



PROTROMBINSKO VRIJEME/ (PT/INR)

Test PT/INR u sustavu i-STAT služi za određivanje protrombinskog vremena na uzorcima pune krvi i služi za praćenje terapije oralnim antikoagulansom (Coumadin ili varfarin). Test određuje vrijeme potrebno za potpunu aktivaciju vanjske staze koagulacijske kaskade pokrenute (aktivirane) tromboplastinom.

U ispitivanju protrombinskog vremena koagulacija se pokreće miješanjem uzorka s tkivnim tromboplastinom. U tradicionalnim ispitivanjima protrombinskog vremena potpunom se aktivacijom smatra trenutak kad aktivirani trombin pretvori fibrinogen u fibrin, a obimni se ili lokalizirani ugrušci otkriju mehanički ili optički. Test PT/INR u sustavu i-STAT sličan je, osim što se krajnjom točkom smatra pretvorba trombinskog supstrata različitog od fibrinogena. Ta se pretvorba otkriva elektrokemijskim senzorom.

Dodani supstrat trombina je H-D-fenilalanil-pipekolil-arginin-p-amino-p-metoksifenilamin 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 amperometrijski te se mjeri vrijeme otkrivanja.

Rezultat ispitivanja vrijednosti PT/INR prikazuje se kao međunarodni normalizirani omjer (engl. International Normalized Ratio, INR) te, kao opcija, u sekundama. INR je preporučena metoda izvješćivanja rezultata za upotrebu pri praćenju oralnog liječenja antikoagulansima.¹ Srednje normalno protrombinsko vrijeme u sustavu i-STAT (u sekundama) i ISI određuju se na temelju preporuka organizacije WHO u ustanovi koja ima akreditaciju udruženja CAP. Rezultati za INR računaju se na temelju sljedeće jednadžbe:

$$\text{INR} = \frac{\left[\text{protrombinsko vrijeme pacijenta u sustavu i-STAT (s)} \right]^{ISI}}{\left[\text{srednje normalno protrombinsko vrijeme u sustavu i-STAT (s)} \right]}$$

Opcijski prikazane mjerne jedinice sekundi odražavaju tradicionalno protrombinsko vrijeme za plazmu. Prikazano se vrijeme izračunava iz rezultata za PT/INR i putem jednadžbe u nastavku uz upotrebu vrijednosti za ISI od 1,05 i tipično srednje normalno protrombinsko vrijeme za plazmu od 12,0 sekundi.

$$\text{INR} = \frac{\left[\text{protrombinsko vrijeme plazme pacijenta (s)} \right]^{ISI}}{\left[\text{srednje normalno protrombinsko vrijeme plazme (s)} \right]}$$

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

Namjena

Test PT u sustavu i-STAT, test protrombinskog vremena, koristan je za praćenje pacijenata koji primaju oralnu antikoagulacijsku terapiju poput Coumadina ili varfarina.

Sadržaj

Svaki uložak i-STAT PT/INR sadrži komoru za prikupljanje uzoraka, senzore koji otkrivaju krajnju točku koagulacije i suhe reagense koji pokreću i dopuštaju koagulaciju. Komponente inertne matrice i reagensi nanášeni su na dio senzorskog kanala te obuhvaćaju sljedeće reaktivne sastojke:

Reaktivni sastojak	Biološki izvor	Minimalna količina
rekombinantni tkivni tromboplastin	ljudski	0,18 mg
heparinaza I	<i>Flavobacterium heparinum</i>	0,018 IU
trombinski supstrat	nije primjenjivo	0,4 µg

Mjeriteljska sljedivost

Test protrombinskog vremena (PT/INR) u sustavu i-STAT mjeri međunarodni normalizirani omjer (vrijednost bez dimenzija) koji izražava relativni vremenski interval potreban za potpunu aktivaciju koagulacijske kaskade tromboplastinom u kapilarnoj ili venskoj punoj krvi i služi za *in vitro* praćenje liječenja oralnom primjenom antikoagulansa (Coumadin ili varfarin). Vrijednosti PT/INR dodijeljene materijalima za kontrolu i-STATa sljedive su do međunarodnih referentnih procedura za mjerenje Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) i međunarodnih standarda za pripremu referentnih materijala koje preporučuje WHO.² 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

Test/kartica	Mjerne jedinice	Provjeren klinički raspon
Protrombinsko vrijeme/ (PT/INR)	INR	0,9 – 6,0*

*Radne značajke mjerenja vrijednosti PT/INR u sustavu i-STAT nisu ustanovljene za vrijednosti INR više od 6,0.

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.

Nepreciznost

Izvršena su početna istraživanja kako bi se prikupili podaci o nepreciznosti na uzorcima venske i kapilarne pune krvi. Podaci o nepreciznosti za uzorke venske pune krvi prikupljeni su u duplikatu na dvije kliničke lokacije. Podaci o nepreciznosti za uzorke kapilarne pune krvi prikupljeni su u duplikatu na jednoj kliničkoj lokaciji samo jednom kapilarnom cjevčicom. Tablica u nastavku prikazuje sažetak tih podataka.

Statistička vrijednost	Lokacija 1 (venska)	Lokacija 2 (venska)	Lokacija 3 (kapilarna)
n	181	102	33
Srednja vrijednost (INR)	2,6	2,4	2,5
% CV	4,7 %	4,0 %	4,6 %

Dolje navedeni podaci o nepreciznosti za kontrolni materijal liofilizirane plazme prikupljeni su tijekom istraživanja u pogonu tvrtke Abbott Point of Care i tijekom kliničkih ispitivanja. SD i % CV tipični su za aktualne radne značajke. Za pristup odgovarajućim podacima o srednjoj vrijednosti plazmatske kontrole pogledajte aktualne tablice dodijeljenih vrijednosti (engl. Value Assignment Sheets).

Plazmatska kontrola	Srednja vrijednost	SD	% CV
Razina 1	1,1 (INR)	0,05	4,5 %
Razina 2	2,5 (INR)	0,17	6,9 %

Referentni interval

U kliničkom ispitivanju pokrenutom radi utvrđivanja referentnog intervala vrijednosti PT/INR venski uzorci zdravih dobrovoljnih davatelja prikupljeni su u plastične epruvete i puna je krv analizirana upotrebom samo jedne serije uložaka sustava i-STAT. Kapilarni uzorci istih davatelja dobiveni su lancetnim uređajem Softclick Pro (postavka 3) i analizirani upotrebom iste serije uložaka. Referentni intervali za INR u uzorcima venske i kapilarne krvi određeni su u skladu sa smjernicom C28-A2³ instituta CLSI. Sažetak podataka prikazan je u tablici u nastavku:

Statistička vrijednost	Venska puna krv	Kapilarna puna krv
n	120	119
Srednja vrijednost (INR)	1,0	1,0
SD	0,1	0,1
Referentni raspon (INR)	0,8 – 1,2	0,8 – 1,2

Zbog brojnih varijabli koje mogu utjecati na rezultate mjerenja vrijednosti PT/INR svaki bi laboratorij trebao ustanoviti vlastiti referentni interval.

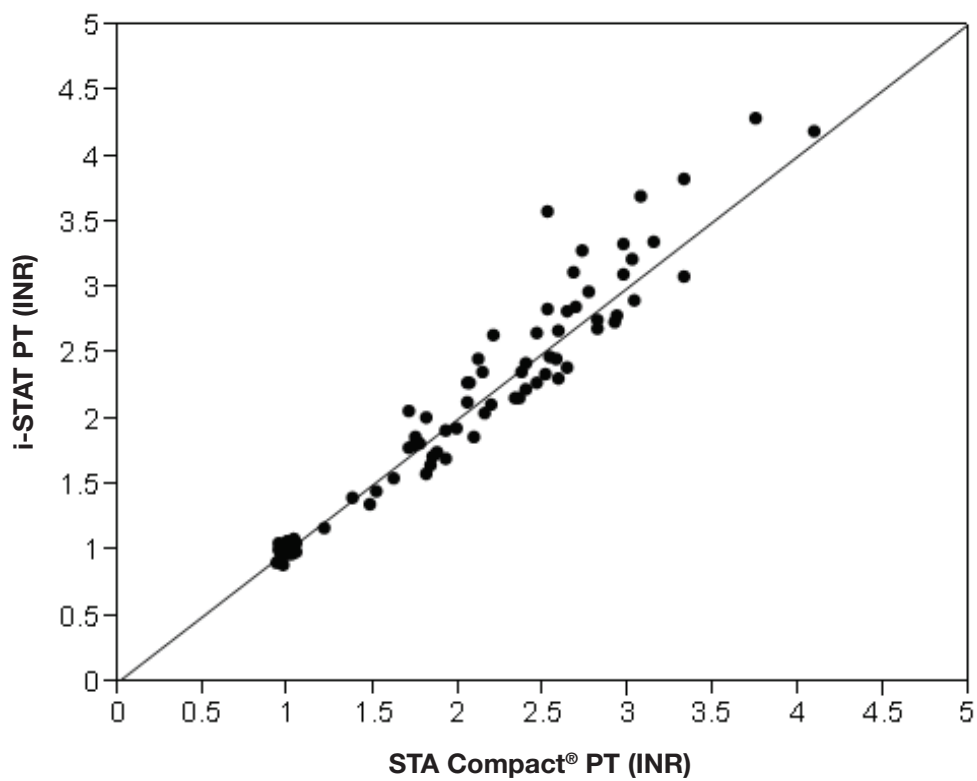
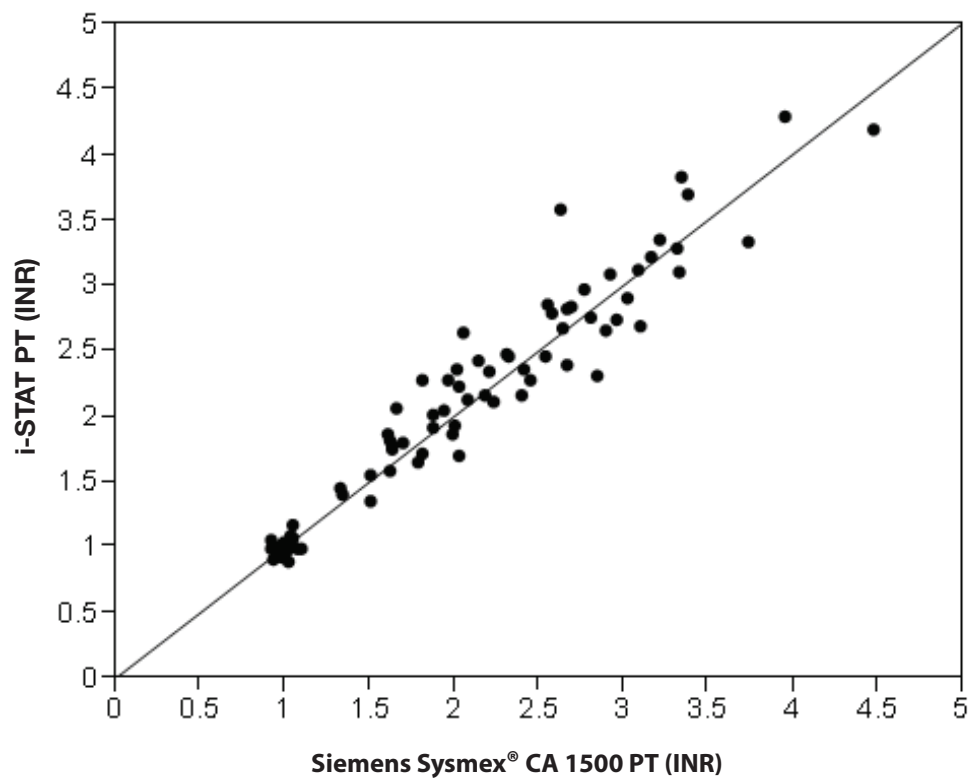
Usporedba metoda

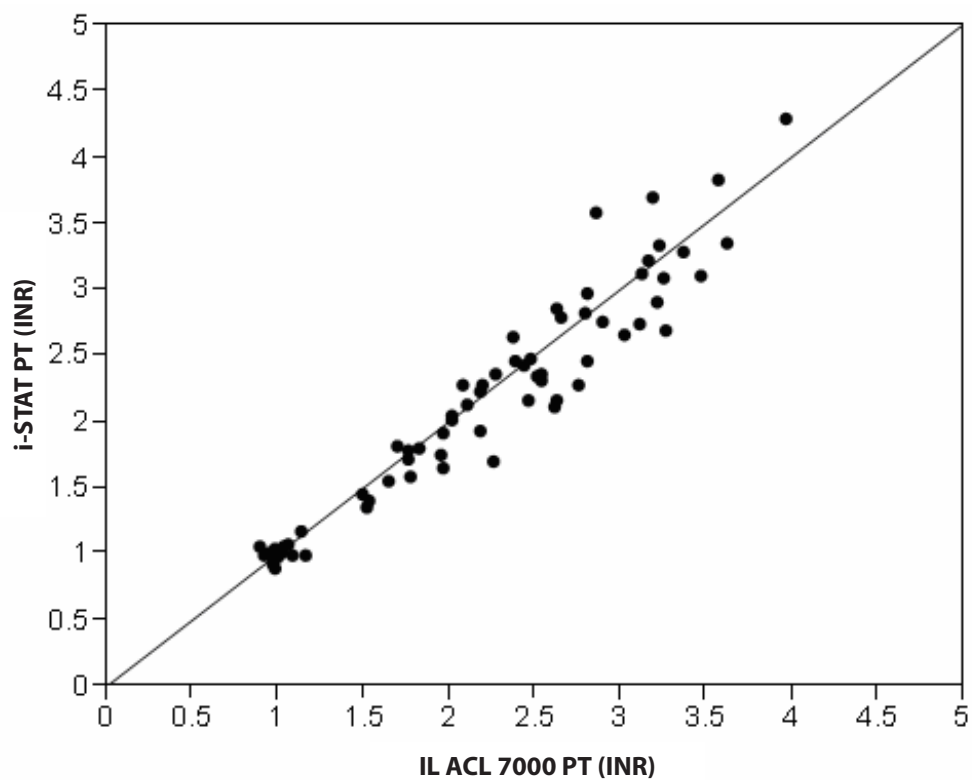
Podaci o usporedbi metoda prikupljeni su u laboratoriju Hemostasis Reference Laboratory (Hamilton, Ontario, Kanada). Uzorci venske krvi od ambulantnih pacijenata koji primaju rutinsku oralnu antikoagulacijsku terapiju prikupljeni su u plastične epruvete i analizirani u duplikatu uz upotrebu uložaka iz više različitih serija u sustavu i-STAT; plazma iz epruveta koje sadrže citratni antikoagulans analizirana je na usporedivim instrumentima uz upotrebu reagensa Dade® Innovin®, STA Neoplastine® CI Plus i HemosIL® RecombiPlasTin 2G®.

Analiza Demingovom regresijom⁴ izvršena je na prvoj replici svakog uzorka. U tablici s usporedbom metoda u nastavku *n* je broj primjeraka u podatkovnom skupu, *Sy.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. Potrebno je izvršiti ispitivanje korelacije kako bi se ustanovile razlike vrijednosti PT/INR izmjerenih u sustavu i-STAT i onih izmjerenih drugim upotrijebljenim metodama.

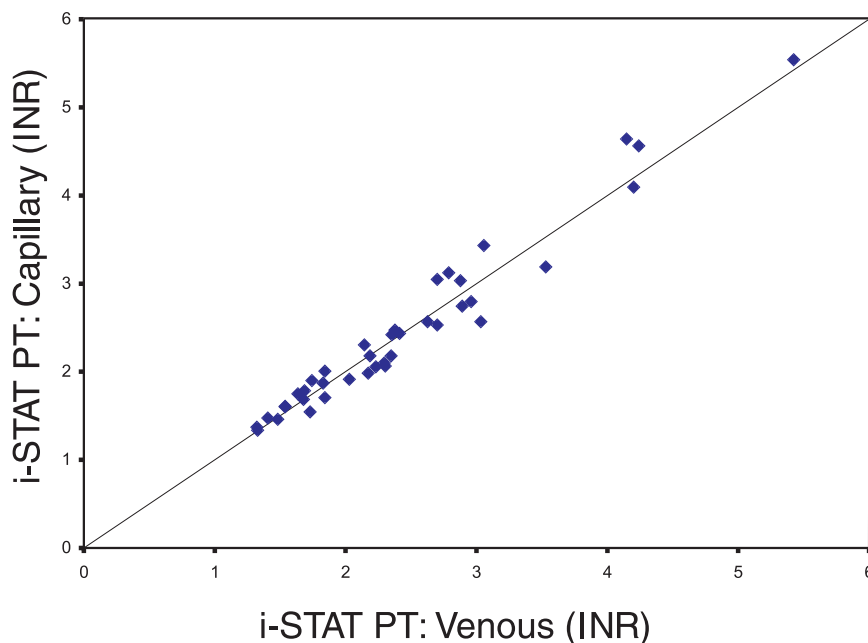
Statistička vrijednost	<i>i-STAT nasuprot Siemens Sysmex® CA-1500 i reagens Dade® Innovin®</i>	<i>i-STAT nasuprot STA Compact® i reagens Neoplastine® CI Plus</i>	<i>i-STAT nasuprot IL ACL 7000 i reagens HemosIL® RecombiPlasTin 2G®</i>
n	78	78	69
Srednja vrijednost (INR)	2,1	2,1	2,2
Raspon (INR)	0,9 – 4,5	0,9 – 4,1	0,9 – 4,0
Sx (INR)	0,843	0,772	0,840
Nagib	0,981	1,074	0,972
Konstantni član (INR)	0,084	-0,100	0,003
r	0,963	0,964	0,962
Sy.x	0,233	0,229	0,233





U nastavku su prikazani podaci s jedne kliničke lokacije koji uspoređuju podatke dobivene na kapilarnim uzorcima s podacima dobivenim iz venskih uzoraka analiziranim u sustavu i-STAT.

Statistička vrijednost	Kapilarno nasuprot venskog
n	39
Srednja vrijednost (INR)	2,4
Raspon (INR)	1,3 – 5,4
Sx (INR)	0,960
Nagib	1,049
Konstantni član (INR)	-0,098
Sy,x	0,128
r	0,978



Čimbenici koji utječu na rezultate

- Prisutnost egzogeno dodanog heparina, citrata, oksalata ili EDTA iz opreme za uzimanje uzoraka krvi bit će smetnja rezultatima ispitivanja.
- Loša tehnika prikupljanja uzoraka također može ugroziti točnost rezultata. (pogledajte dio Prikupljanje i priprema uzoraka u nastavku).
- Staklene štrcaljke ili epruvete mogu prerano aktivirati koagulaciju, što skraćuje vrijeme zgrušavanja i snižava INR. Venski uzorci moraju se prikupljati u plastične štrcaljke ili epruvete.
- Često propisivani lijekovi mogu utjecati na rezultate mjerenja vrijednosti PT/INR.
- Abbott Point of Care nije ispitao test vrijednosti PT/INR sustava i-STAT na pacijentima koji imaju antitijela lupusnog antikoagulansa. Ako se zna za prisutnost antitijela lupusnog antikoagulansa ili postoji sumnja na njih, razmislite o upotrebi laboratorijske analize protrombinskog vremena koja upotrebljava reagens za koji se zna da nije osjetljiv na antitijela lupusnog antikoagulansa ili alternativnu laboratorijsku metodu.

Ograničenja testa vrijednosti PT/INR u sustavu i-STAT

- Tijekom ispitivanja analizator mora ostati na vodoravnoj površini koja ne vibrira sa zaslonom okrenutim prema gore. Vodoravna površina obuhvaća i smještanje ručnog uređaja u spojnu jedinicu / punjač.
- Koncentracije fibrinogena u rasponu između 70 i 541 mg/dL ne utječu na vrijednosti PT/INR u sustavu i-STAT. Metodologija elektrogenog testa PT/INR u sustavu i-STAT ne mjeri fizički ugrušak te ne ovisi o tome formira li fibrinogen stvarni fizički ugrušak fibrina. Zbog toga test PT/INR u sustavu i-STAT ne odražava produljenje vremena koagulacije povezano sa smanjenjem količine fibrinogena (npr. potrošna koagulopatija), diseminirane intravaskularne koagulacije ili sindroma defibrinacije.
- Koncentracije nefrakcijskog heparina do 1,0 U/mL ne utječu na test PT/INR u sustavu i-STAT.
- Hematokriti u rasponu od 24 – 54 % PCV dokazano ne utječu na rezultate.
- Cubicin® (daptomicin za ubrizgavanje) pri upotrebi testa PT/INR u sustavu i-STAT dokazano uzrokuje lažno produljenje protrombinskog vremena (PT) i povišenje INR-a ovisno o koncentraciji. Preporučuje se u pacijenata koji primaju taj antibiotik upotrijebiti alternativnu metodu za mjerenje vrijednosti PT/INR.
- U slučaju onečišćenja uzoraka klorheksidin-glukonatom test PT/INR u sustavu i-STAT može rezultirati lažnim produljenjem protrombinskog vremena (PT) i povišenjem INR-a.
- Test PT/INR u sustavu i-STAT nije namijenjen procjeni nedostataka pojedinačnih čimbenika.

Prikupljanje i priprema uzoraka

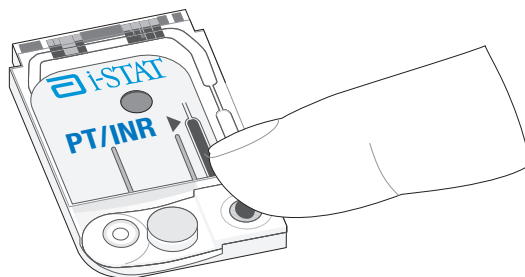
Oprez: uložak testa PT/INR u sustavu i-STAT namijenjen je prihvaćanju uzorka u količini od 20 do 45 mikrolitara. Jedna kap krvi iz prsta ili kap formirana na vrhu štrcaljke obično je te veličine. Ako se u komoru unese veći volumen, zatvarajte uložak pažljivo jer može doći do izbacivanja viška krvi iz uložka.

Test PT/INR u sustavu i-STAT može se vršiti na kapilarnim ili venskim uzorcima.

Probod kože

1. Izvadite uložak iz vrećice od folije i postavite uložak na ravnu površinu.
2. Pripremite lancetni uređaj i odložite ga na stranu za kasnije.
3. Očistite i pripremite prst iz kojega će se uzimati uzorak upotrebom 70 postotne vodene otopine izopropanola (70 % v/v).⁵ Pustite da se prst osuši prije uzimanja uzorka. Pri dezinfekciji mjesta na kojima će se vršiti probod ne preporučuje se upotreba tupfera ni otopina koje sadrže tvari različite od izopropanola (npr klorheksidin-glukonat). Za dodatne informacije pogledajte raniji odjeljak „Ograničenja testa vrijednosti PT/INR u sustavu i-STAT“.
4. Lancetnim uređajem probodite donju stranu jagodice na prstu.
5. Lagano stisnite prst, tako da se stvori viseća kap krvi i izvršite ispitivanje na prvom uzorku krvi. *Izbjegavajte ponavljanje jakog pritiska („mužnja“) jer može dovesti do hemolize ili kontaminaciju tkivnom tekućinom.*
6. Postavite prst tako da kap krvi dodiruje komoru za uzorke. Kad dođe u dodir s komorom za uzorke, krv će biti uvučena u uložak.
7. Dodajte uzorak do dostizanja oznake količine na ulošku.
8. Preklopite poklopac preko otvora komore za uzorke.
9. Pritisnite zaobljenu stranu poklopca tako da čujno sjedne na mjesto.

Napomena: kako bi se olakšao unos uzorka u uložak za ispitivanje, moguće je prinijeti uložak prstu. Ipak, svakako se pobrinite da instrument leži na ravnoj podlozi koja ne vibrira tijekom ispitivanja.



Probodi vene

- Mora se rabiti tehnika koja daje dobar protok krvi.
- Uzorak za testiranje mora se prikupljati u **plastičnu posudu za prikupljanje** (plastičnu štrcaljku ili plastičnu eprvetu 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. Kap krvi mora dodirnuti dno komore za uzorke. Kad dođe u dodir s komorom za uzorke, krv će biti uvučena u uložak.
- Ako je potrebno drugo mjerenje, treba uzeti svjež uzorak.

Napomena: Neki stručnjaci preporučuju izvlačenje i odbacivanje uzorka od najmanje 1,0 mL prije izvlačenja uzorka za ispitivanje koagulacije.⁶

Reference

1. Kirkwood TBL. Calibration of Reference Thromboplastins and Standardisation of the Prothrombin Time Ratio. *Thrombosis Haemostasis*, 49 (3) 238-244, 1983.
2. L. Poller, The Prothrombin Time (Synonymous with thromboplastin time or Quick test), World Health Organization, Geneva, WHO/LAB/98.3, 1998.
3. CLSI. How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline--Second Edition. CLSI document C28-A2 (ISBN 1-56238-406-6). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2000.
4. P.J. Cornbleet and N. Gochman, "Incorrect Least-Squares Regression Coefficients in Method Comparison Analysis," *Clinical Chemistry* 25:3, 432 (1979.).
5. CLSI. Procedures and Devices for the Collection of Diagnostic Capillary Blood Specimens; Approved Standard—Sixth Edition. CLSI document H4-A6 [ISBN 1-56238-677-8]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2008.
6. 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.

Dade Innovin, and BCS are registered trademarks of Dade Behring Inc., Deerfield, IL.

STA Compact is a registered trademark of Diagnostica Stago, Cedex, France.

STA Neoplastine is a registered trademark of Diagnostica Stago, Cedex, France.

Sysmex is a registered trademark of Sysmex Corporation.

ACL, HemosIL, and RecombiPlasTin are trademarks or registered trademarks of Instrumentation Laboratory Company.

Cubicin is a registered trademark of Cubist Pharmaceuticals, Inc., Lexington, MA.



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



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
Nizozemska



©2018. Abbott Point of Care Inc. Sva prava pridržana. Tiskano u SAD-u