

PROTROMBINOVÝ ČAS / (PT/INR)

Test i-STAT® PT/INR je vyhodnocení protrombinového času s plnou krví používané pro monitorování orálně podávaných antikoagulantů (Coumadinu nebo warfarinu). Test stanoví čas potřebný pro úplnou aktivaci vnější cesty koagulační kaskády, když je iniciována (aktivována) tromboplastinem.

V testu protrombinového času je koagulace spuštěna smícháním vzorku s tromboplastinem tkáně. Ve tradičních testech protrombinového času je úplná aktivace indikována, když aktivovaný trombin převádí fibrinogen na fibrin a mechanicky či opticky jsou detekovány rozsáhlé nebo lokalizované sraženiny. Test i-STAT PT/INR je podobný, s tím rozdílem, že koncový bod je označen konverzí substrátu trombinu jiného než fibrinogenu. K detekci této konverze se používá elektrochemický snímač.

Přidaný substrát trombinu je H-D-fenylalanyl-pipcolyl-arginin-p-amino-p-methoxydifenyloamin, který má strukturu:



Trombin štěpí amidovou vazbu na karboxylovém konci argininového rezidua (označeného dvěma pomlčkami), protože vazba strukturně připomíná trombinem štěpenou amidovou vazbu ve fibrinogenu. Produktem reakce trombinu-substrátu je elektrochemicky inertní tripeptid fenylalanyl - pipecolyl - arginin a elektroaktivní sloučenina $\text{NH}_3^+ - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{NH} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{OCH}_3$. Vytvoření elektroaktivní sloučeniny se detekuje ampérometricky a je změřen čas detekce.

Výsledek testu PT/INR je hlášen jako mezinárodní normalizovaný poměr (INR) a volitelně v sekundách. Doporučeným způsobem hlášení výsledků pro monitorování orálně podávané léčby antikoagulanty je INR.¹ Střední normální protrombinový čas i-STAT (s) a ISI se stanoví podle doporučení WHO v zařízení akreditovaném CAP. Výsledky INR se vypočítávají pomocí následující rovnice:

$$\text{INR} = \frac{\left[\text{pacientův protrombinový čas i-STAT (s)} \right]^{ISI}}{\left[\text{Střední normální protrombinový čas i-STAT (s)} \right]}$$

Volitelně zobrazené jednotky v sekundách ukazují tradiční PT časy plazmy. Nahlášený čas je odvozen od výsledku PT/INR a rovnice níže pomocí ISI 1,05 a typického středního PT času normální plazmy 12,0 sekund.

$$\text{INR} = \frac{\left[\text{protrombinový čas pacientovy plazmy (s)} \right]^{ISI}}{\left[\text{Střední normální protrombinový čas plazmy (s)} \right]}$$

Pokud se výsledky zdají být v rozporu s klinickým hodnocením, měl by být vzorek pacienta znovu odebrán a znovu otestován pomocí jiné kazety.

Určené použití

Test protrombinového času i-STAT PT je užitečný k monitorování pacientů, kteří dostávají perorální antikoagulační terapii, jako je například Coumadin nebo Warfarin.

Obsah

Každá kazeta i-STAT PT/INR má komoru na odběr vzorků, snímače k detekci koncového bodu koagulace a suchá činidla nezbytná k zahájení a umožnění koagulace. Složky a činidla inertní matrice jsou pokryté na části kanálu snímače a zahrnují následující reaktivní složky:

Reaktivní složka	Biologický zdroj	Minimální množství
Rekombinantní tkáňový tromboplastin	Lidský	0,18 mg
Heparináza I	<i>Flavobacterium heparinum</i>	0,018 IU
Substrát trombinu	Nevztahuje se	0,4 µg

Metrologická sledovatelnost

Test systému i-STAT na protrombinový čas (PT/INR) měří mezinárodní normalizovaný poměr (bezrozměrný) vyjadřující relativní časový interval potřebný k úplné aktivaci koagulační kaskády v kapilární nebo venózní plné krvi tromboplastinem *in vitro* pro monitorování léčby orálně podávaným koagulantem (Coumadinem nebo warfarinem). Hodnoty PT/INR přiřazené k ovládacím prvkům i-STAT jsou sledovatelné v souladu s postupy pro mezinárodní referenční měření Světové zdravotnické organizace (WHO) a podle mezinárodních referenčních materiálů WHO.² Ovládací prvky systému i-STAT jsou validovány pro použití pouze se systémem i-STAT a přiřazené hodnoty se nesmí zaměňovat s jinými metodami. Další informace týkající se metrologické sledovatelnosti jsou k dispozici od společnosti Abbott Point of Care Inc.

Očekávané hodnoty

Test / zkratka	Jednotky	Ověřené klinické rozmezí
Protrombinový čas / (PT/INR)	INR	0,9–6,0*

*Výkonové charakteristiky měření i-STAT PT/INR nebyly stanoveny při INR nad 6,0.

Pracovní charakteristiky

Níže uvedené typické souhrnné provozní hodnoty byly získány ve zdravotnickém zařízení kvalifikovaným zdravotnickým personálem vyškoleným v používání systému i-STAT metod.

Nepřesnost

Počáteční studie byly provedeny za účelem shromáždění dat nepřesností pro vzorky venózní a kapilární plné krve. Data nepřesnosti pro vzorky plné venózní krve byla shromážděna duplicitně na dvou klinických pracovištích. Data nepřesnosti pro vzorky plné kapilární krve byla shromážděna duplicitně na jednom klinickém pracovišti pomocí jednoho odběru kapilární krve z prstu. Níže uvedená tabulka tato data shrnuje.

Statistika	Místo 1 (venózní)	Místo 2 (venózní)	Místo 3 (kapilární)
n	181	102	33
Průměr (INR)	2,6	2,4	2,5
Variační koeficient %	4,7%	4,0%	4,6%

Níže uvedené údaje o nepřesnosti pro kontrolní materiál lyofilizované plazmy byly shromážděny během studií v zařízení Abbott Point of Care a během klinických hodnocení. SD a %CV jsou pro aktuální výkon typické. Informace o odpovídajících středních údajích kontroly plazmy lze nalézt v dokumentech s přidělením aktuálních hodnot.

Kontrola plazmy	Průměr	SD	Variační koeficient %
Úroveň 1	1,1 (INR)	0,05	4,5%
Úroveň 2	2,5 (INR)	0,17	6,9%

Referenční interval

Ve studii, jejíž cílem bylo určení referenčního intervalu pro PT/INR, byly venózní vzorky od zdravých dobrovolníků odebírány do plastových zkumavek a plná krev byla analyzována pomocí jedné šarže kazet v systému i-STAT. Od stejných dobrovolníků byly pomocí Softclick Pro (nastavení 3) získány kapilární vzorky, které byly poté analyzovány pomocí stejné šarže kazety. Referenční intervaly pro INR ve venózních a kapilárních vzorcích byly určeny podle směrnice CLSI C28-A2.³ Údaje jsou shrnuty v níže uvedené tabulce:

Statistika	Plná žilní krev	Kapilární plná krev
n	120	119
Průměr (INR)	1,0	1,0
SD	0,1	0,1
Referenční rozmezí (INR)	0,8 – 1,2	0,8 – 1,2

Vzhledem k mnoha proměnným, které mohou výsledky PT/INR ovlivnit, by si každá laboratoř měla stanovit svůj vlastní referenční interval.

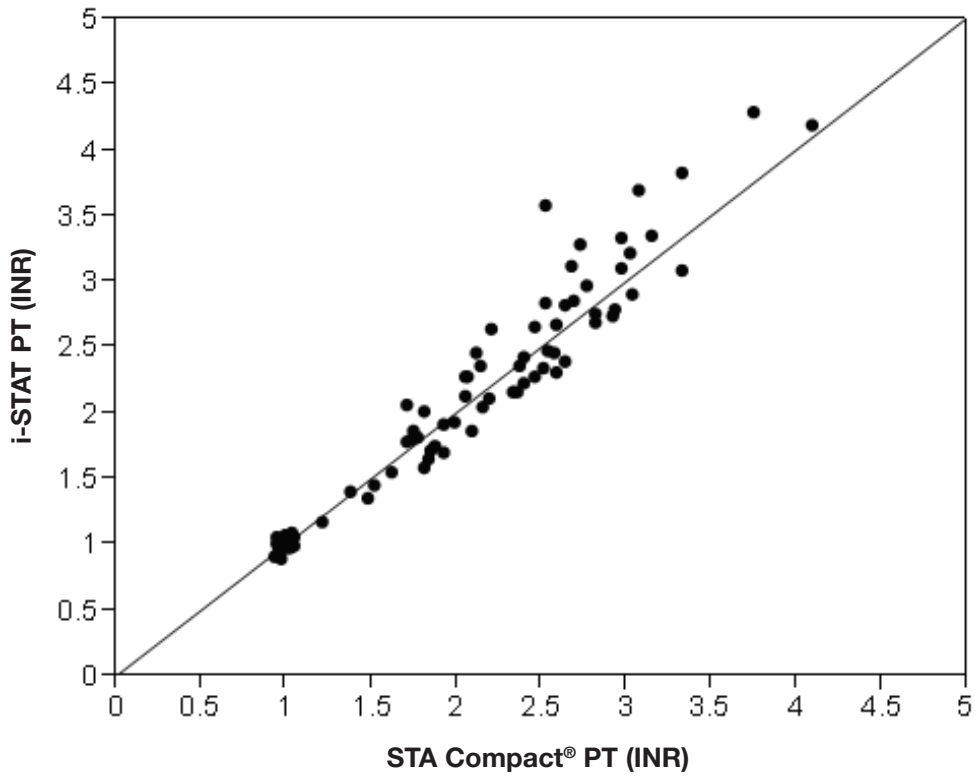
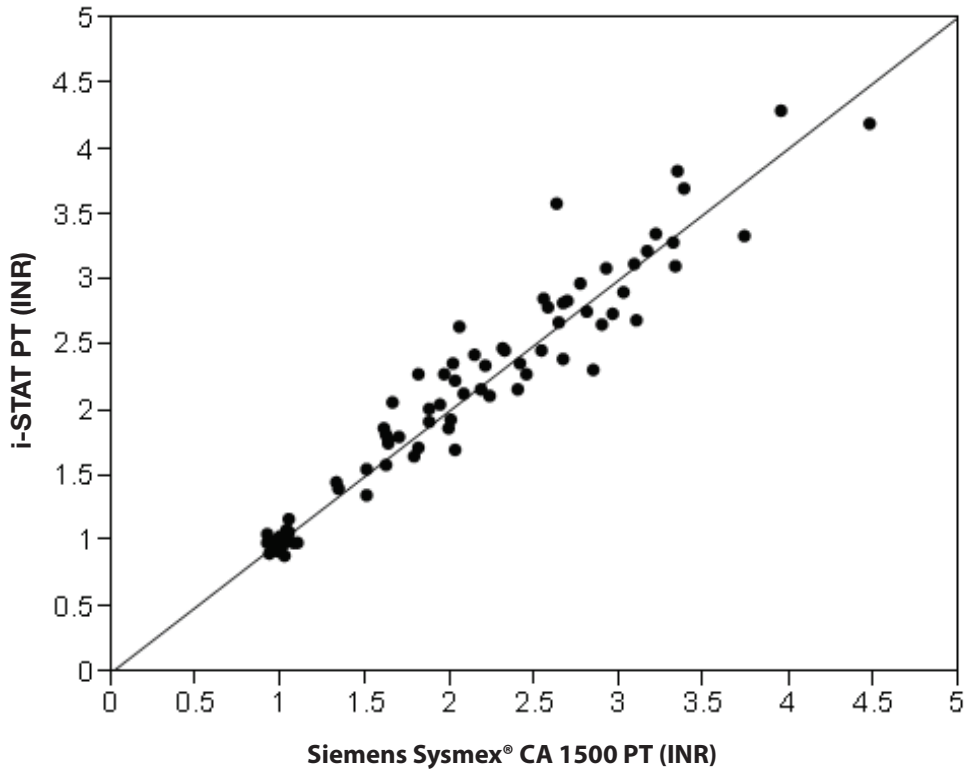
Porovnání metod

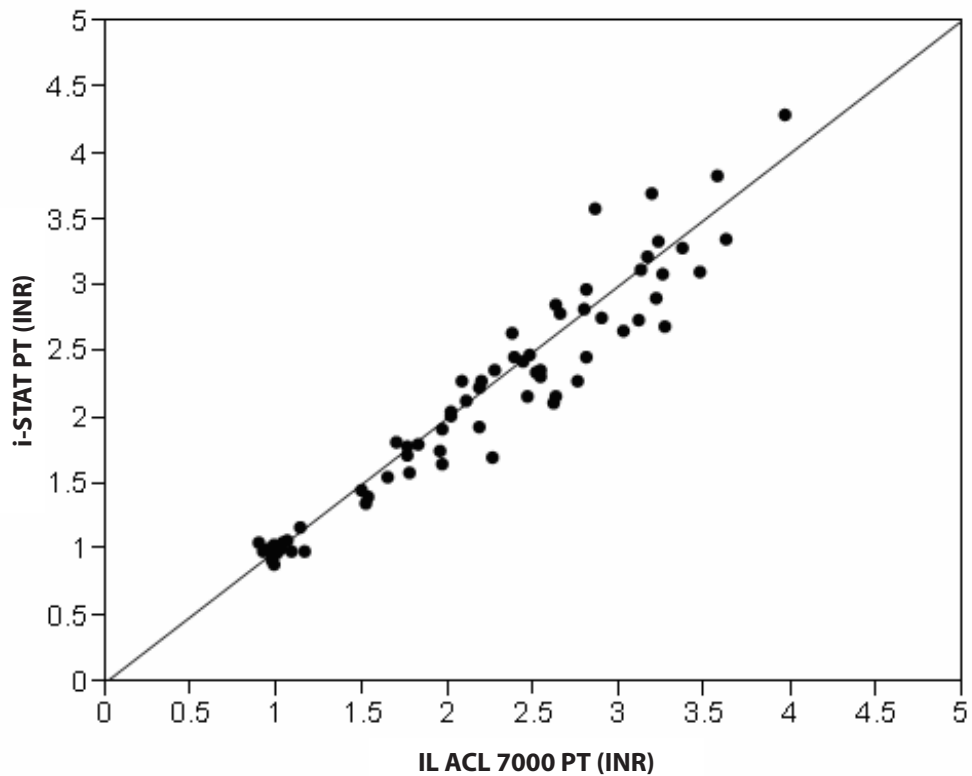
Data porovnání metod byla shromážděna v laboratoři Hemostasis Reference Laboratory (Hamilton, Ontario, Kanada). Venózní vzorky od ambulantních pacientů podstupujících rutinní léčbu orálně podávanými antikoagulanty byly odebrány do plastových zkumavek a byly duplicitně analyzovány na několika šaržích kazet v systému i-STAT; plazma ze zkumavek obsahujících citrátový antikoagulant byla analyzována duplicitně na srovnávacích nástrojích pomocí činidel Dade® Innovin®, STA Neoplastine® CI Plus a HemosIL® RecombiPlasTin 2G®.

Demingova regresní analýza⁴ byla provedena u prvního měření každého vzorku. V tabulce porovnání metod je n počet vzorků v sadě dat, $S_{y,x}$ je standardní chyba odhadu a r je korelační koeficient.

Porovnání metod se bude na jednotlivých pracovištích lišit kvůli způsobu zpracování vzorků, použitých činidel a nástrojových systémů a dalších specifických proměnných daného pracoviště. Ke stanovení rozdílů mezi měřením PT/INR systémem i-STAT a jinými použitými metodami by měla být provedena korelační studie.

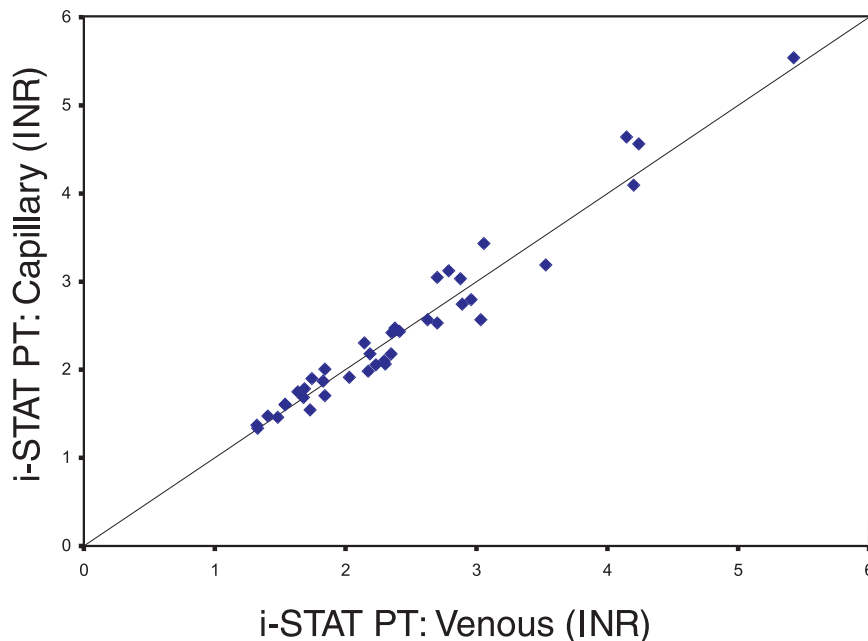
Statistika	i-STAT vs. Siemens Sysmex® CA-1500 a činidlo Dade® Innovin®	i-STAT vs. STA Compact® a činidlo Neoplastine® CI Plus reagent	i-STAT vs. IL ACL 7000 a činidlo HemosIL® RecombiPlasTin 2G®
n	78	78	69
Průměr (INR)	2,1	2,1	2,2
Rozmezí (INR)	0,9 – 4,5	0,9 – 4,1	0,9 – 4,0
Sx (INR)	0,843	0,772	0,840
Sklon	0,981	1,074	0,972
Intercept (INR)	0,084	-0,100	0,003
r	0,963	0,964	0,962
Sy,x	0,233	0,229	0,233





Níže jsou uvedena data z jednoho klinického pracoviště porovnávajícího údaje z kapilárních vzorků s údaji z venózních vzorků analyzovaných v systému i-STAT.

Statistika	Kapilární vs. venózní
n	39
Průměr (INR)	2,4
Rozmezí (INR)	1,3 – 5,4
Sx (INR)	0,960
Sklon	1,049
Intercept (INR)	-0,098
Sy,x	0,128
r	0,978



Faktory ovlivňující výsledky

- Přítomnost exogenně přidaného heparinu, citrátu, oxalátu nebo EDTA ze zařízení pro odběr krve bude narušovat výsledky testů.
- Výsledky může ovlivnit špatná technika při odběru vzorků. (Viz odběr a příprava vzorku níže.)
- Skleněné stříkačky nebo zkumavky mohou předčasně aktivovat koagulaci, což má za následek zkrácení doby srážení a nižšími hodnotami INR. Venózní vzorky se musí odebírat do plastových stříkaček nebo zkumavek.
- Výsledky PT/INR mohou být ovlivněny běžně podávanými léčivými.
- Společnost Abbott Point of Care neurčila charakteristiky testu PT/INR pomocí systému i-STAT u pacientů, kteří mají protilátky lupus antikoagulanty. Pokud je známa přítomnost protilátek lupus antikoagulanty, nebo na jejich přítomnost existuje podezření, zvažte použití laboratorního testu na protrombinový čas pomocí činidla, o kterém je známo, že není citlivé na protilátky lupus antikoagulanty nebo alternativní laboratorní metodu.

Omezení testu i-STAT PT/INR

- Analyzátor musí být během testu na rovném povrchu odolném vůči vibracím s displejem směřujícím nahoru. Rovný povrch zahrnuje spuštění ručního přístroje na načítací/nabíjecí stanici.
- Test PT/INR na systému i-STAT není ovlivňován fibrinogeny v koncentracích mezi 70 a 541 mg/dl. Metodika elektrogenního testu PT/INR pomocí systému i-STAT neměří fyzickou sraženinu ani nezávisí na tom, zda se fibrinogen vytvoří skutečnou fyzickou fibrinovou sraženinu, či nikoliv. Test PT/INR systémem i-STAT jako takový nebude odrážet prodloužení doby koagulace spojené s vyčerpáním fibrinogenu (např. konsumptivní koagulopatií), diseminovanou intravaskulární koagulací nebo afibrinogenemií.
- Test PT/INR na systému i-STAT není ovlivňován nefrakcionovaným heparinem v koncentracích až do 1,0 u/ml.
- Bylo prokázáno, že hematokrit v rozsahu 24–54 % PCV neovlivňuje výsledky.
- Bylo zjištěno, že Cubicin® (injekční daptomycin) při použití testu PT/INR v systému i-STAT způsobuje falešné prodloužení protrombinového času (PT) a zvýšení INR závislé na koncentraci. U pacientů léčených pomocí tohoto antibiotika se doporučuje používat k vyhodnocení PT/INR alternativní metodu.
- Test PT/INR systémem i-STAT může vykazovat falešné prodloužení protrombinového času (PT) a zvýšení INR u vzorků kontaminovaných chlorhexidin glukonátem.
- Test PT/INR systémem i-STAT není určen k hodnocení nedostatečností jednotlivých faktorů.

Odběr a příprava vzorku

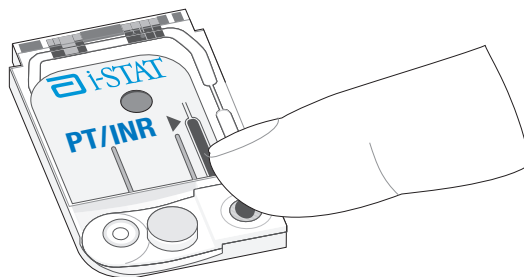
Pozor: Kazeta PT/INR systému i-STAT je navržena tak, aby dokázala přijmout vzorky s objemem od 20 do 45 mikrolitrů. V tomto rozmezí je obvykle jedna kapka krve buď z prstu, nebo kapička, která se vytvoří na konci stříkačky. Pokud by byl do vzorku dodán větší objem, buďte při uzavírání zásobníku opatrní, protože nadbytečná krev by mohla být ze zásobníku vytlačena ven.

Test PT/INR systému i-STAT lze provést pomocí kapilárních nebo venózních vzorků.

Vpichy do kůže

1. Vyjměte kazetu z fóliového sáčku a umístěte ji na rovný povrch.
2. Připravte lancetu a odložte ji stranou, dokud nebude potřeba.
3. Umyjte a pomocí 70% vodného roztoku isopropanolu (70% v/v) připravte prst, ze kterého má být prováděn odběr.⁵ Před odebráním vzorku nechte prst řádně oschnout. K dezinfekci místa vpichu do prstu se nedoporučují tyčinky ani roztoky obsahující látky jiné než isopropanol (např. chlorhexidin glukonát). Další informace naleznete ve výše uvedené části „Omezení testu PT/INR systému i-STAT“.
4. Pomocí lancety píchněte do spodní části konečku prstu.
5. Jemně prst stiskněte, dokud se neobjeví kapka krve, a proveďte test s prvním vzorkem krve. *Nevytvářejte silný opakovaný tlak („dojení“), to by totiž mohlo způsobit hemolýzu nebo kontaminaci tkáňové tekutiny vzorku.*
6. Kapičku krve obtiskněte na spodní část jamky vzorku. Po kontaktu s jamkou vzorku bude krev nasáta do kazety.
7. Vzorek vkládejte, dokud nedosáhne plnicí značky uvedené na kazetě.
8. Přehněte uzávěr vzorku přes jamku vzorku.
9. Stiskněte zakulacený konec uzávěru, aby zapadl na své místo.

Poznámka: Pro další zjednodušení vkládání vzorku do testovací kazety je možné posunout kazetu k prstu, aby byla aplikace snadnější. Zajistěte, aby přístroj zůstal pro potřeby testování na rovném povrchu bez vibrací.



Vpichy do žíly

- Musí být použita technika odběru s dobrým výsledným tokem krve.
- Vzorek k testování by měl být odebrán do **plastového sběrného zařízení** (buď plastové stříkačky nebo plastové zkumavky).
- Sběrné zařízení **nesmí obsahovat antikoagulanty**, jako jsou heparin, EDTA, oxalát či citrát.
- Sběrné zařízení **nesmí obsahovat aktivátory srážení krve ani sérové separátory**.
- Vzorek by měl být okamžitě vypuštěn do jamky vzorku v zásobníku. Kapičku krve byste měli obtisknout na spodní část jamky vzorku. Po kontaktu s jamkou vzorku bude krev nasáta do kazety.
- Pokud je nutné provést druhé měření, měl by být odebrán čerstvý vzorek.

Poznámka: Někteří odborníci doporučují odebrat a zlikvidovat (venózní) vzorek o objemu alespoň 1,0 mL a až poté odebrat vzorek pro koagulační testování.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, str. 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 • USA



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
Nizozemsko



©2018 Abbott Point of Care Inc. Všechna práva vyhrazena. Vytisknuto v USA