

# Общи принципи на хемостазна диагностика: скриниращи и диференциращи тестове; апаратура; вземане и обработка на кръвта за коагулационни изследвания

Д-р Жанина Йорданова Иванова дм,



# ОБЩИ ПРИНЦИПИ

## Принцип на аналитичните методи

- ▶ Физиологични методи - Изследва се функционалната активност на факторите на съсирване
- хронометрични тестове - ензимната активност на факторите на хемостазата (серинови протеази) се определя чрез времето за образуване на фибринов съсирек (коагулометрично). Отчитането е визуално (мануална работа), електромеханично или фотооптично (полуавтоматични и автоматични коагулометри): протромбиново време (PT), активирано парциално тромбoplastиново време (aPTT), тромбиново време (TT), фибриноген, някои инхибитори (ATIII, PrC) и др.

Резултатите се изразяват в секунди или в процент след съпоставяне с резултат получен при провеждане на успоредно изследване с доказано нормална плазма.

# ОРБЩИ ПРИНЦИПИ

- Хромогенни тестове. При тези тестове се използват синтетични субстрати (естествените са трудни за изолиране), свързани с хромоген (паранитроанилин). Ензимната реакция се отчита спектрофотрично - кинетрично или крайноточково: АТIII, плазминоген, НС II, РrС, хепарин, отделни фактори (II, V, VII, VIII, IX, X, XII). Хромогенните тестове дават възможност и за определяне на неактивни фактори на кръвосъсирването и фибринолизата посредством предварително активиране на протеолитричната им активност, както и за определяне на плазмените инхибитори.

# ОБЩИ ПРИНЦИПИ

- ▶ Имунологични методи - с помощта на специфични моноклонални антитела се определя количеството на съответния фактор като белтък (антиген). Образуваните комплекси се измерват посредством нефелометрия, имунотурбидиметрия, радиоимунодифузия, както и с имуноензима (ELISE), флуоресцентна или лазерна техника. Тези методи са специфични, чувствителни и подлежат на автоматизиране. Те дават точни количествени резултати, но не доказват наличие на дисфункция. Това налага едновременно с количествения анализ на определен фактор да се провежда и функционално изследване.

# ОБЩИ ПРИНЦИПИ

## ▶ ИЗТОЧНИЦИ НА ГРЕШКИ

- Неточност при отчитане на времето до образуване на фибриновия съсирек (мануално хронометрични отчитане). Зависимостта между концентрацията на даден фактор на съсирването в реакционната смес и времето до настъпване на съсирване ин витро не е линейна, а логаритмична, поради което аналитичната възпроизводимост, чувствителност и точност зависят много повече от величината на отчитаната стойност, отколкото това важи при други видове анализи.
- Хепаринова плазма вместо цитратна
- Неправилно вземане, съхраняване и транспортиране на кръвта

# СКРИНИРАЩИ И ДИФЕРЕНЦИРАЩИ ТЕСТОВЕ

- I. Скриниращи (пресяващи) тестове. По същество те са глобални тестове и дават достатъчно бърза и сравнително точно и достоверна информация. Обсъждането на резултатите от анализа на тези показатели позволява да се прецени има ли нарушения в процеса на кръвосъсирване и фибринолиза и в каква посока е това нарушение - към хипо- или хиперсъсирваемост на кръвта. С някои от тях, по-рано наричани групови тестове (РТ, аРТТ, ТТ) може да се локализира нарушението на процеса на кръвосъсирване - вътрешен или външен път, или в най-ранните фази на хемостазата.

# СКРИНИРАЩИ И ДИФЕРЕНЦИРАЩИ ТЕСТОВЕ

1. Тромбоцитен брой - тромбоцитите участват в почти всички фази на хемостазата. Показанията за назначаване на този показател са: хеморагични диатези, консумативна коагулопатия, пред- и следоперативни състояния (спленектомия), динамичен контрол при лъчелечение или лечение с хепарин, както и с цитостатици.

При брой на тромбоцитите под  $50 \cdot 10^9/l$  обикновено настъпват спонтанни кръвоизливи. При увеличен брой на тромбоцитите (тромбоцитоза) възниква риск от тромботични усложнения напр. При идиопатична тромбоцитемия, истинска полицитемия и др.

# СКРИНИРАЩИ И ДИФЕРЕНЦИРАЩИ ТЕСТОВЕ

2. Време на кървене - не е лабораторен тест в тесния смисъл на думата , а по-скоро функционално изследване *in vivo*. Отразява участието на тромбоцитите и съдовите фактори и дава представа за ранните фази на хемостазния процес. Установена е линейна зависимост между времето на кървене и тромбоцитния брой.
3. Тест за капилярна чупливост.
4. Време на съсирване - няма информативна стойност. Заменя се с aPTT.
5. Активирано парциално тромбопластиново време - aPTT (кефалин-каолиново време)
6. Протромбиново (тромбопластиново) време (PT) по Куик.
7. Тромбиново време (TT)



# СКРИНИРАЩИ И ДИФЕРЕНЦИРАЩИ ТЕСТОВЕ

## II. Диференциращи тестове

Изследването им е от съществено значение за изясняване на точното място на дефект в системата за хемостазата и особено полезно при диагностициране на придобит недоимък - чернодробни и други увреждания.

### 1. Фибриноген

Принцип на аналитичните методи

- Хронометрични методи (по Клаус), които дават най-добри резултати. Използва се висококонцентриран разтвор на тромбин за съсирването на разрежена 1:10 плазма.
- Изчислена стойност на фибриногена от данните за РТ, което се използва в някои съвременни анализатори. Определянето е по-евтино в сравнение с метода на Клаус, но не е достатъчно точно при ниски стойности на фибриноген и РТ
- Химични методи (използват се рядко)

### 2. Плазмени индивидуални фактори (II-XIII)

Принцип на определяне

# СКРИНИРАЩИ И ДИФЕРЕНЦИРАЩИ ТЕСТОВЕ

## 2. Плазмени индивидуални фактори (II-XIII)

### Принцип на определяне

- Чрез индивидуални проби с помощта на aPTT - за факторите на вътрешната система (XII, XI, IX, VIII) и PT - за факторите на външната система и общия път (VII, X, V, II) при използване на смес от плазма на болен и дефицитна за определяния фактор плазма. Активността на търсения фактор се изчислява по калибрационна крива, построена върху двойнологаритмична хартия
- Хромогенни или флуоресцентни методи (използване на синтетични субстрати)
- Имунологични методи за количествено определяне на белтъка като антиген

# ВЗЕМАНЕ И ОБРАБОТКА НА КРЪВТА ЗА КОАГУЛАЦИОННИ ИЗСЛЕДВАНЕ

- ▶ Подготовка на пациента и биологичен материал- изключително важно е стриктно спазване на условията, изискванията и правилата за вземане на кръв за изследване на хемостазните показатели.
- ▶ Минимално травмиране на вената, за да се избегне замърсяване на пробата с тъканна течност. Да се спазва редът за на капване - първата епруветка след венепункция не бива да се използва за коагулационни тестове.
- ▶ Недопускане на венозна стаза, тъй като тя води до активиране на кръвосъсирването (за предпочитане е венепункцията да се извършва без турникет)
- ▶ Да се използват подходящи съдове, които не активират кръвосъсирващата система

# ВЗЕМАНЕ И ОБРАБОТКА НА КРЪВТА ЗА КОАГУЛАЦИОННИ ИЗСЛЕДВАНЕ

- ▶ Да се използват достатъчно широки игли, за да се предпазят еритроцитите и тромбоцитите от разрушаване.
- ▶ Да се спазва точно съотношението кръв:антикоагулант (9:1). Използва се 3,8% терциерен натриев цитрат с  $5^{1/2}$  молекули кристализационна вода (крайна концентрация 105 ммол/л)
- ▶ след вземане на необходимото количество кръв, епруветката внимателно се обръща няколко пъти, без да се образува пяна, за да се размесят кръвта и цитратния разтвор

# ВЗЕМАНЕ И ОБРАБОТКА НА КРЪВТА ЗА КОАГУЛАЦИОННИ ИЗСЛЕДВАНЕ

- ▶ Донасянето на цитратната кръв в лабораторията трябва да стане незабавно, най-късно до 1 час след вземането ѝ, за да се центрофугира и отдели плазмата.
- ▶ Идеалният срок за извършване на анализа е до 2ч. На веднага отделена след вземането на кръвта плазма
- ▶ При необходимост от по-дълготрайно съхранение на плазмата до анализа, условията (-20 С или -70 С) се уточняват със специалист от клиничната лаборатория съобразно показателя. Отделните фактори имат различна стабилност при различни условия (напр. Ф.V и ф. VIII са термично нестабилни, а ф. VII и XII повишават активността си при замръзване.

# ВЗЕМАНЕ И ОБРАБОТКА НА КРЪВТА ЗА КОАГУЛАЦИОННИ ИЗСЛЕДВАНЕ

- ▶ При анализите се използва два вида плазма:
- Бедна на тромбоцити - получава се при центрофугиране на кръвта при 3000-3500 U/min в продължение на 10-15мин
- Богата на тромбоцити - получава се след спонтанна седиментация на взетата цитратна кръв или центрофугиране за по-кратко време и на по-ниски обороти

# ЗАКЛЮЧЕНИЕ

## Показания за изследване

1. Установяване на причината и локализиране на нарушението на хеморагични диатези
2. Установяване на причината и локализиране на нарушението при тромбоемболични заболявания
3. Изключване на нарушения в процеса на кръвосъсирване преди оперативни намеси
4. Контрол на промените в кръвосъсирването и фибринолизата при лечение с антикоагуланти или фибринолитици

**БЛАГОДАРЯ**

**ЗА ВНИМАНИЕТО**

