

INR bepaling: gevolgen bij uitkomen nieuwe WHO-standaarden

Noodzaak voor betere verankering ISI-systeem

SKML Congres

Rene Niessen

Klinisch chemicus

4 juni 2019



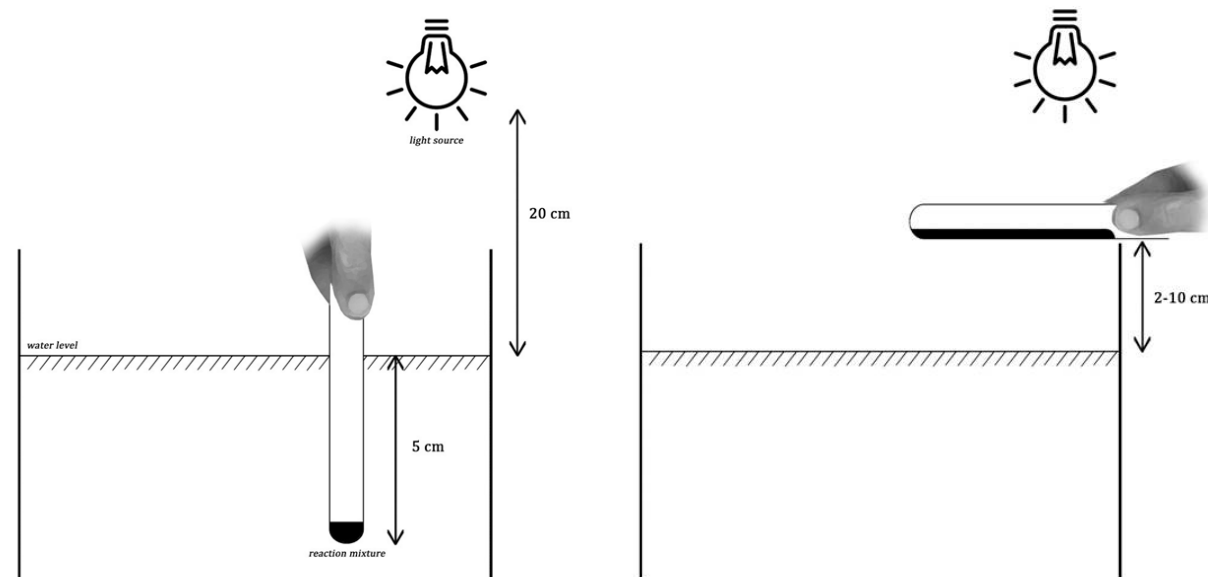
Inleiding (algemeen)

- Protrombine tijd (PT) wordt uitgedrukt in seconden
- Naast FII ook beïnvloedt door FVII, X, V en fibrinogeen →
Tissue factor induced coagulation time
- Wordt gemeten met “biologisch” reagens en instrument
- PT wordt getransformeerd naar International Normalized Ratio (INR)
- Hierdoor werd het mogelijk om therapeutische ranges te definiëren voor behandeling met vitamine K antagonist (VKA)
- INR wordt berekend met International Sensitivity Index (ISI) en gemiddelde normale PT (MNPT)

$$\text{INR} = (\text{PT}/\text{MNPT})^{\text{ISI}}$$

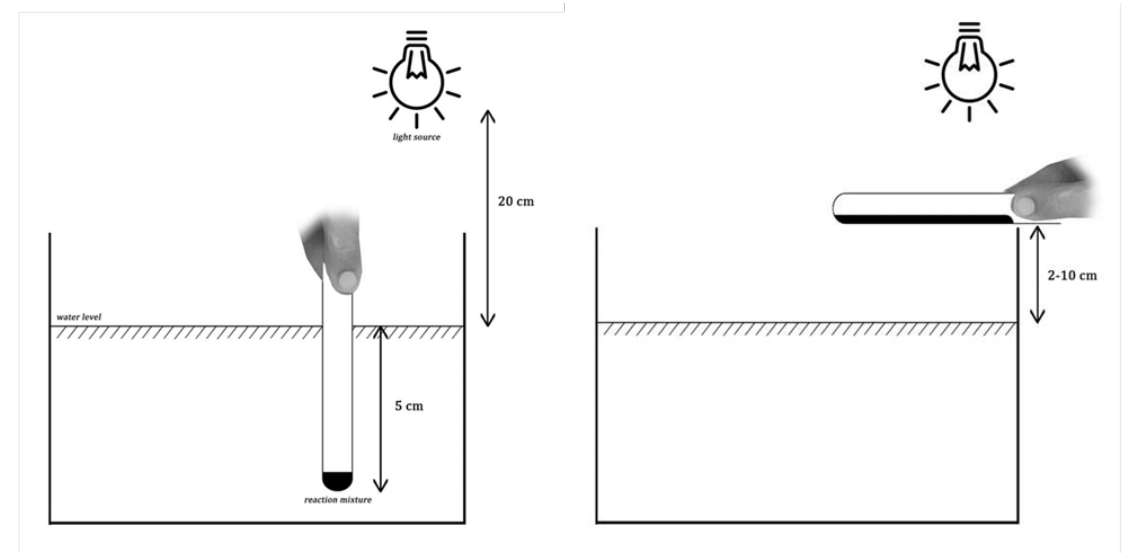
Inleiding (algemeen)

- ISI van tromboplastine/instrument wordt bepaald door calibratie met een Internationale Standaard (IS) tromboplastine
- Voor calibraties wordt IS tromboplastine gebruikt met een manual Tilt Tube techniek

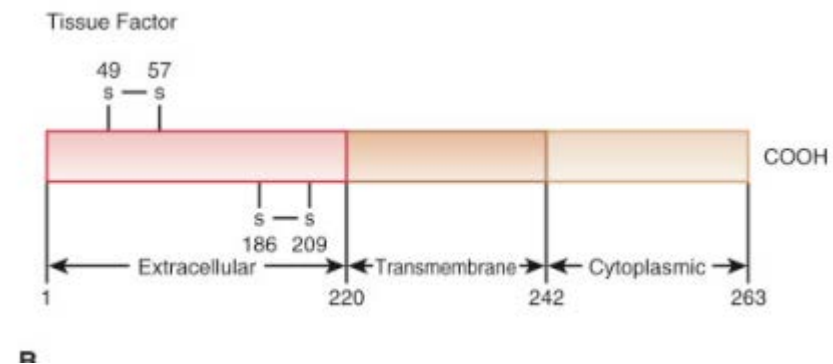
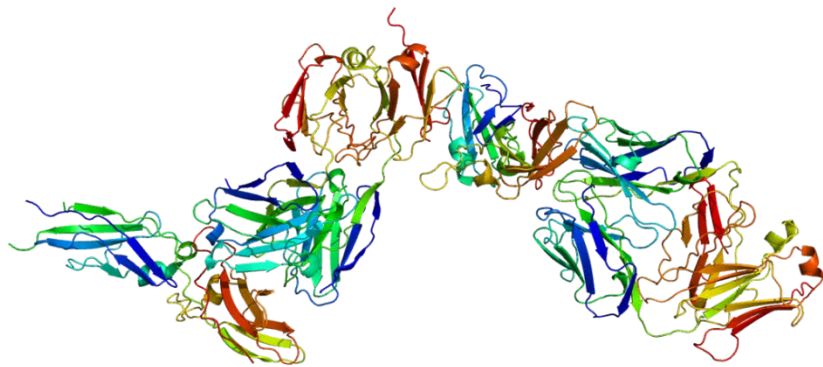


Vast omschreven protocol

- Waterbad 37°C
- Buis 5 cm ondergedomeld
- Lichtbron 20 cm boven waterbadopp
- Kiepen 2 sec en 1 sec in waterbad
- Etc.



- Recombinant humaan tromboplastines zijn gevoeliger voor FVII dan tromboplastines bereid uit extracten van dierlijke of humane oorsprong
- Met als gevolg dat discrepanties tussen verschillende tromboplastine preparaten verwacht kan worden
- Daarnaast wordt er ook een zekere variatie in gemeten INR gevonden in stabiel ingestelde VKA-patiënten



Voor berekening INR is het nodig ISI van PT-systeem te kennen

- ISI van PT-systeem wordt bepaald door vergelijking met Internationale standaard voor tromboplastine
- Deze wordt bereid en gekalibreerd onder auspiciën van SSC van de ISTH
- Als internationale standaard opgebruikt is, wordt nieuwe kandidaat bereid en tegen de directe voorgangers gekalibreerd
- Er bestaan twee verschillende internationale standaarden
 - Standaard bereid uit recombinant humaan tromboplastine
 - Standaard bereid uit konijnenhersenen
- Beide standaarden worden naast elkaar gebruikt en hun ISI waarden zijn overeenkomstig vastgesteld

Kalibratie commerciële tromboplastines vs Internationale standaarden

- Bij vervanging internationale standaard wordt kandidaat vervanger gekalibreerd tegen zowel de IS voor rTF als de IS voor RBT
- Hierdoor overeenkomst tussen beide standaarden zo goed mogelijk geborgd maar wijkt daarmee iets af met like-versus-like
- Kalibratie van commerciële tromboplastines wordt uitgevoerd tegen de overeenkomstige IS (like-versus-like)
- De ISI van een commercieel rTF gekalibreerd tegen de IS voor rTF heeft een lagere CV dan de ISI van dezelfde rTF gekalibreerd tegen IS voor RBT

Like-versus-Like

- ISI van commerciële rec humaan tromboplastine gecalibreerd ten IS voor rec humaan tromboplastine heeft een lagere CV dan de ISI van hetzelfde rec humaan tromboplastine gecalibreerd tegen de IS voor koninentromboplastine
- Kalibraties worden daarom uitgevoerd volgens principe “like-versus-like”
- Dit principe alleen toegepast bij kalibratie van commerciële tromboplastines
- Bij vervanging van IS wordt kandidaat vervanger gekalibreerd tegen zowel IS voor rec humaan tromboplastine als tegen IS voor konijntromboplastine

Gemiddelde ISI toekenning aan rTF/16 en RBT/16

New IS for recombinant human thromboplastin (rTF/16)				New IS for rabbit brain thromboplastin (RBT/16)			
Reference: rTF/09		Reference: RBT/05		Reference: rTF/09		Reference: RBT/05	
n	Mean ISI	n	Mean ISI	n	Mean ISI	n	Mean ISI
20	1.09	13	1.14	11	1.20	18	1.21
Combined results: mean ISI = 1.11				Combined results: mean ISI = 1.21			

Verificatie POC-INR gericht op therapeutisch meetgebied

- Huidige acceptatie criterium voor beoordelen geschiktheid van bv nieuwe lotnummers strips laat een meetonzekerheid van de gemiddelde INR toe van zo'n 10%
- Gebaseerd op consensus criterium SSC
- Dit performance criterium geldt voor *fit-for-clinical-purpose* INR waarden tussen de 1,5 en 4,0 (conform *intended use*)
- Dit houdt in dat boven de 4,0 geen kwaliteitscriteria gedefinieerd zijn
- Het is dan ook niet mogelijk om in het hogere gebied vast te stellen welke afwijkingen significant zijn

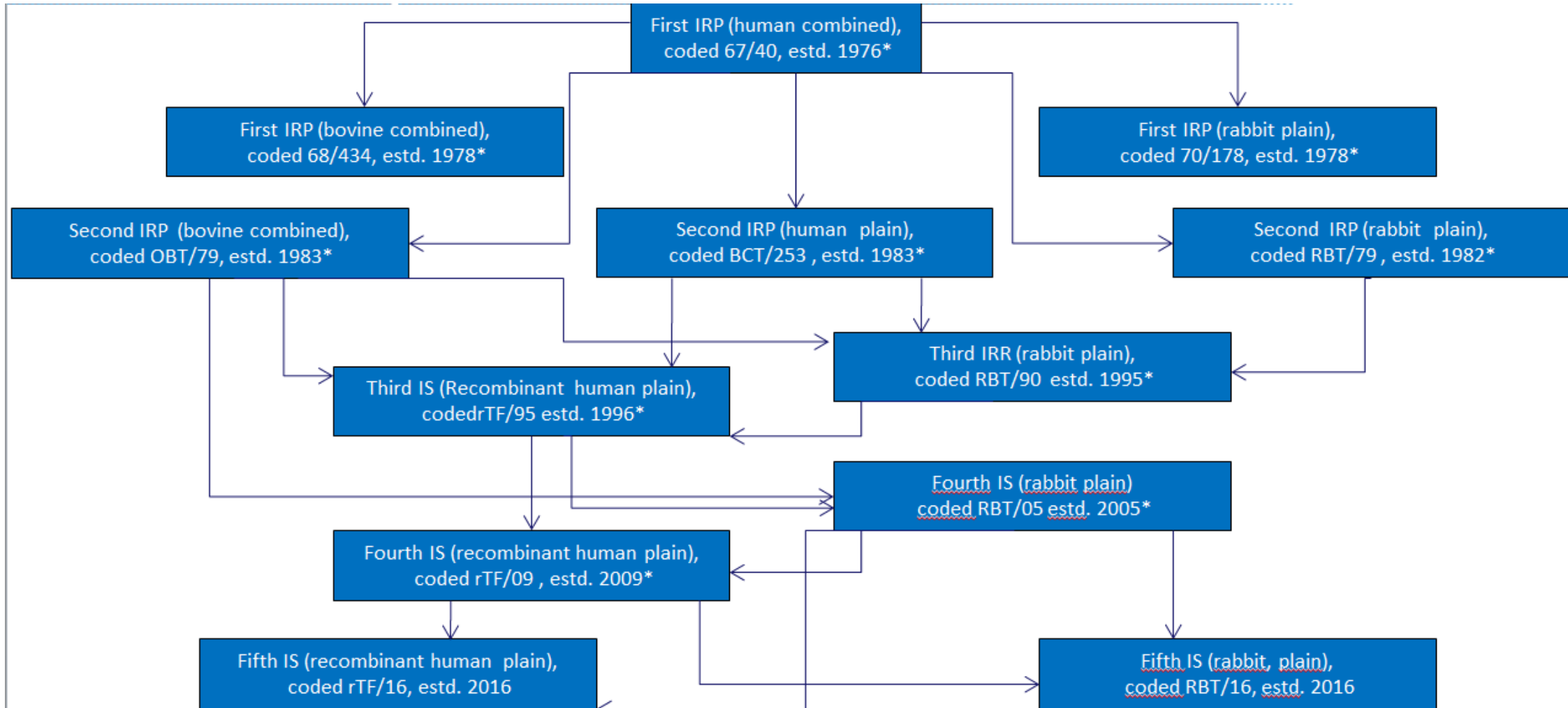
Within-subject variatie INR bij steady-state VKA patiënten

Auteur	VKA (aantal <u>patienten</u>)	Reagens	CV _I (%)	CV _A (%)
Lassen et al. (1995)	Fenprocoumon (n=32)	<u>Thrombotest</u>	9	3.5
Van Geest et al. (2009)	Fenprocoumon (n=75)	<u>Hepato Quick</u>	10.4	2.4
<u>Vd Besselaar</u> et al. (2012)	Warfarine (n=245)	<u>Recombiplastin 2G</u>	9	1.7-3.1
<u>Vd Besselaar</u> et al. (2015)	Fenprocoumon (n=94)	<u>CoaguChek XS</u>	8.8	3.9-4.0
idem	Acenocoumarol (n=93)	<u>CoaguChek XS</u>	10.4	3.9-4.0

Wat is een acceptabel verschil in gemeten INR ?

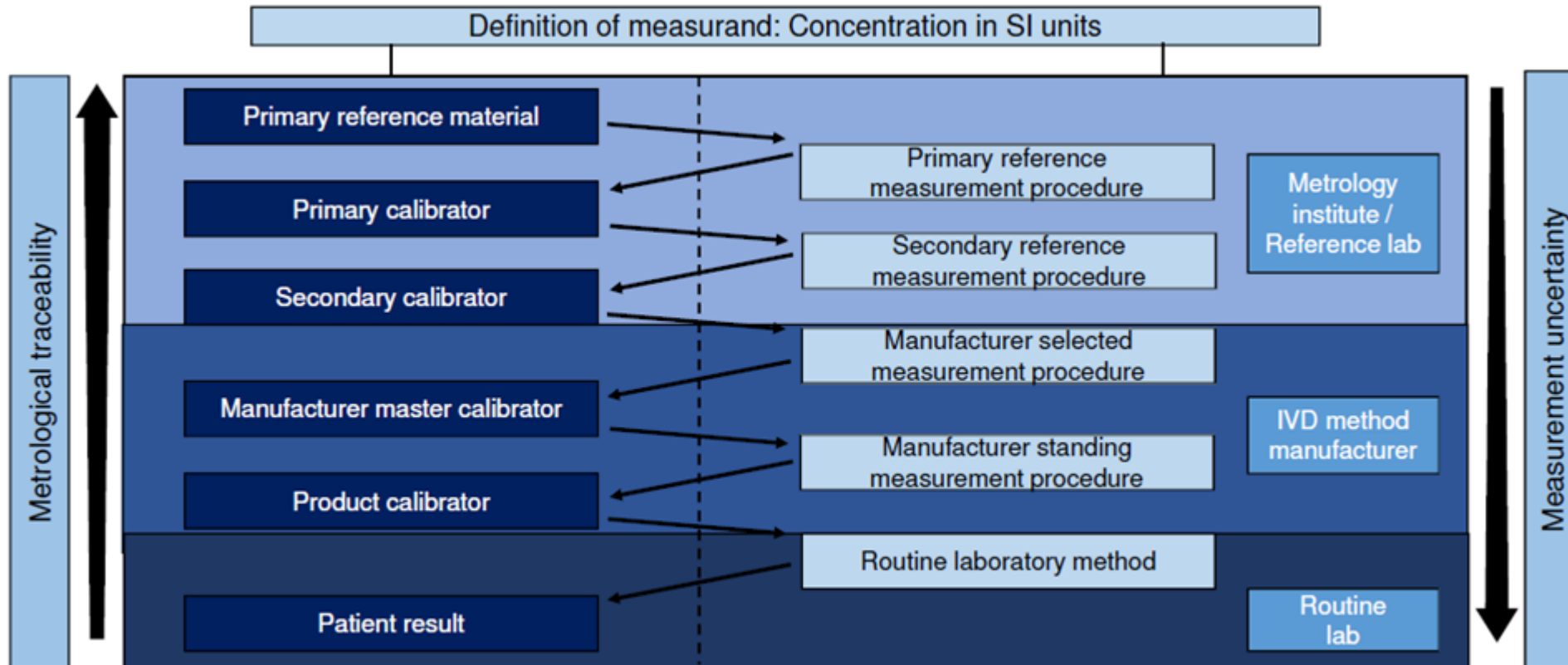
- Het acceptabel verschil is in verleden arbitrair vast gesteld op zo'n 10%
- In de afgelopen decades is gebleken dat dit naast heel werkbaar ook een te verdedigen acceptatie criterium is
- In 2004 als consensus criterium gepubliceerd door SSC subcommittee on Control of Anticoagulation

WHO International Reference Preparations for Thromboplastins



IRP= International Reference Preparation, IRR= International Reference Reagent, IS= International Standard, *Now discontinued

De Metrologische traceerbaarheidsketen



Adapted from EN ISO 17511 2003

- WHO International Standards voor tromboplastine worden periodiek vervangen vanwege de grote vraag vanuit de fabrikanten van commerciële tromboplastine reagentia
- Bij elk vervangingstraject IS voor tromboplastine wordt de nieuwe standaard gekalibreerd tegen één voorgaande standaard
- Sinds 1995 wordt bij vervangingstraject iedere nieuwe standaard tromboplastine gekalibreerd tegen alle bestaande voorgaande standaarden

Gevolg

- derde, vierde en vijfde vastgestelde ISI ligt hoger dan de ISI like-versus-like
- De afwijking loopt op van 1,5% naar 4,5% !

Table 1: ISI values assigned to consecutive International Standards for human thromboplastin.

International Standard for human thromboplastin (code)	ISI _{STATED}	International Standards used for ISI _{STATED} assignment	ISI _{LVL}	International Standard used for ISI _{LVL} assignment	INR _{LVL} calculated for INR _{STATED} = 2.0	INR _{LVL} calculated for INR _{STATED} = 4.5
1st (67/40)	1.00	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
2nd (BCT/253)	1.085	67/40	1.085	67/40	2.00	4.50
3rd (rTF/95)	0.94	BCT/253, OBT/79, RBT/90	0.926	BCT/253	1.98	4.40
4th (rTF/09)	1.082	rTF/95, RBT/05	1.054	rTF/95	1.96	4.33
5th (rTF/16)	1.11	rTF/09, RBT/05	1.062	rTF/09	1.94	4.22

Urgent safety field notification (Roche)

Roche

Vigilantie Informatie *Point of Care Solutions*

SBN-CPS-2018-014

Deviatie van hoge (> 4,5) CoaguChek INR-waarden als gevolg van recente masterlot-kalibratie

- a. Resultaten $\leq 4,5$ INR: resultaten zijn betrouwbaar en kunnen zonder vergelijkingstest worden gebruikt.
- b. Resultaten $> 4,5$ INR: indien resultaten $> 4,5$ INR worden gemeten, moet een vergelijkingmeting worden uitgevoerd met ofwel een laboratoriummethode of een CoaguChek-teststrip die is gekalibreerd ten opzichte van WHO-referentiestandaard rTF/09 totdat de geherkalibreerde teststrips gebruikt gaan worden. Bovendien moet de testfrequentie worden verhoogd, totdat resultaten worden verkregen in het therapeutische gebied van de patiënt. Dit in overeenstemming met de lokale medische richtlijnen.

Antonius M.H.P. van den Besselaar*, Charmane F. Abdoel, Claudia J.J. van Rijn, Felix J.M. van der Meer and Christa M. Cobbaert

Accuracy assessment of consecutive test strip lots for whole blood INR point-of-care instruments: clarifying the role of frozen plasma pools

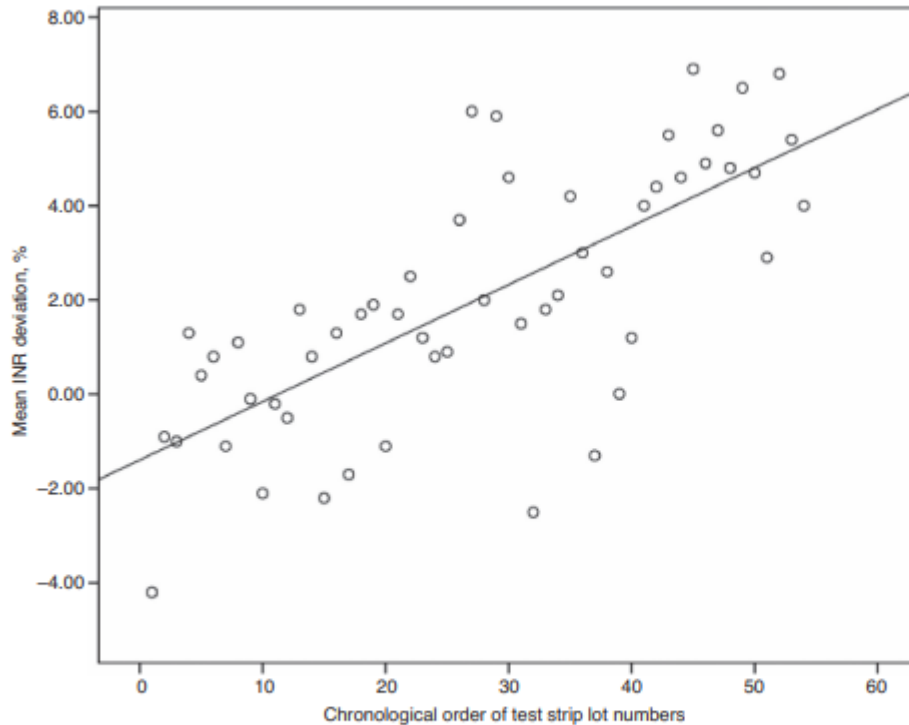


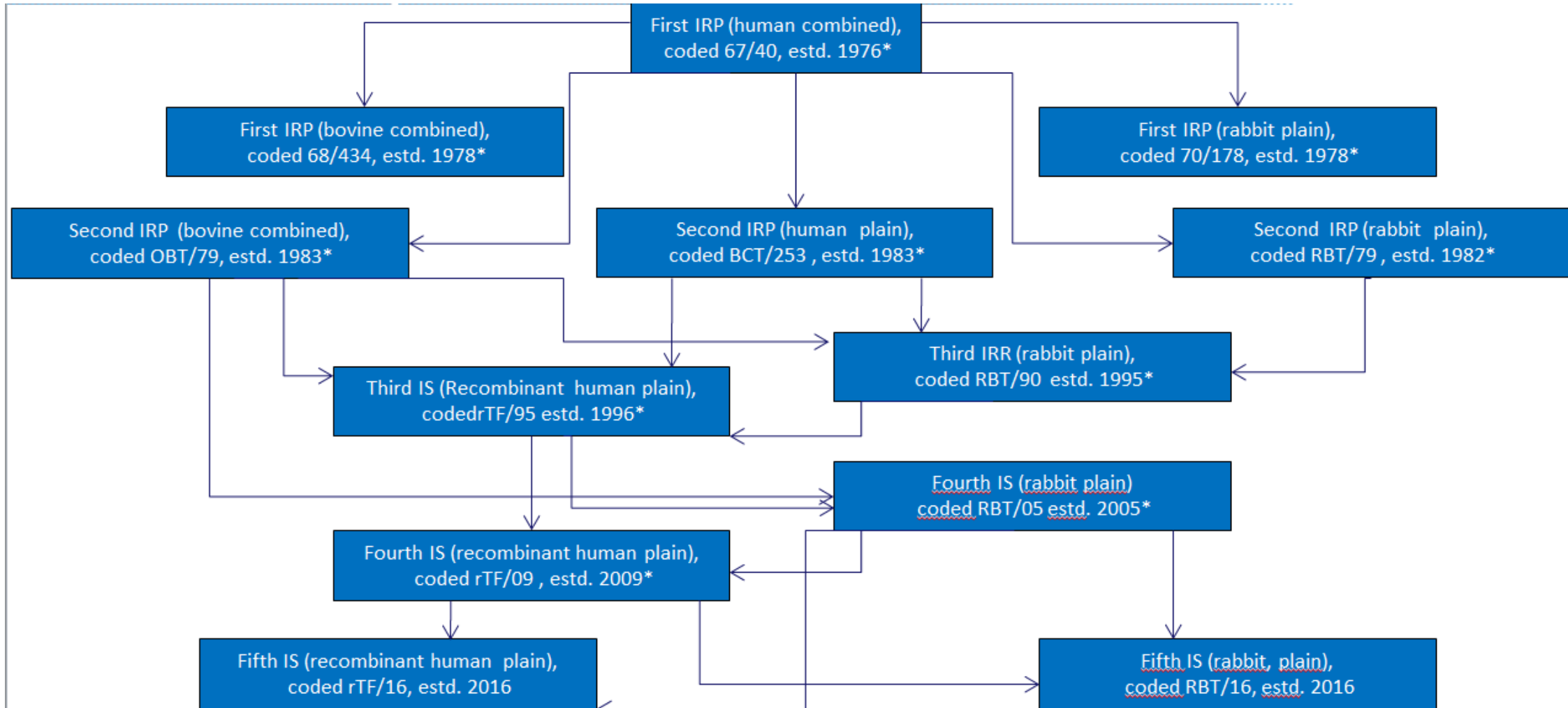
Figure 2: Scatterplot of mean INR deviation between CoaguChek XS production lot and International Standard thromboplastin rTF/09, vs. chronological order of all 54 strip lot numbers. A linear regression line is shown. The Pearson correlation coefficient is 0.727 ($p < 0.001$).

Gecentraliseerde verificatie CoaguChek XS door CRL

- Referentielot wordt door CRL vergeleken met Internationale Standaard voor recombinant human thromboplastin (rTF/16).
- Ieder nieuw lot wordt vergeleken met het referentielot door drie trombosediensten.
- Iedere trombosedienst gebruikt 8 capillair bloedmonsters van patiënten die met VKA worden behandeld.
- De meeste monsters liggen in het INR interval 1,5 – 3,5
- Gemiddelde INR van het nieuwe lot wordt vergeleken met de gemiddelde INR van het referentielot en de Internationale Standaard.
- Afwijking gemiddelde INR t.o.v. Internationale Standaard mag maximaal $\pm 10\%$ zijn.
- Alle monsters zijn natief bloed, dus commuteerbaar materiaal.



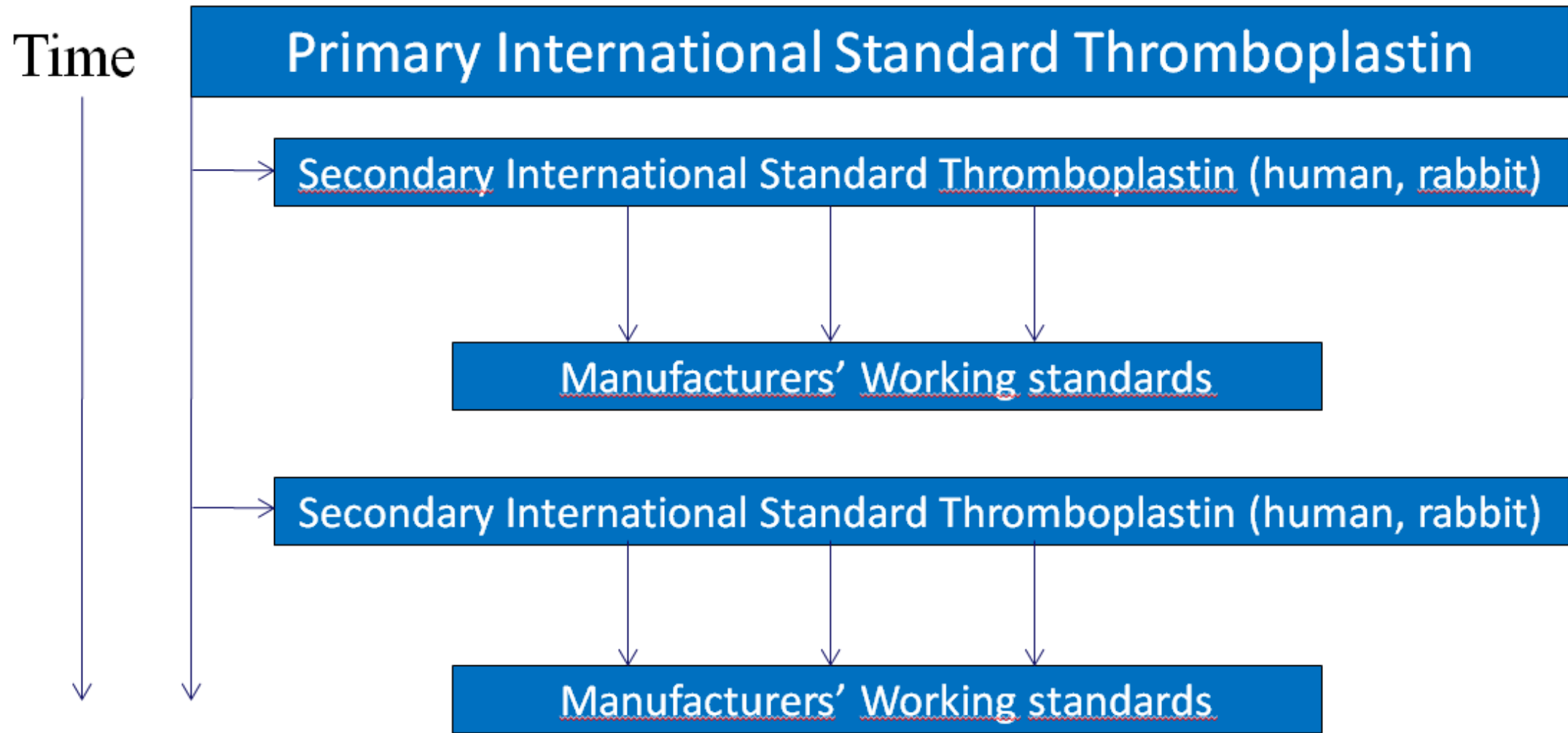
WHO International Reference Preparations for Thromboplastins



IRP= International Reference Preparation, IRR= International Reference Reagent, IS= International Standard , *Now discontinued

Betere verankering WHO International Standard

- Opzetten referentiemethode PT/INR (Manual Tilt Tube)
- Gezamenlijk project van drie referentielabs in Europa
 - CRL LUMC Leiden (C. Cobbaert)
 - Sheffield
 - Milaan
- Ontwikkelen van long-term primaire standaard (recombinant humaan TF gecombineerd met synthetisch fosfolipiden)
- Nieuwe secundaire standaarden (humaan en rabbit tromboplastine) dienen hiertegen gekalibreerd te worden
- Hierdoor in tijd veel langere beschikbaarheid primaire standaard waarmee drift ISI voorkomen wordt
- Hierdoor wordt een betere verankering van WHO International Standard geborgd



Goedkeuring IFCC-onderzoeksproject

- Onderzoekproject om tot referentiemethode PT/INR te komen is reeds door IFCC goedgekeurd
- Afgelopen week heeft ook de ISTH haar goedkeuring hieraan gegeven
- Het is zeer belangrijk dat dit door beide wetenschappelijke verenigingen gedragen wordt

- Grote inspanning hierin wordt geleverd door collega Prof. dr. Christa Cobbaert (LUMC Leiden) in haar rol als IFCC SD vice-voorzitter



Met dank aan



Christa Cobbaert
Ton van den Besselaar
Claudia van Rijn

afsluiting

: dank voor je aandacht



Hoe vind meting IS plaats op POC teststrip door CRL

- 20 normale en 60 VKA bloedmonsters
- Eerste druppel bloed wordt op POC teststrip gebracht
- Het in dezelfde afname verkregen bloed wordt gemengd met citraat
- Na centrifugatie wordt plasma met IS gemengd (1:2)
- Stoltijd wordt met Manual Tilt Tube techniek bepaald
- Met POC-ISI en POC MNPT wordt POC INR berekend
- Teststrips zijn door fabrikant gecalibreerd (Masterlot herleidbaar naar IS) waardoor INR op POC meter zo kan worden geverifieerd



Stap	Locatie	Aantal VKA patient monsters	Activiteit
1	CRL - Leiden	60	Bepaal relatie: $INR_{Int\ Standaard} - INR_{Referentie\ Lot}$
2	Drie trombosediensten	3 × 8	Bepaal relatie: $INR_{Referentie\ Lot} - INR_{Nieuw\ Lot}$
3	CRL - Leiden	NV	Bepaal relatie: $INR_{Int\ Standaard} - INR_{Nieuw\ Lot}$

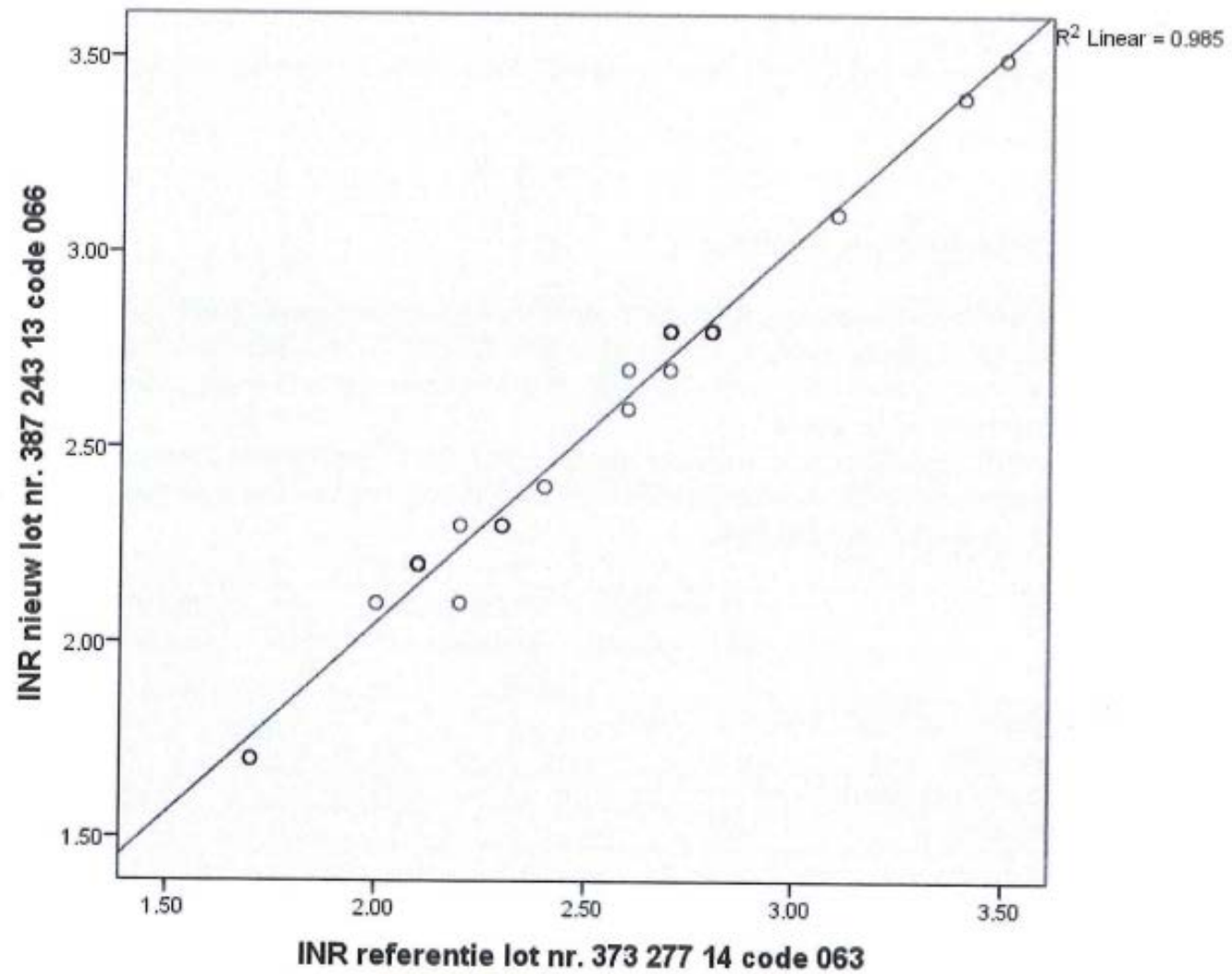
Voorbeeld CRL verificatierapport

De INR verschillen tussen Master lot en lot 387243-13 met code 066 waren statistisch significant ($p < 0.05$), en het gemiddelde verschil (bias) met de Internationale Standaard rTF/16 was kleiner dan 10%.

	Gemiddelde INR (n=24)	Mean relative deviation t.o.v. Master Lot	Gemiddelde verschil met rTF/16
Master Lot 373277-14 code 063	2.48	-	-2.7%
Nieuw Lot 387243-13 code 066	2.52	2.0%	-1.3%

Het nieuwe lot nr. 387243-13 met code 066 voldoet aan het afgesproken criterium voor acceptatie.

GRAPH: Scatterplot INR uitslag



Partijen en organen

- IFCC International Federation Clinical Chemistry
- ISTH International Society on Thrombosis and Haemostasis
- WHO World Health Organization
- NIBSC National Institute for Biological Standards and Control
- SSC Scientific and Standardization Committee (ISTH)
Subcommittee on Control of Anticoagulation
- ECBS Expert Committee on Biological Standardization (WHO)
- CRL Coagulation Reference Laboratory (LUMC-Leiden)