

Vliv preanalytických faktorů na stabilitu koagulačních proteinů

KOAGULAČNÍ SEMINÁŘ
SIEMENS HEALTHINEERS
12. června 2025

Ing. Tereza Fenclová, Ph.D.
NRL pro poruchy hemostázy, ÚHKT Praha

Úvod

- **Pre-analytická fáze koagulačního vyšetření:**
 - **správný odběr:** zkumavka, pořadí, zabránění kontaminaci z kanyly, promíchání
 - **transport vzorku:** teplota, rychlost transportu (potrubní pošta – po validaci!; NELZE pro vzorky na vyšetření agregace destiček, TEG a TGA)
 - **zpracování vzorku:** centrifugace, oddělení plazmy, opakovaná centrifugace, skladování před analýzou, mražení plazmy

Zpracování a skladování vzorku

- **Zmražená plazma** v hematologické laboratoři:
 - **Pacientské vzorky** uchované pro pozdější analýzu (rutina, studie)
 - **Kontrolní materiál** (směsná plazma, vzácné vzorky pacientů, alikvoty komerčních kontrol, vzorky z EHK)
- Doba použitelnosti je odhadovaná na 2-6 měsíců
- **Mražení:**
 - správná technika zmražení: co nejrychleji od odběru, co nejnižší teplota (alespoň na -40°C , standard -70 až -80°C nebo ideálně kapalný dusík) s minimálním kolísáním
 - správné rozmražení (5-10 min v lázni 37°C) a promíchání!
 - **doba skladování?**
- Zde vzniká největší variabilita a prostor pro ovlivnění výsledků analýzy
- **Cíl práce:** Prověření vlastností plazmy mražené za různých podmínek se zaměřením na:
 - Stabilitu měřených parametrů v čase
 - Přibližnou dobu použitelnosti pro kontrolu kvality

Effects of frozen storage conditions and freezing rate on the stability of coagulation proteins in human plasma

Fenclova, Tereza^{a,b}; Marecek, Frantisek^a; Hrachovinova, Ingrid^a

Author Information

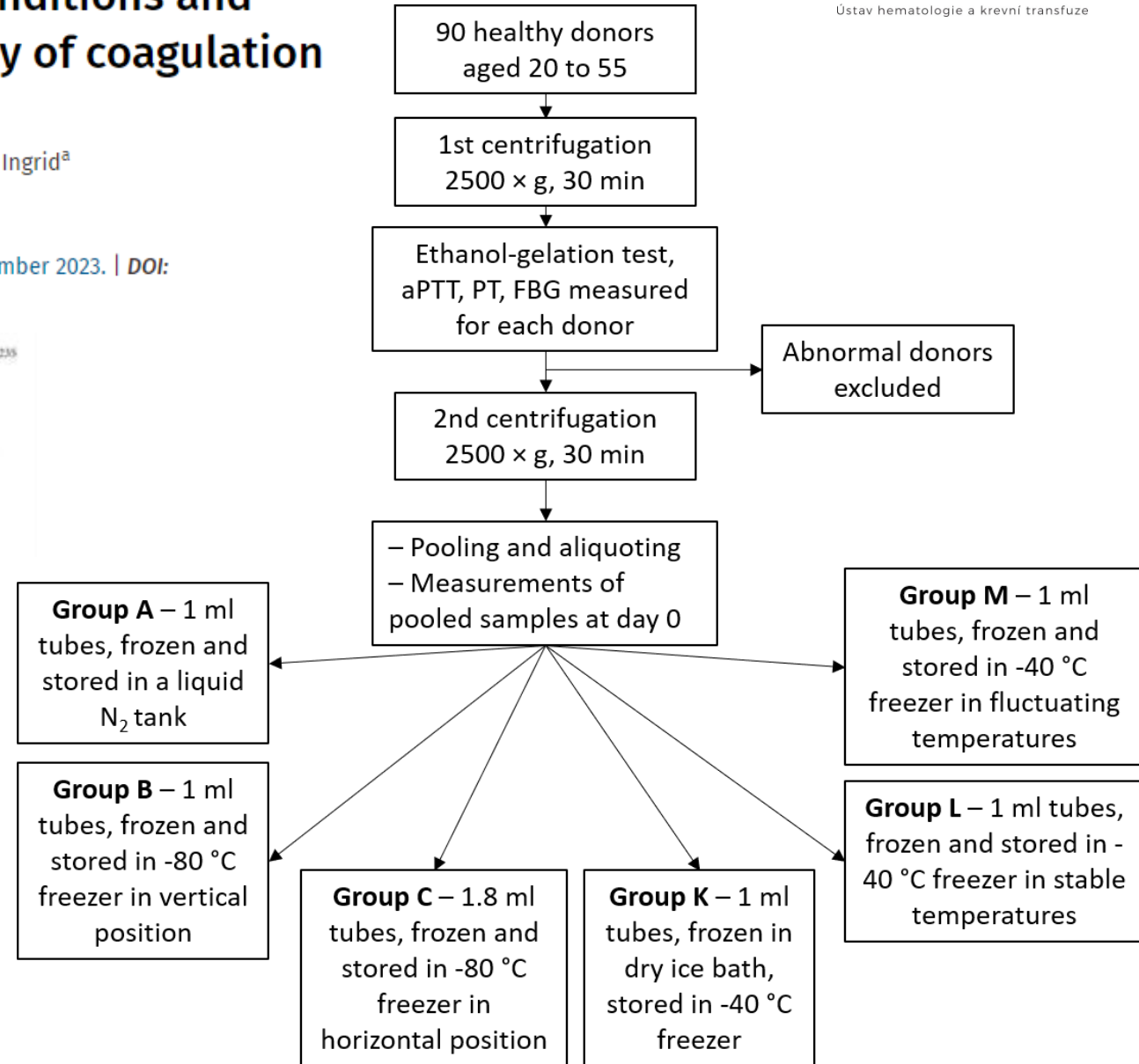
Blood Coagulation & Fibrinolysis 34(6):p 377-384, September 2023. | DOI: 10.1097/MBC.0000000000001239



VOLUME 34
NUMBER 6
September 2023

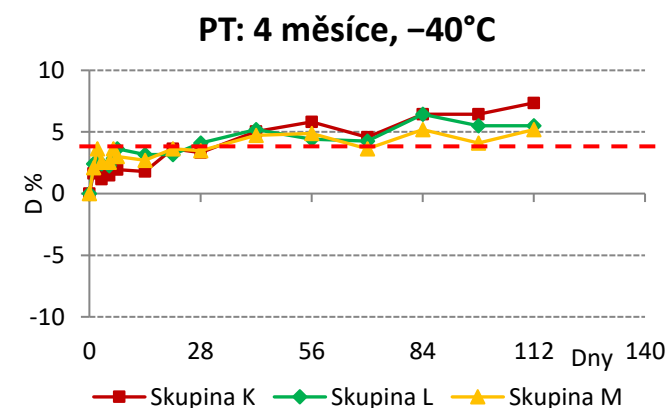
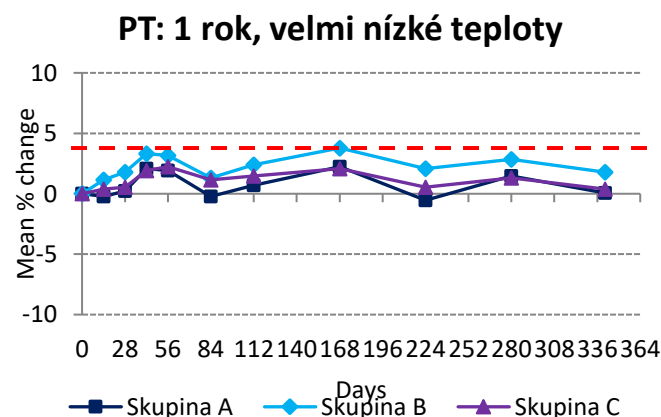
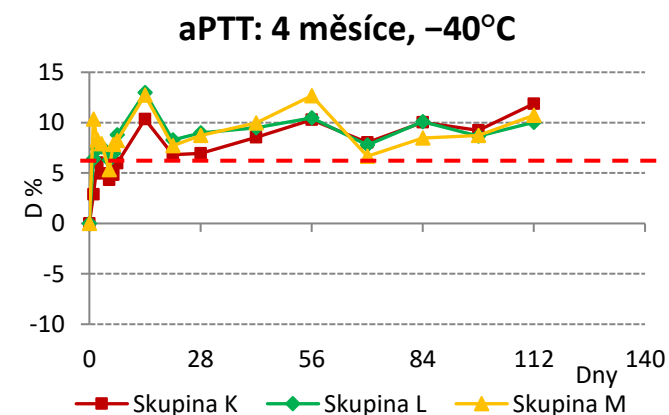
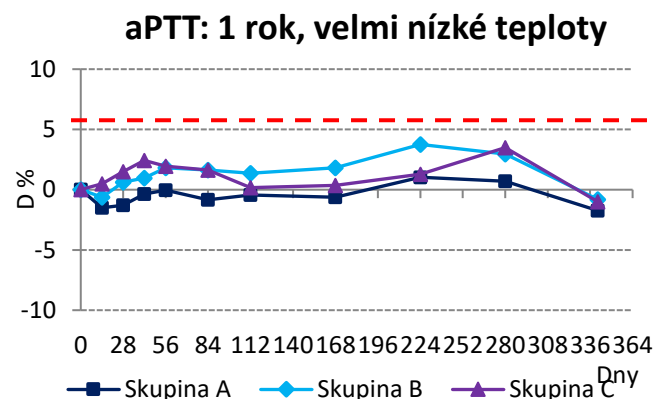
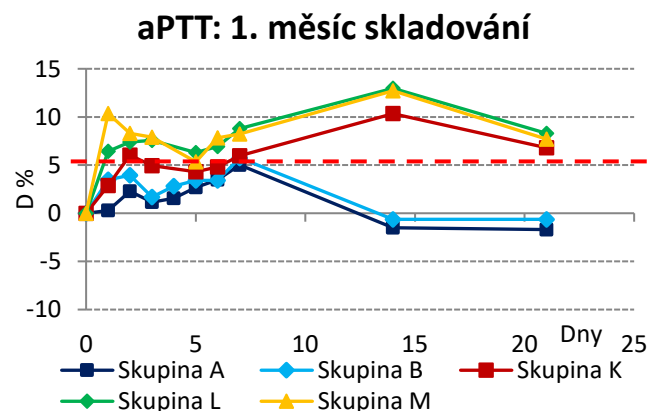
**Blood Coagulation
& Fibrinolysis**

ISSN 0957-5235



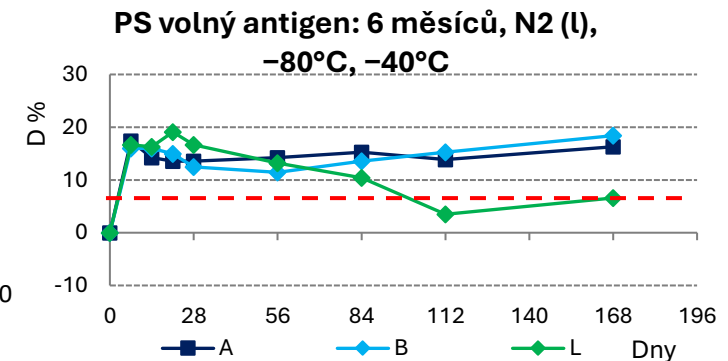
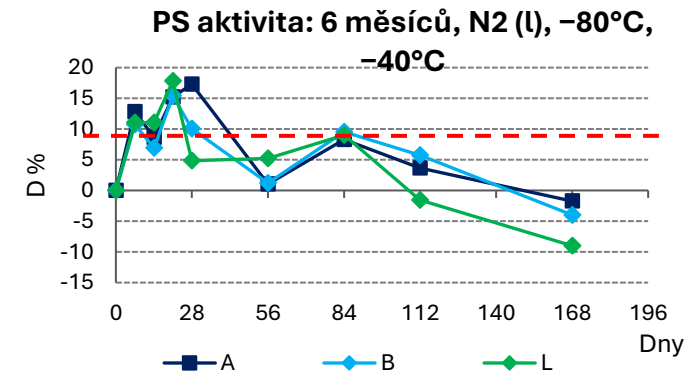
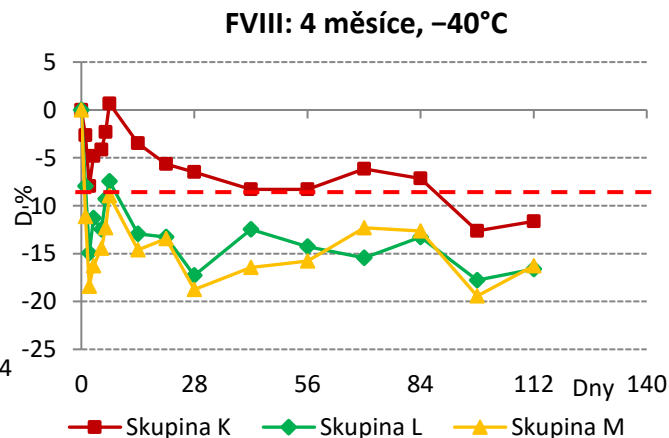
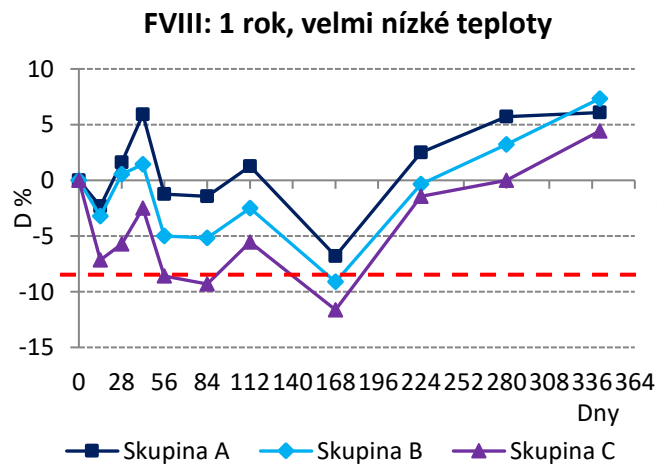
Výsledky – APTT a PT

- **aPTT** : prvních 14 dnů výrazný vzestup – během této doby nepoužívat pro kontrolu kvality
 - **aPTT nelze -40°C**
 - **PT lze -40°C** ale pouze omezená doba skladování



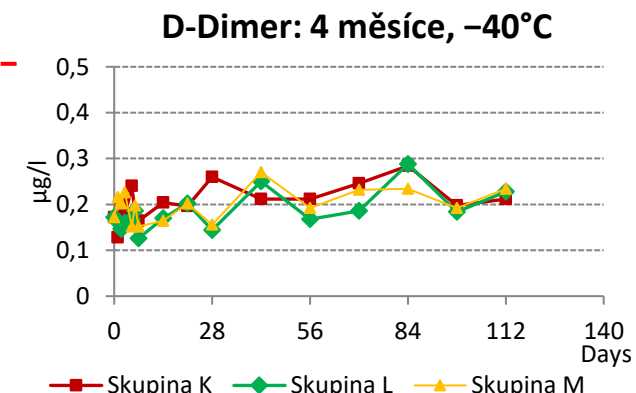
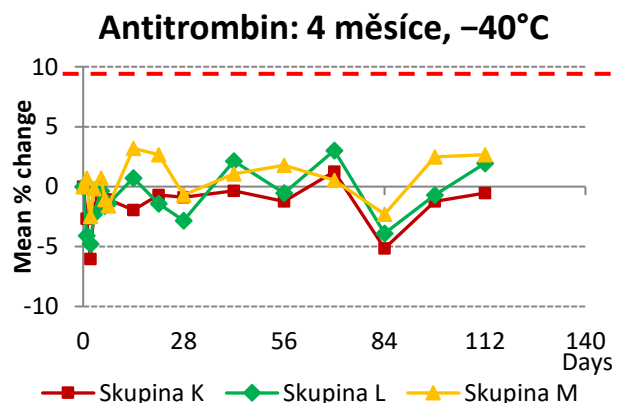
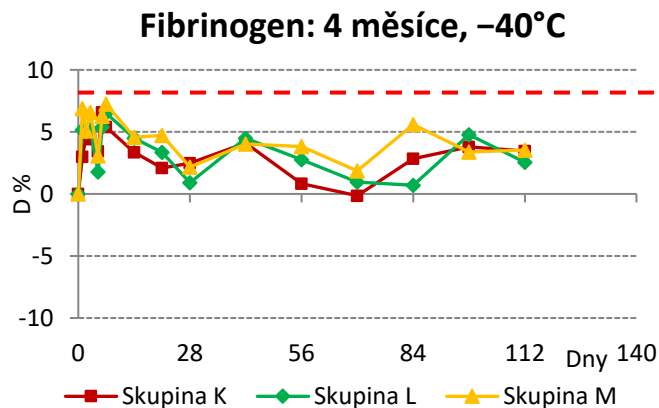
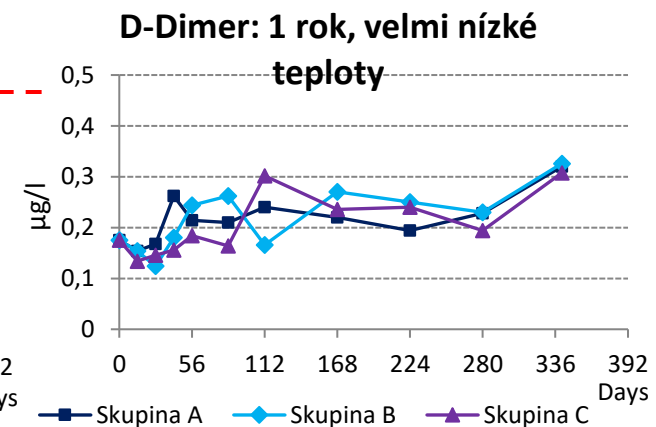
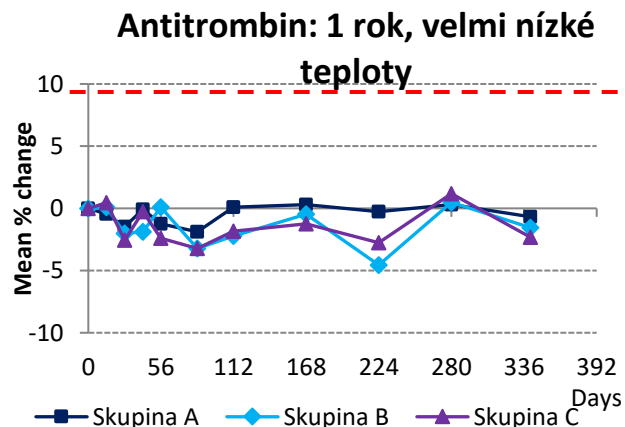
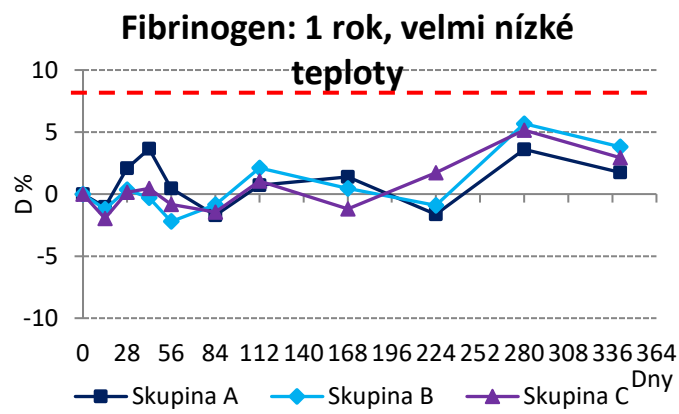
Výsledky – Faktor VIII, Protei...

- **FVIII:** velká variabilita v závislosti na podmínkách – **snížení** aktivity FVIII
 - -40 °C lze pouze s podmínkou šokového zamražení (např. na suchém ledu)!
 - výrazný vliv větší plochy hladiny a množství vzduchu ve zkumavce (**oxidace FVIII**)
 - Pokles v 1. měsíci skladování kopíruje prodloužení aPTT
- **PS:** velká variabilita v obou metodách –
arteficiální **zvýšení PS** – aktivita časem klesá,
antigen zůstává zvýšený – vliv zbytkových destiček?



Další metody

- Fibrinogen, AT, D-dimery, FDP - změny byly v rámci nejistoty metod



Doba použitelnosti zmražené plazmy

- Doba (v měsících), do které relativní rozdíl od baseline (nativní plazma) nepřekročil hranici nejistoty daného parametru

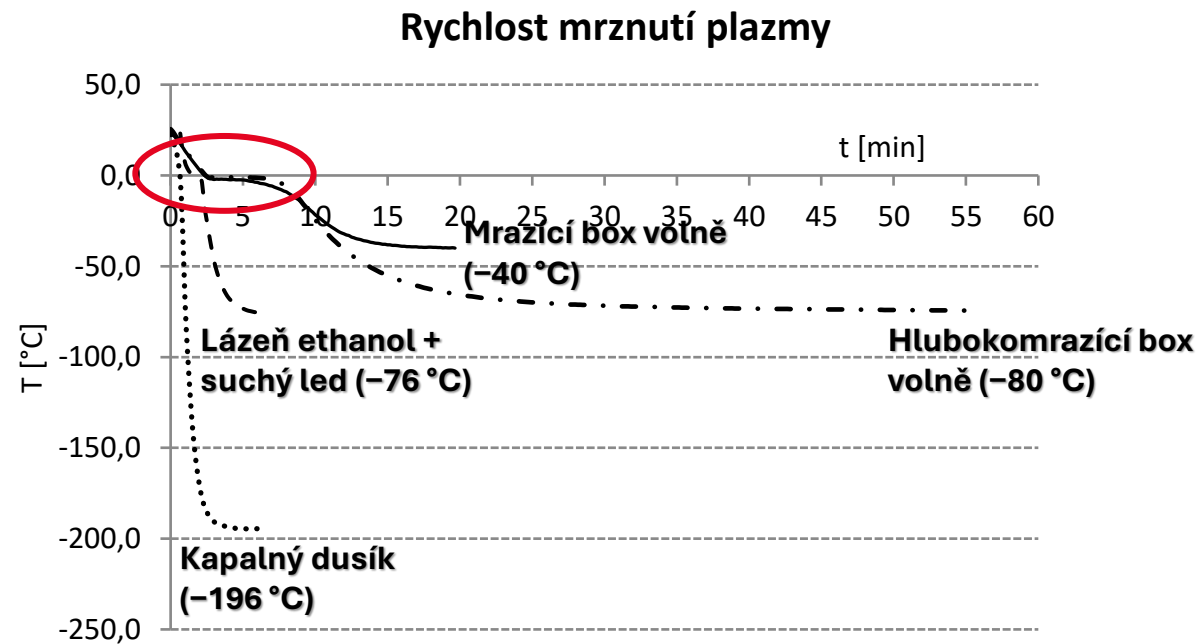
Parametr	Nejistota [CV, %]	-80 °C			-40 °C	
		Kap. dusík (A)	1 ml (B)	1.8 ml, horizontálně (C)	Šokové mražení (K)	Volné mražení (L, M)
aPTT	5,5	12	12	12	N	N
PT	3,0	12	12	12	1	1
FBG	8,1	12	12	12	4	4
AT	9,2	12	12	12	4	4
FVIII	8,1	12	6	2	1,5	N
PS aktivita	8,5	6*	6*	-	-	4*
PS volný Ag	4,3	6*	6*	-	-	4*

*pouze patientské vzorky, pro kontrolu kvality nevhodné!

N = nevhodné

Měření rychlosti mrznutí

- Rychlost a průběh mrznutí vzorku plazmy při různých podmínkách



Závěr

- Způsob zmražení vzorku má vliv na výsledky vyšetření.
- Optimální je mražení do kapalného dusíku.
- Ze screeningových metod jsou na teplotu nejvíce citlivé aPTT a PT
 - aPTT vzestup a pokles během 1. 2 týdnů – nepoužívat
 - aPTT nelze -40°C
 - PT lze -40°C, ale zamrazovat na suchém ledu!
- FVIII:
 - -40 °C lze s podmínkou zamražení na suchém ledu!
 - -80 °C výrazný vliv větší plochy hladiny a množství vzduchu ve zkumavce (oxidace FVIII)
- Protein S – vliv zbytkových destiček?



Děkuji za pozornost!