

Základní koagulační testy

J. Zavřelová



Dělení testů

→ testy globální

- ↘ postihují celý systém (i více)

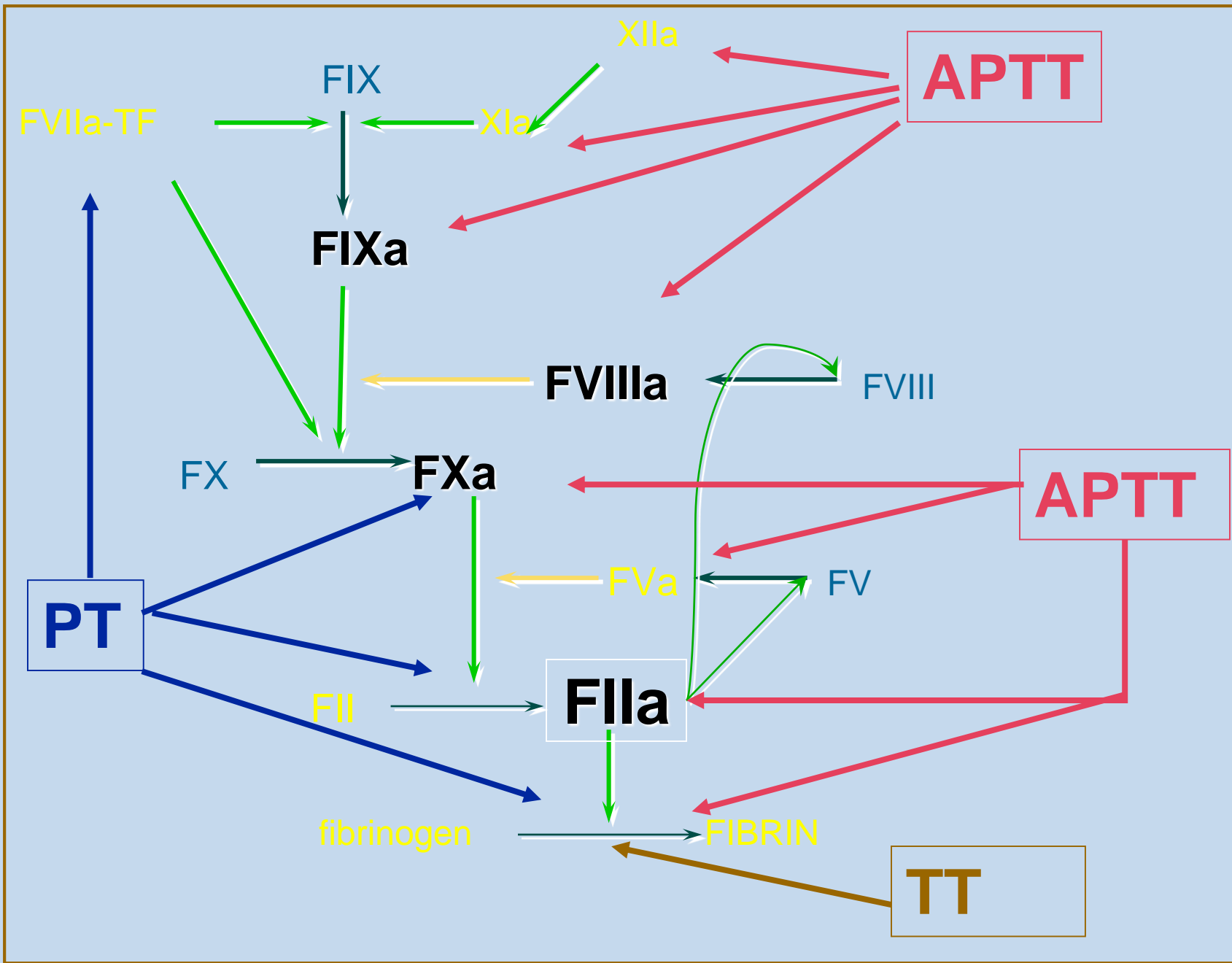
→ testy skupinové (screening)

- ↘ postihují určitou část koagulačního systému

- ↘ umožňují odlišení poruch vnitřní a vnější cesty a přeměny fibrinogenu

→ testy speciální

- ↘ vyšetřují jednotlivé složky systémů



Protrombinový test - PT

→ tromboplastinový test dle Quicka

→ monitoruje zevní koagulační systém

↘ FF VII, X, II, V a fibrinogen

→ sledování času tvorby fibrinu po přidavku Ca^{2+} tromboplastinu k vyšetřované plazmě

→ reagencie Ca^{2+} tromboplastin (různý původ)

↘ Ca^{2+} (CaCl_2)

↘ TF (tkáňový faktor)

↘ PL (fosfolipidy)

Aktivace kontaktem

XII, PK HMWK



XI



IX VIII



Tkáňový tromboplastin + Ca²⁺

VII



X V



II



I (fibrinogen)



Fibrin



XIII

Fibrinové koagulum

Vyjadřování výsledků PT

→ koagulační čas v sekundách (čas normálu)

→ poměr R = čas vyš. plazmy/ čas normálu

→ INR (mezinárodní normalizovaný poměr)

$INR = R^{ISI}$ - pro léčbu kumariny

→ % normální koagulační aktivity - odečtení z kalibrační křivky

→ % zlomek normální hodnoty (100% = 1,0)

Kalibrace PT

- kalibrační materiál
 - ↘ směsná normální plazma
 - ↘ komerční kalibrační plazma (100%)
- stanovení času normálu pro výpočet R, INR
 - ↘ průměr opakovaných měření
 - ↘ pro každý přístroj
- vyšetření různých ředění kalibrační plazmy v případě vyjadřování výsledků v %
 - ↘ 100%, 50%, 25%, 12,5%
 - ↘ log/log závislost

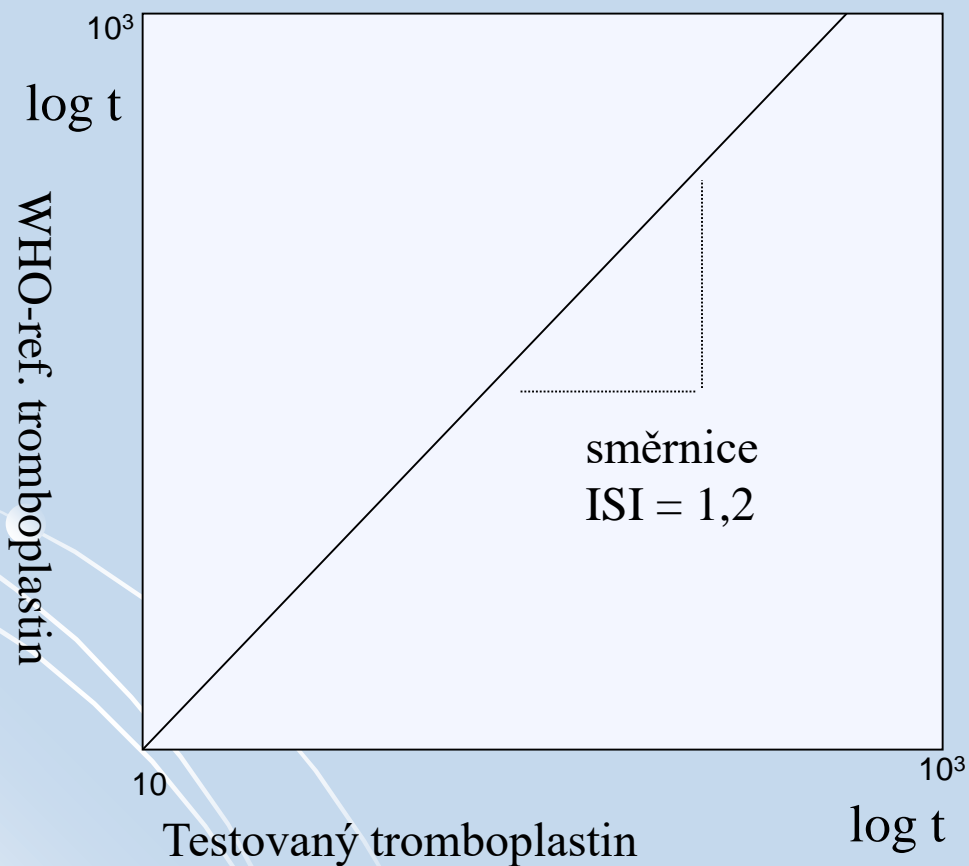
International Normalized Ratio (INR)

- mezinárodní normalizovaný poměr
- $INR = R^{ISI}$
- vyjadřování PT při léčbě kumariny
- **ISI** = international sensitivity index
 - ↘ mezinárodní index citlivosti
 - ↘ vyjadřuje **citlivost** daného tromboplastinu stanovenou vůči mezinárodnímu standardnímu tromboplastinu
 - ↘ hodnota ISI stanovena
 - pro každou šarži reagencie
 - výrobcem reagencie
 - $ISI < 1,5$

International Normalized Ratio (INR)


- vyjadřování výsledků pouze při léčbě kumariny
- zajišťuje standardizaci testu
- umožňuje porovnání výsledků PT
 - ↘ z jednotlivých laboratoří
 - ↘ testované různými reagensy

Stanovení ISI



Vyšetření PT:
25 pacientů (minimálně)
-lčených kumariny
-v terapeutickém rozmezí
5 normálů

Indikace vyšetření PT

- základní koagulační test
 - předoperační vyšetření
 - krvácivý stav
 - léčba kumariny
 - podezření na patologický inhibitor
- 

Příčiny prodloužení PT

- defekt faktorů vnějšího systému
- patologický inhibitor
 - ↘ specifický
 - ↘ nespecifický
- nedostatek vit. K
- kumariny
- heparin (dle typu a dávky, dle citlivosti reagens)
- FDP
- novorozenec

Defekty faktorů

→ vrožený

↘ defekt FF II, V, VII a X

→ získaný

↘ snížená syntéza

↘ zvýšená spotřeba

↘ zvýšené ztráty

Normální hodnoty a terapeutický rozsah


Normální hodnoty

- koagulační čas = cca 11 – 15 s (dle typu a šarže reagensie)
- poměr R = 0,8 – 1,2
- % normální aktivity = 70 – 120 %
 - % zlomek normální hodnoty = 0,7 -1,2

Terapeutický rozsah

- INR = 2,0 – 4,0 (dle klinické indikace)
- %, % zlomek NH
 - liší se dle šarže reagensie
 - nejsou vhodné pro monitorování léčby!!!!

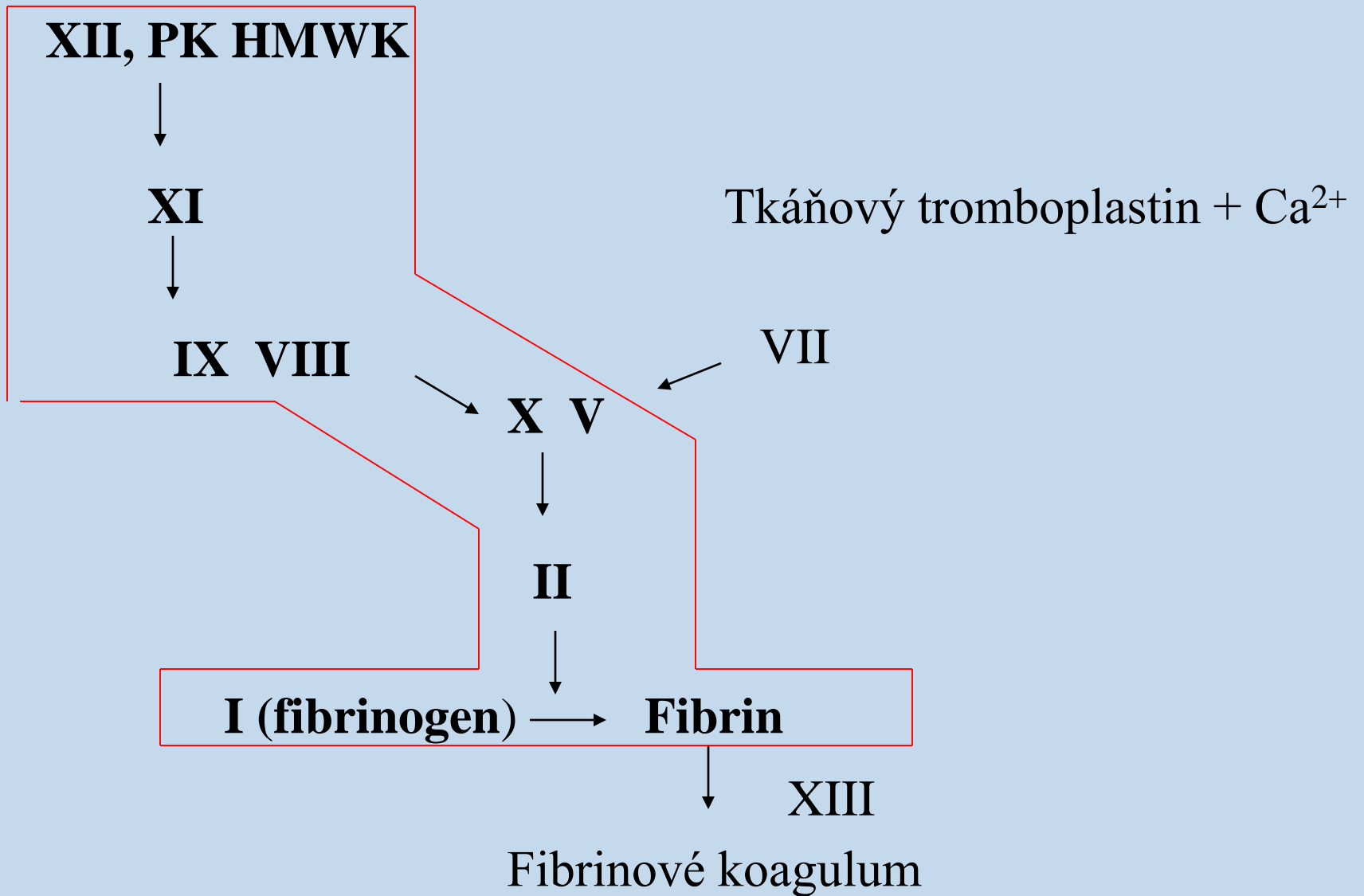
Požadavky na PT reagensii

- citlivost k defektům faktorů
 - citlivost na kumariny (ISI < 1,5)
 - stabilita
 - snadná manipulace
 - citlivost k heparinu
 - citlivost k inhibitorům
- 

Aktivovaný parciální tromboplastinový test - APTT

- monitoruje **vnitřní koagulační systém**
 - PK, HMWK, FF XII, XI, IX, VIII ale i X, II, V a fibrinogen
- sledování času tvorby fibrinu po přidavku aktivátoru, parciálního tromboplastinu a Ca^{2+} k vyšetřované plazmě
- reagencie
 - aktivátor (silica, kaolin, kys. elagová..)
 - parciální tromboplastin (kefalin=fosfolipidy)
 - Ca^{2+} (CaCl_2)

Aktivace kontaktem (+ PL + Ca²⁺)



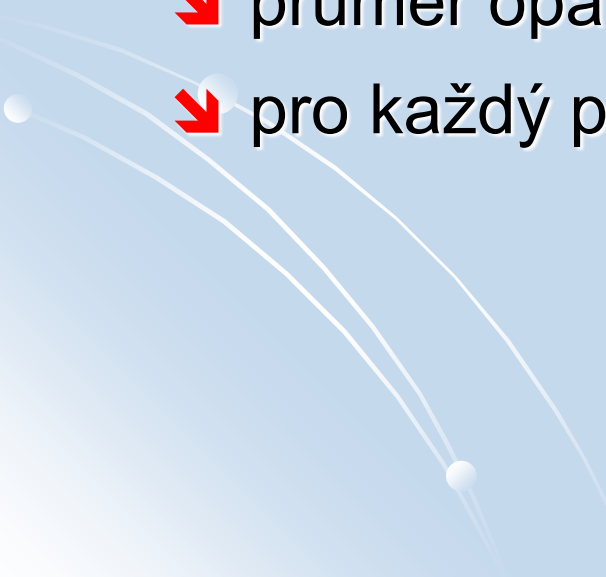
Vyjadřování výsledků APTT

- koagulační čas v sekundách (čas normálu)
- poměr $R = \text{čas vyš. plazmy} / \text{čas normálu}$

Normální hodnoty

- koagulační čas = cca 27 – 40 s
 - ↘ závisí na typu a šarži reagensie
- poměr $R = 0,8 - 1,2$
 - ↘ nezávisí na typu reagensie

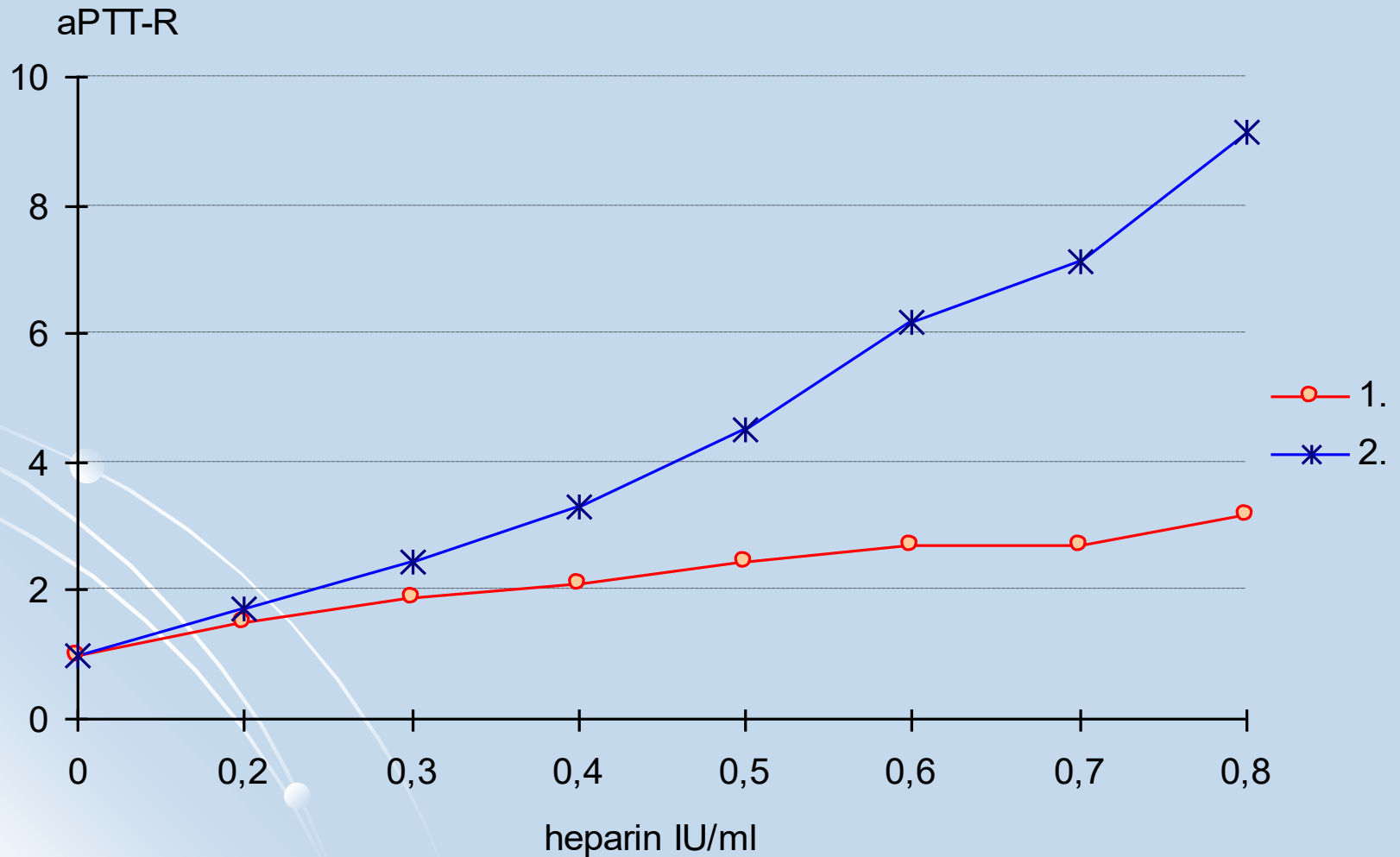
Kalibrace APTT

- kalibrační materiál
 - ↘ směsná normální plazma
 - ↘ komerční normální plazma
 - stanovení času normálu pro výpočet R
 - ↘ průměr opakovaných měření
 - ↘ pro každý přístroj
- 

Indikace vyšetření APTT

- základní koagulační test
- předoperační vyšetření
- krvácivý stav
- léčba heparinem (UFH)
 - ↳ terapeutické rozmezí
 - závislé na typu reagencie
 - citlivé reagencie $R = 2,0 - 5,0$
 - méně citlivé $R = 1,5 - 3,0$
- podezření na patologický inhibitor

Citlivost různých typů APTT na heparin



Příčiny prodloužení APTT

- defekt faktorů vnitřního systému
- patologický inhibitor
 - ↘ specifický
 - ↘ nespecifický
- heparin
- kumariny
- FDP
- novorozenec
- arteficiálně (odběr, zpracování)

Defekty faktorů

→ vrožený

- ↘ hemofílie A, hemofílie B, defekt FF XII, XI, PK, HMWK, vWF

→ získaný

- ↘ snížená syntéza
- ↘ zvýšená spotřeba
- ↘ zvýšené ztráty

Požadavky na APTT reagensii

- citlivost k defektům faktorů
- citlivost na heparin
- citlivost k LA
 - ↘ množství PL
 - ↘ optimální zastoupení PL
- stabilita
- snadná manipulace

Klinický význam PT a APTT

→ screening hypokoagulace

↘ prodloužení základních koagulačních testů

→ vyšetření hyperkoagulace

↘ nutné provedení speciálních testů

↘ zkrácení časů APTT (málo citlivé)

● v porovnání s předchozím výsledkem

● za vyloučení arteficiálního ovlivnění při odběru

↘ PT není citlivé

Korekční testy

- sledování korekce (zkrácení) PT, APTT po přidavku normální plazmy (směs 1:1)
- prodloužení se koriguje - defekt faktorů
- prodloužení se nekoriguje/jen částečně koriguje - přítomnost inhibitoru
 - specifického
 - nespecifického

Trombinový test - TT, TČ

- monitoruje třetí fázi koagulace
- vyšetření poruch štěpení fibrinogenu trombinem
- sledování času tvorby fibrinu po přidavku trombinu k neředěné vyšetřované plazmě
- reagensie - trombin (nízká koncentrace)
- vyjadřování výsledků
 - ↘ koagulační čas v sekundách (norma < 18 - 25 s)
 - ↘ poměr R

Aktivace kontaktem

XII, PK HMWK



XI



IX VIII



X V



VII



II



I (fibrinogen) → Fibrin



XIII

Fibrinové koagulum

Tkáňový tromboplastin + Ca²⁺

Příčiny prodloužení TT

- hypo-, afibrinogenémie
- dysfibrinogenémie
- heparin
- FDP
- jiné patologické inhibitory (myelom, revmatoidní artritida)
- novorozenec

Reptilázový test

- test s trombinu podobným enzymem reptilázou
- jed hada *Bothrops atrox*
- na rozdíl od trombinu není ovlivněn heparinem
- vyjadřování výsledků
 - ↘ koagulační čas v sekundách (norma < 18 -25s)
- klinický význam
 - ↘ stejný jako TT s výjimkou vlivu heparinu

Fibrinogen (Fbg)

→ základní koagulační test

→ metody stanovení fibrinogenu

↘ funkční - vyšetření schopnosti přeměny na fibrin
(metoda dle Clause)

↘ vyšetření množství (LIA, EID)

→ metoda dle Clause

↘ sledování času tvorby fibrinu po přidavku
nadbytku trombinu k ředěné vyšetřované
plazmě

↘ reagensie - trombin (vysoká koncentrace)

Kalibrace fibrinogenu

- vyjadřování výsledků v **g/l** (norma 1,8 - 4,2 g/l)
- odečet z kalibrační křivky (log/log závislost)
- kalibrace
 - ↘ komerční kalibrační plazmy
 - ↘ vyšetření různých ředění
- omezení metody - nutnost opakování vyšetření
 - ↘ u nízkých hladin Fbg (menší ředění a přepoččet)
 - ↘ u vysokých hladin Fbg (větší ředění a přepoččet)


Fibrinogen - klinický význam

Snížení

- vrozené hypo-, afibrinogenémie
- těžké poruchy jaterního parenchymu (syntéza)
- zvýšená spotřeba (DIC)
- zvýšené ztráty
- trombolytická léčba
- dysfibrinogenémie

Fibrinogen - klinický význam

Zvýšení

- těhotenství
 - zánět
 - nádorová onemocnění
 - stavy po operaci
- 

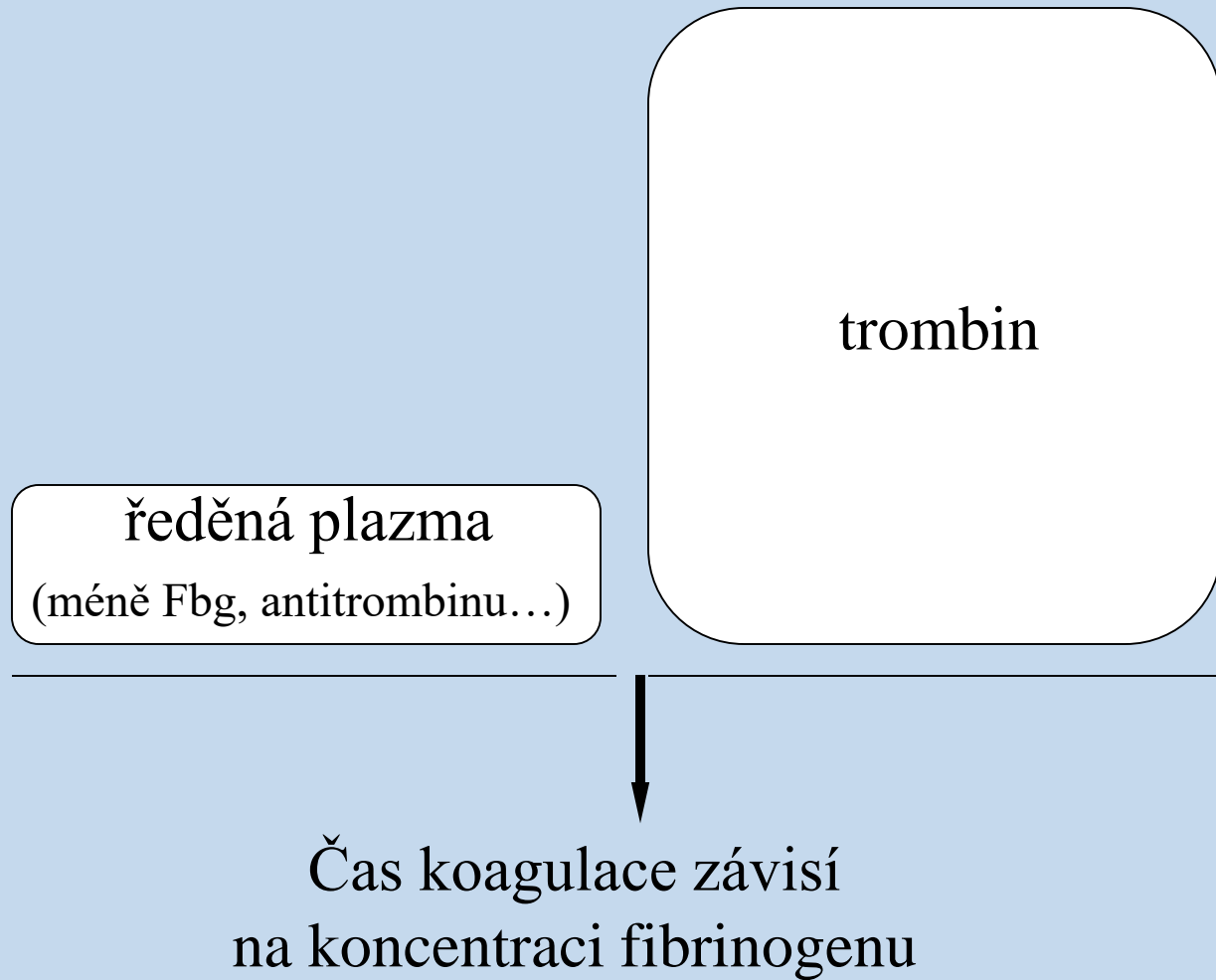
Trombinový čas

Neředěná plazma
obsahující:
fibrinogen
antitrombiny
heparin
FDP...

trombin

Čas koagulace závisí
na zbytkové aktivitě trombinu

Fibrinogen



Kontroly kvality (rutinní koagulace)

→ interní kontroly kvality

↘ kontroly s deklarovaným rozmezím

- výsledky měření v deklarovaném rozmezí

↘ kontroly preciznosti v čase

- shoda mezi výsledky opakovaných měření stejného kontrolního materiálu

↘ porovnatelnost přístrojů

- shoda mezi výsledky měření na různých přístrojích

→ externí kontroly kvality