

Automatizované stanovení cirkulujícího antikoagulans na automatickém koagulometru CN-6000

Pavla Bradáčová, Eliška Jará, Linda Baráková

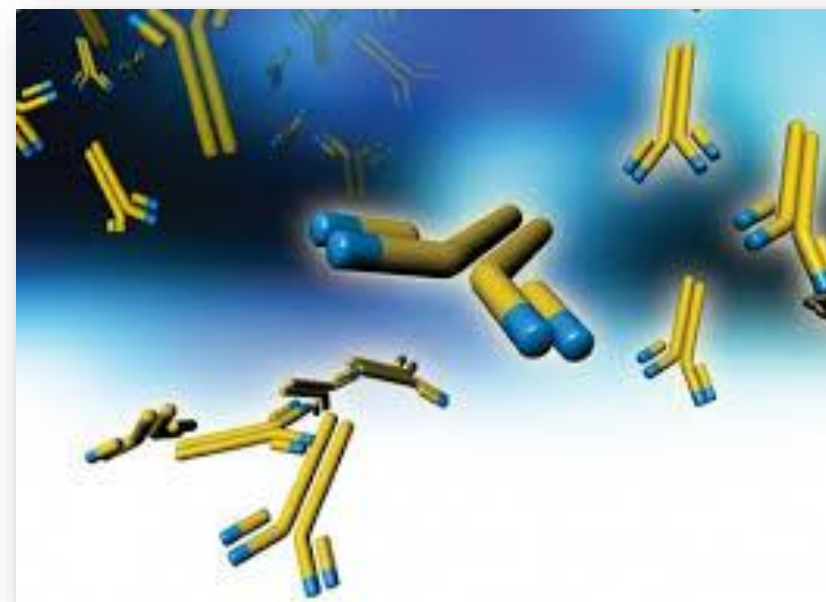
Oddělení klinické hematologie, Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem

Koagulační seminář Siemens Healthineers

12.6.2025 Praha

Cirkulující antikoagulans

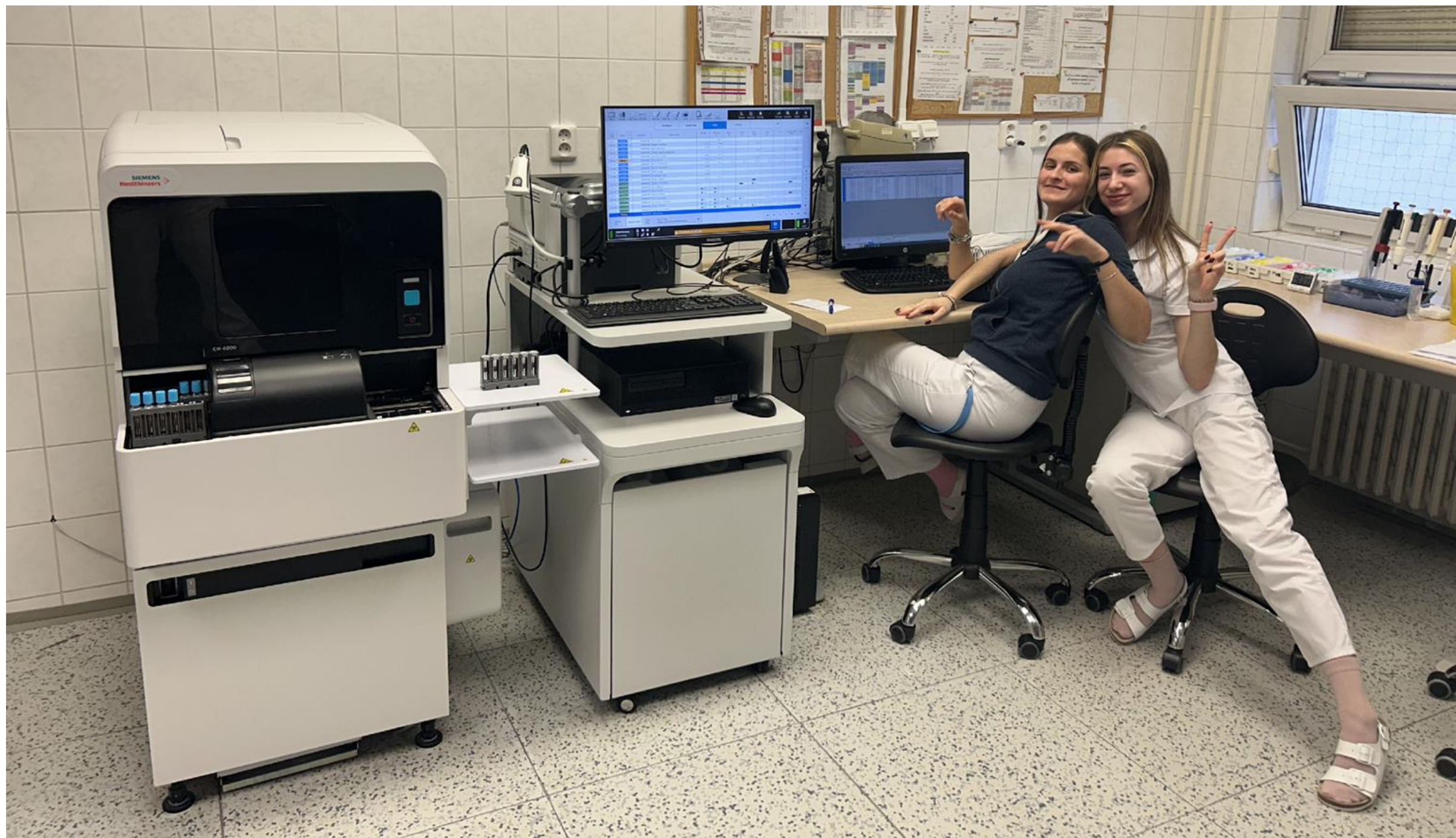
- **Endogenní produkty, které působí na hemostázu**
 - Autoprotilátky, aloproulátky, xenoproulátky
- **Specifické inhibitory**
 - Inhibitory koagulačních faktorů = získaná hemofilie
- **Nespecifické inhibitory**
 - Vazba na negativně nabitě fosfolipidy
 - Antifosfolipidové proulátky typu lupus antikoagulans



Stanovení cirkulujícího antikoagulans

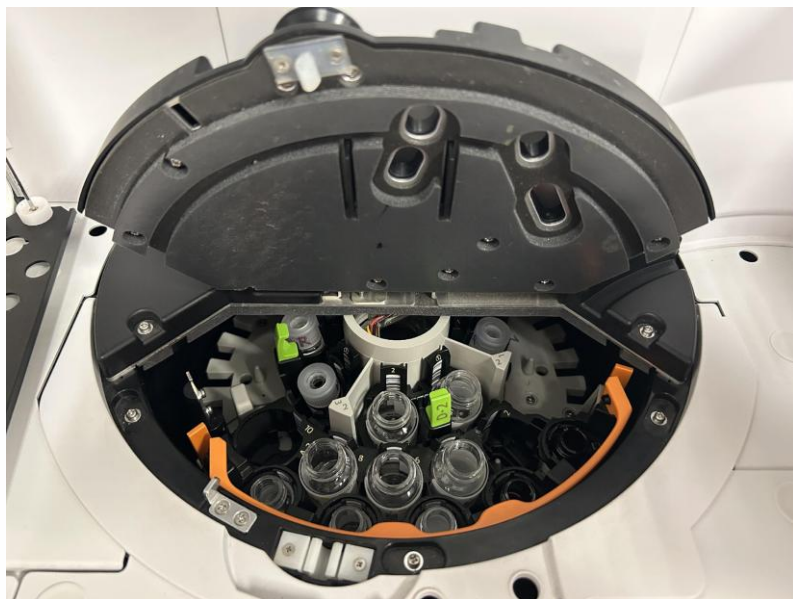
- Stanovení CIRK provádíme při **prodlouženém APTT nebo PT**
- **Orientační test na základě APTT (PT) napomůže odlišit:**
 - Přítomnost specifického inhibitoru
 - získaná hemofilie
 - Přítomnost lupus antikoagulans
 - Deficit koagulačního faktoru
- Provádíme na koagulometru CN-6000 v režimu 7/24





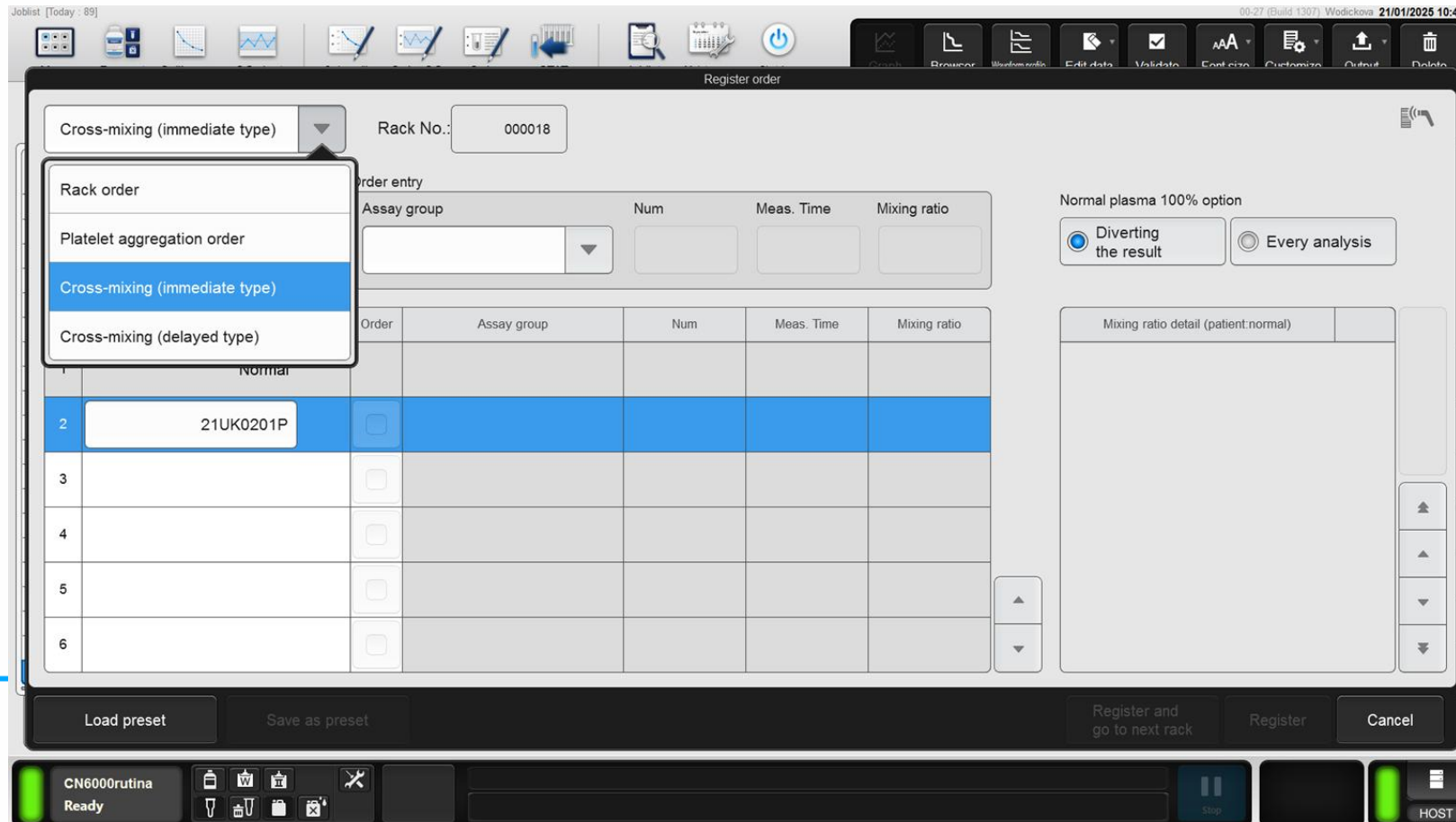
Metodika – měření před inkubací

- Do přístroje vložíme reagentie pro **APTT Pathromtin SL**
- Vložíme rack s **normální plazmou** a vyšetřovaným **vzorkem pacienta** ve zkumavce



Metodika – měření před inkubací

- V analyzátoru v Order vybereme protokol pro CIRK Cross-mixing (immediate type)



Metodika – měření před inkubací

- Vybereme metodu APTT cirk (nebo PT cirk)

Joblist [Today: 89] 80-27 (Build 1307) Wodickova 21/01/2025 10:49

Register order

Cross-mixing (immediate type) Rack No.: 000018

Order entry

Assay group: APTT cirk Num: 1 Meas. Time: Auto (max:180) Mixing ratio: Mix5

Normal plasma 100% option

☒ Diverting the result ☐ Every analysis

Pos.	Sample No.	Assay group	Num	Meas. Time	Mixing ratio
1	Normal				
2	21UK0201P	APTT cirk	1	Auto (max:180)	Mix5
3			1	Auto (max:180)	Mix5
4		APTT cirk	1	Auto (max:180)	Mix5
5		APTT cirk	1	Auto (max:180)	Mix5
6		APTT cirk	1	Auto (max:180)	Mix5

Mixing ratio detail (patient:normal)

Mixing ratio detail (patient:normal)	
0:100	☒
20:80	☒
50:50	☒
80:20	☒
100:0	☒

Load preset Save as preset Register and go to next rack Register Cancel

CN6000rutina Ready

Stop HOST

Metodika – měření před inkubací

- Zaklikneme první řádek – Register - Start

Joblist [Today : 89] 00:27 (Build 1307) Wodickova 21/01/2025 10:52

Register order

Cross-mixing (immediate type) Rack No.: 000018

Order entry

Assay group: APTT cirk Num: 1 Meas. Time: Auto (max:180) Mixing ratio: Mix5

Normal plasma 100% option
☒ Diverting the result ☐ Every analysis

Pos.	Sample No.	Order	Assay group	Num	Meas. Time	Mixing ratio
1	Normal					
2	21UK0201P	☒	APTT cirk	1	Auto (max:180)	Mix5
3		☐	APTT cirk	1	Auto (max:180)	Mix5
4		☐	APTT cirk	1	Auto (max:180)	Mix5
5		☐	APTT cirk	1	Auto (max:180)	Mix5
6		☐	APTT cirk	1	Auto (max:180)	Mix5

Mixing ratio detail (patient:normal)

0:100	☒
20:80	☐
50:50	☐
80:20	☐
100:0	☐

Load preset Save as preset Register and go to next rack Register Cancel

CN6000rutina Ready

Stop HOST

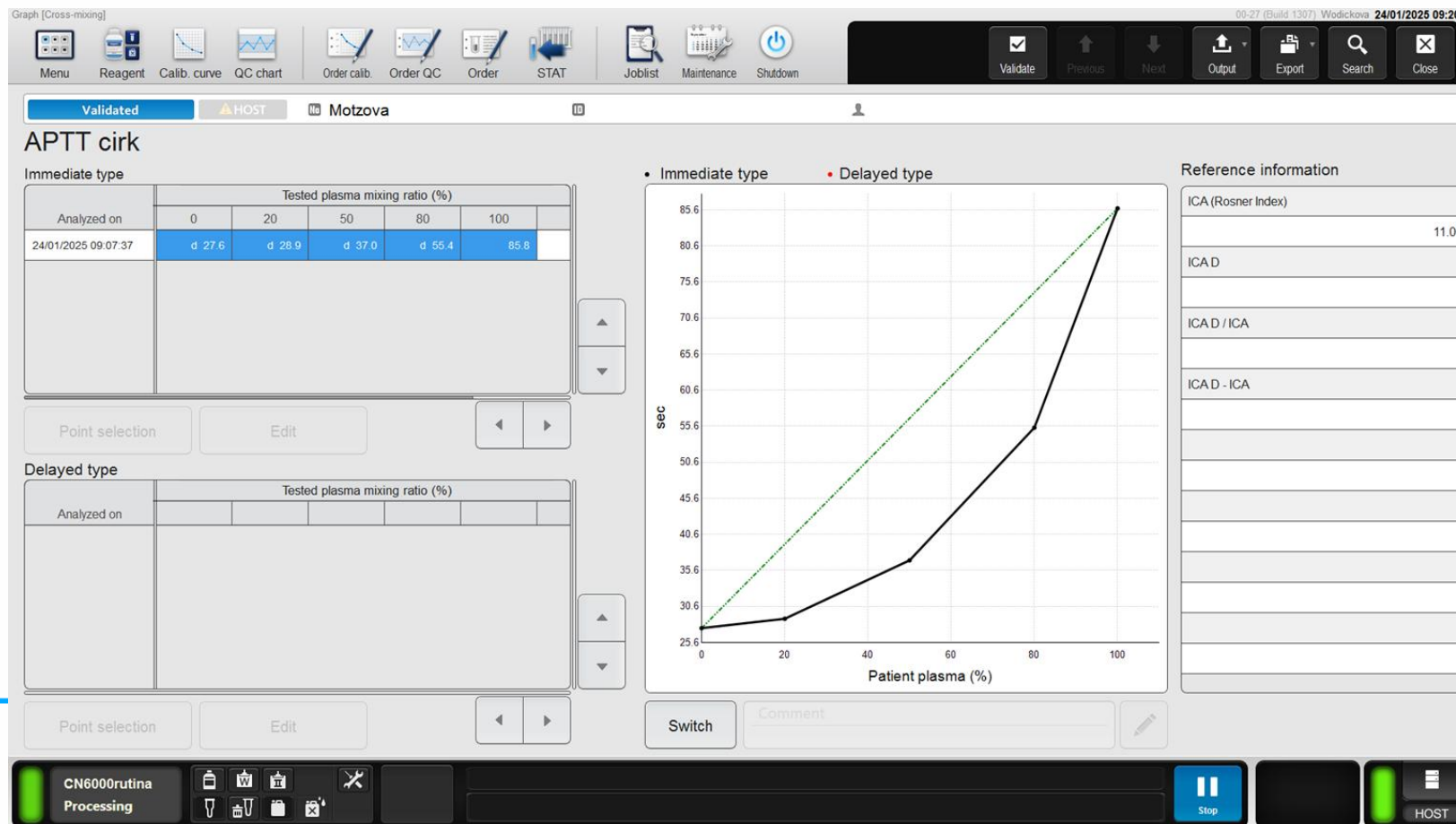
Metodika – měření před inkubací

- Přístroj provede měření 5x APTT dle protokolu:

1	2	3	4	5
0 %	20 %	50 %	80 %	100 %
Normální plazma	Směs normální plazma + plazma pacienta			Plazma pacienta
	4 + 1	1 + 1	1 + 4	

Metodika – měření před inkubací

- Časy APTT analyzátor vynese do křivky



Metodika – měření po inkubaci

- Laborant připraví obdobným způsobem 5 eppendorfek:

1	2	3	4	5
0 %	20 %	50 %	80 %	100 %
Normální plazma	Směs normální plazma + plazma pacienta			Plazma pacienta
	4 + 1	1 + 1	1 + 4	

- Inkubujeme 2 hod/ 37°C v suché lázni

Metodika – měření po inkubaci

- Po inkubaci vložíme 5 eppendorfek do přístroje



Metodika – měření po inkubaci

- V Order vyberem Cross-mixing (delayed type) – vybereme původní immediate sample - Register - Start

Joblist [Specify date : 168] 05:27 (Build 1307) Wodickova 21/01/2025 11:08

Register order

Cross-mixing (delayed type) Rack No.: 000021

Select the immediate sample intended to superimpose
21UK0201P 21/01/2025 10:54

Assay group
APTT cirk

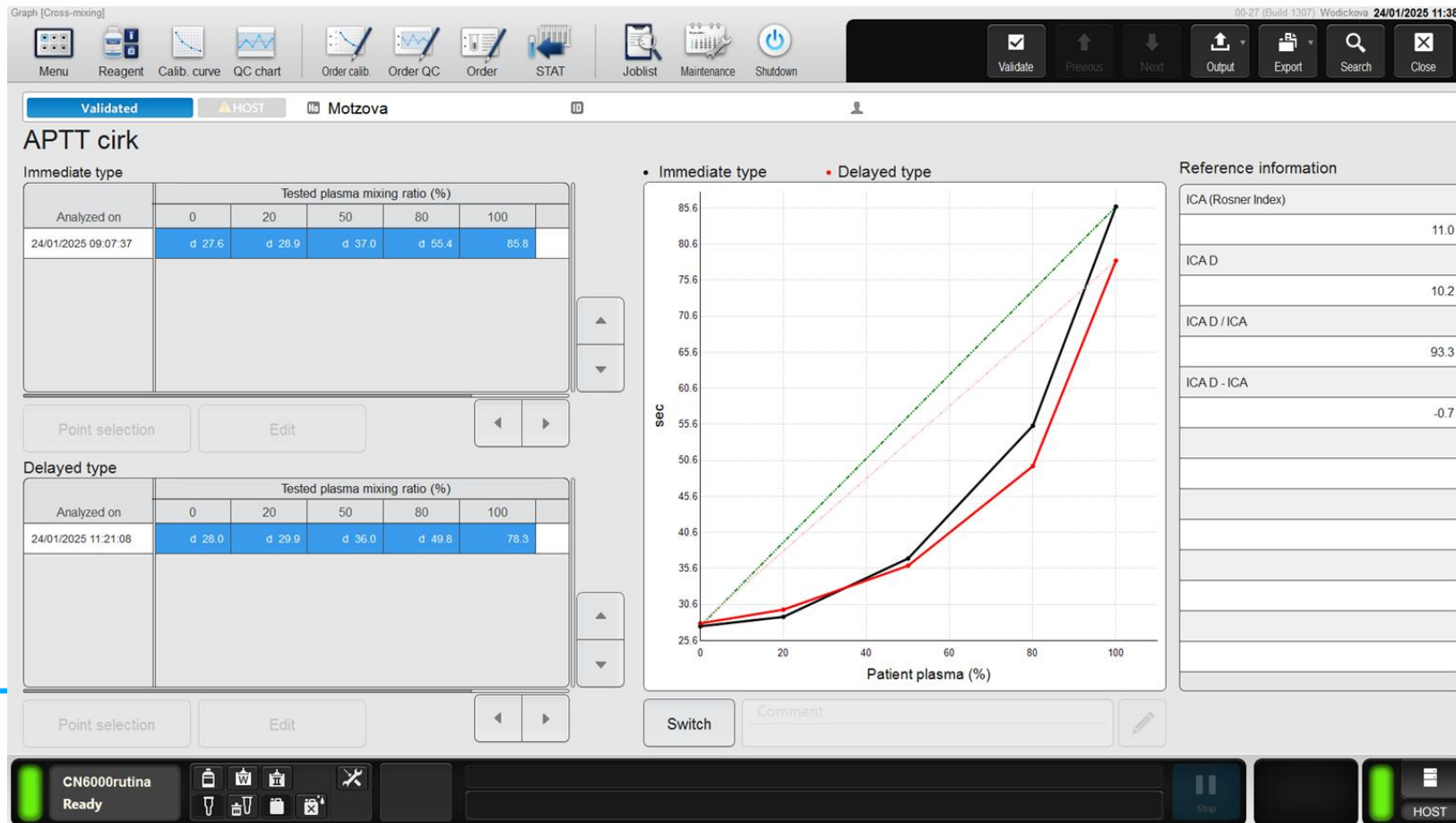
Pos.	Sample No.	Num	Meas. Time	Mixing ratio	Mixing ratio (patient:normal)
1	21UK0201P	1	Auto (max:180)	0/1_D	0:100
2	21UK0201P	1	Auto (max:180)	1/5_D	20:80
3	21UK0201P	1	Auto (max:180)	1/2_D	50:50
4	21UK0201P	1	Auto (max:180)	4/5_D	80:20
5	21UK0201P	1	Auto (max:180)	1/1_D	100:0
6					

Register Cancel

CN6000rutina Processing Stop HOST

Metodika – měření po inkubaci

- Analyzátor změří 5x APTT, časy vynese do křivky k prvnímu měření před inkubací



CN-6000
provede
automatické
výpočty ICA
indexu

Index cirkulujícího antikoagulans ICA

- ICA = Rösnerův index

- ICA = před inkubací
- ICA delayed = po inkubaci 37°C/ 2 hod
- ICA D / ICA
- ICA D – ICA

$$\text{ICA} = \frac{\text{směs 1:1} - \text{normal}}{\text{pacient}} \times 100$$

Reference information

ICA (Rosner Index)	
	11.0
ICA D	
	10.2
ICA D / ICA	
	93.3
ICA D - ICA	
	-0.7

Interpretace ICA

	ICA	ICA delayed	ICA D / ICA	ICA D - ICA
Deficit faktoru	< 12	< 12	≤ 132 %	≤ 6,4
Lupus antikoagulans	> 15	> 15	≤ 132 %	≤ 6,4
Specifický inhibitor	< 12 > 12	> 15	≥ 132 %	≥ 6,4

Kazuistika I - B.M. chlapec 5 let

- Dosud vážněji nestonal, porod v pořádku.
- Ve 4 letech sražen autem – provedena osteosyntéza v kotníku v okresní nemocnici – plánuje se extrakce kovu.
- Nyní pacient přichází **na vyšetření před adenotomií**. Bez krvácivých projevů.
- Laboratoř:

Koagulace

APTT-R > 5 (> 180 s)

PT-R 1,08

TT 15,5 s

Krevní obraz

WBC $9,0 \times 10^9/l$

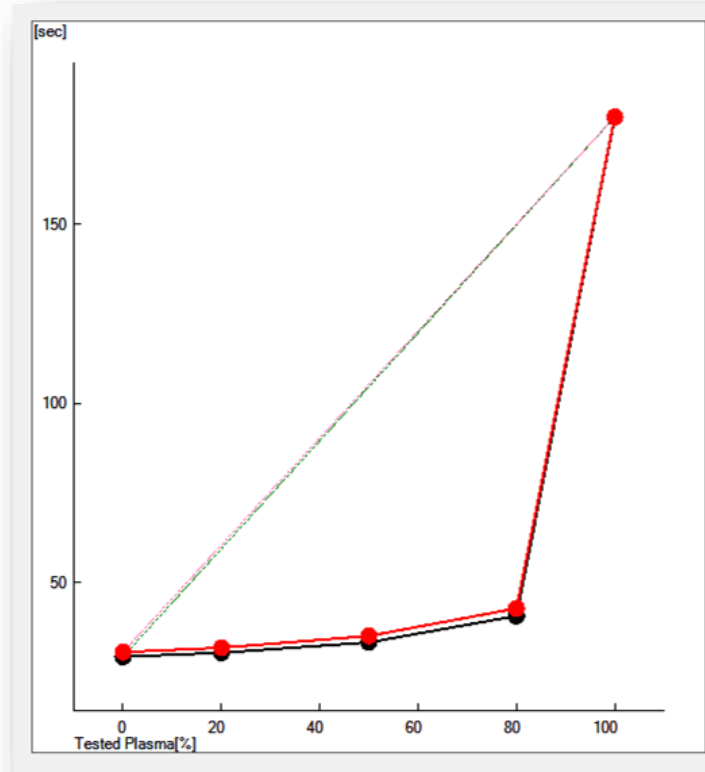
RBC $4,85 \times 10^{12}/l$

HGB 117 g/l

PLT $419 \times 10^9/l$

Cirkulující antikoagulans APTT

- **Před inkubací**
 - ICA = 2,2
- **Po inkubaci 2 hod/ 37°C**
 - ICA D = 2,5
- ICA D / ICA = 112,5
- ICA D – ICA = 0,3
- **Susp.deficit koagulačního faktoru**



Interpretace

Provedeno vyšetření koagulačních faktorů:

- FVIII 132 %, FXI 84 %, FXI 84 %, **FXII 0 %**
- vWF:Ac 103%, vWF:Ag 119 %
- LA negativní
- Deficit FXII nezapříčiňuje krvácení, pacient může adenotomii podstoupit.

Kazuistika II - J.J. muž 69 let

- Ca prostaty inoperabilní, po oboustranném srdečním selhání, trvalá kardiostimulace, obézní BMI 43, diabetes, hypertenze, Warfarin
- Pacient poslán do nemocnice praktickým lékařem pro **zhoršující se erysipel na PDK**, Warfarin vysazen před 4 dny
- Laboratoř:

Koagulace

APTT-R 3,36 (102,6 s)

PT-R 10,55 (121,0 s)

FBG 6,3 g/l

AT 80,8 %

D-dimery 0,86 mg/l

TT 16,8 s

Krevní obraz

WBC 7,0 x 10⁹/l

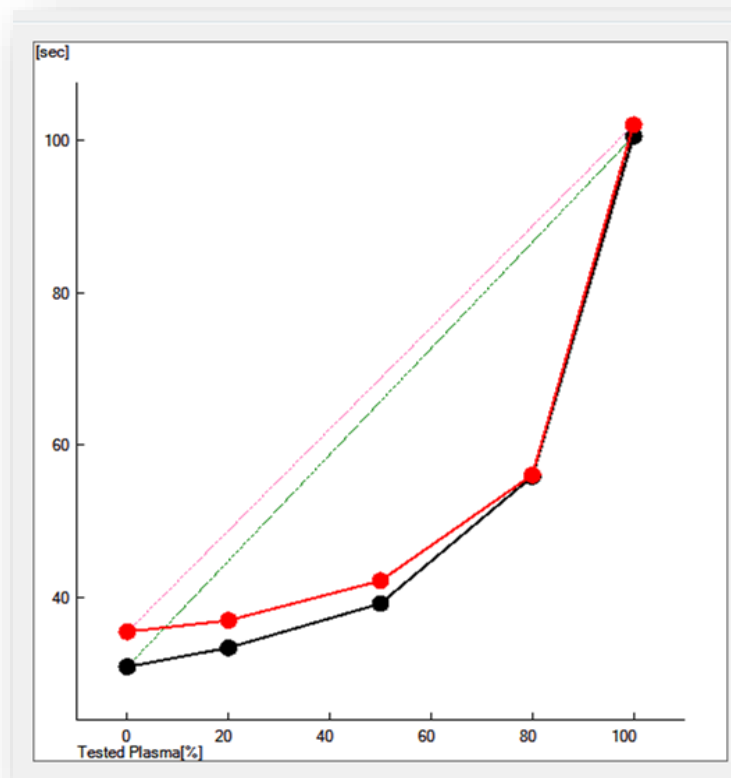
RBC 2,92 x 10¹²/l

HGB 77 g/l

PLT 224 x 10⁹/l

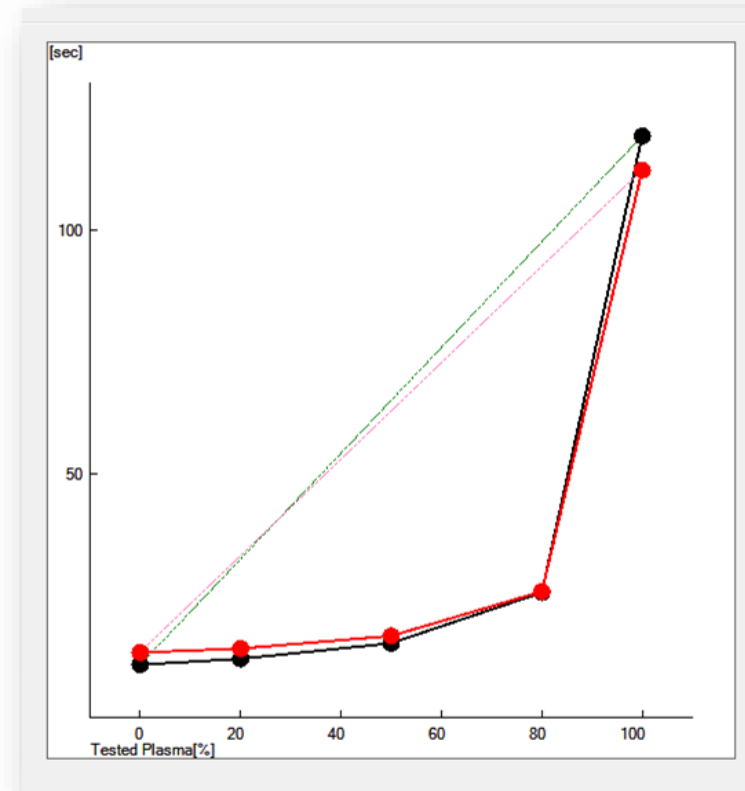
Cirkulující antikoagulans APTT

- **Před inkubací**
 - ICA = 8,3
- **Po inkubaci 2 hod/ 37°C**
 - ICA D = 6,6
- $ICA D / ICA = 79,5$
- $ICA D - ICA = -1,7$
- **Susp.deficit koagulačního faktoru**



Cirkulující antikoagulans PT

- **Před inkubací**
 - ICA = 3,7
- **Po inkubaci 2 hod/ 37°C**
 - ICA D = 3,0
- ICA D / ICA = 82,1
- ICA D – ICA = -0,7
- **Susp.deficit koagulačního faktoru**



Interpretace

Provedeno vyšetření koagulačních faktorů:

- **FII 15 %**, FV 75 %, **FVII 2,6 %**, **FX 12 %**
- FVIII 479 %, **FIX 16 %**, FXI 75 %, FXII 52 %
- Snížení vitamín K dependentních koag.faktorů. Přetrvá vliv Warfarinu.
- Podán vitamin K, za dva dny normalizace koagulace.

Kazuistika III - K.M. chlapec 6 let

- Dosud zdravý, pouze běžné nemoci
- Odeslán pediatrem pro **výskyt petechií až sufuzí na dolních končetinách**
- Bez teplot, před 14 dny viróza, kašel, před 2 dny průjem
- Laboratoř při příjmu:

Koagulace

APTT-R 2,54 (82,8 s)

PT 1,12

FBG 3,26 g/l

AT 96 %

D-dimery 1,59 mg/l

TT 17,1 s

Krevní obraz

WBC $7,5 \times 10^9/l$

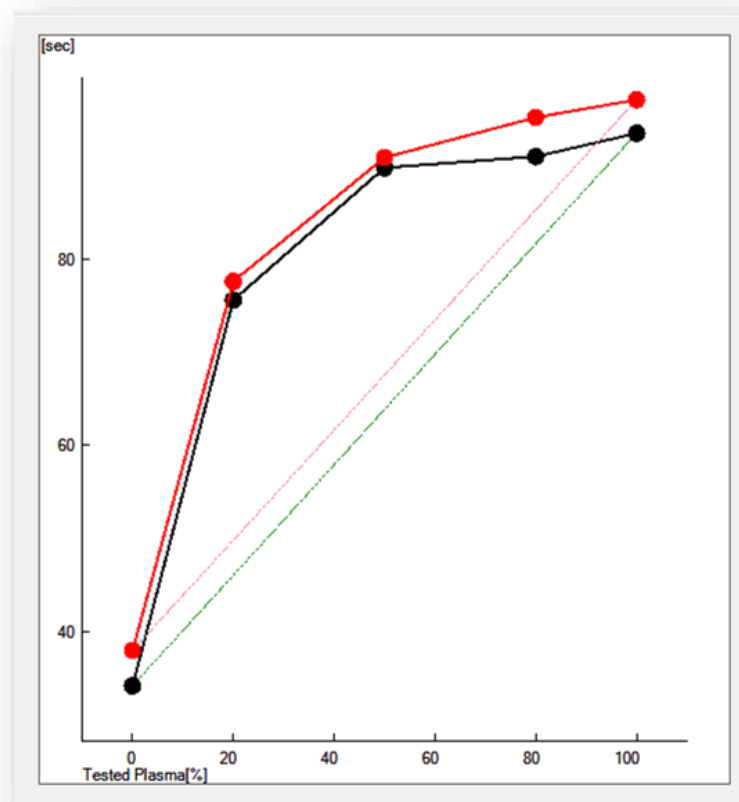
RBC $4,96 \times 10^{12}/l$

HGB 132 g/l

PLT $242 \times 10^9/l$

Cirkulující antikoagulans APTT

- Před inkubací
 - ICA = 59,5
- Po inkubaci 2 hod/ 37°C
 - ICA D = 54,5
- $ICA D / ICA = 91,6$
- $ICA D - ICA = -5,0$
- Suspektní lupus antikoagulans



Interpretace

Provedeno vyšetření lupus antikoagulans:

- **LA – pozitivní** (LA NR = 1,75), FVIII 135 %
- Zopakováno po 12 týdnech **LA – pozitivní** (LA NR = 1,73)
- Příčinou prodlouženého APTT je pozitivita LA.
- Jako **příčina petechií při normálním počtu PLT** byla diagnostikována **Henochova-Schönleinova purpura**, častá vaskulitida dětského věku s převážným postižením drobných cév. Často následuje po infekci horních cest dýchacích.

Kazuistika IV - F.M. muž 82 let

- Pacient FV Leiden heterozygot
- Opakované flebotrombózy a infarkt myokardu
- Prostatektomie pro Ca prostaty
- Užívá Warfarin
- **Provedena extrakce zubu 47** (před výkonem převeden na Clexan)
- Od té doby **krvácí ze zubního lůžka** (meléna pro polykání krve)
- 3. den po výkonu hospitalizován v okresní nemocnici
- APTT je prodloužené

- 10. den po výkonu pacient stále krvácí, překlád do Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem

- **Koagulace**

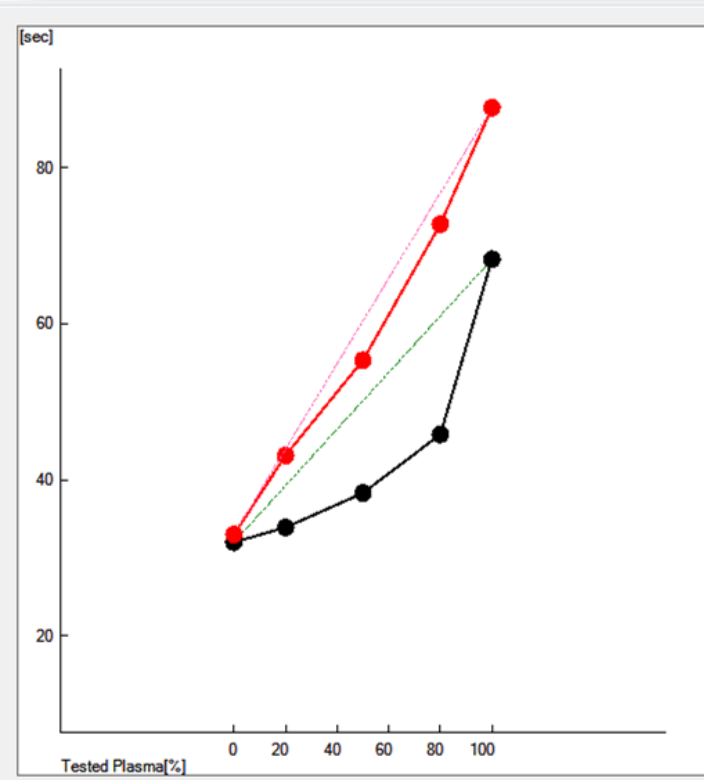
- APTT-R 2,18 (66,5 s)
- INR 1,15
- FBG 4,16 g/l
- AT 76 %
- D-Dimery 0,91 mg/l
- TT 14,3 s
- PFA 114 s

- **Krevní obraz**

- WBC 10,0 x 10⁹/l
- RBC 3,44 x 10¹²/l
- HGB 103 g/l
- PLT 134 x 10⁹/l

Cirkulující antikoagulans APTT

- Před inkubací
 - ICA = 9,2
- Po inkubaci 2 hod/ 37°C
 - ICA D = 25,5
- ICA D / ICA = 275,6
- ICA D – ICA = 16,2
- Susp.specifický inhibitor faktoru



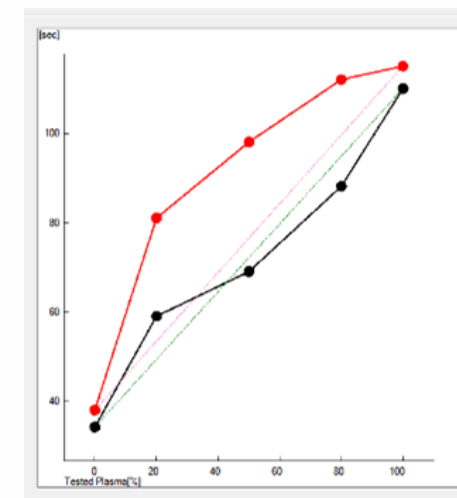
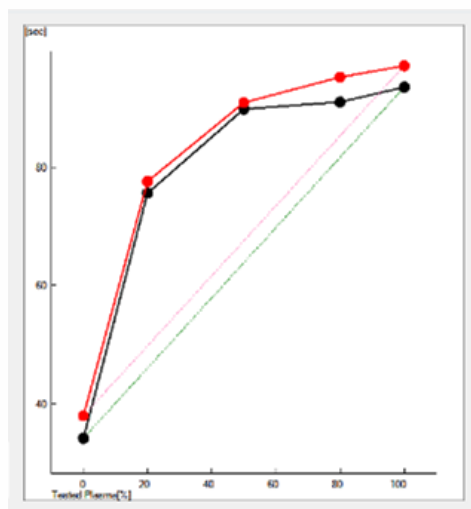
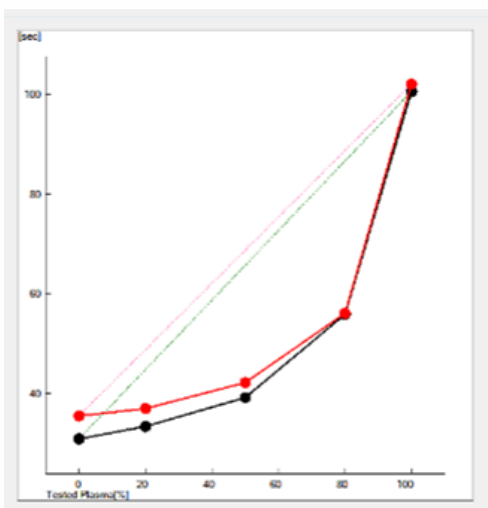
Interpretace

Provedeno vyšetření FVIII a jeho specifického inhibitoru FVIII:

- Inhibitor FVIII 8,2 BU (norma <0,5 BU)
- FVIII 3,3 %
- LA negativní
- Zahájena léčba kortikosteroidy, podán Novoseven.
- Po 3 dnech léčby inhibitor FVIII 5,0 BU, FVIII 11,9 %
- Po 1 měsíci vymizení inhibitoru, normalizace FVIII.

Shrnutí

- V diferenciální diagnostice prodlouženého APTT stanovení **cirkulujícího antikoagulans** napomůže **odlišit deficit koagulačního faktoru, LA od získané hemofilie**.
- Provedení na analyzátoru CN-6000 je snadné a dobře interpretovatelné.
- Ukazatel dalšího vyšetřovacího postupu.



Děkuji za pozornost