

Faktory ovlivňující výsledky hemokoagulačních vyšetření

Haninová M., Úlehlová J.

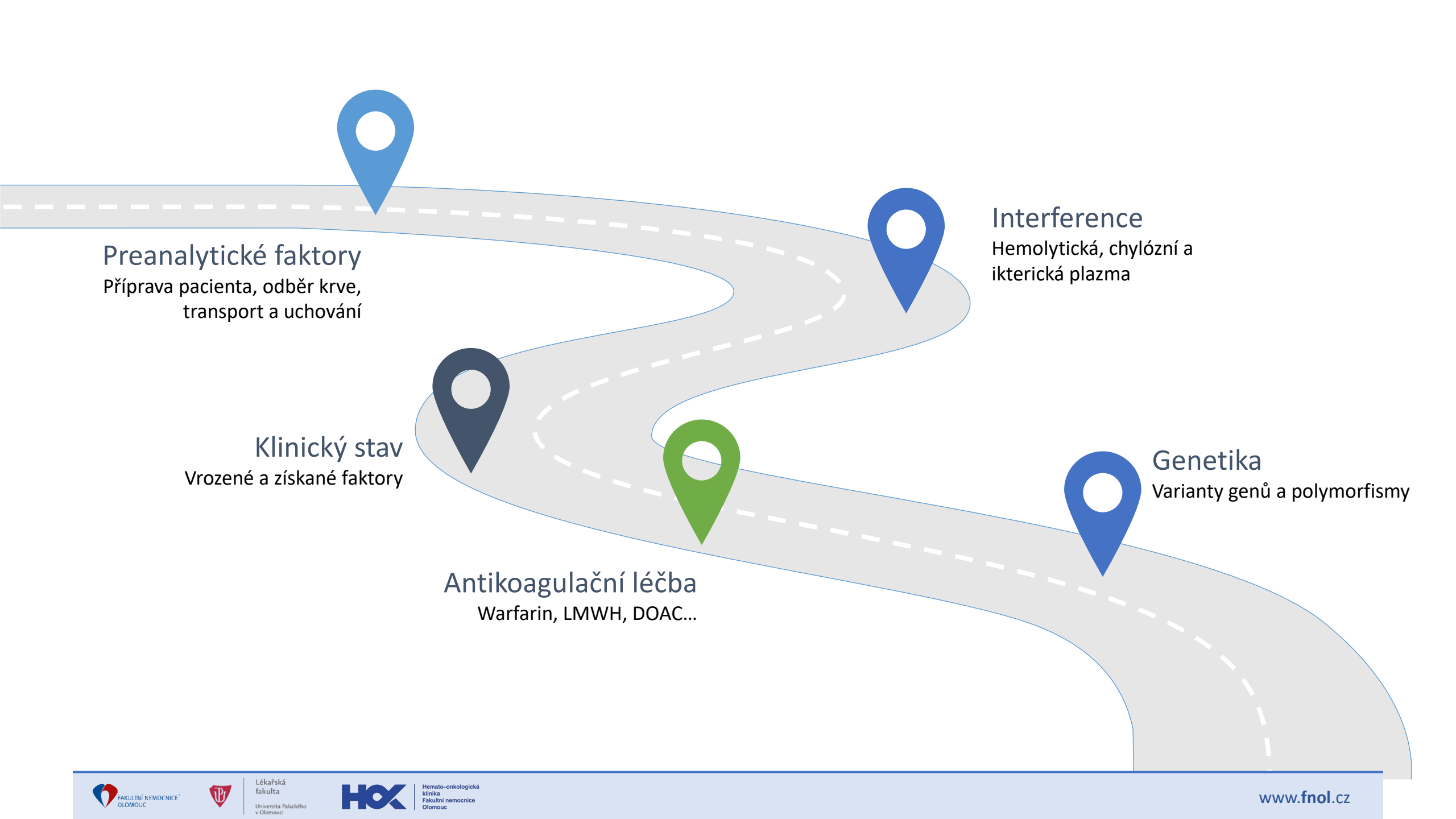


Lékařská
fakulta

Univerzita Palackého
v Olomouci



Hemato-onkologická
klinika
Fakultní nemocnice
Olomouc



Preamalytické faktory
Příprava pacienta, odběr krve,
transport a uchování

Klinický stav
Vrozené a získané faktory

Antikoagulační léčba
Warfarin, LMWH, DOAC...

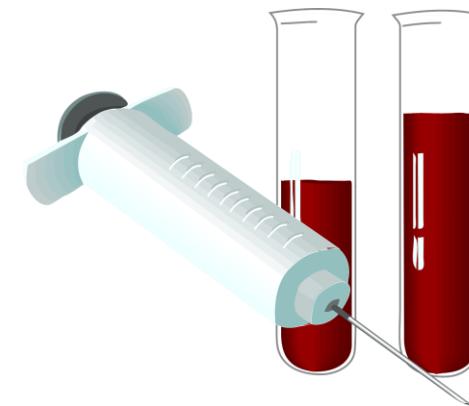
Interference
Hemolytická, chylózní a
ikterická plazma

Genetika
Varianty genů a polymorfismy

Preanalytická fáze – příprava pacienta

- Příprava pacienta

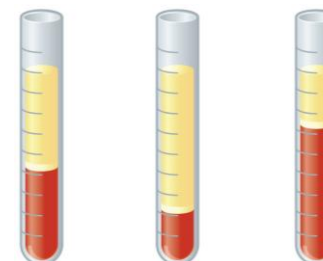
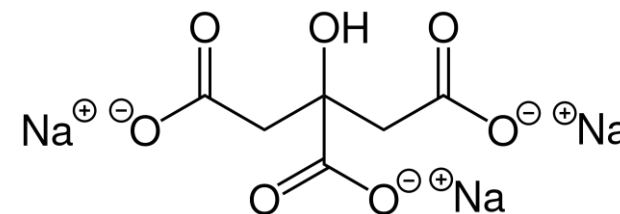
- nalačno nebo po lehké snídani bez tuků
- dostatek tekutin
- vyhnout se fyzické aktivitě (\downarrow APTT, \uparrow vW, FVIII, \uparrow fibrinolýza)
- na žádanku uvést:
 - datum a čas odběru
 - léčbu (i substituční)
 - komplikace při odběru, odběr z kanyly...



Preanalytická fáze – odběr vzorku

- Odběr vzorku

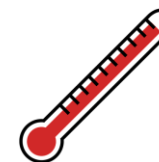
- minimální zatažení paže (< 1 min), necvičit (aktivace koagulace)
- plastová/silikonovaná skleněná zkumavka
 - s citrátem sodným
 - 0,109 mol/L; 3,2 %
 - 1 díl citrátu + 9 dílů krve
 - hematokrit nad 0,55/pod 0,25 – nutná úprava množství citrátu
 - šetrné promíchání (3-6×)
 - hemolýza, aktivace destiček a koag. faktorů (vznik mikrotrombů, sraženiny)



Preanalytická fáze – transport a uchování

- Transport vzorku

- do 2 hodin od odběru (léčba heparinem do 1 hodiny)
- teplota +15 až +25°C
- potrubní pošta (agregace, TGT...)



- Uložení v lednici – NE

- aktivace F VII, XI, XII a trombocytů
- pokles aktivity vWF, FVIII



Preanalytická fáze – stabilita vzorku

- Stabilita

- PT - 6 hod
- APTT - 4 hod
- APTT při léčbě heparinem 1 hod
- FVIII - 2 hod
- většina ostatních vyšetření do 4 hod



Preanalytická fáze – zpracování vzorku

- Plazma – centrifugace do 2 hodin

- plazma bohatá na trombocyty (PRP)
 - 10 min/150 - 250 g
- plazma chudá na trombocyty (PPP)
 - 15 min/2000–2500 g
- bezdestičková plazma (PFP)
 - dvojnásobná centrifugace
 - vyšetření LPA, pro dlouhodobé uchování zamražené plazmy

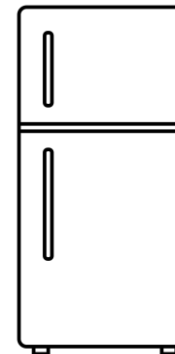
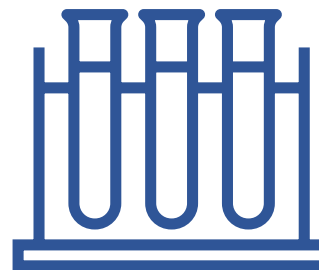


- Plná krev

- PFA, ROTEM, TEG, Multiplate – do 1-2 hodin

Preanalytická fáze – skladování vzorku

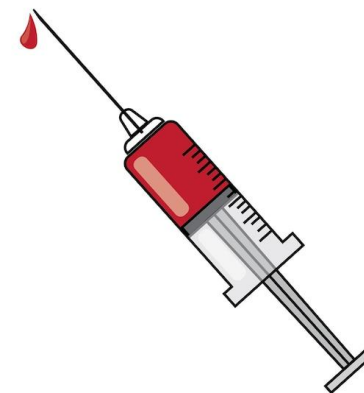
- Uchování plazmy (PPP/PFP)
 - šokové zmrazení
 - objem > 500 μ l, úměrná velikost zkumavky
- Skladování
 - krátkodobě -20 °C
 - dlouhodobě při teplotě nižší než -70 °C



- Rozmrazit 5-10 min při 37 °C ve vodní lázni/termostatu, promíchat
- Znovu nemrazit!!!

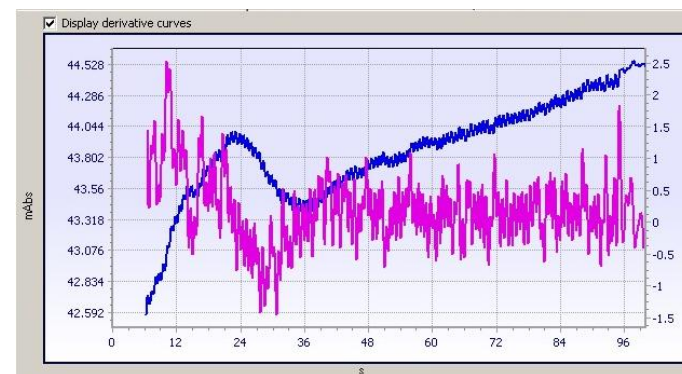
Preanalytická fáze – časté chyby

- Nevhodný průměr odběrové jehly
 - malý – hemolýza
 - velký – oxidace buněk a aktivace koagulace
- Dlouhý/opakovaný odběr ze stejné žíly
 - hemolýza, ↑ D-dim
- Naředění vzorku
 - infuzí, transfuzním přípravkem (FFP), koncentrátem (nejen FVIII)...
- Překročení doby transportu
 - degradace FVIII, FV, aktivace kontaktní fáze



Preanalytická fáze – časté chyby

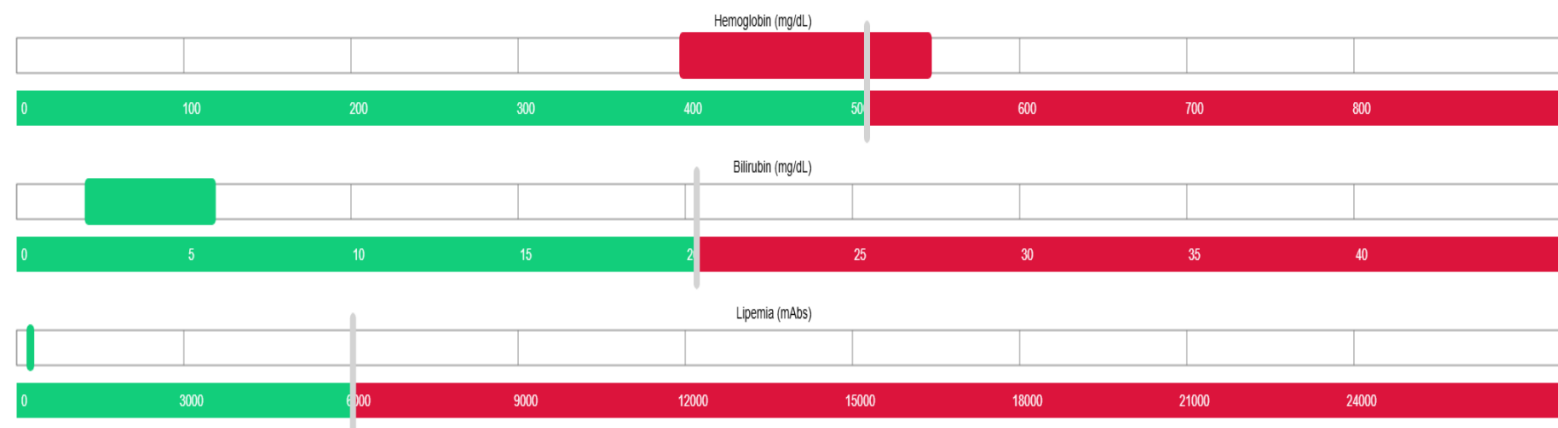
- Sražený vzorek
- Odběr pod/nad rysku (o 10 %)
 - prodloužení/zkrácení koagulačních časů
- Odběry z kanyly
 - odebrat a znehodnotit dostatečné množství krve (5 ml), promytí fyz. roztokem
 - lépe ze žíly
- Exspirované zkumavky



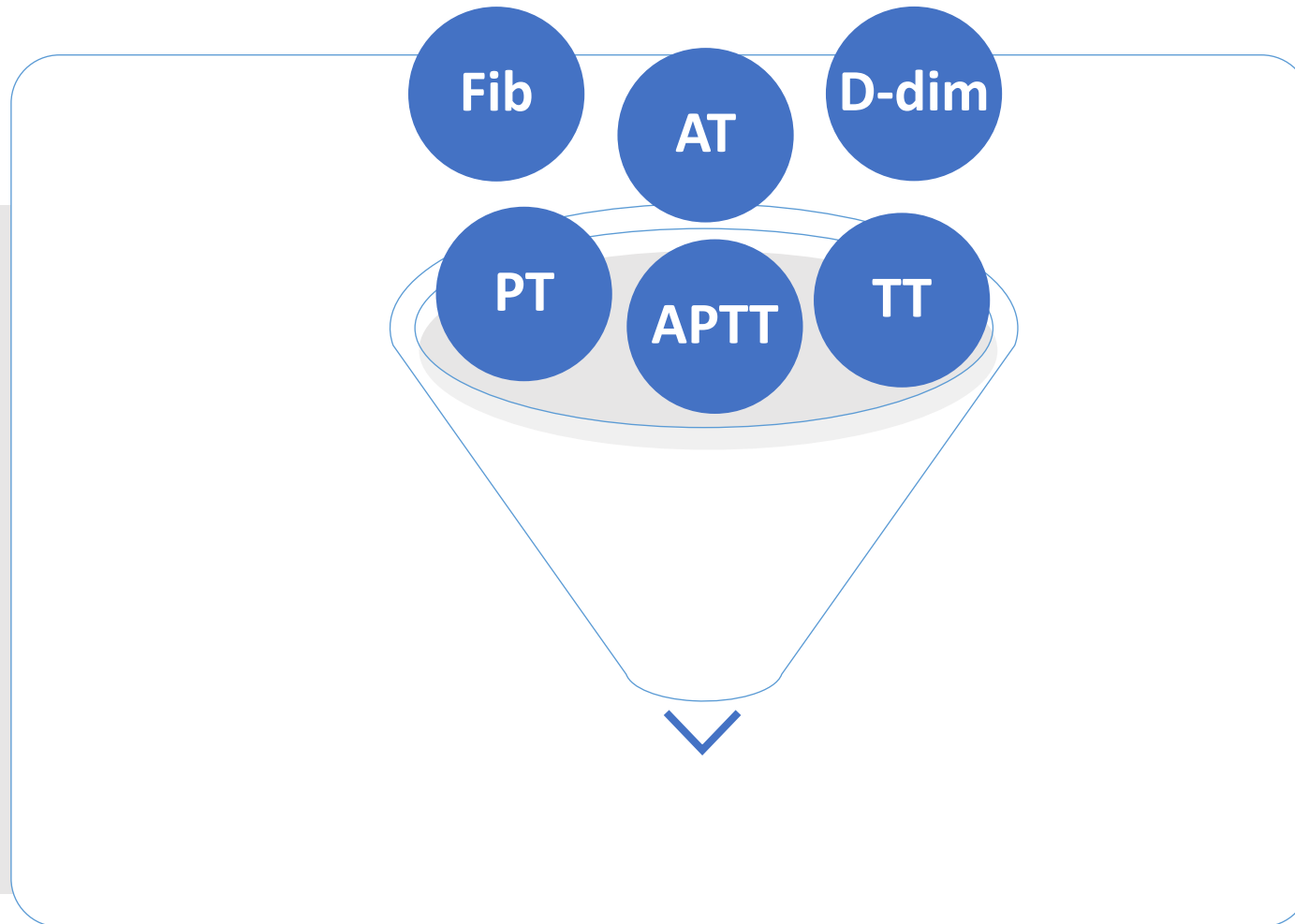
Preanalytická fáze – interference



- Hemolytická a ikterická plazma
 - fotometrická i koagulační stanovení (uvolnění TF)
- Chylózní plazma
 - imunochemické metody (latex) a koagulační stanovení (optické koagulometry)



Faktory ovlivňující základní koagulační výsledky

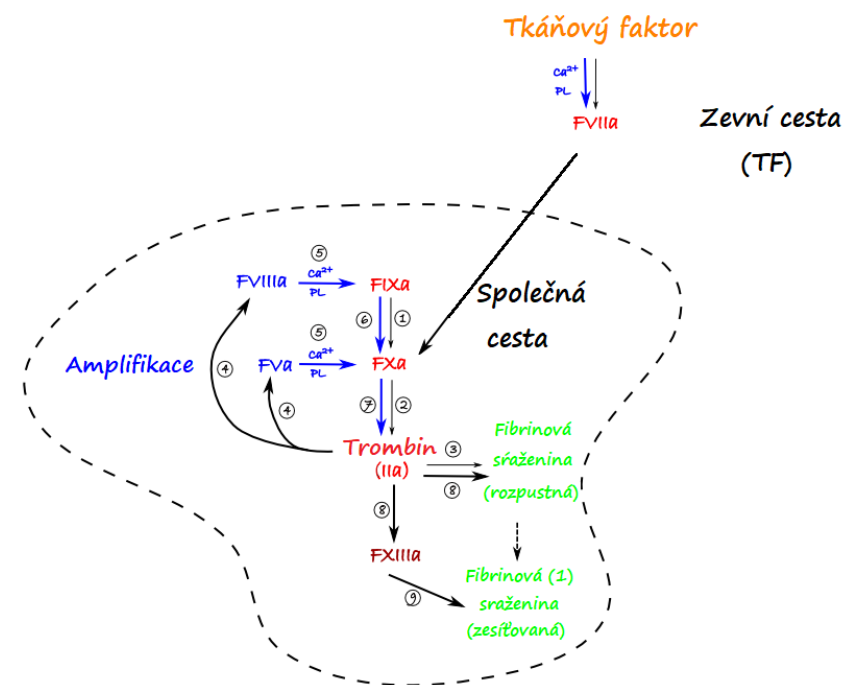


Protrombinový čas (PT, Quickův test)

- Monitoruje zevní koagulační systém a společnou cestu koagulace
 - FVII, X, V, II a fibrinogen

• Prodloužené PT

- deficit faktorů
- patologický inhibitor
- kumariny či nedostatek vitamínu K
 - vit. K dependentní F II, VII, X
- heparin



Aktivovaný parciální tromboplastinový test (APTT)

- Monitoruje vnitřní a společnou cestu koagulace

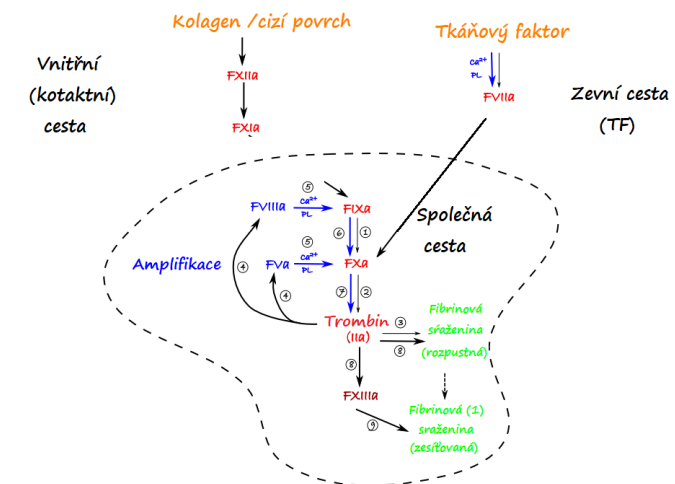
- F XII, XI, IX, VIII, X, V, II, fibrinogen, prekalkrein a HMWK

• Prodloužené aPTT

- deficit faktorů
- patologický inhibitor
 - specifický (VIII, IX)
 - nespecifický (lupus antikoagulans, heparin)
- heparin (zejména UFH)
- kumariny
- preanalytická fáze zpracování, odběr

• Zkrácené aPTT

- preanalytická fáze zpracování
- zvýšení FVIII (zánět, stres, gravidita)

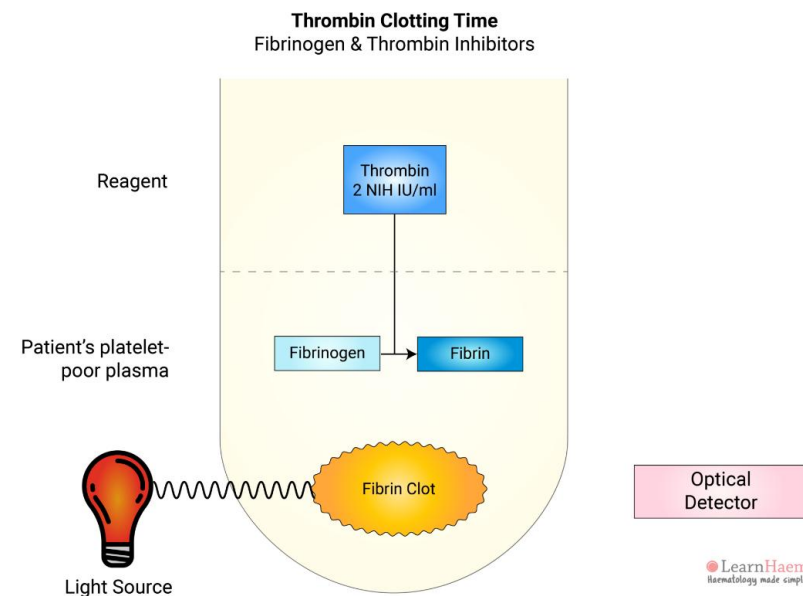


Trombinový čas (TT)

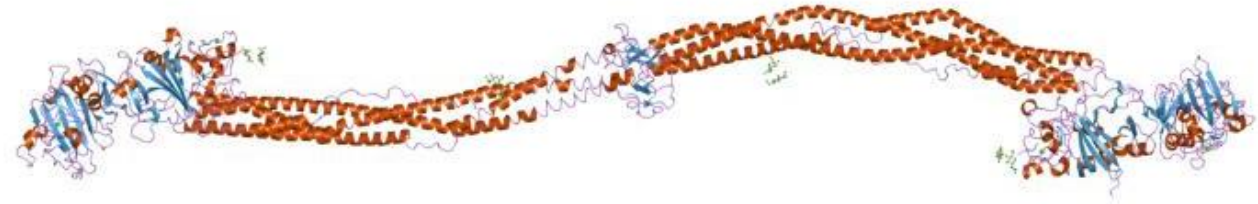
- Monitoruje poslední fázi koagulace – schopnost trombinu štěpit fibrinogen

- Prodloužení:

- hypo/afibrinogenémie
- dysfibrinogenémie
- heparin
- dabigatran
- FDP
- patologický inhibitor (paraprotein...)



Fibrinogen

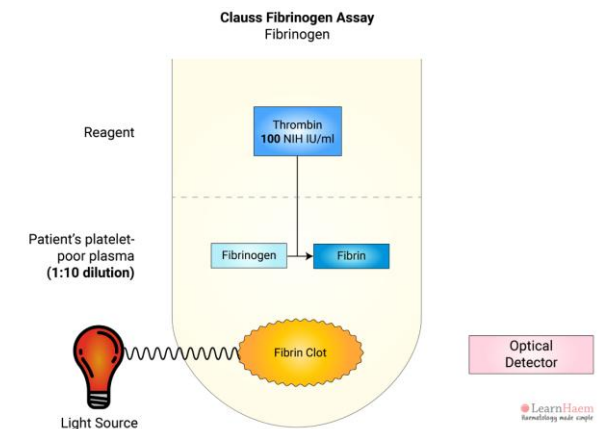


Snížení:

- snížená syntéza (jaterní porucha)
- zvýšená spotřeba (např. DIC)
- zvýšené ztráty
- trombolytická léčba
- heparin (UFH)
- hypo/afibrinogenémie
- dysfibrinogenémie

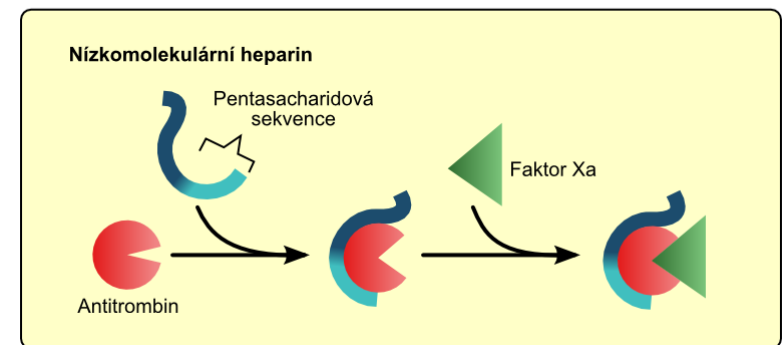
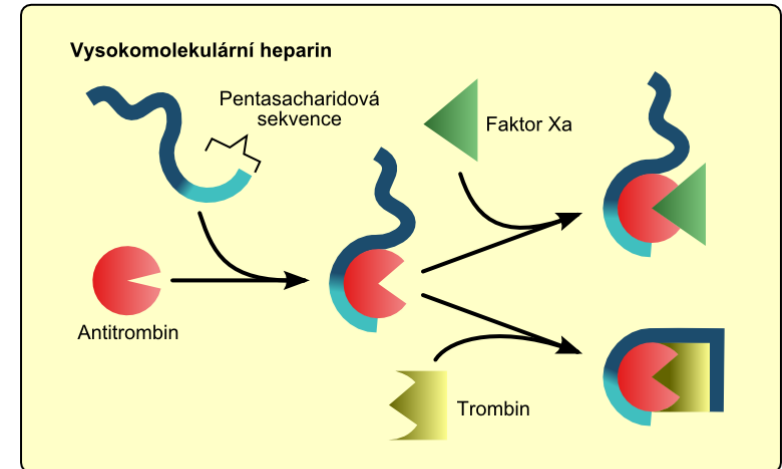
Zvýšení:

- těhotenství
- zánět, operace
- diseminovaná malignita



Antitrombin (AT)

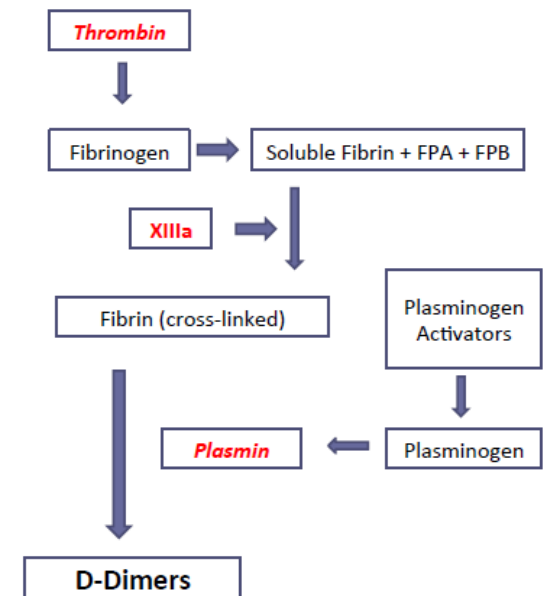
- Nejsilnější fyziologický inhibitor koagulace
 - esenciální pro efektivní léčbu heparinem
 - deficience spojená s rizikem tromboembolizmu
- Snížení:
 - vrozený deficit
 - snížená syntéza (jaterní postižení)
 - zvýšené ztráty (nefrotický syndrom)
 - zvýšená spotřeba (DIC...)



https://www.wikiskripta.eu/sites/www.wikiskripta.eu/images/a/a6/Antikoag_nizkomol.png

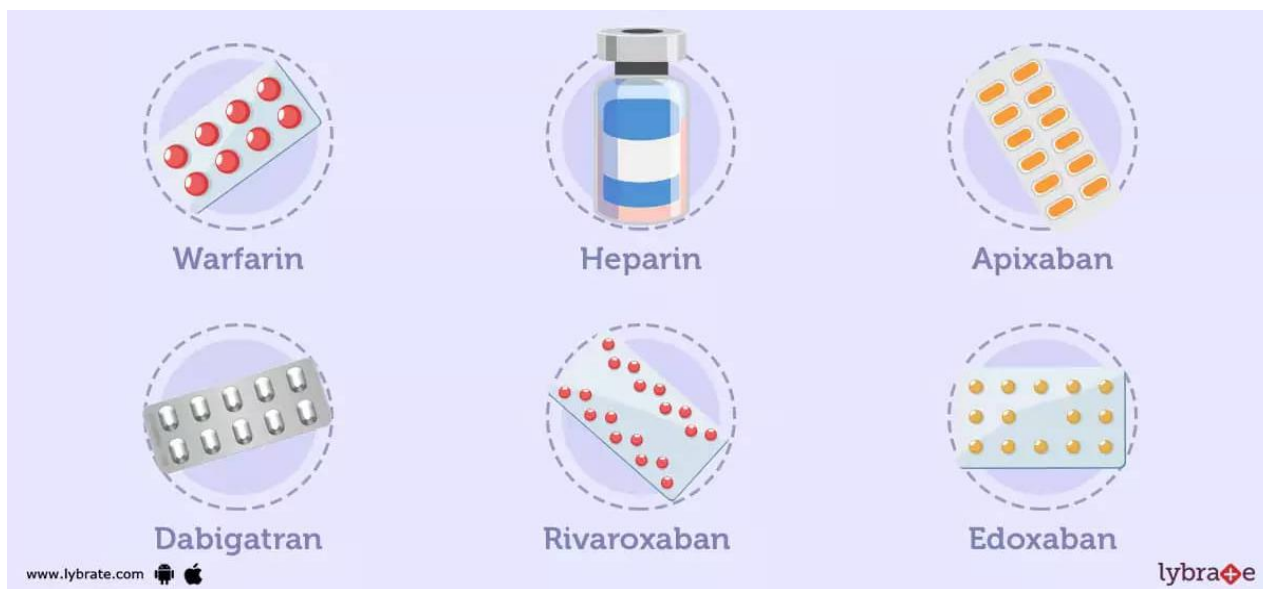
D-dimery

- Vysoká negativní prediktivní hodnota pro vyloučení hluboké žilní trombózy ✗ špatná pozitivní predikce
- Zvýšení:
 - poranění, operace, zánět, primární hyperfibrinolýza, DIC, TEN
 - trombolytická léčba, hepatopatie, odvržení transplantovaných štěpů
 - fyziologicky: těhotenství, porod, menstruace, fyzická zátěž...

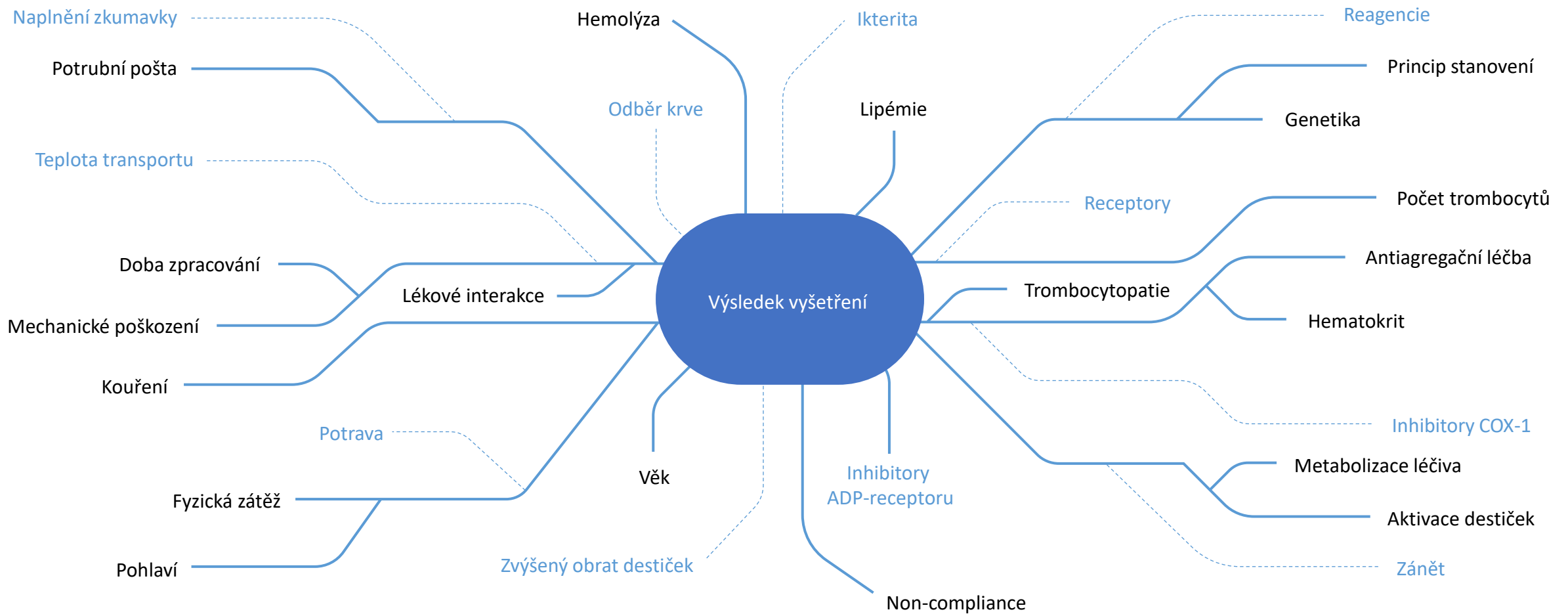


Antikoagulační léčba – vliv na základní testy

	Dabigatran (Přímý inhibitor FIIa)	Xabany (Přímé inhibitory FXa)	LMWH (Nepřímé inhibitory FXa)	Warfarin (Antagonista vit. K)
PT	↑	(↑)	-	↑
APTT	↑	(↑)	(↑)	(↑)
TT	↑↑	-	-	-

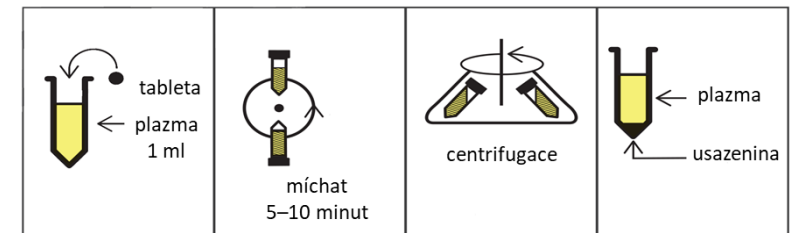


Další vyšetření



Lupus antikoagulans

- Funkční vyšetření
 - koagulační testy závislé na fosfolipidech
 - není standardizováno tak přísně jako imunologické testy
- Nedostatečná centrifugace
 - trombocyty v plazmě (PF4, fosfolipidy) – neutralizace LA, falešně negativní
- Nevhodné skladování
 - degradace faktorů → arteficiální prodloužení
- Antikoagulační léčba
 - prodloužení koagulační testů – falešná pozitivita



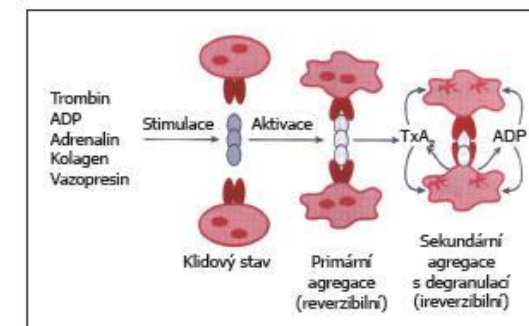
<https://www.eurobio-scientific.co.uk/Blood-Sciences/Haematex/P1739/DOAC-Stop-DIRECT-ORAL-ANTI-COAGULANT-STOP.html>

Agregace trombocytů – preanalytická fáze

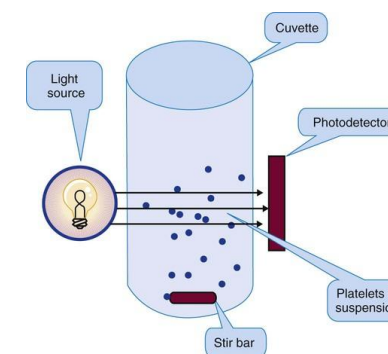
- Transport a zpracování
 - mražení, potrubiční pošta - NE
 - třepání, vibrace, chlazení → aktivace/poškození destiček

• Výsledek ovlivněn

- odběr – aktivace trombocytů in vivo
- kouření, léky, potrava, malabsorbce
- fyzická námaha, stres, věk, pohlaví...
- trombocytopenie – počet trombocytů v PRP pod $100 \times 10^9/L$
- trombocytopatie – vrozené či získané poruchy funkce

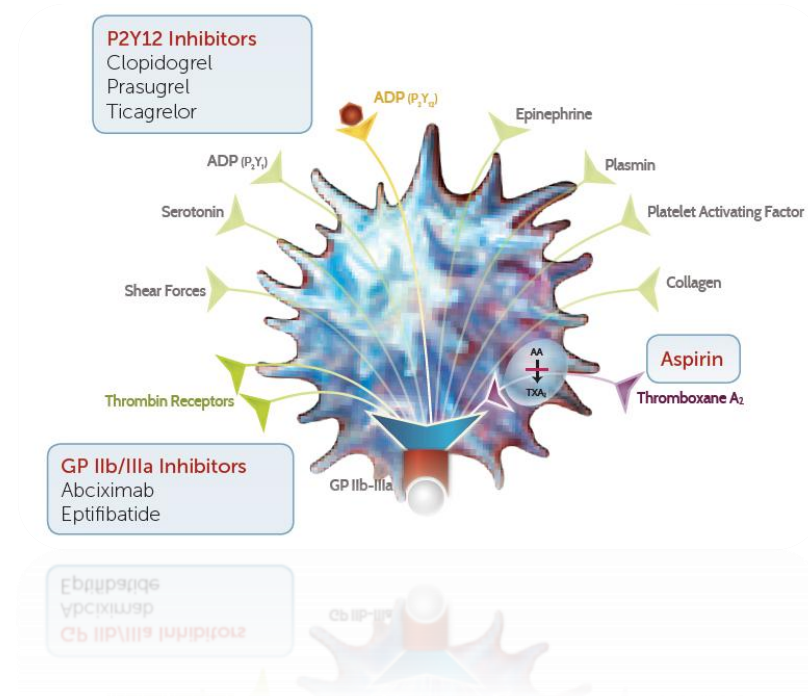


Obrázek 2: Agregace destiček (upraveno dle Gawaz, 2001)



Agregace trombocytů – rezistence na léčbu

- Nejčastěji non-compliance pacienta
- Zvýšená aktivace trombocytů
 - diabetes mellitus, obezita, zánět
- Zvýšený obrát trombocytů
 - po operaci, krvácení, myeloproliferace
- Genetické polymorfismy
 - snížená vazba, absorpce, metabolizace...



Závěr

- Koagulační vyšetření je vysoce citlivé na preanalýzu
 - správná příprava pacienta, odběr, transport, zpracování a skladování vzorku
- Znalost léčby
- Interpretace v kontextu klinického stavu a ostatních vyšetření

DĚKUJI ZA POZORNOST

FAKULTNÍ NEMOCNICE OLOMOUC



FAKULTNÍ NEMOCNICE®
OLOMOUC



Lékařská
fakulta

Univerzita Palackého
v Olomouci



Hemato-onkologická
klinika
Fakultní nemocnice
Olomouc