**Protokol č. 1**

**Kalibrace a praktické provedení základních koagulačních vyšetření PT, APTT a FBG na poloautomatickém koagulometru**

Jméno: Kočnar Michal Obor:

Datum: Ročník:

1. **Principy stanovení**: *(doplnit)*
* PT:
* APTT:
* Fibrinogen (FBG):
1. **Odběr a manipulace s materiálem**

*(Doplnit odběr – do jakého antikoagulačního roztoku, preanalytické zpracování krve)*

1. **Přístroje a pomůcky:**

ST4 Bio (Stago) – poloautomatický koagulometr

Automatické pipety

1. **Spotřební materiál:**

Kyvety, kuličky

Špičky modré, žluté

Zkumavky

1. **Reagencie:**

PT: STA NeoPTimal *(králičí tromboplastin)*

APTT: STA PTT Automate, STA CaCl2

FBG: DG-FIB L HUMAN *(lidský trombin)*, STA Owren-Koller Buffer *(diluent)*

Kalibrační materiál: DG – REF *(kalibrační plazma s udanou hladinou fibrinogenu 2,85 g/l)*

Kontrolní materiál: STA Coag Control N+P *(atestovaný kontrolní materiál s deklarovaným rozmezím)*

1. **Pracovní postup:** *(doplnit)*
* Test PT:
* Test APTT:
* Test FBG:
1. **Kalibrace:**

FBG -provedení kalibrace:

1. Ředění kalibrační plazmy DG-REF pomocí diluentu STA Oweren-Koller Buffer.
2. Výpočet koncentrace jednotlivých ředění kalibrační plazmy. *(doplnit do tabulky)*

Víme, že ředění 1:20 má koncentraci FBG 2,85 g/l.

1. Měření koagulačního času jednotlivých ředění.
2. Sestrojení kalibrační křivky z naměřených hodnot sekund a vypočítané koncentrace

(osa x – koncentrace g/l, osa y – čas sec.)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ředění | Koncentrace (g/l) | Čas (sekundy) |
| 1:50 |  | 46,0 |
| 1:40 |  | 37,4 |
| 1:30 |  | 28,1 |
| 1:20 | 2,85 | 18,9 |
| 1:12 |  | 11,3 |
| 1:8 |  | 8,1 |

PT – provedení kalibrace:

1. Stanovení referenčního času – provedení testu PT pomocí kalibrační plazmy 3x.
2. Z naměřených hodnot vypočítat průměr. *(Doplnit do tabulky)*

|  |  |
| --- | --- |
|  | Naměřený čas PT (sekundy) |
| 1. | 14,1 |
| 2. | 14,0 |
| 3. | 14,0 |
| Průměr: |  |

Referenční čas (neboli čas normálu) =

ISI = 1,05

APTT – provedení kalibrace:

1. Stanovení referenčního času – provedení testu APTT pomocí kalibrační plazmy 3x.
2. Z naměřených hodnot vypočítat průměr. *(Doplnit do tabulky)*

|  |  |
| --- | --- |
|  | Naměřený čas APTT (sekundy) |
| 1. | 34,0 |
| 2. | 34,3 |
| 3. | 34,2 |
| Průměr: |  |

Referenční čas (neboli čas normálu) =

1. **Kontroly kvality:**

Deklarované rozmezí testů:

|  |
| --- |
| **PT** |
| STA Coag Control N | 12 – 16 sec. |
| STA Coag Control P | 19,5 – 27,5 sec. |
| **APTT** |
| STA Coag Control N | 28 – 38 sec. |
| STA Coag Control P | 51 – 67 sec. |
| **FBG** |
| STA Coag Control N | 2,30 – 3,45 g/l |
| STA Coag Control P | 0,85 – 1,45 g/l |

Výsledky měření kontrol kvality:

STA Coag Control N:

PT = 13,6 sec., APTT = 32,8 sec., FBG = 18,5 sec.

STA Coag Control P:

PT = 22,9 sec., APTT = 55,3 sec., FBG = 24,8 sec.

*(V závěru zhodnotit výsledky kontrol kvality, zda vyšly v deklarovaném rozmezí, u fibrinogenu se musí odečíst g/l z kalibrační křivky).*

1. **Hodnocení výsledků a referenční rozmezí testů:**

PT: výsledky se vyjadřují v sekundách koagulačního času, poměru R a INR

APTT: výsledky se vyjadřují v sekundách koagulačního času a poměru R

$$R= \frac{čas vyšetřované plazmy}{refenční čas}$$

$$INR= \left(\frac{čas vyšetřované plazmy}{referenční čas}\right)^{ISI}$$

FBG: primárně naměřenou jednotkou jsou sekundy koagulačního času, ale výsledky se vydávají v koncentraci g/l *(musí se odečíst z kalibrační křivky)*

Referenční rozmezí:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| PT | 11 – 17 sec. | R, INR = 0,8 – 1,2 |
| APTT | 26 – 40 sec.  | R = 0,8 – 1,2 |
| Fibrinogen | 3,8 – 4,2 g/l |

1. **Výsledky**:

Pacient 1:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| PT | Čas = 20,7 sec. | R =  | INR =  |
| APTT | Čas = 45,5 sec. | R =  |  |
| FBG | Čas = 13,4 sec. | Koncentrace =  |

*(Vypočítat R, INR a odečíst koncentraci FBG z kalibrační křivky. V závěru zhodnotit výsledky pacienta v souvislosti s referenčním rozmezím)*

1. **Závěr:**

**Protokol č. 2**

**Interpretace výsledků rutinních testů - PT, APTT, FBG, TT, AT, D-Dimery**

Jméno: Obor:

Datum: Ročník:

* **Pacient 1:**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Test: | **PT** | **APTT** | **FBG**(g/l) | **TT**(sec.) | **AT**(%) | **Di-Dimery**(mg/l) |
| sec. | INR | R | sec. | R |
| Výsledek: | 1,00 | 14,0 | 1,00 | 28,4 | 0,96 | 2,22 | 22,9 | 106 | 0,32 |

Zhodnotit výsledky (↑- prodloužení času/vyšší hladina, N – norma, ↓ - zkrácení času/nižší hladina) a v případě patologie dopsat doplňující vyšetření:

Závěrečné hodnocení nálezu pacienta 1 (diagnóza, léčba):

* **Pacient 2:**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Test: | **PT** | **APTT** | **FBG**(g/l) | **TT**(sec.) | **AT**(%) | **Di-Dimery**(mg/l) |
| sec. | INR | R | sec. | R |
| Výsledek: | 0,89 | 12,6 | 0,89 | 69,7 | 2,07 | 2,55 | - | - | - |

Zhodnotit výsledky (↑- prodloužení času/vyšší hladina, N – norma, ↓ - zkrácení času/nižší hladina) a v případě patologie dopsat doplňující vyšetření:

Závěrečné hodnocení nálezu pacienta 2 (diagnóza, léčba):

* **Pacient 3:**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Test: | **PT** | **APTT** | **FBG**(g/l) | **TT**(sec.) | **AT**(%) | **Di-Dimery**(mg/l) |
| sec. | INR | R | sec. | R |
| Výsledek: | 21,0 | 1,45 | 1,43 | 43,1 | 1,26 | 1,79 | 24,4 | 40 | 0,72 |

Zhodnotit výsledky (↑- prodloužení času/vyšší hladina, N – norma, ↓ - zkrácení času/nižší hladina) a v případě patologie dopsat doplňující vyšetření:

Závěrečné hodnocení nálezu pacienta 3 (diagnóza, léčba):

* **Pacient 4:**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Test: | **PT** | **APTT** | **FBG**(g/l) | **TT**(sec.) | **AT**(%) | **Di-Dimery**(mg/l) |
| sec. | INR | R | sec. | R |
| Výsledek: | 13,0 | 0,93 | 0,93 | >180 | >5 | 2,17 | >180 | 102 | 12,0 |

Zhodnotit výsledky (↑- prodloužení času/vyšší hladina, N – norma, ↓ - zkrácení času/nižší hladina) a v případě patologie dopsat doplňující vyšetření:

Závěrečné hodnocení nálezu pacienta 4 (diagnóza, léčba):

* **Pacient 5:**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Test: | **PT** | **APTT** | **FBG**(g/l) | **TT**(sec.) | **AT**(%) | **Di-Dimery**(mg/l) |
| sec. | INR | R | sec. | R |
| Výsledek: | 13,0 | 0,97 | 0,98 | 65,0 | 1,94 | 3,73 | - | - | 0,24 |

Zhodnotit výsledky (↑- prodloužení času/vyšší hladina, N – norma, ↓ - zkrácení času/nižší hladina) a v případě patologie dopsat doplňující vyšetření:

Závěrečné hodnocení nálezu pacienta 5 (diagnóza, léčba):

**Protokol č. 3**

**Vyšetření agregace trombocytů**

Jméno: Obor:

Datum: Ročník:

1. Abstrakt:

*Doplnit, do jaké skupiny testů patří vyšetření agregace trombocytů, uvést nejpoužívanější principy měření.*

1. Princip:

*Napsat princip turbidimetrického měření.*

1. Odběr a manipulace s materiálem:

*Doplnit odběr při turbidimetrické měření (př. typ antikoagulačního roztoku, preanalytické zpracování krve).*

1. Přístroj a pomůcky:
* agregometr APACT 4004
* kyvety
* špičky (modré, žluté)
1. Reagencie (induktory):

*Doplnit nejčastěji používané induktory.*

1. Pracovní postup:

*Doplnit postup turbidimetrického měření (př. typ vyšetřovaného materiálu, doba měření).*



Kolagen 2 µg/ml – křivka č. 4



ADP 5 µM- křivka č. 4



ADP 10 µM degradace – křivka č. 4

1. Výsledky: *Do tabulky doplnit výsledky odečtené z přidělených křivek.*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Induktor: | **ADP 5** | **ADP 10** | **Kolagen 2** |
| Amax (%) |  |  |  |
| Desagdregace (%) |  |  |  |
| Slope (%/min) |  |  |  |
| Doba latence (sec.) |  |  |  |

1. Hodnocení výsledků a referenční rozmezí:

Hodnocené parametry

* Maximální amplituda (Amax) – v maximu (reversibilní křivka), v 6. minutě (ireversibilní křivka).
* Desagregace – jen u ADP v případě reversibilní křivky.
* Doba latence
* Strmost křivky (Slope)

Normální hodnoty

Maximální agregace Kolagen 2 = 74,5 – 87,3 %

Slope Kolagen 2 = 87,8 -125,4 %/min

Doba latence Kolagen 2 = 38,2 – 73,3 s

Maximální agregace Kolagen 5 = 74,7 – 88,9 %

Slope Kolagen 5 = 88,0 – 128,1 %/min

Doba latence Kolagen 5 = 32,4 – 49,9 s

Maximální agregace ADP 5 = 57,0-86,2 %

Slope ADP 5 = 63,9 – 108,0 %/min

Desagregace ADP 5 = 0 - 10%

Maximální agregace ADP 10 = 66,6 – 90,7 %

Slope ADP 10 = 73,2 – 111,0 %/min

Desagregace ADP 10 = 0 - 10%

1. Závěr:

*Vyhodnotit odečtené výsledky křivek z tabulky vzhledem k uvedeným normálním hodnotám (norma x patologie).*

*Napsat klinický význam vyšetření agregace.*

**Protokol č. 4**

**Monitorování antitrombotické léčby**

Jméno: Obor:

Datum: Ročník:

*(Ke všem léčbám doplnit mechanismus účinku a laboratorní sledování, v závěru zhodnotit výsledky vzorků)*

1. **Léčba antagonisty vitamínu K**

Mechanismus účinku antagonistů vitamínu K:

Laboratorní sledování léčby:

Výsledky:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **PT** | **APTT** |
| Vzorek č. | sec. | R | INR | sec. | R |
| 1 | 29,1 | 2,06 | 2,55 | 48,8 | 1,44 |
| 2 | 21,6 | 1,53 | 1,73 | 34,7 | 1,03 |
| 3 | 48,5 | 3,44 | 4,92 | 62,8 | 1,86 |

Závěr:

1. **Léčba LMWH**

Mechanismus účinku LMWH:

Laboratorní sledování léčby – principu testu:

Výsledky:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Vzorek č. | **antiXa - kIU/l** | **PT** | **APTT** |
| Sec. | R | INR | Sec. | R |
| 1 | 0,10 | 14,8 | 1,06 | 1,08 | 34,9 | 1,05 |
| 2 | 0,56 | 13,2 | 0,94 | 0,92 | 40,7 | 1,20 |
| 3 | 0,26 | 15,9 | 1,14 | 1,19 | 40,5 | 1,22 |

Závěr:

1. **Léčba UFH**

Mechanismus účinku UFH:

Laboratorní sledování léčby:

Výsledky:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | **PT** | **APTT** | **TT** |
| Vzorek č. | sec. | R | INR | sec. | R | sec. |
| 1 | 14,0 | 0,99 | 0,99 | 68,9 | 2,04 | 75,3 |
| 2 | 17,7 | 1,27 | 1,37 | 146,8 | 4,41 | 175,0 |
| 3 | 15,9 | 1,13 | 1,17 | > 180,0 | > 5,0 | > 180,0 |

Závěr – hodnocení výsledků:

1. **Léčba DOAC**

Mechanismus účinku DOAC:

Xarelto, Eliquis:

Pradaxa:

Laboratorní sledování léčby – princip testů:

Xarelto, Eliquis:

Pradaxa:

Výsledky:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Vzorek: | **PT** | **APTT** | **TT** |
| 1. | lék: | sec. | R | INR | sec. | R | sec. |
| Xarelto |
| konc. | 15,3 | 1,09 | 1,11 | 34,7 | 1,03 | 22,6 |
| 83 μg/l |
| 2. | lék: | sec. | R | INR | sec. | R | sec. |
| Xarelto |
| konc. | 20,8 | 1,48 | 1,65 | 35,1 | 1,04 | 21,9 |
| 173 μg/l |
| 3. | lék: | sec | R | INR | sec. | R | sec. |
| Pradaxa |
| konc. | 14,9 | 1,06 | 1,07 | 57,7 | 1,68 | 133,8 |
| 10 μg/l |
| 4. | lék: | sec | R | INR | sec. | R | sec. |
| Pradaxa |
| konc. | 19,5 | 1,38 | 1,52 | 71,8 | 2,12 | > 180,0 |
| 232 μg/l |
| 5. | lék: | sec | R | INR | sec. | R | sec. |
| Eliquis |
| konc. | 13,2 | 0,95 | 0,94 | 35,8 | 1,08 | 24,10 |
| 105 μg/l |

Závěr – hodnocení výsledků: