

i-STAT®

BOLLETTINO TECNICO

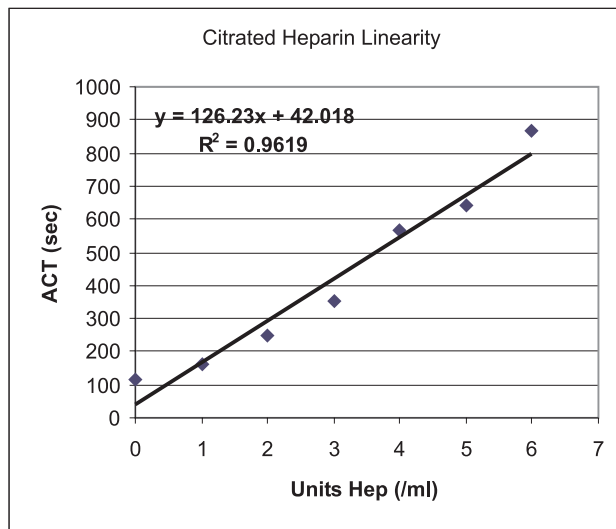
Procedura di linearità dell'eparina per i-STAT Celite® ACT* e i-STAT Kaolin* ACT

INTRODUZIONE

I test i-STAT Celite ACT e i-STAT Kaolin ACT sono destinati all'uso diagnostico *in vitro*. Questo test può essere eseguito al letto del paziente su sangue intero venoso o arterioso. i-STAT Celite ACT è comunemente usato per il monitoraggio dell'anticoagulazione con eparina negli adulti durante interventi di bypass cardiopolmonare (CPB) e angioplastica coronarica percutanea transluminale (PTCA). i-STAT Kaolin ACT è destinato al monitoraggio dell'anticoagulazione con eparina durante interventi di bypass cardiopolmonare (CPB), e può essere utilizzato in presenza di aprotinina. I test ACT i-STAT possono essere eseguiti con i-STAT Portable Clinical Analyzer o i-STAT 1 Analyzer. L'intervallo refertabile dei test i-STAT ACT va da 50 a 1.000 secondi.

I test ACT i-STAT hanno dimostrato linearità tra 0,0 e 6,0 unità di eparina in campioni di sangue da volontari sani normali.

È stata generata una curva di sensibilità all'eparina *in vitro* aggiungendo quantità crescenti di eparina ad aliquote di sangue di donatore normale (vedere il grafico seguente, che funge esclusivamente da esempio. Ciascun paziente mostra una curva dose-risposta unica).



* Non tutte le cartucce sono disponibili in tutte le regioni. Consultare il rappresentante locale per la disponibilità sui mercati specifici.



Se si desidera riprodurre e dimostrare le dichiarazioni del produttore in merito alla linearità e alla sensibilità di un test ACT, è possibile utilizzare la procedura seguente. Un saggio di laboratorio *in vitro* della sensibilità all'eparina è un metodo universalmente accettato di valutazione delle prestazioni del saggio ACT. Un grado accettabile di linearità in una curva dose-risposta di sensibilità all'eparina è un'indicazione della convalida delle prestazioni ACT. Le curve di sensibilità all'eparina vengono generate utilizzando sangue intero da donatore fresco o trattato con citrato, in cui concentrazioni incrementali di eparina vengono aggiunte ad aliquote del campione di sangue. I test ACT i-STAT possono essere eseguiti utilizzando questi campioni.

Quando si esegue la procedura su un i-STAT Analyzer, analizzare i campioni in modalità Paziente, poiché comprendono troppi livelli per analizzarli in modalità Verifica della calibrazione.

PROCEDURA DI LINEARITÀ CON L'USO DI SANGUE INTERO CON CITRATO

Materiali

- Cartucce i-STAT Celite ACT o cartucce i-STAT Kaolin ACT (14). Nota: non tutte le cartucce sono disponibili in tutte le regioni. Consultare il rappresentante locale per la disponibilità sui mercati specifici.
- Provette in plastica senza additivi (7)
- Provetta di prelievo grande per la diluizione dell'eparina, minimo 10 mL, senza additivi (1)
- Provetta di prelievo in plastica grande per la raccolta del sangue, minimo 10 mL, senza additivi (1)
- 1.000 unità/mL di eparina USP (da polmone bovino o di origine suina)
- Soluzione salina isotonica (9,0 mL)
- Cloruro di calcio 0,025M
- Pipette di precisione (1.000 µL)
- Provette per il prelievo di sangue sottovuoto con citrato di sodio al 3,2 o 3,8% (tappo blu) per il prelievo di 9 mL (ovvero 2 provette da 4,5 mL).

Procedura

Nota: Anche se i test clinici utilizzano esclusivamente sangue intero fresco, ai fini della valutazione della linearità è possibile utilizzare anche sangue intero con citrato.

Nota: Quando si utilizza sangue intero con citrato, i tempi di coagulazione possono essere leggermente superiori rispetto a quelli del sangue intero fresco.

1. Procurarsi 14 cartucce i-STAT ACT e due i-STAT Analyzer dello stesso modello.
2. Utilizzando una preparazione farmaceutica standard di eparina (materiale di origine bovina o suina di qualsiasi produttore), diluire l'eparina con soluzione salina fino a una concentrazione di 100 unità/mL del volume totale. Questo valore può essere ottenuto aggiungendo 9,0 mL di soluzione salina a 1,0 mL di eparina USP standard fornita a 1.000 unità/mL.
3. Etichettare sette (7) provette in plastica come segue: "A", "B", "C", "D", "E", "F" e "G". Dispensare le seguenti quantità di eparina diluita nelle rispettive provette. La concentrazione finale di eparina nelle provette in plastica dopo l'aggiunta di sangue e calcio è riportata nella tabella seguente.

Provetta	Quantità di eparina (µL)	Concentrazione finale di eparina (unità/mL)	Unità totali di eparina
A	0	0	0
B	10	1,0	1,0
C	20	2,0	2,0
D	30	3,0	3,0
V	40	4,0	4,0
F	50	5,0	5,0
G	60	6,0	6,0

4. Ottenere almeno due provette con tappo blu da 4,5 cc (citrato di sodio al 3,8% o 3,2%). Miscelare delicatamente le provette da un'estremità all'altra per 10 volte. (Nota: sono necessari in totale 9,0 mL di sangue intero con citrato, combinati nella provetta di raccolta più grande)
5. Dispensare accuratamente 0,70 mL del campione di sangue con citrato in ciascuna delle sette provette preparate al punto 3 ("A", "B", "C", "D", "E", "F" e "G"). Queste sono le provette cui in precedenza è stata aggiunta l'eparina. Dopo l'aggiunta del campione di sangue, miscelare delicatamente le provette per inversione.
6. Iniziando con la provetta "A", aggiungere 0,30 mL di cloruro di calcio 0,025M alla provetta. Miscelare completamente. (Non aggiungere il cloruro di calcio alla provetta finché non si è pronti a eseguire l'analisi della/e cartuccia/e per quel livello di eparina).
7. Dispensare immediatamente la miscela nel pozzetto del campione di 2 cartucce ACT con una pipetta di trasferimento in plastica o una siringa. Iniziare il test.
8. Registrare i risultati ACT.
9. Ripetere i passaggi da 6 a 9 per tutte le provette "B", "C", "D", "E", "F" e "G".

Nota: prima di testare le provette da B a G, miscelarle delicatamente per inversione.
10. Registrare i tempi di coagulazione e tracciare un grafico dei risultati con "Media secondi ACT" sull'asse delle ascisse e "Concentrazione di eparina" (unità/mL) sull'asse delle ordinate.

Interpretazione dei risultati

L'esame della curva dose-risposta consentirà di individuare una risposta di sensibilità lineare. La linearità è definita statisticamente dal coefficiente di correlazione (valore r) del saggio, che dovrebbe essere $\geq 0,88$.

Note:

Data la variabilità della sensibilità all'eparina, l'uso di livelli elevati può generare risultati oltre il limite superiore. Per eseguire i test di linearità è possibile utilizzare una quantità intermedia di eparina (ad es. 35 μ L). I valori effettivi ottenuti per un dato livello di eparina saranno diversi da un donatore all'altro. Anche il tipo di eparina (di origine bovina o suina), la fonte usata dal produttore e il numero di lotto della preparazione di eparina influiranno sui risultati. La concentrazione massima di eparina alla quale il sangue di un donatore coagulerà dipende dalle caratteristiche fisiologiche del donatore stesso. I tempi di coagulazione estremamente elevati possono essere esclusi dall'analisi.

PROCEDURA DI LINEARITÀ CON L'USO DI SANGUE INTERO FRESCO

Materiali

- Cartucce i-STAT Celite ACT o i-STAT Kaolin ACT (14). Nota: non tutte le cartucce sono disponibili in tutte le regioni. Consultare il rappresentante locale per la disponibilità sui mercati specifici.
- Provette in plastica senza additivi (7)
- Provetta di prelievo in plastica grande per la diluizione dell'eparina, 20 mL, senza additivi (1)
- 1.000 unità/mL di eparina USP (da polmone bovino o di origine suina)
- Soluzione salina isotonica (9,0 mL)
- Pipette di precisione (1.000 μ L)

Procedura

1. Procurarsi 14 cartucce i-STAT ACT e almeno due i-STAT Analyzer dello stesso modello.
2. Utilizzando una preparazione farmaceutica standard di eparina (materiale di origine bovina o suina di qualsiasi produttore), diluire l'eparina con soluzione salina fino a una concentrazione di 100 unità/mL del volume totale. Questo valore può essere ottenuto aggiungendo 9,0 mL di soluzione salina a 1,0 mL di eparina USP standard fornita a 1.000 unità/mL.
3. Etichettare sette (7) provette in plastica come segue: "A", "B", "C", "D", "E", "F" e "G".
4. Dispensare le seguenti quantità di eparina diluita nelle rispettive provette. La concentrazione finale di eparina nelle provette in plastica dopo l'aggiunta di 1,0 mL di sangue intero fresco è riportata nella tabella seguente.

Provetta	Quantità di eparina (µL)	Concentrazione finale di eparina (unità/mL)	Unità totali di eparina
A	0	0	0
B	10	1,0	1,0
C	20	2,0	2,0
D	30	3,0	3,0
V	40	4,0	4,0
F	50	5,0	5,0
G	60	6,0	6,0

5. Utilizzando un ago a farfalla e una siringa da 10 cc, prelevare 9,0 cc di sangue intero fresco da un donatore sano normale che non assume farmaci.
 6. Dispensare accuratamente 1,0 mL del campione di sangue intero fresco in ciascuna delle sette provette in plastica (precedentemente preparate) da A a G e miscelare delicatamente per inversione.
 7. Prelevare immediatamente circa 0,3 mL di sangue non eparinizzato dalla provetta A con una pipetta di trasferimento in plastica o una siringa e dispensarli in 2 cartucce ACT. Iniziare il test.
 8. Registrare i risultati ACT.
 9. Ripetere i passaggi da 7 a 9 per i campioni di sangue "B", "C", "D", "E", "F" e "G".
- Nota:** prima di testare le provette da B a G, miscelarle delicatamente per inversione.
10. Registrare i tempi di coagulazione e tracciare un grafico dei risultati con "Media secondi ACT" sull'asse delle ascisse e "Concentrazione di eparina" (unità/mL) sull'asse delle ordinate.

Interpretazione dei risultati

L'esame della curva dose-risposta consentirà di individuare una risposta di sensibilità lineare. La linearità è definita statisticamente dal coefficiente di correlazione (valore r) del saggio, che dovrebbe essere $\geq 0,88$.

Nota: Data la variabilità della sensibilità all'eparina, l'uso di livelli elevati può generare risultati oltre il limite superiore. Per eseguire i test di linearità è possibile utilizzare una quantità intermedia di eparina (ad es. 35 µL). I valori effettivi ottenuti saranno diversi da un donatore all'altro. Anche il tipo di eparina (di origine bovina o suina), la fonte usata dal produttore e il numero di lotto della preparazione di eparina influiranno sui risultati. La concentrazione massima di eparina alla quale il sangue di un donatore coagulerà dipende dalle caratteristiche fisiologiche del donatore stesso. I tempi di coagulazione estremamente elevati possono essere esclusi dall'analisi.

Scheda di raccolta dati sulla linearità dell'eparina

Nome dell'operatore	
----------------------------	--

Tipo di campione	Sangue intero con citrato <input type="checkbox"/>	Sangue intero fresco <input type="checkbox"/>
-------------------------	--	---

Data	Nome della struttura	
	N. di serie dell'analizzatore	
	N. lotto i-STAT ACT	

Conc. ep. (U/mL)	Tempo di coagulazione (sec)		
	ACT 1 (sec)	ACT 2 (sec)	Media (sec)
0			
1			
2			
3			
4			
5			
6			

i-STAT è un marchio commerciale di Abbott Group of Companies in varie giurisdizioni.

Celite è un marchio commerciale registrato di Celite Corporation, Santa Barbara, CA, per i suoi prodotti a base di terra diatomacea.