

# Základní koagulační testy

J. Zavřelová



# Dělení testů

→ testy globální

↳ postihují celý systém (i více)

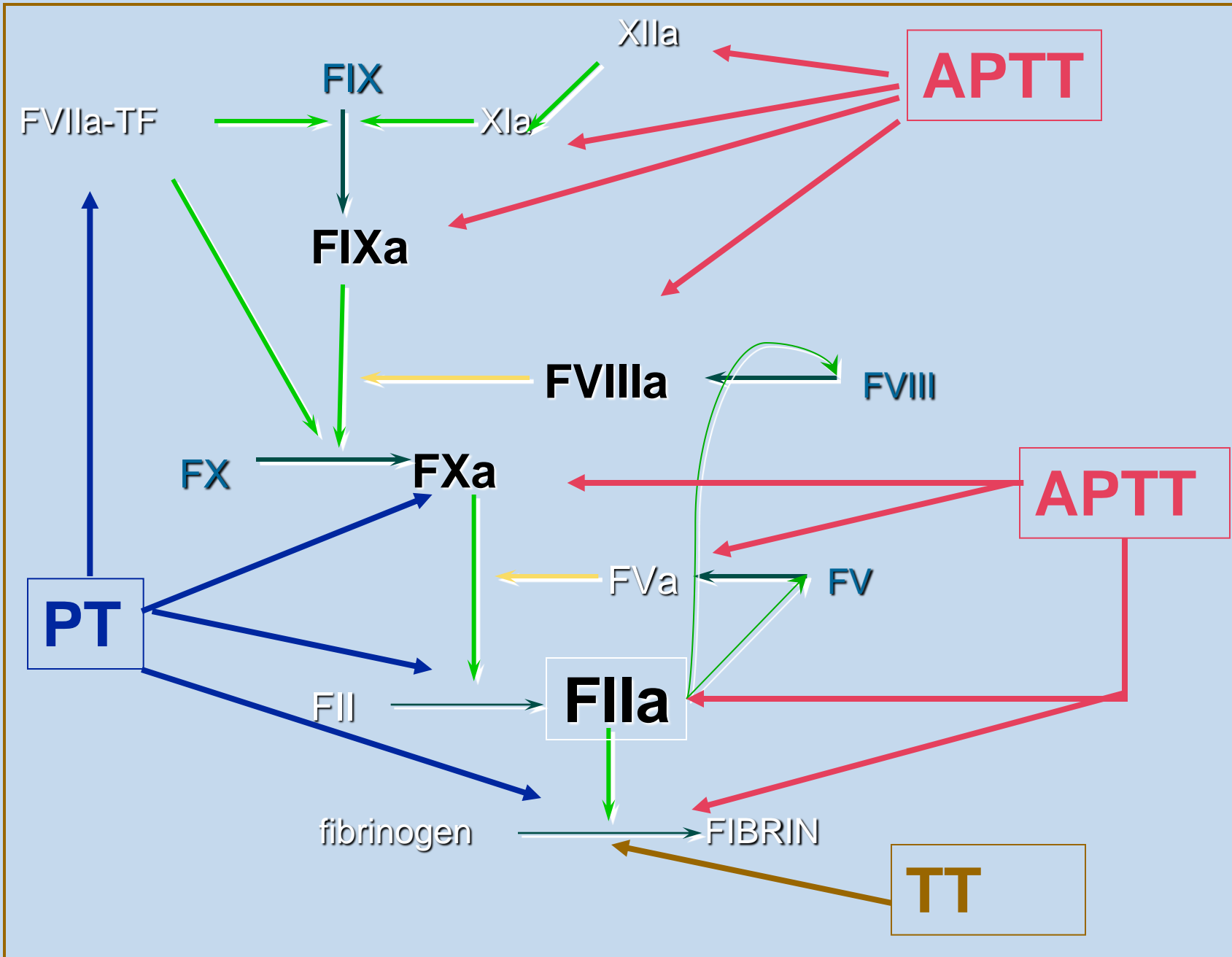
→ testy skupinové (screening)

↳ 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  $\text{Ca}^{2+}$  tromboplastinu k vyšetřované plazmě
- reagencie  $\text{Ca}^{2+}$  tromboplastin (různý původ)
  - ↘  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\text{CaCl}_2$ )
  - ↘ TF (tkáňový faktor)
  - ↘ PL (fosfolipidy)



Aktivace kontaktem

XII, PK HMWK



XI



IX VIII



X V



II



I (fibrinogen)



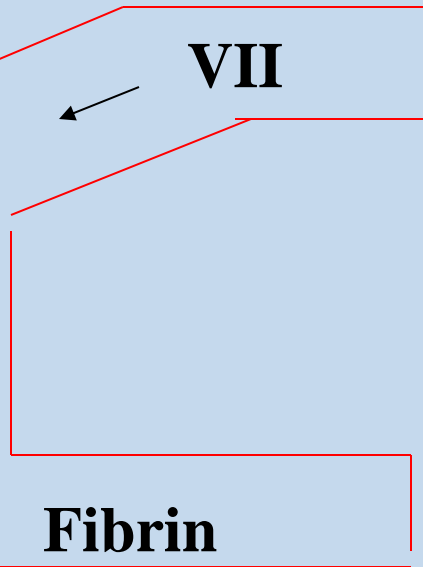
Fibrin



XIII

Fibrinové koagulum

Tkáňový tromboplastin + Ca<sup>2+</sup>



# Vyjadřování výsledků PT

→ koagulační čas v sekundách ( čas normálu)

→ poměr  $R = \text{čas vyš. plazmy} / \text{čas normálu}$

→ 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)

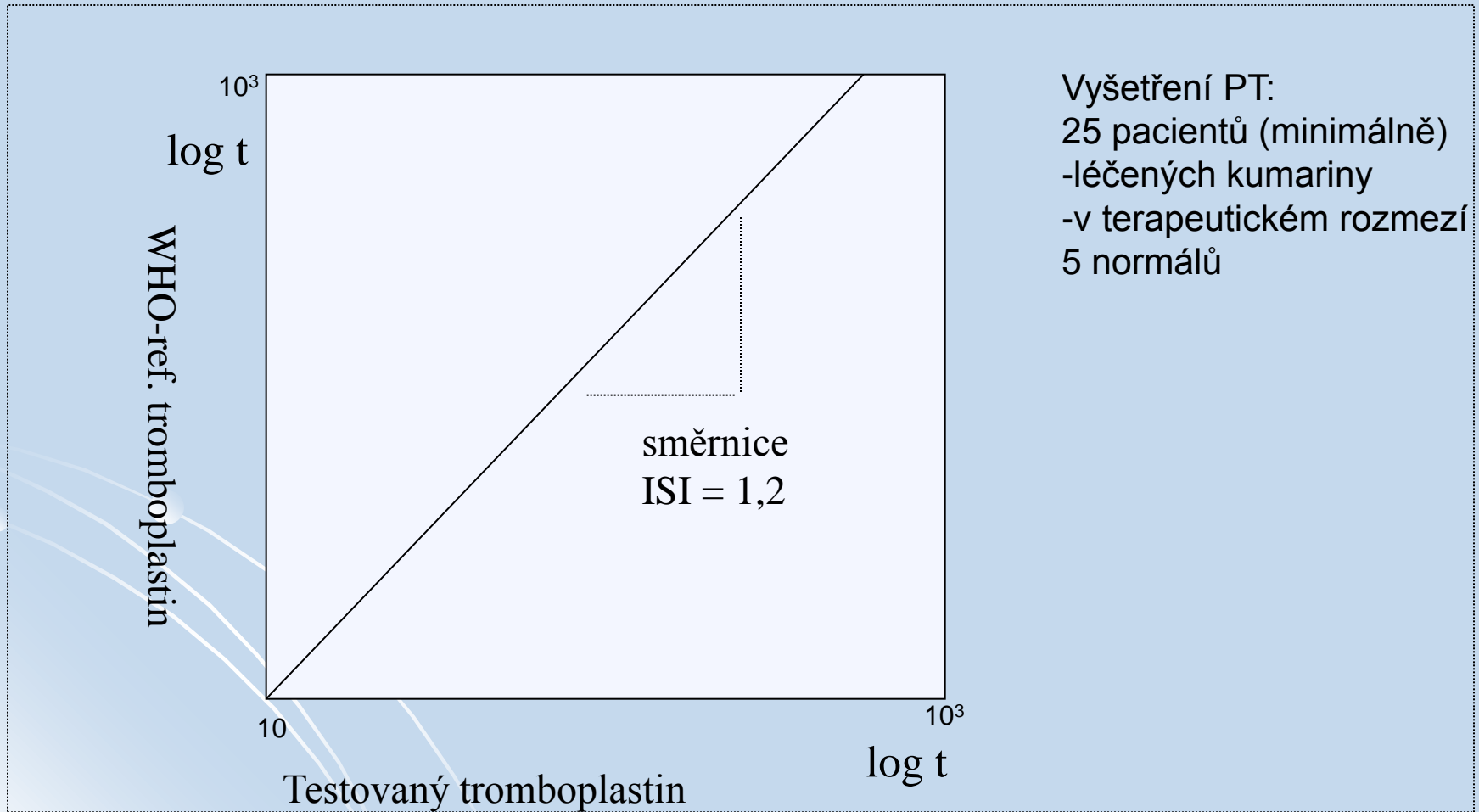
- mezinárodní normalizovaný poměr
- $INR = R^{ISI}$
- vyjadřování PT při léčbě kumariny
- ISI = international sensitivity index
  - ↘ mezinárodní index citlivosti
  - ↘ vyjadřuje citlivost daného tromboplastinu stanovenou vůči mezinárodnímu standardnímu tromboplastinu
  - ↘ hodnota ISI stanovena
    - 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 = 11 – 15 s
- 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 reagentie
  - nejsou vhodné pro monitorování léčby!!!!

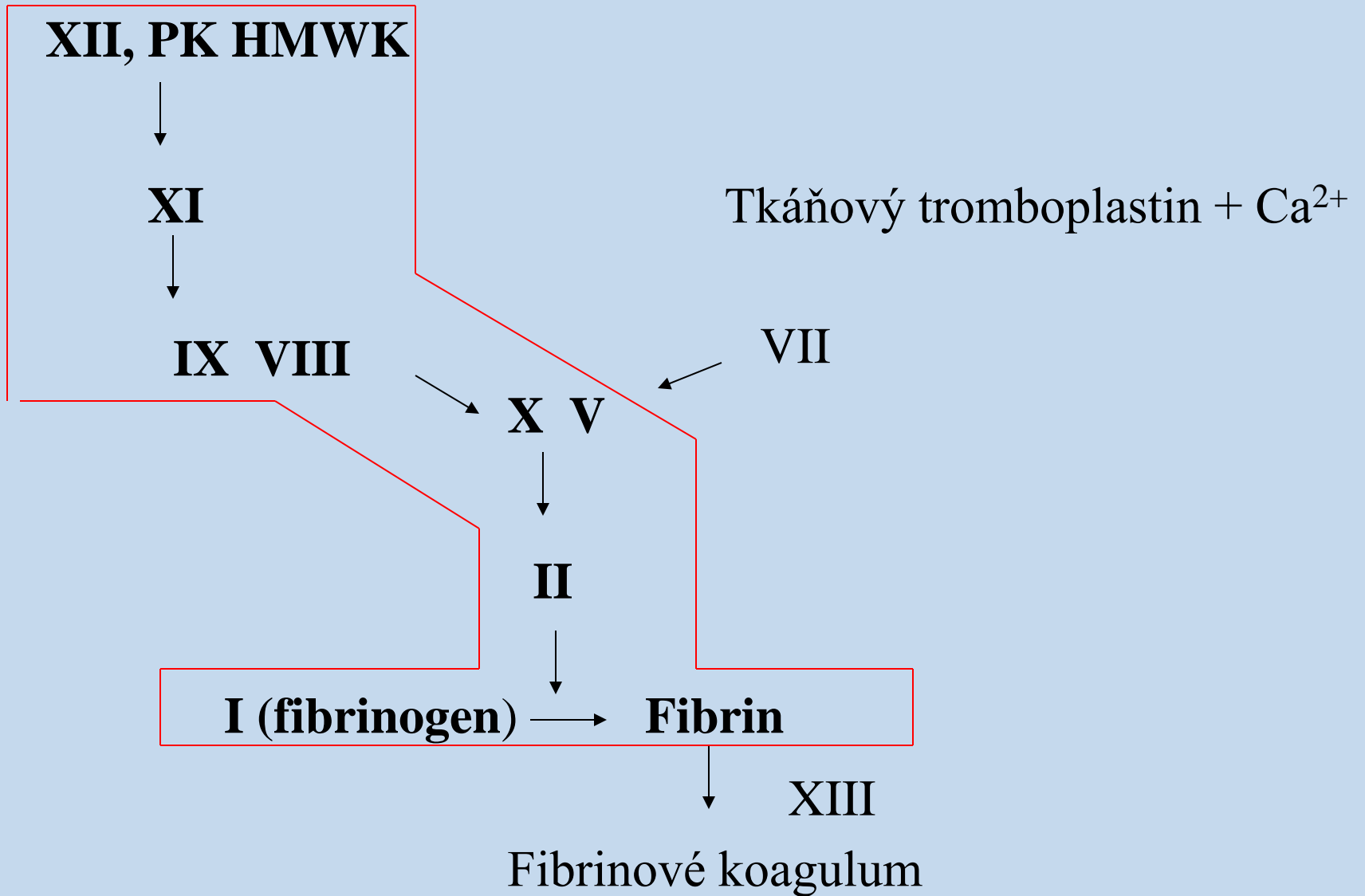
# Požadavky na PT reagensii

- 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  $\text{Ca}^{2+}$  k vyšetřované plazmě
- reagencie
  - ↘ aktivátor (silica, kaolin, kys. elagová..)
  - ↘ parciální tromboplastin (kefalin=fosfolipidy)
  - ↘  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\text{CaCl}_2$ )

# Aktivace kontaktem (+ PL + Ca<sup>2+</sup>)



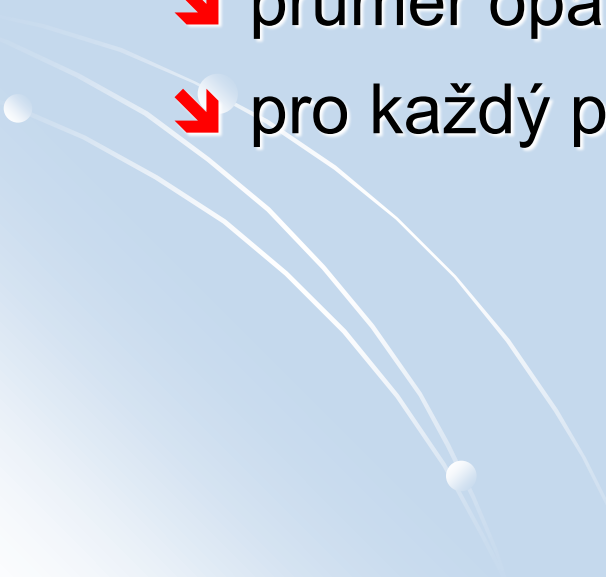
# Vyjadřování výsledků APTT

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

## Normální hodnoty

- koagulační čas = 28 – 45 s
  - ↘ závisí na typu reagencie
- poměr  $R = 0,8 – 1,2$ 
  - ↘ nezávisí na typu reagencie

# Kalibrace APTT

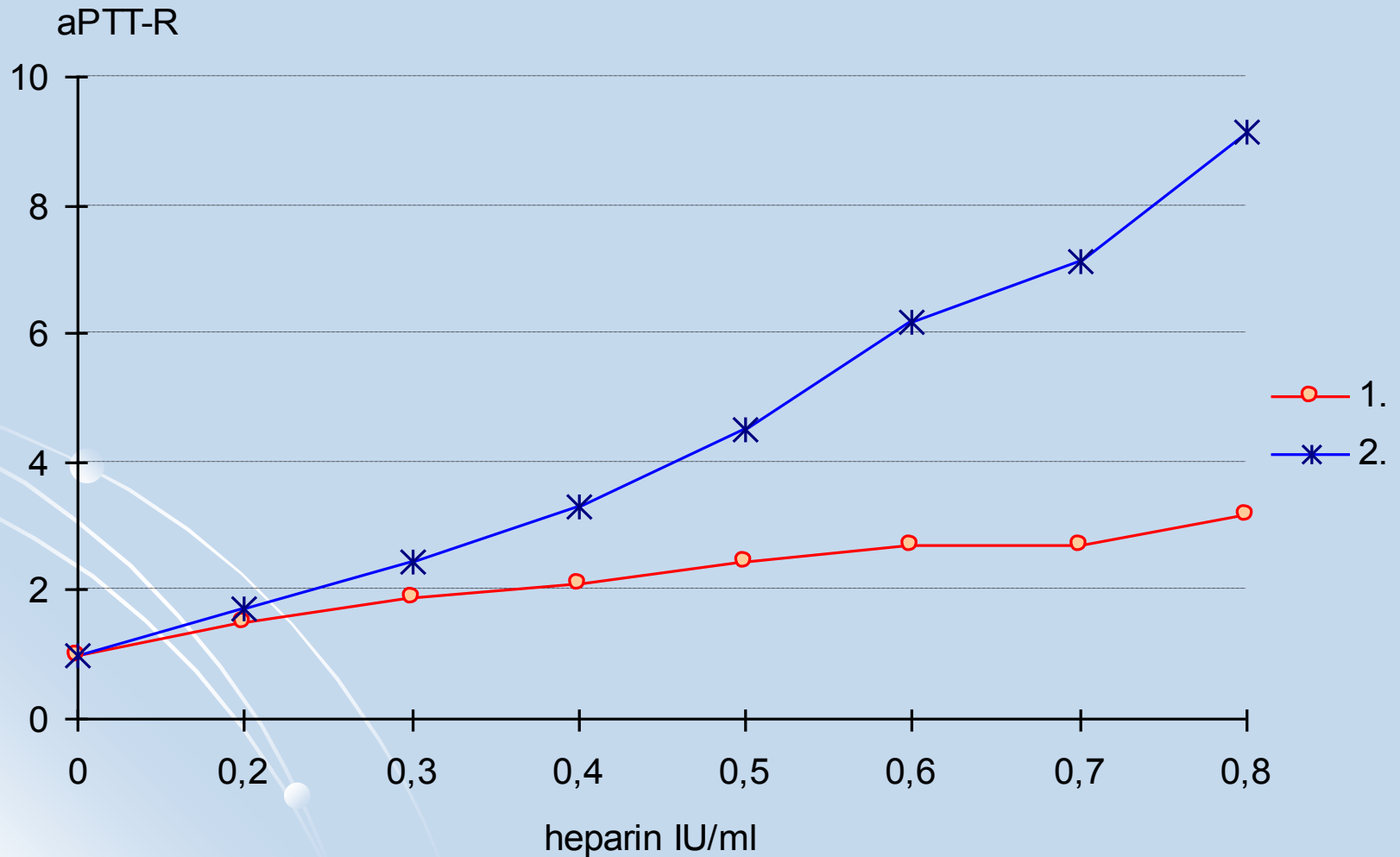
- kalibrační materiál
    - ↘ směsná normální plazma
    - ↘ komerční normální plazma
  - stanovení času normálu pro výpočet R
    - ↘ průměr opakovaných měření
    - ↘ pro každý přístroj
- 

# 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
- FDP
- novorozenec
- arteficiálně (odběr, zpracování)

# Defekty faktorů

→ vrozený

↳ 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 času 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 + Ca<sup>2+</sup>



# 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 (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 přepočítání)
  - ↘ u vysokých hladin Fbg (větší ředění a přepočítání)

# 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

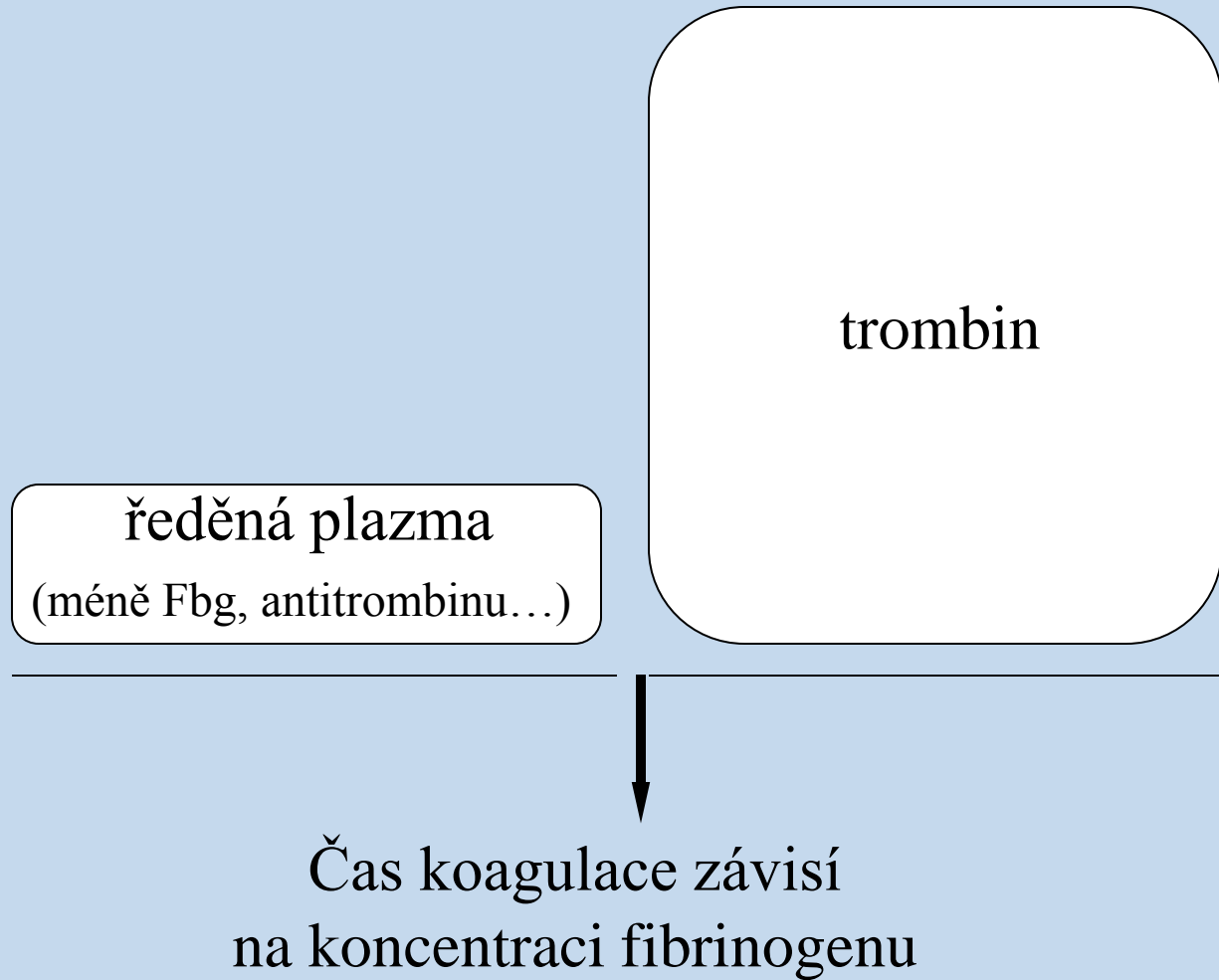
Neředěná plazma  
obsahující:  
fibrinogen  
antitrombiny  
heparin  
FDP...

trombin

---

Čas koagulace závisí  
na zbytkové aktivitě trombinu

# Fibrinogen





# Kontroly kvality (rutinní koagulace)

## → interní kontroly kvality

- ↘ kontroly přesnosti

- ↘ shoda mezi naměřenou hodnotou a hodnotou udanou výrobcem kontrolního materiálu

- ↘ kontroly preciznosti

- shoda mezi výsledky opakovaných měření stejného kontrolního materiálu

- ↘ porovnatelnost přístrojů

- shoda mezi výsledky měření na různých přístrojích

## → externí kontroly kvality