

VRIJEME ZGRUŠAVANJA AKTIVIRANO DIJATOMITOM / (^{CELITE}ACT)

Test vremena zgrušavanja aktiviranog dijatomitom (engl. Celite® Activated Clotting Time, ^{CELITE}ACT) sustava i-STAT mjera je vremena potrebnog za potpuno aktiviranje koagulacijske kaskade.¹

U tradicionalnim testovima ACT-a koagulacija se pokreće miješanjem uzorka pune krvi s aktivatorom čestica, a potpunom se aktivacijom smatra trenutak kad aktivirani trombin pretvori fibrinogen u fibrin, formirajući obimne ili lokalizirane ugruške. Ti se ugrušci otkrivaju mehanički.

Test ^{CELITE}ACT sustava i-STAT sličan je tradicionalnim testovima za ACT, uz razliku koja sa sastoji u tome da je indikator krajnje točke procesa pretvaranje trombinskog supstrata različitog od fibrinogena, a kao indikator tog pretvaranja služi elektrokemijski senzor. Supstrat koji se rabi u elektrogenernoj analizi ima amidnu (peptidnu) vezu koja imitira amidnu vezu fibrinogena koju cijepa trombin.

Supstrat je H-D-fenilalanil-pipekolil-arginin-*p*-amino-*p*-metoksidifenilamin sljedeće strukture:



Trombin cijepa amidnu vezu na karboksi-terminusu argininskog ostatka (označeno dvjema crticama) zbog strukturne sličnosti amidnoj vezi koja se cijepa trombinom u fibrinogenu. Proizvod trombinske supstratne reakcije je elektrokemijski inertan tripeptid fenilalanil - pipekolil - arginin i elektroaktivni spoj $\text{NH}_3^+ - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{NH} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{OCH}_3$. Formiranje elektroaktivnog spoja otkriva se ampermetrijski, a vrijeme otkrivanja mjeri se u sekundama. Test analizira aktivirano vrijeme zgrušavanja (engl. Activated Clotting Time, ACT) kao vrijeme za punu krv (WBT) u sekundama.

Test ^{CELITE}ACT sustava i-STAT kalibriran je kako bi odgovarao upotrebi unaprijed zagrijanih epruveta Hemochron Celite FTCA510. Korisnici analizatora i-STAT-1 mogu, međutim, prilagoditi i-STAT svoje lokacije tako da prikazuje rezultate za ACT s kalibracijom za epruvete Hemochron Celite ACT bez zagrijavanja (na sobnoj temperaturi). Ta se prilagodba odnosi isključivo na stazu Patient (Pacijent) i ne primjenjuje se na staze Control (Kontrola) ni Proficiency Testing (Ispitivanje uspješnosti).

Prilagodba rada (kalibracijski način s unaprijed zagrijanim ili s nezagrijanim epruvetama) na zaslonu analizatora označava se kao PREWRM za unaprijed zagrijane, odnosno NONWRM za nezagrijane epruvete. Imajte na umu da različite lokacije unutar bilo koje bolnice mogu rabiti različite profile prilagodbe. Prije ispitivanja uzoraka pacijenata provjerite rabi li se odgovarajući kalibracijski način rada. Sveobuhvatnu raspravu o ovoj značajki prilagodbe potražite u tehničkom biltenu pod naslovom „ACT Test Result Calibration Options: PREWARMED vs. NON-PREWARMED Result Calibration Modes for the i-STAT-1 Analyzer.” (Opcije za kalibraciju rezultata testa ACT: kalibracijski načini prikaza rezultata na analizatoru i-STAT-1 – s prethodnim zagrijavanjem ili bez njega)

Ako se čini da rezultati i klinička procjena nisu u međusobnom skladu, uzorak pacijenta treba ponovno ispitati uz upotrebu drugog uloška.

Namjena

Test vremena zgrušavanja aktiviranog dijatomitom (^{CELITE}ACT) u sustavu i-STAT dijagnostički je test koji analizira svježu punu krv *in vitro* i koristan je u praćenju pacijenata koji primaju heparin radi liječenja plućne embolije ili venske tromboze te za praćenje antikoagulacijske terapije pacijenata koji se podvrgavaju zahvatima poput kateterizacije, kardiokirurgije, opće kirurgije, transplantacije organa i dijalize.

Sadržaj

Svaki uložak i-STAT^{Celite}ACT sadrži komoru za prikupljanje uzoraka, senzore koji otkrivaju krajnju točku koagulacije i suhe reagense koji pokreću i dopuštaju koagulaciju. Stabilizatori i reagensi nanášeni su na dio senzorskog kanala te obuhvaćaju sljedeće reaktivne sastojke:

Reaktivni sastojak	Minimalna količina
diatomejska zemlja	14,4 µg
trombinski supstrat	0,36 µg

Mjeriteljska sljedivost

Test vremena zgrušavanja aktiviranog dijatomitom u sustavu i-STAT mjeri vremenski interval potreban za potpunu aktivaciju koagulacijske kaskade dijatomejskom zemljom Celite® u arterijskoj ili venskoj punoj krvi (mjereno u sekundama) i služi za praćenje umjerene i jake terapije heparinom *in vitro*. U ovom trenutku nema međunarodno prihvaćene konvencionalne referentne procedure mjerenja niti međunarodno prihvaćenog konvencionalnog kalibratora za CeliteACT. Vrijednosti za CeliteACT dodijeljene materijalima za kontrolu sustava i-STAT sljedive su do referentne procedure mjerenja koju je odabrao i-STAT, a koja rabi staklene epruvete s dijatomejskom zemljom (Celite) kao aktivacijskim reagensom, automatizirani mjerač vremena i tradicionalno viskometrijsko otkrivanje zgrušavanja te se provodi pod točno određenim temperaturnim uvjetima i uvjetima uzorkovanja. Valjanost kontrola sustava i-STAT provjerena je samo za upotrebu sa sustavom i-STAT i dodijeljene vrijednosti možda se ne mogu prenijeti u druge metode. Dodatne informacije o mjeriteljskoj sljedivosti dostupne su od tvrtke Abbott Point of Care Inc.

Očekivane vrijednosti

Ispitivanje/krtica	Mjerne jedinice	Izveštajni raspon	Referentni raspon (PREWRM) (Zagrijano)	Referentni raspon (NONWRM) (Nezagrijano)
Aktivirano vrijeme zgrušavanja/ACT	sekunde	50 – 1000*	74 – 125	84 – 139

* Raspon od 80 – 1000 sekundi provjeren je usporedbom metoda.

Klinički značaj

ACT se prvenstveno rabi za praćenje antikoagulacijskog stanja pacijenta postignutog heparinom koji se primjenjuje tijekom medicinskog ili kirurškog postupka. Često se rabi pri srčanoj kateterizaciji, perkutanoj transluminalnoj koronarnoj angioplastici (PTCA), bubrežnoj dijalizi, hemodijalizi i izvantjelesnoj cirkulaciji tijekom premošćivanja.

Radne značajke

Podatke o tipičnim radnim značajkama čiji je sažetak prikazan u nastavku prikupili su zdravstveni radnici obučeni za rukovanje sustavom i-STAT i usporedivim metodama u zdravstvenim ustanovama. Svi su podaci dobiveni kalibracijskim načinom PREWRM (Zagrijano) osim ako je drugačije navedeno.

Podaci o preciznosti prikupljeni su u tvrtki Abbott Point of Care Inc. i tijekom kliničkih ispitivanja poštujući protokol koji preporučuje i-STAT i upotrebom plazmenog kontrolnog materijala. Slični se rezultati mogu očekivati u budućim ispitivanjima radnih značajki ako se slijedi isti dizajn eksperimenta i iste procedure.

Kontrolna plazma	n	Srednja vrijednost	SD	% CV
Razina 1	329	221 sekunda	18 sekundi	8,1
Razina 2	438	456 sekundi	22 sekunde	4,8

Podaci o usporedbi metoda prikupljeni su prema modifikaciji smjernice EP9-A² instituta CLSI. Uzorci venske i arterijske krvi prikupljeni su u plastične štrcaljke i analizirani u duplikatu s pomoću sustava i-STAT te u duplikatu putem usporedivih metoda. Svi su uzorci analizirani neposredno nakon prikupljanja. Populacije pacijenata u studijama bile su jednake onima na kojima se ACT redovito upotrebljava. To obuhvaća uzorke za određivanje temeljne linije, heparinom tretirane i uzorke s neutraliziranim heparinom uzete od pacijenata kod kojih se vrši srčana kateterizacija ili premosnica.

Analiza Demingovom regresijom³ izvršena je na prvoj replici svakog uzorka. U tablici s usporedbom metoda n je broj uzoraka u skupu podataka; S_{xx} i S_{yy} odnose se na procjene nepreciznosti na temelju duplikata u usporedivim metodama, odnosno metodi i-STAT; $S_{y.x}$ je koeficijent varijacije regresije, a r je koeficijent korelacije.

Usporedbe metoda različite su od lokacije do lokacije zbog razlika u rukovanju uzorcima, sustavima reagensa i instrumenata koji se rabe i drugih varijabli specifičnih za svaku pojedinu lokaciju.

Cath Lab	Medtronic HR-ACT	Hemochron CA510/FT CA510
n	270	418
Sxx	10,1	19,7
Syy	10,7	13,5
Nagib	1,15	0,86
Int't	-30	-3
Sy.x	32,5	22,5
Xmin	73	63
Xmax	523	763
r	0,848	0,903

Hemchron CA510/FT CA510			
CVOR	Lokacija 1	Lokacija 2	Lokacija 3
n	35	30	24
Sxx	15,8	34,2	24,4
Syy	13,0	11,5	20,8
Nagib	0,85	1,10	1,19
Int't	4	-52	-73
Sy.x	43,8	17,4	62,1
Xmin	118	94	125
Xmax	671	735	767
r	0,912	0,952	0,891

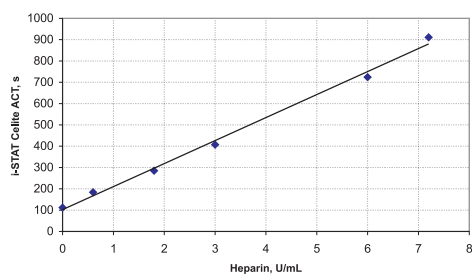
Čimbenici koji utječu na rezultate*

*Moguća je pojava drugih tvari koje predstavljaju smetnju. Ovi su rezultati reprezentativni te vaši rezultati mogu biti različiti zbog varijacija među ispitivanjima. Stupanj smetnje pri koncentracijama različitim od navedenih može biti nepredvidiv.

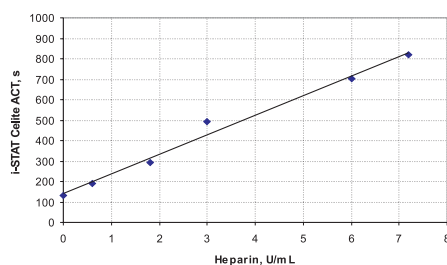
Osjetljivost na heparin pokazana je na uzorcima pune krvi kojima su *in vitro* dodane različite koncentracije heparina.

Svaki od pet grafikona u nastavku prikazuje odgovor različitog davatelja u odnosu na koncentraciju heparina:

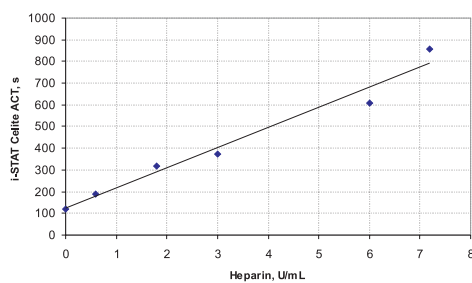
Heparin linearity, Donor 1



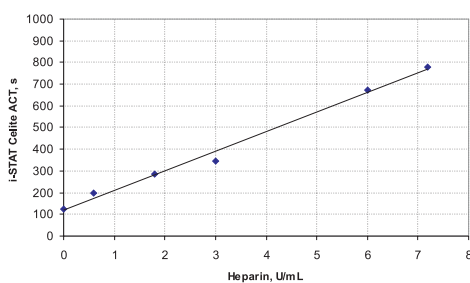
Heparin linearity, Donor 2



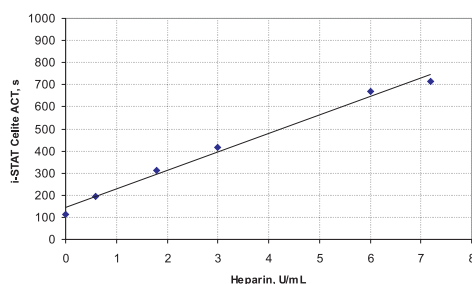
Heparin linearity, Donor 3



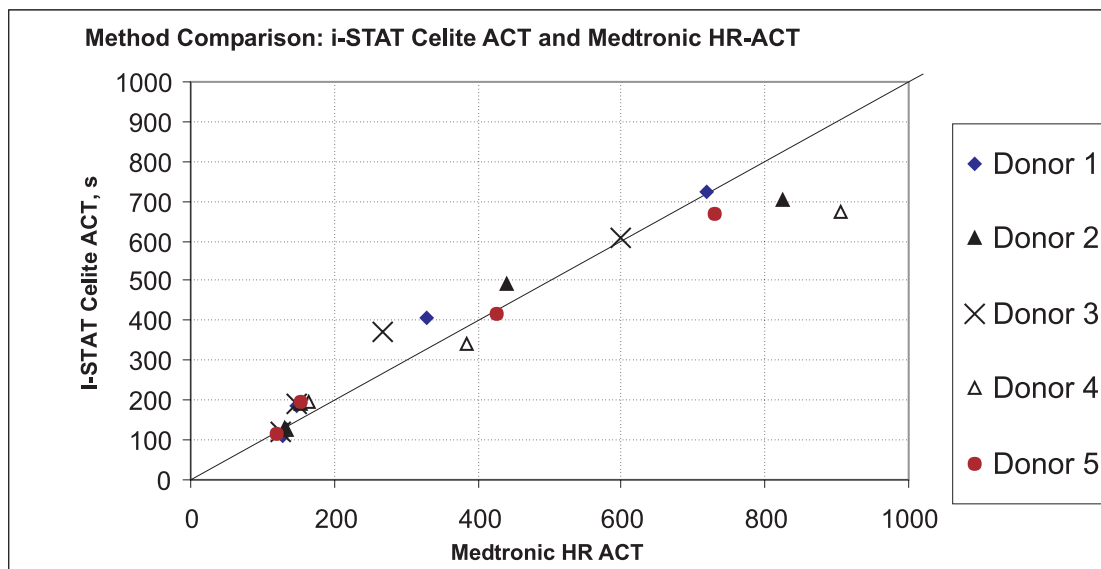
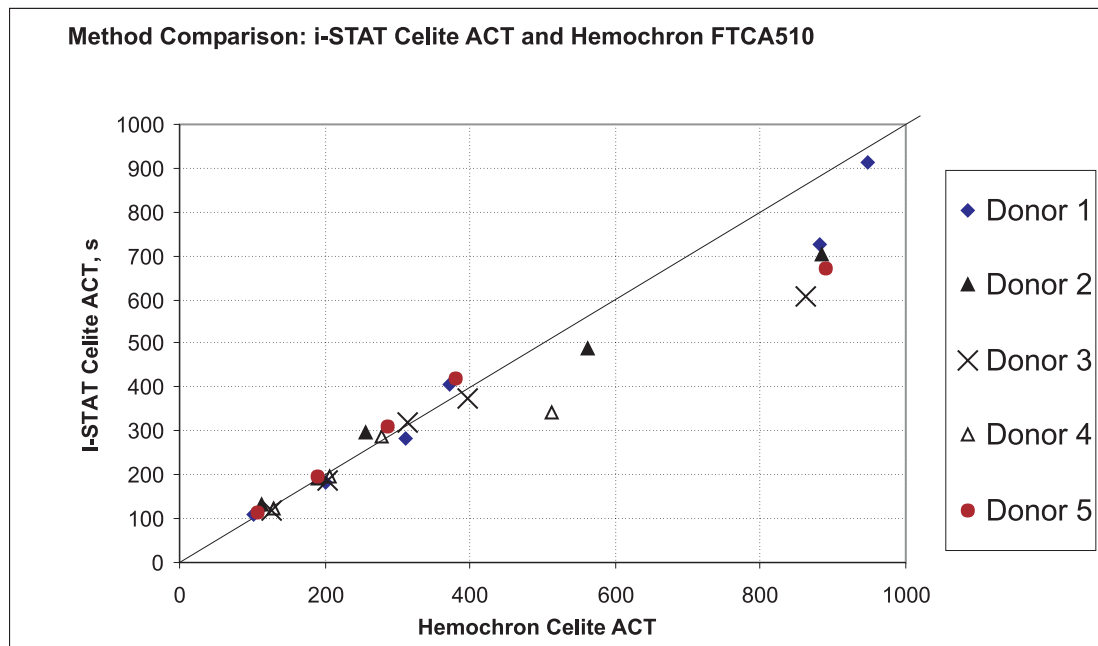
Heparin linearity, Donor 4



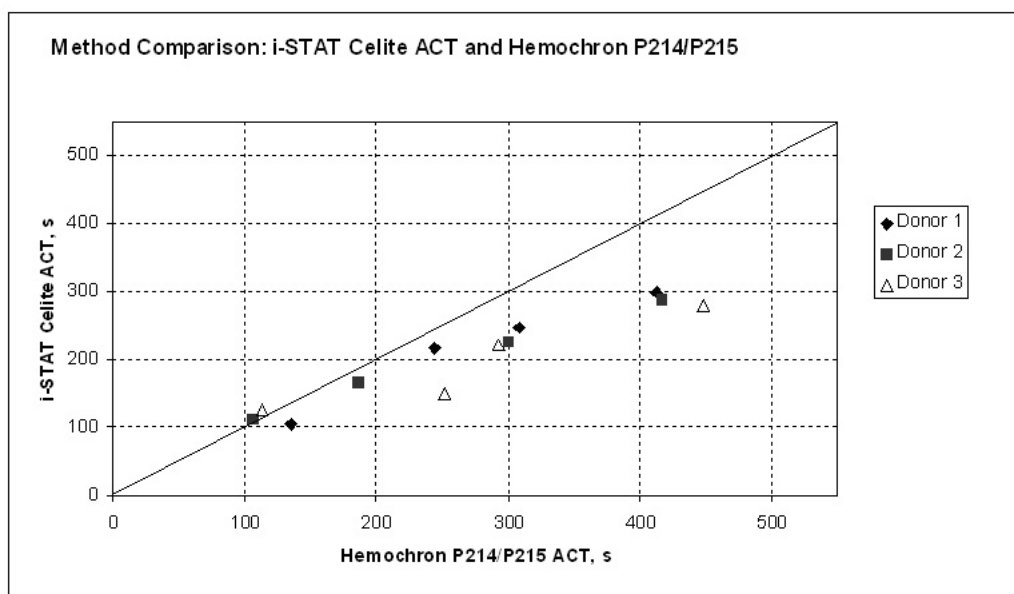
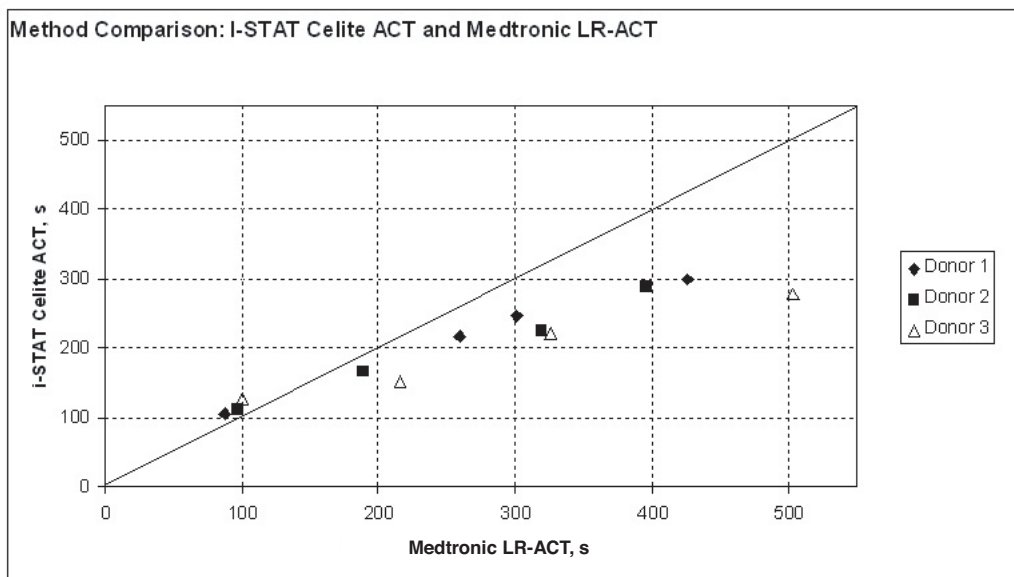
Heparin linearity, Donor 5



Grafikoni u nastavku prikazuju odgovor istih pet davatelja u odnosu na rezultat mjerenja ACT-a dobiven s pomoću sustava mjerenja Medtronic HR-ACT i sustava mjerenja Hemochron Celite FTCA 510.



Radne značajke testa i-STAT Celite ACT pri nižim razinama heparina prikazane su u nastavku s dvije metode mjerenja ACT-a uz „nisku razinu“ radi usporedbe:



Ograničenja testa

Test ^{Celite}ACT sustava i-STAT treba rabiti na svježim uzorcima venske i arterijske pune krvi. Prisutnost dodanog heparina, citrata, oksalata ili EDTA utjecat će na rezultate. Loša tehnika prikupljanja uzoraka također može ugroziti točnost rezultata. Uzorci izvučeni uz pomoć nedovoljno ispranih katetera ili iz traumatskih punkcija vene mogu biti kontaminirani interferirajućim tvarima. Uzorke valja prikupljati u plastične štrcaljke ili epruvete. Prikupljanjem u staklene posude može se prerano aktivirati koagulacija, što skraćuje vrijeme zgrušavanja.

Test ACT sustava i-STAT rabi diatomejsku zemlju tvrtke Celite kao aktivator unutarnje staze. Rezultat zato može biti dulje vrijeme ako je prisutan aprotinin.⁴ **Upotreba testa ne preporučuje se u pacijenata koji primaju aprotinin.**

Tijekom ispitivanja analizator mora ostati na vodoravnoj površini sa zaslonom okrenutim prema gore. Ako analizator nije vodoravan, to na rezultat mjerenja ACT-a može utjecati i više od 10 %. Vodoravna površina obuhvaća i smještanje ručnog uređaja u spojnu jedinicu / punjač.

Hemodilucija može utjecati na rezultate ispitivanja.

Disfunkcija trombocita, nasljedna ili stečena, može utjecati na rezultate ovog ispitivanja. To obuhvaća i primjenu farmakoloških spojeva poznatih kao inhibitori trombocita, koji utječu na funkcije trombocita. Deficijencije tkivnog čimbenika, disprotrombinemija, druge koagulopatije i drugi farmakološki spojevi također mogu utjecati na rezultate ovog ispitivanja.

Na test ACT sustava i-STAT ne utječe hematokrit u rasponu 20 – 70 %, koncentracija fibrinogena u rasponu 100 – 500 mg/dL, ni temperatura uzorka u rasponu 15 – 37 °C.

Prikupljanje i priprema uzoraka

Test ^{Celite}ACT sustava i-STAT može se vršiti na venskim ili na arterijskim uzorcima.

Uzimanje krvi iz vena i arterija

- Mora se rabiti tehnika koja daje dobar protok krvi.
- Uzorak za testiranje mora se prikupljati u **plastičnu posudu za prikupljanje** (plastičnu štrcaljku ili plastičnu epruvetu za vakuumsko prikupljanje krvi).
- Posuda za prikupljanje **ne smije sadržavati antikoagulanse** poput heparina, EDTA, oksalata ili citrata.
- Posuda za prikupljanje ne smije sadržavati aktivatore zgrušavanja ni tvari za izdvajanje seruma.
- Uzorak se mora odmah prebaciti u komoru za uzorke u ulošku.
- Ako je potrebno drugo mjerenje, mora se uzeti svjež uzorak.

Napomena: Neki stručnjaci preporučuju izvlačenje i odbacivanje uzorka od najmanje 1 mL prije izvlačenja uzorka za ispitivanje koagulacije.⁵

Trajni kateter

- Infuzija tekućina kroz kateter mora se prekinuti.
- Ako se krv mora vaditi putem trajnog katetera, valja uzeti u obzir moguću kontaminaciju heparinom i razrjeđivanje uzorka. Kateter valja isprati s 5 mL fiziološke otopine, a prvih 5 mL krvi, odnosno šest volumena kateterskog sustava odbaciti.
- Povucite uzorak za ispitivanje u novu **plastičnu** štrcaljku.
- Štrcaljka za prikupljanje uzorka **ne smije sadržavati antikoagulanse** poput heparina, EDTA, oksalata ili citrata.
- Uzorak se mora odmah prebaciti u komoru za uzorke u ulošku.
- Ako je potrebno drugo mjerenje, uzmite nov uzorak.

Izvantjelesni vodovi

- Isperite izvantjelesne vodove krvi izvlačenjem najmanje 5 mL krvi u štrcaljku i odbacite štrcaljku.
- Povucite uzorak za ispitivanje u novu **plastičnu** štrcaljku.
- Štrcaljka za prikupljanje uzorka **ne smije sadržavati antikoagulanse** poput heparina, EDTA, oksalata ili citrata.
- Uzorak se mora odmah prebaciti u komoru za uzorke u ulošku.
- Ako je potrebno drugo mjerenje, uzmite nov uzorak.

Reference

1. Hattersly, P. Activated coagulation time of whole blood. Journal of the American Medical Association 136:436-440, 1966.
2. CLSI. *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples*; Approved Guideline. CLSI document EP9-A (ISBN 1-56238-283-7). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087, 1995.
3. P.J. Cornbleet and N. Gochman, "Incorrect Least-Squares Regression Coefficients in Method Comparison Analysis," *Clinical Chemistry* 25:3, 432 (1979).
4. Wang, JS; Lin, CY; Hung, WT; Thisted, RA; Carp, RB. In vitro effects of aprotinin on activated clotting time measured with different activators. *Journal of Thoracic Cardiovascular Surgery* 104(4):1135-40, 1992.
5. Corriveau, Donna; Fritsma, George (ed.): *Hemostasis and Thrombosis in the Clinical Laboratory*. Ed, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, 1988., pp 70-71.

i-STAT is a trademark of the Abbott group of companies. Celite is a registered trademark of Celite Corporation, Santa Barbara, CA, for its diatomaceous earth products. Hemochron is a registered trademark of International Technidyne Corporation, Edison, NJ



Abbott Point of Care Inc.
Abbott Park, IL 60064 • SAD



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
Nizozemska

