

**ОҢТУСТІК ҚАЗАҚСТАН  
МЕМЛЕКЕТТІК ФАРМАЦЕВТИКА  
АКАДЕМИЯСЫ**



**ЮЖНО - КАЗАХСТАНСКАЯ  
ГОСУДАРСТВЕННАЯ  
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ**

**Кафедра: Клиническая лаборатория.**

# **СРИ**

**Тема: Лабораторные тесты  
в оценке нарушений гемостаза.**

**Выполнила : Едіге А.**

**Группа: 601 ТКБ**

**Проверила: Карабасова Б.К.**

**●Шымкент 2016г.**

# Цели исследования гемостаза

- При наличии клинических проявлений - **диагностика, определение причин нарушений гемостаза**
- Перед инвазивной процедурой (операция и др.) – **оценка риска кровотечения или тромбоза**
- **Контроль лечения препаратами, влияющими на гемостаз** (антикоагулянты прямого и непрямого действия, тромболитические и антиТЦ препараты, ингибиторы протеаз...)

# Преаналитический этап исследования гемостаза



- Исследование ТЦ гемостаза: за день до сдачи крови **избегать стрессов, физических нагрузок**, смены режима дня, изменений в питании, приема **алкоголя**.
- Максимально аккуратная венепункция, жгут – не более 1 мин !
- **Стараться не брать кровь из внутривенного катетера !**
- Взятую **кровь в закрытой пробирке** как можно быстрее обработать для получения плазмы (1 ч; для ПВ – до 24 ч).
- Плазму хранить при комнатной t° до 4 ч, иначе – заморозить.
- Учесть действие вводимых лекарств (**гепарина**); **после инфузии** выждать не менее 1 ч (если возможно).

# Стабильность аналитов при исследовании гемостаза



- **АЧТВ, отдельные факторы** – до 2-4 час при комнатной  $t^{\circ}$  (при гепаринотерапии – до 1 час)
- **Тромбоциты** – до 2-4 час при комнатной  $t^{\circ}$ . Не охлаждать!
- **D-димер** в цитратной и гепарин. плазме – до 8 час. при комн.  $t^{\circ}$ .
- **ПВ / МНО** (плазма, цельная кровь) – до 24 час только при комн.  $t^{\circ}$ .
- **фибриноген, антитромбин III, протеин С** в цитратной плазме, **фактор Виллебранда** в ЭДТА-плазме, **гомоцистеин** в ЭДТА-флюоридной плазме, **антикардиолипиновые антитела** в сыворотке - не менее суток при комн.  $t^{\circ}$ .

# Что может наблюдаться у пациента?

- 1. Наклонность к кровотечениям** (в том числе у родственников)
- 2. Наклонность к тромбозам** (инфаркты, инсульты, ТЭЛА, венозные / артериальные тромбозы и др., в т.ч. у родственников)
- 3. Тромбогеморрагические проявления (ДВС)**
- 4. Выраженных нарушений гемостаза нет**, но предполагается инвазивное вмешательство, в т.ч. хирургическая операция
- 5. Пациент принимает препараты, влияющие на свертывание** (гепарин, варфарин, фибринолитики, антиТЦ препараты...)

# Лабораторные тесты при кровоточивости

- Кровотечение из слизистых оболочек – типичный признак **тромбоцитарных расстройств**.
- Кровоизлияния в мягкие ткани - типичный признак **коагуляционных нарушений**.
- Кровотечение из пупочного канатика, «отложенные» и затяжные кровотечения могут быть признаком **недостаточности ф. XIII**.
- Мультилокусные одновременные кровотечения – при острой **системной коагуляционной патологии** или **гиперфибринолизе**.

## При склонности к кровоточивости можно:

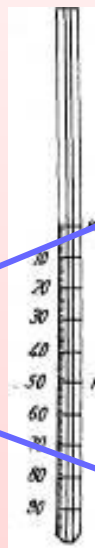
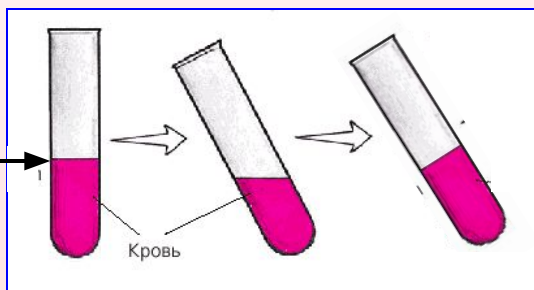
1. **Провести глобальный тест гемостаза** –  
ВСК / ВАС, тромбоэластография, тромбодинамика  
*- экспресс-исследование*
2. **Оценить тромбоцитарное звено гемостаза**  
(время кровотечения, количество и агрегация ТЦ)
3. **Оценить коагуляционное звено гемостаза**  
(АЧТВ, ПВ / ПО / МНО, фибриноген / ТВ, отдельные факторы, антикоагулянты, фибринолиз...)

# ГЛОБАЛЬНЫЕ ТЕСТЫ ГЕМОСТАЗА

## Время свертывания цельной крови (ВСК)

Тест Ли-Уайта (1909 г.) - **в стеклянной пробирке** при комнатной  $t^\circ$

Кровь  
пациента



N=6-11 мин

~~Методика  
Сухарева  
в капиллярах~~

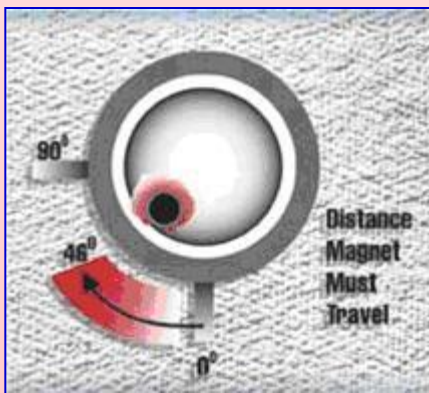
Основное применение теста  
– экспресс-диагностика гру-  
бых нарушений гемостаза  
**вне КДЛ.**

Основные недостатки теста ВСК :

Стандартизация (-), контроль (-), разброс результатов (+)



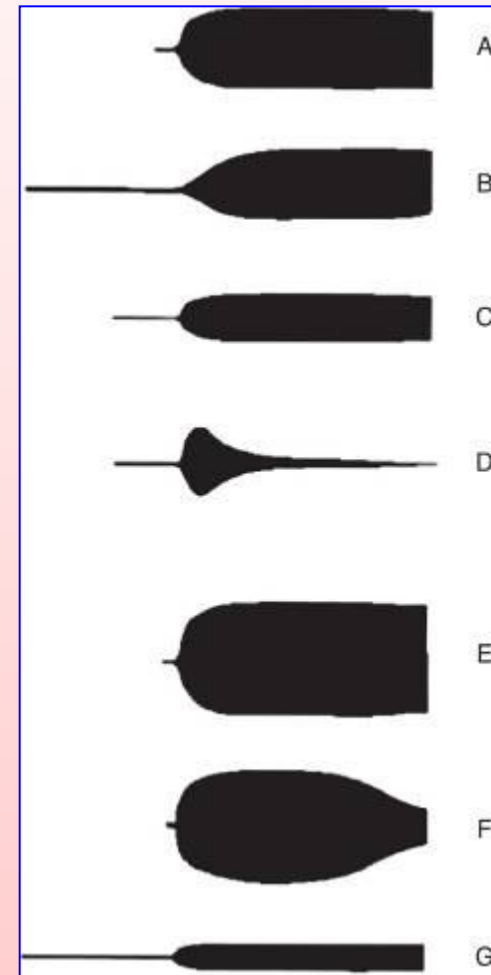
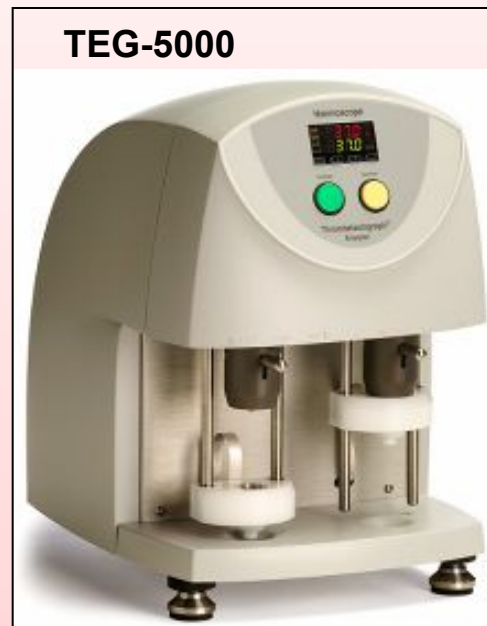
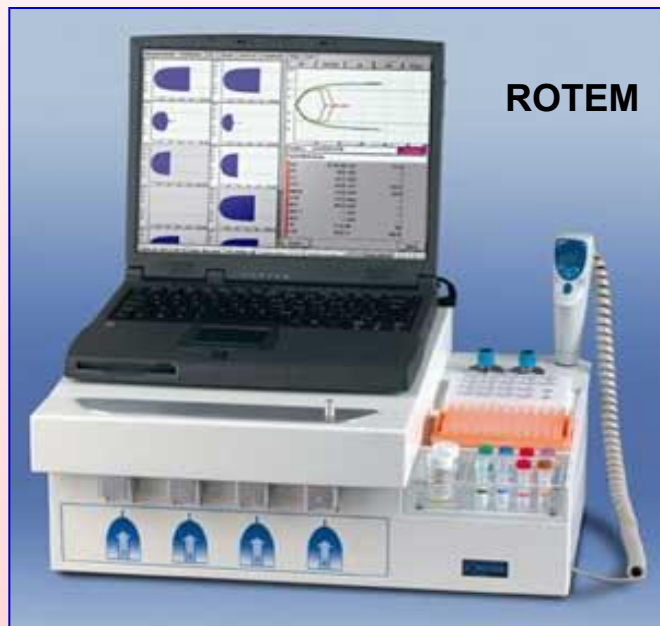
# Экспресс-коагулометры для определения АСТ - времени активированного свертывания крови (для оценки степени гепаринизации при операциях с АИК)



**Actalyke  
(Helena)**

# Тромбоэластометрия / ТЭГ

*Измерение механических характеристик фибринового сгустка цельной крови в процессе образования и лизиса*

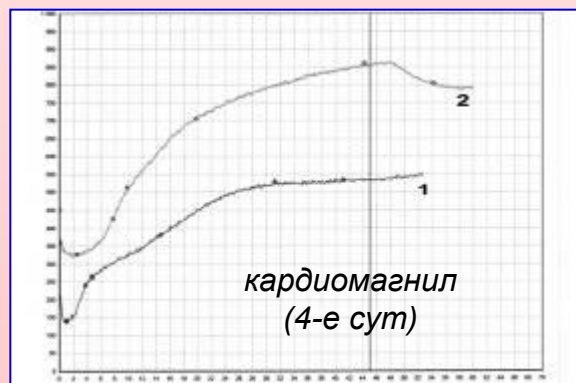
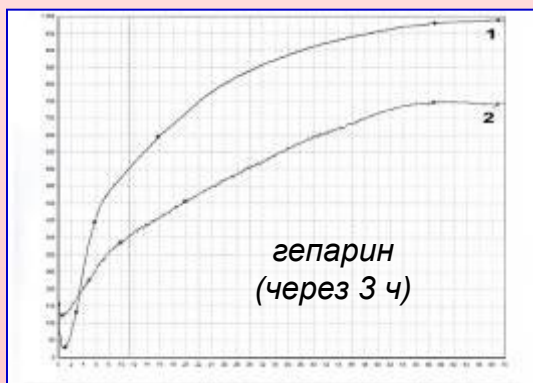
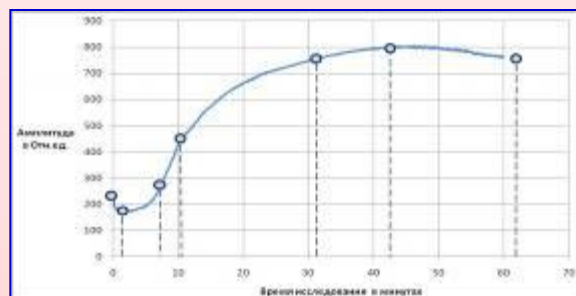
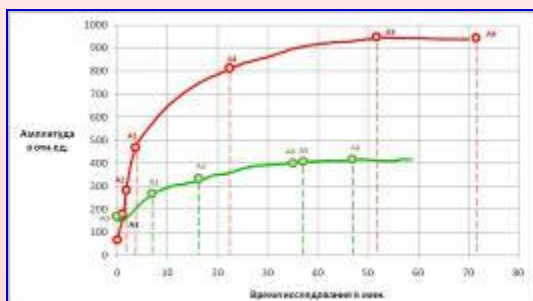


**Время исследования – 15-20 мин**

***Стандартизация (+/-)***

***Контрольный материал (-)***

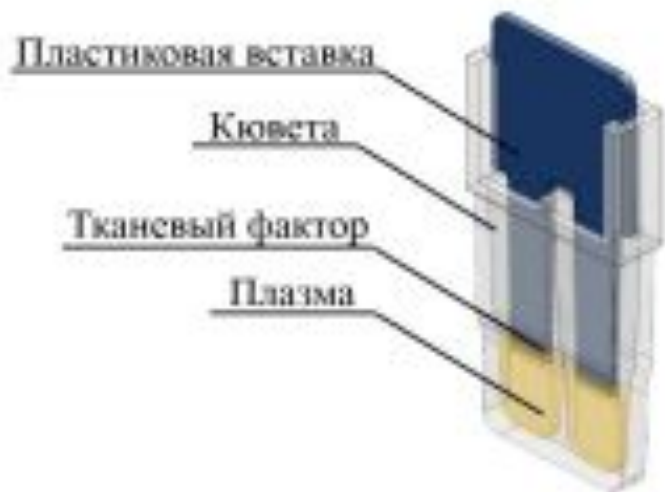
# Пьезокоагулография - АРП-01М «Меднорд»



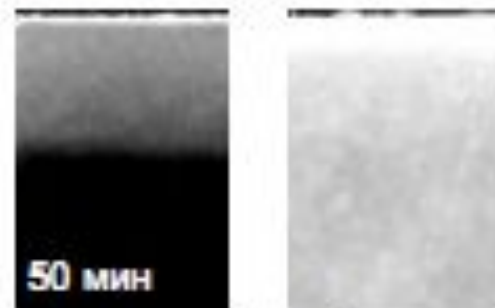
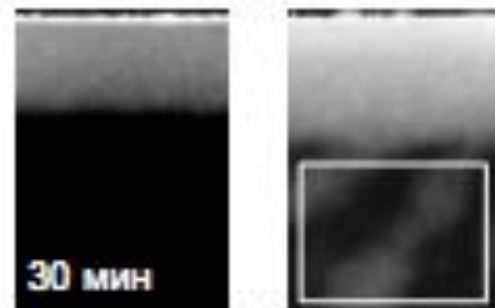
**А0** – начальное агрегатное состояние крови  
**t1, ИКК** – параметры контактной фазы коагуляции  
**КТА** – тромбиновая активность  
**ВСК** – время свертывания крови  
**ИКД** – интенсивность коагуляционного драйва  
**ИПС** – интенсивность полимеризации сгустка  
**T** – время формирования фибрин-тромбоцитарной структуры сгустка;  
**ИРЛС** – интенсивность ретракции / лизиса сгустка.

# Тромбодинамика – ГЕМАКОР (только плазма)

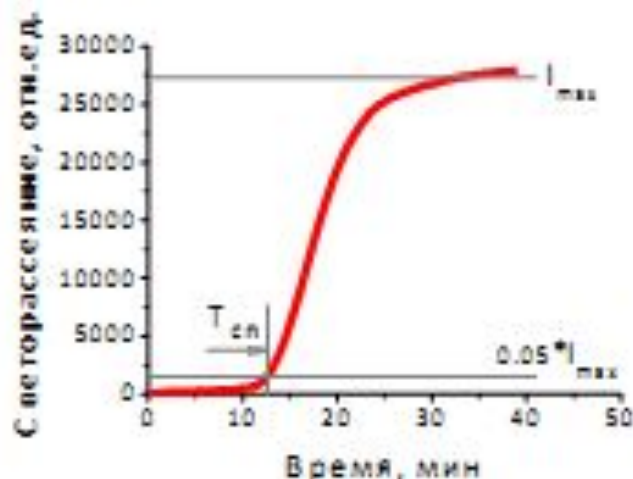
## Схема проведения теста



## Фото растущего сгустка



Гипер-  
коагуляция

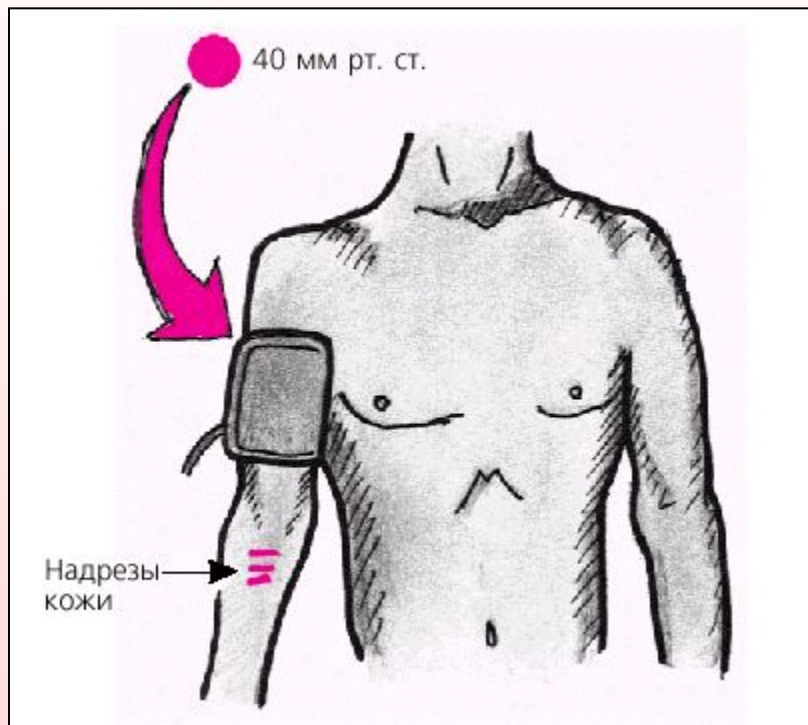


# Тесты тромбоцитарного звена

- ❖ **Длительность кровотечения** при стандартном проколе кожи по Duke, Ivy;
- 
- ❖ **Количество тромбоцитов** - в крови с ЭДТА.
    - ❖ Адекватное перемешивание сразу после взятия.  
Не охлаждать !!!
  - ❖ **Активность тромбоцитов** – по спонтанной / индуцированной агрегации.
-

# Время кровотечения по Айви (Ivy)

Рефер. интервал - 2-9 мин, у детей 3-12 мин. Учет времени – до 15 мин.



**Simplat II,  
Triplett Bleeding  
Time Device,  
скальпель,  
скарификатор...**



Учитывать:  
*t° воздуха, t° тела,  
прием аспирина,  
НСПВ, др. лек-в,  
д-е алкоголя...*

**Удлинение времени кровотечения** - при ТЦ-пении, ТЦ-патии (нарушении агрегации ТЦ), болезни Виллебранда, васкулитах и др.

**Укорочение времени кровотечения** – клинически незначимо.

Чувствительность метода невысока: время кровотечения может быть нормальным при ТЦ-пении (иногда до  $50 \times 10^9/\text{л}$ ).

# Количество тромбоцитов

- ❖ В камере Горяева – недостаточная точность, возможно занижение результатов. CV - до 25-30%.
- ❖ На гематологическом анализаторе – точно, в стандартных условиях, быстро. Важно предотвратить агрегацию ТЦ и ЭР (перемешивание). CV реален = 1-2% - важно для оценки динамики количества ТЦ.



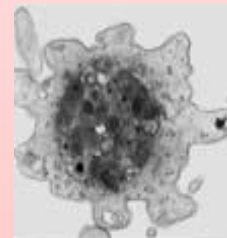
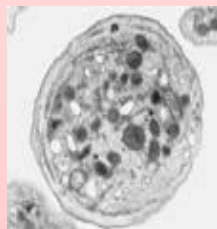
# Тромбоцитопения

Наиболее частая причина кровотечений.

- ◆ **ТЦ <  $100 \times 10^9/\text{л}$**  => возможно удлинение времени кровотечения и излишняя кровопотеря при хирургических вмешательствах

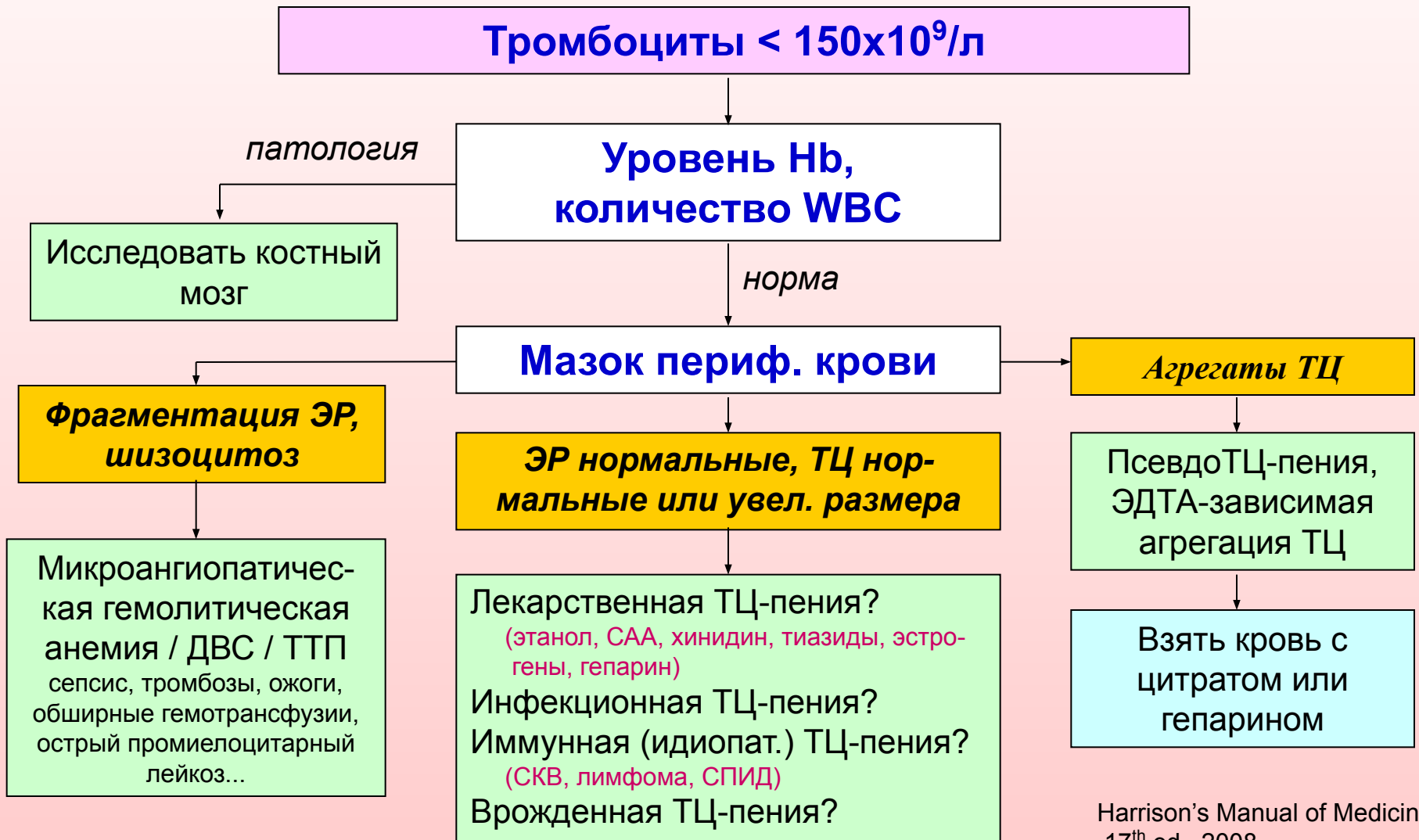
## Тяжелая ТЦ-пения

- ◆ **ТЦ <  $50 \times 10^9/\text{л}$**  => риск самопроизвольных геморрагий
- ◆ **ТЦ <  $20 \times 10^9/\text{л}$**  => высокий риск самопроизвольных кровотечений,
- ◆ **ТЦ <  $10 \times 10^9/\text{л}$**  => серьезные геморрагии (вплоть до фатальных).
- ◆ **В костном мозге** - ↑ **МКЦ** (при разрушении ТЦ) или ↓ **МКЦ** (при нарушениях продукции ТЦ).



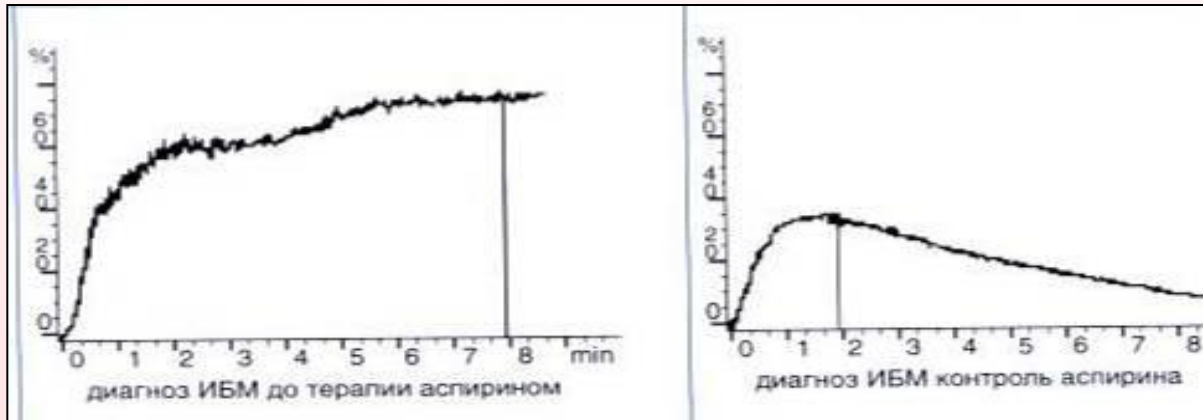


# Алгоритм лабораторного исследования при тромбоцитопении



# Агрегация тромбоцитов

Учесть прием пациентом аспирина и НСПВ в предыд. 9 дней !



BIOLA – 230 LA



CHRONO-LOG



- Стандартизация (+/-); несоответствие данных на разных приборах и разными методами.
- Очень большой вклад в результаты вносят особенности и ошибки преаналитического этапа.

Оптические,  
импедансные и  
люминесцентные  
агрегометры

# Нарушения агрегации тромбоцитов

- ❖ Наследственные (**врожденные**) ТЦ-патии - редко,
  - ❖ Приобретенные нарушения агрегации тромбоцитов - довольно часто:
    - ❖ на фоне приема аспирина, НСПВ и анальгетиков;
    - ❖ при лечении адреноблокаторами, антагонистами кальция, ксантинами и др., иногда - после приема алкоголя;
    - ❖ на фоне некоторых заболеваний (почечная недостаточность, гемобластозы, интоксикации и др.)
-

# Уровень фибриногена

**Клоттинг-методика** (на коагулометре). Норма 2-4 г/л.

- ↓ - **гиперпотребление** (ДВС, травмы, ожоги, состояние после кровотечения), шок, тяжелый токсикоз, лечение фибринолитиками);
- **тяжелая** патология печени ...

«Гипокоагуляция» - при уровне фибриногена < 1,0 г/л

АЧТВ и ПВ НЕ ЗАВИСЯТ от уровня фибриногена, если он > 1-1,5 г/л

---

## Тромбиновое время (ТВ)

**«Фибриноген + антитромбины»**

- гипофибриногенемия (дисфибриногенемии)
- действие **гепарина**, ПДФ, парапротеинов...

**Применение** - для контроля терапии гепарином и фибринолитиками  
- для дифференциации причин удлинения АЧТВ / ПВ

---

# Лабор. тесты при болезни Виллебранда



## Диагностика:

1. ристоцетин-кофакторная активность (vWF:RCo – на агрегометре, реакция с ристомидином),
  2. антиген фактора vWF:Ag – метод ИФА,
  3. кол-во ТЦ, время кровотечения, АЧТВ, ПВ, активность ф.VIII...
-

# Лабораторное тестирование при склонности к тромбозам

---

## КЛИНИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ:

- повторные эпизоды ТГВ, ТЭЛА, ОИМ, ОНМК и др.
  - венозный стаз (беременность, иммобилизация, варикоз вен...)
  - васкулиты, рак, миелопролиферативные заболевания
  - прием оральных контрацептивов, длительное введение гепарина...
- 

## ЛАБОРАТОРНЫЕ ПРЕДИКТОРЫ:

- тромбоцитоз ( $> 600 \times 10^9 / \text{л}$ )
- выраженная гиперфибриногенемия ( $> 6-8 \text{ г/л}$ )
- присутствие ВА / АКЛ
- дефицит АТ III, ПрС, ПрS;
- избыток ф.VIII, РАПС
- тромбогенные мутации G1691A, G20210A...



# Лабораторные маркеры активации гемостаза

## Ранние маркеры тромбинообразования

- Фрагменты протромбина 1+2
- Комплекс тромбин-антитромбин

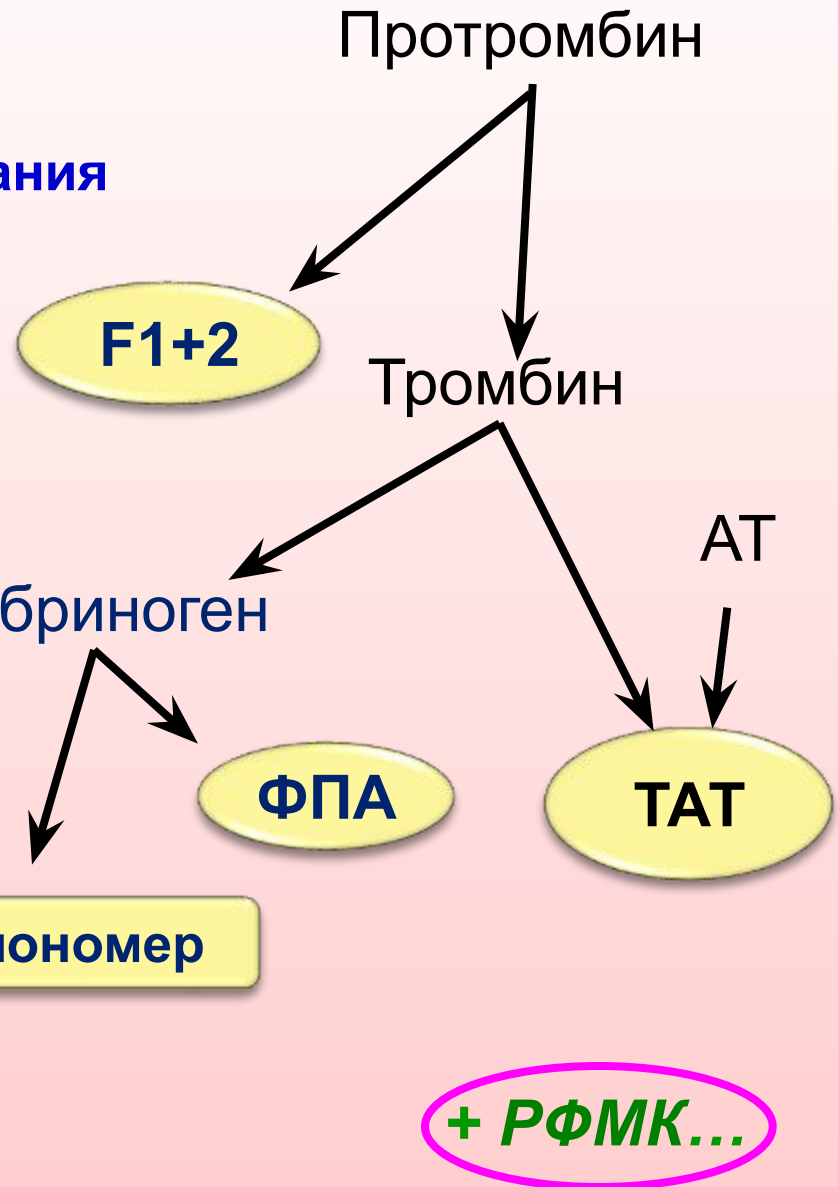
## Непосредственно в момент образования сгустка

- Фибрин-мономеры
- Фибринопептид А

## Поздний маркер



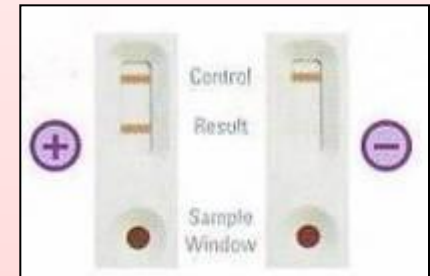
Фибрин



# D-димер

В норме -  $< 0,5$  мкг/мл FEU,  $< 0,25$  мг/л DDU

- ❖ Наиболее надежный маркер образования / лизиса фибриновых сгустков.
- ❖ Определяется иммунологическими методами.
- ❖ Инерционный параметр ( $T_{1/2} = 4-8$  ч).
- ❖ На результаты определения **мало влияют** техника взятия крови, примесь тромбоцитов и т.д.



- ❖ При подозрении на ТГВ/ТЭЛА:

Нет D-димера = нет тромбов



# Уровень D-димера может быть повышен:

---

- ❖ при инфекционных и воспалительных заболеваниях,
  - ❖ после травм и хирургических операций, особенно на крупных костях и суставах – *маркер риска послеоперационного тромбоза*,
  - ❖ при злокачественных новообразованиях,
  - ❖ при атеросклерозе и сахарном диабете – *признак активности процесса*.
- 
- ❖ при беременности (до 3-4 раз),
  - ❖ в пожилом возрасте,
  - ❖ при малоподвижности и иммобилизации.
- 

NycoReaderII™



# Лабораторные исследования при Д В С

(тромбогеморрагический синдром, базовые тесты)

## 1. Активация свертывания и фибринолиза

- D-димер, РФМК.

## 2. Потребление плазменных факторов

- **динамика** фибриногена, АТ-III, АЧТВ, ПВ, ТВ.

## 3. Клеточные маркеры ДВС

- **динамика** количества тромбоцитов и их спонтанной агрегации, умеренная анемия, шистоцитоз, фрагментация эритроцитов.

# **Лабораторное тестирование при приеме препаратов, влияющих на гемостаз**

**Основная цель:** не допустить передозировки и развития геморрагических осложнений.

**Дополнительная цель:** оценить эффективность терапии.

*Требования к методам мониторинга действия лекарственных препаратов:*

**оперативность, доступность, информативность, стандартизация**

# МНО капиллярной крови



**INRatio**  
(HemoSense Inc.)



**ProTime**  
(ITC)



**CoaguChek XS**  
(Roche Diagnostics)

- **Меньшая точность и воспроизводимость результатов**, зависимость от гематокрита
- **Лучше выполнять на специальном коагулометре**, либо использовать реактивы для малых объемов крови **Hepato Quick / Thrombotest** (содержат фибриноген и ф.V)
- **Длительность взятия крови - не более 10-15 с**



# Тесты лабораторной оценки гемостаза

Рекомендации Всероссийской Ассоциации по изучению тромбозов, геморрагий и патологии сосудов им. А.В.Шмидта – Б.А.Кудряшова, 2011 г (пересмотр).

## Оценочные (скрининговые) тесты – лаборатории первичного звена

**Количество тромбоцитов, время кровотечения** (только при подготовке к операциям на ЛОР-органах у детей, при геморрагиях и подозрении на недостаток гемостаза),  
**АЧТВ, ПВ (МНО), уровень фибриногена, D-димер**

## Дополнительные тесты

### При кровоточивости

**Время кровотечения**  
Кол-во ТЦ, индуцированная агрегация ТЦ  
**Фактор Виллебранда** (активность и АГ)  
АЧТВ, ПВ, фибриноген  
**Факторы VIII, IX и др., их ингибиторы**  
**Лизис эуглобулинов**  
**Микс-пробы с РНП и дефиц. плазмами**

### При артер. / венозн. тромбозах

Количество тромбоцитов  
**АТ III, ПрС, ПрS, аРС-резистентность**  
**Генетическое тестирование** на мутации генов ф.V (Leiden) и протромбина  
**D-димер, ф.VIII, vWF (антиген)**  
**Гомоцистеин** (в динамике)  
**Волчаночный АК (>2 раз, через 12 нед), АТ к  $\beta_2$ -ГП 1**