

Protokol č. 1

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

Jméno: Pham To Nhi

Obor:

Datum:

Ročník:

1) Principy stanovení: *(doplnit)*

- PT:

- APTT:

- Fibrinogen (FBG):

2) Odběr a manipulace s materiálem

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

3) Přístroje a pomůcky:

ST4 Bio (Stago) – poloautomatický koagulometr
Automatické pipety

4) Spotřební materiál:

Kyvety, kuličky
Špičky modré, žluté
Zkumavky

5) Reagencie:

PT: STA NeoPTimal *(králičí tromboplastin)*

APTT: STA PTT Automate, STA CaCl₂

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

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)*

6) Pracovní postup: (doplnit)

- Test PT:

- Test APTT:

- Test FBG:

7) Kalibrace:

FBG - provedení kalibrace:

- Ředění kalibrační plazmy DG-REF pomocí diluentu STA Oweren-Koller Buffer.
- Výpočet koncentrace jednotlivých ředění kalibrační plazmy. *(doplnit do tabulky)*
Víme, že ředění 1:20 má koncentraci FBG 2,85 g/l.
- Měření koagulačního času jednotlivých ředění.
- 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:

- Stanovení referenčního času – provedení testu PT pomocí kalibrační plazmy 3x.
- 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:

- Stanovení referenčního času – provedení testu APTT pomocí kalibrační plazmy 3x.
- 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) =

8) 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).

9) 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

$$R = \frac{\text{čas vyšetřované plazmy}}{\text{referenční čas}}$$

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

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	

10) Výsledky:

Pacient 1:

PT	Čas = 12,6 sec.	R =	INR =
APTT	Čas = 50,3 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)

11) 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:	12,7	0,91	0,91	33,3	0,97	2,99	22,0	86	0,05

Zhodnotit výsledky (↑ - prodloužení času/vyšší hladina, N – norma, ↓ - zkrácení času/nížší 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:	13,0	0,91	0,93	59,7	1,80	2,88	-	-	-

Zhodnotit výsledky (↑ - prodloužení času/vyšší hladina, N – norma, ↓ - zkrácení času/nížší 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:	19,8	1,60	1,43	43,0	1,28	1,63	25,4	63	2,00

Zhodnotit výsledky (↑ - prodloužení času/vyšší hladina, N – norma, ↓ - zkrácení času/nížší 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:	19,0	1,45	1,40	>180	>5	5,03	>180	79	3,00

Zhodnotit výsledky (↑ - prodloužení času/vyšší hladina, N – norma, ↓ - zkrácení času/nížší 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:	12,7	0,9	0,91	55,1	1,61	2,58	-	-	0,14

Zhodnotit výsledky (↑ - prodloužení času/vyšší hladina, N – norma, ↓ - zkrácení času/nížší 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.

2) Princip:

Napsat princip turbidimetrického měření.

3) Odběr a manipulace s materiálem:

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

4) Přístroj a pomůcky:

- agregometr APACT 4004
- kyvety
- špičky (modré, žluté)

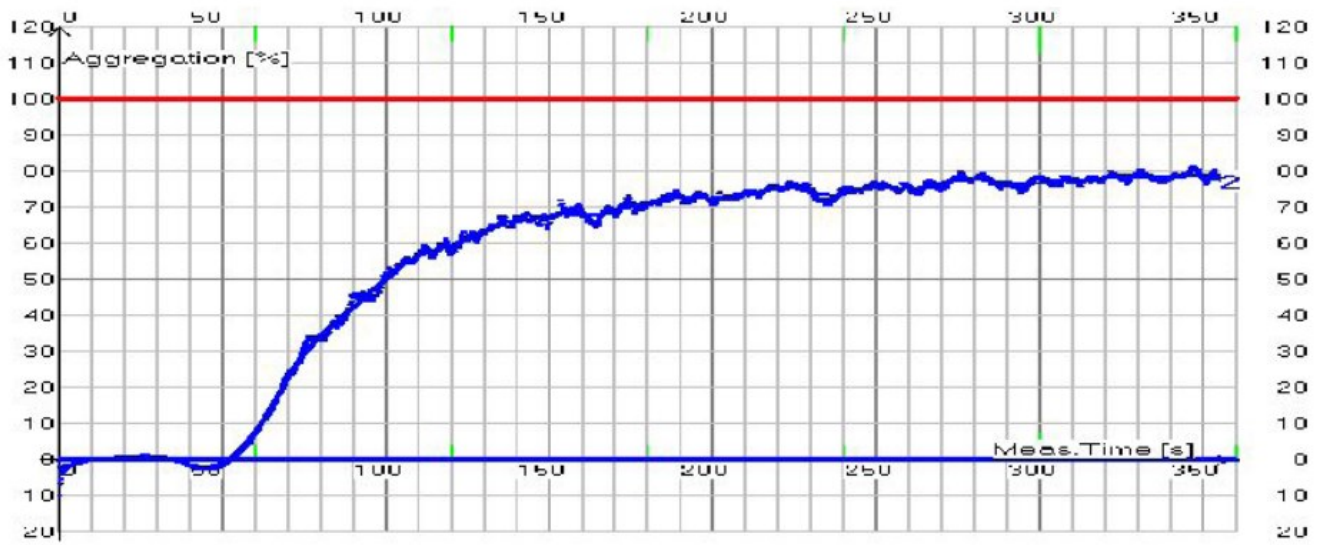
5) Reagencie (induktory):

Doplnit nejčastěji používané induktory.

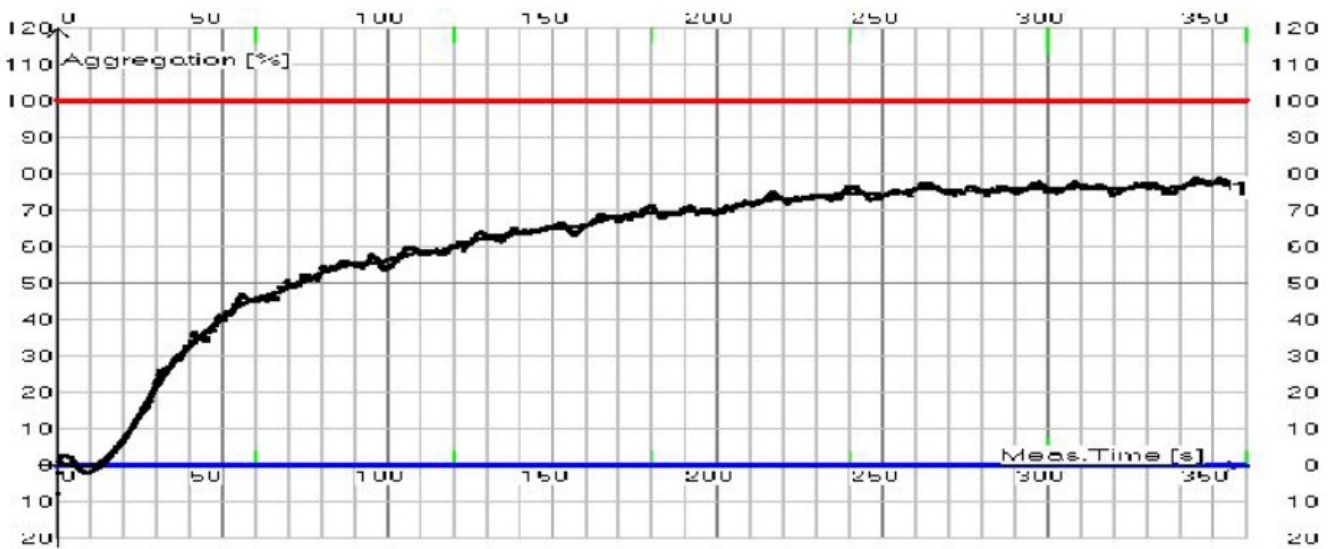
6) Pracovní postup:

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

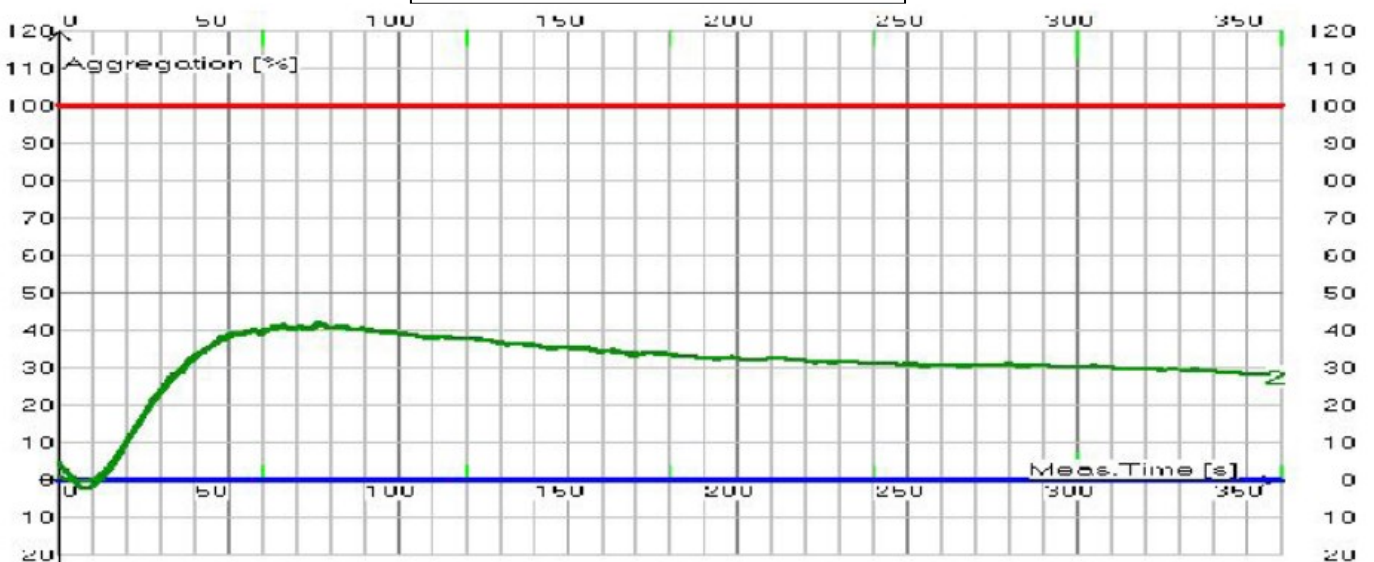
Kolagen 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ – křivka č. 8



ADP 5 μM – křivka č. 8



ADP 10 μM desagregace – křivka č. 8



7) Výsledky: Do tabulky doplnit výsledky odečtené z přidělených křivek.

Induktor:	ADP 5	ADP 10	Kolagen 2
Amax (%)			
Desagregace (%)			
Slope (%/min)			
Doba latence (sec.)			

8) 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%

9) 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:

Vzorek č.	PT			APTT	
	sec.	R	INR	sec.	R
1	58,8	4,20	4,51	52,4	1,53
2	23,8	1,69	1,96	35,6	1,05
3	29,1	2,06	2,55	48,8	1,44

Závěr:

2) Léčba LMWH

Mechanismus účinku LMWH:

Laboratorní sledování léčby – principu testu:

Výsledky:

Vzorek č.	antiXa - kIU/l	PT			APTT	
		Sec.	R	INR	Sec.	R
1	0,28	14,4	1,02	1,03	41,6	1,23
2	0,56	13,2	0,94	0,92	40,7	1,20
3	0,37	16,2	1,09	1,10	33,0	0,96

Závěr:

3) Léčba UFH

Mechanismus účinku UFH:

Laboratorní sledování léčby:

Výsledky:

Vzorek č.	PT			APTT		TT
	sec.	R	INR	sec.	R	sec.
1	13,5	0,96	0,95	74,1	2,19	81,5
2	20,2	1,44	1,47	128,2	3,75	105,0
3	13,1	0,93	0,91	> 180,0	> 5,0	> 180,0

Závěr – hodnocení výsledků:

4) 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	41,4	1,22	19,3
	60 µg/l						
2.	lék:	sec.	R	INR	sec.	R	sec.
	Xarelto						
	konc.	19,2	1,37	1,39	38,7	1,13	20,1
	167 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.	36,0	2,57	2,70	81,0	2,37	> 180
	547 µg/l						
5.	lék:	sec	R	INR	sec.	R	sec.
	Eliquis						
	konc.	14,2	1,01	1,01	35,5	1,05	23,4
	112 µg/l						

Závěr – hodnocení výsledků: