



CZAS PROTROMBINOWY/ (PT/INR)

Test i-STAT PT/INR służy do pomiaru czasu protrombinowego dla krwi pełnej w monitorowaniu doustnej terapii antykoagulacyjnej (Coumadin lub warfaryna). Test określa czas wymagany do pełnej aktywacji zewnętrznej kaskady koagulacji po zainicjowaniu (aktywacji) za pomocą tromboplastyny.

W teście czasu protrombinowego koagulację inicjuje się przez wymieszanie próbki z tromboplastyną tkankową. W tradycyjnych testach czasu protrombinowego pełną aktywację sygnalizuje mechaniczne lub optyczne wykrycie rozległych lub umiejscowionych skrzepów krwi w wyniku przemiany fibrynogenu w fibrynę po aktywacji trombiny. Badanie i-STAT PT/INR jest podobne, z tym wyjątkiem, że punkt końcowy sygnalizuje przemiana substratu trombinowego innego niż fibrynogen. Do wykrycia takiej przemiany używany jest czujnik elektrochemiczny.

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 i mierzony jest czas wykrycia.

Wynik testu PT/INR jest podawany w postaci międzynarodowego współczynnika znormalizowanego (INR) i opcjonalnie w sekundach. INR jest zalecaną metodą podawania wyników przy monitorowaniu doustnej terapii antykoagulacyjnej¹. Średni prawidłowy czas protrombinowy dla testu i-STAT (w sekundach) oraz ISI zostały wyznaczone zgodnie z zaleceniami WHO w placówce akredytowanej przez College of American Pathologists (CAP). Wyniki INR oblicza się z następującego równania:

$$\text{INR} = \frac{\left[\text{czas protrombinowy próbki od pacjenta w systemie i-STAT (sekundy)} \right]^{\text{ISI}}}{\left[\text{Średni prawidłowy czas protrombinowy dla testu i-STAT (sekundy)} \right]}$$

Opcjonalnie wyświetlany wynik w sekundach odzwierciedla tradycyjne metody podawania czasu protrombinowego dla osocza. Podawany czas jest obliczany na podstawie wyniku PT/INR i poniższego równania z użyciem ISI równego 1,05 oraz typowego średniego prawidłowego czasu protrombinowego dla osocza wynoszącego 12,0 s.

$$\text{INR} = \frac{\left[\text{czas protrombinowy (sekundy) dla osocza pacjenta} \right]^{\text{ISI}}}{\left[\text{Średni prawidłowy czas protrombinowy dla osocza (sekundy)} \right]}$$

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

Przeznaczenie

Test czasu protrombinowego i-STAT PT jest przydatny do monitorowania stanu pacjentów przyjmujących doustne leki przeciwzakrzepowe, takie jak Coumadin lub warfaryna.

Zawartość

Każdy wkład i-STAT PT/INR zawiera komorę do pobierania próbek, czujniki wykrywające punkt końcowy koagulacji oraz suche odczynniki niezbędne do zainicjowania i kontynuowania koagulacji. Obojętne składniki matrycy i odczynniki są nałożone na części kanału czujnika i obejmują następujące składniki reaktywne:

Składnik reaktywny	Źródło biologiczne	Minimalna ilość
Rekombinowana tromboplastyna tkankowa	Ludzka	0,18 mg
Heparynaza I	<i>Flavobacterium heparinum</i>	0,018 IU
Substrat trombinowy	Nie dotyczy	0,4 µg

Identyfikowalność metrologiczna

Test systemu i-STAT na oznaczanie czasu protrombinowego (PT/INR) służy do pomiaru międzynarodowego współczynnika znormalizowanego (bezwymiarowego) wyrażającego względny odstęp czasowy wymagany do pełnej aktywacji poprzez tromboplastynę kaskady koagulacji we krwi pełnej włosniczkowej lub żyłnej w celu monitorowania *in vitro* stężenia doustnego antykoagulantu (Coulodin lub warfaryna). Wartości PT/INR przypisane do kontroli i-STAT są zgodne z międzynarodowymi referencyjnymi procedurami pomiarowymi Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) oraz międzynarodowymi procedurami przygotowania zalecanymi przez WHO². Kontrole systemu i-STAT są zatwierdzane do użytku 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	Zweryfikowany zakres kliniczny
Czas protrombinowy/ (PT/INR)	INR	0,9–6,0*

*Przy wartościach INR powyżej 6,0 charakterystyka dokładności pomiarów i-STAT PT/INR nie została wyznaczona.

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.

Niedokładność

Przeprowadzono badania wstępne w celu zebrania danych niedokładności dla próbek krwi pełnej żyłnej i włosniczkowej. Dane niedokładności dla próbek krwi pełnej żyłnej zostały zebrane równolegle w dwóch placówkach klinicznych. Dane niedokładności dla próbek krwi pełnej włosniczkowej zebrano równolegle w jednej placówce klinicznej przy użyciu jednego nakłuwacza (lancetu). Poniższa tabela zestawia te dane.

Dane statystyczne	Placówka 1 (krew żylna)	Placówka 2 (krew żylna)	Placówka 3 (krew włosniczkowa)
n	181	102	33
Średnia (INR)	2,6	2,4	2,5
%CV	4,7%	4,0%	4,6%

Poniższe dane niedokładności dla liofilizowanych materiałów kontrolnych osocza zostały zebrane podczas badań w placówce firmy Abbott Point of Care oraz podczas badań klinicznych. SD i %CV to typowe wartości bieżącej dokładności. W odniesieniu do odpowiednich danych średnich kontroli osocza należy korzystać z aktualnych arkuszy wartości przypisanych.

Kontrola osocza	Średnia	SD	%CV
Poziom 1	1,1 (INR)	0,05	4,5%
Poziom 2	2,5 (INR)	0,17	6,9%

Przedział referencyjny

W badaniu mającym na celu określenie przedziału referencyjnego dla testu PT/INR próbki krwi żyłnej pobrano od zdrowych ochotników do plastikowych probówek i przeprowadzono analizę krwi pełnej z użyciem jednej partii wkładów w systemie i-STAT. Próbkę krwi włóściskowej pobrano od tych samych ochotników przy użyciu nakłuwacza SoftClick Pro (ustawienie 3) i poddano analizie z użyciem tej samej partii wkładów. Przedziały referencyjne dla wartości INR w próbkach żylnych i włóściskowych określono zgodnie z wytycznymi CLSI C28-A2³. Dane zostały zestawione w poniższej tabeli:

Dane statystyczne	Krew pełna żylna	Krew pełna włóściskowa
n	120	119
Średnia (INR)	1,0	1,0
SD	0,1	0,1
Zakres referencyjny (INR)	0,8–1,2	0,8–1,2

Ze względu na dużą liczbę zmiennych, które mogą wpływać na wyniki PT/INR, każde laboratorium powinno ustalić własny przedział referencyjny.

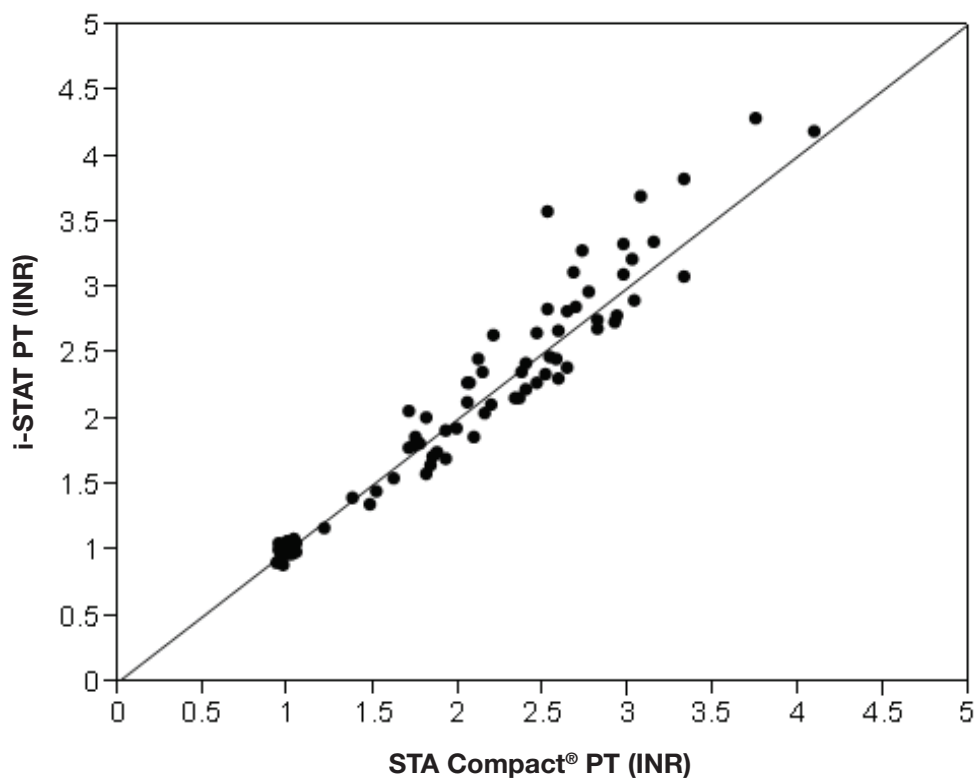
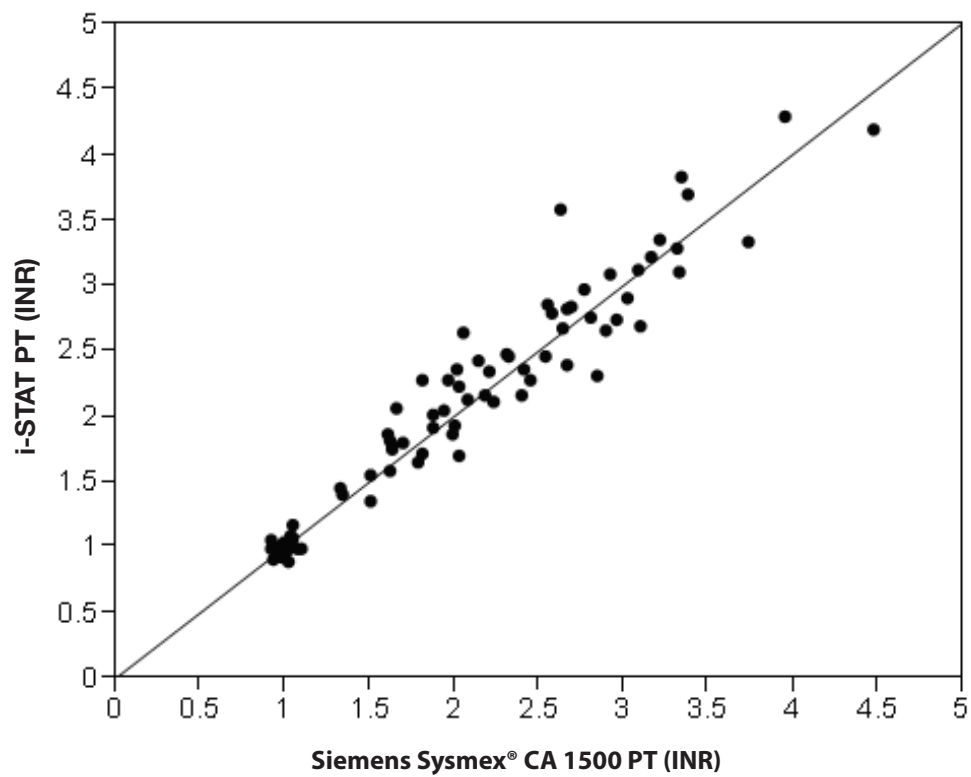
Porównanie metod

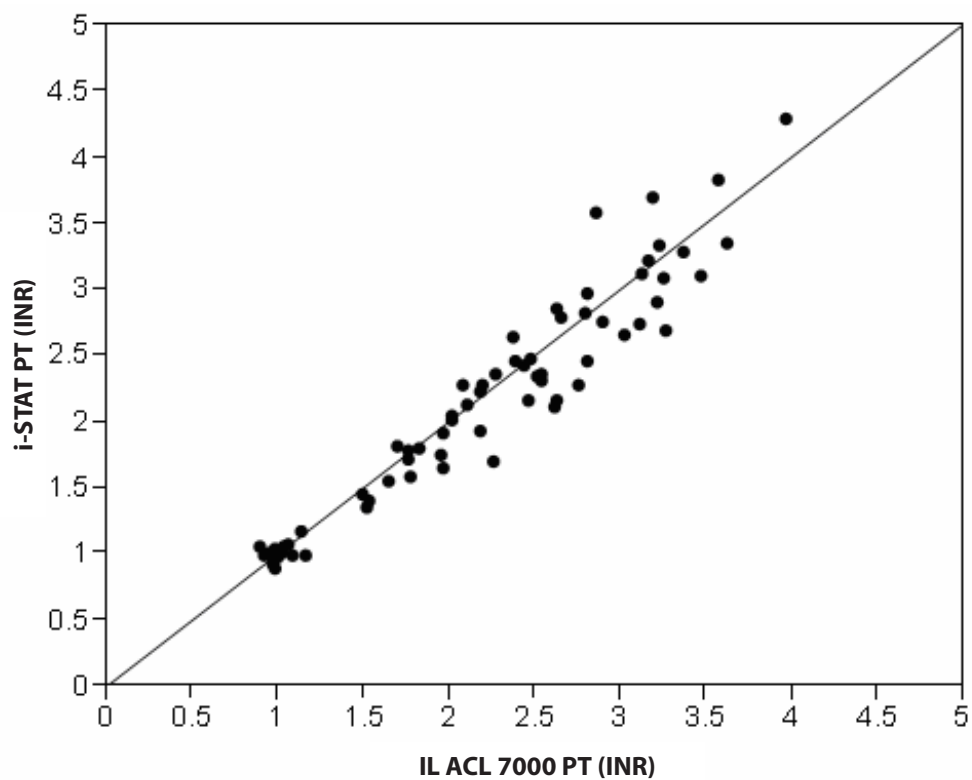
Dane do porównania metod zostały zebrane w Hemostasis Reference Laboratory (Hamilton, Ontario, Kanada). Próbkę krwi żyłnej od pacjentów ambulatoryjnych poddawanych rutynowej doustnej terapii przeciwzakrzepowej zostały pobrane do plastikowych probówek i poddane analizie w systemie i-STAT równolegle z użyciem wkładów z różnych partii; osocze z probówek zawierających antykoagulant cytrynianowy poddano analizie równolegle w aparatach porównawczych przy użyciu odczynników Dade® Innovin®, STA Neoplastine® CI Plus i HemosIL® RecombiPlasTin 2G®.

Pierwszą replikę każdej próbki poddano analizie metodą regresji Deminga⁴. W poniższej tabeli porównania metod *n* jest liczbą próbek w zestawie danych, *Sy,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. Należy przeprowadzić badanie korelacji w celu ustalenia różnic pomiędzy pomiarem i-STAT PT/INR i innymi używanymi metodami.

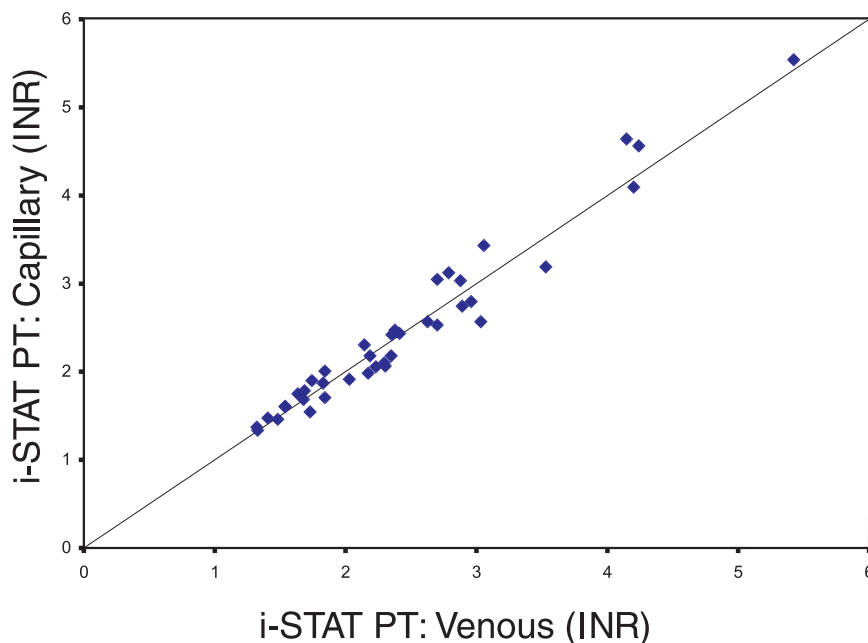
Dane statystyczne	i-STAT a Siemens Sysmex® CA-1500 z odczynnikami Dade® Innovin®	i-STAT a STA Compact® z odczynnikami Neoplastine® CI Plus	i-STAT a IL ACL 7000 z odczynnikami HemosIL® RecombiPlasTin 2G®
n	78	78	69
Średnia (INR)	2,1	2,1	2,2
Zakres (INR)	0,9–4,5	0,9–4,1	0,9–4,0
Sx (INR)	0,843	0,772	0,840
Nachylenie	0,981	1,074	0,972
Pkt przecięcia (INR)	0,084	-0,100	0,003
r	0,963	0,964	0,962
Sy,x	0,233	0,229	0,233





Poniżej przedstawiono dane z przeprowadzonego w jednej placówce klinicznej porównania próbek krwi wątrozkowej z próbkami krwi żyłnej w systemie i-STAT.

Dane statystyczne	Krew wątrozkowa a żylna
n	39
Średnia (INR)	2,4
Zakres (INR)	1,3-5,4
Sx (INR)	0,960
Nachylenie	1,049
Pkt przecięcia (INR)	-0,098
Sy.x	0,128
r	0,978



Czynniki wpływające na wyniki

- Obecność zewnątrzpoходnej heparyny, cytrynianu, szczawianu lub EDTA w naczynkach do pobierania krwi może zakłócać wyniki testu.
- Nieprawidłowa technika pobierania próbek może również negatywnie wpływać na wyniki. (Patrz Pobieranie i przygotowanie próbek poniżej).
- Szklane strzykawki lub próbówki mogą powodować przedwczesne wykrzepianie, skracając czas krzepnięcia i obniżając wartość INR. Próbkę krwi żyłnej należy pobierać do plastikowych strzykawek lub próbówek.
- Na wyniki PT/INR mogą wpływać powszechnie podawane leki.
- Firma Abbott Point of Care nie scharakteryzowała testu i-STAT PT/INR u pacjentów z przeciwciałami antykoagulantu toczniowego. Jeśli rozpoznano lub podejrzewa się obecność przeciwciał antykoagulantu toczniowego, należy rozważyć zastosowanie laboratoryjnego testu na czas protrombinowy z użyciem odczynnika niewrażliwego na przeciwciała antykoagulantu toczniowego lub innej metody laboratoryjnej.

Ograniczenia testu i-STAT PT/INR

- Podczas wykonywania testu analizator powinien stać na płaskiej, poziomej, nienarażonej na drgania powierzchni, a wyświetlacz powinien być skierowany do góry. Poziom uważa się za zachowany także wówczas, gdy analizator ręczny znajduje się w module pobierania/ladowania.
- Na wyniki testu i-STAT PT/INR nie wpływa stężenie fibrynogenu w zakresie od 70 do 541 mg/dL. Metodologia badań elektrogenowych PT/INR i-STAT nie polega na pomiarze skrzepu fizycznego i nie zależy od tego, czy fibrynogen tworzy rzeczywisty skrzep fibrynowy. W związku z tym test i-STAT PT/INR nie odzwierciedla wydłużenia czasu koagulacji związanego z utratą fibrynogenu (np. koagulopatia ze zużycia), zespołem rozlanego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego lub zespołem odwłóknienia krwi.
- Na wyniki testu i-STAT PT/INR nie wpływa stężenie heparyny niefrakcjonowanej do poziomu 1,0 U/mL.
- Wykazano, że na wyniki nie wpływają wartości hematokrytu w zakresie 24–54% PCV.
- Stwierdzono, że antybiotyk Cubicin® (daptomycyna do wstrzykiwań) wywołuje zależne od stężenia, fałszywe wydłużenie czasu protrombinowego (PT) i podwyższenie INR podczas stosowania testu i-STAT PT/INR. Zaleca się, aby u pacjentów leczonych tym antybiotykiem stosować alternatywną metodę oceny PT/INR.
- W teście i-STAT PT/INR może być podawane fałszywe wydłużenie czasu protrombinowego (PT) oraz podwyższenie wartości INR w próbkach zanieczyszczonych glukonianem chlorheksydyny.
- Test i-STAT PT/INR nie jest przeznaczony do oceny niedoborów poszczególnych czynników krzepnięcia.

Pobieranie i przygotowanie próbek

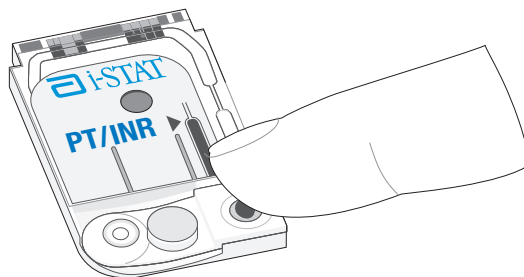
Przeostoga: Wkład i-STAT PT/INR jest przeznaczony do badania próbek o pojemności od 20 do 45 mikrolitrów. Pojedyncza kropla krwi z nakłucia palca lub powstała na końcówce igły strzykawki zazwyczaj mieści się w tym zakresie. W przypadku podania do studzienki na próbkę większej objętości należy zachować ostrożność podczas zamykania wkładu, ponieważ nadmiar krwi może wypłynąć z niego.

Test i-STAT PT/INR można przeprowadzić z użyciem próbek krwi włosniczkowej lub żyłnej.

Nakłucia skóry

1. Wyjąć wkład z opakowania foliowego i położyć go na płaskiej powierzchni.
2. Przygotować lancet i odłożyć na bok, aż będzie potrzebny.
3. Oczyszczyć i przygotować palec przy użyciu wodnego roztworu izopropanolu 70% (70% obj.)⁵. Przed pobraniem krwi dokładnie osuszyć palec. Do dezynfekcji miejsc nakłucia skóry nie zaleca się używać wacików lub roztworów zawierających substancje inne niż izopropanol (np. glukonian chlorheksydy). Więcej informacji znajduje się w części „Ograniczenia testu i-STAT PT/INR” powyżej.
4. Przekłuć opuszek palca lancetem.
5. Delikatnie wycisnąć kroplę krwi i wykonać test na pierwszej próbce. *Unikać silnego, wielokrotnego ucisku, ponieważ może to spowodować hemolizę lub zanieczyszczenie próbki płynami tkankowymi.*
6. Upuścić kroplę krwi na dno studzienki na próbkę. Po kontakcie ze studzienką krew zostanie pobrana do wkładu.
7. Podawać próbkę, aż sięgnie znaku napełnienia na wkładzie.
8. Zamknąć studzienkę.
9. Nacisnąć zaokrąglony koniec zamknięcia, aby zatrzasknął się na swoim miejscu.

Uwaga: Aby jeszcze bardziej uprościć wprowadzanie próbki do wkładu testowego, można zbliżyć wkład do palca. Dopilnować, aby podczas wykonywania testu przyrząd pozostawał na płaskiej, nienarażonej na drgania powierzchni.



Nakłucia żyły

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

Uwaga: Niektórzy eksperci zalecają pobranie i odrzucenie próbki (krwi żyłnej) o objętości co najmniej 1,0 mL przed pobraniem próbki do testów koagulacyjnych⁶.

Piśmiennictwo

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 — wydanie drugie. CLSI, dok. C28-A2 (ISBN 1-56238-406-6). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2000.
4. P.J. Cornbleet i 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 — wydanie szóste. CLSI, dok. H4-A6 [ISBN 1-56238-677-8]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2008.
6. 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.

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
The Netherlands

