HEMOCHRON®
Whole Blood Coagulation Systems

Assay van de protaminedosis
Protamine Dose Assay (PDAO)

Bijsluiter
Nederlands

BEDOELD GEBRUIK
De HEMOCHRON® PDAO is ontworpen voor de *in-vitro* bepaling van de te gebruiken protaminedosis. De PDAO is bedoeld om gebruikt te worden ter verificatie van de neutralisatie van heparine aan het eind van een cardiovasculaire operatie. De PDAO-assay, waarbij kaolien als activator wordt gebruikt, kan ook gebruikt worden bij patiënten die aprotinine toegediend krijgen. De HEMOCHRON PDAO moet overeenkomstig de bestaande procedurele richtlijnen van HEMOCHRON gebruikt worden met de HEMOCHRON-modellen 401, 801, 8000 en *Response*.

Voor *in-vitro*-diagnose

SAMENVATTING EN UITLEG
De hoeveelheid protaminesulfaat die ervoor nodig is om heparine te neutraliseren na een cardiovasculaire operatie is gewoonlijk gebaseerd op een verhouding tussen de protamine en de hoeveelheid heparine die tijdens de procedure is geïnfuseerd[1-3] of op titratie van de protamine.[3-5] Het is nuttig de protaminedosis juist vast te stellen gezien de bekende complicaties die bij teveel of te weinig protamine kunnen optreden.[6-8]

Vanwege de pharmacokinetiek van protamine is het uiterst belangrijk om de juiste protaminedosis te berekenen en toe te dienen die ervoor nodig is om de residuale heparine in de bloedstroom te neutraliseren.[9] Een te lage dosis kan resulteren in bloedingen; in dit geval is wellicht een extra protamine-infusie nodig om het effect van de heparine volledig te neutraliseren.[8, 9] Een te hoge protaminedosis (dit komt vaker voor) kan resulteren in bloedingen vanwege de anticoagulerende eigenschappen van protamine wanneer dit niet aan het heparinemolecuul gebonden is.[9] De infusie van teveel protamine kan ook resulteren in ernstige hypotensie, anaphylactische shock, pulmonale vasoconstrictie en hartdecompensatie.[6-9]

11. Hattersley PG. Activated coagulation time of whole blood. JAMA 196:436, 1966
12. LaDuca FM, Zucker ML, Walker CE. Assessing heparin neutralization following cardiac surgery: Sensitivity of thrombin time-based assays versus protamine titration methods. Perfusion 14: 181-7, 1999.
13. Gollub S. Heparin rebound in open heart surgery. Surg Gynecol Obstet 124:337, 1967.

	L1	L2	X̄	r
EN	Level 1	Level 2	Mean	Range
NL	Nivå 1	Nivå 2	Genomsnitt	Område
CS	Niveau 1	Niveau 2	Gemiddelde	Bereik
DA	Hladina 1	Hladina 2	Průměr	Rozmezí
FI	Niveaul 1	Niveau 2	Middelvørdi	Område
EL	Taso 1	Taso 2	Keskiarvo	Vaihteluväli
HU	Επίπεδο 1	Επίπεδο 2	Μέση τιμή	Κλίμακα
PL	1 szint	2 szint	Középérték	Tartomány
SV	poziom 1	poziom 2	średnio	zakres

HEMOCHRON® and RxDx® are registered trademarks of ITC.
Celite® is a registered trademark of Celite Corp.
Trasylol® is a registered trademark of Bayer Corp.

ITC
8 Olsen Avenue • Edison, NJ 08820 USA
tel: 732 548 5700 • fax: 732 248 1928
www itcmed com
a subsidiary of Thoratec Corporation

RX4055 9/05

HEMOCHRON®
Whole Blood Coagulation Systems

Test na určení dávky protaminu
Protamine Dose Assay (PDAO)

Příbalová informace
Česky

HEMOCHRON®
Whole Blood Coagulation Systems

Protamin doseringsanalyse
Protamine Dose Assay (PDAO)

Indlægsseddel
Dansk

HEMOCHRON®
Whole Blood Coagulation Systems

Protamiiniannoksen määritys
Protamine Dose Assay (PDAO)

Pakkauslehtinen
suomi

HEMOCHRON®
Whole Blood Coagulation Systems

Προσδιορισμός δόσης πρωταμίνης
Protamine Dose Assay (PDAO)

Ένθετο συσκευασίας
Ελληνικά

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ
Ο HEMOCHRON® PDAO έχει σχεδιαστεί για in vitro διαγνωστικό προσδιορισμό της δόσης πρωταμίνης. Ο PDAO προορίζεται για χρήση στην επαλήθευση της εξουδετέρωσης της ηπαρίνης κατά την ολοκλήρωση της καρδιοαγγειακής εγχείρησης. Ο ενεργοποιημένος με καολίνη προσδιορισμός PDAO μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για ασθενείς που λαμβάνουν απροτινίνη. Ο HEMOCHRON PDAO θα πρέπει να χρησιμοποιείται σύμφωνα με τις καθιερωμένες κατευθυντήριες γραμμές διαδικασίας του HEMOCHRON με τα μοντέλα 401, 801, 8000 και *Response* της HEMOCHRON.

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση

ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ
Η ποσότητα θειικής πρωταμίνης που απαιτείται για την εξουδετέρωση της ηπαρίνης μετά από καρδιοαγγειακή εγχείρηση βασίζεται συνήθως στο λόγο πρωταμίνης προς το ποσό ηπαρίνης που εγχύεται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας[1-3] ή βασίζεται σε τιτλοποίηση πρωταμίνης.[3-5] Ο ακριβής προσδιορισμός της δόσης πρωταμίνης είναι χρήσιμος ενόψει των γνωστών επιπλοκών που σχετίζονται με το πλεόνασμα ή την έλλειψη πρωταμίνης.[6-8]

Λόγω της φαρμακοκινητικής της πρωταμίνης, είναι σημαντικό να προσδιοριστεί ποσοτικά και να χορηγηθεί η σωστή δόση πρωταμίνης που απαιτείται για την εξουδετέρωση της υπολειπόμενης, κυκλοφορούσας ηπαρίνης. [9] Μια υπερβολικά χαμηλή δόση μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα αιμορραγία σχετιζόμενη με ηπαρίνη και μπορεί να απαιτήσει πρόσθετη έγχυση πρωταμίνης για την πλήρη αναστροφή της δράσης της ηπαρίνης.[8,9] Υπερβολικά υψηλή δόση πρωταμίνης, κάτι που συμβαίνει περισσότερο συχνά, μπορεί να οδηγήσει σε αιμορραγία λόγω των αντιπηκτικών ιδιοτήτων της πρωταμίνης, όταν δεν είναι δεσμευμένη στο μόριο ηπαρίνης.[9] Η έγχυση πλεονάζουσας πρωταμίνης μπορεί επίσης να έχει ως αποτέλεσμα σοβαρή υπόταση, αναφυλακτικό σοκ, πνευμονική αγγειοσύσπαση και ανεπαρκή καρδιακή αντιρρόπηση.[6-9]

Ο σκοπός της τιτλοποίησης της πρωταμίνης είναι ο καθορισμός της ακριβούς δόσης πρωταμίνης που απαιτείται για την πλήρη εξουδετέρωση της κυκλοφορούσας ηπαρίνης σε οποιοδήποτε δεδομένο ασθενή. Η εξουδετέρωση από την πρωταμίνη της ηπαρίνης in vitro έχει ως αποτέλεσμα τη φυσιολογικοποίηση του χρόνου πήξεως με τρόπο που σχετίζεται με τις in vivo επιδράσεις του φαρμάκου.[3,5]

Προσδιορισμός δόσης πρωταμίνης-Ο
Ο PDAO παρέχει μια βολική μέθοδο τιτλοποίησης της πρωταμίνης χρησιμοποιώντας τις αρχές της in vitro ανταπόκρισης εξουδετέρωσης ηπαρίνης σε σχέση με τη δόση και την επαλήθευση της εξουδετέρωσης ηπαρίνης.[12] Η ανάλυση τιτλοποίησης που επιτελείται χρησιμοποιώντας τον PDAO προσδιορίζει ποσοτικά τα χιλιοστόγραμμα πρωταμίνης ανά χιλιοστόλιτρο αίματος ασθενούς που είναι απαραίτητα για την εξουδετέρωση του υπολειπόμενου φορτίου ηπαρίνης του ασθενούς και την επιστροφή του ενεργοποιημένου χρόνου πήξεως (ACT) στην τιμή της γραμμής αναφοράς προ του ηπαρινισμού.

Η δοκιμασία PDAO διατίθεται είτε με Celite® (γη διατόμων) είτε με ενεργοποιητές καολίνης. Η ενεργοποιημένη με Celite δοκιμασία PDAO δεν προορίζεται για χρήση με τον αναστολέα πρωτεάσης απροτινίνη (Trasylol®, Bayer Corporation) που μπορεί να χορηγηθεί για να μειώσει την μετεγχειρητική αιμορραγία, ειδικά κατά τη διάρκεια καρδιοπνευμονικής παρακαμπτήριας επέμβασης και μπορεί να παρατείνει τον ενεργοποιημένο με Celite PDAO. Η καολίνη δεν επηρεάζεται από μέτριες δόσεις απροτινίνης. Ο ενεργοποιημένος με καολίνη PDAO μπορεί να χρησιμοποιηθεί εναλλακτικά για την αξιολόγηση της ανταπόκρισης στη δόση πρωταμίνης σε ασθενείς που λαμβάνουν απροτινίνη. Ο μετεγχειρητικός ασθενής θα πρέπει να παρακολουθείται με τον ACT και τον PDAO για τον προσδιορισμό της ανάγκης έγχυσης πρόσθετης πρωταμίνης για την αντιρρόπηση λανθάνουσας δράσης ηπαρίνης που μπορεί ενδεχομένως να έχει ως αποτέλεσμα την αναπήδηση (rebound) ηπαρίνης.[13]

Η δοκιμασία PDAO πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας τα μοντέλα πήξης πλήρους αίματος HEMOCHRON 401, 801, 8000 ή Response. Ο PDAO περιέχει τα αντιδραστήρια που απαιτούνται για την πραγματοποίηση μιας δοκιμασίας ACT συν μια κατάλληλη ποσότητα θειικής πρωταμίνης για τον προσδιορισμό της παρουσίας υπολειπόμενης ηπαρίνης και τον καθορισμό της κατάλληλης δόσης (εάν απαιτείται) για εξουδετέρωση.

Το 1975, οι Bull και συνεργάτες[5] δημοσίευσαν την μέθοδο καμπύλης ανταπόκρισης σε σχέση με τη δόση, με βάση τη δοκιμασία ACT,[11] για την εξατομίκευση της δοσολογίας ηπαρίνης και πρωταμίνης. Το 1983, οι Dutton και συνεργάτες[4] περιέγραψαν μια μέθοδο τιτλοποίησης πρωταμίνης χρησιμοποιώντας το σύστημα HEMOCHRON 400. Σε αυτή τη μέθοδο, ποικίλες ποσότητες υγρής πρωταμίνης προστίθενται σε δείγματα ηπαρινισμένου αίματος ασθενούς και ο ACT προσδιορίζεται για κάθε δείγμα. Τα αποτελέσματα του ACT έναντι in vitro συγκέντρωσης πρωταμίνης σχηματίζουν μια καμπύλη ανταπόκρισης εξουδετέρωσης ηπαρίνης σε σχέση με τη δόση. Η ακριβής συγκέντρωση πρωταμίνης που απαιτείται για την φυσιολογικοποίηση του ACT στο επίπεδο προ του ηπαρινισμού μπορεί να υπολογιστεί από μια τέτοια καμπύλη.

Ο PDAO χρησιμοποιεί πλήρες αίμα ασθενούς σε συνδυασμό με τον τρέχοντα ACT για την κατασκευή μιας εξατομικευμένης καμπύλης τιτλοποίησης πρωταμίνης. Η δόση πρωταμίνης υπολογίζεται με βάση αυτούς τους χρόνους πήξεως και τον όγκο αίματος του ασθενούς. Αυτός μπορεί να υπολογιστεί αυτόματα με το HEMOCHRON Response (έκδοση λογισμικού 2.0 ή μεγαλύτερη) ή 8000 ή με το χέρι χρησιμοποιώντας το φύλλο εργασίας που παρέχεται.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ
Οι δοκιμαστικοί σωλήνες HEMOCHRON PDAO προορίζονται για χρήση με φρέσκο ολικό αίμα. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες περιέχουν ένα λυοφιλοποιημένο παρασκεύασμα θειικής πρωταμίνης με πρόσθετο ενεργοποιητή, σταθεροποιητές και ρυθμιστικά διαλύματα.

- Ο PDAO περιέχει θειική πρωταμίνη (0,01mg), γη διατόμων, σταθεροποιητές και ρυθμιστικά διαλύματα.
- Ο PDAOK περιέχει θειική πρωταμίνη (0,01mg), καολίνη, σταθεροποιητές και ρυθμιστικά διαλύματα.

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ
Οι δοκιμαστικοί σωλήνες HEMOCHRON PDAO θα πρέπει να φυλάσσονται σε ελεγχόμενη θερμοκρασία δωματίου (15-30°C). Οι σωλήνες PDAO είναι σταθεροί έως την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξεως. Αποφύγετε την παρατεταμένη έκθεση των κιτ PDAO σε θερμοκρασίες που υπερβαίνουν τους 30°C.

ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ
Υλικά που παρέχονται
- Δοκιμαστικός σωλήνας PDAO (με πορτοκαλί πώμα, ενεργοποιημένος με Celite ή καολίνη, όπως ενδείκνυται).
- Φύλλο εργασίας PDAO (για υπολογισμούς με το χέρι, αν χρειάζεται).

Υλικά που απαιτούνται
- HEMOCHRON Response, 8000, 801 ή δύο 401.
- Σύριγγες των 5 mL χωρίς σιλικόνη και μη ηπαρινισμένες για συλλογή αίματος.
- Ευθεία βελόνα #20 gauge ή μεγαλύτερη για μεταφορά του δείγματος αίματος στο δοκιμαστικό σωλήνα.
- Δοκιμαστικός σωλήνας ACT, FTCA510 (μαύρου πώματος) ή FTK-ACT (χρυσού πώματος), όπως ενδείκνυται.

ΠΡΟΣΟΧΗ: *Θα πρέπει να λαμβάνεται κάθε προφύλαξη για τη χρήση της κατάλληλης τεχνικής με σύριγγες για την αποφυγή ακούσιων τρυπημάτων με τη βελόνη.*

Για τη συλλογή αίματος, τηρήστε την κατάλληλη τεχνική (Α ή Β):

A. Μόνιμη φλεβική ή αρτηριακή γραμμή αίματος. (Μην εκτελείτε αιμοληψία από μια ηπαρινισμένη γραμμή πρόσβασης ή από μόνιμο ηπαρινισμένο καθετήρα).
   1. Διακόψτε την ενστάλαξη υγρών, αν απαιτείται.
   2. Χρησιμοποιώντας μια τεχνική δύο συριγγών, λάβετε αίμα με δύο σύριγγες των 5 mL και απορρίψτε την πρώτη σύριγγα.

B. Θύρα εξωσωματικής αιματικής γραμμής
   1. Εκπλύνετε την εξωσωματική αιματική γραμμή πρόσβασης λαμβάνοντας και απορρίπτοντας 5 mL αίματος.
   2. Λάβετε 5 mL πλήρους αίματος σε μια σύριγγα 5 mL.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ
Αν χρησιμοποιείται το HEMOCHRON Response (έκδοση λογισμικού 2.0 ή μεγαλύτερη) ή 8000, το λογισμικό του συστήματος θα προσδιορίσει ποσοτικά τη δόση πρωταμίνης (αν χρειάζεται) με βάση το αποτέλεσμα της δοκιμασίας PDAO και τις πληροφορίες που παρέχονται από τον χρήστη, μαζί με τα αποτελέσματα τρέχοντος ACT. Αν χρησιμοποιείται το HEMOCHRON Response (εκδόσεις λογισμικού κάτω από 2.0), 401 ή 801, χρησιμοποιήστε το φύλλο εργασίας υπολογισμού PDAO που παρέχεται με το κιτ δοκιμασίας για να υπολογίσετε τη δόση πρωταμίνης.

Αν χρησιμοποιείτε τον ενεργοποιημένο με Celite PDAO, θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί ένα FTCA510 (μαύρου πώματος) ACT. Αν χρησιμοποιείτε τον ενεργοποιημένο με καολίνη PDAO, θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί ένα FTK-ACT (χρυσού πώματος).

Συνιστώμενο πρωτόκολλο
1. Πέντε λεπτά μετά από την αρχική έγχυση πρωταμίνης, πραγματοποιήστε ταυτόχρονα έναν τρέχοντα ACT και έναν PDAO. Από τη σύριγγα συλλογής, διανείμετε ακριβώς 2,0 mL αίματος στο δοκιμαστικό σωλήνα PDAO. Ταυτόχρονα, πιέστε το κουμπί **START** της κατάλληλης δοκιμαστικής υποδοχής HEMOCHRON.
2. Ανακινήστε αμέσως έντονα τον δοκιμαστικό σωλήνα από άκρο σε άκρο δέκα φορές.
3. Εισάγετε το δοκιμαστικό σωλήνα PDAO στην κατάλληλη δοκιμαστική υποδοχή. Περιστρέψτε γρήγορα το σωληνάριο με φορά αυτής των δεικτών του ρολογιού Δείτε το εγχειρίδιο λειτουργίας του κατάλληλου οργάνου για πρόσθετες πληροφορίες.
4. Από την ίδια σύριγγα λήψης, διανείμετε ακριβώς 2,0 mL αίματος στο σωλήνα ACT. Ταυτόχρονα, πιέστε το κουμπί **START** της κατάλληλης δοκιμαστικής υποδοχής HEMOCHRON.
5. Ανακινήστε αμέσως έντονα το δοκιμαστικό σωλήνα από άκρο σε άκρο δέκα φορές.
6. Εισάγετε το δοκιμαστικό σωλήνα ACT στην κατάλληλη δοκιμαστική υποδοχή HEMOCHRON. Περιστρέψτε γρήγορα το σωληνάριο με φορά αυτής των δεικτών του ρολογιού. Δείτε το εγχειρίδιο λειτουργίας του κατάλληλου οργάνου για πρόσθετες πληροφορίες.
7. Μόλις χτυπήσει ο βομβητής, καταγράψτε το αποτέλεσμα της δοκιμασίας.
8. Καθορίστε τη δόση έγχυσης πρωταμίνης. Δείτε τους υπολογισμούς δόσης παρακάτω.

Υπολογισμοί δόσης
Αν χρησιμοποιείτε το HEMOCHRON Response (έκδοση λογισμικού 2.0 ή μεγαλύτερη), ανατρέξτε στο εγχειρίδιο λειτουργίας του HEMOCHRON Response RxDx για λεπτομερείς οδηγίες για τη χρήση αυτού του αυτοματοποιημένου συστήματος υπολογισμού. Αν χρησιμοποιείτε το HEMOCHRON 8000, ακολουθήστε τις οδηγίες σε αυτό το εγχειρίδιο χρήσης του οργάνου. Αν χρησιμοποιείτε το HEMOCHRON Response με εκδόσεις λογισμικού κάτω από 2.0, HEMOCHRON 401 ή 801, ακολουθήστε τις οδηγίες στο φύλλο εργασίας υπολογισμού PDAO που παρέχεται με αυτό το κιτ για να υπολογίσετε τη δόση πρωταμίνης.

Επαλήθευση της εξουδετέρωσης της ηπαρίνης
Η υπολειπόμενη ηπαρίνη υποδεικνύεται από ένα αποτέλεσμα ACT πάνω από 10% μεγαλύτερο από το ταυτόχρονο αποτέλεσμα του PDAO. Ένα αποτέλεσμα PDAO, το οποίο είναι μεγαλύτερο από το αντίστοιχο ACT υποδεικνύει επίσης την πλήρη εξουδετέρωση της κυκλοφορούσας ηπαρίνης.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΧΡΗΣΗΣ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ
ΣΗΜΕΙΩΣΗ: *Τηρείτε πάντα τις γενικές προφυλάξεις.*

1. Το δείγμα αίματος θα πρέπει να μεταφέρεται χρησιμοποιώντας μια κατάλληλη βελόνα μεταφοράς για το τρύπημα του πώματος.
2. Χρησιμοποιείτε πάντα μια τεχνική δύο χειρών για την μεταφορά του αίματος. Το ένα χέρι κρατάει με ασφάλεια το σωληνάριο, ενώ το δεύτερο διανέμει το δείγμα αίματος από την σύριγγα.
3. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες PDAO είναι κατασκευασμένοι από γυαλί. Μπορεί να σπάσουν ή να ραγίσουν αν δεν τους χειριστείτε σωστά. Μην τους πετάτε ή τους ρίχνετε.
4. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες PDAO περιέχουν έναν κοκκώδη ενεργοποιητή (Celite ή καολίνη) καθώς και υλικό βιολογικής προέλευσης (θειική πρωταμίνη). Μην χειρίζεστε το υλικό, ψεκάζετε ή καταπίνετε.
5. Όλοι οι δοκιμαστικοί σωλήνες που περιέχουν παράγωγα ανθρώπινου αίματος θα πρέπει να απορρίπτονται σε εγκεκριμένα δοχεία για επικίνδυνα βιολογικά υλικά.
6. Μην αφαιρείτε τα πώματα για να διανείμετε ένα δείγμα αίματος στο σωλήνα.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ
Ο PDAO φάνηκε σε εργαστηριακές και κλινικές μελέτες να ανιχνεύει υπολειπόμενη ηπαρίνη πάνω από 0,25 μονάδες/ml και να προσδιορίζει ποσοτικά πρόσθετες μικροδόσεις πρωταμίνης (χαμηλές έως τα 25 mg) που απαιτούνται για να επιτευχθεί η πλήρης εξουδετέρωση της ηπαρίνης.[12]

Ακρίβεια
Η επαναληψιμότητα καθορίστηκε με τη χρήση υλικού ποιοτικού ελέγχου HEMOCHRON για PDAO.

	Επίπεδο 1				Επίπεδο 2			
PDAO	**Ημέρα 1**	**Ημέρα 2**	**Ημέρα 3**	**Συνδυασμός**	**Ημέρα 1**	**Ημέρα 2**	**Ημέρα 3**	**Συνδυασμός**
n	3	3	3	9	3	3	3	9
Μέσος	126	126	121	124	331	330	345	335
Τυπ. Απόκ.	3,5	3,1	3,2	3,6	0	4,0	13,2	10,0
CV %	2,7	2,4	2,6	2,9	0	1,2	3,8	3,0
PDAOK								
n	5	5	4	14	5	5	4	14
Μέσος	122	134	126	128	391	405	403	399
Τυπ. Απόκ.	9,7	3,9	10,6	9,4	13,3	13,9	15,7	14,6
CV %	7,9	2,9	8,4	7,4	3,4	3,4	3,9	3,7

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ
1. Η δοκιμασία PDAO επηρεάζεται από κακή τεχνική κατά τη διαδικασία της δοκιμασίας. Απαιτείται σωστή ανάμιξη δειγμάτων/αντιδραστηρίων για ακρίβεια και επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων της δοκιμασίας.
2. Η ακρίβεια της πρόβλεψης της δόσης πρωταμίνης εξαρτάται από την ακρίβεια του υπολογισθέντος όγκου αίματος του ασθενούς. Σε μερικές περιπτώσεις, οι αλλαγές του όγκου αίματος κατά τη διάρκεια της εγχείρησης μπορεί να είναι δραματικές λόγω υπερβολικής έγχυσης ενδοφλέβιων υγρών, απώλειας ούρων, απώλειας αίματος και μετάγγισης συστατικών του αίματος. Όπως και με κάθε φαρμακευτική αγωγή που πραγματοποιείται με έγχυση, ο χρήστης πρέπει να είναι ενήμερος για αυτές τις αλλοιώσεις λόγω των δυνητικών τους επιδράσεων στην αποτελεσματικότητα της έγχυσης πρωταμίνης.
3. Η χρήση πρόσθετης ηπαρίνης ή ηπαρινισμένων αιματικών προϊόντων (π.χ. διασωθέντων ερυθροκυττάρων του αίματος από το σύστημα εξωσωματικής κυκλοφορίας) μετά την εκτέλεση του PDAO θα ακυρώσει τα αποτελέσματα της δοκιμασίας και την πρόβλεψη πρωταμίνης. Σε αυτή την περίπτωση, ο προσδιορισμός PDAO θα πρέπει να επαναληφθεί για να αντικατοπτρίζει τις πρόσθετες απαιτήσεις σε πρωταμίνη.
4. Μόνο ενεργοποιημένοι με καολίνη σωλήνες PDAO θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για ασθενείς που λαμβάνουν απροτινίνη. Δεν έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες χρησιμοποιώντας άλλους αντινωδολυτικούς παράγοντες.
5. Η δοκιμασία PDAO δεν προορίζεται για χρήση όταν ο τρέχων ACT υπερβαίνει τα 300 δευτερόλεπτα.
6. Αποτελέσματα δοκιμασιών που δεν είναι σύμφωνα με τις αναμενόμενες τιμές θα πρέπει να επαληθεύονται και ακολούθως να εκτιμώνται με εναλλακτικές διαγνωστικές μεθόδους.

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ (QC)
Η εξέταση και παρακολούθηση του Ποιοτικού Ελέγχου (QC) ρουτίνας θα πρέπει να αποτελεί μέρος ενός περιεκτικού προγράμματος διασφάλισης ποιότητας. Τα προϊόντα Ποιοτικού Ελέγχου του Συστήματος Πήξης Ολικού Αίματος HEMOCHRON είναι διαθέσιμα για να καταστήσουν τον ποιοτικό έλεγχο ρουτίνας άνετο και προσιτό

Καθημερινός QC του οργάνου
Τα όργανα HEMOCHRON θα πρέπει να υφίστανται ποιοτικό έλεγχο δύο επιπέδων ελέγχου μια φορά κάθε 8 ώρες λειτουργίας. Για την υποβοήθηση της επίτευξης καθημερινού QC, είναι διαθέσιμα τα Σωληνάρια Επαλήθευσης Ηλεκτρονικού Συστήματος, για να παρέχουν δοκιμές ποιοτικού ελέγχου πολλαπλών επιπέδων (φυσιολογικών και ανώμαλων) στο όργανο. Ένας σωλήνας επαλήθευσης θερμοκρασίας παρέχεται επίσης για χρήση κάθε 6 μήνες για να επαληθεύσει ότι το όργανο διατηρεί την σωστή θερμοκρασία 37°C ± 1°C. Οποιαδήποτε σφάλματα βρεθούν στο σύστημα ελέγχου θερμοκρασίας θα απεικονιστούν επίσης στην οθόνη LCD από το όργανο.

Ποιοτικός έλεγχος των δοκιμαστικών σωληναρίων HEMOCHRON
Κάθε κουτί δοκιμαστικών σωλήνων HEMOCHRON θα πρέπει να επικυρώνεται τουλάχιστον μια φορά πριν τη χρήση. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί χρησιμοποιώντας τον κατάλληλο Ποιοτικό Έλεγχο Υγρών HEMOCHRON. Οι αποδεκτές διακυμάνσεις απόδοσης για τους δοκιμαστικούς σωλήνες συμπεριλαμβάνονται με κάθε Κιτ Προϊόντων Ποιοτικού Ελέγχου HEMOCHRON. Αφού επαληθευτεί κάθε ατομικό κουτί δοκιμαστικών σωλήνων, θα πρέπει να συμπληρώνεται ο πίνακας "Η απόδοση επαληθεύτηκε" που παρέχεται στο πλευρικό πλαίσιο κάθε κουτιού δοκιμαστικών σωλήνων. Το κουτί είναι τώρα "IN CONTROL" και δεν απαιτείται περαιτέρω έλεγχος ποιότητας υγρών, εκτός αν υπάρξει αλλαγή των κλινικών αποτελεσμάτων.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: *Αν λαμβάνονται πολλαπλά κουτιά στην ίδια αποστολή, συνιστούμε να επαληθεύσετε κάθε κουτί κατά το άνοιγμα, πριν τη χρήση.*

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ
1. Friesen RH, Hydrick DR. Heparin reversal in children following cardiopulmonary bypass. J Extra-Corporeal Tech 18:95, 1986
2. Kersting J, Rush B. A simple individualized method for dose-responsive heparin and protamine administration. J Extra-Corporeal Tech 11:56, 1979
3. Rivard DC, Thompson SJ. Demonstration of heparin reversal with protamine administration using an automated protamine dose assay: A comparison of two methods. AMSECT Proceedings, March 11-14, 1988
4. Dutton DA, Hothersall AP, McLaren AD, Taylor KM, Turner MA. Protamine titration after cardiopulmonary bypass. Anaesthesia 38:264, 1983
5. Bull BS, Huse WM, Brauer FS, Korpman RA. Heparin therapy during extracorporeal circulation. II. The use of a dose-response curve to individualize heparin and protamine dosage. J Thorac Cardiovasc Surg 69:685, 1975
6. Fiser WP, Fewell JE, Hill DE, Barnes RW, Read RC. Cardiovascular effects of protamine sulfate are dependent on the presence and type of circulating heparin. J Thorac Cardiovasc Surg 89:63, 1985
7. Frater RWM, Oka Y, Hong Y, Tsubo T, Loubser PG, Masone R. Protamine induced circulatory changes. J Thorac Cardiovasc Surg 87: 687, 1984
8. Horrow JC. Protamine: A review of its toxicity. Anesth Analg 64:348, 1985
9. Jaques AS. Protamine-antagonist to heparin. Can Med Assoc J 108:1291, 1973
10. Bull BS, Korpman RA, Huse WM, Briggs BD. Heparin therapy during extracorporeal circulation. I. Problems inherent in existing heparin protocols. J Thorac Cardiovasc Surg 69:674, 1975
11. Hattersley PG. Activated coagulation time of whole blood. JAMA 196:436, 1966
12. LaDuca FM, Zucker ML, Walker CE. Assessing heparin neutralization following cardiac surgery: Sensitivity of thrombin time-based assays versus protamine titration methods. Perfusion 14: 181-7, 1999.
13. Gollub S. Heparin rebound in open heart surgery. Surg Gynecol Obstet 124:337, 1967.

HEMOCHRON®
Whole Blood Coagulation Systems

Protaminadagolásvizsgálat
Protamine Dose Assay (PDAO)

Tájékoztató
magyar

RENDELTETÉS
A HEMOCHRON® PDAO in vitro diagnosztikus protaminadagok meghatározására szolgál. A PDAO a kardiovaszkuláris sebészeti beavatkozást követő heparinsemlegesítés igazolására alkalmazható. A kaolinnal aktivált PDAO vizsgálat aprotininnal kezelt betegeknél is használható. A HEMOCHRON PDAO a HEMOCHRON jóváhagyott eljárási irányelvei szerint, HEMOCHRON 401, 801, 8000 és *Response* típusú berendezésekkel alkalmazható.

In vitro diagnosztikus alkalmazásra

ÖSSZEFOGLALÁS ÉS MAGYARÁZAT
A heparin kardiovaszkuláris műtétet követő semlegesítéséhez szükséges protaminszulfát mennyisége általában a protamin és a beavatkozás során infundált heparin arányán[1-3] vagy protamintitráláson alapul.[3-5] A protaminadag pontos meghatározása azért előnyös, mert így elkerülhetőek a túl nagy vagy túl kis mennyiségű protamin beadásából származó ismert szövődmények.[6-8]

A protamin farmakokinetikája miatt fontos, hogy a keringésben visszamaradt heparin semlegesítéséhez pontosan számított mennyiségű protamint adjanak.[9] Ha túlságosan kevés a beadott protamin, akkor a heparinnal összefüggő vérzések léphetnek fel és a heparin hatásának teljes mértékű semlegesítéséhez további protaminadag beadására lehet szükség.[8,9] Ha a beadott protaminmennyiség túl nagy, amely gyakrabban fordul elő, akkor a heparinmolekulához nem kötött protamin alvadásgátló tulajdonságai miatt alakulhatnak ki vérzések.[9] A túl nagy mennyiségű protamin infundálása ezenkívül súlyos hipotóniát, anafilaxiás sokkot, a tüdőerek összehúzódását és kardiális dekompenzációt eredményezhet. [6-9]

A protamintitrálás célja az, hogy a beteg keringésében visszamaradt heparin semlegesítéséhez szükséges protaminmennyiséget pontosan meghatározzuk. A protaminnak a heparint in vitro semlegesítő hatása a véralvadási idő normalizálódásához vezet a gyógyszer in vivo hatásaival korrelált módon.[3,5]

Protaminadagolásvizsgálat-O
A PDAO könnyen alkalmazható protamintitrálási módszer, amely az in vitro dózishatáson alapuló heparinsemlegesítésnek és a semlegesítés igazolásának alapelveit használja fel.[12] A PDAO alkalmazásával elvégzett titrálással pontosan meghatározható, hogy hány milligramm protamint kell adni a beteg véréhez milliliterenként ahhoz, hogy a maradvány heparinterhelést semlegesíthessük és az Aktivált alvadási időt [Activated Clotting Time (ACT)] a heparinizálást megelőző alapértékre visszaállíthassuk.

A PDAO teszt kapható akár Celite® (kovaföld), akár kaolin aktivátorral. A Celite-tal aktivált PDAO teszt nem használandó ha a beteget az aprotinin (Trasylol®, Bayer Corporation) proteázgátlóval kezelik, amelyet a posztoperatív vérzés kockázatának csökkentése érdekében adhatnak, különösen kardiopulmonáris bypass műtéteknél, és amely meghosszabbítja a Celite-tal aktivált PDAO tesztet. A kaolint mérsékelt aprotininadagok nem befolyásolják. Aprotininnal kezelt betegeknél a kaolinnal aktivált PDAO-t lehet használni mint alternatív módszert a protamin dózishatás meghatározásához. Műtét után a betegeket ACT-vel és PDAO-val kell ellenőrizni annak megállapítására, hogy szükséges-e további protamininfundálással ellensúlyizni a látens heparinhatást, amely heparin-"visszaugrást" [heparin "rebound"] okozhat.[13]

A PDAO tesztet HEMOCHRON 401, 801, 8000 vagy Response típusú teljesvér alvadásvizsgáló berendezéssel kell elvégezni. A PDAO tartalmazza az ACT teszt elvégzéséhez szükséges reagenseket és ezenkívül megfelelő mennyiségű protaminszulfátot ahhoz, hogy a maradék heparin jelenlétét kimutathassuk, illetve meghatározhassuk a megfelelő adagot (ha szükséges) annak semlegesítésére.

1975-ben Bull et al[5] publikálták az ACT teszten[11] alapuló dózishatás-görbés módszert, a heparinadagok és a protaminadagok egyedi meghatározására. 1983-ban Dutton et al.[4] leírtak egy protamintitrálási módszert, amely a HEMOCHRON 400 rendszert alkalmazta. E módszer során különböző mennyiségű folyékony protamint adtak a beteg heparinizált vérmintáihoz és mindegyik mintánál meghatározták az ACT-t. Az ACT eredményeket az in vitro protaminkoncentráció függvényében ábrázolva, megkapták a dózishatás-heparinsemlegesítés görbét. Egy ilyen görbe alapján kiszámítható, pontosan milyen protaminkoncentráció szükséges az ACT heparinizálás előtti értékére történő visszaállításához.

A PDAO a beteg teljesvérét egy státusz-ACT-vel együtt használja fel, és ennek alapján megszerkeszthetünk egy személyre szabott protamintitrálási görbét. A protaminadagot ezeknek a véralvadási időknek és a beteg vértérfogatának alapján számítjuk ki. Ez kiszámítható akár automatikusan a HEMOCHRON Response (2.0 vagy annál magasabb verziójú szoftverrel) vagy a 8000 berendezéssel, akár kézileg a mellékelt munkalap segítségével.

REAGENSEK
A HEMOCHRON PDAO próbacsövei frissen levett teljesvérrel használhatók. A próbacsövekben egy liofilizált készítmény van, amely a protaminszulfáton kívül aktivátort, stabilizátorokat és puffereket tartalmaz.

- PDAO protaminszulfátot (0,01 mg), kovaföldet, stabilizátorokat és puffereket tartalmaz.
- PDAOK protaminszulfátot (0,01 mg), kaolint, stabilizátorokat és puffereket tartalmaz.

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS
A HEMOCHRON PDAO-próbacsöveket szabályozott szobahőmérsékleten (15-30°C) kell tárolni. A PDAO-próbacsövek a jelzett lejárati időn belül őrzik meg minőségüket. A PDAO-készleteket nem szabad hosszabb ideig 30°C feletti hőmérsékleten tartani.

MINTAVÉTEL ÉS A MINTÁK KEZELÉSE
Szolgáltatott anyagok
- PDAO-próbacső (narancssárga tetejű; Celite-tal vagy kaolinnak aktivált, szükség szerint).
- PDAO-munkalap (kézi számításhoz, ha szükséges).

Szükséges anyagok
- HEMOCHRON Response, 8000, 801 vagy 2 db 401.
- Nem szilikált, nem heparinizált 5 ml-es fecskendők a vérvételhez.
- 20-as vagy nagyobb méretű egyenes tű a vérminta próbacsőbe töltéséhez.
- ACT-próbacső, FTCA510 (fekete tetejű) vagy FTK-ACT (arany tetejű), szükség szerint.

FIGYELEM! *Minden szükséges óvintézkedést meg kell tenni a fecskendők megfelelő alkalmazására, a tűszúrásbalesetek elkerülése érdekében.*

A vérvételnél a megfelelő technika (A vagy B) szerint járjon el

A. Állandó vénás vagy artériás katéter. (Ne vegyen vért heparinizált katéteren vagy állandó heparinzáron keresztül.)
   1. Ha szükséges, állítsa le a folyadékcsepegést.
   2. Kétfecskendős technikát alkalmazva, töltsön meg két 5 ml-es fecskendőt vérrel és az elsőt semmisítse meg.

B. Testen kívüli katéter bemenet.
   1. Mossa át a testen kívüli katétert 5 ml vér kiszívásával és az így levett vért semmisítse meg.
   2. Vegyen le 5 ml teljes vért egy 5 ml-es fecskendőbe.

TESZTELJÁRÁS
Ha HEMOCHRON Response (2.0 vagy magasabb verziójú szoftverrel) vagy 8000 berendezéset használ, akkor a rendszerhez tartozó program kiszámítja a protaminadagot (ha szükséges) a PDAO teszteredmény és a felhasználó által megadott adatok alapján, a státusz-ACT eredményeivel együtt. Ha HEMOCHRON Response (2.0-nál alacsonyabb verziójú szoftverrel), 401 vagy 801 berendezést használ, akkor a tesztkészlethez mellékelt PDAO-munkalap segítségével számítsa ki a protaminadagot.

Ha Celite-tal aktivált PDAO-val dolgozik, akkor FTCA510 (fekete tetejű) ACT-próbacsövet kell használnia. Ha kaolinnal aktivált PDAO-val dolgozik, akkor FTK-ACT (arany tetejű) ACT-próbacsövet kell használnia.

Javasolt protokoll
1. Öt perccel a kezdő protamininfúzió után végezze el párhuzamosan a státusz-ACT tesztet és a PDAO tesztet. A vérvételi fecskendőből mérjen be pontosan 2 ml vért a PDAO-próbacsőbe. Ezzel egyidőben nyomja meg a megfelelő HEMOCHRON mérőnyílás **START** gombját.
2. Haladéktalanul rázza össze a próbacső tartalmát úgy, hogy tízszer erőteljesen fel-le forgatja a csövet.
3. Helyezze be a PDAO-próbacsövet a megfelelő mérőnyílásba. Gyors mozdulattal forgassa a csövet az óramutató járásával egyező irányban. További információ a megfelelő berendezés kezelési kézikönyvében található.
4. Ugyanabból a vérvételi fecskendőből mérjen be pontosan 2 ml vért az ACT-csőbe. Ezzel egyidőben nyomja meg a megfelelő HEMOCHRON mérőnyílás **START** gombját.
5. Haladéktalanul rázza össze a próbacső tartalmát úgy, hogy tízszer erőteljesen fel-le forgatja a csövet.
6. Helyezze be az ACT-próbacsövet a megfelelő HEMOCHRON mérőnyílásba. Gyors mozdulattal forgassa a csövet az óramutató járásával egyező irányban. További információ a megfelelő berendezés kezelési kézikönyvében található.
7. A jelzőhangnál jegyezze fel a teszt eredményét.
8. Határozza meg a protamininfúzió adagját. Ezt az alábbi "Adagszámítás" szerint kell elvégezni.

Adagszámítás
Ha HEMOCHRON Response (2.0 vagy magasabb verziójú szoftverrel) berendezést használ, akkor a HEMOCHRON Response RxDx Kezelési kézikönyvében találja meg a részletes utasításokat ennek az automatikus adagszámítási rendszernek használatára. Ha HEMOCHRON 8000 berendezést használ, kövesse a berendezés kezelési kézikönyvében leírt utasításokat. Ha HEMOCHRON Response (2.0-nál alacsonyabb verziójú szoftverrel), HEMOCHRON 401 vagy 801 berendezést használ, akkor a protaminadag kiszámításához kövesse az ehhez a készlethez mellékelt PDAO-munkalapon szereplő utasításokat..

A heparinsemlegesítés igazolása
Maradék heparin jelenlétét az jelzi, ha az ACT eredmény több mint 10%-kal magasabb, mint a párhuzamosan elvégzett PDAO eredménye. Ha a PDAO eredménye magasabb, mint a megfelelő ACT, ez a keringésben lévő heparin teljes semlegesítését is jelenti.

A TERMÉK ALKALMAZÁSÁVAL KAPCSOLATOS FIGYELMEZTETÉS
***MEGJEGYZÉS:** Mindig tartsa be az általános óvintézkedéseket.*

1. A vérmintát úgy kell átjuttatni, hogy a dugót megfelelő transzfertűvel szúrja át.
2. A vér áttöltésekor mindig kétkezes technikával dolgozzon. Az egyik kézzel biztonságosan tartsa a csövet, míg a másikkal beletölti a vért a fecskendőből a csőbe.
3. A PDAO-próbacsövek üvegből készültek. Helytelen használat esetén összetörhetnek, vagy megrepedhetnek. A csöveket ne ejtse el és ne dobja.
4. A PDAO-próbacsövek aprószemcséjű aktivátort (Celite-ot vagy kaolint), valamint egy biológiai eredetű anyagot (protaminszulfátot) tartalmaznak. Ne érintkezzen az anyaggal, ne permetezze szét és ne nyelje le.
5. Minden emberi vért tartalmazó, használt csövet jóváhagyott, biológiailag veszélyes hulladéknak szánt tárolóba kell kidobni.
6. A vérminta csőbe töltéséhez ne vegye ki a csőből a dugót.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK
Laboratóriumi és klinikai vizsgálatok azt mutatták, hogy során a PDAO képes 0,25 egység/ml feletti maradék heparint észlelni és képes mennyiségileg kifejezni az olyan további protamin-miniadagokat (olyan csekélyek lehetnek, mint 25 mg), amelyek a teljes heparinsemlegesítéshez szükségesek.[12]

Pontosság
A reprodukálhatóságot a PDAO-nak megfelelő HEMOCHRON minőségellenőrző [HEMOCHRON Quality Control for PDAO] alkalmazásával határozták meg.

	1. szint				2. szint			
PDAO	**1. nap**	**2. nap**	**3. nap**	**Kombinált**	**1. nap**	**2. nap**	**3. nap**	**Kombinált**
N	3	3	3	9	3	3	3	9
Átlag	126	126	121	124	331	330	345	335
Szórás	3,5	3,1	3,2	3,6	0	4,0	13,2	10,0
CV %	2,7	2,4	2,6	2,9	0	1,2	3,8	3,0
PDAOK								
N	5	5	4	14	5	5	4	14
Átlag	122	134	126	128	391	405	403	399
Szórás	9,7	3,9	10,6	9,4	13,3	13,9	15,7	14,6
CV %	7,9	2,9	8,4	7,4	3,4	3,4	3,9	3,7

AZ ELJÁRÁS KORLÁTAI
1. A PDAO tesztet befolyásolja a teszteljárásban használt helytelen technika. Pontos és helyes eredményt adó vizsgálathoz elengedhetetlen a minta és a reagens megfelelő összekeverése.
2. A szükséges protaminadag meghatározásának pontossága attól függ, hogy a beteg kiszámított vértérfogata mennyire pontos. Bizonyos esetekben a vértérfogat jelentősen megváltozhat a sebészeti beavatkozás alatt a túl nagy mennyiségű intravénás folyadék-infúzió, vizeletveszteség, vérveszteség, illetve vérkomponens-átömlesztés következtében. Mint minden más infundált gyógyszer esetén, a felhasználónak ebben az esetben is tudatában kell lennie ezeknek a változásoknak, miután hatással lehetnek a protamininfúzió hatékonyságára.
3. Ha a PDAO teszt elvégzését követően újabb adag heparint vagy heparinizált vérkészítményt (pl. a testen kívüli rendszerből kimentett vörösvérsejteket) adnak be, ez érvényteleníti a vizsgálat eredményeit és a protaminadag előreszámítását. Ilyen körülmények között a PDAO vizsgálatot meg kell ismételni úgy, hogy figyelembe vegye az emelkedett protaminszükségleteket.
4. Aprotininnal kezelt betegeknél csak kaolinnal aktivált PDAO-csövek használhatók. Egyéb fibrinolízisgátló szerek alkalmazásával kapcsolatban még nem végeztek tanulmányokat.
5. A PDAO teszt nem alkalmazandó, ha a státusz-ACT meghaladja a 300 másodpercet.
6. A várt értékektől eltérő vizsgálati eredményeket igazolni kell és azután alternatív diagnosztikus eszközökkel kell kiértékelni.

MINŐSÉGELLENŐRZÉS [QUALITY CONTROL (QC)]
Minden átfogó minőségbiztosítási programban szerepelnie kell a rutinszerű minőségellenőrző vizsgálatnak és nyomkövetésnek. Rendelkezésre állnak a HEMOCHRON Teljesvér alvadásvizsgálati rendszerek minőségét ellenőrző [Whole Blood Coagulation System Quality Control] termékei, melyek a rutinszerű minőségellenőrző vizsgálatot kényelmessé és anyagilag megengedhetővé teszik.

A berendezés napi minőségellenőrzése
A HEMOCHRON berendezések minőségét két ellenőrzésszinten kell ellenőrizni 8 munkaóránként egyszer. Rendelkezésre állnak a napi minőségellenőrzés elvégzését segítő Elektronikus rendszereket felülvizsgáló csövek [Electronic System Verification Tubes], amelyekkel több szintű (normális és abnormális) minőségbiztosítási ellenőrzést lehet elvégezni a berendezésen. A készlet egy Hőmérséklet felülvizsgáló csövet [Temperature Verification Tube] is tartalmaz, melynek segítségével félévente ellenőrizhető, hogy a berendezés valóban fenntartja-e a 37°C ± 1°C hőmérsékletet. A hőmérsékletszabályozó rendszerben észlelt bármely hiba a berendezés LCD kijelzőjén is megjelenik.

A HEMOCHRON próbacsövek minőségellenőrzése
Minden HEMOCHRON próbacsövet tartalmazó dobozt használat előtt legalább egyszer validálni kell. Ezt a HEMOCHRON Folyadékos minőségellenőrző [Liquid Quality Control] segítségével lehet elvégezni. A próbacsövek elfogadható teljesítménytartományai mindegyik HEMOCHRON Minőségellenőrzési termékkészletben [Quality Control Product Kit] találhatók. Miután az egyes próbacsöves dobozok egyedi bevizsgálása megtörtént, a csöves doboz oldalán lévő „Teljesítmény ellenőrizve" ["Performance Verified"] táblázatot ki kell tölteni. Ettől kezdve az illető doboz „ELLENŐRIZVE" van ["IN CONTROL"] és nem szükséges újabb folyadékos minőségellenőrzés, kivéve ha a klinikai eredmények eltérését észlelik.

MEGJEGYZÉS: *Ha egy szállítmányban több doboz is érkezik, akkor javasolt az egyes dobozokat a felhasználás előtt validálni.*

IRODALOM
1. Friesen RH, Hydrick DR. Heparin reversal in children following cardiopulmonary bypass. J Extra-Corporeal Tech 18:95, 1986
2. Kersting J, Rush B. A simple individualized method for dose-responsive heparin and protamine administration. J Extra-Corporeal Tech 11:56, 1979
3. Rivard DC, Thompson SJ. Demonstration of heparin reversal with protamine administration using an automated protamine dose assay: A comparison of two methods. AMSECT Proceedings, March 11-14, 1988
4. Dutton DA, Hothersall AP, McLaren AD, Taylor KM, Turner MA. Protamine titration after cardiopulmonary bypass. Anaesthesia 38:264, 1983
5. Bull BS, Huse WM, Brauer FS, Korpman RA. Heparin therapy during extracorporeal circulation. II. The use of a dose-response curve to individualize heparin and protamine dosage. J Thorac Cardiovasc Surg 69:685, 1975
6. Fiser WP, Fewell JE, Hill DE, Barnes RW, Read RC. Cardiovascular effects of protamine sulfate are dependent on the presence and type of circulating heparin. J Thorac Cardiovasc Surg 89:63, 1985
7. Frater RW, Oka Y, Hong Y, Tsubo T, Loubser PG, Masone R. Protamine-induced circulatory changes. J Thorac Cardiovasc Surg 87: 687, 1984
8. Horrow JC. Protamine: a review of its toxicity. Anesth Analg 64:348, 1985
9. Jaques AS. Protamine—antagonist to heparin. Can Med Assoc J 108:1291, 1973
10. Bull BS, Korpman RA, Huse WM, Briggs BD. Heparin therapy during extracorporeal circulation. I. Problems inherent in existing heparin protocols. J Thorac Cardiovasc Surg 69:674, 1975
11. Hattersley PG. Activated coagulation time of whole blood. JAMA 196:436, 1966
12. LaDuca FM, Zucker ML, Walker CE. Assessing heparin neutralization following cardiac surgery: Sensitivity of thrombin time-based assays versus protamine titration methods. Perfusion 14: 181-7, 1999.
13. Gollub S. Heparin rebound in open heart surgery. Surg Gynecol Obstet 124:337, 1967.

HEMOCHRON®
Whole Blood Coagulation Systems

Test oznaczania dawki protaminy
Protamine Dose Assay (PDAO)

Ulotka informacyjna
język polski

ZASTOSOWANIE
Test HEMOCHRON® PDAO jest testem diagnostycznym in vitro, stosowanym do ustalania dawki protaminy. Test PDAO ma zastosowanie w ocenie stopnia zobojętnienia heparyny w przebiegu zabiegów sercowo-naczyniowych. Test PDAO z kaolinem jako aktywatorem ma również zastosowanie w diagnostyce chorych otrzymujących aprotyninę. Test HEMOCHRON PDAO powinien być wykonywany zgodnie z instrukcjami zawartymi w procedurze HEMOCHRON, przy zastosowaniu czytników HEMOCHRON typ 401, 801, 8000 oraz *Response*.

Test diagnostyczny *in vitro*

STRESZCZENIE I OBJAŚNIENIA
Dawka siarczanu protaminy niezbędna do zobojętnienia heparyny w przebiegu zabiegu sercowo-naczyniowego wyliczana jest ze stosunku protaminy do heparyny podanej w czasie zabiegu[1-3] lub jest wynikiem miareczkowania protaminy[3-5]. Precyzyjne określenie dawki protaminy jest istotne, ponieważ przy przedawkowaniu lub podaniu niedostatecznej dawki protaminy mogą pojawić się komplikacje.[6-8]

Farmakokinetyka protaminy narzuca konieczność podawania dokładnych ilości oraz właściwego dawkowania protaminy, niezbędnej do zneutralizowania resztkowej, krążącej we krwi heparyny.[9] Zbyt niska dawka może wywołać krwawienie wywołane obecnością heparyny , co może wymagać dodatkowych wstrzyknięć protaminy, aby w pełni zahamować efekt działania heparyny[8,9]. Zbyt wysoka dawka protaminy, przypadek częściej występujący w praktyce, może wywołać krwawienie z powodu przeciwkrzepliwych właściwości protaminy niezwiązanej z cząsteczką heparyny[9]. Podanie nadmiaru protaminy może także spowodować poważny spadek ciśnienia, wstrząs anafilaktyczny, zwężenie naczyń płucnych, i sercową dekompensację.[6-9]

Zmiareczkowanie protaminy ma na celu określenie właściwej dawki protaminy potrzebnej do całkowitego zobojętnienia heparyny krążącej w krwi pacjenta. Zobojętnienie heparyny protaminą in vitro umożliwia unormowanie czasu krzepnięcia w sposób odpowiadający zachowaniu się leku w organizmie.[3,5]

Test Protamine Dose Assay-O do ustalania dawki protaminy
Test PDAO jest wygodną metodą miareczkowania protaminy, opartą na zobojętnianiu heparyny in vitro w reakcji dawka-odpowiedź i na weryfikacji uzyskanych wyników neutralizacji heparyny. [12] Analiza miareczkowa PDAO podaje dawkę protaminy, w miligramach na mililitr krwi pacjenta, potrzebną do zobojętnienia resztkowej heparyny w organizmie pacjenta oraz umożliwia przywrócenie aktywowanego czasu krzepnięcia (ACT) do stanu sprzed heparynizacji.

Test PDAO stosowany jest z aktywatorami, którymi mogą być zarówno Celite® (ziemia okrzemkowa), jak i kaolin. Test PDAO zawierający aktywator Celite nie nadaje się do stosowania z inhibitorem proteazy aprotyniną (Trasylol®, Bayer Corporation), która może być podawana w celu zmniejszenia krwawienia pooperacyjnego, zwłaszcza podczas zabiegów bajpasów sercowo-płucnych, co może dać w efekcie wydłużenie testu PDAO aktywowanego przy pomocy Celite. Umiarkowane dawki aprotyniny nie oddziałują na kaolin. Aktywowany kaolinem test PDAO może być stosowany alternatywnie w ocenie odpowiedzi na dawkę protaminy u pacjentów otrzymujących aprotyninę. Pacjent powinien być monitorowany pooperacyjnie testami ACT i PDAO w celu oceny potrzeby zastosowania dodatkowych wstrzyknięć protaminy, co kompensuje utajoną obecność heparyny, mogącą stać się przyczyną nawrotu aktywności heparyny. [13]

Wartości PDAO odczytywane są na czytnikach do koagulacji pełnej krwi HEMOCHRON, typ 401, 801, 8000 lub Response. Test PDAO zawiera odczynniki do testu ACT oraz odpowiednią ilość siarczanu protaminy do identyfikacji obecności resztkowej heparyny oraz do określenia właściwej dawki (jeżeli taka jest konieczna) potrzebnej do jej neutralizacji.

W roku 1975 Bull et al.[5] opublikowali metodę opartą na krzywej dawka-odpowiedź, precyzującą dawkowanie heparyny i protaminy w indywidualnych przypadkach. Metoda ta wywodzi się z testu ACT.[11] W 1983, Dutton et al.[4] opisali metodę miareczkowania protaminy w systemie HEMOCHRON 400. W metodzie tej zmienne ilości płynnej protaminy dodawane są do próbek heparynizowanej krwi pacjenta, a następnie w każdej próbce oznaczany jest ACT. Wartości uzyskane w teście ACT, odnoszące się do stężenia protaminy (in vitro), służą wykreśleniu krzywej dawka-odpowiedź neutralizowanej heparyny. Z podanej krzywej można obliczyć dokładne stężenie protaminy potrzebnej do normalizacji wartości ACT do poziomu poprzedzającego heparynizację.

Do wykreślenia charakterystycznej dla pacjenta krzywej miareczkowania protaminy, w badaniu wykonanym w pełnej krwi pacjenta stosuje się testy PDAO oraz aktualnego ACT. Dawka protaminy wyliczana jest w oparciu o czasy krzepnięcia oraz objętość krwi pacjenta. Dane mogą być obliczane automatycznie przez czytnik HEMOCHRON Response (oprogramowanie wersji 2,0 lub nowszej) i 8000 lub ręcznie, z wykorzystaniem załączonego arkusza kalkulacyjnego.

ODCZYNNIKI
Probówki HEMOCHRON PDAO przeznaczone są do badania pełnej, świeżej krwi. Probówki zawierają liofilizowany preparat siarczanu protaminy z załączonym aktywatorem, stabilizatorami oraz buforami.

- PDAO zawiera siarczan protaminy (0,01mg), ziemię okrzemkową, stabilizatory i bufory.
- PDAOK zawiera siarczan protaminy (0,01mg), kaolin, stabilizatory i bufory.

PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ
Probówki HEMOCHRON PDAO powinny być przechowywane w kontrolowanej temperaturze pokojowej (15-30°C). Probówki PDAO zachowują stabilność do upłynięcia daty ważności podanej na opakowaniu. Należy unikać długotrwałej ekspozycji zestawów PDAO na temperatury przekraczające 30°C.

POBIERANIE PRÓBEK I WYKONANIE TESTU
Załączone materiały
- probówki PDAO (pomarańczowy korek; Celite lub kaolin jako aktywator w zależności od potrzeb).
- arkusz kalkulacyjny PDAO (do ręcznych obliczeń, jeżeli wymagane).

Wymagany sprzęt
- HEMOCHRON Response, 8000, 801 lub dwa instrumenty typu 401.
- Nie silikonowane, nie heparynizowane strzykawki o poj. 5 ml do pobierania krwi.
- Proste igły o rozmiarze #20 do przenoszenia próbki krwi do probówek testowych.
- Probówki ACT, FTCA510 (czarny korek) lub FTK-ACT (złoty korek), w zależności od potrzeb.

UWAGA: *Posługując się igłami należy stosować środki ostrożności aby uniknąć przypadkowych zakłuć.*

Przy pobieraniu krwi należy zastosować odpowiednią technikę (A lub B):

A. Wewnątrzustrojowy cewnik żylny lub tętniczy. (Nie należy pobierać krwi z heparynizowanego cewnika lub wenflonu)
   1. Jeśli wskazane, przerwać podawanie płynów.
   2. Stosując metodę dwóch strzykawek pobrać dwiema strzykawkami po 5 ml krwi, a następnie odrzucić pierwszą strzykawkę.

B. Zewnątrzustrojowe ujście cewnika.
   1. Przepłukać zewnątrzustrojowe ujście cewnika poprzez pobranie, a następnie odrzucenie 5 ml krwi.
   2. Pobrać 5 ml pełnej krwi do strzykawki o poj. 5 ml.

WYKONANIE TESTU
Jeżeli test interpretowany jest przy zastosowaniu czytnika HEMOCHRON Response (oprogramowanie wersji 2,0 lub nowszej) lub 8000, program w oparciu o wyniki testu PDAO oraz dane dostarczone przez użytkownika poda ilościowe wartości dawki protaminy (jeżeli istnieje potrzeba jej podania) oraz wartości aktualnego ACT. Jeżeli test interpretowany jest przy zastosowaniu czytnika HEMOCHRON Response (oprogramowanie wersji wcześniejszej od 2,0), 401 lub 801, w celu obliczenia dawki protaminy należy zastosować arkusze kalkulacyjne PDAO dołączone do zestawu testowego.

Jeżeli stosowany jest zestaw PDAO z aktywatorem Celite, należy użyć probówkę FTCA510 (czarny korek) ACT. Jeżeli stosowany jest zestaw PDAO z aktywatorem kaolinowym, należy użyć probówkę FTK-ACT (złoty korek).

Zalecane postępowanie
1. Pięć minut po wstępnym wstrzyknięciu protaminy należy równolegle wykonać test aktualnego ACT oraz PDAO. Ze strzykawki z pobraną krwią wprowadzić dokładnie 2,0 ml krwi do probówki PDAO. W tym samym czasie wcisnąć klawisz **START** właściwego gniazda aparatu HEMOCHRON.
2. Natychmiast energicznie wstrząsnąć probówkę, przemieszczając jej zawartość dziesięć razy z jednego końca do drugiego.
3. Wstawić probówkę PDAO do odpowiedniego gniazda aparatu. Szybko obrócić probówkę w lewo. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z odpowiednim podręcznikiem użytkownika aparatury.
4. Z tej samej strzykawki z pobraną krwią wprowadzić dokładnie 2,0 ml krwi do probówki ACT. W tym samym czasie wcisnąć klawisz **START** właściwego gniazda aparatu HEMOCHRON.
5. Natychmiast energicznie wstrząsnąć probówkę, przemieszczając jej zawartość dziesięć razy z jednego końca do drugiego.
6. Wstawić probówkę testową ACT do odpowiedniego gniazda aparatu. Szybko obrócić probówkę w lewo. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z odpowiednim podręcznikiem użytkownika aparatury.
7. Po usłyszeniu sygnału oznajmującego zakończenie oznaczenia zapisać wyniki testu.
8. Obliczyć dawkę protaminy potrzebną do wstrzyknięcia. Patrz punkt Obliczenie dawki, jak poniżej.

Obliczenie dawki
Jeżeli stosowany jest czytnik HEMOCHRON Response (wersja oprogramowania 2,0 lub wyższa), w celu uzyskania dokładniejszych informacji na temat użytkowania jego automatycznego systemu obliczeniowego należy odnieść się do podręcznika użytkownika HEMOCHRON Response RxDx. Jeżeli stosowany jest HEMOCHRON 8000, należy korzystać z instrukcji zawartych w podręczniku użytkownika przeznaczonego dla tej aparatury. Jeżeli stosowany jest HEMOCHRON Response z wersją oprogramowania wcześniejszą niż 2,0, HEMOCHRON 401 lub 801, w celu dokonania obliczenia dawki protaminy należy korzystać z instrukcji zawartych w arkuszu kalkulacyjnym PDAO załączonym do zestawu.

Weryfikacja wyników neutralizacji heparyny
Badanie wskazuje na obecność resztkowej heparyny, gdy wynik testu ACT jest wyższy o ponad 10% od wyniku równoległego badania PDAO. Natomiast wartości PDAO wyższe niż odpowiadające im wartości ATC, wskazują na całkowitą neutralizację krążącej heparyny.

OSTRZEŻENIA DOTYCZĄCE PRODUKTU
UWAGA: *Bez względu na rodzaj wykonywanych zadań należy stosować uniwersalne środki ostrożności*

1. Przy rozprowadzaniu próbki krwi należy używać igły - potrzebna jest ona do przekłucia korka.
2. Do rozprowadzania próbki krwi należy używać obu rąk. Jedną ręką należy trzymać bezpiecznie probówkę, podczas gdy druga ręka dozuje próbkę krwi ze strzykawki.
3. Probówki PDAO wykonane są ze szkła, dlatego przy niewłaściwym obchodzeniu się z nimi łatwo mogą się rozbić lub pęknąć. Probówek nie wolno upuszczać, ani rozrzucać.
4. Probówki PDAO zawierają aktywator (Celite lub kaolin), jak również materiał biologiczny (siarczan protaminy). Materiału tego typu nie należy dotykać , wdychać jego opary lub połykać.
5. Wszystkie probówki zawierające krew ludzką powinny być przechowywane w specjalnych pojemnikach dla materiałów niebezpiecznych.
6. Przy rozprowadzaniu próbki krwi nie należy zdejmować z probówek korków.

CHARAKTERYSTYKA UŻYTKOWA TESTU
W badaniach laboratoryjnych i klinicznych test PDAO wykazał przydatność do wykrywania obecności resztkowej heparyny w stężeniach wyższych od 0,25 j./ml oraz do oceny ilościowej dodatkowych niewielkich ilości protaminy (do około 25 mg) potrzebnych do uzyskania całkowitej neutralizacji heparyny.12

Precyzja testu
Powtarzalność testu PDAO oceniono stosując kontrolę jakości aparatu HEMOCHRON dla testu PDAO.

	poziom 1				poziom 2			
PDAO	**dzień 1**	**dzień 2**	**dzień 3**	**łącznie**	**dzień 1**	**dzień 2**	**dzień 3**	**łącznie**
N	3	3	3	9	3	3	3	9
średnia	126	126	121	124	331	330	345	335
odch. stand.	3,5	3,1	3,2	3,6	0	4,0	13,2	10,0
CV %	2,7	2,4	2,6	2,9	0	1,2	3,8	3,0
PDAOK								
N	5	5	4	14	5	5	4	14
średnia.	122	134	126	128	391	405	403	399
odch. stand.	9,7	3,9	10,6	9,4	13,3	13,9	15,7	14,6
CV %	7,9	2,9	8,4	7,4	3,4	3,4	3,9	3,7

OGRANICZENIA METODY ANALITYCZNEJ
1. Test PDAO zależy od prawidłowej techniki wykonania. W celu precyzyjnego i dokładnego wykonania testu wymagane jest właściwe wymieszanie próbki z odczynnikiem.
2. Precyzja w określaniu dawki protaminy zależy od dokładności oszacowania objętości krwi pacjenta. W niektórych przypadkach objętość krwi w czasie zabiegu chirurgicznego może ulec dramatycznej zmianie w związku z podawaniem nadmiernych ilości dożylnych płynów infuzyjnych, utraty moczu, utraty krwi oraz transfuzji elementów morfotycznych krwi. Tak jak przy innych terapiach z wykorzystaniem infuzji, użytkownik powinien być świadomy możliwości zaistnienia tych zmian, poniewaz mają one potencjalny wpływ na wynik podania protaminy.
3. Kolejne podanie heparyny lub heparynizowanych produktów krwi (np. krwinek odzyskanych z krążenia pozaustrojowego) po wykonaniu testu PDAO unieważni wyniki testu oraz prognozowaną dawkę protaminy. W tej sytuacji test PDAO powinien być powtórzony, tak aby odzwierciedlał dodatkowe zapotrzebowanie na protaminę.
4. Testy dla pacjentów otrzymujących aprotyninę powinny wykonywane wyłącznie przy użyciu probówek PDAO z kaolinem jako aktywatorem. Nie prowadzono badań wykorzystujących inne antyfibrynolityki.
5. Test PDAO nie nadaje się do użycia przypadkach, gdy aktualny ACT przekracza 300 sekund.
6. Wyniki testu nie pokrywające się z prognozowanymi wartościami powinny być zweryfikowane, a następnie powtórzone przy pomocy alternatywnych metod diagnostycznych.

KONTROLA JAKOŚCI (QC)
Rutynowe testy kontroli jakości powinny być elementem każdego dobrego systemu zapewnienia jakości. W sprzedaży dostępne są odczynniki do kontroli jakości dla testów koagulacji krwi pełnej firmy HEMOCHRON, co czyni procedurę rutynowej kontroli jakości badaniem wygodnym i niedrogim

Codzienna kontrola jakości czytnika
Czytniki HEMOCHRON powinny być co 8 godzin poddawane kontroli jakości przeprowadzanej na dwóch poziomach kontroli. Wielopoziomowa, codzienna (w zakresie normy i poza nią) kontrola jakości czytnika możliwa jest dzięki dostępnym w sprzedaży elektronicznym probówkom do weryfikacji systemu (Electronic System Verification Tubes). Do zestawu dołączona jest również probówka do weryfikacji temperatury (Temperature Verification Tube), przeznaczona do sprawdzania co 6 miesięcy, czy czytnik utrzymuje prawidłową temperaturę (37°C ± 1°C). Błędy wykryte w obrębie systemu kontrolnego temperatury czytnika są również wyświetlane na ekranie LCD.

Kontrola jakości probówek HEMOCHRON
Każde opakowanie probówek HEMOCHRON powinno przed użyciem być przynajmniej raz poddane walidacji. Do tego celu stosuje się odpowiednią płynną kontrolę jakości HEMOCHRON. Do każdego zestawu odczynników przeznaczonych do wykonania testów kontrolnych HEMOCHRON (HEMOCHRON Quality Control Product kit), dołączone są informacje na temat dopuszczalnych zakresów użytkowych dla probówek. Po weryfikacji każdego opakowania probówek należy wypełnić tabelę "Performance Verified", umieszczoną na bocznej ściance opakowania. Od tego momentu opakowanie przechodzi w stan "POD KONTROLĄ" i nie wymaga żadnej dalszej kontroli jakości dla odczynników płynnych, chyba że nastąpi zmiana wartości klinicznych.

UWAGA: *Jeżeli jedna dostawa obejmuje wiele opakowań, wskazane jest aby każde z nich przed zastosowaniem poddane zostało walidacji.*

PIŚMIENNICTWO
1. Friesen RH, Hydrick DR. Heparin reversal in children following cardiopulmonary bypass. J Extra-Corporeal Tech 18:95, 1986
2. Kersting J, Rush B. A simple individualized method for dose-responsive heparin and protamine administration. J Extra-Corporeal Tech 11:56, 1979
3. Rivard DC, Thompson SJ. Demonstration of heparin reversal with protamine administration using an automated protamine dose assay: A comparison of two methods. AMSECT Proceedings, March 11-14, 1988
4. Dutton DA, Hothersall AP, McLaren AD, Taylor KM, Turner MA. Protamine titration after cardiopulmonary bypass. Anaesthesia 38:264, 1983
5. Bull BS, Huse WM, Brauer FS, Korpman RA. Heparin therapy during extracorporeal circulation. II. The use of a dose-response curve to individualize heparin and protamine dosage. J Thorac Cardiovasc Surg 69:685, 1975
6. Fiser WP, Fewell JE, Hill DE, Barnes RW, Read RC. Cardiovascular effects of protamine sulfate are dependent on the presence and type of circulating heparin. J Thorac Cardiovasc Surg 89:63, 1985
7. Frater RWM, Oka Y, Hong Y, Tsubo T, Loubser PG, Masone R. Protamine induced circulatory changes. J Thorac Cardiovasc Surg 87: 687, 1984
8. Horrow JC. Protamine: A review of its toxicity. Anesth Analg 64:348, 1985
9. Jaques AS. Protamine-antagonist to heparin. Can Med Assoc J 108:1291, 1973
10. Bull BS, Korpman RA, Huse WM, Briggs BD. Heparin therapy during extracorporeal circulation. I. Problems inherent in existing heparin protocols. J Thorac Cardiovasc Surg 69:674, 1975
11. Hattersley PG. Activated coagulation time of whole blood. JAMA 196:436, 1966
12. LaDuca FM, Zucker ML, Walker CE. Assessing heparin neutralization following cardiac surgery: Sensitivity of thrombin time-based assays versus protamine titration methods. Perfusion 14: 181-7, 1999.
13. Gollub S. Heparin rebound in open heart surgery. Surg Gynecol Obstet 124:337, 1967.

HEMOCHRON®
Whole Blood Coagulation Systems

Protamindosanalys
Protamine Dose Assay (PDAO)

Förpackningsbilaga
Svenska

HEMOCHRON® PDAO är utformat för in vitro diagnostisk protamindosbestämning. PDAO är avsett att användas vid verifiering av heparinneutralisering vid fullbordad kardiovaskulär kirurgi. Den kaolinaktiverade PDAO-analysen kan också användas för patienter som erhåller aprotinin. HEMOCHRON PDAO skall användas med etablerade HEMOCHRON metodriktlinjer med HEMOCHRON-modeller 401, 801, 8000 och *Response*.

För *in vitro* diagnostiskt bruk

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING
Mängden protaminsulfat som krävs för att neutralisera heparin efter kardiovaskulär kirurgi baseras vanligen på mängden protamin i förhållande till mängden heparin som infunderats under ingreppet[1-3] eller baserat på protamintitrering.[3-5] Exakt fastställande av protamindosen är fördelaktigt med hänsyn till de kända komplikationer som förknippas med för mycket eller otillräckligt protamin.[6-8]

På grund av farmakokinetiken hos protamin, är det viktigt att kvantifiera och administrera den korrekta protamindos som krävs för att neutralisera resterande, cirkulerande heparin.[9] En för låg dos kan medföra heparinrelaterad blödning och kan kräva ytterligare protamininfusion för att till fullo motverka heparineffekten.[8,9] En för hög dos protamin, vilket är vanligare, kan medföra blödning på grund av protaminets antikoagulerande egenskaper då det inte är bundet till heparinmolekylen.[9] Infusion av för mycket protamin kan också medföra svår hypotension, anafylaktisk chock, pulmonell vasokonstriktion samt hjärtdekompensation.[6-9]

Ändamålet med protamintitrering är att fastställa den exakta protamindos som krävs för att till fullo neutralisera cirkulerande heparin hos en viss patient. Protaminneutralisering av heparin in vitro resulterar i normalisering av koagulationstiden på ett sätt som motsvarar läkemedlets effekt in vivo.[3,5]

Protamindosanalys-O
PDAO tillhandahåller en enkel metod för protamintitrering med användning av principerna för in vitro dosrespons-heparinneutralisering och verifiering av heparinneutralisering.[12] Titreringsanalys som utförs med användning av PDAO kvantifierar milligram protamin per milliliter patientblod som krävs för att neutralisera patientens återstående heparinlast och återföra den aktiverade koagulationstiden (ACT) till prehepariniserat baselinjevärde.

PDAO-testet tillhandahålls med antingen Celite® (kiselgur) aller kaolinaktiverare. Det Celite-aktiverade PDAO-testet är ej avsett för användning med proteasinhiberaren aprotinin (Trasylol®, Bayer Corporation), som kan sättas in för att reducera postoperativ blödning, i synnerhet vid kardiopulmonell bypasskirurgi, och som kan förlänga Celite-aktiverad PDAO. Kaolin påverkas ej av måttliga doser aprotinin. Kaolinaktiverat PDAO kan användas som ett alternativ för utvärdering av protamindosrespons hos patienter som erhåller aprotinin. Den postoperativa patienten skall övervakas med ACT och PDAO för att fastställa behovet av att infundera ytterligare protamin för att kompensera för latent heparineffekt, vilket eventuellt kan resultera i heparinåterfall.[13]

PDAO-testet utförs med HEMOCHRON modeller 401, 801, 8000 eller Response för helblodskoagulation. PDAO innehåller de reagenser som krävs för att utföra ett ACT-test plus en lämplig mängd protaminsulfat för att identifiera förekomst av resterande heparin och fastställa lämplig dos (i förekommande fall) för neutralisering.

1975 publicerade Bull et al.[5] en metod med en dosresponsiv kurva, baserad på ACT-testet,[11] för att individualisera heparin- och protamindoseringen. 1983 beskrev Dutton et al.[4] en metod för protamintitrering med användning av HEMOCHRON 400-systemet. I denna metod tillsätts olika mängder flytande protamin till prover av patientens hepariniserade blod, och ACT fastställs för varje prov. ACT-resultat som beräknas mot in vitro protaminkoncentration utgör en dosresponsiv heparinneutraliseringskurva. Den exakta protaminkoncentration som krävs för att normalisera ACT till nivån före heparinisering kan beräknas med hjälp av en sådan kurva.

PDAO använder patientens helblod tillsammans med status-ACT för att skapa en individualiserad protamintitreringskurva. Protamindosen beräknas med utgångspunkt från dessa koagulationstider och patientens blodvolym. Denna kan beräknas automatiskt av HEMOCHRON Response (programvaruversion 2.0 eller högre) eller 8000, eller manuellt med hjälp av tillhandahållna arbetsblad.

REAGENSER
HEMOCHRON PDAO-provrör är avsedda för användning med färskt helblod. Provrören innehåller ett lyofiliserat preparat av protaminsulfat med tillsatta aktiverare, stabiliserare och buffertar.

- PDAO innehåller protaminsulfat (0,01 mg), kiselgur, stabiliserare och buffertar.
- PDAOK innehåller protaminsulfat (0,01 mg), kaolin, stabiliserare och buffertar.

LAGRING OCH STABILITET
HEMOCHRON PDAO-provrör skall förvaras i kontrollerad rumstemperatur (15 - 30° C). PDAO-rören är stabila fram till angivet utgångsdatum. Undvik att långvarigt exponera PDAO-uppsättningarna för temperaturer som överskrider 30°C.

PROVTAGNING OCH HANTERING
Tillhandahållet materiel
- PDAO-provrör (orange lock; Celite eller kaolin-aktiverat enligt behov).
- PDAO arbetsblad (för manuella beräkningar, i förekommande fall).

Nödvändiga materiel
- HEMOCHRON Response, 8000, 801 eller två 401:or.
- Icke-silikoniserade, icke-hepariniserade 5 ml sprutor för provtagning.
- Rak nål, nr. 20 eller större, för överföring av blodprovet till provröret.
- ACT-provrör, FTCA510 (svart lock) eller FTK-ACT (guldfärgat lock), enligt behov.

VAR FÖRSIKTIG: *Vidtag alla försiktighetsåtgärder för att använda korrekt teknik med sprutor så att oavsiktliga nålstick undviks.*

Vid blodprovstagning, skall lämplig teknik iakttagas (A eller B):

A. Inneliggande venös eller arteriell blodslang. (Dra inte blod från en hepariniserad åtkomstslang eller ett inneliggande heparinlås.)
   1. Stäng vid behov av vätskedropp.
   2. Använd en teknik med två sprutor, dra upp två 5 ml-sprutor och kassera den första sprutan.

B. Port för extrakorporeal blodslang.
   1. Skölj den extrakorporeala blodslangen genom att dra upp och kassera 5 ml blod.
   2. Dra upp 5 ml helblod i en 5 ml spruta.

TESTMETOD
Om du använder HEMOCHRON Response (programvaruversion 2.0 eller högre) eller 8000, kommer systemprogramvaran att kvantifiera protamindosen (i förekommande fall) baserat på PDAO-testresultat och den information som användaren tillhandahåller, tillsammans med ACT-resultatens status. Om du använder HEMOCHRON Response (programvaruversioner under 2.0), 401 eller 801, ska du använda medföljande arbetsblad för PDAO-beräkning för att beräkna protamindosen.

Om du använder Celite-aktiverad PDAO, skall en FTCA510 (svart lock) ACT användas. Om du använder kaolin-aktiverad PDAO, skall en FTK-ACT (guldfärgat lock) användas.

Rekommenderat protokoll
1. Utför, fem minuter efter inledande protamininfusion, en samtidig ACT-status och en PDAO. Dispensera, från provtagningsprutan, exakt 2,0 ml blod i PDAO-provröret. Tryck samtidigt ned **START**-knappen på lämplig HEMOCHRON testbrunn.
2. Blanda omedelbart provrörets innehåll kraftigt genom att försiktigt vända det från ände till ände tio gånger.
3. Sätt in PDAO-provröret i lämplig testbrunn. Vrid snabbt röret i medurs riktning. Läs i tillämplig användarhandbok för instrumentet för ytterligare information.
4. Dispensera, från samma provtagningspruta, exakt 2,0 ml blod i ACT-röret. Tryck samtidigt ned **START**-knappen på lämplig HEMOCHRON testbrunn.
5. Blanda omedelbart provrörets innehåll kraftigt genom att försiktigt vända det från ände till ände tio gånger.
6. Sätt in ACT-provröret i lämplig HEMOCHRON testbrunn. Vrid snabbt röret i medurs riktning. Läs i tillämplig användarhandbok för instrumentet för ytterligare information.
7. Skriv ned testresultatet när signalen hörs.
8. Fastställ protamininfusionsdosen. Se dosberäkningarna nedan.

DOSBERÄKNINGAR
Om du använder HEMOCHRON Response (programvaruversion 2.0 eller högre), läs i användarhandboken till HEMOCHRON Response RxDx för detaljerade anvisningar om användning av detta automatiska beräkningssystem. Om du använder HEMOCHRON 8000, ska du följa instruktionerna i instrumentets användarhandbok. Om du använder HEMOCHRON Response med programvaruversioner under 2.0, HEMOCHRON 401 eller 801, ska du följa instruktionerna på arbetsbladet för PDAO som medföljde i denna uppsättning för att beräkna protamindosen.

Verifiering av heparinneutralisering

Heparinrester indiceras av ett ACT-resultat som är mer än 10% högre än åtföljande PDAO-resultat. Ett PDAO-resultat som är högre än motsvarande ACT indicerar också fullständig neutralisering av cirkulerande heparin.

VARNING VID PRODUKTANVÄNDNING
***OBS:** Iakttag alltid allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder.*

1. Blodprovet skall överföras med användning av en korrekt överföringsnål för att sticka igenom korken.
2. Använd alltid två händer för att överföra blod. Håll röret i ett stadigt grepp med ena handen och dispensera blodprovet från sprutan med andra handen.
3. PDAO-provrören är tillverkade av glas. De kan gå sönder eller spricka vid felaktig hantering. Rören får ej tappas eller slungas.
4. PDAO-provrören innehåller en partikelaktiverare (Celite eller kaolin) samt material av biologiskt ursprung (protaminsulfat). Materialet får ej hanteras, sprayas eller förtäras.
5. Alla förbrukade provrör som innehåller blod från människor måste kasseras i godkända behållare för biologiskt riskavfall.
6. Avlägsna inte locken för att överföra ett blodprov till röret.

FUNKTIONSEGENSKAPER
PDAO har visats i laboratorietester och kliniska undersökningar upptäcka heparinrester över 0,25 enheter/ml och att kvantifiera ytterligare minidoser av protamin (så lite som 25 mg) som krävs för att fullständigt neutralisera heparinet.[12]

Precision
Reproducerbarheten fastställdes med användning av HEMOCHRON kvalitetskontroll för PDAO.

	Nivå 1				Nivå 2			
PDAO	**Dag 1**	**Dag 2**	**Dag 3**	**Kombinerat**	**Dag 1**	**Dag 2**	**Dag 3**	**Kombinerat**
N	3	3	3	9	3	3	3	9
Genomsnitt	126	126	121	124	331	330	345	335
Stnd avvik.	3,5	3,1	3,2	3,6	0	4,0	13,2	10,0
CV %	2,7	2,4	2,6	2,9	0	1,2	3,8	3,0
PDAOK								
N	5	5	4	14	5	5	4	14
Genomsnitt	122	134	126	128	391	405	403	399
Stnd avvik.	9,7	3,9	10,6	9,4	13,3	13,9	15,7	14,6
CV %	7,9	2,9	8,4	7,4	3,4	3,4	3,9	3,7

METODENS BEGRÄNSNINGAR
1. PDAO-testet påverkas av dålig teknik i testproceduren. Korrekt blandning av prov och reagens krävs för exakt och tillförlitlig testning.
2. Precision vid beräkning av protamindosen är beroende av att patientens beräknade blodvolym beräknas exakt. I vissa fall kan blodvolymförändringar under operationen vara dramatiska på grund av alltför omfattande intravenös vätskeinfusion, urinförlust, blodförlust och transfusion av blodkomponent. I likhet med alla läkemedel som ges via infusion, måste användaren vara medveten om dessa förändringar, på grund av deras potentiella effekt på protamininfusionen.
3. Användning av ytterligare heparin eller hepariniserade blodprodukter (d.v.s. tillvaratagna röda blodceller från det extrakorporeala systemet) efter utförande av PDAO, kommer att negera testresultatet och protaminprognosen. Under dessa omständigheter skall PDAO-analysen upprepas för att reflektera de extra protaminbehoven.
4. Endast kaolinaktiverade PDAO-rör får användas för patienter som erhåller aprotinin. Inga studier har gjorts med användning av andra antifibrinolytiska medel.
5. PDAO-testet är ej avsett att användas då ACT överskrider 300 sekunder.
6. Testresultat som inte överensstämmer med förväntade värden skall verifieras och därefter utvärderas med alternativa diagnostiska metoder.

KVALITETSKONTROLL (QC)
Rutinmässig kvalitetskontrolltestning och spårning skall utgöra en del av ett omfattande kvalitetskontrollprogram. HEMOCHRON kvalitetskontrollprodukter för helblodskoagulationssystem tillhandahålls för att göra rutinmässig kvalitetskontroll bekväm och billig.

Daglig kvalitetskontroll av instrumentet
HEMOCHRON-instrumenten skall kvalitetskontrolleras i två kontrollnivåer en gång var åttonde driftstimma. För att underlätta daglig kvalitetskontroll, tillhandahålls elektroniska systemverifikationsrör som kan ge en kvalitetskontroll av instrumentet i flera nivåer (normala och abnorma). Ett temperaturverifikationsrör tillhandahålls också för användning var sjätte månad för att kontrollera att instrumentet håller korrekt temperatur 37± 1°C. Eventuella fel som upptäcks i instrumentets temperaturkontrollsystem kommer även att visas på instrumentets bildskärm.

Kvalitetskontroll av HEMOCHRON provrör
Varje låda HEMOCHRON-provrör skall valideras minst en gång före användning. Detta kan göras med användning av lämplig HEMOCHRON flytande kvalitetskontroll. Godtagbara prestationsområden för provrören inkluderas med varje HEMOCHRON kvalitetskontrolluppsättning. När varje enskild låda provrör har verifierats, skall tabellen "Verifierad funktion" på sidan av varje låda med provrör fyllas i. Denna låda är nu "UNDER KONTROLL" och kommer inte att behöva någon ytterligare flytande kvalitetskontroll, under förutsättning att en förändring i kliniska resultat ej uppstår.

***OBS!** Om flera lådor mottas i samma leverans, bör varje låda valideras före användning.*

REFERENSER
1. Friesen RH, Hydrick DR. Heparin reversal in children following cardiopulmonary bypass. J Extra-Corporeal Tech 18:95, 1986
2. Kersting J, Rush B. A simple individualized method for dose-responsive heparin and protamine administration. J Extra-Corporeal Tech 11:56, 1979
3. Rivard DC, Thompson SJ. Demonstration of heparin reversal with protamine administration using an automated protamine dose assay: A comparison of two methods. AMSECT Proceedings, March 11-14, 1988
4. Dutton DA, Hothersall AP, McLaren AD, Taylor KM, Turner MA. Protamine titration after cardiopulmonary bypass. Anaesthesia 38:264, 1983
5. Bull BS, Huse WM, Brauer FS, Korpman RA. Heparin therapy during extracorporeal circulation. II. The use of a dose-response curve to individualize heparin and protamine dosage. J Thorac Cardiovasc Surg 69:685, 1975
6. Fiser WP, Fewell JE, Hill DE, Barnes RW, Read RC. Cardiovascular effects of protamine sulfate are dependent on the presence and type of circulating heparin. J Thorac Cardiovasc Surg 89:63, 1985
7. Frater RWM, Oka Y, Hong Y, Tsubo T, Loubser PG, Masone R. Protamine induced circulatory changes. J Thorac Cardiovasc Surg 87: 687, 1984
8. Horrow JC. Protamine: A review of its toxicity. Anesth Analg 64:348, 1985
9. Jaques AS. Protamine-antagonist to heparin. Can Med Assoc J 108:1291, 1973
10. Bull BS, Korpman RA, Huse WM, Briggs BD. Heparin therapy during extracorporeal circulation. I. Problems inherent in existing heparin protocols. J Thorac Cardiovasc Surg 69:674, 1975
11. Hattersley PG. Activated coagulation time of whole blood. JAMA 196:436, 1966
12. LaDuca FM, Zucker ML, Walker CE. Assessing heparin neutralization following cardiac surgery: Sensitivity of thrombin time-based assays versus protamine titration methods. Perfusion 14: 181-7, 1999.
13. Gollub S. Heparin rebound in open heart surgery. Surg Gynecol Obstet 124:337, 1967.

RX4055-8Langs.indd 2
10/14/2005 8:50:47 AM