

Tabela 1. Zalecenia dotyczące optymalnego sposobu wykrywania antykoagulantu tarcznią (LA)*

(A) Pobieranie krwi

1. Krew należy pobierać przed rozpoczęciem terapii przeciwkrzepliwnej lub po upływie odpowiednio długiego czasu po jej zakończeniu.
2. Krew żylną należy pobrać do probówki zawierającej 0,109 M roztwór cytrynianu sodu w stosunku 9:1.
3. Próbkę badaną należy dwukrotnie odwirować.
4. Jeśli oznaczenie w kierunku obecności LA ma być wykonane w późniejszym terminie, konieczne jest szybkie zamrożenie osocza.
5. Osocze zamrożone należy rozmrażać w temperaturze 37°C.

(B) Wybór testu przesiewowego

1. Należy stosować dwa testy oparte na różnych zasadach.
2. W pierwszej kolejności należy oznaczyć czas reptilazowy (dRVVT)¹.
3. Jako drugi należy wykonać czuły test aPTT² (o niskim stężeniu fosfolipidów i z krzemionką jako aktywatorem).
4. Oznaczenie w kierunku obecności LA należy uznać za dodatnie, jeśli wynik co najmniej jednego z użytych testów jest dodatni.
5. Sposób interpretacji wyników podano w Tabeli 2 (testy przesiewowe).

(C) Test mieszania osocza pacjenta z osoczem prawidłowym

1. Pula osocza prawidłowego do testu mieszania powinna być przygotowana przez laboratorium wykonujące oznaczenie w kierunku obecności LA. Dopuszczalne jest użycie dostępnych w sprzedaży osoczy liofilizowanych lub mrożonego osocza prawidłowego.
2. Osocze pacjenta z osoczem prawidłowym należy zmieszać w stosunku 1 do 1, bez wstępnej inkubacji, w ciągu 30 minut.
3. Obecności LA nie można stwierdzić, jeśli czas trombinowy osocza badanego jest znaczenie wydłużony.
4. Sposób interpretacji wyników podano w Tabeli 2 (test mieszania).

(D) Test potwierdzający

1. Testy potwierdzające należy wykonywać poprzez zwiększanie stężenia fosfolipidów w testach przesiewowych.
2. Należy używać fosfolipidów w postaci dwuwarstwowej lub heksagonalnej (II).
3. Sposób interpretacji wyników podano w Tabeli 2 (testy potwierdzające).

(E) Sposób przedstawiania wyników

1. Wyniki wszystkich oznaczeń (testów przesiewowych, testu mieszania i testów potwierdzających) należy wyrazić jako stosunek osocza pacjenta do osocza kontrolnego.

(F) Przekazywanie wyników

1. Pacjentowi należy przekazać wynik opatrzone komentarzem słownym.

* Dalsze objaśnienia i warunki omówiono w artykule.

¹ dRVVT – z ang. *diluted Russel's viper venom time*.

² aPTT – z ang. *activated partial thromboplastin time*.

Tabela 2. Wartości odcięcia przy wykrywaniu antykoagulantu tocznia***Testy przesiewowe***Sposób ustalania wartości odcięcia*

1. Wykonać oznaczenie w próbkach osocza pobranych od zdrowych dawców.
2. Za wartość odcięcia przyjąć należy wartość powyżej 99 percentyla.

Interpretacja wyników

1. Wyniki testów przesiewowych wskazują na obecność LA, jeśli otrzymane w nich czasy krzepnięcia są dłuższe od wartości odcięcia przyjętej w danym laboratorium.

Test mieszania*Sposób ustalania wartości odcięcia*

1. Wykonać oznaczenie w próbkach osocza pobranych od zdrowych dawców zmieszanych z pulą osocza prawidłowego w stosunku 1 do 1. Oznaczenie należy wykonać bez wstępnej inkubacji, w ciągu 30 minut.
2. Za wartość odcięcia przyjąć należy wartość powyżej 99 percentyla.
3. Za wartość odcięcia przyjąć też można wartość wskaźnika krążącego antykoagulantu (ICA¹), którą wylicza się wg poniższego wzoru:
$$ICA = [(b-c)/a] \times 100$$

Gdzie: a – czas krzepnięcia osocza pacjenta; b – czas krzepnięcia mieszaniny (osocze pacjenta i osocze prawidłowe), c – czas krzepnięcia osocza prawidłowego [16].

Interpretacja wyników

1. Wyniki testów mieszania wskazują na obecność antykoagulantu tocznia, jeśli oznaczone w nich czasy krzepnięcia są dłuższe od wartości odcięcia przyjętej w danym laboratorium lub jeśli wartość ICA jest większa od przyjętej w danym laboratorium.

Testy potwierdzające*Sposób ustalania wartości odcięcia*

1. Wykonać oznaczenie przy niskim stężeniu fosfolipidów (wartość przesiewowa) i wysokim stężeniu fosfolipidów (wartość potwierdzająca) w próbkach osocza pobranych od zdrowych dawców.
2. Za wartość odcięcia przyjąć należy wartość odpowiadającą średniej poszczególnych proc. korekcy obliczonych wg wzoru:
$$[(\text{wartość przesiewowa}) - \text{wartość potwierdzająca}] / (\text{wartość przesiewowa}) \times 100^\dagger$$

Interpretacja wyników

1. Otrzymany wynik potwierdza obecność antykoagulantu tocznia, jeśli odsetek (%). korekcy przekracza wartość odcięcia przyjętą w danym laboratorium.

* Oznaczenia tu omówione należy wykonać z użyciem odczynnika i w analizatorze, który używany jest w laboratorium wykonującym oznaczenie LA. Test należy wykonać w próbkach osocza pobranych od co najmniej 40 zdrowych dawców poniżej 50. roku życia. Nie należy stosować wartości odcięcia ustalonych w innych laboratoriach, nawet jeśli stosowano tę samą metodę i ten sam system pomiarowy.

¹ ICA – z ang. index of circulating anticoagulant.

† Czas krzepnięcia w teście potwierdzającym w próbkach LA-dodatnich nie zawsze jest skrócony do zakresu wartości prawidłowych stwierdzanych w próbkach kontrolnych. Aby uniknąć wyników fałszywie ujemnych, podkomisja zaleca wykonywanie testów potwierdzających we wszystkich prawidłowych kontrolach i stosowanie wartości średniej uzyskanych czasów krzepnięcia do wyliczenia procentowego skrócenia czasu krzepnięcia. Tę wartość procentową można przyjąć za wartość odcięcia.