

Citlivost testovacího proužku CoaguChek® XS PT Test *na nefrakcionovaný a LMW heparin*

Tato práce shrnuje dvě studie citlivosti na heparin provedené Roche Diagnostics u nového testovacího proužku CoaguChek® XS PT Test.

Úvod

Roche Diagnostics uvádí nový systém CoaguChek® XS, který slouží ke kvantitativnímu stanovení protrombinového času (PT) v INR, % Quickova testu nebo sekundách, a to z kapilární krve z konečku prstu nebo žilní plné krve bez protisrážlivé úpravy.

Nový testovací proužek CoaguChek® XS PT se vyznačuje nižší hodnotou mezinárodního indexu senzitivity (International Sensitivity Index - ISI) a chemií založenou na lidském rekombinantním tkáňovém faktoru (hrTF).

Součástí chemie testovacího proužku je antiheparinový prostředek, který byl přidán, aby neutralizoval účinky heparinu obsaženého v krevních vzorcích aplikovaných na testovací proužek.

K vyhodnocení citlivosti testovacího proužku CoaguChek® XS PT provedla společnost Roche Diagnostics dvě zkoušky, z nichž jedna hodnotí citlivost na nefrakcionovaný heparin a druhá na nízkomolekulární (LMW) heparin. Níže jsou uvedeny metody, výsledky a závěry studií.

Zkouška 1: Citlivost na nefrakcionovaný heparin

Východisko

Antitrombin III inhibuje proteázy koagulačních faktorů tím, že s nimi vytváří stabilní ekvimolární komplexy. V nepřítomnosti heparinu jsou tyto reakce pomalé; v přítomnosti heparinu se tisícinásobně zrychlují. Molekuly heparinu se pevně váží na antitrombin III a způsobují strukturální změnu tohoto inhibitoru. Tato strukturální změna antitrombinu III odkrývá jeho aktivní vazebné místo pro rychlou interakci s proteázami. Tento mechanismus umožňuje antikoagulační vlastnosti heparinu.

Do chemie testovacího proužku CoaguChek® XS PT byl přidán antiheparinový prostředek k neutralizaci účinků heparinu obsaženého ve vzorku aplikovaném na proužek.

Akceptační kritéria definují citlivost na heparin u zdravých jedinců a pacientů užívajících warfarin jako zvýšení průměrného INR při určitém množství přidaného heparinu $\leq 10\%$ ve srovnání se vzorkem bez přidaného heparinu.

Metodologie

K provedení analýzy citlivosti testovacího proužku CoaguChek® XS PT na nefrakcionovaný heparin byla uskutečněna hodnotící studie.¹

Koncentrace heparinu (jednotky)	Průměrná hodnota INR	Hodnota p	Relativní bias [%]
0	0,94		
0,35	0,94	0,678	-0,24
0	0,94		
0,53	0,94	0,811	-0,13
0	0,94		
0,71	0,94	0,075	0,64
0	0,95		
0,89	0,94	0,000	-1,37
0	0,95		
1,33	0,95	0,199	0,48
0	0,95		
1,77	0,97	0,000	1,93

Tab. 1: Normální dárce 01 (základní INR 0,95)

Vzorky krve od dvou zdravých jedinců a dvou pacientů léčených warfarinem byly upraveny šesti různými koncentracemi heparinu (0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,5; 2,0 jednotky). Všechny upravené vzorky krve byly změřeny systémem CoaguChek® XS

a porovnány s neupravenými vzorky krve, které byly rovněž změřeny systémem CoaguChek® XS.

Výsledky a závěr

S ohledem na akceptační kritérium ($\leq 10\%$)

nevykazovala žádná testovaná koncentrace v krvi normálních dárců (do 2 U/ml) ve srovnání s neupraveným vzorkem žádnou interferenci nefrakcionovaného heparinu.

S ohledem na akceptační kritérium ($\leq 10\%$) nevykazovaly vzorky krve pacientů léčených warfarinem ve srovnání s neupraveným vzorkem žádnou interferenci nefrakcionovaného heparinu do 0,8 U/ml.

Zkouška 2: Citlivost na nízkomolekulární heparin

Východisko

Nízkomolekulární heparin je odvozen ze standardního heparinu chemickou nebo enzymatickou depolymerací. Zatímco standardní heparin má molekulovou hmotnost 5 000 až 30 000 Da, molekulová hmotnost nízkomolekulárního (LMW) heparinu se pohybuje v rozmezí od 1 000 do 10 000 daltonů, což způsobuje, že má jiné vlastnosti než tradiční heparin. Heparin s nízkou molekulární hmotností se méně silně váže na bílkoviny, má lepší biologickou dostupnost, méně interaguje s krevními destičkami a má velmi předvídatelnou odpověď na dávku. Nízkomolekulární heparin se podobně jako standardní heparin váže na antitrombin III, avšak inhibuje trombin v menší míře (a faktor Xa ve větší míře) než standardní heparin.

Do chemie testovacího proužku CoaguChek® XS PT byl přidán antiheparinový prostředek k neutralizaci účinků heparinu obsaženého ve vzorku aplikovaném na proužek.

Akceptační kritéria definují citlivost na heparin u zdravých jedinců a pacientů užívajících warfarin jako zvýšení průměrného INR při určitém množství přidaného heparinu $\leq 10\%$ ve srovnání se vzorkem bez přidaného heparinu.

Metodologie

K provedení analýzy citlivosti testovacího proužku CoaguChek® XS PT na nízkomolekulární heparin byla uskutečněna hodnotící studie.¹

Byly použity dva nízkomolekulární heparinové výrobky (tinzaparin a enoxaparin) - jeden s vysokým podílem anti-Xa/

Koncentrace heparinu (jednotky)	Průměrná hodnota INR	Hodnota p	Relativní bias [%]
0	1,04		
0,39	1,03	0,007	-1,25
0	1,04		
0,59	1,02	0,003	-1,40
0	1,04		
0,78	1,03	0,366	-0,42
0	1,04		
0,98	1,03	0,419	-0,44
0	1,04		
1,46	1,03	0,053	-0,84
0	1,02		
1,95	1,06	0,000	3,70

Tab. 2: Normální dárcé 02 (základní INR 1,02)

Koncentrace heparinu (jednotky)	Průměrná hodnota INR	Hodnota p	Relativní bias [%]
0	2,82		
0,42	2,83	0,549	-0,41
0	2,89		
0,64	2,89	0,832	-0,17
0	2,87		
0,84	2,91	0,072	1,15
0	2,97		
1,05	3,06	0,000	3,22
0	2,95		
1,57	3,35	0,000	13,83
0	2,94		
2,09	4,02	0,000	36,98

Tab. 3: Warfarin - Pacient 01 (základní INR 2,89)

Koncentrace heparinu (jednotky)	Průměrná hodnota INR	Hodnota p	Relativní bias [%]
0	2,51		
0,40	2,50	0,408	-0,34
0	2,53		
0,61	2,48	0,002	-2,16
0	2,58		
0,81	2,54	0,016	-1,55
0	2,58		
1,02	2,61	0,076	1,20
0	2,52		
1,52	2,82	0,000	11,86
0	2,58		
2,02	3,20	0,000	24,29

Tab. 4: Warfarin - Pacient 02 (základní INR 2,50)

LMWH: tinzaparin

Koncentrace heparinu (jednotky)	Průměrná hodnota INR	Hodnota p	Relativní bias [%]
0	1,06		
0,59	1,04	0,000	-2,32
0	1,07		
1,18	1,05	0,000	-1,53
0	1,07		
1,75	1,05	0,000	-2,57
0	1,07		
2,31	1,05	0,000	-2,01
0	1,07		
2,93	1,07	0,863	0,07

Tab. 5: Normální dárce T-01 (základní INR 0,95)

Koncentrace heparinu (jednotky)	Průměrná hodnota INR	Hodnota p	Relativní bias [%]
0	0,95		
0,59	0,95	0,369	0,31
0	0,97		
1,18	0,95	0,000	-2,42
0	0,97		
1,75	0,95	0,000	-2,17
0	0,98		
2,31	0,96	0,000	-2,13
0	0,98		
2,93	0,96	0,000	-2,55

Tab. 6: Normální dárce T-02 (základní INR 1,02)

LMWH: tinzaparin

Koncentrace heparinu (jednotky)	Průměrná hodnota INR	Hodnota p	Relativní bias [%]
0	2,04		
0,63	2,01	0,075	-1,25
0	2,04		
1,24	2,06	0,056	1,17
0	2,06		
1,85	2,08	0,102	1,29
0	2,09		
2,44	2,17	0,000	4,12
0	2,12		
3,09	2,27	0,000	7,10

Tab. 7: Warfarin - pacient T-01 (základní INR 2,89)

Koncentrace heparinu (jednotky)	Průměrná hodnota INR	Hodnota p	Relativní bias [%]
0	2,12		
0,59	2,08	0,025	-1,85
0	2,10		
1,18	2,11	0,643	0,46
0	2,11		
1,75	2,13	0,106	1,29
0	2,11		
2,31	2,17	0,005	2,79
0	2,12		
2,93	2,29	0,000	7,83

Tab. 8: Warfarin - pacient T-02 (základní INR 2,50)

anti-IIa a jeden s nízkým podílem anti-Xa/anti-IIa.

Ke vzorkům krve čtyř normálních dobrovolníků (dvěma pro tinzaparin a dvěma pro enoxaparin) a čtyř pacientů užívajících warfarin (dvěma pro tinzaparin a dvěma pro enoxaparin) bylo přidáno pět různých koncentrací heparinu a byly porovnány s neupraveným vzorkem.

Výsledky a závěr

S ohledem na akceptační kritérium ($\leq 10\%$) nevykazovaly vzorky krve normálních dárců a pacientů léčených warfarinem ve srovnání s neupraveným vzorkem žádnou interferenci heparinu tinzaparin ani enoxaparin až do aktivity anti-Xa 2 U/ml.

Literatura:

1) 510(k) FDA submission for CoaguChek XS system, submitted April 2006.



Testovací proužek CoaguChek® XS

LMWH: enoxaparin

Koncentrace heparinu (jednotky)	Průměrná hodnota INR	Hodnota p	Relativní bias [%]
0	1,02		
0,57	1,02	0,126	-0,82
0	1,02		
1,12	1,01	0,003	-1,61
0	1,03		
1,67	1,01	0,004	-1,75
0	1,02		
2,21	1,03	0,021	1,46
0	1,05		
2,80	1,04	0,303	-0,67

Tab. 9: Normální dárce E-01 (základní INR 1,03)

Koncentrace heparinu (jednotky)	Průměrná hodnota INR	Hodnota p	Relativní bias [%]
0	1,02		
0,56	1,01	0,109	-1,00
0	1,02		
1,10	1,00	0,000	-2,01
0	1,03		
1,64	1,01	0,000	-2,27
0	1,04		
2,17	1,01	0,000	-2,30
0	1,03		
2,75	1,01	0,014	-1,52

Tab. 10: Normální dárce E-02 (základní INR 1,02)

Koncentrace heparinu (jednotky)	Průměrná hodnota INR	Hodnota p	Relativní bias [%]
0	2,07		
0,51	2,06	0,122	-0,76
0	2,08		
1,01	2,08	0,987	-0,01
0	2,11		
1,51	2,13	0,176	0,71
0	2,11		
2,00	2,14	0,005	1,47
0	2,10		
2,53	2,18	0,000	3,99

Tab. 11: Warfarin - pacient E-01 (základní INR 2,08)

Koncentrace heparinu (jednotky)	Průměrná hodnota INR	Hodnota p	Relativní bias [%]
0	2,23		
0,57	2,20	0,025	-1,17
0	2,27		
1,12	2,26	0,292	-0,50
0	2,27		
1,67	2,23	0,012	-1,76
0	2,29		
2,21	2,31	0,066	1,02
0	2,28		
2,80	2,33	0,001	2,18

Tab. 12: Warfarin - pacient E-02 (základní INR 2,22)



CoaguChek® XS Pro - identifikace pacienta



CoaguChek® XS Pro - vložení testovacího proužku



CoaguChek® XS Pro - aplikace kapilární krve



CoaguChek® XS Pro - výsledek INR