

Гемостазиограмма



Коагулология

- – специфический вид лабораторных исследований, определяющий показатели сосудисто-тромбоцитарного, плазменного гемостаза, фибринолиза, активность антикоагулянтов.

Гемостазиограмма

- «набор тестов, данные которых позволяют описать состояние системы свертывания крови и тех ее компонентов, которые транслируют свою активность на другие системы организма».

1. Для оценки первичного гемостаза

определяют следующие показатели:

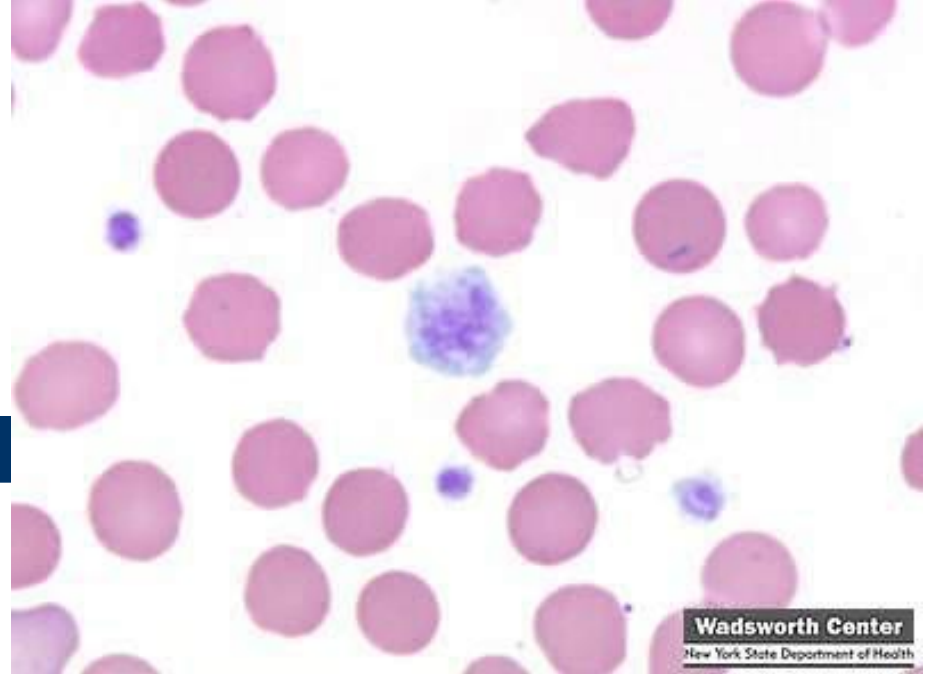
- количество тромбоцитов в крови;
- тромбоцитарные индексы;
- исследование функций тромбоцитов (агрегация тромбоцитов с применением агонистов (индукторов агрегации): АДФ, коллагена, ристоцетина и др).

Подсчет тромбоцитов



- Тромбоциты представляют собой небольшие безъядерные клетки, содержащие гранулы, которые окрашиваются фуксином в красный цвет.
- Число тромбоцитов в 1 мкл = Число тромбоцитов в поле зрения (ув. 100х, масляная иммерсия) x 20000

Тромбоцитарные индексы:



- MPV - Средний объем тромбоцита (СОТ) представляет собой среднюю величину объема одиночного тромбоцита, выраженную в фемтолитрах (фл)
- PCT – тромбокрит (общая тромбоцитарная масса);
- PDW — распределение тромбоцитов по ширине (показатель анизоцитоза тромбоцитов).

Исследование функций тромбоцитов

- Активность тромбоцитов определяют по их адгезивно-агрегационным свойствам (способности прилипнуть к какой-либо поверхности и соединяться друг с другом).

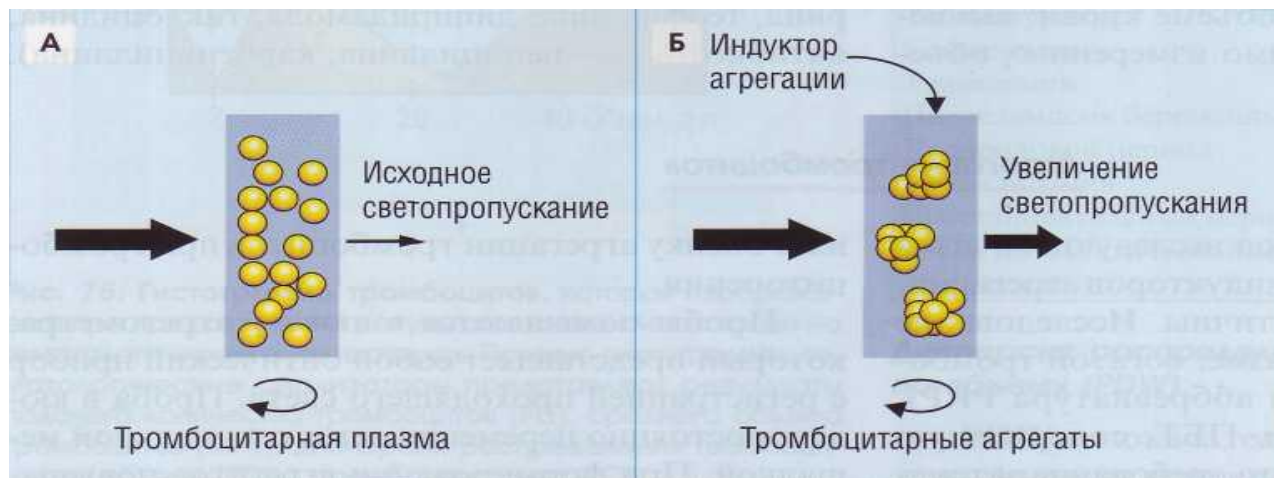
- Для исследования берут кровь, стабилизированную 3,8 % раствором цитрата натрия в соотношении 9:1 в градуированную силиконированную пробирку.

Подготовка плазмы к исследованию

- Для получения обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП) цитратную кровь центрифугируют в течение 9 мин при 1000-1500 об/мин.
- Для получения бедной тромбоцитами плазмы (БТП) цитратную кровь центрифугируют в течение 20 мин при 3000-4000 об/ мин.

Сущность метода:

- АДФ, коллаген, ристоцетин являются активаторами тромбоцитов. При добавлении их в плазму богатую тромбоцитами, формируются агрегаты, повышается прозрачность плазмы и, следовательно, увеличивается поток проходящего через кювету света



По соотношению оптической плотности исследуемой плазмы и плазмы бедной тромбоцитами определяют

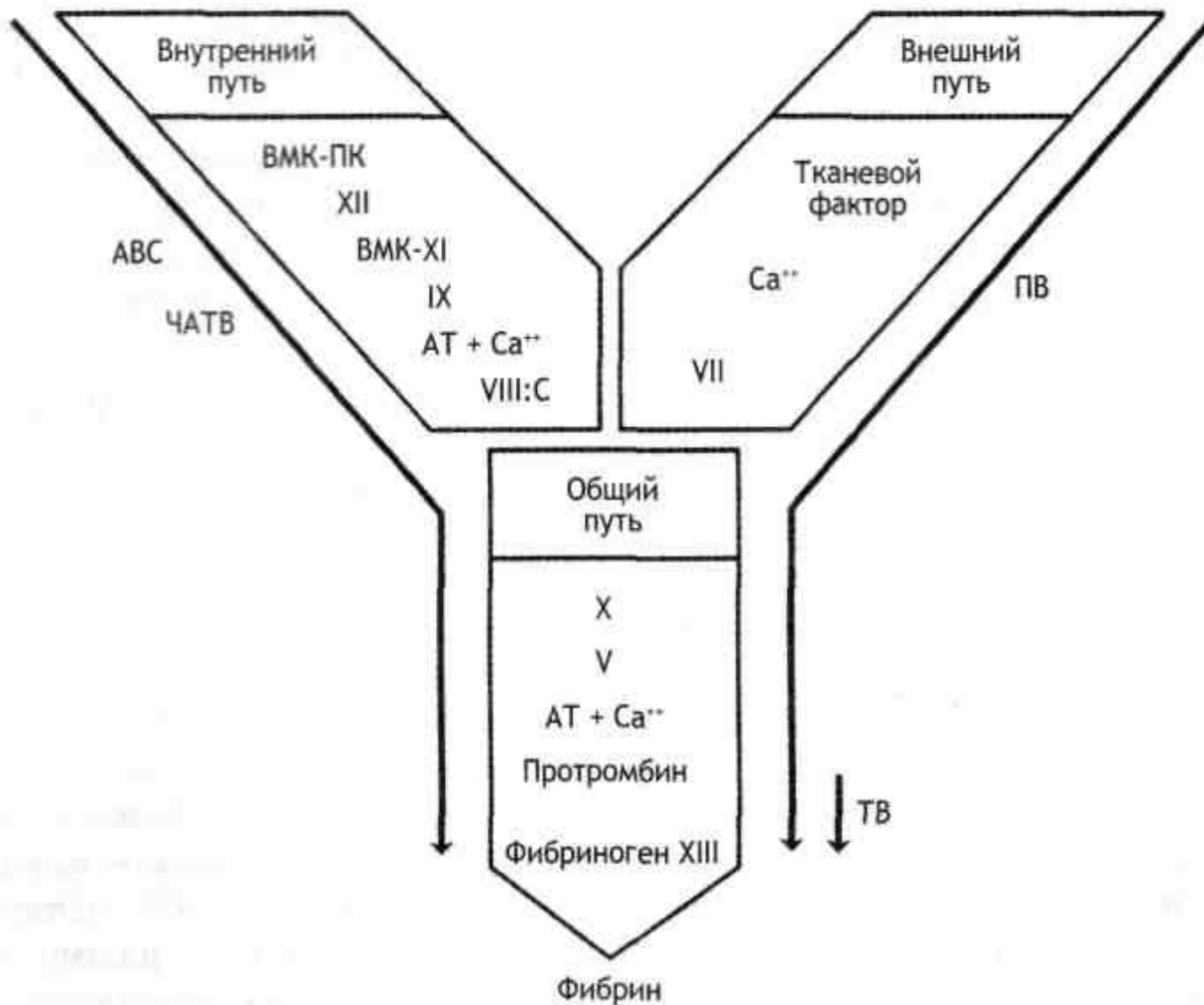
- *суммирующий индекс агрегации тромбоцитов (СИАТ),*
- *скорость агрегации (СА),*
- *индекс агрегации тромбоцитов (ИАТ)*
- *индекс дезагрегации тромбоцитов (ИДТ).*

2. Оценка вторичного (плазменно-коагуляционного) гемостаза – коагулограмма.

Базовые коагуляционные тесты

- протромбиновое время (ПВ) – скрининг-тест для оценки внешнего механизма свертывания крови;
- активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) – скрининг-тест для оценки внутреннего механизма свертывания крови (факторы XII, XI, IX, VIIIa, X, V);
- тромбиновое время (ТВ) – скрининг - тест последней стадии свертывания крови - скорость превращения фибриногена в фибрин, антикоагулянтная активность антитромбина III;
- фибриноген – концентрация фибриногена в плазме;
- антитромбин III (АТ III) – основной физиологический антикоагулянт, для которого кофактором является гепарин, инактивирует тромбин и активные IX, X, XI, XII факторы;
- продукты деградации фибриногена и фибрина и др.

Этапы каскадного процесса свертывания крови



Экспресс исследования в условиях оказания экстренной помощи:

- количество тромбоцитов,
- время кровотечения,
- АЧТВ,
- протромбиновое время (активность или индекс),
- фибриноген,
- Д-димеры.

Коагулограмма развернутая:

выполняется при наблюдении за больным с выраженными расстройствами системы гемостаза, при предполагаемом развитии синдрома ДВС после массивных кровопотерь и гемотрансфузий, при всех видах шока, у гематологических больных:

- количество тромбоцитов,
- АЧТВ,
- протромбиновое время,
- тромбиновое время,
- фибриноген,
- антитромбин III,
- РФМК,
- Д-димер,
- мазок периферической крови.

Определение коагулограммы.

Меры предосторожности.

- Все компоненты наборов предназначены только для диагностики *in vitro*. Компоненты наборов следует рассматривать, как потенциально биологически опасные вещества, при работе с которыми необходимо соблюдать все меры предосторожности.
- При работе с исследуемыми образцами следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы плазмы крови человека **следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита ВИЧ1 и ВИЧ2, гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.**

Получение исследуемой плазмы для анализа.

- Кровь для исследования забирают из вены в пластиковую или силиконированную пробирку, содержащую 3,8% раствор натрия лимоннокислого трёхзамещенного (цитрата натрия), соотношение объемов крови и цитрата натрия - 9:1.
- Кровь центрифугируют при 3000-4000 об./мин. (1200 д) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Тромбиновое время (ТВ)

характеризует конечный этап свертывания, т.е. скорость превращения фибриногена в фибрин. Тест тромбиновое время (ТВ) используют для определения функциональной активности фибриногена и ингибиторов тромбина в плазме таких как:

- продукты деградации фибрина/фибриногена;
- гепарин и гепариноиды;
- при фибринолитической терапии.
- Анормальное тромбиновое время встречается в случаях гипофибриногенемии, афибриногенемии, или дисфибриногенемии.

Принцип метода.

- Основан на определении времени образования фибринового сгустка при добавлении к плазме раствора тромбина необходимой активности.

Проведение анализа

Использовать только пластиковые или силиконированные стеклянные пробирки.

Внести в кювету анализатора:	Объем
Плазма исследуемая (контрольная)	100 мкл
Инкубировать при 37°C точно 2 мин.	
Рабочий раствор тромбина	100 мкл
Зафиксировать время свертывания в секундах на коагулологическом анализаторе.*	

*Конечную точку свертывания можно зафиксировать визуально или с помощью коагулологического анализатора.

ИНСТРУКЦИЯ по применению набора реагентов для определения протромбинового времени (ПВ)

- Тромбопластин (фактор III, тромбокиназа) превращает протромбин плазмы крови в присутствии ионов кальция в активный фермент тромбин, трансформирующий фибриноген плазмы крови в нерастворимый фибрин. Измеряется протромбиновое время - время образования фибрина в плазме крови в присутствии ионов кальция и тромбопластина (растворимого экстракта из мозга кролика).

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

- В кювету коагулометра или в пробирку (при мануальном определении) внести 0,1 мл плазмы.
- Инкубировать при температуре +37 °С в течение 1 мин.
- Добавить 0,2 мл разведенного Техпластина, имеющего температуру +37 °С и начать отсчет времени свертывания до образования фибрина.