



ТРОМБОЕЛАСТОМЕТРИЈА И MULTIPLATE АГРЕГОМЕТРИЈА НОВИ МЕТОДИ ВО ХЕМОСТАЗАТА

Назив на ЈЗУ

ИНСТИТУТ ЗА ТРАНСФУЗИОНА МЕДИЦИНА
СКОПЈЕ, Р. МАКЕДОНИЈА

Назив на Институција каде е одржана обуката

ИНСТИТУТ ЗА КАРДИОВАСКУЛАРНИ БОЛЕСТИ - ДЕДИЊЕ
Служба за трансфузија, Белград, Р.Србија (18-28. 02. 2014)

Име и презиме на лицето испратено на обука

ВИОЛЕТА НЕЦЕВА, спец.биолог, др.сци

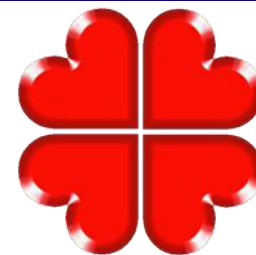
Датум на презентација **30.05.2014**





ЦЕЛИ

1. Запознавање со начинот на работа и принципите на методите од **POINT OF CARE**
(РОТАЦИОНА ТРОМБОЕЛАСТОМЕТРИЈА – ROTEM И MULTIPLATE АГРЕГОМЕТРИЈА)
2. Интерпретацијата и толкувањето на добиените резултати-тромбоеластограми и графички прикази на агрегацијата
3. Прибирање на протоколи за ординирање на крвни продукти и протоколи за следење на соодветната антиагрегантна терапија кои произлегуваат од овие нови методи и кои понатаму треба да се воспостават и применат во нашата Институција



Денес во Институтот за кардиоваскуларни болести - Дедиње, како водечка и современа метода за проценување на активноста на факторите на коагулација се користи ротациона тромбоеластометрија (Rotem®). Со оваа техника се рedefинира тромбоеластографијата која за прв пат била опишана од Hartert во 1948 година

ТРОМБОЕЛАСТОМЕТРИЈА

ROTEM delta

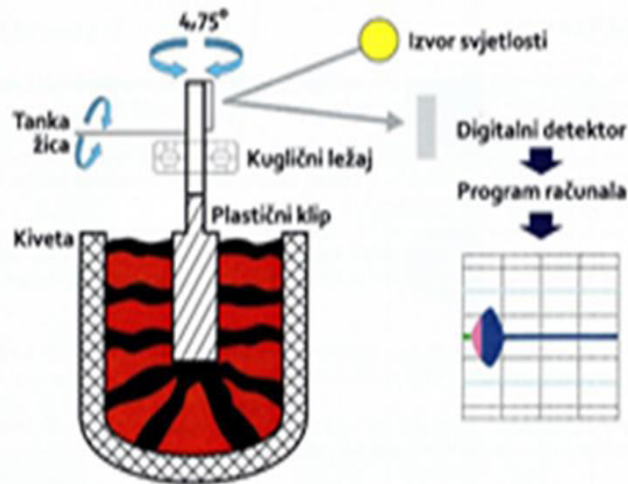


- ▶ Нова метода, но веќе застапена во 50 земји, 1400 произведени апарати, 400 публикации
- ▶ Пратење на целокупниот надворешен и внатрешен пат на коагулација, следење на активноста на фибриноген и пратење на степенот на фибринолиза

Принцип на работа на ROTEM®



07



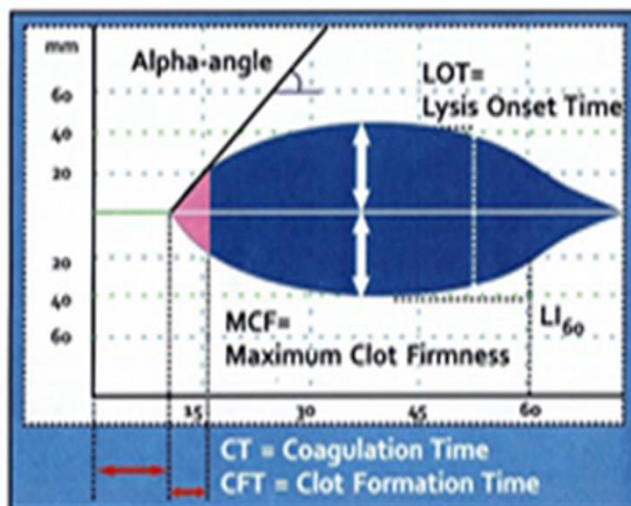
✓ Систем на оптичко-механичка детекција

✓ Статична кивета со ротирачка оска. Времето на коагулација и лиза се должи на промената на брзината на клипот што се детектира со CCD чип

✓ Тестот се изведува со полна крв

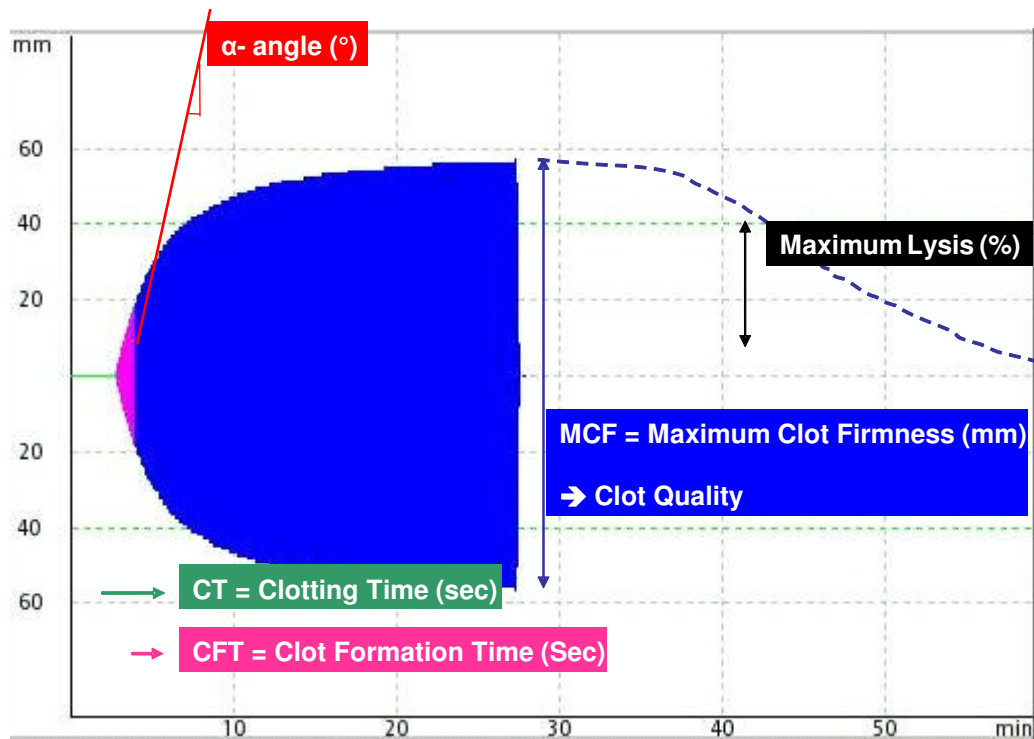
веднаш или до 6 часа од земањето.

4 одвоени канали - истовремено 4 тестови со различни активатори на коагулација



Тромбоеластометрија

- ▶ Типични реакциони криви (параболи)



- ▶ Нумерички и графички прикази на сите фази од процесот на хемостаза изразени во сек, степени и %
- ▶ Јасно прикажани Формирање на коагулум , квалитет на коагулум , нормални и абнормални резултати

IZVOĐENJE TESTA



1.

Pravilno staviti plastični klip



2.

Staviti kivetu i fiksirati je batičem u nosač.



3.

Odabrati test



5.

Pipetiranje reagensa i uzorka.

4.

INTEG: Intrinsically activated TEG (contact activation)

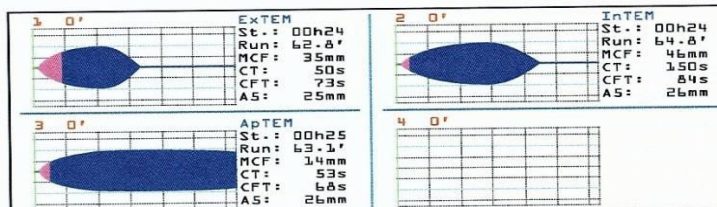
→ Confirm each step by pressing the pipette's ENTER button
→ Always press the button briefly
Put the pipette tip INTO the STARTEC reagent and PRESS
Take the tip OUT of the reagent and PRESS (for air cushion)
Put the tip INTO the INTEC reagent and PRESS
Hold the tip OVER the cup and PRESS
Put a NEW tip INTO the citrated blood sample and PRESS
Hold the tip OVER the cup and PRESS
Put the tip to the bottom of the cup and PRESS (for mixing)
Hold the tip OVER the cup and PRESS

Analizator Vas vodi kroz postupak pipetiranja.



6.

Nakon miješanja uzorka i reagensa staviti nosač s kivetom u mjernu poziciju.



Na monitoru se ispisuje TEMogram i vrijednosti parametara.

7.



8. Izvaditi kivetu i plastični klip iz nosača.

Компјутеризира
софтвер чекор по
чекор и
автоматското
пипетирање



Тестови ROTEM®

► **EX - tem** - СЛЕДЕЊЕ НА НАДВОРЕШЕН ПАТ

скрининг тест за откривање дефицит на в К зависни ф-ри на коагулација, Фг, ф, XIII и Тр

► **IN-tem** – СЛЕДЕЊЕ НА ВНАТРЕШЕН ПАТ

► **FIB- tem** - СЛЕДЕЊЕ НА АКТИВНОСТА И КОНЦЕНТРАЦИЈАТА НА ФИБРИНОГЕНОТ како и улогата на ф. XIII во стабилизирањето на фибринот

► **HEP-tem** - Со овој тест покрај хепариназата, која го неутрализира хепаринот до концентрација од 5 IU/ml, се докажува активност на ф-рите на коагулација од внатрешниот пат

► **AP- tem** - СЛЕДЕЊЕ НА ФИБРИНОЛИЗАТА, односно хиперфибринолиза



Rotem Реагенси- Активатори

- **EX**TEM –Надворешен пат на коагулација
активатор -Ткивен фактор
- **IN**TEM – Внатрешен пат на коагулација
активатор –елагична киселина
- **FIB**TEM – Се следи функционален Фг.
Cytochalasin D - Тр инхибитор, за да се исклучи учеството на Тр
во формирањето на коагулумот
- **HEP**TEM – Heparinase – Се работи заедно со Intem
- **AP**TEM – се користи активатор aprotonin – природен
антифибринолитик и се потврдува дали има хиперфибринолиза



ROTEM® Параметри

За интерпретација на ROTEM тестовите потребно е добро познавање на улогата на сите поединечни параметри во активација на коагулацијата

CT – Clotting Time (seconds)	Време на коагулација во секунди
CFT – Clot Formation Time (seconds)	Време (секунди) потребно за формирање на примарен коагулум со големина од 2 mm
α Alpha Angle (°)	α агол
A (x) – Amplitude at a time point. 10/15/20/25/30 mm (minutes)	Амплитуда измерена во мм во функција на времето
MCF – Maximum Clot Firmness (mm)	Максималната цврстина на коагулумот измерена преку најголемата амплитуда на параболата (mm)

OP U TOKU

ST: 15:40:20

RT: 00:34:13

CT: 113 s

CFT: —

 α : 15 °

A10: 5 mm [0007 – 0023]

A20: 4 mm [0008 – 0024]

MCF: 12 mm [0009 – 0025]

ML: 100 %

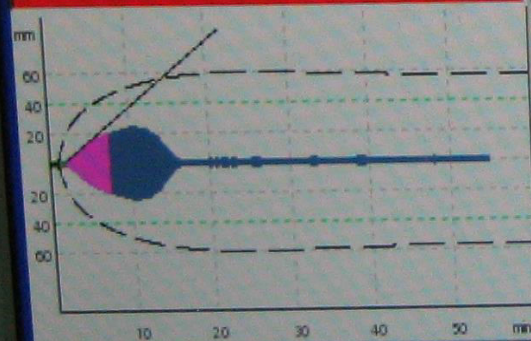
Patient data

Print

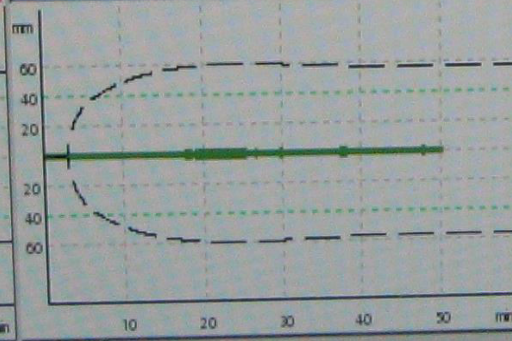
Stop channel 3

Clear

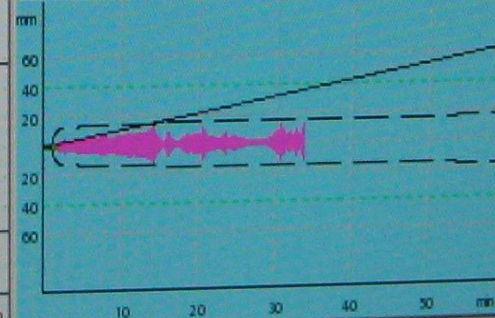
EXTEM



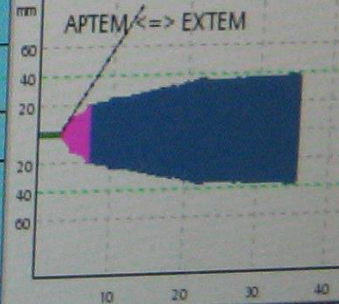
INTEM



FIBTEM



APTEM



1: AJDUKOVIC NADA

ST: 15:19:04 RT: 00:55:29

CT: 134 s [0038 – 0079]

CFT: 312 s [0034 – 0159]

 α : 48 ° [0063 – 0083]

A10: 22 mm [0043 – 0065]

1: AJDUKOVIC NADA

ST: 15:19:48 RT: 00:54:45

CT: * 3010 s [0100 – 0240]

CFT: —

 α : —

A10: —

1: AJDUKOVIC NADA

ST: 15:40:20 RT: 00:34:13

CT: 113 s

CFT: —

 α : 15 °

A10: 5 mm [0007 – 0023]

1: AJDUKOVIC NADA

ST: 15:38:32 RT: —

CT: 188 s

CFT: 236 s

 α : 64 °

A10: 26 mm

Temperature 37.0°C

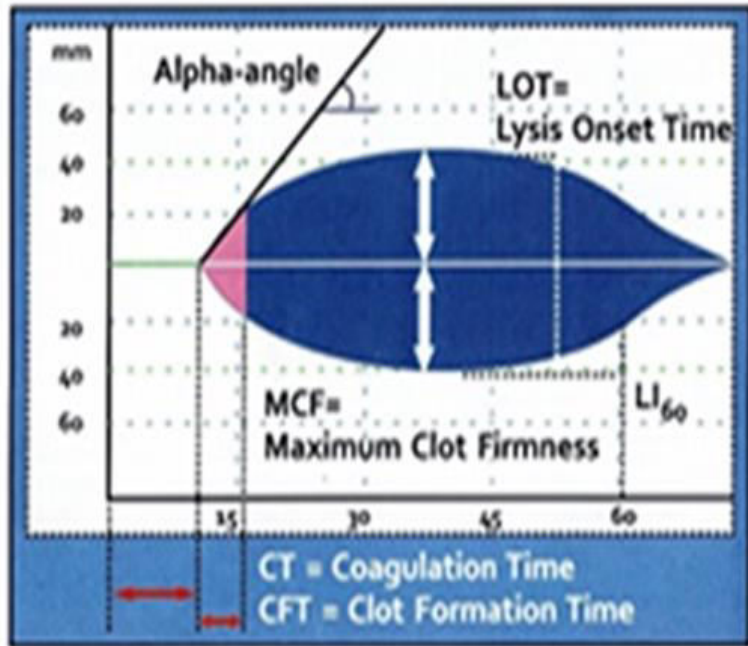
1

2

3

Channel Status: check!

Clotting Time - CT

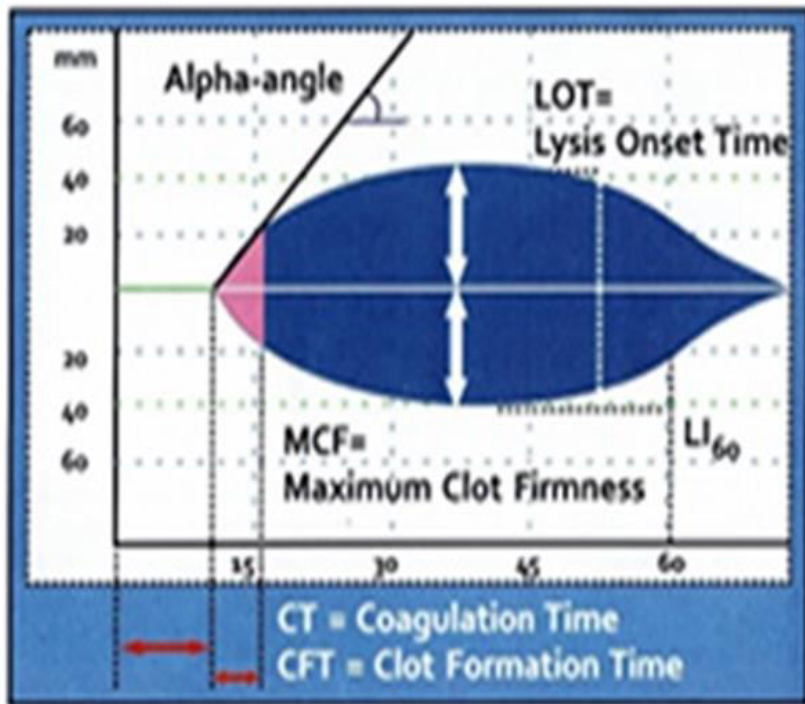


Клиничко значење :

- ❑ Продолжено CT - дефицит на фактори на коагулација или присуство на антикоагуланти

- ▶ **CT - Време на коагулација** во секунди од почетокот на тестот до појавата на коагулум. Ова мерење е иницирано со додавање на активатор и достигнување на амплитуда од 2 mm
- ▶ **Значење на CT** – колку брзо започнува формирањето на фибрин. CT е поврзан но не е идентичен со времето на коагулација при стандардните тестови
- ▶ CT помага при одлуката да се даде свежо смрзната плазма или антикоагулантен антидот - ПРОТАМИН

Clot Formation Time- CFT

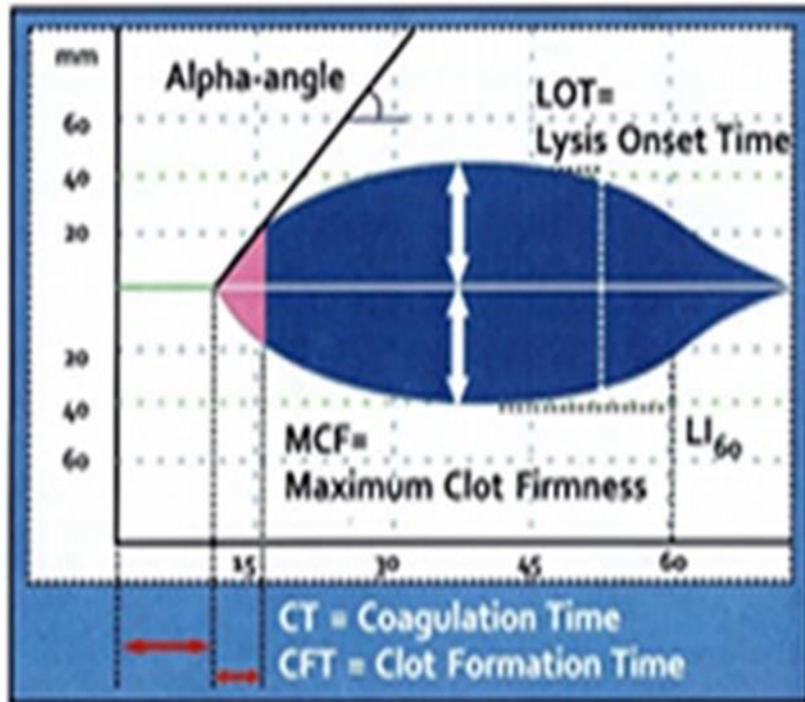


Клиничко значење :

- ❑ Продолжено CFT - дефицит на ф-ри на коагулација или присуство на антикоагуланти
- ❑ Скратено CFT укажува на хиперкоагулабилна состојба

- ▶ **CFT** - Време (секунди) потребно да се формира цврст коагулум со големина на амплитуда од 2 -20 mm
- ▶ **Значење на CFT** – колку брзо се формира коагулум со учество на тромбин активирани Тр, фибрин и ф.XIIIa
- ▶ CFT помага при одлуката да се дадат Тр концентрати, ССП или криопреципитат

α агол

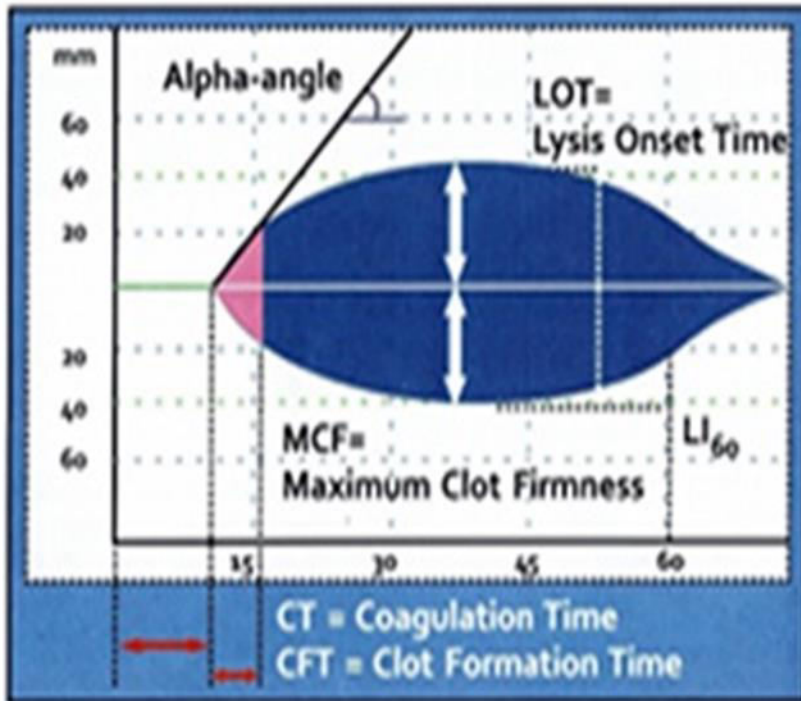


Клиничко значење :

- ☐ Поголем агол-хиперкоагулабилна состојба
- ☐ Мал агол-тромбоцитопенија

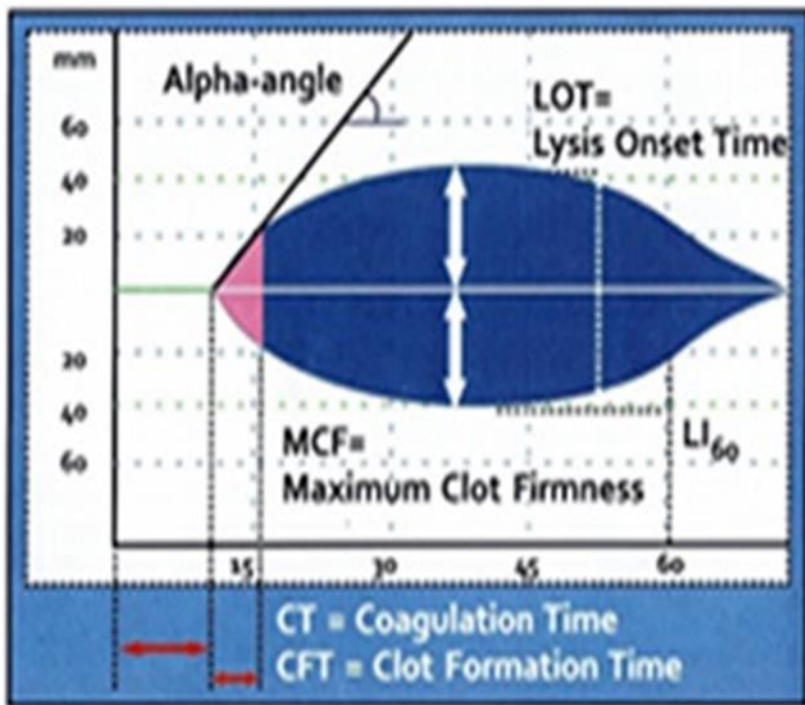
- ▶ **α Агол** – Алфа агол помеѓу базната линија и тангентата на кривата на коагулација
- ▶ **Значење** - за кинетиката на коагулацијата. Поголем агол значи брзо формирање на коагулум со учество на тромбин активирани Тр, фибрин и ф XIIIa
- ▶ Доколку CFT е пократко аголот алфа е поголем

A20



- ▶ **A20** – (mm) – Амплитуда 20
- ▶ **Значење** : **A20** – (mm) – Показува големина на коагулум 20 мин после **СТ**
- **Клиничко значење** : директно поврзано со MCF. Од овој параметар зависи дали ќе се дадат Тр концентрати или крипреципитат (Фг)

Maximum Clot Firmness- MCF

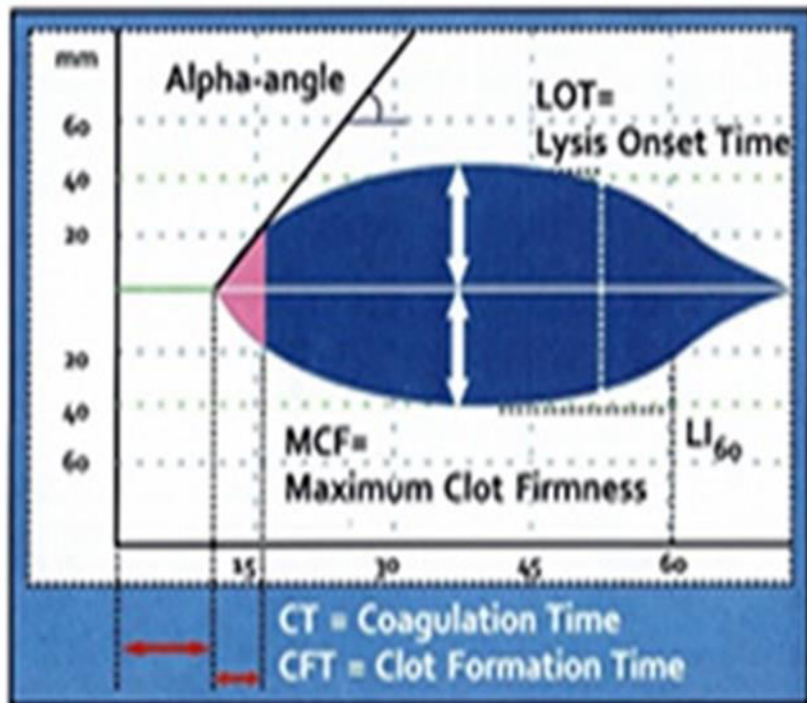


- ▶ **MCF** – (mm) – Максимално време на формирање на стабилен коагулум
- ▶ **Значење** : MCF е максималната амплитуда што се постигнува при коагулација пред да започне фибринолизата

Клиничко значење:

- **Ниско MCF** -низок број на Тр во циркулација или нивна неадекватна функција , како и намалена концентрација и активност на Фг и ф. XIII
- **Високо MCF** хиперкоагулабилна состојба

Максимална лиза - ML



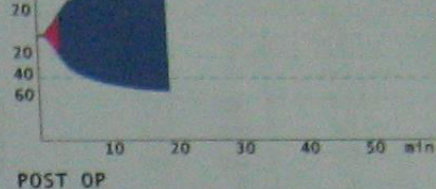
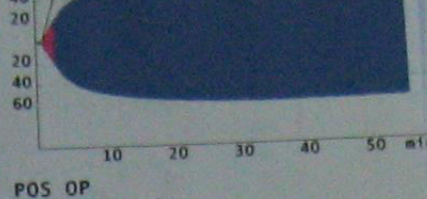
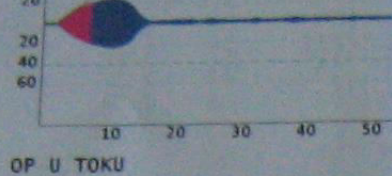
- ▶ **ML** - (%) го опишува степенот на на лиза на коагулот и укажува на активна фибринолиза и
- ▶ **Значење** : **ML** од 5% значи редукција на **MCF** за 5%

Клиничко значење

- Ако **ML** < 15%- стабилен коагулум
- Ако **ML** > 15% за 1 час - хиперфибринолиза

ML е важен за давање на антифибринолитици по хирушка интервенција

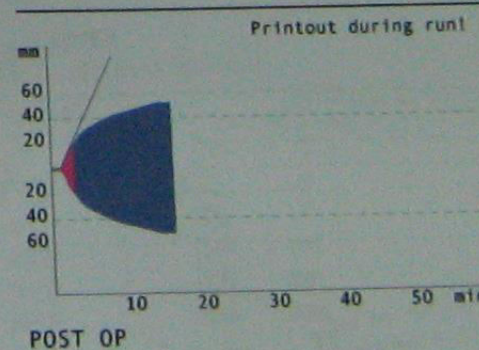
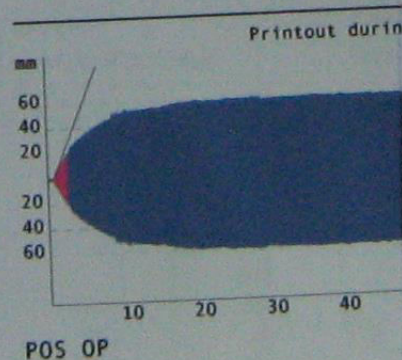
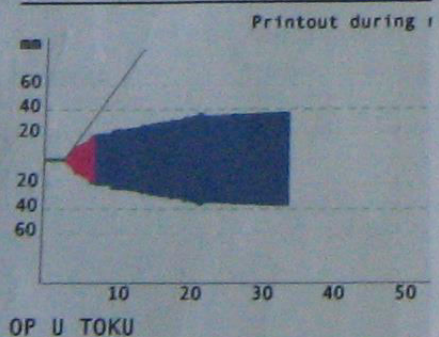
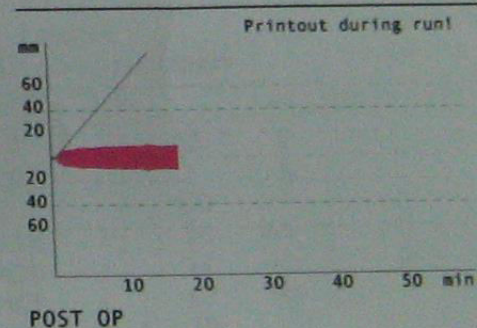
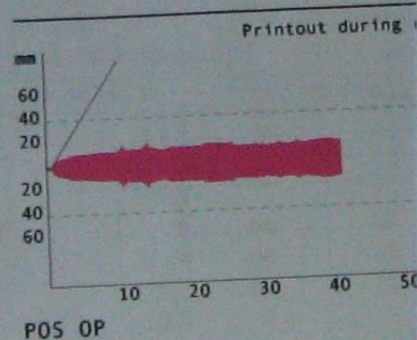
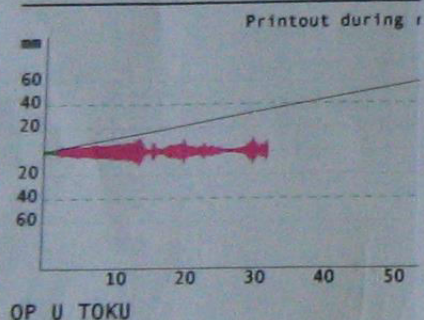
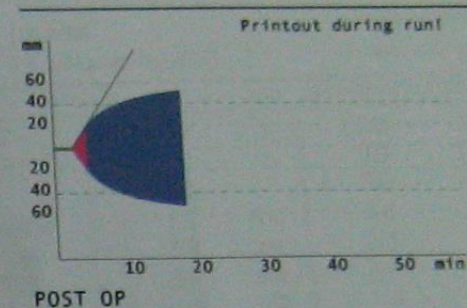
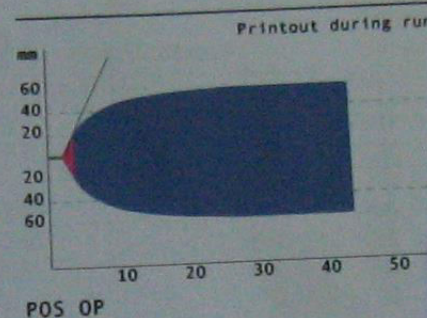
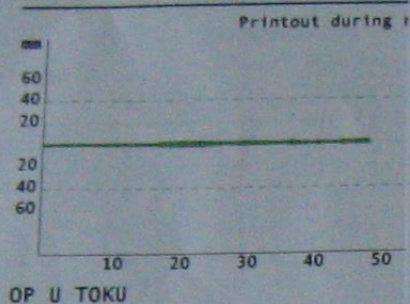
RT:
CT
CFT
 α
A10
A20
MCF
ML



2

RT:

CT
CF
 α
A1
A2
MC
ML



POST OP

ML : * 0 % [0 - 15]

Printout during run

AJIDUNVIC NADA

2:5066 P05 I



POST OP

2

INTEM

1:41826418082010

RT: 00:19:47

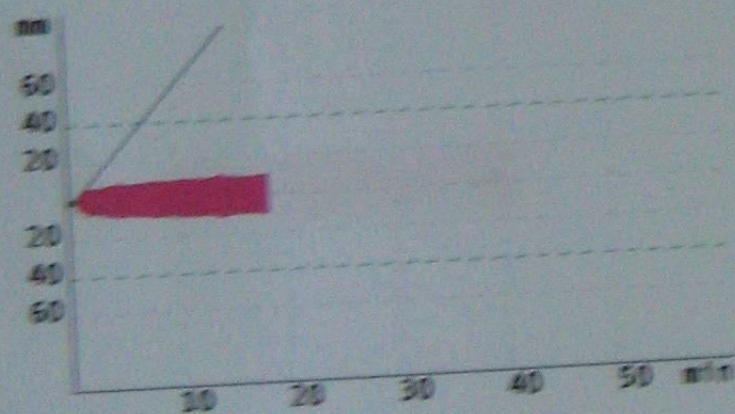
ST: 2010-08-18T00:53:50

CT	:	175	S	[	100	-	240]
CFT	:	123	S	[	30	-	110]
α	:	66	°	[	70	-	83]
A10	:	46	mm	[	44	-	66]
A20	:		mm	[	50	-	71]
MCF	:	* 53	mm	[	50	-	72]
ML	:	* 0	%	[	0	-	15]

Printout during run

AJIDUNVIC NADA

2:5066 P05 I



POST OP

3

FIBTEM

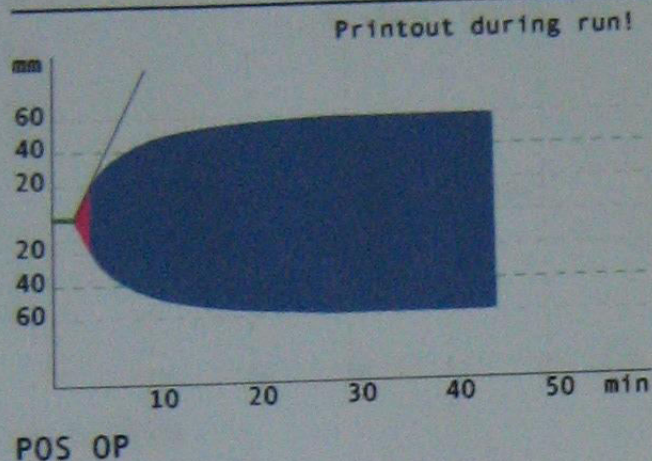
1:41826418082010

RT: 00:19:00

ST: 2010-08-18T00:54:39

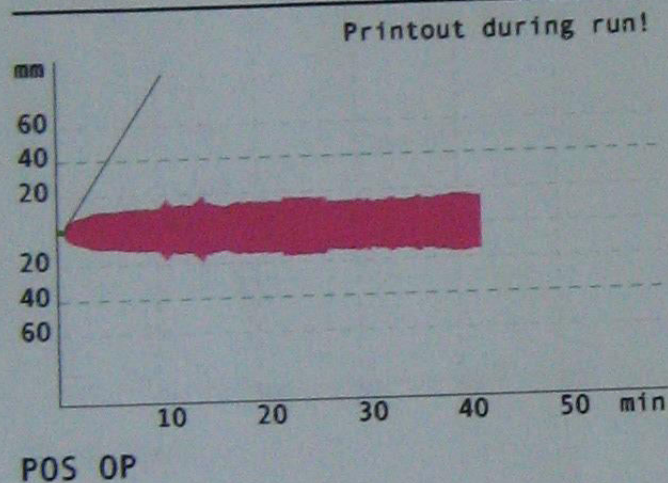
CT	:	59	S				
CFT	:		S				
α	:	58	°				
A10	:	10	mm	[	7	-	23]
A20	:		mm	[	8	-	24]
MCF	:	* 12	mm	[	9	-	25]
ML	:	* 0	%				

AJIDUNVIC NADA



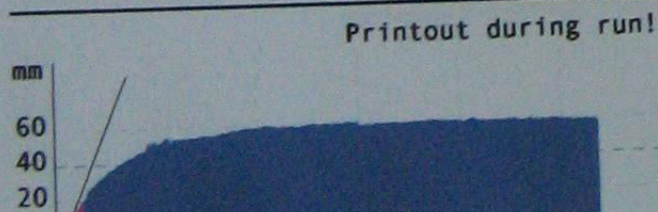
2 | INTEM
1:07181817082010
RT: 00:45:27 ST: 2010-08-17T19:53:34
AJDUKOVIC NADA
2:6066 POS I

CT	:	139	S	[	100	-	240]
CFT	:	97	S	[	30	-	110]
α	:	73	°	[	70	-	83]
A10	:	51	mm	[	44	-	66]
A20	:	58	mm	[	50	-	71]
MCF	:	59	mm	[	50	-	72]
ML	:	* 0	%	[	0	-	15]



3 | FIBTEM
1:07181817082010
RT: 00:42:49 ST: 2010-08-17T19:56:14
AJDUKOVIC NADA
2:6066 POS I

CT	:	51	S				
CFT	:		S				
α	:	66	°				
A10	:	16	mm	[	7	-	23]
A20	:	14	mm	[	8	-	24]
MCF	:	17	mm	[	9	-	25]
ML	:	* 29	%				



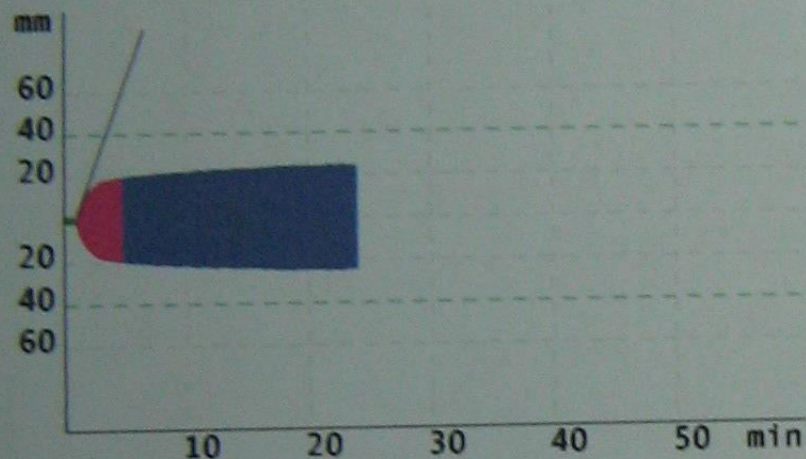
4 | APTM ?
1:07181817082010
RT: 00:54:06 ST: 2010-08-17T19:44:57
AJDUKOVIC NADA
2:6066 POS I

CT	:	54	S				
----	---	----	---	--	--	--	--

10 20 30 40 50 min

A10	:	59	mm	[	45	-
A20	:	65	mm	[	50	-
MCF	:	* 69	mm	[	50	-
ML	:	* 0	%	[	0	-

Printout during run!



2

FIBTEM

1:10184519082010

AJDUKOVIC

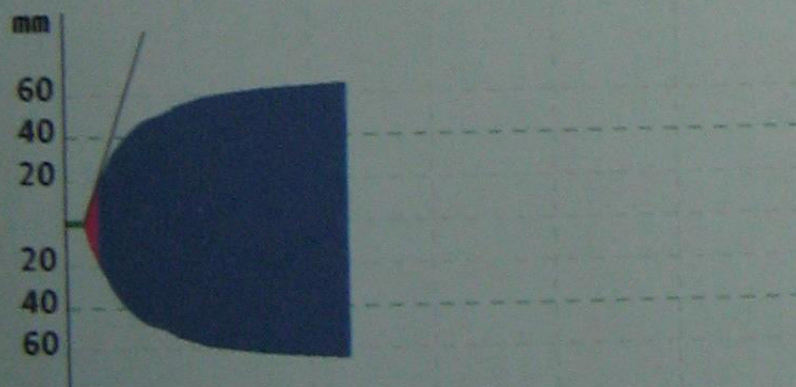
2:6066 P

RT: 00:24:32

ST: 2010-08-19T13

CT	:	66	S
CFT	:	229	S
α	:	76	°
A10	:	23	mm [7 -
A20	:	24	mm [8 -
MCF	:	* 25	mm [9 -
ML	:	* 0	%

Printout during run!



3

APTEM

1:10184519082010

AJDUKOVI

2:6066 P

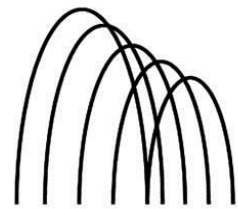
RT: 00:23:34

ST: 2010-08-19T1

CT	:	99	S
CFT	:	70	S
α	:	78	°
A10	:	59	mm

Испитување агрегација на тромбоцити со Multiplate® агрегометар



 multiplate®



Multiplate® агрегометарот служи за мерење на промената на електричниот отпор во полна крв што настанува при агрегација на Тр под дејство на различни агонисти

- ❖ Дисфункција на ТР настанува под дејство на антитромбоцитни лекови како ацетилсалицилна киселина (ASA), нестероидни анти имфламатори, антагонисти на рецепторот P2Y₁₂ и антагонисти на рецепторот IIb/IIIa



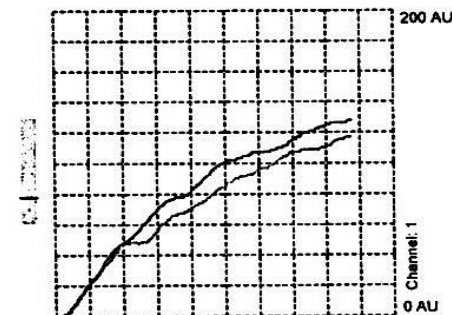
Во зависност од видот на активаторот постојат неколку тестови кои се изведуваат на Multiplate агрегометарот :

- ASPI-тест - за аспирин
- ADP-тест за инхибитори на P2Y₁₂ рецепторот (tiklopidin, klopidoogrel i prasugrel)
- TRAP-тест за инхибитори на GP IIb/IIIa рецепторот (abciximab, eptifibatide, tirofiban) и
- COL-тест (колаген) за нативна функција на Тр
- RISTO тест.- дефицит на vW ф-р

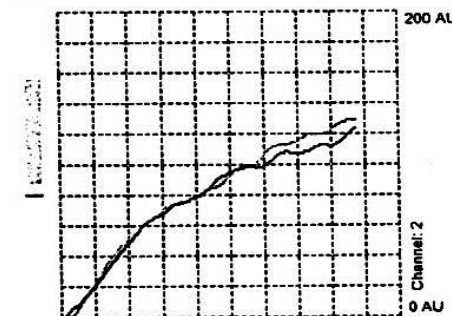
За секој поединечен тест се добиваат соодветни хистограми од кои се отчитува резултатот во агрегациони единици (AU или AUC) кои соодвестуваат на моменталната функција на Тр

Multiplate® platelet function analysis - V2.03.08

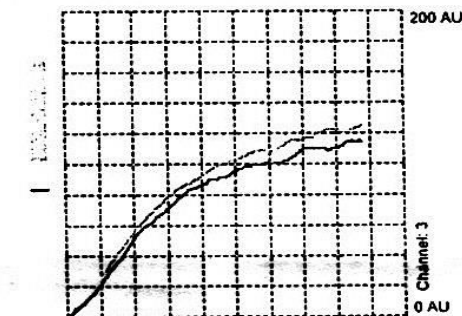
Patient id :VUJKOVIC DANE POS II hit. prij.
Test name :ADPtest (Li-hep. blood), V1
Start of Test :26. Feb. 2014, 12:05:33
Area under the curve :704 AU*min. (548 - 1167)
Aggregation :RUO: 123.4 AU
Velocity :RUO: 16.9 AU/min.



Patient id :VUJKOVIC DANE POS II hit. prij.
Test name :ASPItest (Li-hep. blood), V1
Start of Test :26. Feb. 2014, 12:05:41
Area under the curve :725 AU*min. (790 - 1410)
Aggregation :RUO: 127.5 AU
Velocity :RUO: 18.6 AU/min.



Patient id :VUJKOVIC DANE POS II hit. prij.
Test name :TRAPtest (Li-hep. blood), V1
Start of Test :26. Feb. 2014, 12:05:49
Area under the curve :754 AU*min. (923 - 1509)
Aggregation :RUO: 121.1 AU
Velocity :RUO: 19.5 AU/min.



The temperature of the measurement block: 37.2°C, within specified range - Measuring time 6 minutes.

Correction factors: 0.500;1.000;1.000;1.000;1.000;1.000;1.000;1.000;1.000;1.000;1.000

Patient id :QC Flag - VUJKOVIC DANE
POS II

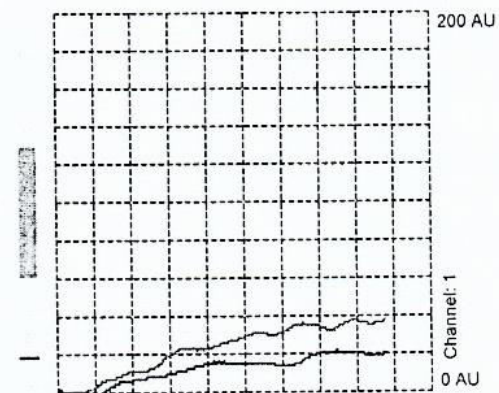
Test name :ADPtest (Li-hep. blood), V1

Start of Test :26. Feb. 2014, 21:29:02

Area under the curve :169 AU*min. (548 - 1167)

Aggregation :RUO: 31.1 AU

Velocity :RUO: 7.6 AU/min.



Patient id :QC Flag - VUJKOVIC DANE
POS II

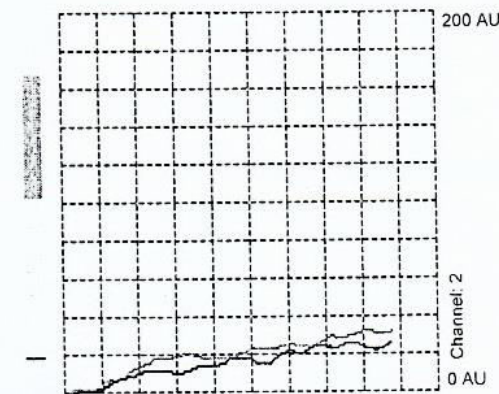
Test name :TRAPtest (Li-hep. blood), V1

Start of Test :26. Feb. 2014, 21:29:11

Area under the curve :166 AU*min. (923 - 1509)

Aggregation :RUO: 31.1 AU

Velocity :RUO: 6.6 AU/min.

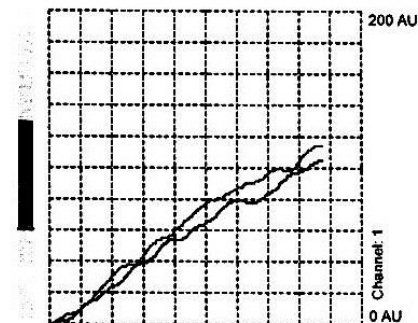


The temperature of the measurement block: 36.6°C, within specified range - Measuring time 6 minutes.

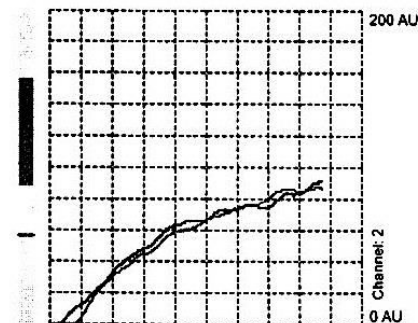
Correction factors: 0.500;1.000;1.000;1.000;1.000;1.000;1.000;1.000;1.000;1.000

Упробирка 60

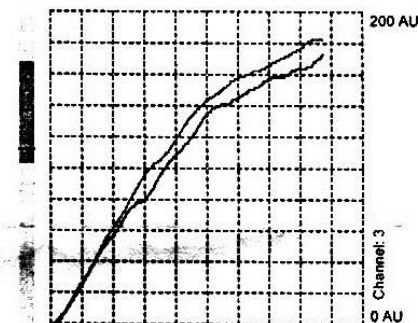
Patient id :DJURIC RADOMIR SALA
Test name :ADPtest (Li-hep. blood), V1
Start of Test :24. Feb. 2014, 09:58:53
Area under the curve :543 AU*min. (548 - 1167)
Aggregation :RUO: 110.6 AU
Velocity :RUO: 12.7 AU/min.



Patient id :DJURIC RADOMIR SALA
Test name :ASPItest (Li-hep. blood), V1
Start of Test :24. Feb. 2014, 09:59:14
Area under the curve :507 AU*min. (790 - 1410)
Aggregation :RUO: 90.4 AU
Velocity :RUO: 15.2 AU/min.



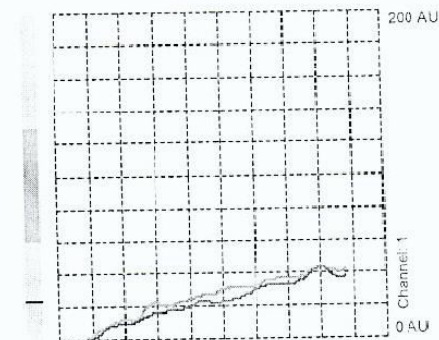
Patient id :DJURIC RADOMIR SALA
Test name :TRAPtest (Li-hep. blood), V1
Start of Test :24. Feb. 2014, 09:59:27
Area under the curve :1009 AU*min. (923 - 1509)
Aggregation :RUO: 178.9 AU
Velocity :RUO: 21.8 AU/min.



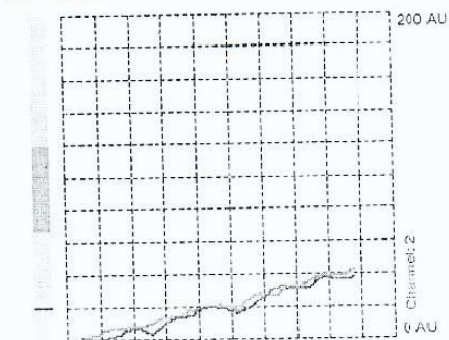
The temperature of the measurement block: 36.9°C, within specified range - Measuring time 6 minutes.

Correction factors: 0.500;1.000;1.000;1.000;1.000;1.000;1.000;1.000;1.000;1.000

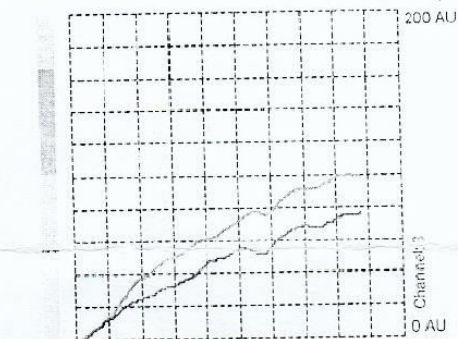
Patient id :STOZINIC SVETOMIR OP.SALA
Test name :ADPtest (Li-hep. blood), V1
Start of Test :20. Feb. 2014, 01:47:16
Area under the curve :217 AU*min. (548 - 1167)
Aggregation :RUO: 45.0 AU
Velocity :RUO: 9.5 AU/min.



Patient id :STOZINIC SVETOMIR OP.SALA
Test name :COLtest (Li-hep. blood), V1
Start of Test :20. Feb. 2014, 01:47:24
Area under the curve :184 AU*min. (607 - 1077)
Aggregation :RUO: 41.6 AU
Velocity :RUO: 8.0 AU/min



Patient id :STOZINIC SVETOMIR OP.SALA
Test name :TRAPtest (Li-hep. blood), V1
Start of Test :20. Feb. 2014, 01:47:32
Area under the curve :493 AU*min. (923 - 1509)
Aggregation :RUO: 90.0 AU
Velocity :RUO: 14.6 AU/min.





✓ Врз основа на добиените резултати со Multiplate може да се покаже ефектот на применетите антитромбоцитни лекови по перкутана интервенција на срце, имплантација на стент во коронарни и др артерии. Исто така врз основа на овие тестови може со сигурност да се планираат хирушки интервенции на срце, каротиди и други



Заклучоци / Научени лекции

- ▶ ROTEM овозможува добивање на сигурен резултат во рок од 5 – 10 минути
- ▶ Тешки крвавења може да се дијагностицираат интра или постоперативно; може да се животозагрозувачки крвавења при што е потребна брза реакција; брзата диференцијална дијагноза е клучна за целна терапија
- ▶ Добиените резултати со ROTEM од примерок полна крв даваат брза информација за потребната терапија: антифибринолитици, концентрат на фибриноген, тромбоцитен концентрат, концентрат на протромбински комплекс, свежо смрзната плазма, криопреципитат
- ▶ Брзото и ефикасно справување со крвавењата е од витално значење во единиците за интензивна нега
- ▶ Наоѓа широка примена и во кардиохирургија, трансплантација, ортопедска хирургија, трауматологија, акушерство



Заклучоци / Научени лекции

- ▶ Multiplate е лесен за употреба модерен инструмент со кој се добиваат сигурни резултати
- ▶ Тестирање на тромбоцитната функција директно од примерок полна крв
- ▶ Не е потребна подготовка на примерокот
- ▶ 5 тест канали за паралелно мерење
- ▶ Употреба во рутински лаборатории, единици на интензивна нега, истражувачки лаборатории