

# Rutiní koagulační testy

## Interpretace výsledků



# Antitrombin

Stanovení funkční aktivity - fotometricky

→ princip

↘ 1/ inkubace ředěné vyš. plazmy s nadbytkem

- trombinu

- (F Xa)

↘ v přítomnosti heparinu

↘ za vzniku komplexu

- trombin -AT-heparin

- (F Xa - AT - heparin)

↘ a zbytkového trombinu (F Xa)

# Antitrombin

↘ 2/ stanovení zbytkového

- trombinu
- (F Xa)

↘ pomocí specifického chromogenního substrátu

- end point (A)
- kineticky ( $\Delta A/\text{min}$ )

→ vyjádření výsledků v %

↘ odečet z kalibrační křivky (lin/lin závislost)

Stanovení antigenu

↘ - EID, LIA, ELISA

# Kalibrace - antitrombin

→ kalibrační materiál

↳ komerční

→ vyšetření

↳ různých ředění výchozí kalibrační plazmy s udanou hladinou antitrombinu

• → kalibrace tří...více bodová

→ závislost lin/lin

# Antitrombin - klinický význam

→ klinický význam

→ snížení

→ normální hodnoty: 80 – 120 %

→ vyšetření dalších ředění vyšetřované plazmy

→ běžně se neprovádí

→ zvýšené hodnoty bez klinického významu  
(> 120%)

→ jen pro event. snížení vlivu zbarvení plazmy

# Antitrombin - klinický význam

- snížení AT
- vrožený nedostatek
- získaný nedostatek
  - ↳ snížená syntéza
  - ↳ zvýšené ztráty
  - ↳ zvýšená spotřeba (DIC, TEN, rozsáhlé operace)
  - ↳ jiné příčiny (těhotenství, kontraceptiva)
- interference - zbarvení plazmy

# D-Dimery

Specifické štěpné produkty fibrinu

→ marker aktivace koagulace i fibrinolýzy

→ metody semikvantitativní

↳ latexaglutinační (hemaglutinační)

↳ imunofiltrace

→ metody kvantitativní

↳ LIA

↳ ELISA

↳ EID

# Kalibrace – D-Dimery

## → vyšetření

- ↘ více standartních materiálů s různým hladinou D-Di

## → načtení kalibrace čárovým kodem

- ↘ kalibrace vícebodová

- ↘ závislost nelineární (polynom)

## → vyjadřování výsledků v mg/l (norma < 0,5 mg/l)

- ↘ klinický význam zvýšení

## → omezení – rozsah kalibrace (např. 0 - 4 mg/l)

- ↘ nutnost provedení vyšetření dalších ředění



# D-Dimery - klinický význam

## → Zvýšení D-Di

- ↘ TEN, DIC
- ↘ poranění, po operaci
- ↘ zánět
- ↘ primární hyperfibrinolýza
- ↘ trombolytická léčba
- ↘ hepatopatie
- ↘ odvržení transplantovaných štěpů
- ↘ fyziologicky
  - těhotenství, porod, menstruace, fyzická zátěž

# FDP

Fibrin/fibrinogen degradační produkty

→ průkaz aktivace fibrinogenolýzy / fibrinolýzy

→ metody semikvantitativní

↳ latexaglutinační

- v séru

- odběr do spec. zkumavek s trombinem a reptilázou

- v plazmě

↳ metody kvantitativní

- EID

# Stanovení solubilního fibrinu

Komplexy FM/oligomerů s fibrinogenem, FDP

→ průkaz aktivace koagulace

→ metody přímé

↘ parakoagulační

● etanolgelifikační test

● protaminsulfátový test

↘ hemaglutinační

↘ LIA

→ metody nepřímé

↘ fibrinopeptid A... (ELISA)

# Etanolgelifikační test

→ průkaz přítomnosti solubilních komplexů FM

→ parakoagulační test

↘ sledování tvorby gelu po přidavku 50% etanolu k vyšetřované plazmě (20 °C)

→ Ovlivnění výsledku

↘ odběr (aktivace) - falešná pozitivita

↘ čas zpracování (do 30 min) - ↑ falešná negativita

↘ teplota (20 °C) - ↑ negativní, ↓ pozitivní

# EGT - klinický význam

→ DIC

→ TEN

→ sepse

→ metastázující karcinomy

→ SLE



# Stanovení heparinu anti Xa (IIa)

- Princip: měření schopnosti heparinu katalyzovat inhibici F Xa (IIa) antitrombinem
  - ↘ inkubace ředěné plazmy s nadbytkem F Xa (IIa) -inhibiční působení komplexu ATIII-heparin na F Xa (IIa)
  - ↘ měření zbytkového F Xa (IIa) po přidavku chromogenního substrátu
  - ↘ vyjádření výsledků v IU/ml odečtením z kalibrační křivky
- Provádění: preventivní/ léčebné podávání LMWH /UFH

# Globální testy

- Doba krvácení
- Euglobulinová lýza
- Analýza PFA
- Trombelastografie
- Konzumpce protrombinu
- Doba srážlivosti
- Rekalcificační čas

# Doba krvácení

Globální test primární hemostázy

- měří se doba, za kterou dojde k zástavě krvácení v místě dle možnosti standardního vpichu nebo řezu
- metoda dle Duke - standardní řez do ucha
  - norma < 270s
- metoda dle Ivyho - řez na předloktí pomocí firemních nožů při zatažení paže tonometrem na 40 mm Hg sloupce
  - např. Surgicutt norma 120-480 s



# Doba krvácení - klinický význam

Prodloužení DK

- trombocytopenie
- trombocytopatie
- von Willebrandova choroba
- porucha cévní stěny
- afibrinogenémie
- ovlivnění léky (salicyláty)

# Euglobulinová lýza

Globální test fibrinolytického systému

- ➔ měří se čas potřebný k rozpuštění koagula euglobulinové frakce (EF) plazmy (norma > 180 min)
- příprava EF plazmy precipitací vyšetř. plazmy za specifických podmínek (pH = 5,2)
  - EF se skládá z fibrinogenu, fibrinolytických enzymů a z protrombinu (ev. trombinu), neobsahuje inhibitory fibrinolýzy
- rozpuštění precipitátu (zvýšením pH)
- vznik koagula EF po přidavku  $\text{Ca}^{2+}$
- sledování rozpouštění koagula (cca po 15 min)

# Euglobulinová lýza

Ovlivnění výsledku:

→ odběr

    ↘ aktivace

→ čas zpracování

    ↘ do 30 minut

→ koncentrace fibrinogenu

    ↘ hypofibrinogenémie

→ rozpuštění precipitátu

# Euglobulinová lýza - klinický význam

## → zkrácení

- ↘ DIC (sekundární hyperfibrinolýza)

- ↘ primární hyperfibrinolýza

- ↘ trombolytická léčba

- ↘ cirhóza

- ↘ zvýšená duševní a tělesná zátěž

- ↘ novorozenec

## → prodloužení

- ↘ podezření na hyperkoagulaci

# Trombelastografické vyšetření

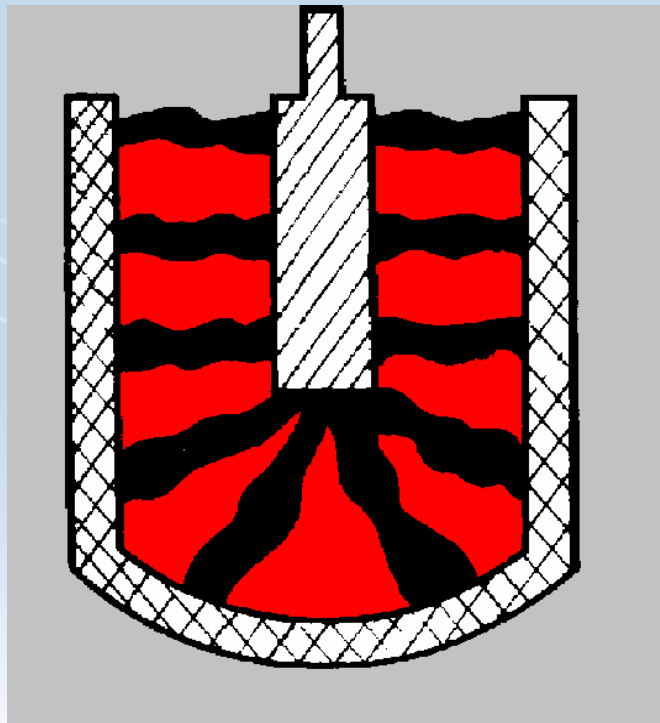
- kontinuální monitorování procesu krevního srážení a následné lýzy v podobě grafického záznamu = trombelastogramu
- klasická trombelastografie
  - ↘ sledování oscilace kyvety se srážlivou krví, ve které je zavěšen trn připojený k indikátoru světla
- rotační trombelastografie
  - ↘ sledování oscilace trnu v pevné kyvetě s krví

# Trombelastografie

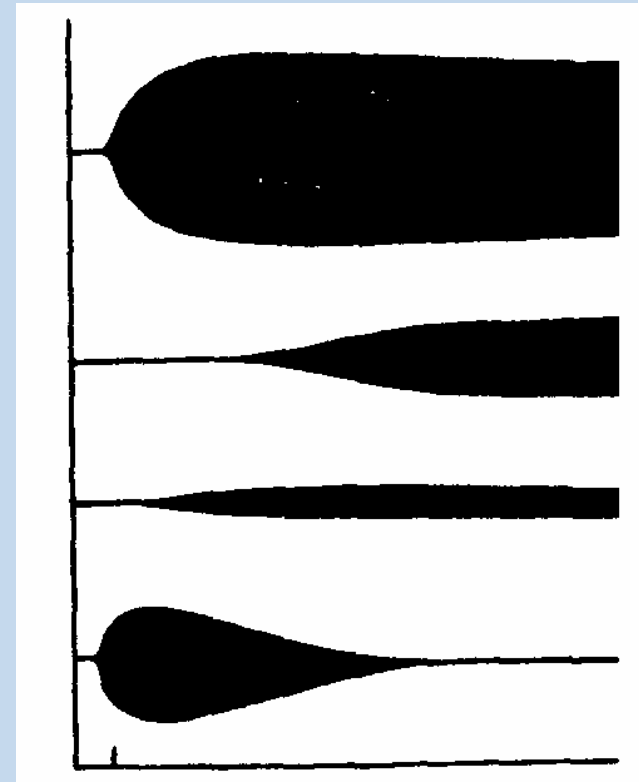
funkční koagulační analýza  
plné krve

krev

aktivátor



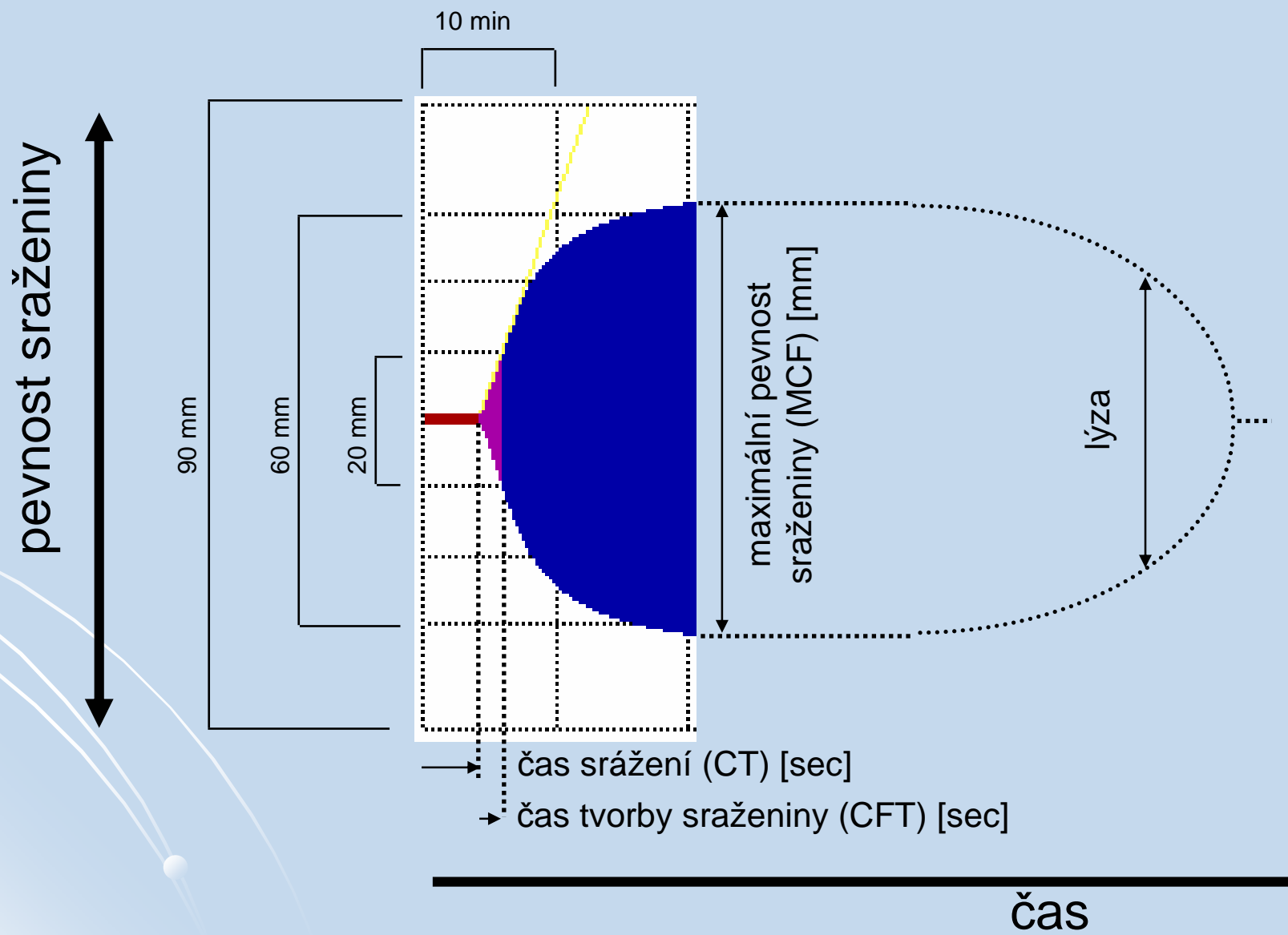
Kontinuální  
sledování pevnosti  
krevní sraženiny



# Trombelastografie

- schopnost krevní sraženiny tvořit mechanické spojení mezi kyvetou a trnem
- rotační pohyb (kyvety nebo trnu)
  - ↘ brzděný tvořící se krevní sraženinou
  - ↘ je převáděn na amplitudu
  - ↘ je mírou pevnosti sraženiny
- záznam amplitud v čase
  - ↘ trombelastograf
  - ↘ symetrická křivka
    - nad a pod základní linií

# roTEG analýza: parametry





# Klinický význam TEG

## → Poskytuje informaci o

- tvorbě trombinu indukované aktivací vnějšího nebo vnitřního koagulačního systému
- obsahu fibrinogenu a trombocytů
- odpovídající polymerizaci sraženiny
- rozpouštění fibrinu

## → Výhody

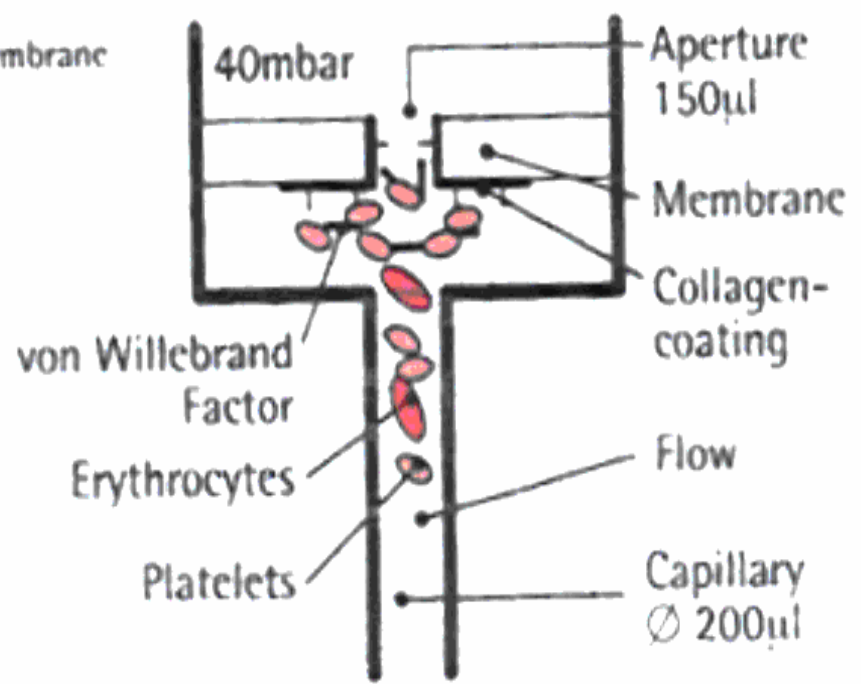
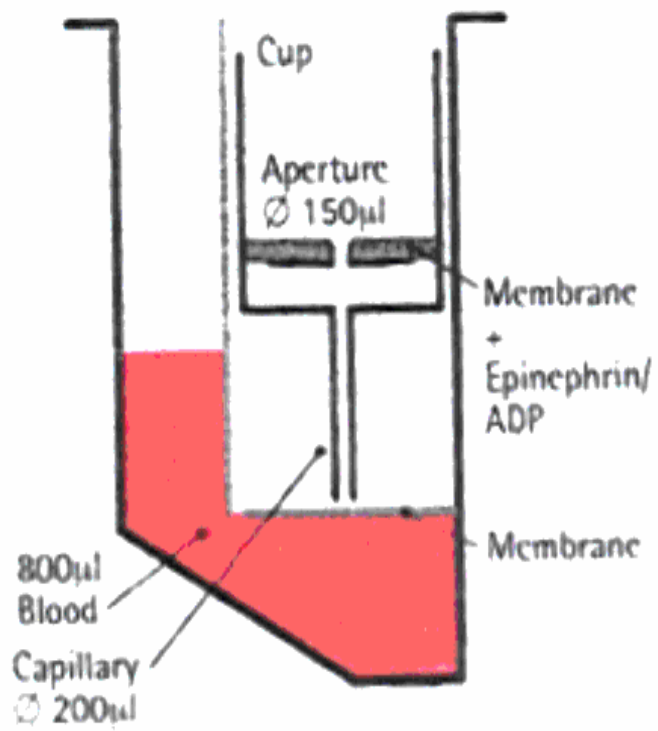
- jednoduchost provedení vyš. z plné citrátové krve
- dostupnost výsledku v krátkém časovém intervalu

## → Nevýhody


- použití k hrubé orientaci o stavu hemostázy
- zejména k akutní analýze na operačních sálech a jednotkách intenzivní péče

# Vyšetření PFA 100

- kvantitativní měření primární hemostázy zahrnující adhezi, degranulaci a tvorbu hemostatické zátky měřené v citrátové plné krvi
- sledování tvorby destičkového trombu, který postupně vyplňuje otvor v membráně
  - potažené buď kolagenem a epinefrinem
  - nebo kolagenem a ADP
- výsledek je čas potřebný k dosažení kompletního uzávěru otvoru membrány



# PFA - klinický význam

- preoperační screening
  - diagnostika vrozených a získaných trombocytopenií
  - diagnostika vWF choroby (typ 1)
  - sledování účinnosti léčby
- 

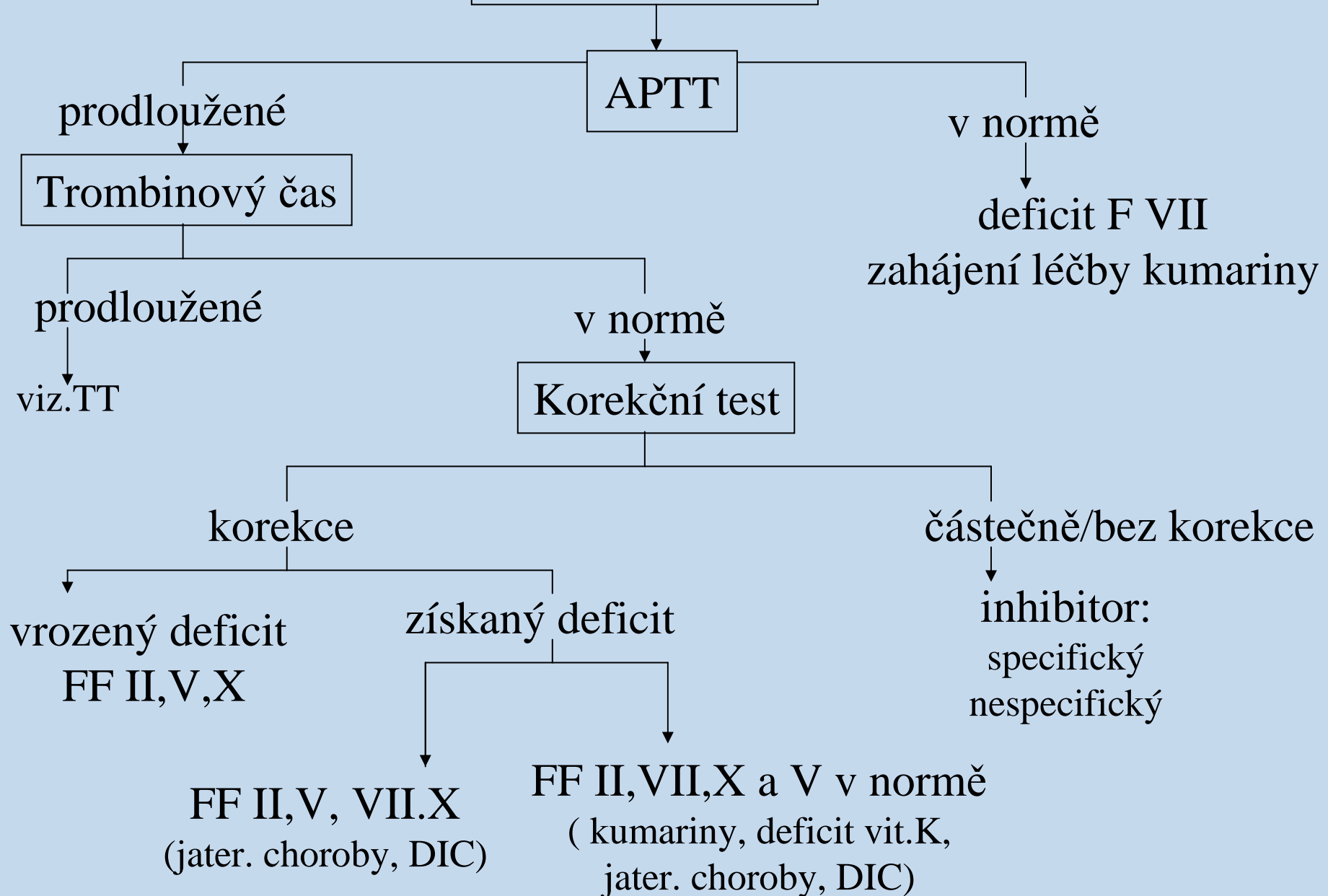
# Konzumpce protrombinu

- vyšetření destičkové i plazmatické funkce krve
- stanovuje se zbytkové množství protrombinu v séru po vysrážení krve za standardních podmínek
  - ↘ odběr (3 skleněné zkumavky, množství krve)
  - ↘ zpracování (ihned po odběru)
  - ↘ 4 hodiny 37 °C
  - ↘ vlastní vyšetření zbytkového protrombinu v séru
    - inkubace séra s  $\text{Ca}^{2+}$ tromboplastinem
    - stanovení koagulačního času po přidavku fibrinogenu (norma > 30 s)

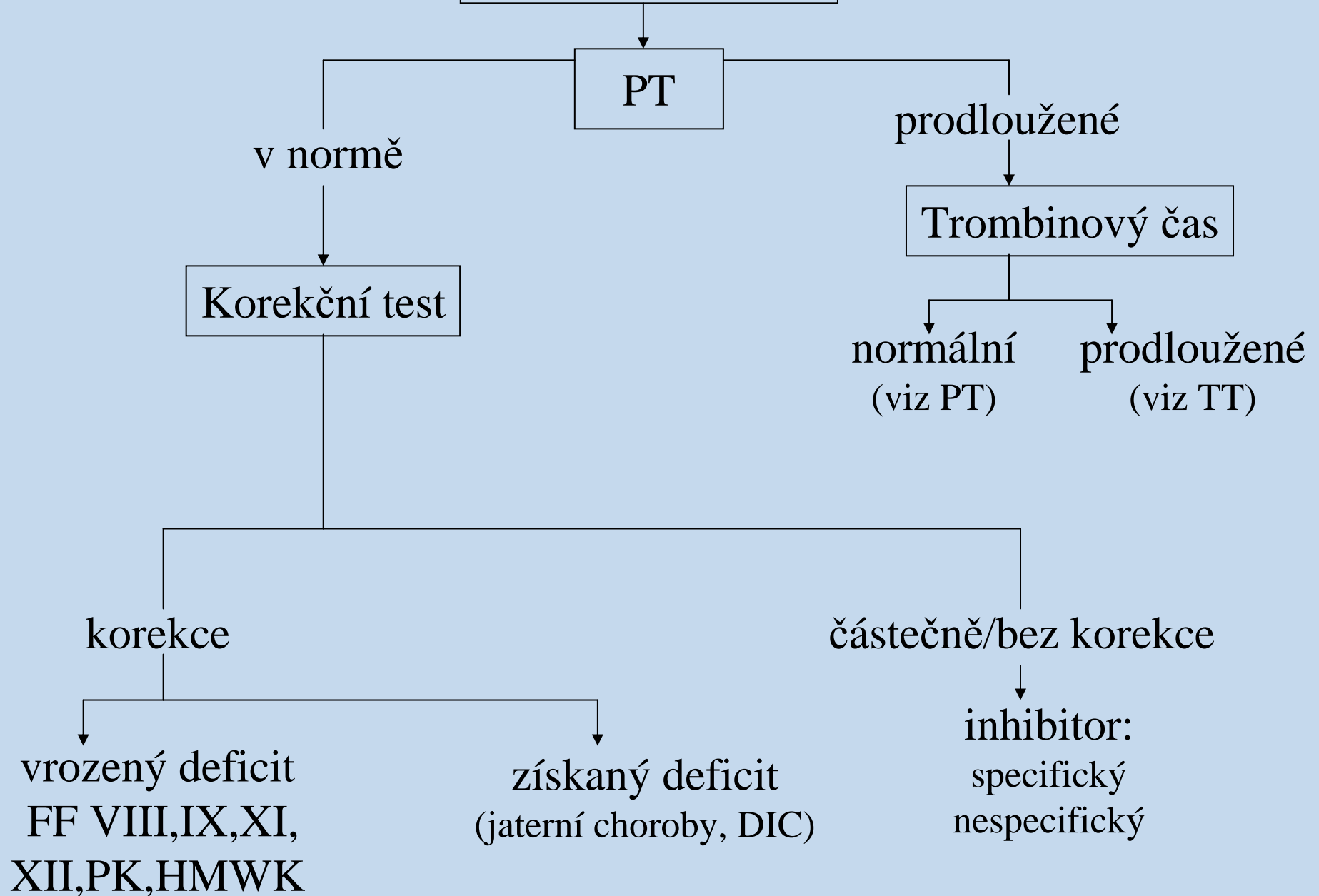
# Interpretace základních koagulačních testů



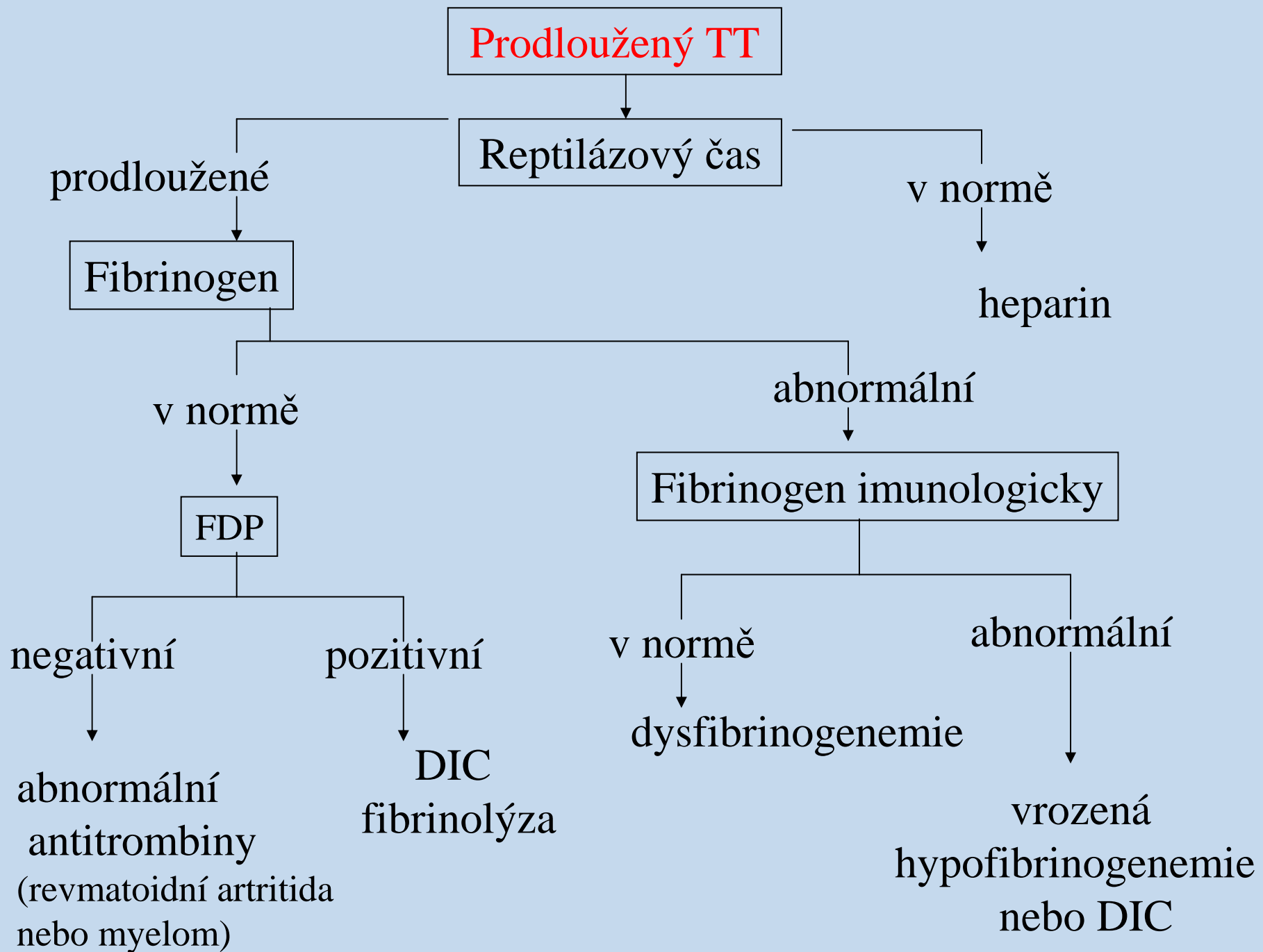
# Prodloužené PT

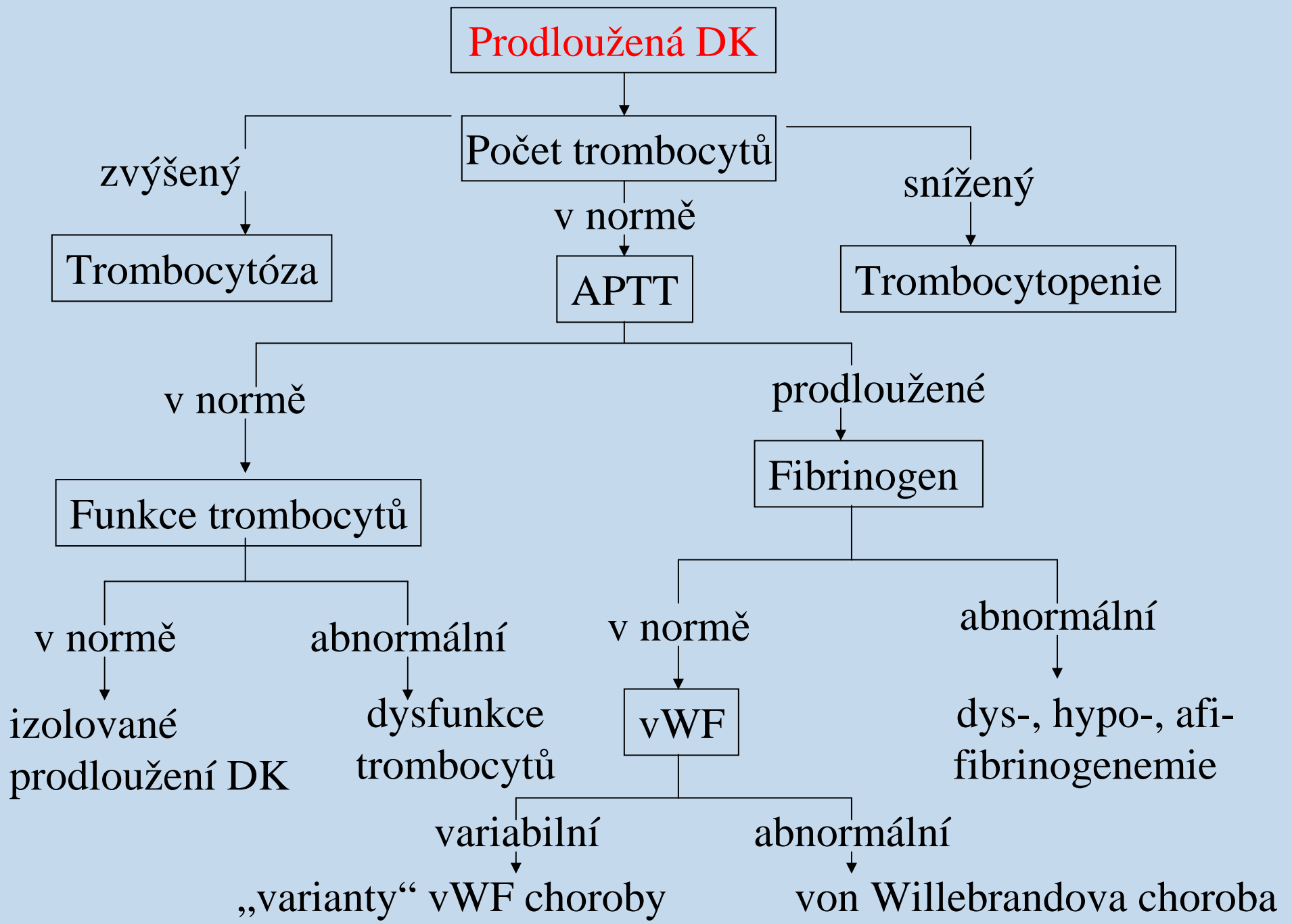


# Prodloužené APTT









**PT**  
**norma**

**APTT**  
**norma**

**TT**  
**norma**

→ A) + **trombo** i **DK** norma

Příčiny:

→ inic. DIC

→ B) +↑**DK**, **trombo** norma

Příčiny:

→ v.Willebr. choroba

→ trombastenie

→ jiné trombocytopatie

→ C) +↓ **trombo**, **DK** N/↑

Příčiny:

→ trombocytopenie

→ trombocytopatie

→ inic. DIC

Doplňující vyšetření:

→ **AT**

Doplňující vyšetření:

→ **F VIII, vWF:RCo, vWF**

→ **funkce trombo**

Doplňující vyšetření:

→ **počet trombo**

→ **vyšetření funkce trombo**

**PT**  
**patol**

**APTT**  
**norma**

**TT**  
**norma**

Příčiny:

- snížení F VII
- snížení FF protrombin. komplexu
- kumariny
- novorozenec

Doplňující vyšetření:

- F VII
- anamnéza, další vyš. (biochem.)
- anamnéza



**PT**  
**norma**

**APTT**  
**patol**

**TT**  
**norma**

Příčiny:

- snížení FF F VIII,IX,XI,XII
- v.Willebr. choroba
- specifický/nespecifický inhibitor
- novorozenec

Doplňující vyšetření:

- F VIII, IX, XI, XII
- F VIII, vWF:RCo, vWF
- průkaz inhibitoru



**PT**

**norma**

**APTT**

**norma**

**TT**

**patol**

Příčiny:

- heparin
- poruchy polymerizace fibrinu
- dysfibrinogenémie

Doplňující vyšetření:

- reptilázový čas
- fibrinogen, FDP
- fibrinogen (EID)



**PT**  
**patol**

**APTT**  
**patol**

**TT**  
**norma**

Příčiny:

- komplexní koag. porucha různé geneze
- snížení FF II, V, X
- inhibitor F V
- léčba kumariny
- novorozenec

Doplňující vyšetření:

- fibrinogen, trombocyty, FDP, D-Dimery, bioch.
- F II, V, X
- průkaz inhibitoru
- anamnéza

**PT**  
**patol**

**APTT**  
**norma**

**TT**  
**patol**

Příčiny:

↘ kombinovaná  
koagulopatie

Doplňující vyšetření:

↘ fibrinogen, FF, FDP,  
biochemie





**PT**  
**norma**

**APTT**  
**patol**

**TT**  
**patol**

Příčiny:

- heparin
- kombinovaná koagulopatie

Doplňující vyšetření:

- reptilázový čas
- FF, fibrinogen

