



CZAS KRZEPNIĘCIA AKTYWOWANEGO CELITEM/(^{CELITE}ACT)

Test i-STAT do oznaczania czasu krzepnięcia aktywowanego ziemią okrzemkową marki Celite® — ^{Celite}ACT — służy do pomiaru czasu niezbędnego do pełnej aktywacji kaskady koagulacyjnej¹.

W tradycyjnych testach ACT krzepnięcie krwi inicjuje się poprzez zmieszanie próbki krwi pełnej z aktywatorem cząsteczkowym, a całkowitą aktywację sygnalizuje powstanie rozległych lub umiejscowionych skrzepów krwi w wyniku przemiany fibrynogenu w fibrynę po aktywacji trombiny. Skrzepy te są wykrywane mechanicznie.

Test i-STAT ^{Celite}ACT jest zbliżony do tradycyjnych testów ACT z tą różnicą, że punktem końcowym jest przemiana substratu trombinowego innego niż fibrynogen, a zdarzenie takie sygnalizuje czujnik elektrochemiczny. Substrat stosowany w teście elektrogeniczny zawiera wiązanie amidowe naśladujące rozrywane przez trombinę wiązanie amidowe w fibrynogenie.

Substratem tym jest H-D-feniloalanino-pipekolino-arginino-*p*-amino-*p*-metoksydifenylamina o następującej budowie chemicznej:



Trombina rozrywa wiązanie amidowe na końcu karboksylowym reszty argininowej (co jest oznaczone dwiema kreskami), ponieważ wiązanie przypomina strukturalnie wiązanie amidowe rozdzielane przez trombinę w fibrynogenie. Produktem reakcji trombiny z substratem jest elektrochemicznie obojętny tripeptyd feniloalanino-pipekolino-arginina i elektrochemicznie czynny związek $\text{NH}_3^+ - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{NH} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{OCH}_3$. Powstanie elektrochemicznie czynnego związku jest wykrywane metodą amperometryczną, a czas wykrycia jest mierzony w sekundach. Test podaje w sekundach czas aktywowanego krzepnięcia (ACT) jako czas krzepnięcia krwi pełnej (WBT).

Test i-STAT ^{Celite}ACT jest skalibrowany pod kątem zgodności z testem Hemochron Celite FTCA510 przy korzystaniu z podgrzanych próbek. Jednak użytkownicy analizatora i-STAT 1 mają możliwość dostosowania własnych stanowisk i-STAT tak, aby podawane były wyniki ACT skalibrowane względem testu Hemochron Celite ACT przy korzystaniu z próbek niepodgrzanych (w temperaturze otoczenia). To dostosowanie wpływa wyłącznie na tok badania próbek od pacjentów i nie dotyczy toku kontroli jakości czy sprawności.

Obowiązujące dostosowanie (tryb kalibracji z podgrzaniem lub bez podgrzania) jest wskazane na ekranie analizatora odpowiednio jako PREWRM lub NONWRM. Należy pamiętać, że na różnych stanowiskach w danym szpitalu można stosować różne profile dostosowania. Przed przystąpieniem do badania próbek od pacjentów należy upewnić się, że stosowany jest odpowiedni tryb kalibracji. Szczegółowe informacje na temat tej funkcji dostosowywania można znaleźć w biuletynie technicznym zatytułowanym „ACT Test Result Calibration Options: PREWARMED vs. NON-PREWARMED Result Calibration Modes for the i-STAT 1 Analyzer”.

Jeśli wyniki nie są zgodne z oceną kliniczną, próbkę od pacjenta należy poddać ponownej analizie przy użyciu innego wkładu.

Przeznaczenie

Test i-STAT do oznaczania czasu krzepnięcia aktywowanego celitem (^{Celite}ACT) jest testem do diagnostyki *in vitro* z użyciem świeżej krwi pełnej, przydatnym do monitorowania stanu pacjentów otrzymujących heparynę w leczeniu zatorowości płucnej lub zakrzepicy żyłnej oraz do monitorowania leczenia przeciwzakrzepowego u pacjentów poddawanych zabiegom cewnikowania, chirurgii serca, innym zabiegom chirurgicznym, przeszczepu narządów i dializy.

Zawartość

Każdy wkład i-STAT^{Celite}ACT zawiera komorę do pobierania próbek, czujniki wykrywające punkt końcowy koagulacji oraz suche odczynniki niezbędne do zainicjowania i kontynuowania koagulacji. Stabilizatory i odczynniki są nałożone na części kanału czujnika i obejmują następujące składniki reaktywne:

Składnik reaktywny	Minimalna ilość
Ziemia okrzemkowa	14,4 µg
Substrat trombinowy	0,36 µg

Identyfikowalność metrologiczna

Test systemu i-STAT do oznaczania czasu krzepnięcia aktywowanego ziemią okrzemkową (celitem) mierzy odstęp czasu wymagany do pełnej aktywacji ziemią okrzemkową marki Celite® kaskady koagulacji we krwi pełnej tętniczej lub żyłnej (jednostka: sekunda) przy monitorowaniu *in vitro* średnio- i wysokodawkowej terapii heparynowej. Obecnie nie jest dostępna żadna międzynarodowa konwencjonalna referencyjna procedura pomiarowa ani międzynarodowy konwencjonalny kalibrator do testu^{Celite}ACT. Wartości^{Celite}ACT przypisane do kontroli i-STAT są zgodne z wybraną referencyjną procedurą pomiarową systemu i-STAT, w której korzysta się ze szklanych probówek odczynnikowych aktywowanych ziemią okrzemkową (Celite), automatyczny minutnik i tradycyjną lepkometryczną metodę wykrywania skrzepów, przeprowadzaną w określonej temperaturze i warunkach pobierania próbek. Kontrole systemu i-STAT są zatwierdzane do stosowania wyłącznie z systemem i-STAT, a przypisane wartości mogą nie być zamienne z innymi metodami. Dalsze informacje dotyczące identyfikowalności metrologicznej można uzyskać w firmie Abbott Point of Care Inc.

Wartości oczekiwane

Test/skrót	Jednostki	Zakres pomiaru	Zakres referencyjny (PREWRM)	Zakres referencyjny (NONWRM)
Czas aktywowanego krzepnięcia/ACT	sekundy	50–1000*	74–125	84–139

* Zakres od 80 do 1000 sekund został zweryfikowany za pomocą badań mających na celu porównanie metod.

Istotność kliniczna

Parametr ACT jest stosowany głównie do monitorowania stanu antykoagulacji pacjenta po podaniu heparyny w trakcie zabiegów medycznych lub chirurgicznych. Jest on wykorzystywany w zabiegach cewnikowania serca, przezskórnej (śródnacyniowej) angioplastyki wieńcowej (PTCA), dializowania nerek, hemodializy oraz krążenia pozaustrojowego podczas korzystania z płucoserca.

Charakterystyka dokładności

Typowe dane dokładności przedstawione poniżej zostały zebrane w placówkach opieki zdrowotnej przez personel medyczny przeszkolony w zakresie stosowania systemu i-STAT oraz metod porównawczych. O ile nie podano inaczej wszystkie dane dotyczą kalibracji PREWRM.

Dane precyzji zebrano w firmie Abbott Point of Care Inc. oraz podczas badań klinicznych, zgodnie z protokołem zalecanym przez i-STAT oraz przy użyciu materiału kontrolnego w postaci osocza. Podobnych wyników można oczekiwać w przyszłych badaniach dokładności, pod warunkiem przestrzegania takich samych procedur przygotowania do badania i analizy danych.

Kontrola w postaci osocza	n	Średnia	SD	%CV
Poziom 1	329	221 s	18 s	8,1
Poziom 2	438	456 s	22 s	4,8

Dane do porównania metod zostały zebrane przy użyciu zmodyfikowanych wytycznych CLSI EP9-A². Próbkę krwi żyłnej lub tętniczej pobrano do strzykawki z tworzywa sztucznego i przeanalizowano równolegle w systemie i-STAT oraz równolegle przy użyciu metod porównawczych. Wszystkie próbki były analizowane natychmiast po pobraniu. W badaniach wzięli udział pacjenci, u których rutynowo stosuje się pomiary ACT. Od pacjentów poddawanych cewnikowaniu serca i w krążeniu pozaustrojowym pobrano próbki wyjściowe z leczenia heparyną i doraźnego podawania heparyny w celu rozpuszczenia skrzepu.

Pierwszą replikę każdej próbki poddano analizie metodą regresji Deminga³. W tabeli porównania metod n jest liczbą próbek w zestawie danych, S_{xx} i S_{yy} to oszacowania niedokładności analizy równoległej odpowiednio metodą porównawczą i metodą i-STAT, $S_{y,x}$ jest standardowym błędem oszacowania, a r jest współczynnikiem korelacji.

Porównania metod różnią się w zależności od placówki z powodu różnic w obchodzeniu się z próbkami, używanych systemów odczynników i przyrządów oraz innych zmiennych specyficznych dla placówki.

Prac. hemod.	Medtronic HR-ACT	Hemochron CA510/ FT CA510
n	270	418
Sxx	10,1	19,7
Syy	10,7	13,5
Nachylenie	1,15	0,86
Pkt przecięcia	-30	-3
Sy.x	32,5	22,5
Xmin	73	63
Xmax	523	763
r	0,848	0,903

SO/zab. serc.-nacz.	Hemchiron CA510/FT CA510		
	Placówka 1	Placówka 2	Placówka 3
n	35	30	24
Sxx	15,8	34,2	24,4
Syy	13,0	11,5	20,8
Nachylenie	0,85	1,10	1,19
Pkt przecięcia	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

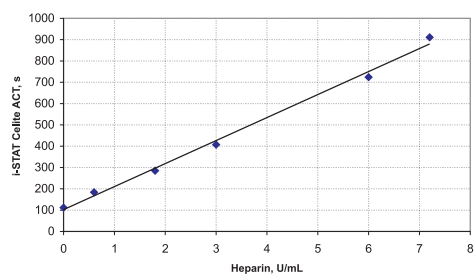
Czynniki wpływające na wyniki*

*Mogą występować inne substancje zakłócające. Te wyniki są reprezentatywne, a wyniki uzyskane w danej placówce mogą się nieco różnić ze względu na zmienność między testami. Stopień interferencji w stężeniach innych niż podane może być nieprzewidywalny.

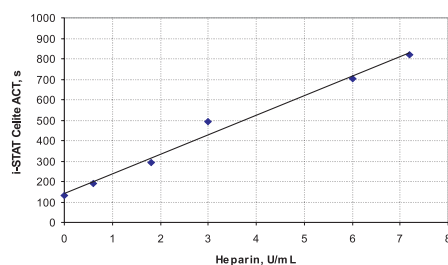
Czułość na heparynę wykazano przy użyciu próbek krwi pełnej, do których w warunkach *in vitro* dodano różne stężenia heparyny.

Pięć poniższych wykresów przedstawia odpowiedzi różnych pacjentów na dane stężenie heparyny:

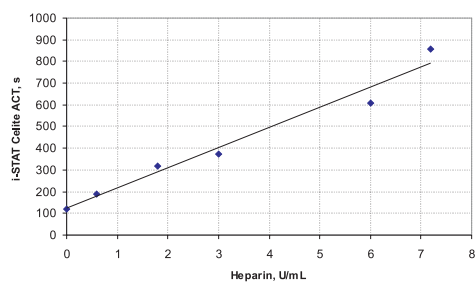
Heparin linearity, Donor 1



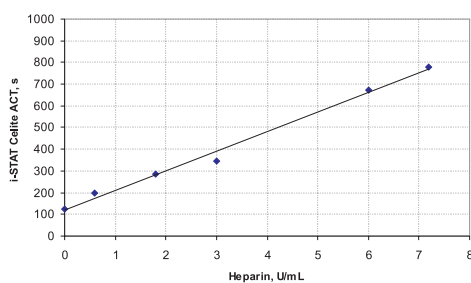
Heparin linearity, Donor 2



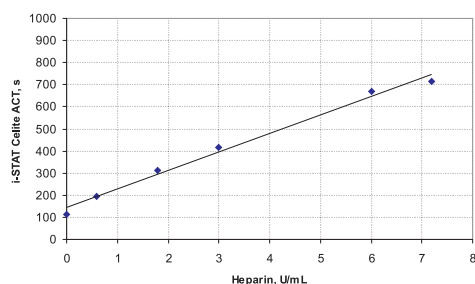
Heparin linearity, Donor 3



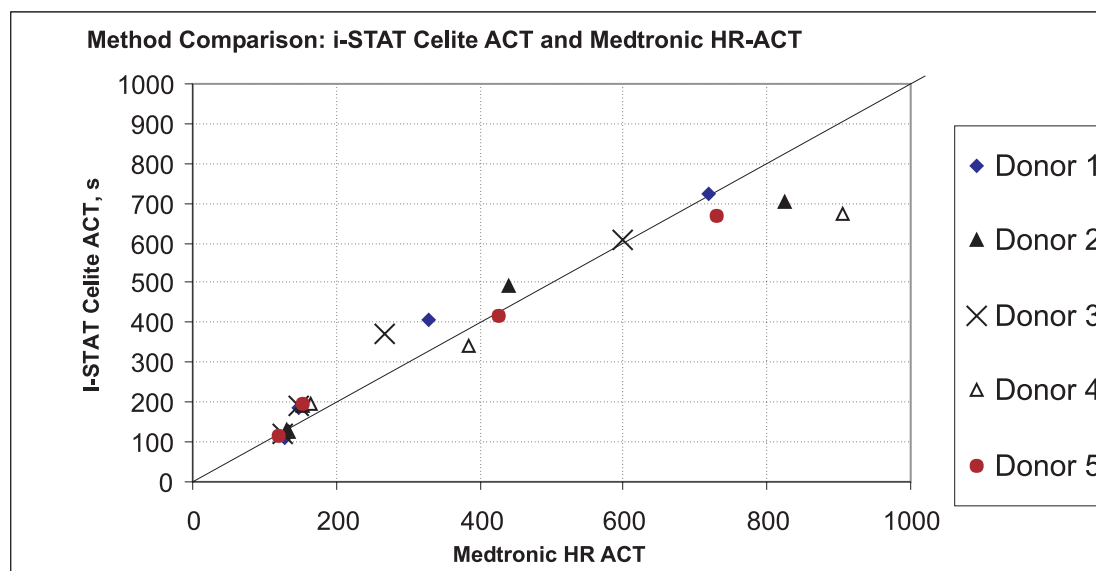
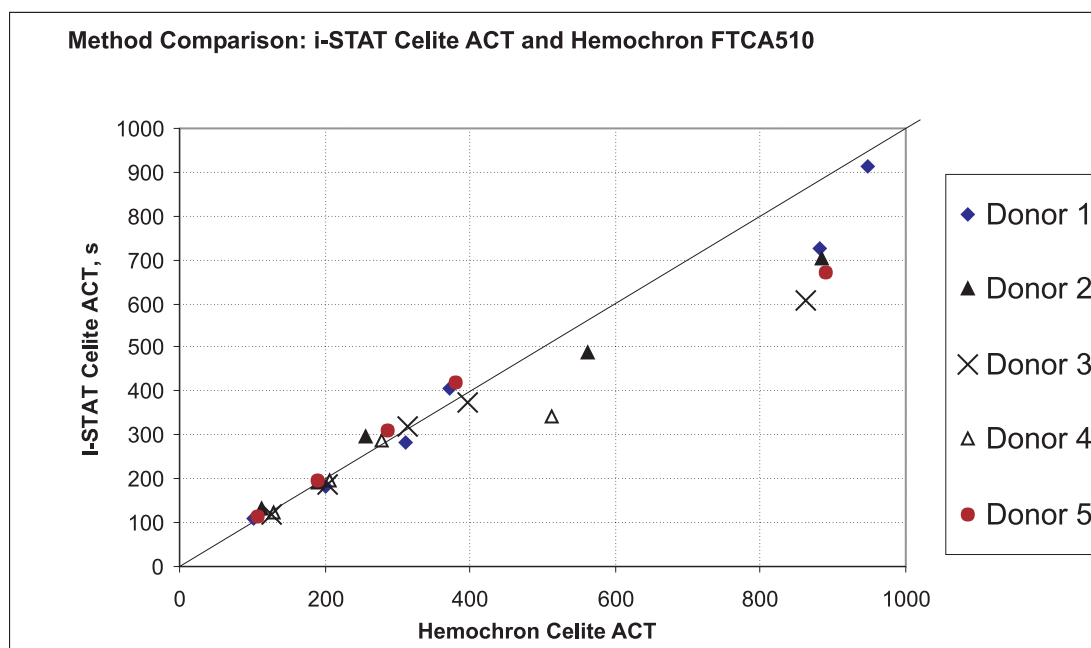
Heparin linearity, Donor 4



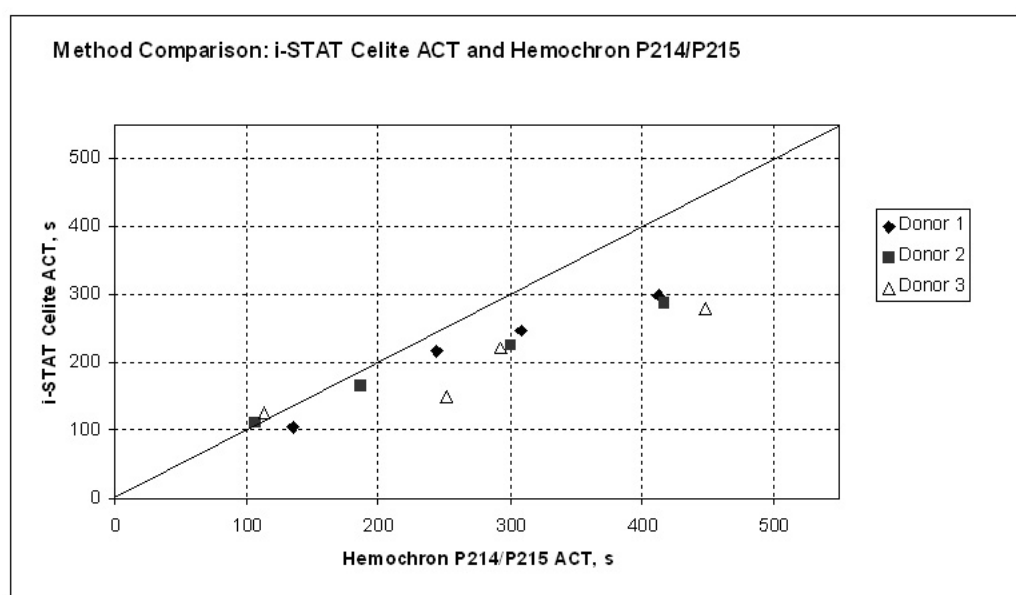
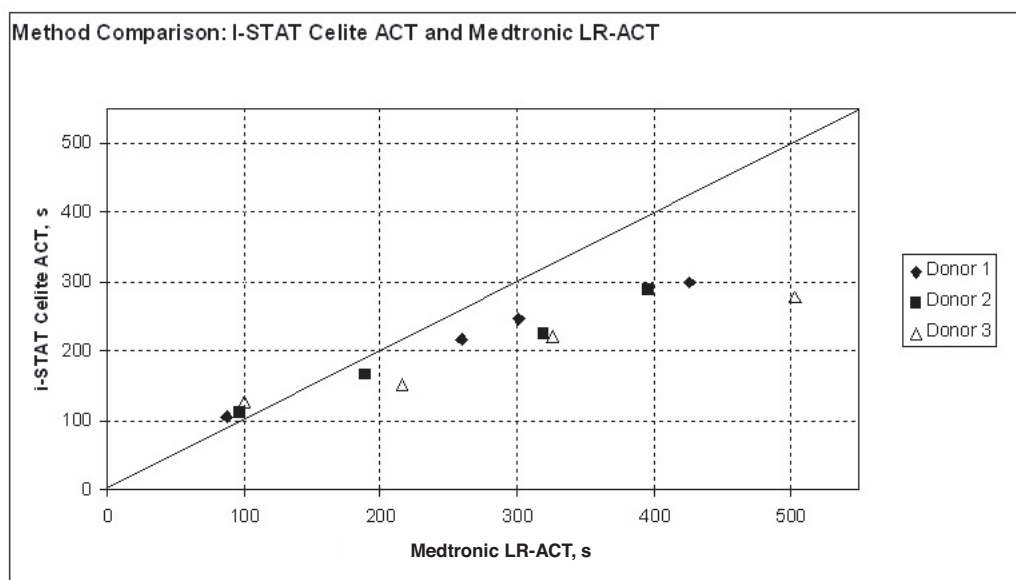
Heparin linearity, Donor 5



Poniższe wykresy przedstawiają odpowiedź tych samych pięciu pacjentów w postaci wyniku ACT uzyskanego przy użyciu testów the Medtronic HR-ACT i Hemochron Celite FTCA 510.



Poniżej przedstawiono wyniki testu i-STAT Celite ACT przy niższych poziomach heparyny, przy czym w porównaniu uwzględniono dwie „niskozakresowe” metody ACT:



Ograniczenia testu

Test i-STAT ^{Celite}ACT można stosować z próbkami świeżej krwi pełnej żyłnej lub tętniczej. Obecność zewnątrzpochothanej heparyny, cytrynianu, szczawianu lub EDTA może zakłócać wyniki testu. Nieprawidłowa technika pobierania próbek może również negatywnie wpływać na wyniki. Próbki pobrane z nieprawidłowo przepłukanych cewników lub z nakłuc żyły w miejscu urazu mogą być zanieczyszczone substancjami zakłócającymi. Próbki należy pobierać do plastikowych strzykawek lub probówek. Pobieranie do naczyń szklanych może powodować przedwczesną aktywację koagulacji, skracając czas krzepnięcia.

W teście i-STAT ACT aktywatorem wewnętrznej kaskady koagulacji jest ziemia okrzemkowa marki Celite. W związku z tym w obecności aprotyny wynik może być zawyżony⁴. **Nie zaleca się stosowania testu u pacjentów przyjmujących aprotyninę.**

Podczas wykonywania testu analizator powinien stać na płaskiej, poziomej powierzchni, a wyświetlacz powinien być skierowany do góry. Brak wypoziomowania analizatora może zmieniać wynik ACT o ponad 10%. Poziom uważa się za zachowany także wówczas, gdy analizator ręczny znajduje się w module pobierania/ładowania.

Na wyniki testu może wpływać hemodylucja.

Na wyniki testu może wpływać dziedziczna lub nabyta dysfunkcja płytek krwi. Obejmuje ona podawanie związków farmakologicznych zwanych inhibitorami płytek krwi, które wpływają na czynność płytek krwi. Na wyniki testu mogą również wpływać niedobory czynników krzepnięcia, zaburzenia czasu protrombinowego, inne koagulopatie i inne związki farmakologiczne.

Na wynik testu i-STAT ACT nie wpływa hematokryt w zakresie 20–70%, fibrynogen o stężeniu w zakresie 100–500 mg/dL ani temperatura próbki w zakresie 15–37°C.

Pobieranie i przygotowanie próbek

Test i-STAT ^{Celite}ACT można przeprowadzić z użyciem próbek krwi żyłnej lub tętniczej.

Nakłucia żyły i tętnicy

- Należy stosować technikę pobierania zapewniającą dobry przepływ krwi.
- Próbkę do testu należy pobrać do **plastikowego naczynka** (plastikowej strzykawki lub próbki próżniowej).
- Naczynko **nie może zawierać antykoagulantów**, takich jak heparyna, EDTA, szczawian czy cytrynian.
- Naczynko nie może zawierać aktywatorów krzepnięcia ani separatorów surowicy.
- Próbka powinna być natychmiast podana do studzienki próbkowej wkładu.
- Jeśli wymagany jest drugi pomiar, należy pobrać nową próbkę.

Uwaga: Niektórzy eksperci zalecają pobranie i odrzucenie próbki o objętości co najmniej 1 mL przed pobraniem próbki do testów koagulacyjnych⁵.

Linia infuzyjna

- Należy przerwać kroplówkę.
- Jeśli krew musi zostać pobrana z linii infuzyjnej, należy wziąć pod uwagę możliwość zanieczyszczenia heparyną i rozcieńczenia próbki. Linie należy przepłukać 5 mL roztworu soli fizjologicznej, a pierwsze 5 mL krwi lub sześć objętości przestrzeni martwej należy odrzucić.
- Pobrać próbkę do testu do nowej **plastikowej** strzykawki.
- Strzykawka do pobierania próbek **nie może zawierać antykoagulantów**, takich jak heparyna, EDTA, szczawian czy cytrynian.
- Próbka powinna być natychmiast podana do studzienki próbkowej wkładu.
- Jeśli wymagany jest drugi pomiar, pobrać nową próbkę.

Linia zewnątrzustrojowa

- Przepłukać linię dostępu pozaustrojowego, pobierając 5 mL krwi do strzykawki i wyrzucając strzykawkę.
- Pobrać próbkę do testu do nowej **plastikowej** strzykawki.
- Strzykawka do pobierania próbek **nie może zawierać antykoagulantów**, takich jak heparyna, EDTA, szczawian czy cytrynian.
- Próbka powinna być natychmiast podana do studzienki próbkowej wkładu.
- Jeśli wymagany jest drugi pomiar, pobrać nową próbkę.

Piśmiennictwo

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, dok. EP9-A (ISBN 1-56238-283-7). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087, 1995.
3. P.J. Cornbleet i 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 (red.): Hemostasis and Thrombosis in the Clinical Laboratory. Wyd., J.B. Lippincott Company, Philadelphia, 1988, str. 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 • USA



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands



©2018 Abbott Point of Care Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone. Wydrukowano w USA.