

# Metodeverifisering av PT-INR

Av **IDA BOTNEVIK**, **CESILIE DAHLL** og **MALENE VIKEN KARSTAD** (forfattere av artikkelen).  
I gjennomføringen av bacheloroppgaven deltok i tillegg Erik Thorsheim.

**ET BACHELORPROSJEKT** utført ved Haukeland universitetssjukehus våren 2011 stilte følgende spørsmål:  
– Kan EDTA-plasma benyttes ved PT-INR-analysering?  
– Hva er holdbarheten for PT-INR-analysering i citrat- og EDTA-plasma?  
– Hvor stor fylningsgrad av citratrørene er nødvendig for å unngå fortynningsfeil ved måling av PT-INR?

Artikkelen bygger på bachelorprosjektet "Metodeverifisering av PT-INR" som ble utført våren 2011 i forbindelse med avsluttende bioingeniørutdanning ved Høgskolen i Bergen (HiB). Oppgaven var et samarbeidsprosjekt mellom HiB og Seksjon for hematologi- og koagulasjonsanalyser ved Laboratorium for klinisk biokjemi (LKB), Haukeland Universitetssjukehus.

Vanligvis benyttes citratplasma til PT-INR-analysering. Aktivering av koagulasjon hindres blant annet av at citrat binder kalsiumioner i plasma. EDTA binder også kalsiumioner, og forhindrer dermed koagulasjonsaktivering.

EDTA-blod til hematologianalysering blir stort sett tatt av alle inneliggende pasienter. Det ville derfor vært til god hjelp om EDTA-plasma kunne benyttes til PT-INR analysering, for eksempel ved problematisk prøvetaking og/eller hvis citratglasset ikke er tilstrekkelig fylt. PT-INR resultater fra citratrør og EDTA-rør ble derfor sammenlignet.

Med tanke på etterbestilling ble det også undersøkt om PT-INR endres over tid, både i citrat- og EDTA-plasma.

Helt fulle citratrør gir et forhold mellom

citrat og blod på 1:9. PT-INR-resultater i rør med lavere fylningsgrad ble sammenlignet med resultater i helt fulle citratrør

## Materiale og metode

Tre Citratrør og ett EDTA-rør ble tatt av 29 pasienter under Marevanbehandling ved Haukeland universitetssjukehus. Pasientene samtykket i at det ble tatt tre ekstra prøverør. Et av citratrørene ble fylt helt (citrat 1:1), et ble fylt tre kvart (citrat 3:4), mens det siste ble fylt halvt (citrat 1:2). EDTA-røret ble fylt helt. Prøverørene ble sentrifugert innen 30 minutter etter prøvetaking, og plasma ble ikke avpipetert. Alle prøvene ble analysert første gang innen én time etter prøvetaking. Citrat 1:1 og EDTA-plasma ble analysert hver time i åtte timer, og en siste gang etter 24 timer. Alle analysene ble utført i duplikat.

Analyseinstrumentet som ble benyttet var STA-R Evolution (STAGO) og sentrifugen som ble benyttet var KUBOTA 5930 (KUBOTA Corporation). Reagenser var STA-SPA+ (STAGO) og bufferen STA-Owren-Koller (STAGO).

PT-INR blir analysert ved hjelp av "klott-deteksjon". Prinsippet for STA-R-instrumentene baserer seg på økning i viskositet i plasma ved koagulasjon. Plasma blir tilsatt en kyvette med en stålkule som svinger frem og tilbake grunnet to vekselvirkende aktiveringsspiraler som danner et elektromagnetisk felt. Endring i viskositeten blir målt ved at bevegelsen (amplituden) til den svingende stålkulen blir registrert. Målingen av amplituden starter når reagens tilsettes. Når koagulasjonen inntreffer, vil viskositeten i plasma øke og amplituden vil dermed minke. Tiden blir stoppet og registrert. Koagulasjonstiden i kyvetten blir målt i sekunder, og blir deretter omregnet til den internasjonale enheten PT-INR (Fig. 1).

Excel Software ble brukt til å lage Bland-Altman diagram (differanseplott).

## Resultater

PT-INR resultatene i EDTA-plasma lå systematisk lavere enn i citratplasma (differanse 0 til -0,5 PT-INR-enheter) (Fig. 2). Differansen økte med økende PT-INR-verdi. Gjennomsnittlig differanse var 8 %.

PT-INR-verdier analysert i sentrifugert citratplasma etter to, fire, åtte og 24 timer var lavere enn de som var analysert etter en time (referanse). Differansen økte med økende PT-INR-verdi, og økte ytterligere med tiden. Gjennomsnittlig differanse var -0,05 og -0,1 PT-INR-enheter etter henholdsvis to og 24 timer.

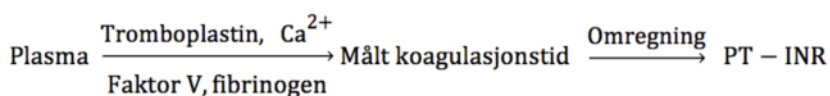
PT-INR-verdier analysert i sentrifugert EDTA-plasma etter to, fire, åtte og 24 timer var også lavere enn analysert etter en time (referanse). Differansen økte med økende PT-INR-verdi, og økte ytterligere med tiden. Gjennomsnittlig differanse var -0,04 og -0,2 PT-INR-enheter etter henholdsvis to og 24 timer.

Differanse mellom citrat 1:1 og citrat 3:4 var ca 0,1 INR-enheter (Fig. 3). Differansen mellom citrat 1:1 og citrat 1:2 var større enn mellom citrat 1:1 og 3:4, og differansen økte med økende PT-INR-verdi (Fig. 4).

## Diskusjon og konklusjon

I enkelte studier på holdbarhet har differanser < 10 % blitt brukt som et mål på at differansene ikke er av klinisk betydning. PT-INR analysert i EDTA-plasma ga systematisk lavere PT-INR-verdier enn i citratplasma, men i terapeutisk område var ikke differansene over 10 %.

På bakgrunn av dette ble det besluttet at PT-INR i spesielle tilfeller kan analyseres i EDTA-plasma i inntil åtte timer etter prøvetakingen, for eksempel ved spesielt problematisk prøvetaking. Ved PT-INR-



FIGUR 1. Analyseprinsipp for måling av PT-INR på STA-R Evolution (Horsti, 2002)

analysering i EDTA-plasma, skal resultatet gis ut sammen med en kommentar med opplysning om at resultatet kan være opp til 10 % lavere i terapeutisk område enn ved analysering i citratplasma, og at neste prøve bør analyseres i citratplasma. PT-INR-verdier i EDTA-plasma sees på som veiledende verdier. Standardiseringen av PT-INR-analysen er utført med tanke på analysering i citratplasma og man bør ha god grunn til å avvike fra dette prøvematerialet. Det er også tidligere funnet at PT-INR med Owren metode kan analyseres i EDTA-plasma, men det anbefales da at koagulasjonsinstrumentet kalibreres for dette (Horsti J 2000 og Horsti J 2001)

Ved etterbestilling av PT-INR kan denne analyseres i citratplasma i inntil 24 timer etter prøvetaking, men man bør være oppmerksom på at resultatet reduseres mer ved høye PT-INR-verdier enn ved lave.

Differansen mellom citrat 1:1 og citrat 3:4 var <10 %, og det ble besluttet at PT-INR kan analyseres i citrat 3:4 uten å legge ved kommentar til analysesvaret. Citrat 1:2 godtas derimot ikke, da PT-INR-verdien vil avvike for mye fra tilstrekkelig fylte glass. Det er viktig å merke seg at det bare er for PT-INR man godtar trekvart fulle citratglass. Vi vet ikke hvordan fylingsgraden vil påvirke andre koagulasjonsanalyser.

TAKK for kyndig veiledning under gjennomføring av prosjektet til Solveig Vannes, Bente Asbjørnsen og Ann Helen Kristoffersen ved Laboratorium for klinisk biokjemi, Haukeland universitetssjukehus. Takk også til førstemanuensis Gry Sjøholt, vår veileder ved bioingeniørutdanningen, Høgskolen i Bergen.

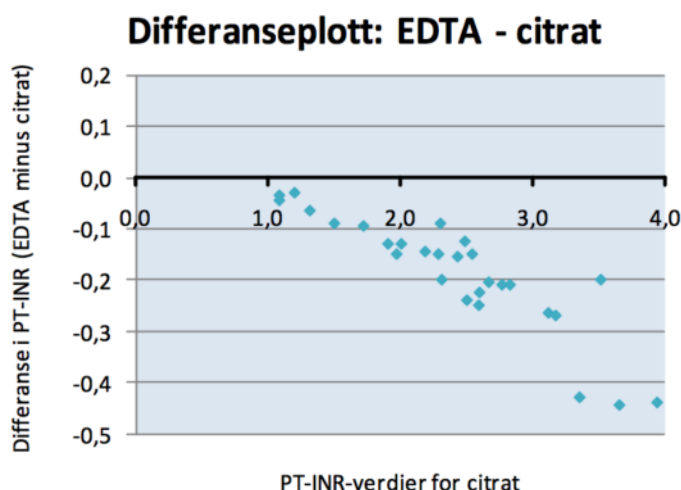
#### Litteratur

Horsti J. Prothrombin Time: Evaluation of determination methods, Tampere University press 2002.

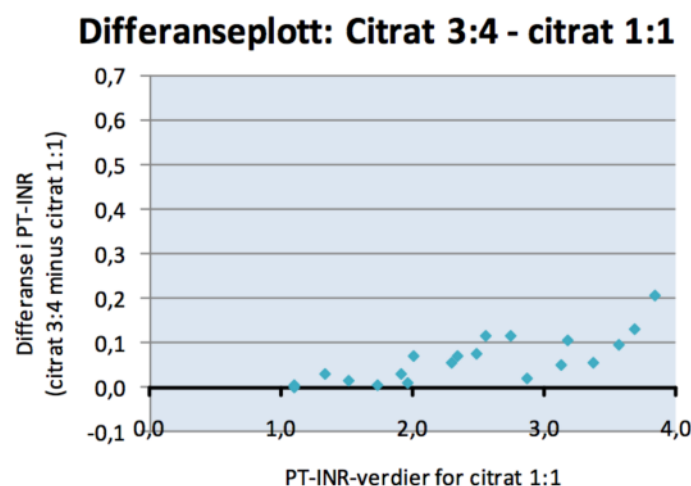
Husøy AM. Blodprøvetaking i praksis, Oslo, Akribes AS 2005.

Horsti J. Use of EDTA samples for prothrombin time measurement in patients receiving oral anticoagulants. *Haematologica*, 2001;86(8):851-5.

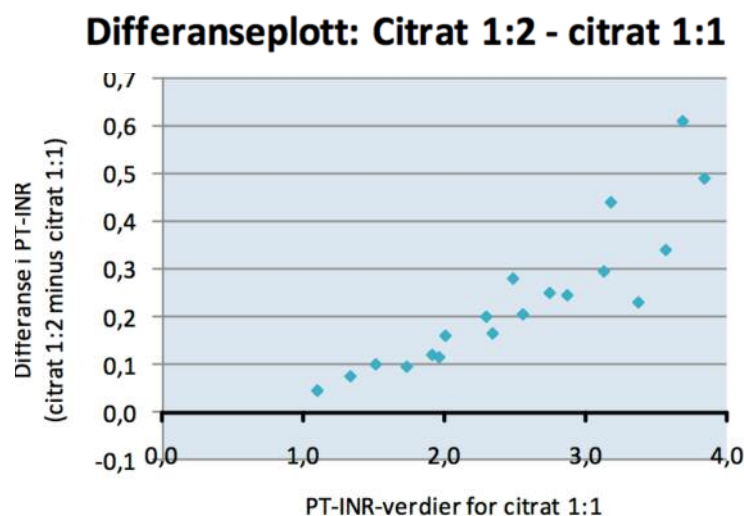
Horsti J. Measurement of prothrombin time in EDTA plasma with combined thromboplastin reagent. *Clin Chem*. 2000 Nov;46(11):1844-6.



FIGUR 2. Differanseplott med PT-INR-verdiene for citrat på x-aksen og differanse i PT-INR (EDTA - citrat) på y-aksen.



FIGUR 3. Differanseplott av PT-INR-verdiene for citrat 3:4 mot citrat 1:1.



FIGUR 4. Differanseplott av PT-INR-verdier for citrat 1:2 mot citrat 1:1.