststoffpipette oder Spritze in die Probenmulde der 2 ACT-Kartuschen. Beginnen Sie den Test.
8. Protokollieren Sie die ACT-Ergebnisse.
9. Wiederholen Sie die Schritte 6 bis 9 für alle Röhrchen „B“, „C“, „D“, „E“, „F“ und „G“.

Hinweis: Vor der Analyse der Röhrchen B–G diese vorsichtig durch Umdrehen mischen.
10. Protokollieren Sie die Gerinnungszeiten und stellen Sie die Ergebnisse mithilfe von „Avg. ACT seconds“ (Durchschn. ACT-Zeit in Sekunden) auf der y-Achse und „Heparin Concentration“ (Heparinkonzentration) (Einheiten/mL) auf der x-Achse grafisch dar.

Ergebnisinterpretation

Die Überprüfung der Dosisreaktionskurve wird eine lineare Sensitivitätsreaktion identifizieren. Die Linearität ist statistisch durch den Korrelationskoeffizienten (r-Wert) des Tests definiert, der $\geq 0,88$ sein sollte.

Hinweise:

Aufgrund der Variabilität der Heparin-Sensitivität können hohe Konzentrationen zu hohen Ergebnissen außerhalb des Bereichs führen. Eine Zwischenmenge an Heparin kann zur Untersuchung der Linearität verwendet werden (z. B. 35 μ L). Die tatsächlichen Werte, die für eine gegebene Heparinkonzentration ermittelt werden, variieren zwischen Spendern. Auch der Heparintyp (Rindfleisch oder Schwein), die Herstellerquelle und die Chargennummer des Heparinpräparats beeinflussen die Ergebnisse. Die maximale Heparinkonzentration, bei der das Blut eines Spenders gerinnt, hängt von den physiologischen Eigenschaften des Spenders ab. Extrem erhöhte Gerinnungszeiten können von der Analyse ausgeschlossen werden.

LINEARITÄTSVERFAHREN FÜR DIE VERWENDUNG VON FRISCHEM VOLLBLUT

Materialien

- i-STAT Celite ACT- oder i-STAT Kaolin ACT-Kartuschen (14). Hinweis: Es sind nicht alle Kartuschen in allen Ländern verfügbar. Erkundigen Sie sich beim zuständigen Kundendienstmitarbeiter nach der Verfügbarkeit auf bestimmten Märkten.
- Kunststoffteströhrchen, ohne Zusätze (7)
- Großes Kunststoffentnahmeröhrchen für die Heparinverdünnung, 20 mL, ohne Zusätze (1)
- 1.000 Einheiten/mL USP-Heparin (Rinderlunge oder Schwein)
- Isotonische Kochsalzlösung (9,0 mL)
- Präzisionspipetten (1.000 μ L)

Verfahren

1. Stellen Sie 14 i-STAT ACT-Kartuschen und mindestens zwei i-STAT Analyzers desselben Modells bereit.
2. Verdünnen Sie unter Verwendung eines standardmäßigen pharmazeutischen Heparinpräparats (entweder vom Rindfleisch oder Schwein stammendes Material von einem beliebigen Hersteller) das Heparin mit Kochsalzlösung auf eine Konzentration von 100 Einheiten/mL Gesamtvolumen. Dies erreichen Sie durch Zugabe von 9,0 mL Kochsalzlösung zu 1,0 mL Standard-USP-Heparin, das in 1.000 Einheiten/mL geliefert wird.
3. Beschriften Sie sieben (7) Kunststoffteströhrchen wie folgt: „A“, „B“, „C“, „D“, „E“, „F“ und „G“.
4. Geben Sie die folgenden Mengen des verdünnten Heparins in die entsprechenden Teströhrchen. Die Endkonzentration von Heparin in den Kunststoffröhrchen nach der Zugabe von 1,0 mL frischen Vollbluts kann der nachstehenden Tabelle entnommen werden.

Röhrchen	Heparinmenge (µL)	Endkonzentration von Heparin (Einheiten/mL)	Heparineinheiten insgesamt
A	0	0	0
B	10	1,0	1,0
C	20	2,0	2,0
D	30	3,0	3,0
E	40	4,0	4,0
F	50	5,0	5,0
G	60	6,0	6,0

5. Entnehmen Sie mit einer Schmetterlingsnadel und einer 10-cc-Spritze 9,0 cc frisches Vollblut von einem normalen gesunden Spender, der derzeit keine Medikamente einnimmt.
6. Geben Sie genau 1,0 mL der frischen Vollblutprobe in jedes der sieben (zuvor vorbereiteten) Kunststoffröhrchen A bis G und mischen Sie den Inhalt vorsichtig durch Umdrehen.
7. Ziehen Sie mit einer Kunststoffpipette oder Spritze umgehend 0,3 mL nichtheparinisertes Blut aus Röhrchen A auf und dispensieren Sie es in die 2 ACT-Kartuschen. Beginnen Sie den Test.
8. Protokollieren Sie die ACT-Ergebnisse.
9. Wiederholen Sie die Schritte 7–9 für die Blutproben „B“, „C“, „D“, „E“, „F“ und „G“.

Hinweis: Vor der Analyse der Röhrchen B–G diese vorsichtig durch Umdrehen mischen.

10. Protokollieren Sie die Gerinnungszeiten und stellen Sie die Ergebnisse mithilfe von „Avg. ACT seconds“ (Durchschn. ACT-Zeit in Sekunden) auf der y-Achse und „Heparin Concentration“ (Heparinkonzentration) (Einheiten/mL) auf der x-Achse grafisch dar.

Ergebnisinterpretation

Die Überprüfung der Dosisreaktionskurve wird eine lineare Sensitivitätsreaktion identifizieren. Die Linearität ist statistisch durch den Korrelationskoeffizienten (r-Wert) des Tests definiert, der $\geq 0,88$ sein sollte.

Hinweis: Aufgrund der Variabilität der Heparin-Sensitivität können hohe Konzentrationen zu hohen Ergebnissen außerhalb des Bereichs führen. Eine Zwischenmenge an Heparin kann zur Untersuchung der Linearität verwendet werden (z. B. 35 µL). Die tatsächlichen Werte variieren zwischen Spendern. Auch der Heparintyp (Rindfleisch oder Schwein), die Herstellerquelle und die Chargennummer des Heparinpräparats beeinflussen die Ergebnisse. Die maximale Heparinkonzentration, bei der das Blut eines Spenders gerinnt, hängt von den physiologischen Eigenschaften des Spenders ab. Extrem erhöhte Gerinnungszeiten können von der Analyse ausgeschlossen werden.

Datenerfassungsbogen zur Heparinlinearität

Name des Bedieners	
---------------------------	--

Probentyp	Citriertes Vollblut <input type="checkbox"/> Frisches Vollblut <input type="checkbox"/>
------------------	---

Datum	Name der Einrichtung	
	Seriennummer des Analysators	
	i-STAT ACT-Chargen-Nr.	

Hep.-Konz. (U/mL)	Gerinnungszeit (Sek.)		
	ACT 1 (Sek.)	ACT 2 (Sek.)	Durchschnitt (Sek.)
0			
1			
2			
3			
4			
5			
6			

i-STAT ist eine Marke der Abbott Group of Companies in verschiedenen Ländern.

Celite ist eine eingetragene Marke der Celite Corporation, Santa Barbara, CA, für entsprechende Kieselgurprodukte.