

Efficacia delle Linee Guida per la coagulazione: traguardo consolidato o punto di partenza?

Mariachiara Gagliardi¹, Luigi Capone², Raffaele Ariola², Anna Antonietta Di Gisi³ e Antonio Ciampa¹

¹Centro Emostasi, AORN San Giuseppe Moscati, Avellino

²Laboratorio Patologia Clinica, AORN San Giuseppe Moscati, Avellino

³U.O. Aggiornamento e Formazione, AORN San Giuseppe Moscati, Avellino

Caro Editore,

Il tempo di protrombina (PT) ed il tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT) sono esami eseguiti per lo screening delle alterazioni della coagulazione e per il monitoraggio dei pazienti in terapia anticoagulante. Nella routine, il tempo di refertazione (TAT, Turn Around Time) per l'emocromo completo si è notevolmente ridotto con l'uso di analizzatori automatizzati (1). Per lo studio emocoagulativo, la preparazione del campione è una delle fasi più critiche. La centrifugazione costituisce l'atto che maggiormente limita la rapidità del processo aumentando il TAT (1-2). Ciò causa ritardi nel trattamento dei pazienti emorragici (specialmente in contesti come terapie intensive, reparti chirurgici, pronto soccorso e unità traumatologiche). Il processo decisionale clinico potrebbe essere più rapido se il TAT si riducesse senza alterare la qualità del campione (3-5). Diverse organizzazioni scientifiche, consapevoli della criticità dovuta alla variabilità analitica riscontrata per gli esami di coagulazione e organismi regolatori, hanno emanato una serie di raccomandazioni per creare un modello di riferimento per la pratica di laboratorio:

- British Society for Haematology (BSH) (6)
- The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (3)
- International Organization for Standard (ISO) (7)
- Società Italiana di Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica (SIBioC) (8)
- French Study Group on Hemostasis and Thrombosis (GFHT) (9)

Tutte le Linee Guida sostengono che il controllo delle variabili preanalitiche è essenziale poiché esso influenza la qualità e l'affidabilità dei risultati (3,6-9). Gli esami emocoagulativi sono eseguiti per lo più su plasma povero di piastrine (PPP), le quali se presenti, accorciano i tempi di coagulazione (10). La centrifugazione serve ad ottenere un plasma il più povero possibile di piastrine, la cui soglia massima raccomandata è di $<10 \times 10^9/L$ (8). Secondo le citate Linee Guida (3,6-9), le provette devono essere centrifugate a 1500 RCF (Relative Centrifugal Force) per 15 minuti (8). L'opportunità di verificare se una centrifugazione a velocità più sostenuta con tempi più ristretti, potesse essere ugualmente valida rispetto alle raccomandazioni (3,6-9) ci ha indotto alla progettazione di uno studio sperimentale da tenersi presso il Centro Emostasi dell'AORN S. Moscati dal novembre 2021 ad aprile 2022. Esso ha incluso duecento campioni inviati per la determinazione di PT ed aPTT. Ai pazienti, ricoverati e ambulatoriali, sono state prelevate tre provette: una destinata all'esecuzione degli esami richiesti mentre le altre due sono state utilizzate per il nostro studio. I pazienti sono stati messi al corrente del protocollo di ricerca e hanno tutti aderito mediante firma del consenso informato in accordo alla dichiarazione di Helsinki come emendata nel 2013. La provetta 1 è stata centrifugata con una centrifuga da banco (JOUAN B4i) a 1500 RCF per 15 minuti (3,6-9), la provetta 2, invece, a 3026 RCF per 4 minuti. Sul plasma così ottenuto sono stati eseguiti PT e aPTT utilizzando il metodo automatizzato su coagulometro ACL TOP 500 CTS (Werfen, Barcellona, Spagna). Per la determinazione, è stata utilizzata una soluzione di fattore tissutale ricombinate umano prodotta dalla stessa azienda (HemosIL RecombiPlasTin 2G) con un "International Sensitivity Index (ISI) di 0,96. L'aPTT è stato eseguito utilizzando fosfolipidi sintetici non vegetali e cloruro di calcio commerciale (0,025 mol/L), prodotti dalla medesima azienda (HemosIL SynthASil). Sono stati impiegati gli stessi lotti di reagenti, sia per il PT che per l'aPTT, durante tutto l'arco temporale dello studio. Per verificare la conta piastrinica dopo centrifugazione, i plasmi sono stati analizzati con Coulter LH 780: la conta piastrinica è risultata, in ogni caso, inferiore al limite massimo consigliato ($<10 \times 10^9/L$) (8). I dati ottenuti sono stati confrontati utilizzando statistiche descrittive: *t* test, coefficiente di correlazione (*r*) e grafici Bland-Altman per il raffronto di due metodiche. Dei 200, pazienti il 50% erano in terapia anticoagulante con farmaci anti-vitamina K (AVK). Per quest'ultimi l'analisi statistica dei dati del PT è stata eseguita considerando i valori dell'INR. Il confronto dei valori medi di PT e aPTT ottenuti sulle provette 1 e 2, hanno fornito un valore di $p = 0,965$ (per il PT) e $p = 0,890$ (per l'aPTT). La correlazione per PT-INR ($r = 0,998$), PT-Ratio

Corrispondenza a: Luigi Capone, Laboratorio Patologia Clinica, AORN San Giuseppe Moscati, Contrada Amoretta, 83100 Avellino AV, Email: capone87@ua.pt

Ricevuto: 25.08.2022

Revisionato: 01.09.2022

Accettato: 29.09.2022

Publicato on-line: 27.10.2022

DOI: 10.19186/BC_2022.066

($r = 0,999$) e aPTT-Ratio ($r = 0,985$) fra le due metodiche è risultata molto buona. La mediana delle Ratio del PT per la centrifugazione classica è stata di 2,604; lo stesso valore è stato ottenuto anche per le Ratio del PT per la centrifugazione veloce. Le mediane dell'aPTT (Ratio) per la centrifugazione classica è risultata di 1,18; per la centrifugazione veloce di 1,17. I valori ottenuti sono stati confrontati anche mediante l'analisi di Bland-Altman: i grafici a dispersione valutano la concordanza tra i valori ottenuti con le due modalità di centrifugazione e sono presentati in figura 1.

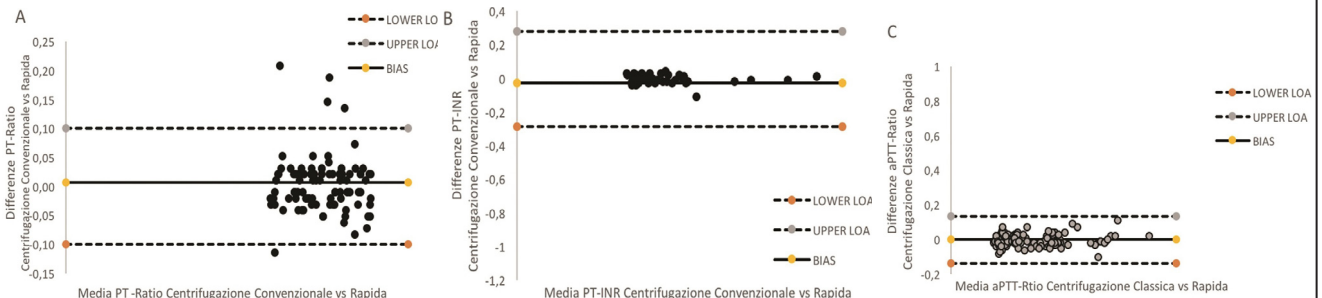


Figura 1

Il grafico di Bland-Altman riporta sull'asse Y la differenza tra le due misurazioni (Centrifugazione Classica versus Rapida) e sull'asse X la media delle medesime misure. Il pannello A riporta la concordanza tra i valori di PT (ratio) ottenuti nella coorte di pazienti non sottoposta a terapia anticoagulante con farmaci anti-vitamina K; AVK. Il bias è risultato pari a 0,007, con un intervallo di accordo compreso tra +0,1 (UPPER LOA) e -0,1 (LOWER LOA). Il pannello B mostra gli INR dei pazienti in terapia con AVK. Il bias è risultato pari a -0,026, con un intervallo di accordo compreso tra 0,279 (UPPER LOA) e -0,287 (LOWER LOA). Il pannello C riporta il confronto tra l'aPTT-Ratio dei due gruppi. In questo caso il bias è risultato pari a 0,0004 con un intervallo di accordo compreso tra -0,139 (LOWER LOA) e 0,139 (UPPER LOA).

Il pannello A riporta i valori della Ratio del PT relativi alla coorte dei pazienti non sottoposti a terapia anticoagulante con AVK; il pannello B mostra gli INR dei pazienti in terapia con AVK, mentre il pannello C presenta i valori di aPTT-Ratio nei due gruppi. I dati ottenuti nel presente studio dimostrano che è possibile conseguire risultati del tutto equiparabili per PT e aPTT ottenuti da campioni preparati mediante centrifugazione rapida (3 026 RCF per 4 minuti) e centrifugazione convenzionale (1 500 RCF per 15 minuti). Nessuna differenza statisticamente o clinicamente significativa è stata osservata tra le due metodologie. Questi risultati concordano con altri dati già riportati in letteratura (11-12), e potenzialmente consentono di ridurre il TAT per PT e aPTT di circa 11 minuti: si tratta di una riduzione significativa che può avere un impatto positivo sulle decisioni per la gestione dei pazienti. Considerato che nel presente studio non sono emersi dati che non fossero già noti, in quanto esiste un'ampia letteratura a supporto degli stessi, sorge spontaneo un interrogativo: come mai le diverse Linee Guida continuano a consigliare un tempo di centrifugazione così lungo?

BIBLIOGRAFIA

- Laffan MA, Manning R. Investigation of hemostasis. In: Bain BJ, Bates I, Laffan M, Lewis SM, editors. Dacie and Lewis practical hematology. 11. London: Churchill Livingstone; 2012:393-445.
- Magnette A, Chatelain M, Chatelain B et al. Pre-analytical issues in the haemostasis laboratory: guidance for the clinical laboratories. *Thromb J* 2016;14:49.
- Adcock DM, Hoefner DM, Kottke-Marchant K et al. Clinical and Laboratory Standards Institute: collection, transport and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assay; Approved guideline- H21-A5. 5. Wayne: NCCLS 2008;28:1-12.
- Hilborne LH, Oye RK, McArdle JE, et al. Evaluation of stat and routine turnaround times as a component of laboratory quality. *Am J Clin Pathol* 1989;91:331-5.
- Steindel SJ, Howanitz PJ. Physician satisfaction and emergency department laboratory test turnaround time. *Arch Pathol Lab Med* 2001;125:863-71.
- Baker P, Platton S, Gibson C, et al. on behalf of British Society for Haematology, Haemostasis and Thrombosis Task Force. Guidelines on the laboratory aspects of assays used in haemostasis and thrombosis. *Br J Haematol* 2020;191:347-62.
- International Organization for Standardization. Medical laboratories - Particular requirements for quality and competence ISO document 15189. 2nd ed. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2007.
- Morelli Benedetto, et al. La variabilità preanalitica in coagulazione. *Biochim Clin* 2019;43:313-32.
- French Study Group on Hemostasis and Thrombosis 2015. http://site.geht.org/site/Pratiques-Professionnelles/Documents-GEHT/Variables-Preanalytiques/Recommandations-Variables-preanalytiques_69_722.html. (ultimo accesso: agosto 2022)
- Adcock Funk DM, Lippi GL, Falavero EJ. Quality standards for sample processing, transportation, and storage in hemostasis testing. *Semin Thromb Hemost* 2012;38:576-85.
- Pappas AA, Palmer SK, Meece D, et al. Rapid preparation of plasma for coagulation testing. *Arch Pathol Lab Med* 1991;115:816-7.
- Nelson S, Pritt A, Marlar RA. Rapid preparation of plasma for STAT coagulation testing. *Arch Pathol Lab Med* 1994;118:175-6.