TEMPO DI PROTROMBINA/ (PT/INR)

Il test PT/INR i-STAT® permette di misurare il tempo di protrombina nel sangue intero per il monitoraggio delle terapie a base di anticoagulante orale (Coumadin o warfarin). Il test permette di stabilire il tempo necessario per l'attivazione completa della via estrinseca del processo di coagulazione attivato dalla tromboplastina.

Nei test di misurazione del tempo di protrombina, la coagulazione si avvia appena il campione viene miscelato con la tromboplastina del tessuto. Nei test per la misurazione del tempo di protrombina tradizionali, l'attivazione completa si ottiene quando la trombina attivata trasforma il fibrogeno in fibrina ed è possibile rilevare coaguli estesi o localizzati con strumenti meccanici o ottici. Il test PT/INR i-STAT differisce dai test tradizionali perché il punto finale è indicato dalla trasformazione di un substrato della trombina diverso dal fibrogeno. Questa trasformazione viene rilevata tramite un sensore elettrochimico.

Il substrato della trombina aggiunto è costituito da H-D-fenilalanil-pipecolil-arginina-p-amino-p-metossidifenilammina avente la seguente struttura:

Fenilalanina - Acido pipecolico - Arginina -- NH - C_6H_4 - NH - C_6H_4 - OCH_3

La trombina determina la scissione del legame con l'amide in corrispondenza del gruppo carbossilico terminale del residuo di arginina (indicato dai due trattini), a causa della somiglianza strutturale di quest'ultimo con il legame con l'amide che viene scisso dalla trombina nel fibrinogeno. I prodotti della reazione tra trombina e substrato sono un tripeptide elettrochimicamente inerte, il fenilalanile - pipecolite - arginina, e il composto elettroattivo NH_3^+ - C_6H_4 - NH - C_6H_4 - OCH_3. La formazione del composto elettroattivo viene rilevata con il metodo amperometrico e il tempo di rilevamento viene misurato.

Il risultato del test PT/INR deve essere riportato in valori INR (International Normalized Ratio) ed eventualmente anche in secondi. L'unità di misura INR è quella per il monitoraggio delle terapie a base di anticoagulante orale.[1] Il tempo di protrombina normale medio i-STAT (in secondi) e il valore ISI sono stati determinati seguendo le indicazioni dell'WHO in una struttura accreditata per analisi CAP. I risultati INR sono stati calcolati utilizzando la seguente equazione:

$$INR = \left[\frac{\text{Tempo di protrombina i-STAT del paziente (sec)}}{\text{Tempo di protrombina medio normale i-STAT (sec)}}\right]^{ISI}$$

I risultati in secondi visualizzati su richiesta riflettono i tempi PT tradizionali riferiti al plasma. Il tempo indicato si ottiene utilizzando il risultato PT/INR e l'equazione riportata di seguito con un valore ISI di 1,05 e un tempo PT normale medio per il plasma di 12,0 secondi.

$$INR = \left[\frac{\text{Tempo di protrombina del plasma del paziente (sec)}}{\text{Tempo di protrombina del plasma medio normale (sec)}}\right]^{ISI}$$

Se i risultati non concordano con la valutazione clinica, il campione di sangue prelevato dal paziente deve essere nuovamente raccolto e analizzato con un'altra cartuccia.

Uso previsto

i-STAT PT, un test per il tempo di protrombina, è utile per monitorare i pazienti a cui viene somministrata una terapia anticoagulante come Coumadin o warfarin.

Contenuto

Ogni cartuccia PT/INR i-STAT è munita di una camera di raccolta del campione, di sensori per il rilevamento del punto finale della coagulazione e dei reagenti secchi necessari per avviare e rendere possibile la coagulazione. I componenti con matrice inerte e i reagenti, che ricoprono una sezione del canale del sensore, comprendono i seguenti ingredienti reattivi:

Ingrediente reattivo	Origine biologica	Quantità minima
Tromboplastina tissutale ricombinante	Umana	0,18 mg
Eparinasi I	*Flavobacterium heparinum*	0,018 IU
Substrato per la trombina	Non applicabile	0,4 µg

Tracciabilità metrologica

Il test PT/INR del sistema i-STAT misura il rapporto normalizzato internazionale (privo di dimensioni) che esprime l'intervallo di tempo richiesto per l'attivazione completa del processo di coagulazione con la tromboplastina nel sangue intero capillare o venoso utilizzata per il monitoraggio *in vitro* delle terapie a base di anticoagulante orale (Coumadin o warfarin). I valori PT/INR assegnati alle soluzioni di controllo i-STAT sono tracciabili e conformi alle procedure di misurazione di riferimento internazionali del WHO e alle procedure di riferimento internazionali di preparazione consigliate dal WHO.[2] Le soluzioni di controllo i-STAT possono essere utilizzate solo con questo sistema. Pertanto, i valori assegnati non possono essere utilizzati con altri metodi. Ulteriori informazioni sulla tracciabilità metrologica possono essere richieste direttamente a Abbott Point of Care Inc.

Valori previsti

Analisi/Abbreviazione	Unità	Range clinico rilevabile
Tempo di protrombina/ (PT/INR)	INR	0,9 - 6,0*

* L'uso dei testi PT/INR i-STAT non è stato valutato per valori INR superiori a 6,0.

Caratteristiche

I dati sulle prestazioni riassunti di seguito sono stati raccolti in ambiente sanitario da personale esperto nell'uso del sistema i-STAT e di metodi di confronto.

Imprecisione

Per raccogliere dati di imprecisione relativi a campioni di sangue intero venoso e capillare sono stati eseguiti studi iniziali. La tabella che segue mostra le stime di imprecisione dei campioni di sangue intero venoso riferite a due campioni raccolti in due diversi centri ospedalieri. La tabella mostra le stime di imprecisione dei campioni di sangue intero capillare riferite a due campioni raccolti in un centro ospedaliero con un unico dispositivo pungidito capillare.

Dati statistici	Sito 1 (sangue venoso)	Sito 2 (sangue venoso)	Sito 3 (sangue capillare)
n	181	102	33
Media (INR)	2,6	2,4	2,5
%CV	4,7%	4,0%	4,6%

La tabella che segue mostra le stime di imprecisione per il materiale di controllo del plasma liofilizzato riferite a studi eseguiti in una struttura di Abbott Point of Care Inc. e nel corso di studi clinici. DS e %CV sono tipici dell'attuale prestazione. Per i valori medi del controllo del plasma applicabili fare riferimento alle attuali schede di attribuzione dei valori.

Controllo del plasma	Media	DS	%CV
Livello 1	1,1 (INR)	0,05	4,5%
Livello 2	2,5 (INR)	0,17	6,9%

Range di riferimento

In uno studio mirato a stabilire il range di riferimento per il valore PT/INR, sono stati raccolti campioni di sangue venoso, prelevati da pazienti volontari, in provette di plastica. Il sangue intero è stato analizzato utilizzando il sistema i-STAT con un unico lotto di cartucce. Sono stati prelevati anche campioni capillari dagli stessi volontari utilizzando un Softclick Pro (impostazione di 3). I campioni sono stati analizzati con lo stesso lotto di cartucce. I range di riferimento per i valori INR dei campioni venosi e capillari sono stati misurati in conformità con le linee guida CLSI C28-A2.[3] I dati sono riepilogati nella tabella che segue.

Dati statistici	Sangue intero venoso	Sangue intero capillare
n	120	119
Media (INR)	1,0	1,0
DS	0,1	0,1
Range di riferimento (INR)	0,8 - 1,2	0,8 - 1,2

A causa delle numerose variabili che influiscono sui risultati PT/INR, è consigliabile che ciascun laboratorio stabilisca il proprio range di riferimento.

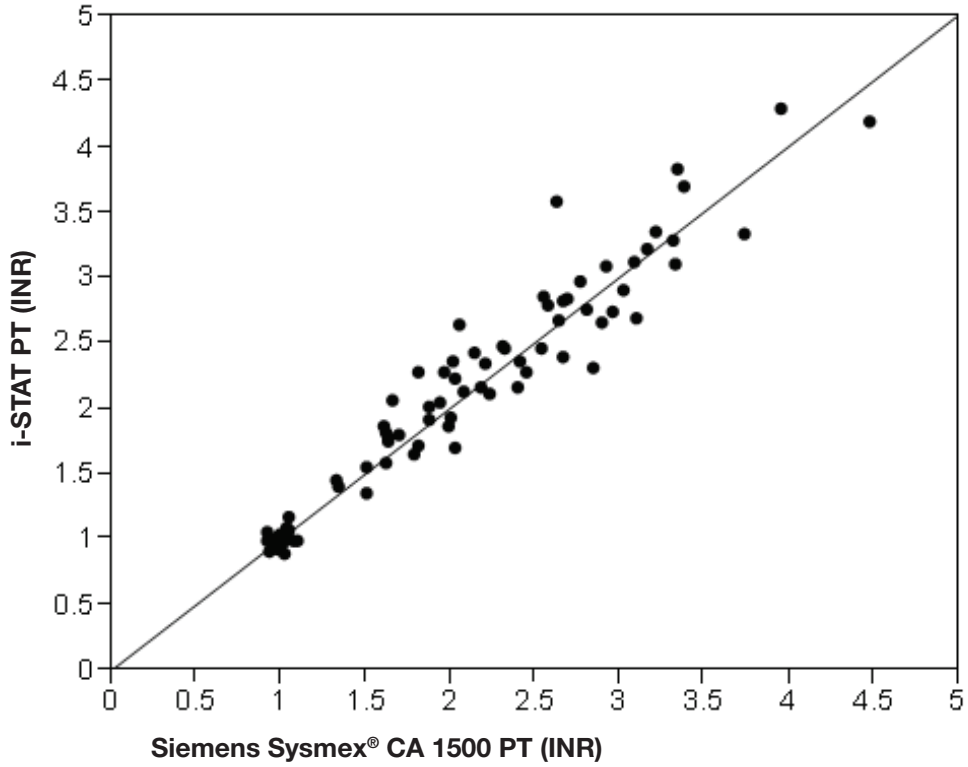
Confronto metodologico

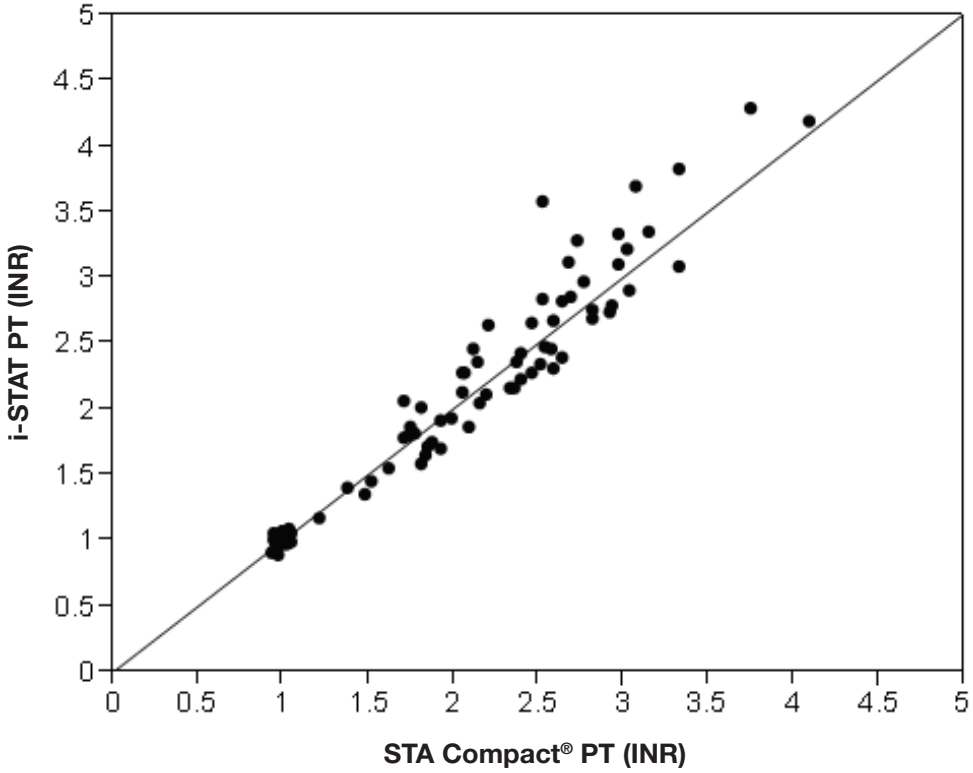
I dati per il confronto metodologico sono stati raccolti nell'Hemostasis Reference Laboratory (Hamilton, Ontario, Canada). I campioni venosi dei pazienti esterni sottoposti ad una regolare terapia a base di anticoagulante orale sono stati raccolti in provette di plastica e analizzati in doppio utilizzando un sistema i-STAT con lotti multipli di cartucce. Il plasma delle provette contenenti un anticoagulante a base di citrato sono stati analizzati in doppio utilizzando strumenti di analisi di confronto e Dade® Innovin®, STA Neoplastine® CI Plus e HemosIL® RecombiPlasTin 2G® come reagenti.

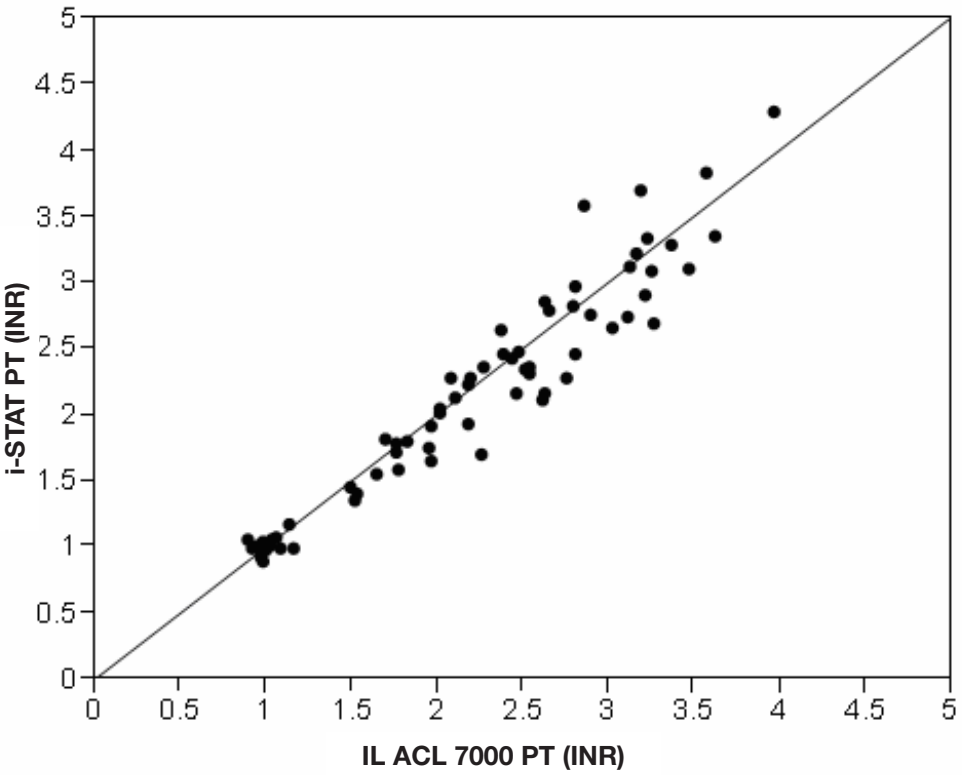
L'analisi di regressione di Deming[4] è stata eseguita sulla prima copia di ogni campione. Nella tabella di confronto metodologico, *n* corrisponde al numero di campioni nel gruppo di dati, *Sy.x* è l'errore standard della stima e *r* il coefficiente di correlazione.

Il confronto metodologico varia da sito a sito, a seconda delle differenze di manipolazione dei campioni, dei reagenti e degli apparecchi in uso e di altre variabili specifiche del sito. Può essere necessario effettuare uno studio di correlazione per stabilire le differenze tra le misurazioni che si ottengono con il test PT/INR i-STAT e altri metodi.

Dati statistici	Confronto tra i-STAT e Siemens Sysmex® CA-1500 e il reagente Dade® Innovin®	Confronto tra i-STAT e STA Compact® e il reagente Neoplastine® CI Plus	Confronto tra i-STAT e IL ACL 7000 e il reagente HemosIL® RecombiPlasTin 2G®
n	78	78	69
Media (INR)	2,1	2,1	2,2
Range (INR)	0,9 - 4,5	0,9 - 4,1	0,9 - 4,0
Sx (INR)	0,843	0,772	0,840
Inclinazione	0,981	1,074	0,972
Intercettazione (INR)	0,084	-0,100	0,003
r	0,963	0,964	0,962
Sy.x	0,233	0,229	0,233

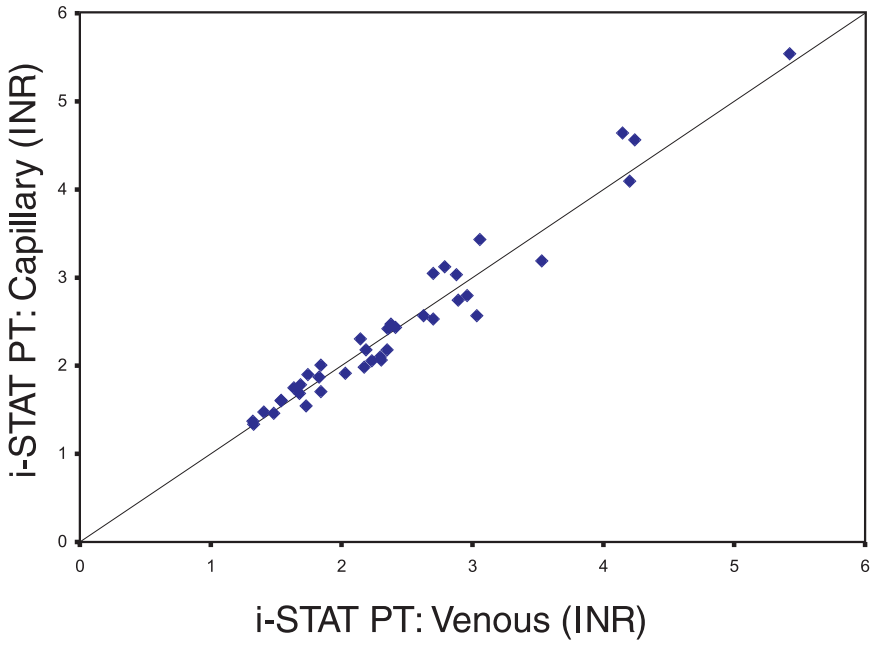

i-STAT PT (INR)
Siemens Sysmex® CA 1500 PT (INR)
0
0.5
1
1.5
2
2.5
3
3.5
4
4.5
5


i-STAT PT (INR)
STA Compact® PT (INR)
0
0.5
1
1.5
2
2.5
3
3.5
4
4.5
5



I dati presentati di seguito, riferiti a campioni prelevati da un sito clinico, mostrano un confronto tra i risultati di campioni capillari e venosi analizzati con il sistema i-STAT.

Dati statistici	Confronto tra i risultati dei campioni capillari e venosi
n	39
Media (INR)	2,4
Range (INR)	1,3 - 5,4
Sx (INR)	0,960
Inclinazione	1,049
Intercettazione (INR)	-0,098
Sy.x	0,128
r	0,978



Fattori che incidono sui risultati

- La presenza di eparina di origine esogena, di citrato, di ossalato o di EDTA ottenuti con i dispositivi di raccolta del sangue interferisce con i risultati del test.
- I risultati del test possono venire compromessi anche da una tecnica errata di prelievo del campione. Per ulteriori informazioni, vedere la sezione Prelievo e preparazione dei campioni successiva.
- La raccolta in siringhe o provette di vetro può determinare la prematura attivazione della coagulazione, accelerando così i tempi di coagulazione e riducendo i valori INR. I campioni venosi devono essere raccolti in siringhe o provette di plastica.
- I risultati PT/INR possono essere influenzati dai farmaci comunemente somministrati.
- Abbott Point of Care non ha caratterizzato il test PT/INR i-STAT nei pazienti che presentano anticorpi anticoagulanti lupici. Se si ha la certezza o il sospetto della presenza di anticorpi anticoagulanti lupici, è bene considerare il ricorso ad un esame di laboratorio del tempo di protrombina utilizzando un reagente notoriamente insensibile agli anticorpi anticoagulanti lupici o un metodo di laboratorio alternativo.

Limiti del test PT/INR i-STAT

- Durante l'analisi, l'analizzatore deve poggiare su una superficie piana e priva di vibrazioni, con il display rivolto verso l'alto. La posizione orizzontale viene mantenuta anche qualora l'analizzatore venga collocato nell'alloggiamento del downloader/recharger.
- Il test i-STAT PT/INR non è influenzato da concentrazioni di fibrinogeno comprese tra 70 e 541 mg/dL. La metodologia elettrogenica del test i STAT PT/INR non misura il coagulo fisico e non dipende dalla formazione di un effettivo coagulo fisico di fibrina. Pertanto il test i-STAT PT/INR non rispecchierà il prolungamento del tempo di coagulazione associato alla deplezione di fibrinogeno (ad es. coagulopatia da consumo), la sindrome di coagulazione intravascolare disseminata o la defibrinazione.
- Le concentrazioni di eparina non frazionata fino a 1,0 U/mL non influiscono sull'attendibilità del test PT/INR i-STAT.
- Gli ematocriti nel range 25 – 54 % PCV non influiscono sui risultati.
- Si è riscontrato che il Cubicin® (daptomicina per iniezione) causa un falso prolungamento del tempo di protrombina (PT), diverso a seconda della concentrazione, e un aumento dell'INR con l'uso del test PT/INR i-STAT. Si raccomanda di utilizzare un metodo alternativo di valutazione del PT/INR nel caso di pazienti trattati con questo antibiotico.

- È possibile che il test i-STAT PT/INR riporti un falso prolungamento del tempo di protrombina (PT) e un aumento dell'INR con campioni contaminati con clorexidina gluconato.
- Il test PT/INR i-STAT non può essere utilizzato per valutare carenze specifiche relative a singoli fattori.

Prelievo e preparazione dei campioni

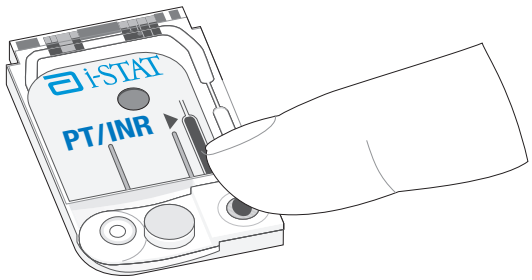
Attenzione: la cartuccia PT/INR i-STAT può essere utilizzata per campioni con un volume compreso tra 20 e 45 microlitri. Questo range è pari ad un'unica goccia di sangue ottenuta dal dito o che si forma sulla punta della siringa. Se si inietta un volume maggiore nella cella di raccolta, è necessario chiudere la cartuccia con cautela per evitare che il sangue in eccesso possa fuoriuscire dalla cartuccia.

Il test PT/INR i-STAT può essere eseguito con campioni di sangue venoso o arterioso.

Puntura al dito

1. Rimuovere la cartuccia dall'involucro in alluminio e collocarla su una superficie piana.
2. Preparare il dispositivo pungidito e tenerlo pronto all'uso.
3. Lavare e preparare il dito dal quale deve essere ottenuto il campione utilizzando una soluzione acquosa di isopropanolo al 70% (70% v/v).[5] Far asciugare il dito prima di prelevare il campione. Quando si disinfettano i siti del dispositivo pungidito, si raccomanda di non utilizzare tamponi o soluzioni contenenti sostanze diverse dall'isopropanolo (ad es. clorexidina gluconato). Per maggiori informazioni fare riferimento alla sezione "Limiti del test PT/INR i-STAT" nel foglio informazioni del test e della cartuccia PT/INR.
4. Pungere il lato inferiore della punta del dito con il dispositivo pungidito.
5. Comprimere delicatamente il dito fino ad ottenere una goccia di sangue ed eseguire l'analisi sul primo campione di sangue. *Non esercitare una pressione eccessiva (ossia strizzare il dito), per evitare di provocare un'emolisi o di contaminare il fluido tissutale del campione.*
6. Applicare la goccia di sangue sul lato inferiore della cella di raccolta. Subito dopo il contatto con la cella di raccolta, il sangue viene aspirato nella cartuccia.
7. Inserire il campione fino al limite di riempimento indicato sulla cartuccia.
8. Fermare la linguetta di chiusura sulla cella di raccolta.
9. Premere l'estremità arrotondata della chiusura per bloccarla in posizione.

Nota: per facilitare l'introduzione del campione nella cartuccia, è possibile anche avvicinare la cartuccia al dito. Appoggiare sempre lo strumento su una superficie stabile durante l'analisi.



Venopuntura

- Utilizzare una tecnica di prelievo che garantisca un flusso ematico adeguato.
- Per il prelievo del campione da analizzare, utilizzare un contenitore **di plastica** (siringa o provetta a vuoto in plastica).
- Il dispositivo di raccolta **non deve contenere anticoagulanti** come eparina, EDTA, ossalato o citrato.

- Il contenitore di raccolta **non deve contenere attivatori della coagulazione o sostanze per la separazione del siero.**
- Il campione deve essere trasferito immediatamente nell'apposita cella di raccolta della cartuccia. Applicare una goccia del campione di sangue sulla parte inferiore della cella di raccolta. Subito dopo il contatto con la cella di raccolta, il sangue viene aspirato nella cartuccia.
- Se è necessario ripetere l'analisi, prelevare un nuovo campione di sangue.

Nota: alcuni esperti consigliano di prelevare e gettare un campione di almeno 1,0 mL prima di prelevare il campione su cui effettuare il test della coagulazione.[6]

Bibliografia

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, documento C28-A2 (ISBN 1-56238-406-6). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2000.
4. P.J. Cornbleet e 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. Lippinncott Company, Philadelphia, 1988, pp 70-71.

i-STAT è un marchio di fabbrica registrato di Abbott Group of Companies in varie giurisdizioni.
Dade Innovin e BCS sono marchi registrati di Dade Behring Inc., Deerfield, IL, Stati Uniti.
STA Compact è un marchio registrato di Diagnostica Stago, Cedex, Francia.
STA Neoplastine è un marchio registrato di Diagnostica Stago, Cedex, Francia.
Sysmex è un marchio registrato di Sysmex Corporation.
ACL, HemosIL e RecombiPlasTin sono marchi o marchi registrati di Instrumentation Laboratory Company.
Cubicin è un marchio registrato di Cubist Pharmaceuticals, Inc., Lexington, MA, Stati Uniti.

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

EC REP
Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

CE IVD

©2018 Abbott Point of Care Inc. All rights reserved. Printed in USA