

**Zastosowanie wskaźników PT i APTT w praktyce  
klinicznej**

**oraz**

**Ewaluacja Systemu qLabs<sup>®</sup> Coag Panel 2**

**Listopad 2015**



**Streszczenie:** Czas kaolinowo-kefalinowy (APTT) i czas protrombinowy należą do podstawowych badań hemostazy. W przeszłości oba te wskaźniki mogły być oznaczone wyłącznie w laboratorium z próbki krwi żyłnej. Wraz z rozwojem urządzeń do diagnostyki POCT (point of care testing) oba te parametry mogą zostać jednocześnie oznaczone w prosty i szybki sposób. Niniejszy raport omawia zastosowanie wskaźników PT oraz APTT w praktyce klinicznej oraz ewaluację Systemu qLabs® Coag Panel 2.

**Słowa kluczowe:** czas protrombinowy, INR, POCT czas kaolinowo-kefalinowy.

## Spis treści

1	Badanie krzepliwości krwi.....	1
1.1	Ostry dyżur.....	1
1.2	Badania przed i pooperacyjne.....	2
1.3	Gabinet lekarza pierwszego kontaktu.....	2
1.4	Gabinet stomatologiczny.....	3
2	System qLabs® Coag Panel 2.....	4
3	Podsumowanie badań klinicznych.....	5
3.1	Badania kliniczne w Chinach.....	5
3.2	Badania kliniczne w Turcji.....	6
3.3	Badania kliniczne w Czechach.....	8
4	Bibliografia.....	9
	Aneks.....	10

## 1 Badanie krzepliwości krwi

Testy koagulacji krwi wykonywane są w celu pomiaru zdolności krwi do krzepnięcia. Są one powszechnie wykorzystywane na oddziałach ratunkowych oraz przed i po operacji jak i również podczas wizyty u lekarza pierwszego kontaktu.

Czas protrombinowy (PT) oraz czas kaolinowo-kefalinowy (APTT) są najczęściej wykonywanymi badaniami krzepnięcia krwi. Czas protrombinowy służy do oceny aktywności zewnątrzpochodnego układu krzepnięcia. PT określa czas (w sekundach) potrzebny do wytworzenia skrzepu po dodaniu jonów wapnia oraz aktywatora zewnętrznego szlaku krzepnięcia (tromboplastyny). Test jest czuły na obecność oraz aktywność wielu czynników, w tym II, V, VII oraz X czynnika krzepnięcia krwi. Międzynarodowy współczynnik znormalizowany (INR) został wprowadzony przez Światową Organizację Zdrowia w celu zniwelowania zmienności wyników PT spowodowanymi różnicą czułości tromboplastyny produkowanej przez różnych producentów.

Czas protrombinowy (PT) jest powszechnie stosowany w celu:

1. Wykrycie niedoboru VII czynnika krzepnięcia.
2. Diagnoza oraz ocena choroby wątroby.
3. Kontrola INR w przypadku stosowania terapii przeciwkrzepliwej.

Wskaźnik APTT służy do oceny aktywności wewnątrzpochodnego układu krzepnięcia. APTT określa czas (w sekundach) potrzebny do wytworzenia skrzepu po dodaniu fosfolipidów, aktywatora wewnętrznego szlaku krzepnięcia i jonów wapnia. Test jest czuły na obecność i aktywność czynników krzepnięcia: VIII, IX, XI, XII, X oraz II.

Wskaźnik APTT jest powszechnie stosowany w celu:

1. Kontrola terapii przeciwzakrzepowej w przypadku stosowania heparyny niefrakcjonowanej (UFH)
2. Wykrycie antykoagulantu toczeniowego (LA) oraz specyficznego inhibitora
3. (np. autoprzeciwciała blokujące czynność VIII czynnika krzepnięcia - nabyta hemofilia)
4. Wykrycia niedoboru czynników krzepnięcia.

### 1.1 Ostry dyżur

#### Udar

Wielu pacjentów z ostrym udarem mózgu stosuje leki przeciwzakrzepowe takie jak heparyna lub warfaryna. Decyzje terapeutyczne, jak na przykład zastosowanie leków trombolitycznych wymagają informacji o stanie krzepnięcia, takich jak wartość PT/INR oraz APTT. Podwyższony INR może wykluczać pacjentów z otrzymywania trombolityków. Wydłużone APTT może wskazywać na: 1. stosowanie heparyny. 2. przeciwciała antyfosfolipidowe (zwłaszcza antykoagulant toczeniowy, który paradoksalnie zwiększa skłonność do zakrzepicy). 3. Niedobór czynników krzepnięcia (np. hemofilia). Podczas leczenia trombolitycznego dawka powinna być tak dostosowana aby APTT był 1.5 - 2.5 razy wyższy od normy (np. 60-105 sekund). APTT oraz INR/PT powinny być uważnie kontrolowane zarówno w trakcie terapii jak i po niej.

## Uraz

Pacjenci, którzy doznali urazu wymagają oznaczenia APTT i PT, a zwłaszcza ci, którzy w historii mają choroby krwi lub pacjenci stosujący antykoagulanty.

Główne skutki urazu to nie tylko krwawienie z uszkodzonych miejsc ale również często koagulopatia, co jest związane z kilkukrotnym wzrostem śmiertelności. To wczesne zaburzenie krzepnięcia związane z urazem występuje głównie u pacjentów z hipoperfuzją. Wczesna kontrola krzepnięcia poprzez oznaczenie APTT i PT jest niezbędna do wykrycia koagulopatii wywołanej urazem i określenia głównych przyczyn, w tym hiperfibrynolizy. Wczesna interwencja terapeutyczna redukuje potrzebę transfuzji czerwonych krwinek, świeżo mrożonego osocza oraz płytek krwi, zmniejsza częstość występowania pourazowej niewydolności wielonarządowej, skrócić czas pobytu w szpitalu. Dlatego też wczesna kontrola APTT oraz PT mogą poprawić rezultaty leczenia ciężko rannych pacjentów.

## **1.2 Badania przed i pooperacyjne**

Prawidłowe krzepnięcie krwi jest niezwykle ważne podczas interwencji chirurgicznej. Operacje związane z sercem, wątrobą oraz układem nerwowym powodują znaczące zmiany w mechanizmach kontrolujących krwawienie oraz krzepnięcie krwi. Wymagają one specjalnego zarządzania.

Badania PT i APTT mogą być szeroko stosowane w procesie oceny ryzyka krwawienia przed operacją. W kardiochirurgii, stosowanie heparyny niefrakcjonowanej (UFH) jest często monitorowane przy pomocy wskaźnika APTT. W badaniu, w którym oceniono wpływ przyjmowania przedoperacyjnie UFH, APTT rośnie znacząco i podobnie w 30 min i 6 h w obu grupach, ale wraca do normy w ciągu 12 h.

## **1.3 Gabinet lekarza pierwszego kontaktu.**

Badania APTT oraz PT służą do oceny hemostazy. Wydłużony PT lub APTT, niezależnie od obecnych lub wcześniejszych objawów krwotocznych, uzasadnia dalsze badania, zwłaszcza gdy pacjent nie stosuje leków przeciwkrzepowych lub nie ma zdiagnozowanej choroby wątroby. W celu poprawnego prowadzenia pacjenta, lekarz musi określić czy wydłużone APTT, PT, są powiązane z przyjmowaniem innych leków lub związane z zaburzeniami hemostazy.

Tabela 1 poniżej przedstawia dolegliwości jakie mogą występować w u pacjenta w oparciu o badanie PT i APTT. Po wstępnym badaniu PT i APTT, może być konieczne ponowne wykonanie badanie w laboratorium aby określić przyczyny nieprawidłowych wartości PT lub APTT.

**Tabela 1: Podsumowanie stanów chorobowych, opartych na wynikach PT i APTT**

Wyniki PT	Wyniki APTT	Przykładowe choroby jakie mogą występować
Wydłużony	Normalny	Choroby wątroby Niedobór witaminy K Niedobór VII czynnika krzepnięcia Przewlekłe DIC Terapia antagonistami witaminy K
Normalny	Wydłużony	Niedobór czynnika VIII, IX, XI, XII, prekalikreina, wielkocząstekowy kininogen Typ 3 Choroby Willebranda Obecność antykoagulantu toczniowego
Wydłużony	Wydłużony	Niedobór fibrynogenu, czynnika krzepnięcia II, V lub X Ciężka choroba wątroby Ostre DIC
Normalny	Normalny lub lekko wydłużony	Hemostaza w normie Łagodny niedobór czynnika Mogą być wymagane dalsze badania

Wydłużenie PT i APTT może być wywołane przez różne zaburzenia. Niektóre z nich zwiększają ryzyko krwawienia a inne ryzyko zakrzepicy. Korelacja pomiędzy historią kliniczną i hemostazy pacjenta jest kluczowa, a testy laboratoryjne powinny być wykonane zwłaszcza w przypadku braku oczywistego powodu wydłużenia PT lub APTT. Wydłużenie czasu krzepnięcia może pomóc na drodze do rozpoznania co ułatwi dalszą ocenę w połączeniu z hematologiem.

## 1.4 Gabinet stomatologiczny

Każdy pacjent gabinetu stomatologicznego, który leczy się przeciwzakrzepowo powinien być dokładnie i indywidualnie oceniony. Stomatolog musi przeprowadzić szczegółową ocenę przed wszczęciem postępowania stomatologicznego. Należy zweryfikować ryzyko krwawienia podczas leczenia. W oparciu o wyniki PT i APTT dentysta może podjąć decyzję o kontynuowaniu, zmodyfikowaniu lub nawet zaprzestaniu przyjmowania antykoagulantu. Dokładna, całościowa, przedoperacyjna ocena ryzyka krwawienia i incydentów zakrzepowo-zatorowych w połączeniu z bezurazową techniką leczenia oraz starannymi instrukcjami pooperacyjnymi może prowadzić do bezpiecznych i udanych wyników z minimalnym ryzykiem powikłań.

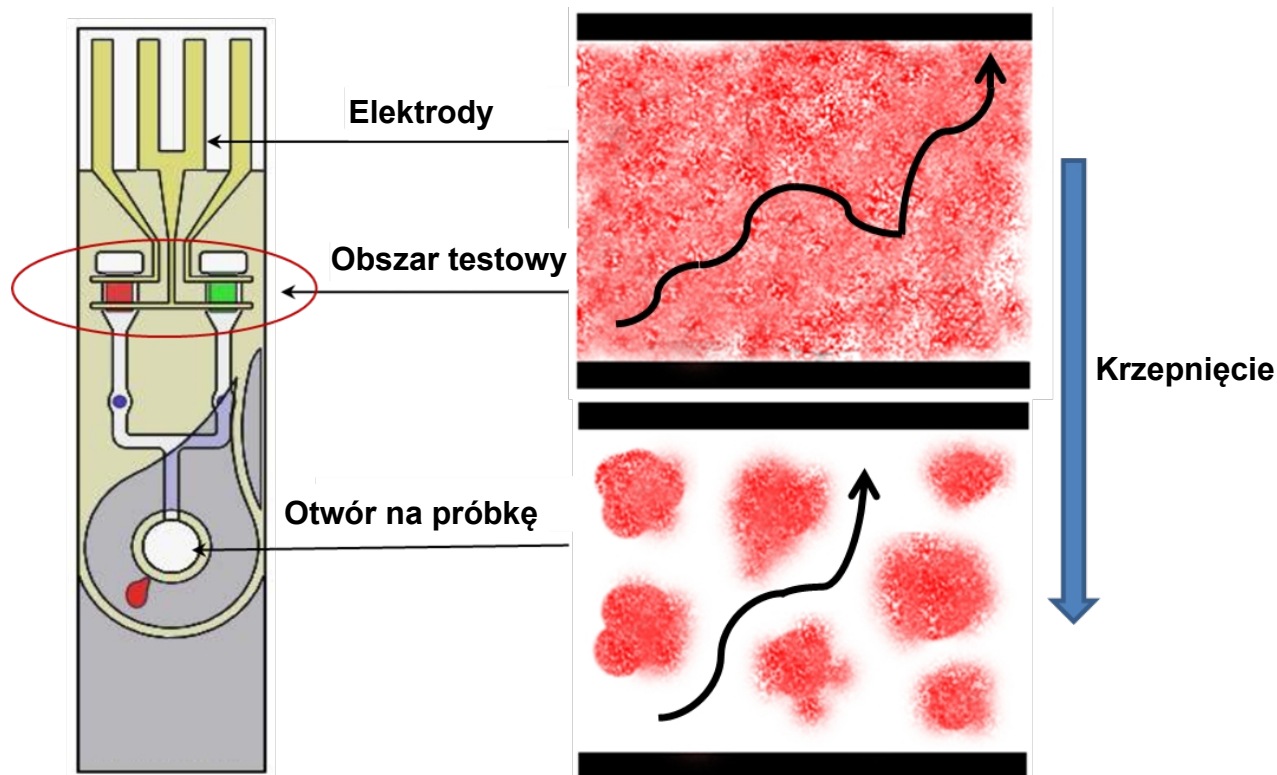
## 2 System qLabs® Coag Panel 2

W skład systemu qLabs® Coag Panel 2 wchodzi paski testowe qLabs® Coag Panel 2 oraz analizator qLabs® Plus. Mierzy on zdolność krwi do krzepnięcia, którą określa czas protrombinowy (PT), międzynarodowy współczynnik znormalizowany (INR) oraz czas kaolinowo-kefalinowy (APTT) z krwi pełnej.

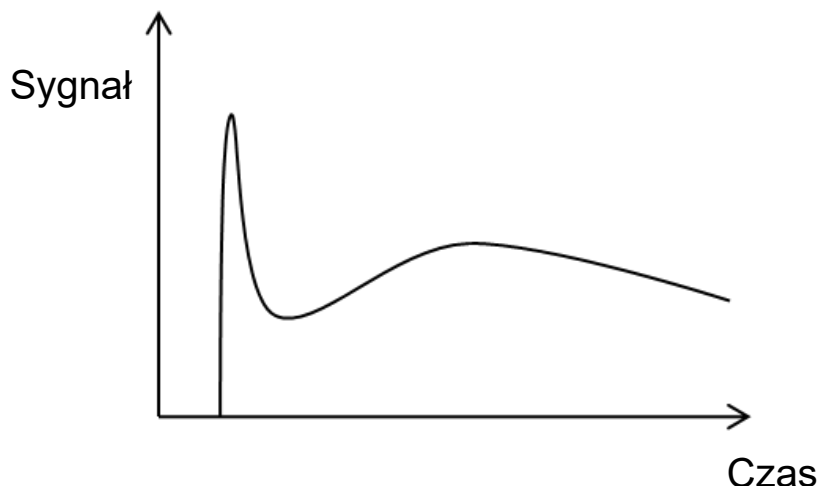
System qLabs® Coag Panel 2 analizuje zmiany impedancji w celu ustalenia punktów końcowych krzepnięcia. Po dodaniu kropli krwi na pasek testowy, jest ona transportowana kanałami do obszaru testowego gdzie krew miesza się z odczynnikami i zaczyna koagulować. Każdy pasek testowy posiada dwie strefy reakcji: jedną do badania PT oraz drugą do APTT. Każda strefa reakcyjna posiada jedną parę metalowych elektrod, do których stałe napięcie dostarczane jest przez analizator. W trakcie procesu koagulacji prąd przepływający przez elektrody ulega zmianie, a urządzenie wykrywa te zmiany w strefach reakcyjnych oraz identyfikuje punkt końcowy krzepnięcia dla każdej z tych stref. Następnie w oparciu o analizę badania wyniki INR oraz APTT zostaną wyświetlone na ekranie.

Jak pokazano na rysunku 1, w trakcie procesu krzepnięcia tworzą się bloki fibryny. Przestrzenie powstałe pomiędzy poszczególnymi blokami fibryny ułatwiają przepływ prądu elektrycznego. Rysunek numer 2 przedstawia zależność impedancji od czasu.

Na podstawie tego wykresu można uzyskać wartości PT/INR/APTT.



Rysunek 1: Schemat zmiany przepływu prądu w trakcie procesu krzepnięcia.



Rysunek 2. Zależność prądu od czasu.

System qLabs® Coag Panel 2 jest pierwszym na świecie przenośnym urządzeniem wykorzystującym zmiany impedancji do jednoczesnego pomiaru INR oraz APTT na elastycznym mikroprzepływowym pasku testowym. W porównaniu z innymi produktami dostępnymi na rynku, główne atuty systemu to np.:

1. Dwa badania na jednym pasku testowych.
2. Przenośna i kompaktowa konstrukcja wymaga mniej miejsca.
3. Wynik INR i APTT w kilka minut.
4. Wymagana tylko niewielka ilość krwi kapilarnej do jednoczesnego oznaczenia INR i APTT.
5. Dobra korelacja z laboratoryjnymi wynikami INR i APTT.

### 3 Podsumowanie badań klinicznych.

System qLabs® Coag Panel 2 potwierdził swoją skuteczność w praktyce klinicznej.

Niniejszy rozdział zawiera podsumowanie badań klinicznych gdzie system qLabs® Coag Panel 2 został porównany z referencyjną metodą laboratoryjną.

#### 3.1 Badania kliniczne w Chinach.

Shenzhen Sixth People's Hospital (Szpital w Nanshan).

**Cel Badania:** Celem badani było porównanie wyników INR i APTT uzyskanych przy wykorzystaniu metod laboratoryjnych oraz przy użyciu qLabs® Coag Panel 2.

**Grupa Badawcza:** 210 pacjentów pacjentów ambulatoryjnych szpitala Shenzhen Sixth People's Hospital.

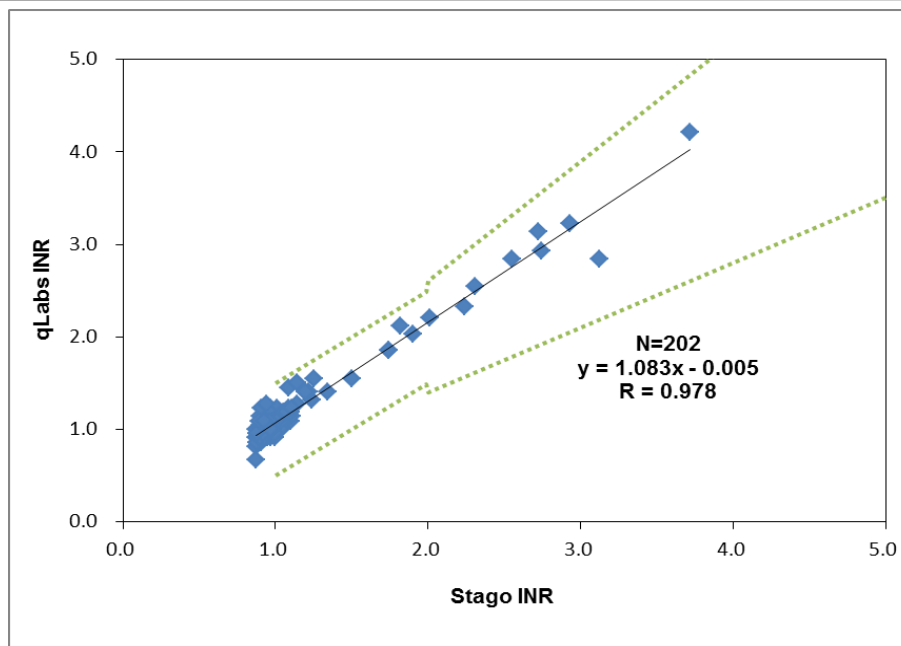
**Metody:** Pomiar INR i APTT zostały wykonane przy użyciu urządzenia qLabs® Plus.

Po nakłuciu palca 10 µl świeżej krwi kapilarnej zostało zaaplikowane na pasek testowy. Wskaźnik INR oraz APTT były oznaczane jednocześnie. Pomiar INR oraz APTT w laboratorium był wykonywany przy użyciu Stago STA-R.

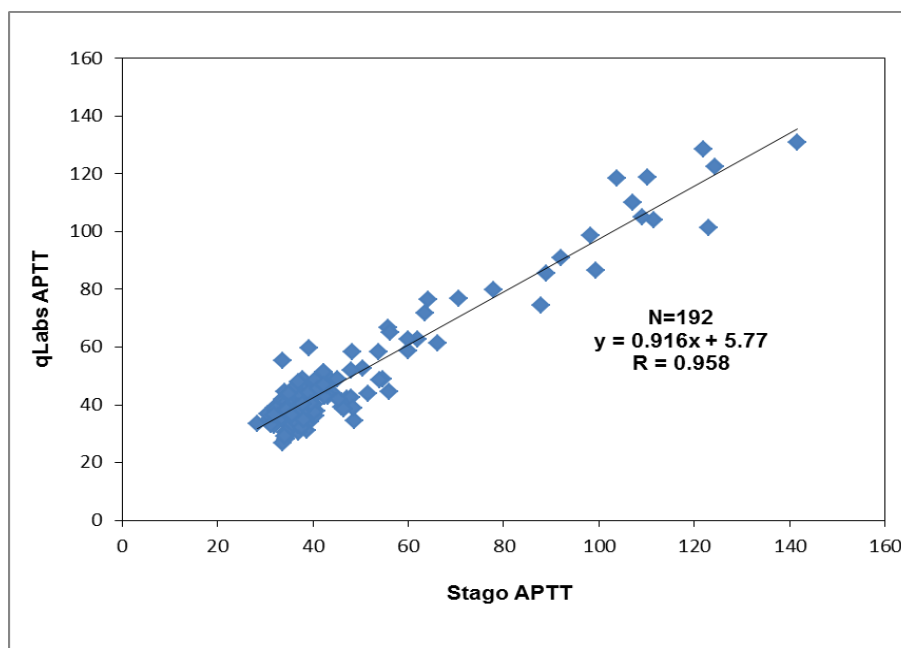
**Wyniki:** Korelacja kliniczna wykazuje statystyczne podobieństwo obu systemów.

Dane analizowano przy użyciu modelu regresji liniowej. Dla INR współczynnik regresji wynosi 1,083 a stała regresji 0,005, ze współczynnikiem korelacji R 0,978 Dla APTT współczynnik regresji wyniósł 0,916, stała regresji -5,77, ze współczynnikiem korelacji R 0,958.





Rysunek 3. Korelacja INR pomiędzy systemami qLabs® i Stago



Rysunek 4. Korelacja APTT pomiędzy systemami qLabs® i Stago

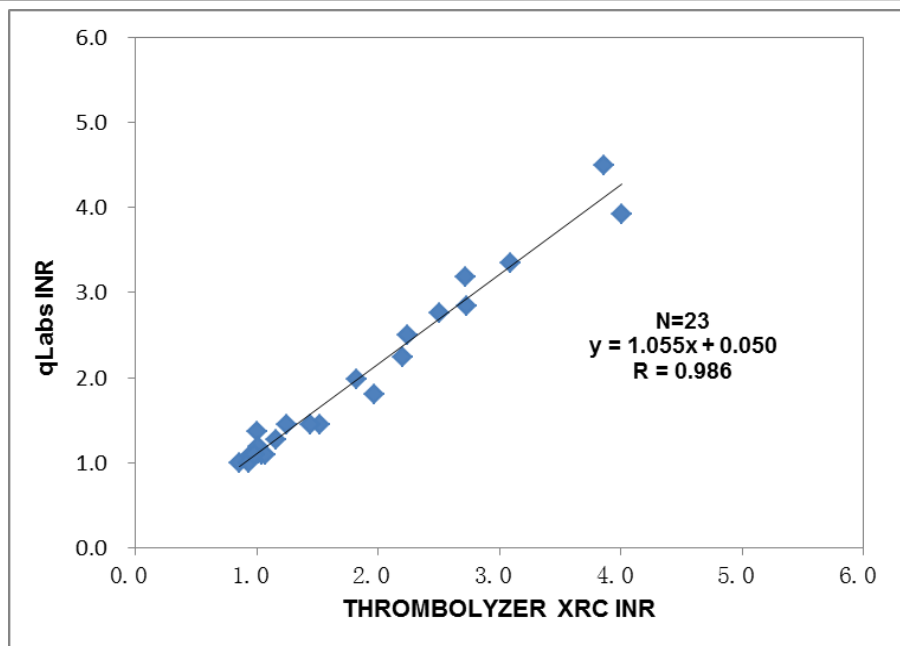
### 3.2 Badania kliniczne w Turcji.

**Cel Badania:** Celem badania była ocena dokładności wyników INR i APTT otrzymanych przy użyciu systemu qLabs®.

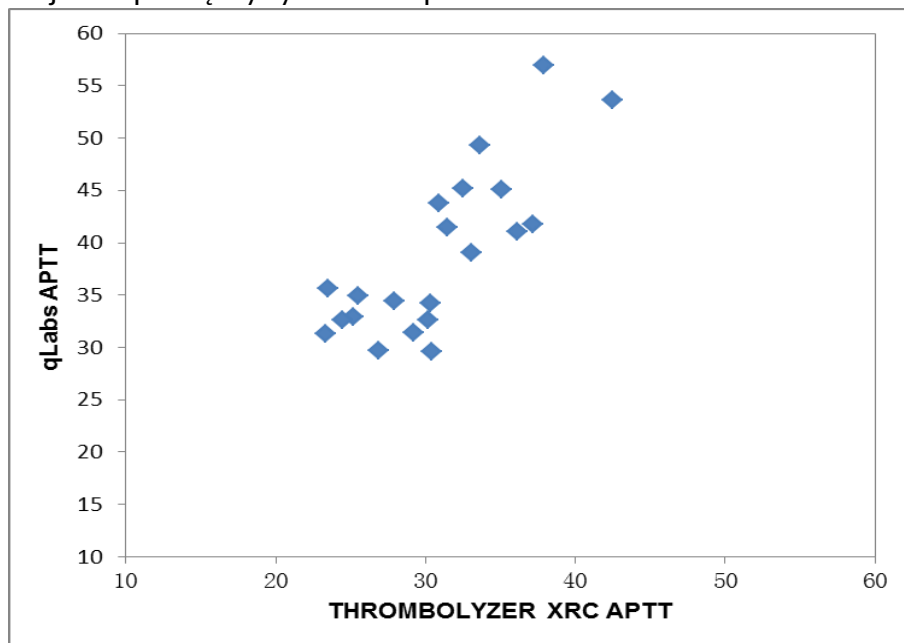
**Grupa Badawcza:** 23 pacjentów lokalnego szpitala.

**Metody:** Pomiar INR i APTT zostały wykonane przy użyciu urządzenia qLabs® Plus.

Po nakłuciu palca 10 µl świeżej krwi kapilarnej zostało zaaplikowane na pasek testowy. Wskaźnik INR oraz APTT były oznaczane jednocześnie. Pomiar INR oraz APTT w laboratorium był wykonywany przy użyciu THROMBOLYZER XRC.



Rysunek 5. Korelacja INR pomiędzy systemami qLabs® i THROMBOLYZER XRC.



Rysunek 6. Korelacja APTT pomiędzy systemami qLabs® i THROMBOLYZER XRC APTT.

Wyniki: Korelacja kliniczna wykazuje statystyczne podobieństwo obu systemów. Dane analizowano przy użyciu modelu regresji liniowej. Dla INR współczynnik regresji wynosi 1,055 a stała regresji - 0,050, ze współczynnikiem korelacji R 0,986. Ze względu na ograniczoną liczbę próbek zakres oceny APTT stanowi niewielką część całego zakresu pomiarowego. Analiza regresji nie mogła być wykorzystana do oceny dokładności APTT dla systemu qLabs®. Na podstawie uzyskanych danych, wyniki APTT z analizatora qLabs® oraz THROMBOLYZER XRC były zgodne.

### 3.3 Badania kliniczne w Czechach.

Szpital Uniwersytecki w Hradec Kralove

Cel Badania: Celem badania było porównanie wyników INR i APTT uzyskanych przy pomocy standardowej metody laboratoryjnej oraz urządzenia POCT. Oceniona zostanie wiarygodność pomiarów INR i APTT przy użyciu analizatora POCT dla codziennej praktyki klinicznej.

Grupa Badawcza: 40 pacjentów poradni zaburzeń krzepnięcia i hemostazy.

Metody: Pomiary INR i APTT zostały wykonane przy użyciu urządzenia qLabs® Plus. Po nakłuciu palca 10 µl świeżej krwi kapilarnej zostało zaaplikowane na pasek testowy. Laboratoryjne pomiary APTT i INR zostały wykonane odpowiednio przy użyciu Automate (Diagnostic Stago) i Neoplastin CI plus (Diagnostic Stago).

Wyniki: Porównano wyniki INR dla 27 pacjentów stosujących leczenie przeciwzakrzepowe przy użyciu warfaryny. Wyniki APTT oceniono dla wszystkich 40 pacjentów, którzy mogą zostać podzieleni na 4 różne grupy ze względu na występujące objawy. Wyniki APTT i INR uzyskano jednocześnie. W żadnej grupie nie odnotowano istotnych różnic pomiędzy wynikami uzyskanymi z analizatora qLabs® a tymi z laboratorium.

Tabela 2: Podsumowanie wartości INR dla 27 pacjentów stosujących terapię przeciwzakrzepową.

Wyniki INR z laboratorium	Pacjenci	Błąd
<2.0	4	±0.2
2.0-3.0	3	+0.3
	2	+0.2
	1	+0.1
	7	0
	4	-0.1
	2	-0.2
	2	-0.3
>3.0	1	-0.2
	1	+0.6

Tabela 3: Podsumowanie wartości APTT dla 40 pacjentów z sytuacjami klinicznymi.

Grupa	Sytuacja	Liczba pacjentów	Błąd
A	leczenie Warfaryną	27	±10
B	Zdrowe	5	±5
C	Hemofilia	2	±15
D	leczenie Dabigatranem	2	±5
E	Przeciwciała antyfosfolipidowe	2	±10
F	Heparyna drobnocząsteczkowa	2	±5

Błąd = wyniki - wyniki laboratorium

## 4 Bibliografia

- [1]Levy, Jerrold H., et al. "Clinical use of the activated partial thromboplastin time and prothrombin time for screening: review of the literature current and current guidelines for testing." *Clinics in laboratory medicine* 34.3 (2014): 453-477.
- [2]Spahn, Donat R., et al. "Management of bleeding and coagulopathy following major trauma: an updated European guideline." *Crit Care* 17.2 (2013): R76.
- [3]Chee, Y. L., et al. "Guidelines on the assessment of bleeding risk prior to surgery or invasive procedures." *British journal of haematology* 140.5 (2008): 496-504.
- [4]Renda, Giulia, et al. "Surgical bleeding after pre-operative unfractionated heparin and low molecular weight heparin for coronary bypass surgery." *Haematologica* 92.3 (2007): 366-373.
- [5]Kamal, Arif H., Ayalew Tefferi, and Rajiv K. Pruthi. "How to interpret and pursue an abnormal prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and bleeding time in adults." *Mayo Clinic Proceedings*. Vol. 82. No. 7. Elsevier, 2007.

## Aneks

### A1 Podsumowanie badań klinicznych qLabs® PT-INR.

Ten rozdział zawiera podsumowanie badań klinicznych gdzie porównano wyniki PT-INR uzyskane za pomocą urządzenia qLabs® z referencyjnymi metodami laboratoryjnymi.

#### A1.1 Laboratorium referencyjne

Referencja	Oceniający i lokalizacja
STA-R	Prof. MUDr. Jindřich Špínar, CSc., FESC (project lead), and Hana Fišerová (head nurse), Cardiology Clinics, Teaching Hospital Brno Bohunice, Czech Republic.
SYSMEX	Micropoint Personnel , Beijing Anzhen Hospital, Beijing Chaoyang Hospital,
ACL	A.M.H.P. van den Besselaar, Winterswijk Netherlands

#### A1.2 Metoda

Pomiary PT-INR zostały wykonane przy użyciu urządzenia qLabs® Plus. Po nakłuciu palca 10 µl świeżej krwi kapilarnej zostało zaaplikowane na pasek testowy. Laboratoryjne pomiary PT-INR przy użyciu systemu referencyjnego były wykonywane jednocześnie.

#### A1.3 Kryteria akceptacji

Kryteria akceptacji powinny być zgodne z ISO 17593: Laboratoryjne badania kliniczne oraz system testowy do diagnostyki in vitro - system in vitro do samokontroli terapii przeciwzakrzepowej.

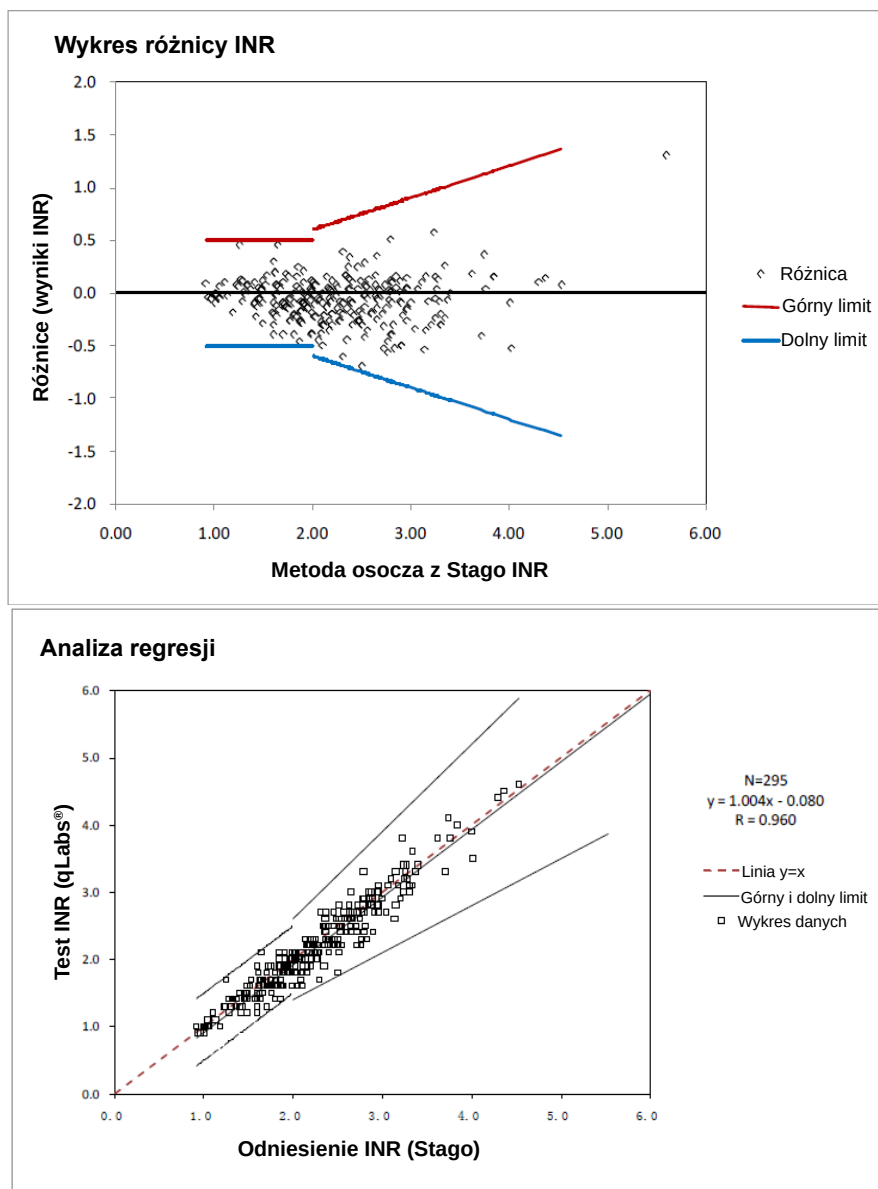
#### Kryteria dokładności

Przedział INR	Dopuszczalna różnica (90% wyników)	Dopuszczalny błąd (średnia różnica)
<2.0	+/- 0.5	N/A
2.0~4.5	+/- 30%	+/- 0.3
4.5~6.0	N/A	N/A

#### Analiza regresji liniowej

Parametry	Specyfikacja
Nachylenie	0.9~1.1
Punkt przecięcia	(-)0.5~(+)0.5
Korelacja R	≥0.90

**A1.4 STA-R**

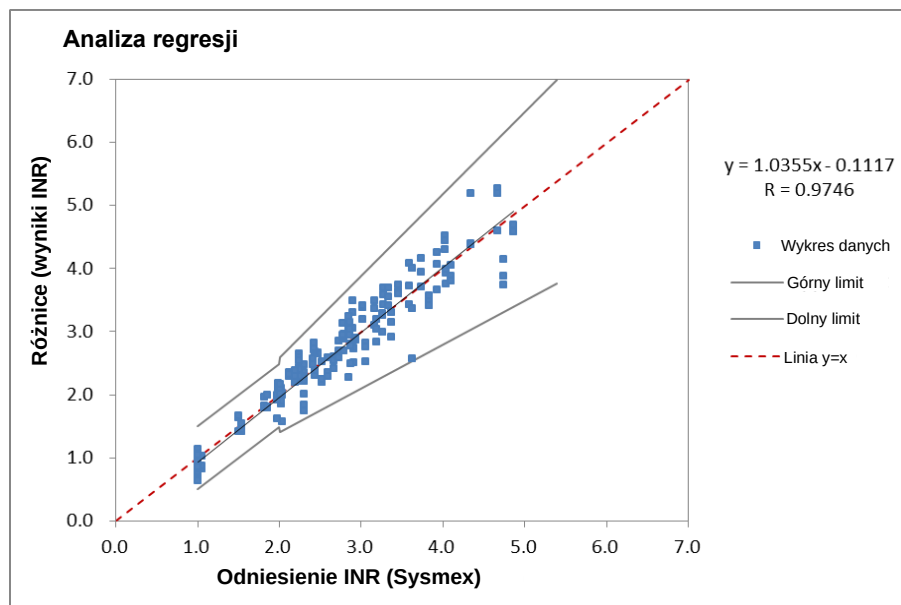
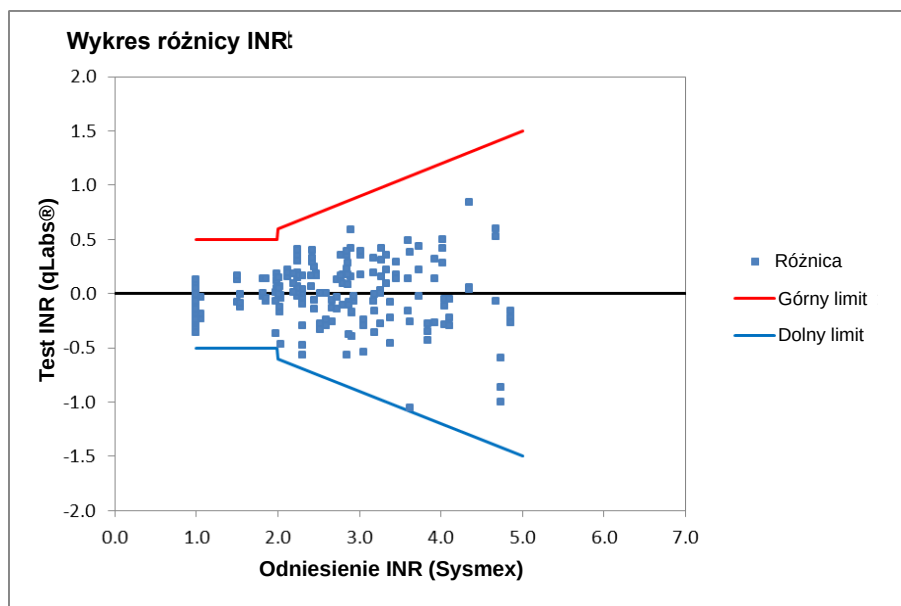


Przedział INR	w obrębie 0,3	w obrębie 0.5	Przeciętny błąd
<2.0	93.3%	100%	0.13

Przedział INR	w obrębie 10%	w obrębie 20%	w obrębie 30%	Przeciętny błąd
2.0~4.5	93.6%	97.1%	100%	0.19

Korelacja kliniczna wskazuje statystyczne podobieństwo pomiędzy systemami qLabs® oraz Stago. Dane analizowano przy pomocy modelu regresji liniowej. Współczynnik regresji wynosi 1,004 a stała regresji 0,080, ze współczynnikiem korelacji R 0,960. Wyniki INR dla obu przedziałów całkowicie spełniają kryteria akceptacji.

### A1.5 SYSMEX

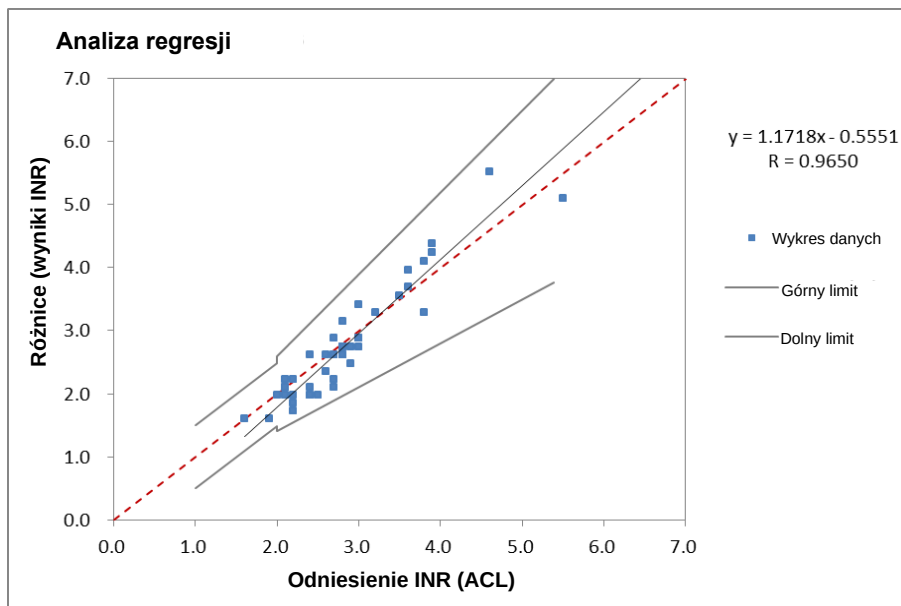
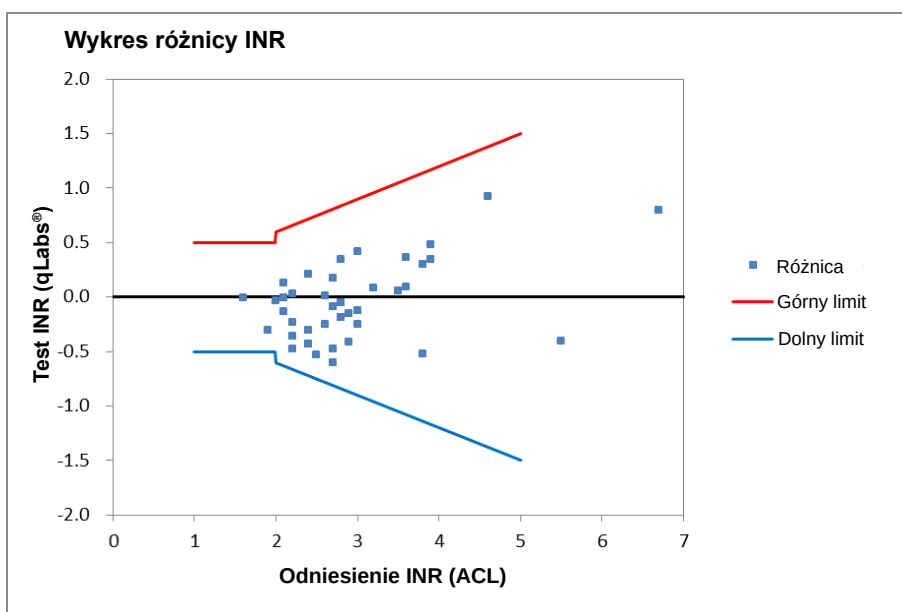


Przedział INR	w obrębie 0,3	w obrębie 0.5	Przeciętny błąd
<2.0	98.67%	100%	0.12

Przedział INR	w obrębie 10%	w obrębie 20%	w obrębie 30%	Przeciętny błąd
2.0~4.5	67.80%	95.21%	100%	0.00

Korelacja kliniczna wskazuje statystyczne podobieństwo pomiędzy systemami qLabs® oraz Sysmex. Dane analizowano przy pomocy modelu regresji liniowej. Współczynnik regresji wynosi 1,0355 a stała regresji 0,1117, ze współczynnikiem korelacji R 0,9746. Wyniki INR dla obu przedziałów całkowicie spełniają kryteria akceptacji.

### A1.6 ACL



Przedział INR	w obrębie 10%	w obrębie 20%	w obrębie 30%	Przeciętny błąd
2.0~4.5	62.2%	91.1%	100%	-0.05

Korelacja kliniczna wskazuje statystyczne podobieństwo pomiędzy systemami qLabs® oraz ACL. Dane analizowano przy pomocy modelu regresji liniowej. Współczynnik regresji wynosi 1,1718 a stała regresji 0,5551, ze współczynnikiem korelacji R 0,9650. Wyniki INR dla obu przedziałów całkowicie spełniają kryteria akceptacji.