

Il Point of Care in Coagulazione

Rita Paniccia^{1,2}, Domenico Prisco^{1,2}

¹Dipartimento di Area Critica Medico-Chirurgica, Sezione e di Clinica Medica Generale e Cliniche Specialistiche, Università degli Studi di Firenze.

²Centro Trombosi. Dipartimento del Cuore e dei Vasi, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Firenze

ABSTRACT

Coagulation at the Point of Care

Point-of-care testing in coagulation is spreading out and decentralizing in different clinical settings. The most widespread applications concern: 1) the monitoring of anticoagulation by high-level heparin during cardiopulmonary bypass and catheterization procedures, 2) the guidance of transfusion therapy, 3) the monitoring of low-level heparin treatment and 4) the monitoring of oral anticoagulation therapy. To introduce the point-of-care testing in coagulation in these clinical settings, an aimed approach based on the use of data from clinical outcome studies and on the organization of non-specialized staff training-courses in the different wards and of the quality control of tests and devices are necessary.

RIASSUNTO

L'uso dei test coagulativi "point-of-care" si sta diffondendo e decentrando in vari contesti. Le applicazioni più diffuse includono: 1) il monitoraggio dell'anticoagulazione da eparina ad alto dosaggio durante bypass cardiopolmonare e durante le procedure di cateterismo cardiaco, 2) il controllo dei pazienti con sanguinamento dopo cardiocirurgia, 3) il monitoraggio del trattamento con eparina a basso dosaggio e 4) quello della terapia anticoagulante orale per pazienti esterni. Per fornire un'analisi di tipo point-of-care in queste situazioni cliniche è necessario un approccio mirato basato sull'uso delle informazioni relative all'outcome clinico e sulla organizzazione della formazione del personale sanitario e del controllo di qualità delle metodiche e delle apparecchiature.

INTRODUZIONE

Le analisi di tipo decentrato o di tipo point-of-care (POC) disponibili per l'utilizzo clinico sono in continua evoluzione. Con sempre maggior frequenza i test coagulativi POC vengono utilizzati in diversi contesti per il monitoraggio delle terapie anticoagulanti e per la guida della terapia trasfusionale. Infatti, migliorare la qualità e gli outcomes delle procedure di intervento e identificare le terapie migliori sono obiettivi prioritari ed essenziali per il personale sanitario che opera in area critica: gli anestesisti, i cardiocirurghi e i cardiologi interventisti. Grazie ai progressi clinici e tecnologici, l'uso delle nuove strumentazioni di tipo POC in emostasi ha fatto sì che questi obiettivi siano stati raggiunti. Questi nuovi strumenti hanno reso possibile oggi indagare e valutare sia la coagulazione che alcuni aspetti funzionali piastrinici in modo semplice e rapido. Negli ultimi anni sono stati condotti numerosi studi sull'outcome clinico in procedure che prevedevano l'uso di farmaci interferenti con l'emostasi e nelle quali venivano utilizzati diversi test POC (POCT) e vari dispositivi per la valutazione dell'emostasi (1,2).

USO DEL POINT OF CARE IN COAGULAZIONE

Il POCT in coagulazione è nato e si è sviluppato fondamentalmente per il monitoraggio della terapia anticoagulante con eparina ad alti dosaggi e per la guida nella

terapia trasfusionale in cardiocirurgia (3-6) e, successivamente, è stato introdotto nelle procedure di cardiologia interventistica (7,8). Durante tali procedure è, infatti, necessario ottenere i risultati dei test coagulativi in modo rapido e affidabile. A causa della necessaria determinazione *in loco*, il POCT in coagulazione - specie per la misura del tempo di coagulazione attivata (ACT) - è in uso da circa trenta anni e continua a svilupparsi grazie ai progressi sia clinici che tecnologici. Probabilmente, gli studi sugli outcomes clinici in pazienti gestiti con test coagulativi di tipo POC sono condotti in modo più preciso e soddisfacente rispetto a tutti quelli che sono stati eseguiti nell'ambito delle determinazioni POC (1,2,9,10).

Sono ora disponibili con vari equipaggiamenti (dispositivi trasportabili o "bedside" e/o apparati da banco o "bench top") diversi tipi di strumenti che utilizzano differenti metodi di indagine (principio del test) e hanno differenti caratteristiche, ma nessuno dei quali richiede particolari manipolazioni del campione. Inoltre, è stata aggiornata la maggior parte dei dispositivi POC inizialmente destinati ad eseguire solo l'ACT. Questi apparecchi sono adesso in grado di eseguire molteplici test coagulativi, a seconda della provetta o cartuccia selezionata che contiene specifici reagenti (11). Analogamente, strumentazioni inizialmente messe a punto per la determinazione del tempo di protrombina (PT) e del tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT) sono state aggiornate con l'aggiunta dell'ACT (12). Sono poi stati messi a punto diversi metodi

Tabella 1

Caratteristiche dei principali strumenti per la determinazione del tempo di coagulazione attivata (ACT).

STRUMENTO (Ditta)	TEST	ATTIVATORI	VOLUME DEL CAMPIONE	TIPO DEL CAMPIONE
HEMOCHRON (401,801, 8000, Response) (ITC, USA)	ACT	Celite o caolino	2 mL	SIF
HEMOCHRON JR II and SIGNATURE (ITC, USA)	ACT+ ACT low-range	Caolino, silice e fosfolipidi	1 goccia	SIF
I-STAT (ABBOTT, USA)	Celite-ACT	Celite	40 microL	SIF
ACT II, HEPCON HMS (Medtronic, USA)	ACT, HEMOSTATUS	Celite o caolino	0.4 mL (x2)	SIF
COAGUCHEK PRO (Roche Diagnostics, USA)	ACT	Celite	1 goccia	SIF
RAPIDPOINT COAG (Bayer, USA)	HMT	Celite	1 goccia	SIF
ACTALYKE (ARRAY MEDICAL, USA)	1) ACT 2) MAX-ACT	1) Celite o caolino 2) Miscela di celite, caolino e "glass beads"	1) 1 mL 2) 0.5 mL	SIF
SONOCLLOT (Sienco, USA)	SONACT	Celite	0.4 mL	SIF SIC

ACT: tempo di coagulazione attivata; HMT: Heparin Management Test; SIF: sangue intero fresco; SIC: Sangue intero citratato.

basati sull'ACT che permettono il calcolo della dose di eparina e protamina da somministrare al singolo paziente per ottenere l'effetto desiderato (rispettivamente un'anti-coagulazione ottimale ed una sua adeguata neutralizzazione) (11,13). Per l'introduzione e la messa a punto del POCT, specialmente nei reparti di area critica e nelle sale di chirurgia cardiaca, è necessario avere: a) informazioni sulle apparecchiature disponibili circa la facilità di impiego e l'impatto clinico dei differenti tipi di test e b) conoscenze sui vantaggi e sugli svantaggi delle nuove tecnologie.

Questo articolo delinea quali sono i principali test POC in coagulazione, ne riporta le indicazioni e vuole fornire orientamenti per una gestione sia della strumentazione POC che per il controllo di qualità (QC) del POCT in coagulazione.

I TEST POINT OF CARE IN COAGULAZIONE

Il tempo di coagulazione attivata (Activated clotting time - ACT)

L'ACT è un test coagulativo eseguito su sangue intero fresco che dà informazioni simili a quelle dell'aPTT. E' infatti basato sull'attivazione della via intrinseca. Questo test, descritto da Hattersley nel 1966 (14), è stato il primo sistema "bedside" impiegato per la valutazione della coagulazione durante bypass cardiopolmonare (CPB) ed è inoltre l'unico test intrinsecamente e precipuamente di tipo POC (15). Esso nasce dalla necessità di monitorare direttamente in sala di cardiocirurgia l'anticoagulazione determinata da elevate dosi di eparina ed attuata per prevenire l'occlusione dei circuiti usati durante la circolazione extracorporea (3). Ciò fa sì che si ottengano risultati di ACT in tempi brevi che consentono una gestione clinica ottimale

del paziente. Inoltre questo è un test esclusivamente POC poiché, a differenza dell'aPTT e del PT, non ha un riscontro nel laboratorio centrale ospedaliero di riferimento.

L'ACT, che non è altro che una modificazione del Tempo di Coagulazione su Sangue Intero di Lee e White (16), usa un attivatore potente, essenzialmente celite o caolino, che attiva la coagulazione a livello del sistema da contatto (via intrinseca). E' sensibile a deficit dei fattori coagulativi della via intrinseca (XII, XI, IX, VIII), della via finale comune (X,V,II) e alla presenza di eparina. In particolare, l'ACT viene utilizzato da molti anni per monitorare il trattamento con eparina in quelle condizioni in cui si realizzano elevate concentrazioni nel sangue (oltre 1 IU/mL) (3) che non possono essere valutate dall'aPTT. In particolare, dell'ACT viene fatto un ampio uso, oltre che in chirurgia cardiaca (9,10,17,18) e in procedure di rivascolarizzazione coronarica transluminale (PTCA) (7,8,19-21), anche nel trapianto di fegato (22), durante emodialisi (18, 23) e in corso di procedure di radiologia interventistica (24).

Oggi l'ACT viene eseguito mediante differenti strumentazioni automatizzate. Il test è di semplice e rapida esecuzione e prevede l'aggiunta di sangue intero fresco all'attivatore che può essere posto in provette, in cartucce o in cuvette a seconda della strumentazione che esegue il test. L'apparecchiatura registra il tempo di formazione del coagulo mediante un rilevatore specifico per ogni tipo di strumento. Tali sistemi di rilevazione includono: 1) la rilevazione del blocco del movimento del sangue, che mediante una pompa viene spostato su e giù in un capillare (Hemochron Junior II o Signature, International Technology Corp. - ITC, USA) (25,26); 2) la rilevazione amperometrica di un composto elettroattivo generato dopo la conversione di un substrato sensibile alla trombina (Celite-ACT, I-STAT, USA) (18); 3) la resistenza al movimento

(rotatorio o rettilineo) di una sonda che viene immersa nel campione (ACTII, HMS, Hemotec, USA) (4,7); 4) la dislocazione di un magnete nel campione nel momento in cui il sangue coagula (Hemochron 401/801/8000/Response, ITC, USA) (27,28), (Max-ACT, Actalyke MAX-ACT; Array Medical, USA) (29); 5) la rilevazione del blocco delle oscillazioni di particelle di ferro paramagnetiche (RapidPoint Coag, Bayer, USA) (30,31); 6) l'impedenza opposta dal sangue che coagula alle vibrazioni ultrasoniche di una sonda (Sonoclot, Sienco, USA) (32,33); 7) la rilevazione di un blocco nel passaggio di un raggio laser attraverso il sangue coagulato (CoaguCheckPro, Roche, USA) (12). Non soltanto il differente principio di rivelazione della formazione del coagulo dei vari dispositivi - cioè la rilevazione dei primi filamenti di fibrina oppure della completa formazione del coagulo -, ma anche i diversi attivatori utilizzati (celite, caolino, miscela di fosfolipidi e caolino o sfere di vetro - "glass beads"), specifici di ogni metodica che valuti l'ACT, rendono diversi i risultati di questo test, espressi in secondi, fra una strumentazione e l'altra. Ad esempio, il Max-ACT, che utilizza un cocktail di celite, caolino e "glass-beads" per accrescere al massimo l'attivazione del Fattore XII, fornisce valori che risultano correlati con quelli ottenuti con un ACT da celite, ma tendono ad essere più corti durante CPB (29). Al contrario, è stato messo a punto un tipo di ACT (ACT-low-range, Hemochron, ITC) che impiega attivatori più blandi (miscele di fosfolipidi o sfere di vetro) e che è in grado di monitorare la terapia eparinica a medie e basse concentrazioni (0,2-2,5 U/mL) (34). Questo tipo di ACT, che viene utilizzato specialmente nei reparti di terapia intensiva di neonatologia o durante le sedute di emodialisi, si pone a "ponte" fra la misurazione dell'aPTT e dell'ACT classico, riuscendo a valutare livelli di anticoagulazione che si accompagnerebbero ad un aPTT "troppo lungo" ed a discriminare con maggiore precisione tempi "troppo corti" per un ACT classico. In tabella 1 sono descritti alcuni tipi di strumenti che eseguono l'ACT.

Questa disparità di attivatori causa una differente sensibilità all'eparina tra i vari test ACT e rende difficile un paragone fra ACT eseguiti con diverse strumentazioni. ACT eseguiti con strumenti diversi hanno così diversi valori normali e diversi valori ottimali (7,18,33,35-37). Ad esempio, i valori di ACT da celite sono significativamente più lunghi di quelli ottenuti da caolino (4,7,8,38-40). Perciò l'identificazione del metodo/dispositivo è necessaria per stabilire protocolli di monitoraggio e per approntare protocolli di studio di confronto fra differenti test dell'ACT.

In studi in vitro sulla sensibilità all'eparina dei diversi test per l'ACT è stata dimostrata una risposta lineare della misura dell'ACT alla quantità di eparina aggiunta nei campioni ematici di soggetti normali (25,41). Al contrario, in ACT determinati su sangue di pazienti, il grado di risposta all'eparina durante CPB poteva essere diverso nei vari pazienti a causa di diversi fattori: resistenza all'eparina (42), livelli di antitrombina (43), emodiluizione e variazioni nella temperatura corporea (ipotermia) durante CPB (4,44). Così, ogni nuovo metodo introdotto in commercio dovrebbe essere confrontato con più metodi (diversi ACT

e/o dosaggi di eparina) per conoscere la sensibilità specifica del nuovo test all'eparina.

Nonostante il comune uso in chirurgia cardiaca, pochi studi hanno valutato l'attendibilità del POCT in condizioni cliniche con criteri di precisione e accuratezza. In particolare, esistono pochi studi di confronto tra diversi ACT (celite-ACT vs caolino-ACT; o ACT determinato con strumentazione trasportabile "bedside" vs ACT eseguito con strumentazione da banco) e pochi studi di precisione (valutazione del coefficiente di variazione - CV - dei valori di ACT ottenuti da un unico strumento o da diversi strumenti) (4,18,26,31,33,37). La precisione e l'accuratezza dell'ACT sono state valutate in studi clinici su campioni testati in duplicato che hanno dimostrato una buona concordanza sulla media (26,27). D'altronde, la maggior parte dei dispositivi non esegue il test in duplicato. Ciò dipende dal fatto che viene utilizzato un microcampione di sangue intero fresco immesso in cartucce in modo tale da evitare gli errori preanalitici che si possono verificare durante la processazione del campione di sangue. Comunque, come già detto, si possono avere significative differenze nella media nei valori di ACT durante il trattamento con eparina (27). Pertanto, quando una singola misura di ACT sembra non coincidere con le condizioni cliniche del paziente, è consigliabile ripetere la determinazione.

Il tempo di tromboplastina parziale attivata - aPTT

Il test dell'aPTT viene utilizzato per valutare la via intrinseca della coagulazione. In questo test la via intrinseca viene attivata aggiungendo al campione una miscela formata da fosfolipidi, da un attivatore (acido ellagico, caolino o silice micronizzata) e da ioni Ca^{2+} . La formazione del complesso protrombinasi sulla superficie fosfolipidica permette la conversione della protrombina in trombina con la conseguente formazione del coagulo. Il tempo in secondi richiesto per questa reazione è l'aPTT. Questo viene usato sia nel pre- che nel post-operatorio come test di screening per individuare nel paziente un'eventuale tendenza al sanguinamento (45,46). Il deficit di uno dei fattori della via intrinseca (VIII, IX, XI, XII) e/o della via comune (X, V, II, I) determina un prolungamento del tempo di formazione del coagulo.

La terapia anticoagulante eparinica (con concentrazioni di attività antiXa fra 0,4 e 0,7 U/mL) viene monitorata utilizzando l'aPTT. Nel POC sono disponibili diversi strumenti, essenzialmente gli stessi che misurano l'ACT, i quali utilizzano un campione di sangue fresco o citratato per l'esecuzione di questo test. Alcuni studi hanno dimostrato che l'analisi POC fornisce outcomes clinici migliori in quanto è più breve il tempo richiesto per raggiungere un livello terapeutico di eparina (47-49). In tali circostanze è importante comprendere come il metodo POC si rapporti a quello di laboratorio. Poiché le due metodiche utilizzano attivatori diversi - quindi, hanno diverse sensibilità all'eparina - ed usano diverse tipologie di campione (sangue intero contro plasma), ne consegue che i risultati ottenuti

dall'aPTT di tipo POC non coincidono con quelli ottenuti dal laboratorio di riferimento (50), posto che il valore del test POC è, in genere, sempre più lungo. Il significato clinico di questa differenza dipende dall'uso che si fa dell'aPTT POC; di conseguenza, ogni struttura sanitaria deve validare l'allestimento dell'algoritmo per lo strumento scelto e deve utilizzare coerentemente una sola metodica durante tutto il periodo di trattamento.

Studi di precisione basati su test ripetuti utilizzando materiale di controllo hanno ottenuto un CV fra il 3% e il 9% (51,52) simile a quello ottenuto con l'ACT. In uno studio sulla valutazione dell'accuratezza interstrumento, saggiando campioni in duplicato, Despotis e coll. (53) hanno potuto verificare un'esigua differenza fra i valori ottenuti compresa fra 4 e 8 sec. Studi di confronto hanno dimostrato che esiste una buona correlazione ($r > 0,8$) fra i risultati ottenuti con metodi di tipo POC e quelli di laboratorio (54). Comunque, queste correlazioni possono differire fra diversi ospedali e all'interno dello stesso ospedale. Queste differenze riflettono la variabilità conseguente a metodi di laboratorio e operatori diversi e sottolineano l'importanza di valutare l'aPTT di tipo POC nello stesso luogo o Unità Operativa - U.O. - in cui viene utilizzato. In tal modo si otterrà un range di riferimento (interno all'U.O.) e sarà possibile confrontare i dati dell'aPTT di tipo POC con quelli ottenuti dal laboratorio centrale.

Il tempo di protrombina - PT

Il primo a descrivere il PT fu Quick nel 1935 e, da allora, questo test viene impiegato come semplice procedura di screening per valutare la via estrinseca della coagulazione. Un campione di sangue fatto reagire con tromboplastina e viene determinato il tempo di coagulazione. Le tromboplastine utilizzate sono molto diverse a seconda del tipo di tessuto da cui provengono (cervello, placenta, o polmone), della specie (umana o animale) e del tipo di preparazione. Il risultato consiste essenzialmente in una diversa sensibilità al decrescere della concentrazione dei fattori coagulativi. Le diverse combinazioni di reagenti e strumentazioni producono variazioni nel test, rendendo problematica l'interpretazione dei risultati provenienti da diversi laboratori. Il rapporto internazionale normalizzato (INR) è stato sviluppato nello sforzo di standardizzare i risultati del PT (55). L'INR è un rapporto normalizzato per rappresentare un risultato ottenuto come se fosse stato usato il reagente internazionale di riferimento per eseguire il test. La formula per calcolare l'INR è: $INR = (PT \text{ del paziente} / \text{la media di PT normali})^{ISI}$. L'indice di sensibilità internazionale (ISI) viene determinato per ciascun reagente, normalmente, dalla ditta produttrice. L'ISI rappresenta la sensibilità della tromboplastina al variare della concentrazione dei fattori coagulativi. Un ISI di 1.0 riflette una sensibilità identica al reagente internazionale di riferimento. Nonostante l'uso dell'INR abbia migliorato la possibilità di paragonare i risultati tra laboratori, in alcuni casi persistono delle differenze (56).

Sono oggi disponibili differenti sistemi POC per il PT settati in modo da poter fornire il risultato anche in INR

(57-61). Essi consistono in piccoli dispositivi portatili in combinazione con cartucce monouso contenenti diverse tromboplastine. Questi strumenti utilizzano piccole quantità di sangue intero fresco, ma in alcuni casi anche campioni di sangue intero citratato. Il principio del metodo di questi dispositivi è lo stesso elencato per l'ACT, poiché in molti casi lo strumento per effettuare il test è il medesimo. I risultati vengono forniti sia in secondi che in INR.

Il prevalente campo di applicazione della determinazione del PT di tipo POC consiste nel monitoraggio della terapia anticoagulante orale (TAO). Negli ultimi dieci anni vi è stato un notevole incremento del numero dei pazienti che si avvalgono della TAO (62). L'organizzazione dei Centri di Sorveglianza della TAO, distribuiti su tutto il territorio, la standardizzazione dei metodi di controllo di laboratorio e la normalizzazione dei risultati (INR) hanno costituito la base del successo dei dispositivi che eseguono il PT di tipo POC (57-61). Inoltre, la migliore conoscenza delle indicazioni terapeutiche per le diverse tipologie di pazienti che devono essere sottoposti a TAO - pazienti affetti da trombosi venosa, embolia polmonare, fibrillazione atriale oppure portatori di protesi valvolari cardiache - ha reso possibile conoscere il preciso range terapeutico di anticoagulazione. Gli stessi Centri di Sorveglianza si sono fatti promotori dell'espansione del monitoraggio delle TAO a distanza o, addirittura, dell'auto-determinazione del PT, in analogia al controllo della glicemia dei pazienti diabetici. Esistono, in questo caso, due modalità diverse di monitoraggio: 1) la determinazione del test da parte di personale sanitario - inviato dal Centro di Sorveglianza o dall'Ospedale stesso - che effettua il PT del paziente direttamente a domicilio utilizzando coagulometri portatili che sono sotto la gestione del Centro di Sorveglianza stesso o del laboratorio centrale (63); e 2) l'auto-determinazione da parte del paziente stesso che utilizza dispositivi in commercio specifici solo per la determinazione del PT - che sono, essenzialmente, i coagulometri già descritti, adattati a questo scopo (64,65).

L'ottimizzazione dei metodi e il controllo della precisione e accuratezza sono alla base dell'effettuazione di questo tipo di monitoraggio (65). La valutazione della strumentazione POC per il PT consiste in studi sia di precisione che di accuratezza. Il CV per il PT di tipo POC rientra nel range dal 2% al 10% (51,59,65,66). L'accuratezza viene normalmente valutata paragonando i risultati ottenuti dal test con quelli ottenuti da un metodo di riferimento. Tale approccio, però, è problematico per il PT a causa della marcata variazione delle prestazioni delle diverse tromboplastine e dei diversi strumenti. Il test eseguito con strumentazione POC viene confrontato con il metodo eseguito in laboratorio centrale analizzando gli stessi campioni su entrambi gli strumenti. È stata evidenziata una significativa correlazione ($r > 0,8$ fino a $r = 0,95$) fra i risultati ottenuti con metodi POC e quelli ottenuti nel laboratorio centrale (51,52,66-69).

LA TROMBOELASTOGRAFIA E L'ANALISI SONOCLOT

La tromboelastografia (TEG), abbandonata per molti

anni dai laboratori di emostasi, oggi è diventata un test POC. La TEG viene utilizzata specialmente in chirurgia cardiaca e durante trapianto di fegato per avere una valutazione globale dell'emostasi. Esistono ora nuove apparecchiature (Teg® Haemoscope, USA; ROTEG analysis, Pentapharm, GMBH) (70,71) basate sugli stessi principi di quelle vecchie, e nuovi apparati (Sonoclot, Sienco, USA) (32) basati su principi simili. I tromboelastografi sono tutti sistemi di tipo POC, poiché consistono in dispositivi compatti e trasportabili - pur essendo apparecchi "bench-top" - e assistiti da software computerizzati. Lo strumento registra la formazione del coagulo, fornendo in tempo reale la visualizzazione grafica di questo processo.

Il Teg® Haemoscope e il ROTEG sfruttano il principio della vecchia TEG. Il campione di sangue intero fresco (anche citratato) viene posto in una cuvetta che oscilla di 4°45' in entrambe le direzioni ogni 4,5 secondi. Una sonda attaccata ad un filo di torsione è immersa nel campione. Nel momento in cui il sangue comincia a coagulare la sonda viene forzata a ruotare insieme al campione. La torsione viene recepita dal filo collegato ad un trasduttore meccanico od elettrico che registra graficamente l'intero processo di formazione del coagulo (Figura 1A). Inizialmente, quando il sangue è ancora liquido, sul grafico appare una linea retta. Quando il sangue coagula, questa linea si biforca in due branche. Con questo grafico possono essere misurati cinque parametri: 1) il tempo di reazione (R) che è il tempo dall'inizio del test all'inizio della formazione dei primi filamenti di fibrina - definito come una deflessione di 1 mm delle due branche; 2) il tempo di formazione del coagulo (K), che è il tempo che intercorre fra l'inizio della formazione del coagulo ed un determinato livello di consistenza del coagulo stesso, definito come momento in cui le due branche divergono di 20 mm; 3) l'angolo α (α), formato dalla ampiezza della divergenza; 4) la massima ampiezza (MA), che è l'ampiezza del trac-

ciato nel punto più largo; 5) l'ampiezza a 60 minuti (A60) (Figura 1B). Tutti questi parametri riflettono differenti funzioni coagulative. Gli indici presi maggiormente in considerazione sono: il tempo R, che rappresenta la funzionalità dei fattori della via intrinseca e che è correlato con l'aPTT; l'angolo α , che rappresenta un eventuale stato di ipercoagulabilità, e la MA, che è l'indice più usato in TEG, che è correlato con la funzione piastrinica. Questo sistema è in grado di identificare se il sanguinamento dopo CPB sia dovuto alla chirurgia, a coagulopatie o alla presenza di eparina residua. In uno studio prospettico Shore-Lesserson e coll (72) hanno riscontrato una riduzione nell'uso di trasfusioni nel postoperatorio nel gruppo dei pazienti studiati con la TEG rispetto al gruppo studiato con i test classici. L'uso della TEG mediante un algoritmo in sala di cardiocirurgia ha permesso così di identificare il trattamento specifico ed appropriato per le alterazioni emostatiche che si instaurano durante CPB. Anche il sistema ROTEG, che sfrutta un principio simile a quello della TEG, poiché qui è la sonda che ruota avanti e dietro con un angolo di 4° 75', fornisce un risultato graficamente simile alla TEG. L'uso di questo dispositivo durante cardiocirurgia è ancora allo studio e solo un recente articolo (73) ha dimostrato che l'angolo α ottenuto con il ROTEG è un buon predittore di disfunzione piastrinica.

Anche l'analizzatore Sonoclot misura i cambiamenti nelle proprietà viscoelastiche del sangue durante la formazione del coagulo (32). Questo apparecchio consiste in una sonda, montata su di un trasduttore ultrasonico, che viene immersa nel campione di sangue posto in una cuvetta. La coagulazione viene attivata dalla celite contenuta nella cuvetta. L'impedenza alla vibrazione della sonda, dovuta alle modificazioni nella densità del sangue, viene registrata sotto forma di un grafico, il cosiddetto "Sonoclot Signature" (Figura 2). Dal grafico si possono individuare le varie fasi di formazione del coagulo: 1) una

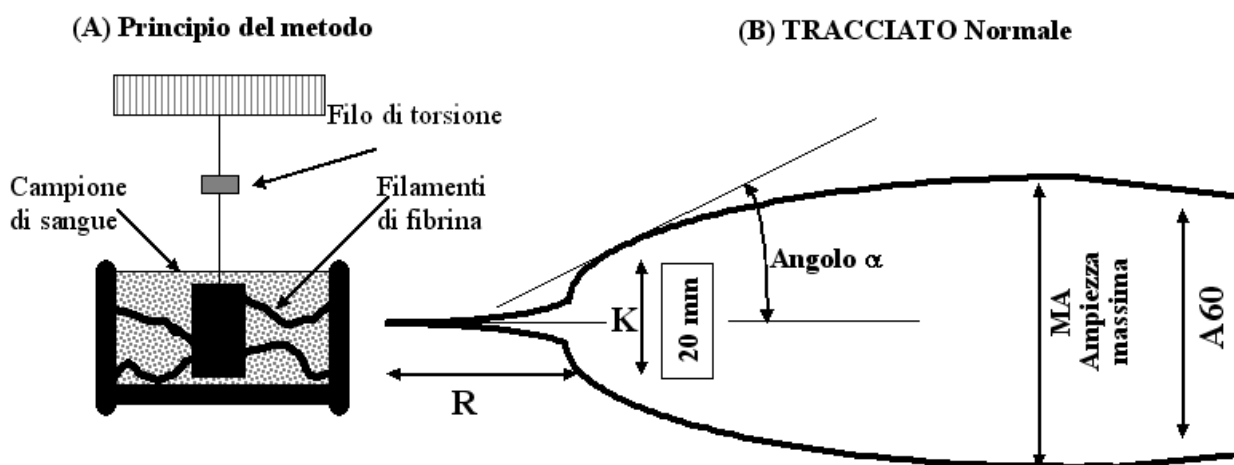


Figura 1
Tromboelastografia. (A) Principio del metodo: la sonda (pin), sospesa tramite un filo di torsione è immersa nel campione di sangue che comincia a coagulare (filamenti di fibrina). (B) Tracciato normale: sono evidenziati il tempo di reazione (R), il tempo di formazione del coagulo (K), l'angolo α (α), la massima ampiezza (MA) e l'ampiezza a 60 minuti (A60).

prima fase di latenza - curva piatta - che corrisponde all'ACT; 2) una prima curva ascendente, che corrisponde alla fibrinofornazione; 3) una "spalla", che rappresenta il momento in cui le piastrine vengono imbrigliate nelle maglie di fibrina; 4) una seconda curva ascendente, che porta ad un picco il quale indica il completamento del coagulo; 5) infine, un curva discendente, la quale indica il distacco del coagulo dalla sonda. I parametri che vengono presi in considerazione sono tre: 1) l'ACT, 2) la derivata alla prima curva calcolata dall'apparecchio stesso, il Clot Rate (CR), che sta ad indicare il tasso di velocità di formazione della fibrina ed è un indice di ipercoagulabilità; 3) il tempo di picco (TP), misurato in minuti, che intercorre fra l'inizio del test e il picco della curva, che è un indice in correlazione alla funzionalità piastrinica. È stato riportato in studi recenti che l'analisi mediante Sonoclot è in grado di fornire indicazioni utili nel trattamento con terapia antitrombotica (74) e di predire il sanguinamento in pazienti dopo CPB (75-77). In uno studio di validazione di apparecchi e test POC è stata valutata la riproducibilità della TEG, dell'analisi Sonoclot e dei valori di ACT da celite e da caolino sia su pazienti che in soggetti di controllo (78). Le analisi con TEG e Sonoclot hanno riportato differenze nella valutazione del CV: fra il 3,1% e il 9,5 % per la prima e fra 5,8% e il 33% per il secondo per i differenti parametri. Il CV dei valori ottenuti con l'ACT sia da celite che da caolino era invece essenzialmente simile: fra il 5,6% e 10,8% per l'ACT da celite e CV fra il 6,7% e il 12,4% per quello da caolino. Forestier e coll. (74) concludevano che l'ACT da celite e quello da caolino potevano essere utilizzati indif-

ferentemente solo in caso di monitoraggio della coagulazione in pazienti non sottoposti a terapia eparinica. Al contrario, in pazienti eparinizzati o sottoposti a CPB i due test non potevano essere utilizzati indifferentemente, ma era necessario stabilire l'appropriato valore per il target di riferimento specifico per ciascuno strumento.

IL CONTROLLO DI QUALITÀ DEL POCT IN COAGULAZIONE

Un punto critico della strumentazione e delle analisi POC è la mancanza di standardizzazione. La standardizzazione rende possibile il confronto fra risultati ottenuti in differenti laboratori o in sale di chirurgia che utilizzano differenti dispositivi. Tutto ciò fa sì che l'esperienza ottenuta in un centro sia estesa - spesso empiricamente - ed impiegata in altri. Per esempio, un metodo di validazione per i test ACT è difficile dal momento che non esiste una misura "gold standard" per il confronto; diversamente accade per i valori di aPTT e PT di tipo POC che risultano abbastanza simili a quelli provenienti dal laboratorio centrale. Perciò è necessaria l'identificazione del metodo/dispositivo - specialmente per l'ACT - per stabilire protocolli di monitoraggio, per interpretare studi di confronto tra ACT differenti e per valutare la loro influenza sull'outcome clinico. Così ogni nuovo metodo dovrebbe essere condotto in parallelo con altri (diversi ACT e/o dosaggi di eparina) per conoscerne la sensibilità (4,18). Alcuni studi hanno riportato un'ampia variabilità dei risultati ottenuti con le analisi POC in coagulazione - principalmente durante CPB

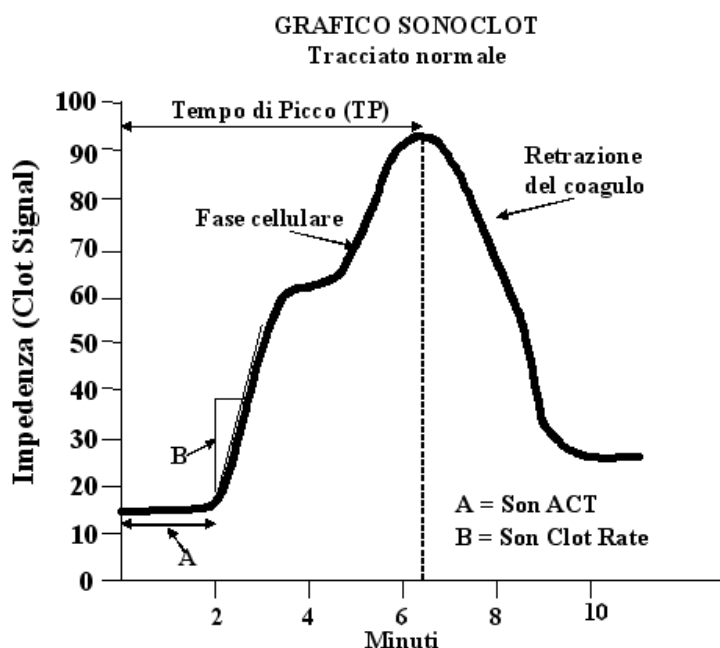


Figura 2

Grafico dell'analizzatore Sonoclot: sono evidenziati tempo di coagulazione attivata (A: Son ACT), il Clot Rate (B), e il Tempo di Picco (TP).

- (4,18,35,36,78). Prima di introdurre un test coagulativo POC nelle differenti UU. OO. di un Ospedale, dovrebbe essere presa in considerazione la differente risposta in termini non solo quantitativi (valori dei test ottenuti), ma anche qualitativi (tipologia dei diversi dispositivi), specialmente nei confronti di un paziente critico.

Un altro importante aspetto del POCT in coagulazione è l'inadeguato controllo di qualità (QC) dei metodi e dei dispositivi. Spesso vengono prese decisioni terapeutiche vitali in base ai risultati di tali test - monitoraggio del trattamento anticoagulante con eparina durante cardiocirurgia o della TAO - ed è quindi essenziale che la qualità dei risultati del POCT in termini di accuratezza e precisione sia elevata. La strumentazione medica e laboratoristica centralizzata è sottoposta ad un programma di verifica della qualità atto a mantenere accurati ed attendibili prestazioni della strumentazione e dei test. Registrazioni complete di tali controlli di qualità sono tenute nei laboratori generali. Nonostante test di controllo di qualità routinari siano parte di un più ampio programma di verifica della qualità, il QC per la strumentazione POC in coagulazione spesso è misconosciuto sia in sala operatoria che nelle altre UU.OO. (79,80).

La qualità dei metodi deve essere controllata mediante la verifica degli stessi, ma anche delle apparecchiature. Tutte le ditte produttrici di coagulometri portatili forniscono programmi di QC per ciascun dispositivo che, al momento dell'accensione, esegue sempre un autocheck. Per la strumentazione di tipo POC esistono poi due tipi di QC. Il primo consiste nella verifica dell'apparecchio mediante simulatori elettronici del test che sono parte integrante della dotazione del sistema, il cosiddetto "controllo di qualità elettronico" - EQC. Il secondo consiste nella verifica dei test mediante materiale di controllo fornito dalla ditta stessa. Il materiale di controllo per i coagulometri di tipo POC è essenzialmente in forma liofilizzata, pronto da ricostituire al momento del test. Il valore del controllo è noto e la ditta fornitrice riporta sempre nelle istruzioni il range e la media entro cui esso deve rientrare. Sono due i livelli di verifica del QC di tipo POC: livello 1, o valori normali e livello 2, o valori anormali. Il QC deve essere effettuato con entrambi i livelli di controllo, poiché così si valuta l'intero range del metodo: valori normali, patologici ed anche range terapeutico. Si dovrebbero prestabilire appropriati e cadenzati intervalli di tempo di verifica per il QC e, comunque, è necessario controllare giornalmente lo stato dell'apparecchiatura mediante l'EQC e verificare sempre ad ogni cambio di lotto l'idoneità delle cartucce e, quindi, dei reagenti. In generale i CV di analisi ottenute con materiale di controllo possono variare dal 4% al 9% per i test coagulativi (52).

Poiché in Italia non esiste alcuna regolamentazione per la verifica del QC per i coagulometri POC, è opportuno fare riferimento alle raccomandazioni statunitensi del 1988 "Clinical Laboratory Improvement Amendments" (CLIA 88) (81). E' auspicabile infatti che ogni Istituzione o Paese rediga specifiche linee guida che regolino il modo in cui effettuare e documentare il QC POC. Nell'Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi di Firenze personale laurea-

to di laboratorio effettua il QC del sistema (52,82). Inoltre, non meno importante è la necessità di allestire corsi di formazione per il personale sanitario, che non è preparato alla gestione di test laboratoristici (infermieri, perfusionisti, anestesisti e medici di Area Critica), allo scopo di ottimizzare l'uso e di diffondere un'adeguata conoscenza del tipo di test e del range di valori ottenibili con il sistema in uso. Il compito del biologo responsabile per il POCT in coagulazione è quindi quello di stabilire un programma di controllo di qualità routinario nelle varie UU.OO - specialmente in sala di cardiocirurgia -, organizzando, insieme agli anestesisti e agli infermieri, le procedure e introducendo l'impiego di un "log-book", un registro dove riportare sia le procedure sia i dati ottenuti dai test coagulativi. In questo modo è possibile documentare l'EQC (eseguito dal personale di reparto), il QC (eseguito dal biologo responsabile) e i valori ottenuti dai test (rintracciabilità dei dati).

Nel futuro dei coagulometri portatili c'è la connessione in rete, che renderà possibile una sorveglianza giornaliera "virtuale" di questi apparecchi e una verifica effettiva del QC dei test eseguita dallo stesso personale di reparto - sempre, comunque, con verifiche periodiche da parte del biologo responsabile. Solo in questo modo si potrà ottenere una gestione ottimale degli strumenti e la sicurezza di un'esecuzione accurata dei test coagulativi.

IL FUTURO

Gli sviluppi auspicabili riguardano l'evoluzione di sistemi integrati che consentano di esplorare altri aspetti dell'emostasi, che le apparecchiature attualmente disponibili non sono in grado di valutare: in particolare, la funzione piastrinica, in rapporto all'utilizzo di vari farmaci antiaggreganti, e l'attività fibrinolitica, il cui ruolo può essere determinante in alcuni sanguinamenti postchirurgici.

BIBLIOGRAFIA

1. Despotis GJ, Gravlee G, Filos K, Levy J: Anticoagulation monitoring during cardiac surgery: a review of current and emerging techniques. *Anesthesiology*. *Anesthesiology* 1999;91:1122-51.
2. Despotis GJ, Joist JH. Anticoagulation and anticoagulation reversal with cardiac surgery involving cardiopulmonary bypass: an update. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1999;4:18-29.
3. Bull BS, Huse WM, Brauer FS, Korpman RA: Heparin therapy during extracorporeal circulation. II. The use of a dose-response curve to individualize heparin and protamine dosage. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1975;69:685-9.
4. Despotis GJ, Summerfield AL, Joist JH, Goodnough LT, Santoro SA et al. Comparison of activated coagulation time and whole blood heparin measurements with laboratory plasma anti-Xa heparin concentration in patients having cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994;108:1076-82.
5. Despotis GJ, Joist JH, Goodnough LT: Monitoring of hemostasis in cardiac surgical patients: impact of point-of-care testing on blood loss and transfusion outcomes. *Clin Chem* 1997;43:1684-96.
6. Holloway DS, Summaria L, Sandesara J, Vagher JP, Alexander HC et al. Decreased platelet number and function

- and increased fibrinolysis contribute to postoperative bleeding in cardiopulmonary bypass patients. *Thromb Haemostas* 1988;59:62-7.
7. Avendano A, Ferguson JJ. Comparison of Hemochron and HemoTec activated coagulation time target values during percutaneous transluminal coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol* 1994;23:907-10.
 8. Hezard N, Metz D, Potron G, Nazeyrollas P, Maes D, et al. Monitoring the effect of heparin bolus during percutaneous coronary angioplasty (PTCA): assessment of three bedside coagulation monitors. *Thromb Haemost*. 1998;80:865-6.
 9. DeLaria GA, Tyner JJ, Hayes CL, Armstrong BW. Heparin-protamine mismatch. A controllable factor in bleeding after open heart surgery. *Arch Surg*. 1994;129:944-50.
 10. Jobses DR, Aitken GL, Shaffer GW. Increased accuracy and precision of heparin and protamine dosing reduces blood loss and transfusion in patients undergoing primary cardiac operations. *Thorac Cardiovasc Surg*. 1995;110:36-45.
 11. Johnson HD, Morgan MS, Koenig GR, Utlej JR, Leyland SA, Whittle TB, Conn JM. Evaluation of the Hemochron 8000 Rx/Dx system for heparin management. *J Extra Corpor Technol* 1997;29:83-7.
 12. Muller-Bardorff M, Strasser RH, Schon S, Westphal E, Mullican WS, Dauerman HL, Schwab M, Katus HA. Evaluation of CoaguChek Pro ACT in cardiac catheterization laboratory. *Clin Chim Acta* 2001;307:135-8.
 13. El Rouby S, Rinehart K, Zucker ML, LaDuca FM. Hand-held personal digital assistant program for the HEMOCHRON Rx/Dx heparin and protamine dosing system. *J Extra Corpor Technol* 2003;35:212-7.
 14. Hattersley P. Activated coagulation time of whole blood. *JAMA* 1966;136:436-9.
 15. Prisco D, Paniccia R. Point-of-Care Testing of Hemostasis in Cardiac Surgery. *Thromb J*. 2003;6;1:1-10.
 16. Lee RI, White PD. A clinical study of the coagulation time of blood. *Am J Med Sci* 1913;145:495-503.
 17. Raymond PD, Ray MJ, Collen SN, Marsh NA. Heparin monitoring during cardiac surgery. Part 1: Validation of whole-blood heparin concentration and activated clotting time. *Perfusion* 2003;18:269-76.
 18. Paniccia R, Fedi S, Carbonetto F, Noferi D, Conti P, et al. Evaluation of a New Point-Of-Care Celite Activated Clotting Time (ACT) Analyzer in Different Clinical Settings: the I-STAT Celite ACT Test. *Anesthesiology* 2003;99:54-9.
 19. Bowers J, Ferguson JJ 3rd. The use of activated clotting times to monitor heparin therapy during and after interventional procedures. *Clin Cardiol*. 1994;17:357-61.
 20. Kaluski E, Krakover R, Cotter G, Hendler A, Zyssman I, et al. Minimal heparinization in coronary angioplasty-how much heparin is really warranted? *Am J Cardiol* 2000;85:953-6.
 21. Chew DP, Bhatt DL, Lincoff AM, Moliterno DJ, Brener SJ, et al. Defining the optimal activated clotting time during percutaneous coronary intervention: aggregate results from 6 randomized, controlled trials. *Circulation* 2001;103:961-6.
 22. Biancofiore G, Esposito M, Bindi L, Stefanini A, Bisa M, et al. Regional filter heparinization for continuous veno-venous hemofiltration in liver transplant recipients. *Minerva Anestesiol* 2003;69:527-38.
 23. Bommer J, Schwab M. Bedside testing with the new CoaguChek Pro activated clotting time assay in dialysis. *Artif Organs* 2002;26:387-90.
 24. Kubalek R, Berlis A, Schwab M, Klisch J, Schumacher M. Activated clotting time or activated partial thromboplastin time as the method of choice for patients undergoing neuroradiological intervention. *Neuroradiology* 2003;45:325-7.
 25. Pan CM, Jobses D, Van Riper D, Ogilby JD, Lin CY, et al. Modified microsample ACT test for heparin monitoring. *J Extracorpor Technol* 1996;28:16-20.
 26. Carter AJ, Hicks K, Heldman AW, Resar JR, Laird JR, et al. Clinical evaluation of a microsample coagulation analyzer, and comparison with existing techniques. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1996;39:97-102.
 27. Gravlee GP, Case LD, Angert KC, Rogers AT, Miller GS: Variability of the activated coagulation time. *Anesth Analg* 1988;67:469-72.
 28. Jaryno S, Bennett K, Loder C, Zucker ML, Pan CM, et al. Validation of a new whole blood coagulation monitoring system. *J Extra Corpor Technol* 2002;34:271-5.
 29. Leyvi G, Shore-Lesserson, L, Harrington D, Vela-Cantos F, Hossain S. An investigation of a new activated clotting time "MAX-ACT" in patient undergoing extracorporeal circulation. *Anesth Analg* 2001;92:578-83.
 30. Gibbs NM, Weightman WM, Thackray NM, Michalopoulos N. Evaluation of the TAS coagulation analyzer for monitoring heparin effect in cardiac surgical patients. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1998;12:536-41.
 31. Wallock M, Jeske WP, Bakhos M, Walenga JM. Evaluation of a new Point of Care heparin test for cardiopulmonary bypass: the TAS heparin management test. *Perfusion* 2001;16:147-51.
 32. Hett DA, Walker D, Pilkington SN, Smith DC: Sonoclot analysis. *Br J Anaesth* 1995;75:771-6.
 33. Paniccia R., Cappuccini G, Stefano PL, Bandinelli B, Conti AA, Attanasio M, Pieralli M, Abbate R, Gensini GF, Prisco D. Evaluation of the performance of three different systems for measuring activated clotting time (ACT) during cardiopulmonary bypass (CPB). *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis* 2002;32:P161.
 34. Colby CE, Sheehan A, Benitz W, Van Meurs K, Halamek LP, et al. Maintaining adequate anticoagulation on extracorporeal membrane oxygenation therapy: Hemochron Junior Low Range versus Hemochron 400. *J Extra Corpor Technol* 2003;35:35-8.
 35. Fitch JC, Mirto GP, Geary KL, Byrne DW, Hines RL. Point-of-care and standard laboratory coagulation testing during cardiovascular surgery: balancing reliability and timeliness. *J Clin Monit Comput* 1999;15:197-204.
 36. Welsby IJ, McDonnell E, El-Moalem H, Stafford-Smith M, Toffaletti JG. Activated clotting time systems vary in precision and bias and are not interchangeable when following heparin management protocols during cardiopulmonary bypass. *J Clin Monit Comput* 2002;17:287-92.
 37. Giavarina D, Carta M, Fabbri A, Manfredi J, Gasparotto E, Soffiati G. Monitoring high-dose heparin levels by ACT and HMT during extracorporeal circulation: diagnostic accuracy of three compact monitors. *Perfusion*. 2002;17:23-6.
 38. Wang JS, Lin CY, Hung WT, Karp RB. Monitoring of heparin induced anticoagulation with kaolin-activated clotting time in cardiac surgical patients treated with aprotinin. *Anesthesiology* 1992;77:1080-4.
 39. Andrew M, MacIntyre B, MacMillan J, Williams WG, Gruenwald C, et al. Heparin therapy during cardiopulmonary bypass in children requires ongoing quality control. *Thromb Haemostas* 1993;70:937-41.
 40. Despotis GJ, Filos KS, Levine V, Alsoufiev A, Spitznagel E. Aprotinin prolongs activated and nonactivated whole blood clotting time and potentiates the effect of heparin in vitro. *Anesth Analg* 1996;82:1126-31.
 41. Zucker ML, Jobses C, Siegel M, Jobses D, LaDuca FM. Activated clotting time (ACT) testing: analysis of reproducibility. *J Extra Corpor Technol* 1999;31:130-4.
 42. Koster A, Fischer T, Gruendel M, Mappes A, Kuebler WM, et al. Management of heparin resistance during cardiopulmonary bypass: the effect of five different anticoagulation

- strategies on hemostatic activation. *J Cardiothorac Anesth* 2003;17:171-5.
43. Despotis GJ, Levine V, Joist JH, Joiner-Maier D, Spitznagel E. Antithrombin III during cardiac surgery: effect on response of activated clotting time to heparin and relationship to markers of hemostatic activation. *Anesth Analg* 1997;85:498-506.
44. Kmiecik SA, Liu JL, Vaadia TS, Nichols JD, Kohtz RJ, Mills NJ, Petterson CM, Stammers AH. Quantitative evaluation of hypothermia, hyperthermia, and hemodilution on coagulation. *J Extra Corpor Technol* 2001;33:100-5.
45. Chavez JJ, Weatherall JS, Strevels SM, Liu F, Snider CC, et al. Evaluation of a point-of-care coagulation analyzer on patients undergoing cardiopulmonary bypass surgery. *J Clin Anesth* 2004;16:7-10.
46. Hall TS, Sines JC, Spotnitz AJ. Hemorrhage related reexploration following open heart surgery: the impact of pre-operative and post-operative coagulation testing. *Cardiovasc Surg* 2002;10:146-53.
47. Zabel KM, Granger CB, Becker RC, Bovill EG, Hirsh J, et al. Use of bedside activated partial thromboplastin time monitor to adjust heparin dosing after thrombolysis for acute myocardial infarction: results of GUSTO-I. Global Utilization of Streptokinase and TPA for Occluded Coronary Arteries. *Am Heart J* 1998;136:868-76.
48. Becker RC, Cyr J, Corrao JM, Ball SP. Bedside coagulation monitoring in heparin-treated patients with active thromboembolic disease: a coronary care unit experience. *Am Heart J* 1994;128:719-23.
49. Becker RC, Ball SP, Eisenberg P, Borzak S, Held AC, et al. A randomized, multicenter trial of weight-adjusted intravenous heparin dose titration and point-of-care coagulation monitoring in hospitalized patients with active thromboembolic disease. Antithrombotic Therapy Consortium Investigators. *Am Heart J* 1999;137:59-71.
50. Ferring M, Reber G, de Moerloose P, Merlani P, Diby et al. Point of Care and central laboratory determinations of the aPTT are not interchangeable in surgical intensive care patients. *Can J Anaesth* 2001;48:1155-60.
51. Ruzicka K, Kapiotis S, Quehenberger P, Handler S, Hornykewycz S, et al. Evaluation of bedside prothrombin time and activated partial thromboplastin time measurement by coagulation analyzer CoaguCheck Plus in various clinical settings. *Thromb Res* 1997;87:431-40.
52. Paniccia R, Costanzo M, Blagojevich J, Beconcini S, Ciuti G, et al. Managed hemostasis "point-of-care" testing in a large hospital: a three-year experience and the assessment of clotting test. *Haematologica* 2004;89:38-9.
53. Despotis GJ, Hogue CW Jr, Santoro SA, Joist JH, Barnes PW, et al. Effect of heparin on whole blood activated partial thromboplastin time using a portable, whole blood coagulation monitor. *Crit Care Med* 1995;23:1674-9.
54. Boldt J, Walz G, Triem J, Suttner S, Kumle B. Point-of-care (POC) measurement of coagulation after cardiac surgery. *Intensive Care Med* 1998;24:1187-93.
55. World Health Organization. Standardisation. W.E.Co.B., 33rd Report. WHO Technical Report series. Geneva., 1983:1-105
56. Ng VL, Valdes-Camin R, Gottfried EL, Echaves SA, Stead AG, et al. Highly sensitive thromboplastins do not improve INR precision. *Am J Clin Pathol* 1998;109:338-46.
57. Tripodi A, Chantarangkul V, Bressi C, Mannucci PM. International sensitivity index calibration of the near-patient testing prothrombin time monitor, ProTime. *Am J Clin Pathol* 2003;119:232-40.
58. Poller L, Keown M, Chauhan N, Van Den Besselaar AM, Tripodi A, et al: ECAA Steering Group Members. European Concerted Action on Anticoagulation. Correction of displayed international normalized ratio on two point-of-care test whole blood prothrombin time monitors (CoaguCheck Mini and TAS PT-NC) by independent international sensitivity index calibration. *Br J Haematol* 2003;122:944-9.
59. Chantarangkul V, Frontoni R, Gresele P, Oca G, Paniccia R, et al. Determination of the technique- and specimen-specific international sensitivity index for the Thrombotest™ reagent. *Haematologica* 2004;89:181-2.
60. Tripodi A, Bressi C, Carpenedo M, Chantarangkul V, Clerici M, et al. Quality assurance program for whole blood prothrombin time-international normalized ratio point-of-care monitors used for patients self-testing to control oral anticoagulation. *Thromb. Res* 2004;113:35-40.
61. Van Den Besselaar AM. A comparison of INRs determined with a whole blood prothrombin time device and two international reference preparations for thromboplastin. *Thromb Haemost* 2000;2184:410-2.
62. Testa S, Alatri A, Morstabilini G, Denti N, Martellenghi E, et al. Telemedicine for managing patients on oral anticoagulant therapy. *Haematologica* 2004;89:63-4.
63. Iorio A, Minciotti A, Ferrante F, Nenci GG. Pharmaco-economic evaluation of the management of oral anticoagulant treatment with point-of-care devices in the Italian National Health Care System. *Haematologica* 2004;89:63.
64. Paccamiccio E, Ferrante F, Trottni S, Rosafalco M, Duca E, et al. OAT with POC devices and remote computer monitoring in the setting of the Italian NHS: a controlled clinical trial. *Haematologica* 2004;89:180-1.
65. Hasenkam M, Knudsen L, Kimose HH. Practicability of patient self-testing of oral anticoagulant therapy by the International Normalized Ratio (INR) using a portable whole blood monitor: a pilot investigation. *Thromb Res* 1997;85:77-82.
66. Kitchen S, Preston FE. Monitoring oral anticoagulant treatment with the TAS near-patient test system: comparison with conventional thromboplastins. *J Clin Pathol* 1997;50:951-6.
67. Despotis GJ, Santoro SA, Spitznagel E, Kater KM, Cox JL, et al. Prospective evaluation and clinical utility of on-site monitoring of coagulation in patients undergoing cardiac operation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994;107:271-9.
68. Murray ET, Fitzmaurice DA, Allen TF, Hobbs FD. A primary care evaluation of three near patient coagulometers. *J Clin Pathol* 1999;52:842-5.
69. Ferrante F, Ghirarduzzi A, Silingardi M, Franzoni C, Iorio A. Clinical and laboratory performance evaluation of three point-of-care devices for INR determination (CoaguCheck, Prottime, Harmony). *Haematologica* 2004;89:62-3.
70. Salooja N, Perry DJ. Thromboelastography. *Blood Coag Fibrinol* 2001;12:327-37.
71. Fries D, Innerhofer P, Klingler A, Berresheim U, Mittermayr M, et al. The effect of the combined administration of colloids and lactated Ringer's solution on the coagulation system: an in vitro study using thromboelastograph coagulation analysis (ROTEGR). *Anesth Analg* 2002;94: 1280-7.
72. Shore-Lesserson L, Manspeizer HE, DePerio M, Francis S, Vela-Cantos F, et al. Thromboelastography-guided transfusion algorithm reduces transfusions in complex cardiac surgery. *Anesth Analg* 1999;88:312-9.
73. Cammerer U, Dietrich W, Rampf T, Braun SL, Richter JA. The predictive value of modified computerized thromboelastography and platelet function analysis for postoperative blood loss in routine cardiac surgery. *Anesth Analg* 2003;96:51-7.
74. Dong Y, Nuttall GA, Oliver WC, Ereth MH. Sonoclot analyzer and platelet aggregometry detect platelet receptor (GPIIb/IIIa) blockade. *Anesthesiology* 2001;95:A192.
75. Nuttall GA, Oliver WC, Ereth MH, Santrach PJ. Coagulation

- tests predict bleeding after cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 1997;11:815-23.
76. Miyashita T, Kuro M. Evaluation of platelet function by Sonoclot analysis compared with other hemostatic variables in cardiac surgery. *Anesth Analg* 1998;87:1228-33.
77. Paniccia R, Ridolfi N, Stefano PL, Bandinelli B, Gazzini A, et al. Two new "Point of Care" analyzers for the study of platelet function (PF) during cardiopulmonary bypass (CPB). *Pathophysiol HemostasThromb* 2002;32:111.
78. Forestier F, Belisle S, Contant C, Harel F, Janvier G, Hardy JF: Reproductibilité et interchangeabilité du Thromboélastographe, Sonoclot et du temps de coagulation activé (Hémochron), en chirurgie cardiaque. [Reproducibility and interchangeability of the Thromboelastograph, Sonoclot and Hemochron activated coagulation time in cardiac surgery]. *Can J Anaesth* 2001;48:902-10.
79. Aller RD. Coagulation analysis at the Point of Care. *CAP TODAY* 1999; february:65; <ftp://ftp.cap.org/captoday/0299poc.pdf>
80. Graves DF, Chernin JM, Kurusz M, Zwischenberger JB. Anticoagulation practices during neonatal extracorporeal membrane oxygenation: survey results. *Perfusion.* 1996;11:461-6.
81. U.S. Department of Health and Human Services. Medicare, Medicaid and CLIA programs: Regulations implementing the Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA). Final Rule. *Federal Register* 1992;57:7002-186.
82. Tronchin M, Paniccia R, Ognibene A, Salti S, Artioli S, et al. Centrally-managed POCT: the Careggi experience. *Biochimica Clinica* 2004;28:33.