

# KOAGÜLASYON TARAMA VE KARIŞIM TESTLERİ

DR. ÇAĐATAY KUNDAK

DÜZEN LABORATUVARLAR GRUBU



# KOAGÜLASYON LABORATUVARI TARAMA TESTLERİ

## Hemostaz

- Protrombin Zamanı
- Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı
- Fibrinojen
- Trombin Zamanı
- Trombosit Sayımı

## Trombofili

- Lupus Antikoagülan
- Protein S, C (Antijen-Aktivite)
- Antitrombin (Antijen-Aktivite)
- APC Rezistansı (FV Leiden)
- Homosistein



- Hemostatik tarama testleri=kanama riski deęerlendirmesi
- Yanıltıcı olabilir. İn vitro testler her zaman hemostatik mekanizmayı tam olarak ortaya koyamayabilirler.
- Hemostazda en önemli tarama testi hastanın **kişisel kanama öyküsü** (anti-trombotik, antikoagölan ilaçların kullanımı ve kalıtsal bir kanama diyatezi düşündüren önemli bir aile öyküsü)
- Sık yapılan tarama testleri Protrombin Zamanı (**PTZ**), ve aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı (**aPTT**)dır.
- **Fibrinojen** düzeyi ve **Trombin Zamanı** ilk etapta tarama testi olarak düşünülmesine de sıklıkla yapılmaktadır.
- **Trombosit sayımı** mutlaka yapılmalıdır.



# PROTROMBIN ZAMANI-1

- En sık kullanılan tarama testi
- 1935'te Quick tarafından tanımlandı
- Ekstrinsik (Doku faktörü) ve Ortak Koagülasyon Yolaklarınınını test eder.
- Vitamin K bağımlı Faktörlere hassas (FII, FVII, FX)
- Oral Antikoagülan tedavinin monitorizasyonu (INR hesabı)
- KC fonksiyonlarının değerlendirilmesi
- Vitamin K eksikliği, malabsorbsiyon, VKOR1c mutasyonu



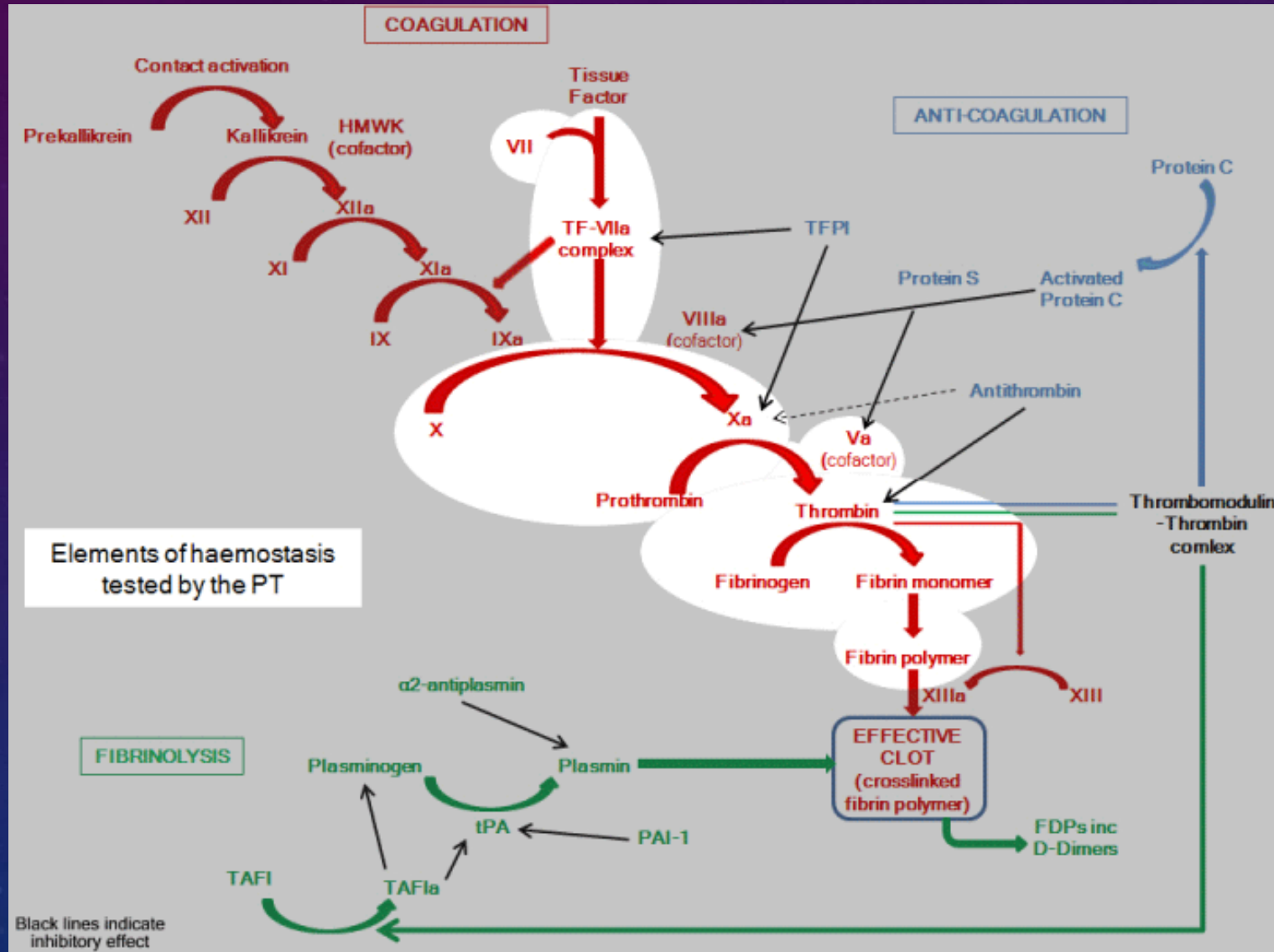


# PROTROMBIN ZAMANI-2

- Afibrinojenemi, disfibrinojenemi
- Rivaroxaban-Dabigatran (direk Xa ve IIa inhibitörleri, trombin inhibitörleri)
- Lupus Antikoagulan için genellikle hassas değil, ancak uzama olabilir.
- Faktör II, V, VII ve X için 1-stage ölçüm yöntemlerin temelini oluşturur.
- Minör Faktör eksiklerine insensitif
- Faktör eksikliği ile PTZ arasındaki ilişki (lineer değil, eksponansiyel)
- Normal sonuç ciddi bir koagülopati varlığını ekarte ettirmez. (örn. Ciddi F VIII, IX, XI eksikliği)



# PROTROMBIN ZAMANI



# PROTROMBİN ZAMANI UZUN İSE SONRAKİ TESTLER?

- aPTT, Trombin Zamani, Fibrinojen
- Normal ise; Faktör VII düzeyi



# AKTİVE PARSİYEL TROMBOPLASTİN ZAMANI-1

- 1952
- İntrensik (kontak) ve ortak yolak Faktörleri (FVIII, FIX, FXI, FXII, FII, FV, FX)
- Özellikle Hemofili A (FVIII), Hemofili B (FIX)
- Unfraksiyone Heparin UFH monitorizasyonu
- FVIII bir akut faz proteini
- Lupus Antikoagulan (LA Tarama)
- Kaolin, Silica, Ellagic Asit (bir yüzey aktivatörü)
- Fosfolipit (Cephalin)
- Kalsiyum klorür eklenmesinden fibrin oluşana kadar geçen süre



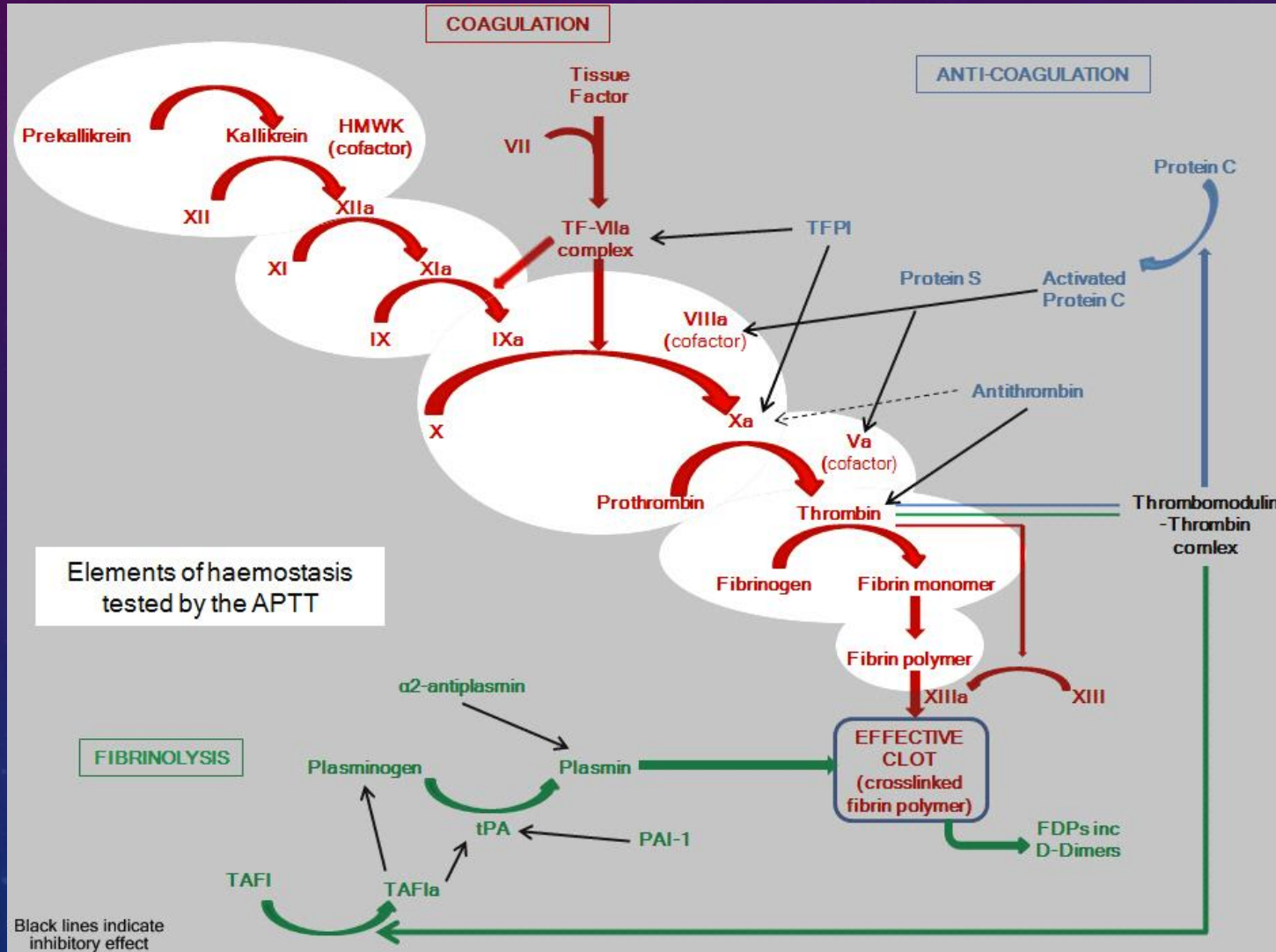


# AKTİVE PARSİYEL TROMBOPLASTİN ZAMANI-2

- Faktör VIII, IX, XI, XII için 1-stage ölçüm yöntemlerin temelini oluşturur.
- Faktör VIII, IX inhibitör testlerinin de temeli
- Kontakt faktör eksikliklerinde (>120 sn) (prekallikrein, HMWK, FXII)
- Hemofili A ve B (FVIII ve IX eks.) 75-80 sn
- Rivaroxaban ve Dabigatran ile uzar
- Stabil olarak Kumadin kullananlarda birkaç sn uzar



# AKTİVE PARSIYEL TROMBOPLASTİN ZAMANI



# AKTİVE PARSİYEL TROMBOPLASTİN ZAMANI UZAMIŞ İSE SONRAKİ TEST?

- Karışım Testleri
- Lupus Antikoagülan
- Faktör Düzeyleri



# FİBRİNOJEN

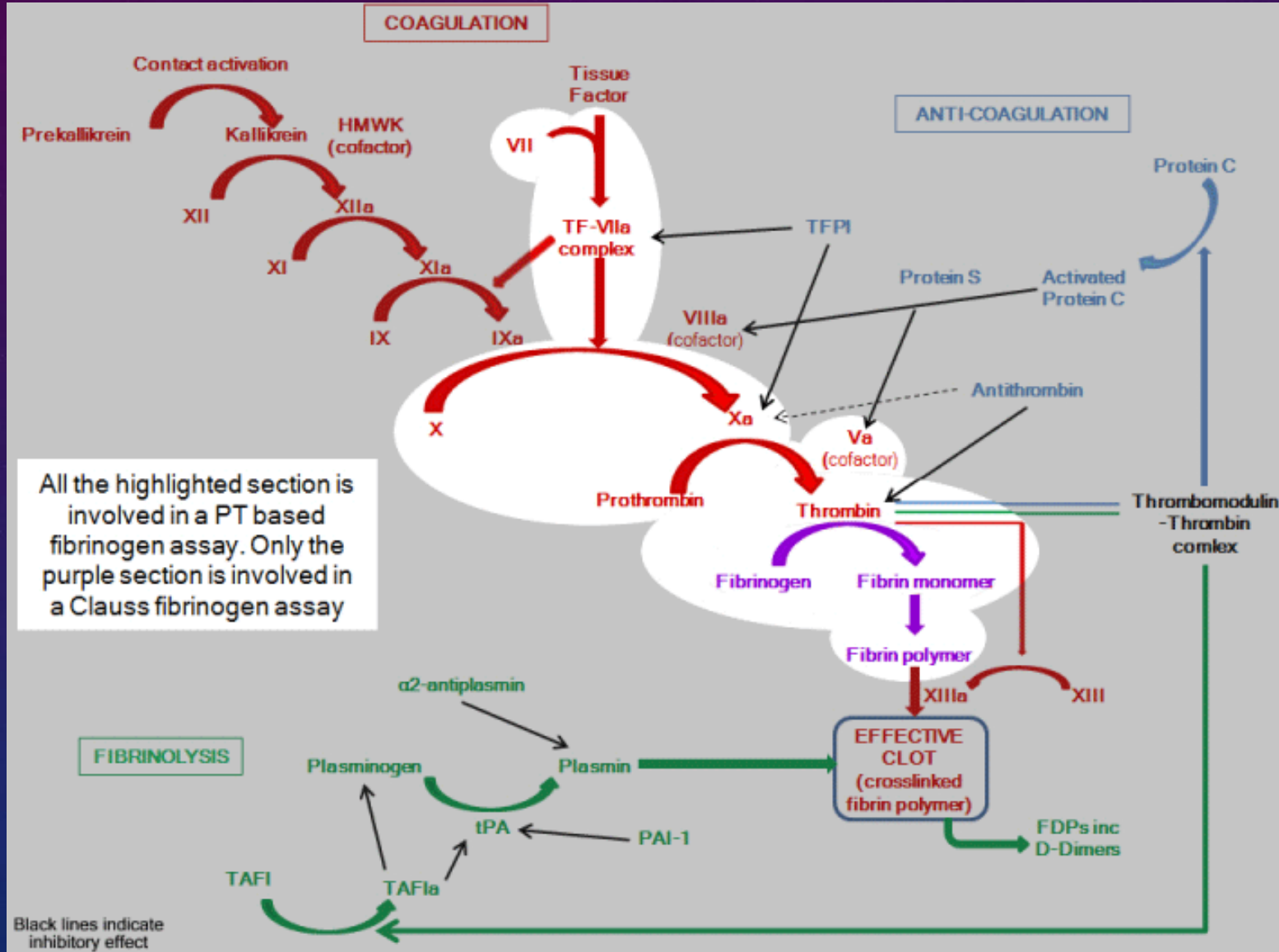
## Ölçüm Yöntemleri

- Clauss Yöntemi: Fonksiyonel (Fibrin-clot oluşumuna dayalı analiz)
- PT-derive Fibrinojen Yöntemi: Protrombin zamanı bazlı derive fibrinojen
- Immunolojik Yöntem: Fibrinojen fonksiyonundan ziyade antijenik ölçüm yapar.
- Gravimetrick Yöntem: Pıhtı ağırlığına dayanan metod.





# FIBRINOGEN



# FİBRİNOJEN DÜŞTÜĞÜ DURUMLAR

- DIC (Pıhtılaşma faktörlerinin tüketimine bağlı)
- KC Hastalığı (Azalmış senteze bağlı)
- KC Hastalığı (Anormal artmış sialik asit içeriği bulunan Anormal Fibrinojen)
- Masif Transfüzyon (Dilüsyonel Koagülopati)
- Kalıtsal Eksiklikler (Hipofibrinojenemi, afibrinojenemi ve disfibrinojenemi)
- Trombolitik tedavi sonrası
- Bazı hastalarda Aspariajinaz tedavisi sonrası



# FİBRİNOJEN YÜKSELDİĞİ DURUMLAR

- Yaşla birlikte artar
- Kadın cinsiyet, Gebelik, Oral Kontrasepsiyon
- Post-menapozal kadınlar
- Akut Faz Reaksiyonu
- Yaygın malignensi (DIC ile birlikte olursa düşer)



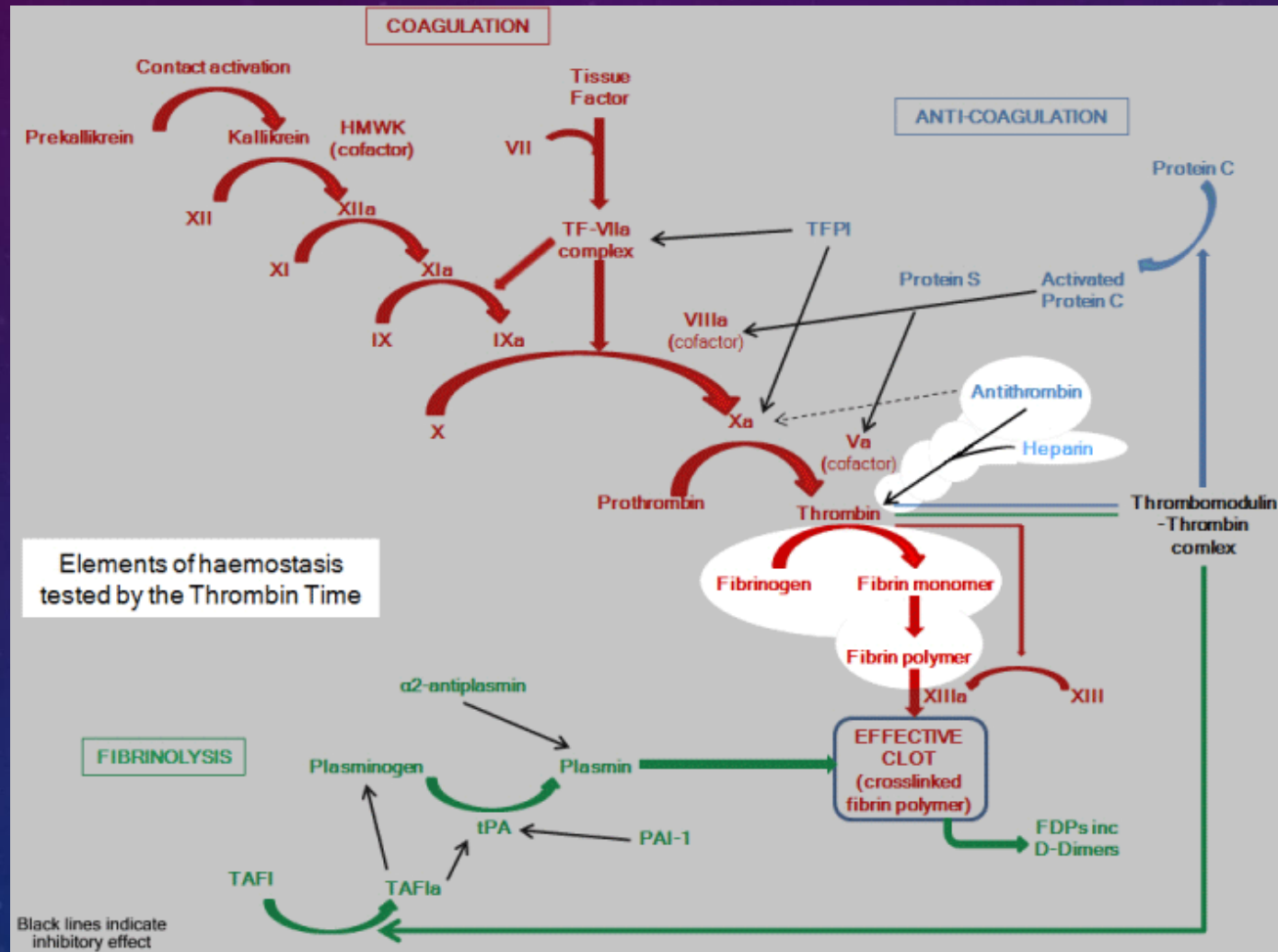
# TROMBİN ZAMANI

- Temel Tarama profilinin içerisinde bulunmasa da sıklıkla istenebilen bir test.
- Plazmaya **Trombin** (Bovine, Human) eklenmesi. **Fibrinojen → Fibrin**
- Numunede Heparin varlığından etkilenir





# TROMBIN ZAMANI



# TROMBİN ZAMANI UZAR

- **Azalmış Fibrinojen**
- Konjenital (afibrinojenemi, disfibrinojenemi)
- Kazanılmış (DIC, Trombolitik Tedavi, KC hastalığı, Malignansi)



# TROMBİN ZAMANI UZAR

- Antikoagülanlar
- UF Heparin
- Hirudin, Argatroban
- LMWH, Kumadin, Direk Trombin İnhibitörleri



# TROMBİN ZAMANI UZAR

- Fibrin Polimerizasyonunu engelleyerek
- FDP (Fibrin Yıkım Ürünleri)
- Paraprotein





# TROMBİN ZAMANI UZAR

- Amiloidoz
- Hipoalbuminemi
- Bovin Trombinine karşı antikorlar
- Hiperfibrinojenemi
- Fetal Fibrinojen



# REPTİLAZ ZAMANI

- Trombin zamanı testinin modifikasyonu
- Trombin yerine purifiye enzim Reptilaz kullanılır
- Nadir kullanılır ve Trombin zamanını uzatan nedenlerle uzar
- **Temel fark numunedeki Heparin varlığı**



## Thrombin Time

- Presence of unfractionated heparin
- Presence of LMWH
- Presence of direct thrombin inhibitors
- Warfarin
- Decreased/absent fibrinogen
- Dysfibrinogenaemia
- DIC
- Liver disease
- Heparin-like anticoagulants
- Paraproteinaemias
- Thrombolytic therapy
- Neonate
- Amyloid
- Hyperfibrinogenaemia
- Hypoalbuminaemia

↑

May show some prolongation

↑

Normal

↑

↑

↑

↑

↑

↑

↑

↑

↑

↑

↑

## Reptilase Time

Normal

Normal

Normal

Normal

↑

↑

↑

↑

Normal

↑

↑

↑

↑

↑

↑




# TARAMA TESTLERİ-ÖZET

Trombosit Sayısı	PTZ	aPTZ	TZ	Fibrinojen	Değerlendirme
NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	<ul style="list-style-type: none"><li>• NORMAL PROFİL</li><li>• FAKTOR XIII EKSİKLİĞİ</li><li>• HAFİF VW HASTALIĞI</li><li>• KALİTATİF TROMBOSİT BOZUKLUĞU</li><li>• BAĞ DOKUSU HASTALIĞI (ÖRN. EHLER DANLOS)</li><li>• HAFİF KOAGÜLASYON FAKTÖR EKSİKLİĞİ</li></ul>





# TARAMA TESTLERİ-ÖZET

Trombosit Sayısı	PTZ	aPTZ	TZ	Fibrinojen	Değerlendirme
NORMAL		NORMAL	NORMAL	NORMAL	• FAKTÖR VII EKSİKLİĞİ



# TARAMA TESTLERİ-ÖZET

Trombosit Sayısı	PTZ	aPTZ	TZ	Fibrinojen	Değerlendirme
NORMAL	NORMAL	↑	NORMAL	NORMAL	<ul style="list-style-type: none"><li>• FVIII, FIX, FXI YA DA FXII EKSİKLİĞİ</li><li>• VW HASTALIĞI (FVIII DÜZEYİ DÜŞÜK İSE)</li><li>• LUPUS ANTİKOAGÜLAN (KUVVETLİ LA VARLIĞINDA PT UZAYABİLİR, BAZI LA VARLIĞINDA TROMBOSİT SAYISI DÜŞEBİLİR)</li><li>• DİĞER KONTAKT FAKTÖR EKSİKLİKLERİ</li></ul>








# TARAMA TESTLERİ-ÖZET

Trombosit Sayısı	PTZ	aPTZ	TZ	Fibrinojen	Değerlendirme
NORMAL	↑	↑	NORMAL	NORMAL	<ul style="list-style-type: none"><li>• «ORTAK YOL» EKSİKLİĞİ, ÖRN. FII, FV YA DA FX EKSİKLİĞİ</li><li>• ÇOKLU FAKTÖR EKSİKLİKLERİ ÖRN. KOMBİNE FV VE FVIII EKS.</li><li>• WARFARİN YA DA VİT. K ANTAGONİSTİ</li><li>• VİT. K EKSİKLİĞİ, YA DA METABOLİZMA ENZİMLERİNDE MUTASYON</li><li>• NADİREN KUVVETLİ LA İLE BİRLİKTE BU BUKGULAR GÖRÜLEBİLİR</li></ul>



# TARAMA TESTLERİ-ÖZET

Trombosit Sayısı	PTZ	aPTZ	TZ	Fibrinojen	Değerlendirme
					<ul style="list-style-type: none"><li>• DIC</li><li>• MASİF TRANSFÜZYON</li><li>• KC HASTALIĞI</li></ul>





# TARAMA TESTLERİ-ÖZET

Trombosit Sayısı	PTZ	aPTZ	TZ	Fibrinojen	Değerlendirme
↓	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	<ul style="list-style-type: none"><li>• PRİMER TROMBOSİT BOZUKLUĞU</li><li>• MPV ARTMIŞ İSE ITP GİBİ PERİFERAL YIKIMIN ARTTIĞI DURUM, MPV AZALMIŞ İSE SIKLIKLA KEMİK İLİĞİ YETMEZLİĞİ DÜŞÜNDÜRÜR.</li></ul>



# KARIŞIM TESTLERİ (APTT, PTZ)

- Uzamış aPTT ve/veya PTZ'nin değerlendirilmesi, nedenlerinin araőtırılması
- Karışım testinin g¼c¼ reaktifin hassasiyeti ile orantılı
- Temelde fakt¼r eksikliği veya inhibit¼r varlığının araőtırılması
- **Hasta Plazması Normal Plazma ile karıőtırılarak eksikliğin giderilmesi esasına dayanır**
- **Normal Pool Plazma (NPP)**, Ticari olabilir
- Tercihan sağlıklı en az **20 don¼rden** elde edilen plazma karıőımı
- 1.1 mix olabileceği gibi hassasiyeti artırmak i¼in 4:1 oranında da yapılabilir (4 kısım hasta, 1 kısım NPP)



# UYGULAMA

1. Hasta aPTT ölçümü
2. NPP aPTT ölçümü
3. 1:1 Hasta ve NPP'yi karıştır.
4. 1:1 mix aPTT ölç
5. Hepsini 37'de 60-120 dk inkübe et
6. Tekrar ölç



# DEĞERLENDİRME

- **Tam düzelme** = Faktör eksikliği (hemen karışım sonrası düzelme, zamana bağlı (geç etki) inhibitör varlığını ekarte etmez)
- **Kısmi Düzelme ya da Düzelme yok** = İnhibitör düşündürür,
  - İnhibitör varlığı
  - Zamana bağlı (geç etki) inhibitör (Faktör VIII inhibitörü ve bazı LA) inkübe mix sonuçları uzun
  - Erken etki eden inhibitörler (LA, Faktör IX, vWF, Heparin, direk trombin inhibitörleri)
- **Sınırdaki Düzelme ve zamana bağlı değil**
  - LA şüphesi
  - Kısmi düzelme Faktör Eksikliğini düşündürmez





# DÜZELTME KARARI NASIL VERİLECEK?

- 1:1 mix sonucu referans aralık içerisinde
- 1.1 mix sonucu referans aralık + 5 sn içerisinde
- 1:1 mix sonucu referans aralık ortalaması +2 ya da 3 SD içerisinde
- 1:1 mix sonucu NPP sonucu + 5sn içerisinde
- 1:1 mix sonucu NPP sonucu + %10 içerisinde
- **Chang % düzeltmesi, Rosner index (Hasta, NPP ve mix birlikte inkübe edilir)**
- Referans aralığından hafif uzun bir limit belirlenmiş ise ve limite dönmesi düzelme kriteri olarak kullanılır ise pek çok inhibitörü atlayabilirsiniz



# Chang Formula Based on % Correction

$$\% \text{ Correction} = \frac{\text{Patient PTT} - 1:1 \text{ mix PTT}}{\text{Patient PTT} - \text{NP PTT}} \times 100$$

$$\% \text{ Correction} = \frac{42.5 - 32.1 = 10.4}{42.5 - 30 = 12.5} = 0.83 = 83\%$$

Factor Deficiency =  $\geq 75\%$

Inhibitor =  $< 75\%$

% Correction Chang formula verified by local laboratory

Chang SH, Tillema V, Scherr D. A "percent correction" formula for evaluation of mixing studies. Am J Clin Pathol 2002;117:62-73.



# Rosner Index Based on Ratio

$$\text{Rosner Index} = \frac{1:1 \text{ mix PTT} - \text{NP PTT}}{\text{Patient PTT}} \times 100$$

$$\text{Rosner Index} = \frac{32.1 - 30}{42.5} \times 100 = 4.9$$

Inhibitor  $\geq 11$

Correction  $< 11$

Rosner index limit validated by local laboratory

Rosner E, Pazner R, Lusky A, Modan M, Many A. Detection and quantitative evaluation of lupus circulating anticoagulant activity. *Thromb Haemost* 1987; 57: 144-147.





# NE ZAMAN KARIŞIM YAPALIM?

- Referans aralığın üzerinde aPTT
- Referans aralığın üst limitinde en az 5 sn uzun aPTT
- Hastanın kanaması mı var? Pıhtılaşma eğilimi mi?
- Faktör hassas aPTT reaktifi
- Lupus hassas aPTT reaktifi
- Muhtemel zayıf Lupus AK, 4:1 mix tercih edilir





TEŞEKKÜRLER...

