



**ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE**  

---

**FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ**  
**Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva**

# **Vliv odběru vzorku na výsledek koagulačního vyšetření**

## **Effect of blood taking technique on the result of coagulation screen**

Bakalářská práce

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví

Studijní obor: Zdravotní laborant

Autor bakalářské práce: Aneta Radačovská

Vedoucí bakalářské práce: MUDr. Petr Šrámek

---

**Kladno 2020**

## I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Radačovská** Jméno: **Aneta** Osobní číslo: **465761**  
Fakulta: **Fakulta biomedicínského inženýrství**  
Garantující katedra: **Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva**  
Studijní program: **Specializace ve zdravotnictví**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**

## II. ÚDAJE K BAKALÁŘSKÉ PRÁCI

Název bakalářské práce:

**Vliv odběru vzorku na výsledek koagulačního vyšetření**

Název bakalářské práce anglicky:

**Effect of blood taking technique on the result of coagulation screen**

Pokyny pro vypracování:

Předmětem této bakalářské práce bude porovnání vztahu mezi odběrem krve a konečným výsledkem koagulačního vyšetření. V teoretické části se budu zabývat složením krve, procesem hemostázy, a všemi faktory, které mohou ovlivňovat správnost výsledku. Dále se zaměřím na práci se vzorkem, konkrétně na odběr vzorku, jeho transport a zpracování. V praktické části se budu věnovat aktivovanému parciálnímu trombinovému testu a protrombinovému testu, které jsou nejvíce využívány pro koagulační stanovení. Budu porovnávat naměřené časy při správném a nesprávném poměru citrátu sodného, pokud budou dodrženy ostatní podmínky jak v pre-analytické tak i v analytické práci se vzorkem.

Seznam doporučené literatury:

- [1] VYDRA, Jan, Jan NOVÁK a Marie LAUERMANNOVÁ, Hematologie v kostce, ed. 2., přepracované a doplněné vydání, Praha: Mladá fronta, 2019, ISBN 978-80-204-5140-8
- [2] FABER, Edgar, Základy hematologické diagnostiky, ed. 1. vydání, Praha, Mladá fronta, 2015, 287 s., ISBN 978-80-204-3742-6
- [3] INDRÁK Karel, Hematologie a transfuzní lékařství, ed. Lékařské repertorium, Praha, Triton, 2014, sv. č. 11, ISBN 978-80-7387-722-4

Jméno a příjmení vedoucí(ho) bakalářské práce:

**MUDr. Petr Šrámek**

Jméno a příjmení konzultanta(ky) bakalářské práce:

Datum zadání bakalářské práce: **23.09.2019**

Platnost zadání bakalářské práce: **20.09.2020**

  
prof. MUDr. Leoš Navrátil, CSc., MBA, dr.h.c.  
podpis vedoucí(ho) katedry

  
prof. MUDr. Ivan Dylevský, DrSc.  
podpis děkana(ky)

## III. PŘEVZETÍ ZADÁNÍ

Student(ka) bere na vědomí, že je povinen(a) vypracovat bakalářskou práci samostatně, bez cizí pomoci, s výjimkou poskytnutých konzultací. Seznam použité literatury, jiných pramenů a jmen konzultantů je třeba uvést v bakalářské práci.

7.11.2019  
Datum převzetí zadání

Radačovská  
Podpis studenta(ky)

## **PROHLÁŠENÍ**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci s názvem Vliv odběru vzorku na výsledek koagulačního vyšetření vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů, které uvádím v seznamu bibliografických odkazů.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů.

V Kladně dne 27.05.2020

.....  
Aneta Radačovská

## **PODĚKOVÁNÍ**

Na tomto místě bych ráda poděkovala MUDr. Petru Šrámkovi za trpělivost, vstřícnost a cenné rady při vedení mé odborné práce. Rovněž děkuji konzultantce Jiřině Kloudové za ochotu, konstruktivní připomínky a čas, který mi věnovala.

## **ABSTRAKT**

Obsahem této bakalářské práce je dokázat, jaký vliv má nesprávně odebraný vzorek krve na výsledek koagulačního vyšetření.

V obecné části se zaměřuji na popis krve, od její funkce, až po krevní elementy, které jsou v ní obsaženy. Dále se věnuji hemostáze, základnímu procesu srážlivosti krve, jejím fázím a faktorům, které ji ovlivňují. Podstatnou část, která se promítá i do praxe, tvoří popis veškerých nezbytných úkonů od odběru vzorku po vydání výsledků. V každé jednotlivé fázi, a to preanalytické, analytické a postanalytické se můžeme setkat s různými faktory, které mohou mít zásadní vliv na správnost výsledku.

Ke splnění cílů práce, potvrzení předpokladu o nutnosti správného odběru vzorku k dosažení přesných výsledků, jsem si zvolila dva základní koagulační testy, a to aktivovaný parciální tromboplastinový test (aPTT) a protrombinový test (PT). Testy jsem prováděla u třiceti osob, kdy byly použity různé poměry krve a citrátu sodného. Po následné analýze a získání výsledků jsem měření vyhodnotila a pro lepší přehlednost zaznamenala do grafů.

V závěru se věnuji zhodnocení poznatků, které by pro praxi znamenaly nižší chybovost výsledků.

### **Klíčová slova**

Krev, hemostáza, koagulační vyšetření, odběr vzorku, protrombinový test, aktivovaný parciální tromboplastinový test

## **ABSTRACT**

The objective of this bachelor thesis is to prove to what extent a blood sample that has been incorrectly taken influences the result of a coagulase test.

The general part discusses the description of blood, from its functions to blood elements that it contains. The next part focuses on hemostasis, the basic process of coagulability, its phases and factors that influence it. A fundamental part of this thesis, that is also reflected in practice, contains the description of all the necessary procedures from the blood draw to evaluated results. In each phase, pre-analytical, analytical or post-analytical, different factors of crucial importance to the correctness of the results can be encountered.

In order to comply with the objectives of this thesis, that is to confirm the hypothesis of the importance of the correct procedure at the moment of the blood draw to achieve the precise results, two basic coagulase tests were chosen: activated partial thromboplastin test (aPTT) and prothrombin test (PT). The examination was carried out with thirty subjects; different proportions of blood and sodium citrate were used. After acquiring results and the analysis, the measurements were evaluated and recorded in graphs for better clarity.

In the final conclusion the findings regarding the error rate of the results in practice were evaluated.

### **Keywords**

Blood, hemostasis, coagulation examination blood taking technique, prothrombin test, activated partial thromboplastin test

## Obsah

1	Úvod.....	9
2	Cíle práce.....	10
3	Přehled současného stavu.....	11
3.1	Krev – složení a funkce.....	11
3.1.1	Funkce krve.....	11
3.1.2	Složení krve.....	12
3.2	Hemostáza.....	16
3.2.1	Plazmatické faktory ovlivňující hemostázu .....	17
3.2.2	Fáze hemostázy .....	20
3.3	Faktory ovlivňující výsledek vyšetření .....	25
3.3.1	Preanalytická fáze .....	26
3.3.2	Analytická fáze .....	29
3.3.3	Postanalytická fáze .....	32
4	Metodika.....	34
4.1	Přístroje využívané při koagulačních vyšetřeních .....	34
4.2	Metody.....	36
4.2.1	Aktivovaný parciální tromboplastinový test (aPTT).....	36
4.2.2	Protrombinový test (PT).....	38
4.3	Sběr dat .....	39
5	Výsledky .....	42
6	Diskuze .....	60
7	Závěr .....	64

8	Seznam použitých zkratek.....	65
9	Seznam použité literatury.....	66
10	Seznam použitých obrázků .....	68
11	Seznam použitých Tabulek.....	69



# 1 ÚVOD

Krev má zásadní význam pro celý lidský organismus, proto do klinických laboratoří přichází mnoho vzorků a požadavků na laboratorní vyšetření. Svým složením a funkcemi představuje životně důležitou tekutinu, která jako pohyblivé médium spojuje všechny orgány a tkáně v těle. Krevními rozbory můžeme zjistit řadu disfunkcí, a to jak samotné krve, tak i orgánů. Od výsledků krevních rozborů se odvíjí prevence, posouzení zdravého stavu jedinců, diagnostika a následná správná léčba pacientů, tudíž laboratoře úzce spolupracují nejen s nemocnicemi, ale i s praktickými lékaři a specialisty.

V současné době jsou laboratoře vybaveny moderními přístroji, díky kterým se zvýšil počet prováděných testů v kratším čase s vyšší přesností měření při menším množství objemu vzorku. Další nespornou výhodou je zajištění větší bezpečnosti práce personálu laboratoří. I přes vědecký pokrok hraje zásadní roli lidský faktor, a to jak ve fázi odběru vzorku, tak při jeho zpracování a správném nastavení přístrojů. Je třeba předcházet či minimalizovat vlivy vedoucí k odchylkám vydávaných výsledků. Tyto faktory, které mohou ovlivnit správnost naměřených hodnot jsou vlastně hlavním tématem praktické části mé bakalářské práce.

## 2 CÍLE PRÁCE

Hlavním cílem této práce je prokázat odlišnost výsledků měření testů aPTT a PT při správném a nesprávném poměru krve a citrátu sodného za předpokladu, že další faktory nebyly porušeny. Dílčím cílem je popis složení a funkce krve, popis hemostázy a stanovení dalších faktorů ovlivňujících správný výsledek měření.

## 3 PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU

### 3.1 Krev – složení a funkce

Krev je vazká, neprůhledná červená tělesná tekutina, která proudí v uzavřené soustavě cév, a to všemi orgány a tkáněmi. Objem krve průměrného dospělého člověka představuje přibližně 8 % jeho tělesné hmotnosti, což tedy činí 5–6 litrů. V těle koluje na základě podnětů srdce a v organismu plní mnoho důležitých funkcí, které můžeme rozdělit do několika kategorií. [1,2,3].

#### 3.1.1 Funkce krve

První skupinou jsou funkce regulační. Krev udržuje pH tělesných tekutin (izohydrie), udržuje stálé iontové složení (izotomie) a udržuje stálý osmotický tlak ve vnitřním prostředí (izoosmie). Jelikož jsou tyto procesy nutné k udržení stálosti v prostředí, nazývají se homeostatické. [1,2]

Druhou skupinou jsou funkce transportní. Krev přenáší dýchací plyny, hormony, živiny do cílových tkání, odpadní látky do ledvin a jater a také teplo do méně teplých částí těla. [1,2]

Třetí skupinou jsou funkce obranné. Reakcí imunitního systému chrání krev organismus proti cizorodým látkám pomocí bílých krvinek a řady jiných látek v ní obsažených. Další obrannou jsou procesy hemostatické, kdy za pomoci trombocytů a srážecích faktorů zabraňuje ztrátám krve, dojde-li k defektu v cévách. [1,2]

### 3.1.2 Složení krve

Krev se skládá z plazmy, zastupující tekutou část a z krevních elementů, které tvoří buněčnou složku.

Plazma je z fyziologického hlediska průhledná, světle žlutá tekutina získaná za pomoci centrifugace krve. Tvoří více jak 50 % celkového objemu krve. Formována je z 92 % vodou a rozpuštěnými organickými a anorganickými látkami. Mezi anorganické složky patří minerály – sodík, draslík, vápník, hořčík, železo, jód, měď, chlór a bikarbonátový aniont. Mezi organické látky obsažené v plazmě řadíme bílkoviny (pro funkci plazmy nejdůležitější složka), glukózu, nebílkovinný dusík, lipidy (pro tyto sloučeniny slouží plazma jako transportní médium). Plazmatické bílkoviny rozdělujeme na albumin, globuliny a fibrinogen. Právě fibrinogen, plazmatický protein, je nezbytně nutný pro proces hemokoagulace a náleží tak mezi proteiny akutní fáze, kdy při zánětu nebo poškození tkáně jeho koncentrace stoupá a tím se podílí na vzestupu sedimentační rychlosti. Z toho vyplývá, že je nezbytný při srážení krve. [1,2,3,4].

Další základní složkou krve jsou krevní elementy. Rozlišujeme erytrocyty (červené krvinky), leukocyty (bílé krvinky) a trombocyty (krevní destičky).

#### 3.1.2.1 Erytrocyty

Erytrocyty, červené krvinky, jsou nejpočetnější skupinou krevních buněk (více jak 99 % všech buněk v krvi). Na povrchu červených krvinek je pevná, elastická, dvojvrstvá membrána tvořena z 50 % lipidy. Tato membrána propouští vodu a anionty, a naopak udržuje uvnitř bílkoviny a kationty. Červené krvinky obsahují vodu a sušinu, která je až z 90 % tvořena hemoglobinem – krevním barvivem. Hemoglobin se skládá ze 2 párů globinových řetězců, z tetrapyrolových prstenců a z atomů železa  $Fe^{2+}$ , na které se váže kyslík. Hlavní

funkcí erytrocytů je tedy přenos krevních plynů, a to kyslíku do tkání a oxidu uhličitého do plic. [1,2,3]

Tvorba erytrocytů probíhá v kostní dřeni, v krvetvorné tkáni. Tento proces se nazývá erythropoéza a pro její zdárný průběh je nutná přítomnost základních stavebních látek erytrocytů, což jsou aminokyseliny, železo, vitamín B<sub>12</sub>, kyselina listová, erythropoetin a v neposlední řadě funkční kostní dřeň. Erytrocyty mají životnost asi 120 dní, poté dochází k jejich zániku. Nejčastěji se tak děje zestárnutím erytrocytů, kdy dojde k vyčerpání enzymů a buňky ztrácí svou flexibilitu a tvar. Proces destrukce se nazývá hemolýza a rozlišujeme intravaskulární (uvnitř buňky) a extravaskulární (mimo buňku). Membrána erytrocytů může být poškozena vlivem osmotického tlaku nebo fyzikálními, chemickými, toxickými nebo imunologickými faktory, což vede například k anemickým stavům či jiným onemocněním krve. [1,2,3,4]

Podíl objemu erytrocytů v celkovém objemu krve vyjadřuje hematokrit. Jeho stanovení se provádí pomocí průtokové cytometrie nebo zcentrifugováním vzorku nesrážlivé krve ve skleněné kapiláře. Zvýšená hodnota hematokritu se objevuje u osob, které strávili delší čas ve vyšších nadmořských výškách. Naopak nižší hematokrit zaznamenáváme u pacientů s nižším počtem červených krvinek nebo při zvýšeném objemu plazmy. [1,2,3]

### **3.1.2.2 Leukocyty**

Leukocyty, bílé krvinky (tvoří méně než 1 % celkového objemu krve), jsou kulovité, bezbarvé buňky obsahující jádro. Vznikají v kostní dřeni a diferencují a dozrávají v brzlíku. Jejich hlavní úkol spočívá v ochraně organismu proti infekci a proliferaci nádorových buněk, přičemž různé druhy leukocytů se na těchto procesech podílejí různým způsobem. U leukocytů se provádí

diferenciální rozpočet, kdy se zkoumá zastoupení jednotlivých druhů v krvi. Toto vyšetření se využívá k diagnostice nemoci (např. při infekcích). [1,2,5]

Leukocyty rozdělujeme podle jejich cytologické charakteristiky na dvě skupiny. Polymorfonukleární granulocyty dále podle barviva, které obsahují dělíme na neutrofilní, eosinofilní, bazofilní. Mononukleární agranulocyty mají pouze azurofilní jádro, tedy nespecifická granula a jsou jimi lymfocyty T a B, monocyty. [1,2,3,5]

Neutrofilny či mikrofágy, nejpočetnější typ leukocytů (60–70 % z celkového množství), jsou první obrannou linií organismu proti infekci, zánětu a hrají zásadní roli v mechanismech vrozené imunity. Vznikají v kostní dřeni, do krevního oběhu mohou migrovat prakticky okamžitě a do poškozených tkání se dostávají bez jakýchkoli aktivačních signálů. Patologické mikroorganismy jsou likvidovány mechanismem fagocytózy, která je jejich rozhodující úlohou. Zvýšená hodnota neutrofilů značí bakteriální infekce, tumory a záněty. [1,2,3,4]

Eozinofily (1-3 % všech bílých krvinek) mají zásadní význam při parazitárních infekcích a alergických reakcích, kdy mají schopnost opustit krevní řečiště a soustředit se v místě s největší šancí na průnik alergenů nebo parazitů do těla, tj. plíce, stěna trávicího traktu. Svou funkcí dokáží mikroba poškodit, následně usmrtit a při alergických reakcích pohltit komplex alergen-protilátka. [1,2,3]

Bazofilní granulocyty, málo pohyblivé buňky (nejméně zastoupený typ bílých krvinek 0-1 %) se uplatňují při hemokoagulaci, stimulaci zánětu a alergických reakcích, neboť jejich granula (membránové váčky) obsahují bradykinin, heparin, histamin a serotonin. Při degranulaci bazofilů dochází k uvolňování velkého množství těchto látek. Zvýšené hodnoty nastávají při

stavech alergických reakcí, jsou spoluzodpovědné za vznik anafylaktického šoku. [1,2,3]

Monocyty, jsou jednojaderné buňky, největší z leukocytů. Vznikají v kostní dřeni, kolují v krvi a po vyplavení do tkání nebo orgánů se diferencují v makrofágy, buňky zajišťující obranu přímo v tkáních. Hlavní funkcí monocyto-makrofágového systému je fagocytóza mikroorganismů, destrukce nefunkčních červených krvinek, eliminace antigenů, remodelace tkání, podílí se na zdárném průběhu imunitních reakcí. Některé makrofágy se usídlí ve tkáních a přetrvávají zde až několik let, ty nazýváme fixní. Druhý typ makrofágu je mobilní, který putuje až do místa infekce. [1,2,3]

Lymfocyty (20-40 % celkového počtu leukocytů) kolují v krvi, lymfě i lymfatické tkáni a tím se podílejí na imunologické obraně organismu. Schopnost proliferace si zachovávají i ve stadiu zralosti. Rozlišujeme B-lymfocyty, T-lymfocyty a NK buňky. B lymfocyty vznikají a vyvíjejí se v kostní dřeni, kde jako nezralé nejsou schopné imunitní odpovědi. Následně putují do lymfatických uzlin. Maturace neboli dozrávání probíhá za pomoci T-lymfocytů, vývoj je dokončen až po setkání s antigenem, potom již dokáží produkovat protilátky. Velký význam mají pro imunitní paměť, čehož se využívá při očkování. T-lymfocyty vznikají v krvetvorných tkáních, kostní dřeni, migrují do thymu, kde dozrávají. Ve zralé buňky se aktivují až po setkání s antigenem. Zajišťují buněčnou imunitu, účinně regulují imunitní systém, napadají nádorové buňky a viry. Jejich buněčná reakce je specifická a zůstávají po ní paměťové T-lymfocyty. NK buňky nemají antigenně specifické receptory. Nádorové buňky a buňky zasažené viry jsou schopné likvidovat bez předchozí stimulace a proliferace. [1,2,3,4]

### 3.1.2.3 Trombocyty

Trombocyty neboli krevní destičky vznikají odštěpováním fragmentů megakaryocytů při prostupu přes stěnu kapilár. Nejedná se tak o buňky, ale o bezjaderné fragmenty, nejmenší krevní částice. V neaktivované formě mají diskoidní tvar, ten se při podnětu k aktivaci mění (konstrikce). Proces, při němž jsou v krevní dřeň vytvořeny krevní destičky se nazývá trombopoéza. Jedna třetina trombocytů se nachází ve slezině, kde také nejčastěji dochází k jejich odbourání. Délka života je 7-12 dní. Schopnost fagocytózy jim umožňuje transport různých látek. Hlavní úlohou krevních destiček je však hemostáza, tj. zástava krvácení, vytvoření cévní trombolytické zátky a obnova vnitřního povrchu poškozené cévy, uplatňují se při regeneraci poraněné tkáně. [1,2,3,4]

## 3.2 Hemostáza

Hemostáza neboli zástava krvácení je velmi důležitý proces, který je ve většině případů spuštěn poškozením stěny cév. Všechny hemostatické procesy jsou vzájemně propojeny, zajišťují lokální hemostázu a tím chrání organismus před přílišnou ztrátou krve. [1,6,7]

Na hemostáze se podílí různé druhy buněk, především trombocyty, buňky s tkáňovým faktorem, endotelové buňky, ale také velké množství látek, které se již nacházejí v plazmě, ty se nazývají plazmatické faktory nebo látky, které se do plazmy uvolňují ze zúčastněných buněk. [1,6,7]



### 3.2.1 Plazmatické faktory ovlivňující hemostázu

Plazmatické faktory lze rozdělit do několika skupin, konkrétně na faktory koagulační, fibrinolytické a přirozené inhibitory krevního srážení. Porucha, vrozená nebo získaná některého z faktorů, může mít za následek vychýlení systému na stranu hyper – nebo hypokoagulace. [1,5]

Koagulační faktory jsou látky účastníci se krevního srážení, především glykoproteiny s výjimkou  $\text{Ca}^{2+}$  iontů a destičkových fosfolipidů. Každý faktor má své slovní označení a číselné označení, které vyjadřuje pořadí jeho objevení (např. fibrinogen – FI). Z biochemického hlediska se koagulační faktory dělí na několik skupin. Těmi jsou zymogeny sériových proteáz, kofaktory, regulační a přirozené proteiny, fibrinogen a transglutamináza stabilizující fibrinovou sraženinu. Většina faktorů jsou bílkovinné povahy a jsou tvořeny v játrech. Některé z nich jsou syntetizovány pouze za přítomnosti vitamínu K nazývajících se vitamín K-dependentní (např. protrombin). Vitamín K je pro správný průběh hemostázy naprosto nezbytný, proto se využívá při léčbě hyperkoagulačních stavů, kdy hrozí nežádoucí tvorba sraženin. [1,5]

Tabulka 1: Koagulační faktory [1]

Číselné značení	Slovní značení	Zdroj	Funkce
I, Ia	Fibrinogen	játra	tvorba fibrinové sítě
II, IIa	protrombin	játra	aktivace většiny faktorů
III, IIIa	Tkáňový faktor	tkáň	aktivuje FIX a FX
IV, Iva	Vápenaté ionty		vznik vazby mezi koag. faktory a fosfolipidy
V, Va	proakcelerin	játra, trombocyty	urychluje aktivaci protrombinu
VII, VIIa	prokonvertin	játra	serinová proteáza
VIII, VIIIa	Antihemofilický faktor A	makrofág	plazmatický protein, kofaktor FIX
IX, IXa	Christmas faktor	játra	vytváří komplex s FVIII a aktivuje FX
X, Xa	f. Stuart-Powerové	játra	aktivuje protrombin
XII, XIIa	Hagemanův faktor	játra	aktivuje FXI, FVII a prekalikrein
XIII	fibrin stabilizující faktor	játra	stabilizuje fibrinovou síť tvorbou peptidových vazeb
vWF	von Willebrandův faktor	endotel, trombocyty	váže a transportuje FVIII
Prekalikrein	Fletcherův faktor	játra	časná fáze koagulace

Pro úspěch koagulační reakce jsou důležité také  $\text{Ca}^{2+}$  ionty. Pokud chybějí, srážení krve neproběhne. V organismu ovšem k takovému poklesu koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$ , aby nastala porucha krevní srážlivosti, nedojde. Tato skutečnost se využívá v diagnostice in vitro. Mezi koagulační faktory řadíme i tkáňový faktor, glykoproteinový receptor. Je jediný, který není přítomný v plazmě. Uložen je v buněčných membránách fibroblastů, buněk hladké svaloviny a v tkáňových makrofázích obklopující cévy. Vytváří v okolí krevních cév hemostatickou

bariéru. Koagulace se tkáňový faktor účastní tím, že na sebe váže prokonvertin a ten je za účasti  $\text{Ca}^{2+}$  aktivován. Tento proces je základ koagulační kaskády. [1,5]

Fibrinolytické faktory jsou faktory nezbytně nutné při procesu fibrinolýzy, což je děj, při kterém dochází k odstranění fibrinové zátky. Základní látkou je plazmin, který vzniká štěpením z plazminogenu. Jeho tvorba je regulována řadou látek, které můžeme rozdělit na aktivátory a inhibitory plazminogenu. Příkladem aktivátoru je tPA a za inhibitory můžeme uvést  $\alpha_2$ -antiplazmin a TAFI. [1,5]

Přirozené inhibitory jsou další z faktorů ovlivňující hemostázu. Jejich úkolem je udržovat rovnováhu v celém systému a to tak, že tlumí některé aktivované srážecí faktory a kofaktory. Mezi nejvýznamnější inhibitory řadíme antitrombin III a heparin. [1,5]

*Tabulka 2: Přirozené inhibitory [1]*

Název	Místo vzniku	Funkce
<b>antitrombin III (AT)</b>	játra, endotel	inaktivuje trombin a FXa
<b>heparin</b>	žírné buňky, bazofily	snižuje adhezivitu trombocytů na endotel
<b>inhibitor cesty tkáňového faktoru (TFPI)</b>	endotel	indukuje vazbu FXa na monocyty
<b>protein C (PC)</b>	játra, endotel	aktivován trombomodulinem, stimuluje fibrinolýzu
<b>trombomodulin (TM)</b>	endotel	inaktivace trombinu
<b>protein S (PS)</b>	játra, endotel, trombocyty	inhibuje FXa, zpomaluje aktivaci FX

### 3.2.2 Fáze hemostázy

Hemostáza probíhá ve třech fázích. V některých zdrojích je uvedena jako počáteční fáze vazokonstrikce, která má velmi rychlý nástup, probíhá ve zlomcích sekund a účinně zastavuje krvácení v malých artériích. [1]

V primární fázi hemostázy zastávají hlavní funkci trombocyty. Jedná se o proces, který je spuštěn při kontaktu trombocytů s poškozenou cévní stěnou nebo s jiným povrchem a je složen z několika reakcí. Tyto reakce zahrnují adhezi, aktivaci, uvolňovací reakci a agregaci.

K adhezi dochází v okamžiku, kdy se neaktivovaný trombocyt střetne s nefyziologickým povrchem. V této reakci je důležitý kolagen, uložený v subendotelové cévní vrstvě, který na sebe váže krevní destičky. Trombocyty mohou být aktivovány i dalšími faktory, např. ADP, trombinem, adrenalinem či serotoninem, uvolňují některé z těchto látek, a tím dochází k aktivaci okolních trombocytů a urychlení adheze a agregace destiček. Aktivované destičky mění uspořádání buněčné membrány. V průběhu tohoto procesu se negativně nabitě fosfolipidy přesunují do vrstvy na povrchu buňky, kde se setkávají s koagulačními faktory. Tyto fosfolipidy se označují jako destičkový faktor 3. Trombocyty po aktivaci mění svůj tvar při zachování objemu. Změny probíhají i uvnitř uvolněním  $\text{Ca}^{2+}$  iontů z granul do cytoplazmy a přesunem organel do centra celé buňky. Jednotlivá granula se přesouvají do blízkosti cytoplazmatické membrány nebo systému kanálků, spojují se s nimi a při reakci vypouštějí látky v nich obsažené ven z buňky. Tyto útvary jsou nestabilní a mohou se rozpustit, tzv. primární agregace. Uvolnění látek z granul trombocytů je nevratný proces a nazývá se degranulace. Tato fáze se označuje jako sekundární agregace. Látky uvolněné z granul trombocytů ovlivňují i tvorbu destičkové zátky a hemokoagulaci. Agregace destiček probíhá zároveň s uvolňovací reakcí. Většinou je její spouštěč kolagen nebo trombin a její průběh je ovlivněn

koncentrací přítomného ADP uvolňovaného z denzních granul. Změny v membráně destiček umožňují vazbu vWF a fibrinogenu. Fibrinogen má dvě vazební místa pro trombocytové receptory a může na tato místa navázat receptory jiných trombocytů, a tak vytvořit spojovací most mezi již aktivovanými trombocyty. Takto agregace pokračuje až do momentu, kdy utvořený trombus uzavře poškozenou cévní stěnu. Při agregaci má důležitou úlohu tromboxan A<sub>2</sub>, který se vyznačuje proagregačními účinky hlavně tím, že stimuluje uvolnění dalších látek, Ca<sup>2+</sup> a ADP, a napomáhá aktivaci neaktivních destiček. Mezery mezi agregovanými destičkami jsou zaplněny fibrinovými vlákny. Po několika minutách od počátku procesu začíná tzv. retrakce koagula, kdy je vytlačena nadbytečná tekutina, tzv. séro, a trombus se tím zmenší a zpěvní. Celý proces probíhá v řádu minut a výsledkem je primární cévní zátka. Ta ucpává hlavně poškozené kapiláry a malé žíly. [1,5]

Sekundární hemostáza se nazývá hemokoagulace, což je soubor enzymových reakcí, jejichž výsledkem je nerozpustný gel vytvořený z krve. Tato reakce probíhá pouze v místě poranění a dochází tak k uzavření cévní stěny a tím je zabráněno dalším ztrátám krve. Tohoto procesu se účastní velké množství koagulačních faktorů. [1,5]

V druhé polovině minulého století byla hemokoagulace popsána jako soubor reakcí, kdy jsou jednotlivé faktory aktivovány v přesně daném pořadí, čímž vytvářejí tzv. koagulační kaskádu, jejímž výsledkem je fibrinová síť. V původním modelu koagulace byly popsány tři fáze, tj. tvorba aktivátoru protrombinu, přeměna protrombinu na trombin a transformace fibrinogenu na fibrin. [1,5]

Aktivátor protrombinu se skládá z aktivovaných FX, FV, Ca<sup>2+</sup> a fosfolipidů uložených v membráně trombocytů. Tento aktivátor může být vytvořen ve

vnějším nebo vnitřním systému. Vnější systém je spuštěn v případě velmi rozsáhlého poškození cévní stěny, kdy krev opouští krevní řečiště a dostává se do kontaktu s buňkami uloženými pod endotelem. Ty mají na svém povrchu uložený tkáňový faktor, na který je navázán faktor VII a za přítomnosti  $\text{Ca}^{2+}$  je aktivován FX. Reakce trvá přibližně 15–20 sekund. Vnitřní systém vzniku aktivátoru je uplatňován při menším poškození cévní stěny, kdy se krev dostává do kontaktu pouze s buňkami uloženými pod endotelem, ale nepřichází do kontaktu s buňkami nesoucí tkáňový faktor. Reakce začínají aktivací faktorů XII při kontaktu krve s kolagenem. Na tomto procesu se dále podílí faktory XI a IX, které vytváří komplex s faktorem VIII a s fosfolipidy. Za pomoci  $\text{Ca}^{2+}$  je aktivován faktor X. Reakce u vnitřního systému trvá 1-3 minuty, je oproti zevní reakci značně prodloužena. Vytvoření samotného aktivátoru je stejné pro vnitřní a zevní systém. Aktivovaný FX společně s fosfolipidy a  $\text{Ca}^{2+}$  tvoří komplex protrombinázu, která štěpí protrombin a ten se následně mění na trombin. Trombin je enzym s proteolytickou aktivitou a je schopný urychlit některé reakce při hemokoagulaci. Aktivuje fibrinogen a faktory XI, V a VIII, napomáhá k aktivaci destiček a stabilizuje a podporuje fibrinová vlákna, chrání celou fibrinovou síť. Z fibrinogenu se při působení trombinu odštěpují peptidové řetězce a vytváří fibrinový monomer, který se mění ve fibrinová vlákna. Ta jsou nestabilní, ale vytvoří se mezi nimi kovalentní vazby, jejichž výsledkem je stabilizace fibrinové sítě. [1,5]

Toto schéma poměrně přesně popisuje srážení *in vitro*. Vzhledem k tomu, že se srážení účastní i látky, které se nacházejí na povrchu buněk nebo látky těmito buňkami uvolňované, byl vytvořen nový model koagulace. Jeho sestavení bylo podníceno klinickými obrazy u některých pacientů, které nekorespondovaly se schématem starého koagulačního modelu. Toto nové schéma zahrnuje i činnost dalších buněk, jelikož pro zdárný průběh koagulace nestačí pouze vznik dostatečného množství aktivovaných srážecích faktorů.

Důležité je, aby byly tyto faktory přítomné v poraněném místě, kde se má vytvořit koagulum. Pokud by tento proces probíhal pouze v krvi, nastalo by riziko odplavení aktivovaných faktorů dále do krve či ven z organismu, což by vyústilo k omezení schopnosti organismu vytvořit koagulum. Koagulace se uskuteční, pokud v místě cévního defektu dojde k reakci tkáňového faktoru, trombocytů a plazmatických faktorů. [1,5]

Tento nový model tedy vychází z původního a obsahuje tři fáze, iniciace, amplifikace a propagace.

Iniciace je spuštěna kontaktem tkáňového faktoru a plazmy. V krvi je přítomný aktivní FVII, který při kontaktu s buňkami obsahujícími tkáňový faktor vytvoří tkáňový komplex. Ten aktivuje FIX a FX, který se spojuje s aktivním FV. Spolu s tkáňovým faktorem vytvoří na povrchu buněk protrombinázu, která chrání aktivovaný FX před vlivem inhibitorů obsažených v plazmě. V momentě, kdy se aktivovaný FX z buňky uvolní, stane se neaktivním, a tak je zajištěn průběh koagulace pouze v místě poškození. Během této fáze je vyprodukováno velmi malé množství trombinu, které není dostatečné k vytvoření pevné sraženiny. [1,5]

Amplifikace je hlavní proces koagulace. Trombin vytvořený při iniciaci zvyšuje prokoagulační aktivitu trombocytů pomocí aktivace FV, FVIII a FXI na jejich povrchu. Faktor XI zahajuje vnitřní cestu koagulace. Takto vytvořená protrombináza na povrchu buněk aktivuje FX několikanásobnou rychlostí než při zevní cestě (komplex tkáňového faktoru a aktivovaného FVII). Při amplifikaci je pomocí aktivace jednotlivých koagulačních faktorů dosaženo tzv. zevní i vnitřní cesty koagulace. Tím je naplněn základní princip krevního srážení, kdy je i při minimálním podnětu vytvořeno dostatečné množství fibrinu pro vznik nepropustného koagula. Protrombináza vytvořená vnější i vnitřní cestou má za

následek dvě fáze tvorby trombinu. Vnější cesta vytváří počáteční malé množství trombinu, který se hromadí a při dostatečném množství se aktivuje vnitřní cesta. [1,5]

Propagace probíhá hlavně na povrchu aktivovaných trombocytů. Aktivovaný FIX, který vznikl během iniciace se naváže na aktivovaný FVII a vytvoří komplex na povrchu trombocytů a aktivovaný FX nesoucí tkáňový faktor. Po uvolnění z těchto buněk podléhá degradaci, a proto není možné jej využít pro reakce na trombocytech. Aktivování FX vytváří komplex s aktivovaným FV, a tímto spojením vzniká dostatečné množství trombinu pro tvorbu fibrinové sítě. [1,5]

Poslední fází hemostázy je fibrinolýza, proces, který vede k rozpuštění již vzniklých trombů. Celý fibrinolytický systém zajišťuje průchodnost cév tím, že eliminuje drobné sraženiny. Tato fáze je stejně důležitá jako hemokoagulace, protože drobný trombus může při cirkulaci v krevním oběhu způsobit velice závažné zdravotní potíže. V procesu fibrinolýzy je velmi podstatný enzym plazmin, který vzniká z bílkoviny plazminogenu navázaného na fibrinová vlákna. Jeho přeměny na plazmin se účastní množství různých látek, např. tPA z buněk poškozených tkání, urokináza a aktivátory plazminogenu, mezi které patří třeba kalikrein. Vzniklý plazmin štěpí fibrin, fibrinogen, protrombin a další látky. Tím zajišťuje odstranění přebytečných sraženin a udržuje mezi prokoagulancii a antikoagulancii vzájemnou rovnováhu. Fibrinolýza hraje významnou roli i při hojení ran. Fibrin, obsažený v krevní sraženině, podporuje tvorbu granulační tkáně, která je složena zejména z kapilár, fibrinu a fibroblastů, jejichž počet se postupně zvyšuje a dochází k vytvoření jizvy, která je zodpovědná za definitivní uzavření otvoru v poškozených cévách. Tento komplex se nazývá organizace sraženiny. [1,5]



Oprava poškozené tkáně je spuštěna v momentě poranění. V průběhu procesu dochází k pohybu a vzniku nových buněk v krevním řečišti, vzniku extracelulárních matrix a k dozrání vytvořené tkáně, na jejichž regulaci se podílí řada látek, kdy některé z nich se nachází v krvi a některé se uvolňují z destiček. V poškozené tkáni se v řádu hodin nahromadí imunitní buňky, nejdříve neutrofilů, následují monocyty a lymfocyty. Jejich funkcí je eliminovat případné patogeny, fagocytovat cizí a poškozené buňky a podporovat proces hojení. Zničená tkáň je nahrazována novou, která se může lišit svými vlastnostmi. [1,5]

Vyšetřovací metody jsou zaměřeny na konkrétní fáze hemostázy. Vyšetření hemokoagulace se provádí před invazivními zákroky, při podezření na krvácivé stavy, při sledování antikoagulační léčby či při hodnocení jaterní proteosyntézy jako pomocný ukazatel. [1,5]

### **3.3 Faktory ovlivňující výsledek vyšetření**

Laboratorní vyšetření je soubor úkonů, jejichž cílem je stanovení hodnoty nebo charakteristik vlastností. Procesy, soubory vzájemně souvisejících nebo působících činností předcházející samotnému laboratornímu vyšetření, mohou výrazně ovlivnit správnost výsledku analýzy. Tím se rozumí řada různých činností v preanalytické fázi, jako je například patřičná příprava pacienta či jeho léčba, vhodné zacházení se vzorkem a jiné. Tyto faktory lze rozdělit na několik skupin dle stádia vyšetření. V této části práce se budu zaměřovat na postupy a pravidla, které se týkají Nemocnice Rudolfa a Stefanie v Benešově, kde jsem praktickou část prováděla a byla jsem seznámena s provozem a praktikami místní laboratoře, i když většina z nich je předem daná a platí všeobecně. [5,8,9,10]

### 3.3.1 Preanalytická fáze

Preanalytické faktory jsou faktory ovlivňující výsledek již v počátečních fázích vyšetření. Patří sem odběr, převoz, příjem a zpracování vzorku. Jakékoli odchylky při úkonech mohou vést již v této etapě analýzy k nesprávným či zkresleným výsledkům. [5,8,9,10]

- **Odběr vzorku**

Základem pro dosažení přesných výsledků je řádný odběr krve. Krev by měla být odebírána na lačno nebo po malé snídani bez lipidů. Zkumavky určené pro odběr jsou různých druhů, silikonované skleněné nebo umělohmotné, odlišené barevnými víčky pro svoji přehlednost, čímž se výrazně snižuje možná chybovost odběrových sester. Pro koagulační vyšetření je určena zkumavka s protisrážlivým faktorem. [5,8,9,10]

U hemokoagulačních vyšetření je nutné dbát na co nejšetrnější odběr, kdy celý proces má několik zásad, které je nutné pro správnost výsledku dodržovat. Jde především o krátké zaškrčení žíly po dobu maximálně jedné minuty, aby došlo k zamezení uvolnění aktivačních látek v krvi. Rychlý, pokud možno šetrný vpich. V opačném případě by mohlo dojít k uvolňování trombinu a aktivaci koagulačních faktorů. Tvorbě bublin a pěny zamezit opatrným nasátím krve. Ihned po odběru promíchat krev převrácením zkumavky, nikdy nesmí docházet k protřepání. Odběr nemůže probíhat za použití venózních katetrů, kdy i přes odpuštění několika mililitrů krve nezískáme správný výsledek, neboť krev může obsahovat heparin z používaných zátek. Není vhodné použít první 2 ml ani v případě klasického odběru venózní krve z důvodu uvolněného tkáňového faktoru. K většině vyšetření se využívá nesrážlivá krev. Pro dosažení řádného výsledku je zásadní přesné dodržení objemu krve a citrátu sodného při poměru

devět dílů krve a jeden díl citrátu s koncentrací 0,109 M, kdy na právě tento faktor ovlivňující výsledek testu se ve své praktické části zaměřím. Množství citrátu sodného by mělo být v případě velmi vysokého hematokritu nebo naopak velmi nízkého hematokritu regulováno. [5,8,9,10]

Nemocnice se snaží využívat co nejbezpečnější a nejefektivnější odběrové systémy, které se liší tím, že používají zkumavky s již vytvořeným vakuem nebo se vakuum pomocí pístu těsně před odebráním vytvoří. Za příklad mohu uvést BD Vacutainer, se kterým jsem se setkala při své odborné praxi. Systém je tvořen speciální dvoustrannou jehlou, vakuovou zkumavkou a držákem. Pro odběr se pacientovi nejprve zaškrtní paže a vydezinfikuje místo vpichu. Odstraní se dolní kryt jehly a zašroubuje se do závitu držáku. Druhým koncem jehly se napíchne pacientova žíla. Poté se zkumavka zatlačí do držáku jehly a vakuová zkumavka se naplní správným množstvím krve. Využití tohoto systému odběru krve má několik výhod. Pracovník nepřichází do přímého styku s krví, nedochází ke kontaminaci vzorku, odběr je přesnější a bezpečnější. [5,8,9,10]

- **Transport, příjem a zpracování vzorku**

Testování vzorku krve je nejspolehlivější, je-li vyšetření provedeno v nejkratší možné době po odběru. U většiny koagulačních testů je nutné provedení do 2, někdy do 4 hodin od odběru. Transport biologického materiálu se provádí v uzavřených zkumavkách v termoboxech nebo je zajištěn vůz s boxem s MIN-MAX teploměrem. Vzorky určené na koagulační vyšetření se transportují při pokojové teplotě. Vždy je nutné dbát na převozní teplotu pro konkrétní vzorky (např. plná krev nemůže být přepravována s vysoce zamraženou plazmou v jednom boxu). Krev nemůže být nikdy vystavena přímému slunečnímu záření. Pro převoz jsou naplánované trasy tak, aby byly dodrženy dojezdové časy. [5,8,9,10]

Při příjmu vzorku do laboratoře je pracovník povinen vzorek zkontrolovat. Materiál lze nebo se doporučuje odmítnout v případech, kdy je nedostatečně identifikována zkumavka (musí být označena jménem a rodným číslem pacienta), došlo-li ke znečištění odběrové nádoby, žádanka neobsahuje povinné údaje, při požadavku na koagulační vyšetření zjevně nebyl dodržen potřebný objem krve, bylo použito jiné aditivum nebo krev ve zkumavce nebyla řádně promíchána a došlo k vytvoření sraženiny. Žádanka nebo její elektronický ekvivalent, která je nedílnou součástí každého vzorku, musí vždy obsahovat povinné údaje a může být doplněna o údaje nepovinné neboli fakultativní. Povinnými údaji se rozumí: jméno a příjmení pacienta, rodné číslo, kód pojišťovny, diagnóza pacienta, datum a čas odběru, identifikace objednavatele (podpis a razítko, kde je uvedeno jméno lékaře, ústav, oddělení, IČP, odbornost), urgentnost dodání (jedná-li se o statim nebo rutinu), antikoagulační léčba a požadovaná vyšetření. Fakultativní údaje v případě potřeby doplňují klinické informace o pacientovi, specifikují podmínky, za jakých byl odběr realizován, např. s manžetou nebo bez manžety, v leže nebo v sedě, dále např. datum a čas transportu. [5,8,9,10]

Přijetím materiálu společně se žádankou se laboratoř zavazuje provést vyšetření. Laboratorní pracovník zhodnotí jeho prioritu (statim). Zaeviduje požadavek na vyšetření do laboratorního informačního systému (LIS). LIS následně přidělí vzorku unikátní identifikační číslo, kterým musí být opatřena rovněž žádanka. Celkově je automaticky vytištěno takové množství štítků, které odpovídá metodám, jež jsou k požadovaným vyšetřením nezbytné. Štítky mají kromě čísla i čárový kód, který obsahuje informace potřebné pro další analýzu. [5,8,9,10]

Při koagulačním vyšetření je nejčastěji využívaným materiálem krevní plazma, pouze k nějakým testům se používá plná krev. Plazma se získává

diferenciální centrifugací, kdy dojde k oddělení krevních elementů. Delší dobou centrifugace a zvýšením počtu otáček získáme plazmu chudou na trombocyty (PRP), a naopak při kratší době a při snížení počtu otáček získáme plazmu bohatou na krevní destičky (PPP). U některých speciálních vyšetření je nutná příprava bezdestičkové plazmy, čehož docílíme dvojnásobnou centrifugací a následnou aliquotací do zkumavky. [5,8,9,10]

Při koagulačním vyšetření se plazma zpracovává do 2 hodin od příjmu vzorku, skladuje se při teplotě 18–22 °C. V případě speciálních vyšetření, jejichž množství se provádí v řádu jednotek, se plazma zamrazí pro pozdější analýzu a skladuje se při teplotě -20 až -70 °C. Před samotným vyšetřením je však nutné plazmu rozmrazit při 37 °C a nechat minimálně 15 minut odležet při laboratorní teplotě. [5,8,9,10]

### **3.3.2 Analytická fáze**

Každá laboratoř je povinna dodržovat zásady vyšetření, proto musí být vypracovány standardní operační postupy jako součást řízené laboratorní dokumentace. Obsahuje přesný popis pracovních postupů, přípravy diagnostických setů a reagensů, nastavení a kalibraci přístrojů, druh používaného materiálu, přípravy pipet a provádění kontrol. [8,9,10,11]

- **Přístroje**

U laboratorních přístrojů je nutné řídit se návodem od výrobce, čímž zabezpečíme jejich správnou funkci. Ke každému přístroji jsou vypracovány technické SOP, kde jsou uvedeny pokyny pro práci a jeho údržbu. Informace o provozu musí být zaznamenávány do provozního deníku. Ročně jsou prováděny servisní prohlídky, jejichž výsledky a správnou funkci dokládají validační

protokoly. Kontrola je u přístrojů prováděna firmou, která je zároveň i dodavatelem zařízení. Od stejného dodavatele jsou rovněž pořizovány diagnostické sety, které jsou pro přístroj doporučené a tím je zajištěna záruka, že s ním korespondují. [8,9,10,11]

- **Kalibrace**

Kalibrace jsou činnosti určující za specifických podmínek vztah mezi hodnotami veličin a odpovídajícími hodnotami prováděnými standardy měření. Hodnoty veličin jsou určeny měřícím přístrojem a vyjádřeny grafem, tzv. kalibrační křivkou. Jedná se tedy o kontrolu nastavení přístroje na určenou hodnotu. Kalibrace všech přístrojů a všech provedených metod je nezbytným předpokladem k dosažení přesných výsledků. [8,9,10,11]

K vyšetření hemokoagulace se využívá jako kalibrační materiál komerční plazma s přesnými hodnotami analyzovaných parametrů, což se provádí vyšetřením ředěné referenční plazmy, zanesením naměřených hodnot do grafu a následným sestrojením kalibrační křivky. Křivka musí pokrýt i rozsah hodnot patologických. Kalibrace se vykonává při výměně reagentie, při změně šarže nebo v případě, že atestovaná kontrola spadá mimo uváděný rozsah. [8,9,10,11]

Pro každou metodu, pokud vyžaduje kalibraci, je určený kalibrátor. Ten může být součástí daného kitu nebo je využívána lidská plazma. Přístroj sám zvolí ředění na vyžadovanou koncentraci nebo je použitý již ředěný materiál, podle vybrané metody. [8,9,10,11]

- **LIS – Laboratorní informační systém**

Laboratoře využívají laboratorní informační systém – LIS. Jedná se o software, do kterého se zaznamenávají veškerá data týkající se vzorků určených k analýze a zajišťuje se tím jejich komplexní zpracování. [8,9,10,11]

Materiály, které jsou do laboratoře přijaty, obdrží po zanesení do LIS unikátní identifikační číslo. Kód provází vzorek od příjmu požadavku přes jeho zpracování a kontrolu, vytištění výsledků až po vyúčtování výkonu. V rámci nemocnice je výsledek přenesen do nemocničního informačního systému – NIS. Výsledky v elektronické podobě se ukládají a pravidelně jsou zálohovány. [8,9,10,11]

LIS je propojen s analyzátory on-line a tím umožňuje snadný přístup k uloženým datům. Uplatňuje se pro vyúčtování provedených testů zdravotním pojišťovnam, při vedení skladového hospodářství laboratoře nebo vytváření statistik, jež jsou základem pro další rozvoj laboratoře.

- **Kontrola kvality**

Pojmem kvalita se rozumí stupeň plnění požadavků souborem inherentních (v něčem existujících) trvalých charakteristik. Pojem indikátor kvality vyjadřuje míru stupně plnění požadavků souborem inherentních charakteristik. Indikátor kvality může měřit jakost všech pracovních procesů. [10,11]

Interní kontrola kvality je soubor operativních činností prováděných v místě vykonávaných služeb zajišťující splnění nároků na jejich úroveň. Vnitřní kontrolou jsou získány průběžné informace o dané metodě. Zaměřuje se především na správnost, reprodukovatelnost a opakovatelnost. K určení

správnosti se využívá tzv. firemní vzorek s normální hodnotou a ke kontrolní analýze se využívají atestované či neatestované kontrolní vzorky, ty by měly být zařazeny jako normální denní vzorky, aby mohly případně odhalit problémy. [8,9,10,11]

Externí kontrola je vyhodnocení výsledků měření nebo pozorování prováděných analýz v určité laboratoři pomocí komparace s výsledky shromážděnými v jiných laboratořích s použitím totožných materiálů poskytnutých externí organizací. [8,9,10,11]

### **3.3.3 Postanalytická fáze**

Postanalytická fáze zahrnuje vzájemnou komunikaci mezi žadatelem a laboratoří, správnou interpretaci laboratorních výsledků podloženou důkazy.

- **Výsledek testu**

Výsledky se odesílají elektronickou a písemnou formou. V naléhavých situacích je možné sdělení i telefonicky. Jedná se o případy tzv. neočekávané hodnoty, kdy se získané výsledky od předchozích výrazně liší či se výrazně odlišují od hodnoty fyziologické nebo tzv. kritické hodnoty, kdy výsledek naznačuje, že by mohlo dojít k ohrožení základních životních funkcí a je třeba okamžitý lékařský zásah. Výsledky jsou zaznamenány v LIS, kde je možné dohledat předmět a čas hlášení, identifikovat osobu, která sdělení podala a též kdo na oddělení informaci přijal. [8,9,10]



Výsledky testů se vyjadřují v různých jednotkách:

- naměřený čas vyjádřený v sekundách
- poměr času u pacienta a kontrolního vzorku ( $R = \text{ratio}$ )
- v procentech běžné koagulační aktivity
- jako mezinárodní normalizovaný poměr (INR)
- koncentrace v plazmě (např. v g/l)
- uvedená aktivita v mezinárodních jednotkách (IU/ml). [8,9,10]

## 4 METODIKA

### 4.1 Přístroje využívané při koagulačních vyšetřeních

- **Centrifuga Heraeus MEGAFUGE 16**

Výrobce: Thermo Fisher Scientific, USA

Dodavatel: Trigon Plus, s.r.o.

Unikátní multifunkční centrifuga pro všechny typy aplikací s chlazeným nebo nechlazeným provedením. Odstředivka se používá k oddělení krevních elementů a plazmy. Jako všechny přístroje se provádí každoročně kontrola servisním technikem.

- **Automatický koagulometr Sysmex® CA-2500**

Dodavatel: Siemens Healthcare Diagnostics, s.r.o.

Výrobce: Sysmex Corporation, Japonsko

Koagulometr je automatický analyzátor pro koagulační, chromogenní a imunologické in vitro testy, jež jsou nápomocny v diagnostice koagulačních abnormalit. Přístroj komunikuje on-line s LIS a stejně jako všechna laboratorní vybavení je jednou ročně zkontrolován. [12]

Skládá se z centrální řídicí jednotky, pipetovacího systému, optického systému, části pro vložení vzorků, reagensů, kontrol, kalibrátorů, diluentů a pufrů. Na přístroj je jako externí zařízení připojena tiskárna. [12]

Centrální řídicí jednotka je součástí přístroje a je tvořena počítačem a barevným displejem (touchscreen), který můžeme využívat jako ovládací prvek. [16]

Pipetovací systém je tvořen dvěma samostatnými rameny, které se pohybují po ose XYZ. Samotný proces pipetování postupuje podle zvoleného testprotokolu. Dávkování zajišťují syringe s keramickým pístem a o objemu 2000  $\mu\text{l}$ . Pipetované množství je v rozmezí 4-200  $\mu\text{l}$ . Jehly jsou čištěny propláchnutím uvnitř i na povrchu v promývacích stanicích. U každého pipetoru je umístěn detektor hladiny vzorků a reagensů, který je vyhříván pro správnou inkubaci. [12]

Do přístroje je možné vložit až 50 vzorků najednou. To umožňuje 5 stojanů po 10 vzorcích. Stojany se dostanou do pipetovací pozice. Po ukončení procesu je možné stojan osadit novými vzorky a znovu zapojit. Tímto postupem zajistíme nepřetržité testování bez přerušení práce přístroje. Zadávání vzorku je možné dvěma způsoby. Vzorky s čárovým kódem vkládáme do otvorů tak, aby byl čárový kód umístěn směrem k integrované čtečce a stojany se umístí v pravé části. Stiskneme klávesu START a přístroj identifikuje pozici vzorků a načte číselné označení vzorku a jeho požadavek na vyšetření z LIS. Vzorky bez čárového kódu se umístí do otvoru stojanu, stiskne se klávesa ORDER ENTRY a zadá se manuálně číslo vzorku a požadavek na vyšetření. Toto se opakuje u všech testovaných vzorků a úkon se spustí opět klávesou START. [12]

Reagencie se vkládají do stojanů označených písmenem A, následně do pohyblivého kruhu koagulometru. Do kruhu jsou umístěny rovněž vzorky denní kontroly a kalibrátory s označením stojanů písmenem C. Dalšími důležitými roztoky potřebnými k testování jsou diluenty a pufry SB. Ty mají své pevné místo vpředu přístroje. Každá lahvička má svůj kód obsahující šarži, který si přístroj sám načte. Monitoruje si objem a upozorní, pokud je některý z roztoků třeba doplnit. Obě komory jsou chlazeny.[12]

Optický systém neboli zdroj světla je vyřešen pomocí LED diody pro koagulační měřící kanály a halogenovou lampou s filtry pro chromogenní a imunologické kanály. [12]

## 4.2 Metody

Koagulační testy stanovují čas, který je potřeba k vytvoření fibrinového vlákna, což je doba od přidání reagensie do citrátové plazmy až do vzniku vlákna. Pro vyšetření hemostázy se využívají testy globální, to jsou orientační testy popisující celý srážecí systém. Testy skupinové, jež se zaměřují na určitou část koagulačního děje a testy specifické, které stanovují jednotlivé složky celého koagulačního systému, koagulačních faktorů, primární hemostázy a fibrinolýzy. [5,8,13]

Pro svou práci jsem si zvolila dva skupinové testy, které se v laboratořích běžně provádí, aktivovaný parciální tromboplastinový test a protrombinový test. [5,8,13]

### 4.2.1 Aktivovaný parciální tromboplastinový test (aPTT)

APTT je základní skupinový koagulační test, který monitoruje vnitřní koagulační systém a vnitřní cestu aktivace přeměny protrombinu na trombin. APTT je závislý především na činitelích v počáteční fázi koagulace – hlavně faktory VIII, IX, XI, XII, prakalikein a HMWK. Pokud je současně prodloužený i PT, zkoumají se i faktory X, V, II a fibrinogen. [5,8,13]

V současné době se užívá aPTT jako standardní test při předoperačním vyšetření, při kontrole léčby warfarinem nebo může být využitý k orientační kontrole účinnosti přímého inhibitoru trombinu. APPT je ve většině případů

upřednostněn před testem TT. Testuje se citrátová plazma zbavená krevních destiček, ke které je přidán parciální tromboplastin. [5,8,13]

K provedení testu aPTT je nutná přítomnost několika reagensů, pro urychlení reakce mohou být přidávány aktivátory (kaolin, křemičitany). Reagencie musí být citlivé k defektním faktorům, k warfarinu a k LA. [5,8,13]

Hlavní používaná reagencie je Dade®Actin® FS od firmy Siemens Healthcare Diagnostic. Dade®Actin® FS jsou vlastně čištěné fosfolipidy ze sójových bobů v  $1,0 \times 10^{-4}$  M kyseliny elagové. Jsou pufrované, stabilizované, konzervované v kapalném skupenství. V dodávaném balení je 10 x 10 ml roztoku. Neotevřená reagencie je při správném skladování (2 až 8 °C) stabilní až do data spotřeby uvedeném na etiketě, po otevření při +2 až 8 °C 7 dní. V přístroji je stabilní 48 hodin při teplotě 15-25 °C. Tato reagencie se nesmí mrazit. Další roztok potřebný k testu je CaCl<sub>2</sub> o koncentraci 0,025 mol/l. [14]

Výsledky měření se vyjadřují v sekundách, kdy se za normální hodnotu uvádí 25 – 40 s nebo jako poměr časů aPTT-R, což je čas testované plazmy/čas normálu. Normální hodnota aPTT-R se uvádí 0,8 – 1,2. [5,8,13]

Prodloužení časů oproti normálním hodnotám se projevují při poruchách faktorů vnitřního systému (I, II, V, VIII, IX, X, XI, XII) získaných i vrozených, a to například u hemofilí, masivních transfúzí, při podávání warfarinu a hyperfibrinolýzy. Výkyvy hodnot se fyziologicky mohou objevit u novorozenců. Naopak nižší časy zaznamenáme při aktivaci hemostázy nebo při trombotických komplikacích jako je např. plicní embolie či infarkt myokardu. [5,8,13]

#### 4.2.2 Protrombinový test (PT)

Protrombinový test je základní skupinový test zevního systému koagulace, zevní cesty aktivace přeměny protrombinového komplexu (hlavně faktory II, V, VII, X) a přeměny fibrinogenu na fibrin. [5,8,13]

Standardně se provádí při předoperačním vyšetření a při kontrole léčby kumariny. PT je možné využít i k orientační kontrole účinnosti inhibitorů aktivovaného FX. [5,8,13]

Testuje se citrátová plazma zbavená krevních destiček s přidaným množstvím tkáňového tromboplastinu (např. fosfolipid, extrakt z mozku, plic, placenty apod.). Měříme čas do vzniku fibrinového vlákna jako výsledku zevního systému koagulace. [5,8,13]

Používaná reagencie je Thromborel®S od firmy Siemens Healthcare Diagnostics, což je lyofilizovaný tromboplastin extrahován z placenty. [15]

Thromborel®S se musí rozpustit v přesném množství destilované vody (používáme vodu pro infuzní použití), které je uvedené na etiketě lahvičky (10 ml). Následuje 30minutová inkubace za teploty +37 °C. Neotevřené reagencie jsou stabilní až do data uvedeného na etiketě, pokud jsou skladovány při 2–8 °C. V přístroji rozpuštěná reagencie vydrží 24 hodin. [15]

Výsledky testu lze vyjádřit několika způsoby, a to v sekundách s uvedením času denního normálu nebo jako poměr časů PT-R, což je poměr času otestované plazmy/čas normálu. Normální hodnoty jsou opět uvedeny v rozmezí 0,8 – 1,2. Dříve se výsledky udávaly i v procentech koagulační aktivity normální plazmy po odečtení z kalibrační křivky. V současné době se procentuální vyjádření nedoporučuje používat a bylo nahrazeno standardním INR. INR je mezinárodní normalizovaný poměr, kdy znázorňuje normální naměřený čas u

pacienta/průměrný čas u protrombinového testu. Tento poměr je umocněn hodnotou ISI, což je mezinárodní index a je jím vyjádřena citlivost přidaného tromboplastinu. Umožňuje reprodukovatelnost výsledků a zvyšuje kvalitu léčby. [5,8,13]

Prodloužení časů testu poukazuje na nedostatek či na chybějící faktory II, V, VII, X a fibrinogen. Prodloužené časy se mohou projevit i u jaterních onemocnění, u DIC za přítomnosti FDP, při léčbě vysokými dávkami warfarinu, při trombolytické léčbě nebo při terapii trombózy. Fyziologicky se mohou vyskytnout i u novorozenců. Test indikuje také nedostatek vitamínu K či jeho léčbu antagonisty. Časy nižší oproti normálním hodnotám naměříme např. u hyperkoagulačních stavů (trombóza, infarkt myokardu) a gravidních žen. [5,8,13]

### 4.3 Sběr dat

Pro splnění cílů práce, vyčíslit odchylku naměřených časů u aPTT a PT při nedodržení správného poměru krve a citrátu sodného (9:1), bylo nezbytné připravit vzorky s chybným poměrem krve a citrátu sodného (7:1, 5:1, 3:1)

Pro přípravu jsem nejdříve musela vypočítat objem citrátu sodného, který se přidával do 3 ml krve určené pro testování. Hodnoty jsou rozdílné pro všechny poměry. Pro poměr 7:1 jsem přidala 0,428 ml citrátu sodného, pro 5:1 se jedná o 0,6 ml citrátu a pro 3:1 je to 1 ml. Citrát jsem si ve správné koncentraci nechala namíchat v lékárně.

Připravené zkumavky jsem očíslovala. Každá testovaná osoba v daný den měla přiděleno svoje číslo, kterým byly označeny všechny čtyři vzorky, lišící se příslušným poměrem ředění. Druhým krokem byla příprava citrátu sodného do kádinky a tří pipet s nastaveným vyčísleným objemem roztoku.

Krev určenou pro testování mi při standardních odběrech poskytli bezpříspěvkoví dárce krve. Od všech jsem získala alespoň ústní souhlas, že mohu jejich hodnoty ve své práci anonymně použít. Odběr byl proveden systémem BD Vacutainer, kdy každému z nich byla nejprve odebrána zkumavka krve na provedení vyšetření krevního obrazu, tím jsme odstranili první 2 ml krve, které není vhodné využít pro koagulační testy. Odběrová sestra nasadila do držáku jehly zkumavku s protisrážlivým činidlem pro přípravu správného poměru ředění. Následně odebrala další tři zkumavky se 3 ml krve, které jsem po odebrání vzorku otevřela a pipetami s připraveným objemem jsem přidala citrát sodný, zavřela víčkem a promíchala. U všech vzorků jsem použila stejný postup s tím, že byly dodrženy veškeré zásady správného odběru.

Vzorky ve zkumavkách se správným i nesprávným poměrem jsem nechala 15 minut v klidu odležet a následně jsem vzorky vložila na 15 minut při 3000 otáčkách do odstředivky Heraeus MEGAFUGE 16. Poté byly připraveny k analýze. [16]

Každému vzorku bylo přiřazeno laboratorní číslo. Při zadávání požadavků se podle druhu testů používají číselné řady. Pro mé měření jsem zvolila takovou, kterou v laboratoři využívají pro kontrolní měření. Konkrétně se jedná o číselnou řadu 501 a výše, aby nezasahovala do denního testování pacientů.



Číslo vzorku	Čísla v analyzátoru
Vzorek 1	50X (př. 501, 502, ...)
Vzorek 2	51X (př. 511, 512, ...)
Vzorek 3	52X

X jsem nahrazovala číslem určující ředění vzorku

Ředění	9: 1, X = 1	7: 1, X = 2	5: 1, X = 3	3: 1, X = 4
Označení vzorků pro měření	501, 511, ... 641	502, 512, ... 642	503, 513, ... 643	504, 514, ... 644

- **Práce na koagulometru Sysmex CA – 2500**

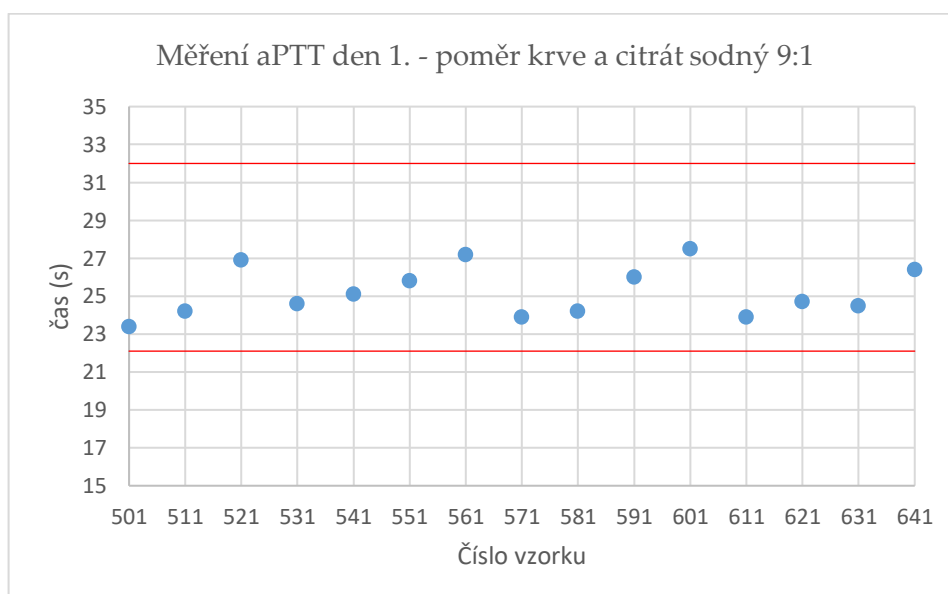
Na hematologickém oddělení je nepřetržitý provoz, tudíž se koagulometr vypíná po 24 hodinách. Před tím je potřeba zkontrolovat množství kyvet v zásobníku a množství destilované vody v kanystru, důležité na promývání pipetovacího systému mezi vzorky, vysypat použité kyvety a vylít nádobu na odpadní tekutiny. Po opětovném spuštění do provozu se sám promyje. [12]

Reagencie, promývací roztok a pufrční roztok jsem otevřené uložila do držáku a následně do přístroje. Spustila jsem denní kontroly v hladině normálové a patologické. Po zjištění, že všechny kontroly vyšly v požadovaném rozmezí a měření vyhovují, jsem vložila odstředěné vzorky do stojánku a spustila proces tlačítkem START. Naměřené hodnoty se přenesly do počítače, ze kterého jsem si je následně vytiskla. Reagencie různých dodavatelů mají rozdílné fyziologické rozmezí výsledků měření a vždy jsou uvedené v příbalovém letáku. V mém případě se jedná o rozmezí 22,1 – 32 s u aPTT a 10,4 - 12,6 s v případě PT.[12]

## 5 VÝSLEDKY

Tabulka 3: Měření aPTT den 1. – poměr krev a citrát sodný 9:1

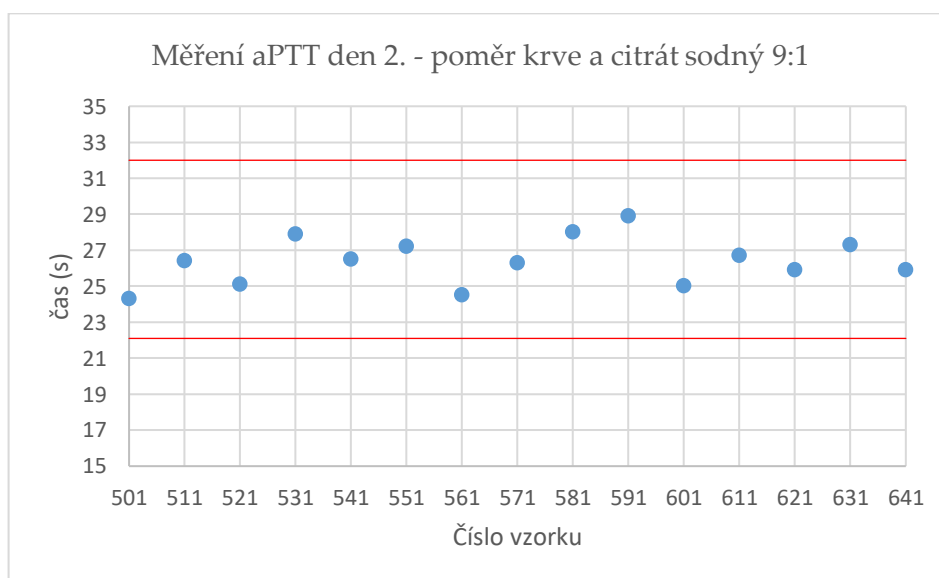
Název vzorku	Číslo vzorku	Hodnota	Min	Max
Vzorek 1	501	23,4	22,1	32
Vzorek 2	511	24,2	22,1	32
Vzorek 3	521	26,9	22,1	32
Vzorek 4	531	24,6	22,1	32
Vzorek 5	541	25,1	22,1	32
Vzorek 6	551	25,8	22,1	32
Vzorek 7	561	27,2	22,1	32
Vzorek 8	571	23,9	22,1	32
Vzorek 9	581	24,2	22,1	32
Vzorek 10	591	26,0	22,1	32
Vzorek 11	601	27,5	22,1	32
Vzorek 12	611	23,9	22,1	32
Vzorek 13	621	24,7	22,1	32
Vzorek 14	631	24,5	22,1	32
Vzorek 15	641	26,4	22,1	32



Obrázek 1: Měření aPTT den 1. - poměr krev a citrát sodný 9:1

Tabulka 4: Měření aPTT den 2. – poměr krev a citrát sodný 9:1

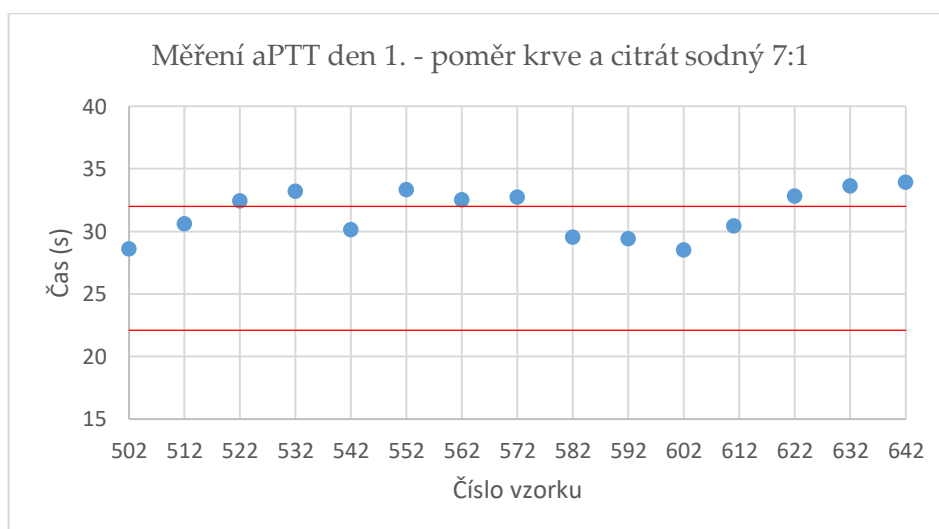
Název vzorku	Číslo vzorku	Hodnota	Min	Max
Vzorek 1	501	24,3	22,1	32
Vzorek 2	511	26,4	22,1	32
Vzorek 3	521	25,1	22,1	32
Vzorek 4	531	27,9	22,1	32
Vzorek 5	541	26,5	22,1	32
Vzorek 6	551	27,2	22,1	32
Vzorek 7	561	24,5	22,1	32
Vzorek 8	571	26,3	22,1	32
Vzorek 9	581	28,0	22,1	32
Vzorek 10	591	28,9	22,1	32
Vzorek 11	601	25,0	22,1	32
Vzorek 12	611	26,7	22,1	32
Vzorek 13	621	25,9	22,1	32
Vzorek 14	631	27,3	22,1	32
Vzorek 15	641	25,9	22,1	32



Obrázek 2: Měření aPTT den 2. - poměr krove a citrát sodný 9:1

Tabulka 5: Měření aPTT den 1. – poměr krev a citrát sodný 7:1

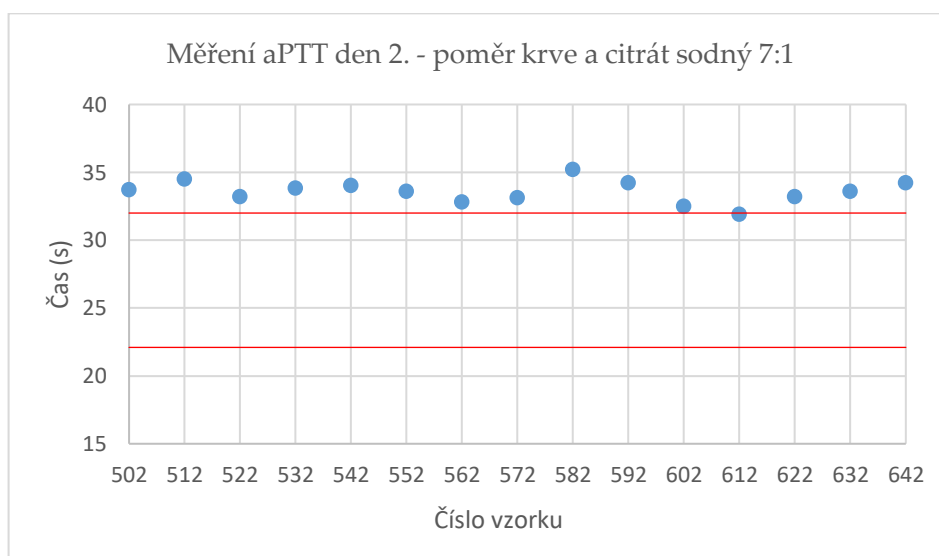
Název vzorku	Číslo vzorku	Hodnota	Min	Max
Vzorek 1	502	28,6	22,1	32
Vzorek 2	512	30,6	22,1	32
Vzorek 3	522	32,4	22,1	32
Vzorek 4	532	33,2	22,1	32
Vzorek 5	542	30,1	22,1	32
Vzorek 6	552	33,3	22,1	32
Vzorek 7	562	32,5	22,1	32
Vzorek 8	572	32,7	22,1	32
Vzorek 9	582	29,5	22,1	32
Vzorek 10	592	29,4	22,1	32
Vzorek 11	602	28,5	22,1	32
Vzorek 12	611	30,4	22,1	32
Vzorek 13	622	32,8	22,1	32
Vzorek 14	632	33,6	22,1	32
Vzorek 15	642	33,9	22,1	32



Obrázek 3: Měření aPTT den 1. - poměr krev a citrát sodný 7:1

Tabulka 6: Měření aPTT den 2. – poměr krev a citrát sodný 7:1

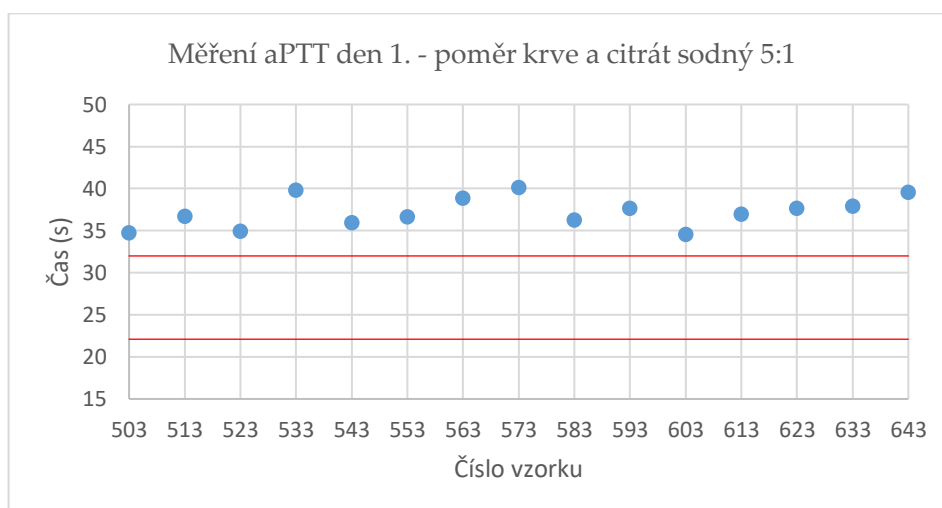
Název vzorku	Číslo vzorku	Hodnota	Min	Max
Vzorek 1	502	33,7	22,1	32
Vzorek 2	512	34,5	22,1	32
Vzorek 3	522	33,2	22,1	32
Vzorek 4	532	33,8	22,1	32
Vzorek 5	542	34,0	22,1	32
Vzorek 6	552	33,6	22,1	32
Vzorek 7	562	32,8	22,1	32
Vzorek 8	572	33,1	22,1	32
Vzorek 9	582	35,2	22,1	32
Vzorek 10	592	34,2	22,1	32
Vzorek 11	602	32,5	22,1	32
Vzorek 12	612	31,9	22,1	32
Vzorek 13	622	33,2	22,1	32
Vzorek 14	632	33,6	22,1	32
Vzorek 15	642	34,2	22,1	32



Obrázek 4: Měření aPTT den 2. - poměr krev a citrát sodný 7:1

Tabulka 7: Měření aPTT den 1. – poměr krev a citrát sodný 5:1

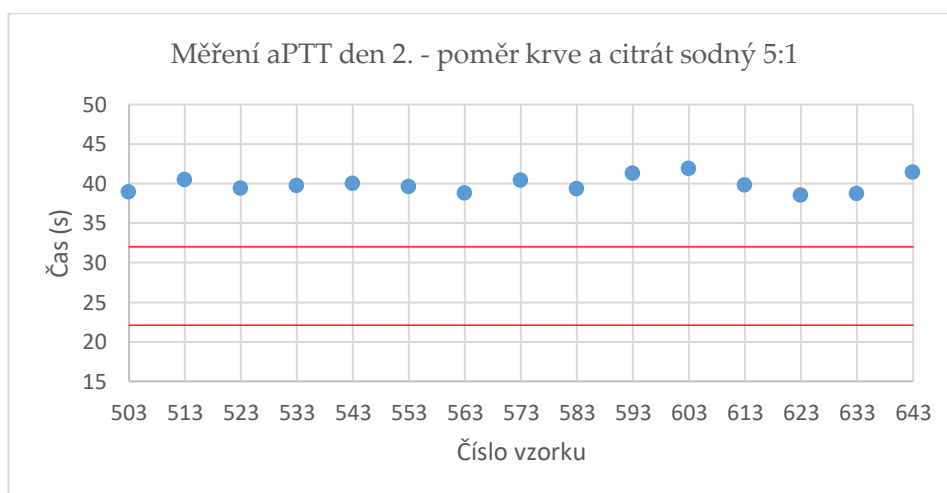
Název vzorku	Číslo vzorku	Hodnota	Min	Max
Vzorek 1	503	34,7	22,1	32
Vzorek 2	513	36,7	22,1	32
Vzorek 3	523	34,9	22,1	32
Vzorek 4	533	39,8	22,1	32
Vzorek 5	543	35,9	22,1	32
Vzorek 6	553	36,6	22,1	32
Vzorek 7	563	38,8	22,1	32
Vzorek 8	573	40,1	22,1	32
Vzorek 9	583	36,2	22,1	32
Vzorek 10	593	37,6	22,1	32
Vzorek 11	603	34,5	22,1	32
Vzorek 12	613	36,9	22,1	32
Vzorek 13	623	37,6	22,1	32
Vzorek 14	633	37,9	22,1	32
Vzorek 15	643	39,5	22,1	32



Obrázek 5: Měření aPTT den 1. - poměr krev a citrát sodný 5:1

Tabulka 8: Měření aPTT den 2. – poměr krev a citrát sodný 5:1

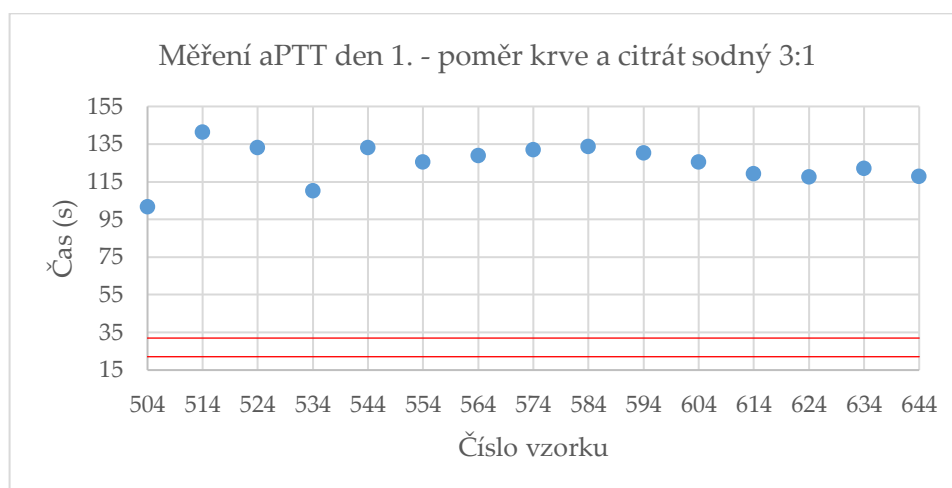
Název vzorku	Číslo vzorku	Hodnota	Min	Max
Vzorek 1	503	38,9	22,1	32
Vzorek 2	513	40,5	22,1	32
Vzorek 3	523	39,4	22,1	32
Vzorek 4	533	39,7	22,1	32
Vzorek 5	543	40,0	22,1	32
Vzorek 6	553	39,6	22,1	32
Vzorek 7	563	38,8	22,1	32
Vzorek 8	573	40,4	22,1	32
Vzorek 9	583	39,3	22,1	32
Vzorek 10	593	41,3	22,1	32
Vzorek 11	603	41,9	22,1	32
Vzorek 12	613	39,8	22,1	32
Vzorek 13	623	38,5	22,1	32
Vzorek 14	633	38,7	22,1	32
Vzorek 15	643	41,4	22,1	32



Obrázek 6: Měření aPTT den 2. - poměr krev a citrát sodný 5:1

Tabulka 9: Měření aPTT den 1. – poměr krev a citrát sodný 3:1

Název vzorku	Číslo vzorku	Hodnota	Min	Max
Vzorek 1	504	101,5	22,1	32
Vzorek 2	514	141,3	22,1	32
Vzorek 3	524	132,9	22,1	32
Vzorek 4	534	110,2	22,1	32
Vzorek 5	544	133,0	22,1	32
Vzorek 6	554	125,5	22,1	32
Vzorek 7	564	128,8	22,1	32
Vzorek 8	574	132,0	22,1	32
Vzorek 9	584	133,5	22,1	32
Vzorek 10	594	130,2	22,1	32
Vzorek 11	604	125,3	22,1	32
Vzorek 12	614	119,2	22,1	32
Vzorek 13	624	117,5	22,1	32
Vzorek 14	634	122,0	22,1	32
Vzorek 15	644	117,8	22,1	32

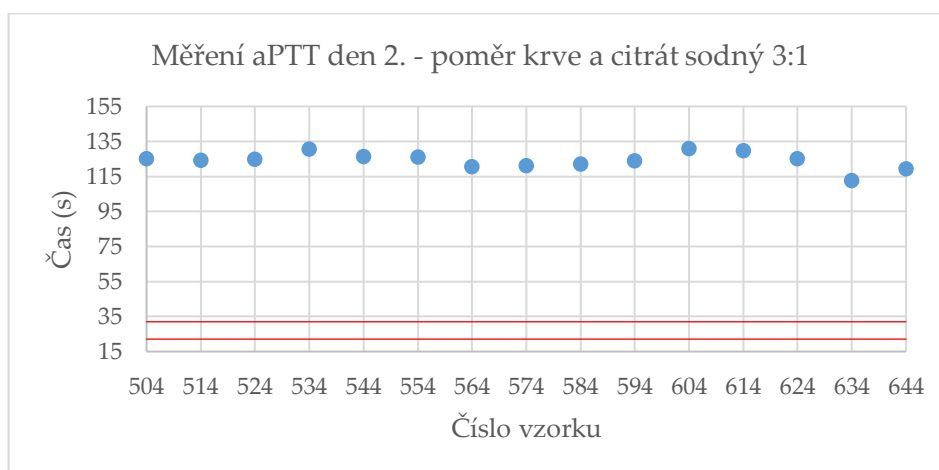


Obrázek 7: Měření aPTT den 1. - poměr krev a citrát sodný 3:1



Tabulka 10: Měření aPTT den 2. – poměr krev a citrát sodný 3:1

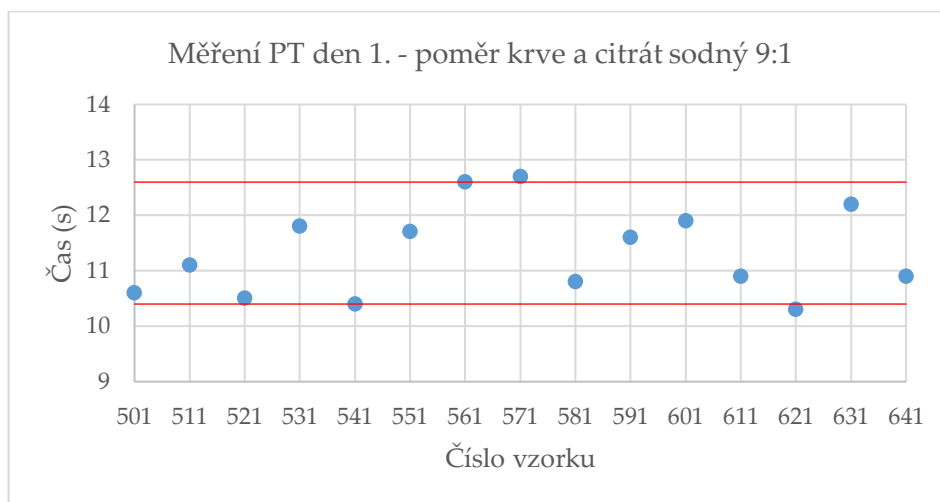
Název vzorku	Číslo vzorku	Hodnota	Min	Max
Vzorek 1	504	125,1	22,1	32
Vzorek 2	514	123,9	22,1	32
Vzorek 3	524	124,7	22,1	32
Vzorek 4	534	130,4	22,1	32
Vzorek 5	544	126,1	22,1	32
Vzorek 6	554	125,8	22,1	32
Vzorek 7	564	120,5	22,1	32
Vzorek 8	574	120,9	22,1	32
Vzorek 9	584	121,9	22,1	32
Vzorek 10	594	123,8	22,1	32
Vzorek 11	604	130,6	22,1	32
Vzorek 12	614	129,5	22,1	32
Vzorek 13	624	125,1	22,1	32
Vzorek 14	634	112,5	22,1	32
Vzorek 15	644	119,3	22,1	32



Obrázek 8: Měření aPTT den 2. - poměr krev a citrát sodný 3:1

Tabulka 11: Měření PT den 1. – poměr krev a citrát sodný 9:1

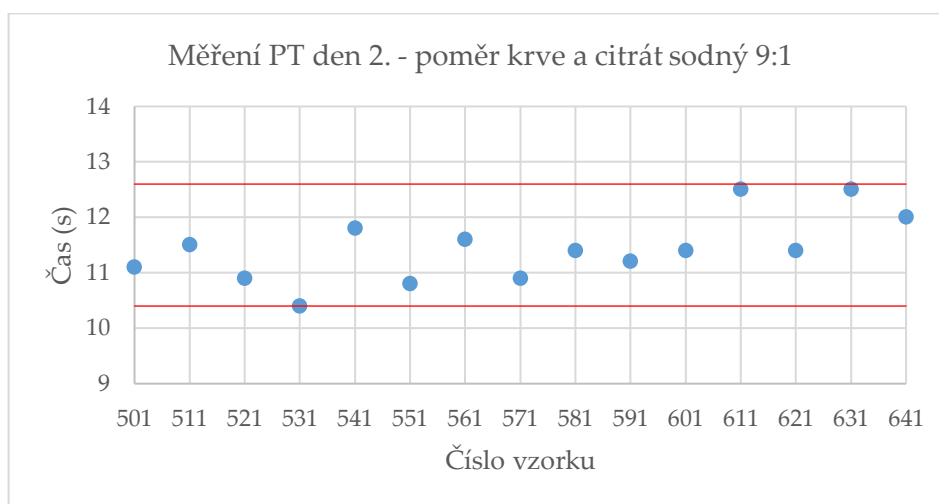
Název vzorku	Číslo vzorku	Hodnota	Min	Max
Vzorek 1	501	10,6	10,4	12,6
Vzorek 2	511	11,1	10,4	12,6
Vzorek 3	521	10,5	10,4	12,6
Vzorek 4	531	11,8	10,4	12,6
Vzorek 5	541	10,4	10,4	12,6
Vzorek 6	551	11,7	10,4	12,6
Vzorek 7	561	12,6	10,4	12,6
Vzorek 8	571	12,7	10,4	12,6
Vzorek 9	581	10,8	10,4	12,6
Vzorek 10	591	11,6	10,4	12,6
Vzorek 11	601	11,9	10,4	12,6
Vzorek 12	611	10,9	10,4	12,6
Vzorek 13	621	10,3	10,4	12,6
Vzorek 14	631	12,2	10,4	12,6
Vzorek 15	641	10,9	10,4	12,6



Obrázek 9: Měření PT den 1. - poměr krve a citrát sodný 9:1

Tabulka 12: Měření PT den 2. – poměr krev a citrát sodný 9:1

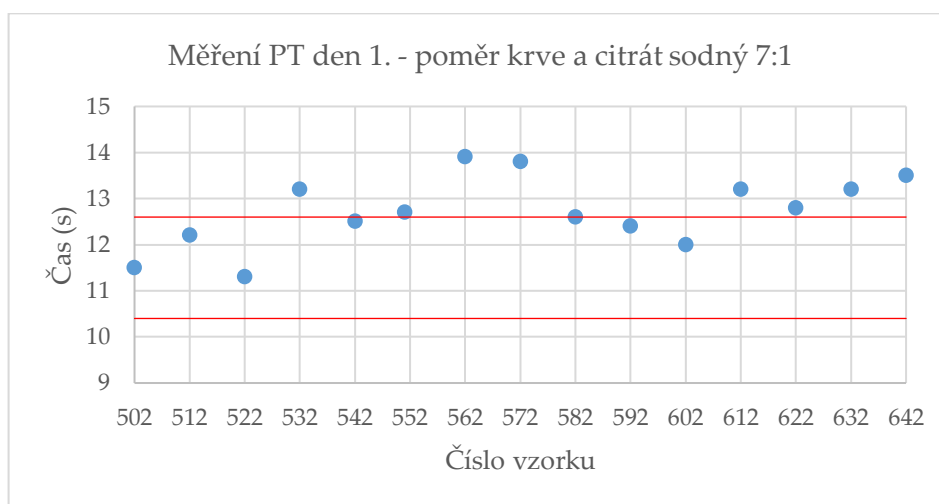
Název vzorku	Číslo vzorku	Hodnota	Min	Max
Vzorek 1	501	11,1	10,4	12,6
Vzorek 2	511	11,5	10,4	12,6
Vzorek 3	521	10,9	10,4	12,6
Vzorek 4	531	10,4	10,4	12,6
Vzorek 5	541	11,8	10,4	12,6
Vzorek 6	551	10,8	10,4	12,6
Vzorek 7	561	11,6	10,4	12,6
Vzorek 8	571	10,9	10,4	12,6
Vzorek 9	581	11,4	10,4	12,6
Vzorek 10	591	11,2	10,4	12,6
Vzorek 11	601	11,4	10,4	12,6
Vzorek 12	611	12,5	10,4	12,6
Vzorek 13	621	11,4	10,4	12,6
Vzorek 14	631	12,5	10,4	12,6
Vzorek 15	641	12,0	10,4	12,6



Obrázek 10: Měření PT den 2. - poměr krve a citrát sodný 9:1

Tabulka 13: Měření PT den 1. – poměr krev a citrát sodný 7:1

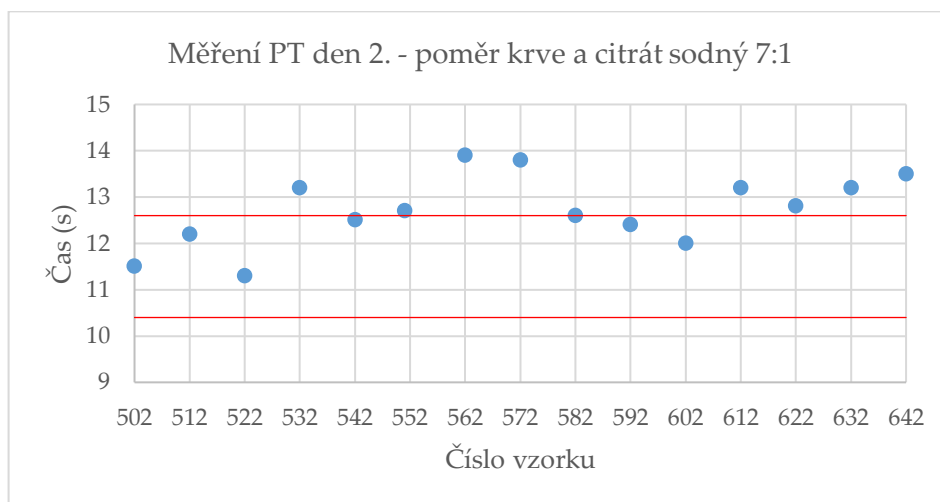
Název vzorku	Číslo vzorku	Hodnota	Min	Max
Vzorek 1	502	11,5	10,4	12,6
Vzorek 2	512	12,2	10,4	12,6
Vzorek 3	522	11,3	10,4	12,6
Vzorek 4	532	13,2	10,4	12,6
Vzorek 5	542	12,5	10,4	12,6
Vzorek 6	551	12,7	10,4	12,6
Vzorek 7	562	13,9	10,4	12,6
Vzorek 8	572	13,8	10,4	12,6
Vzorek 9	582	12,6	10,4	12,6
Vzorek 10	592	12,4	10,4	12,6
Vzorek 11	602	12	10,4	12,6
Vzorek 12	612	13,2	10,4	12,6
Vzorek 13	622	12,8	10,4	12,6
Vzorek 14	632	13,2	10,4	12,6
Vzorek 15	642	13,5	10,4	12,6



Obrázek 11: Měření PT den 1. - poměr krve a citrát sodný 7:1

Tabulka 14: Měření PT den 2. – poměr krev a citrát sodný 7:1

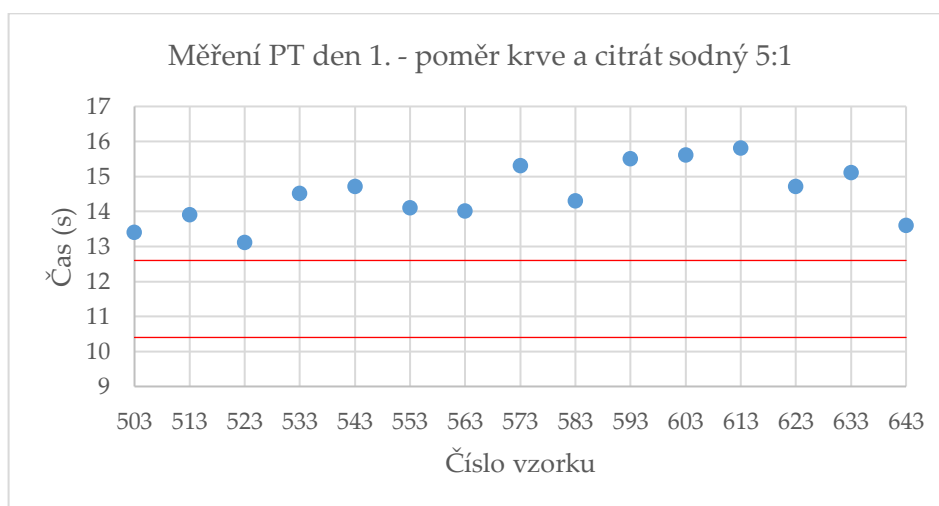
Název vzorku	Číslo vzorku	Hodnota	Min	Max
Vzorek 1	502	11,5	10,4	12,6
Vzorek 2	512	12,2	10,4	12,6
Vzorek 3	522	11,3	10,4	12,6
Vzorek 4	532	13,2	10,4	12,6
Vzorek 5	542	12,5	10,4	12,6
Vzorek 6	551	12,7	10,4	12,6
Vzorek 7	562	13,9	10,4	12,6
Vzorek 8	572	13,8	10,4	12,6
Vzorek 9	582	12,6	10,4	12,6
Vzorek 10	592	12,4	10,4	12,6
Vzorek 11	602	12	10,4	12,6
Vzorek 12	612	13,2	10,4	12,6
Vzorek 13	622	12,8	10,4	12,6
Vzorek 14	632	13,2	10,4	12,6
Vzorek 15	642	13,5	10,4	12,6



Obrázek 12: Měření PT den 2. - poměr krve a citrát sodný 7:1

Tabulka 15: Měření PT den 1. – poměr krev a citrát sodný 5:1

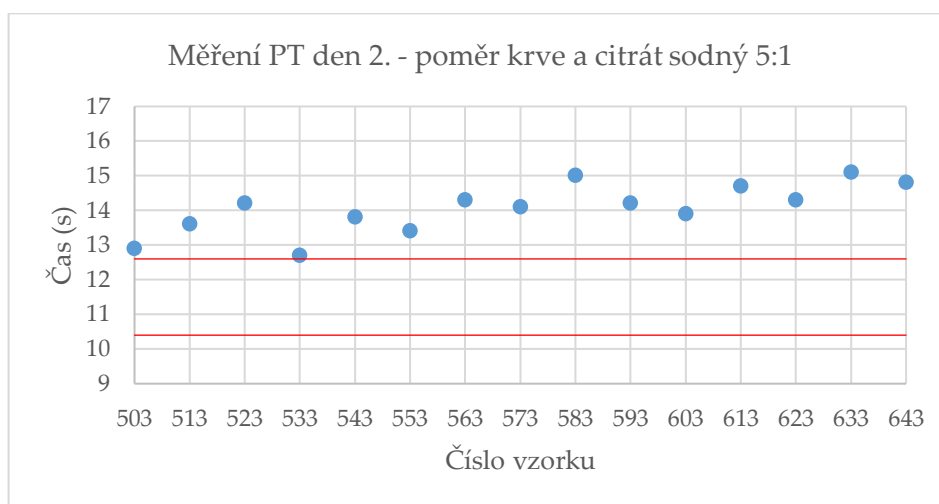
Název vzorku	Číslo vzorku	Hodnota	Min	Max
Vzorek 1	503	13,4	10,4	12,6
Vzorek 2	513	13,9	10,4	12,6
Vzorek 3	523	13,1	10,4	12,6
Vzorek 4	533	14,5	10,4	12,6
Vzorek 5	543	14,7	10,4	12,6
Vzorek 6	553	14,1	10,4	12,6
Vzorek 7	563	14	10,4	12,6
Vzorek 8	573	15,3	10,4	12,6
Vzorek 9	583	14,3	10,4	12,6
Vzorek 10	593	15,5	10,4	12,6
Vzorek 11	603	15,6	10,4	12,6
Vzorek 12	613	15,8	10,4	12,6
Vzorek 13	623	14,7	10,4	12,6
Vzorek 14	633	15,1	10,4	12,6
Vzorek 15	643	13,6	10,4	12,6



Obrázek 13: Měření PT den 1. - poměr krve a citrát sodný 5:1

Tabulka 16: Měření PT den 2. – poměr krev a citrát sodný 5:1

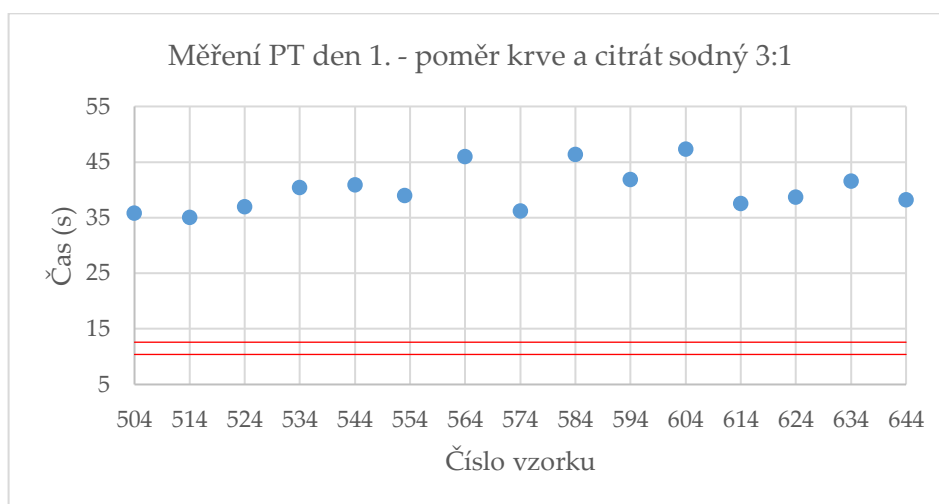
Název vzorku	Číslo vzorku	Hodnota	Min	Max
Vzorek 1	503	12,9	10,4	12,6
Vzorek 2	513	13,6	10,4	12,6
Vzorek 3	523	14,2	10,4	12,6
Vzorek 4	533	12,7	10,4	12,6
Vzorek 5	543	13,8	10,4	12,6
Vzorek 6	553	13,4	10,4	12,6
Vzorek 7	563	14,3	10,4	12,6
Vzorek 8	573	14,1	10,4	12,6
Vzorek 9	583	15	10,4	12,6
Vzorek 10	593	14,2	10,4	12,6
Vzorek 11	603	13,9	10,4	12,6
Vzorek 12	613	14,7	10,4	12,6
Vzorek 13	623	14,3	10,4	12,6
Vzorek 14	633	15,1	10,4	12,6
Vzorek 15	643	14,8	10,4	12,6



Obrázek 14: Měření PT den 2. - poměr krve a citrát sodný 5:1

Tabulka 17: Měření PT den 1. – poměr krev a citrát sodný 3:1

Název vzorku	Číslo vzorku	Hodnota	Min	Max
Vzorek 1	504	35,8	10,4	12,6
Vzorek 2	514	35,0	10,4	12,6
Vzorek 3	524	36,9	10,4	12,6
Vzorek 4	534	40,4	10,4	12,6
Vzorek 5	544	40,8	10,4	12,6
Vzorek 6	553	38,9	10,4	12,6
Vzorek 7	564	45,9	10,4	12,6
Vzorek 8	574	36,1	10,4	12,6
Vzorek 9	584	46,3	10,4	12,6
Vzorek 10	594	41,8	10,4	12,6
Vzorek 11	604	47,3	10,4	12,6
Vzorek 12	614	37,5	10,4	12,6
Vzorek 13	624	38,6	10,4	12,6
Vzorek 14	634	41,5	10,4	12,6
Vzorek 15	644	38,2	10,4	12,6

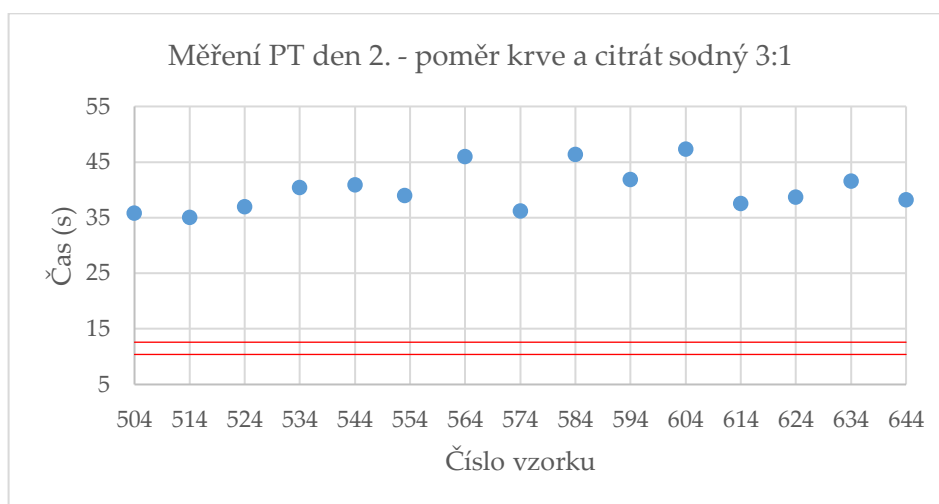


Obrázek 15: Měření PT den 1. - poměr krve a citrát sodný 3:1



Tabulka 18: Měření PT den 2. – poměr krev a citrát sodný 3:1

Název vzorku	Číslo vzorku	Hodnota	Min	Max
Vzorek 1	504	36,4	10,4	12,6
Vzorek 2	514	37,3	10,4	12,6
Vzorek 3	524	40,2	10,4	12,6
Vzorek 4	534	37,5	10,4	12,6
Vzorek 5	544	40,5	10,4	12,6
Vzorek 6	553	37,3	10,4	12,6
Vzorek 7	564	42,6	10,4	12,6
Vzorek 8	574	42,2	10,4	12,6
Vzorek 9	584	44,3	10,4	12,6
Vzorek 10	594	43,6	10,4	12,6
Vzorek 11	604	42,7	10,4	12,6
Vzorek 12	614	44,2	10,4	12,6
Vzorek 13	624	43,1	10,4	12,6
Vzorek 14	634	42,3	10,4	12,6
Vzorek 15	644	43,1	10,4	12,6



Obrázek 16: Měření PT den 2. - poměr krve a citrát sodný 3:1

Tabulka 19: Souhrn měření aPTT

		Poměr 9:1	Poměr 7:1	Poměr 5:1	Poměr 3:1
1. den	Vzorek 1	23,4	28,6	34,7	101,5
	Vzorek 2	24,2	30,6	36,7	141,3
	Vzorek 3	26,9	32,4	34,9	132,9
	Vzorek 4	24,6	33,2	39,8	110,2
	Vzorek 5	25,1	30,1	35,9	133,0
	Vzorek 6	25,8	33,3	36,6	125,5
	Vzorek 7	27,2	32,5	38,8	128,8
	Vzorek 8	23,9	32,7	40,1	132,0
	Vzorek 9	24,2	29,5	36,2	133,5
	Vzorek 10	26,0	29,4	37,6	130,2
	Vzorek 11	27,5	28,5	34,5	125,3
	Vzorek 12	23,9	30,4	36,9	119,2
	Vzorek 13	24,7	32,8	37,6	117,5
	Vzorek 14	24,5	33,6	37,9	122,0
	Vzorek 15	26,4	33,9	39,5	117,8
2. den	Vzorek 1	24,3	33,7	38,9	125,1
	Vzorek 2	26,4	34,5	40,5	123,9
	Vzorek 3	25,1	33,2	39,4	124,7
	Vzorek 4	27,9	33,8	39,7	130,4
	Vzorek 5	26,5	34,0	40,0	126,1
	Vzorek 6	27,2	33,6	39,6	125,8
	Vzorek 7	24,5	32,8	38,8	120,5
	Vzorek 8	26,3	33,1	40,4	120,9
	Vzorek 9	28,0	35,2	39,3	121,9
	Vzorek 10	28,9	34,2	41,3	123,8
	Vzorek 11	25,0	32,5	41,9	130,6
	Vzorek 12	26,7	31,9	39,8	129,5
	Vzorek 13	25,9	33,2	38,5	125,1
	Vzorek 14	27,3	33,6	38,7	112,5
	Vzorek 15	25,9	34,2	41,4	119,3

Tabulka 20: Souhrn měření PT

		Poměr 9:1	Poměr 7:1	Poměr 5:1	Poměr 3:1
1. den	Vzorek 1	10,6	11,5	13,4	35,8
	Vzorek 2	11,1	12,2	13,9	35,0
	Vzorek 3	10,5	11,3	13,1	36,9
	Vzorek 4	11,8	13,2	14,5	40,4
	Vzorek 5	10,4	12,5	14,7	40,8
	Vzorek 6	11,7	12,7	14,1	38,9
	Vzorek 7	12,6	13,9	14,0	45,9
	Vzorek 8	12,7	13,8	15,3	36,1
	Vzorek 9	10,8	12,6	14,3	46,3
	Vzorek 10	11,6	12,4	15,5	41,8
	Vzorek 11	11,9	12	15,6	47,3
	Vzorek 12	10,9	13,2	15,8	37,5
	Vzorek 13	10,3	12,8	14,7	38,6
	Vzorek 14	12,2	13,2	15,1	41,5
	Vzorek 15	10,9	13,5	13,6	38,2
2. den	Vzorek 1	11,1	11,5	12,9	36,4
	Vzorek 2	11,5	12,2	13,6	37,3
	Vzorek 3	10,9	11,3	14,2	40,2
	Vzorek 4	10,4	13,2	12,7	37,5
	Vzorek 5	11,8	12,5	13,8	40,5
	Vzorek 6	10,8	12,7	13,4	37,3
	Vzorek 7	11,6	13,9	14,3	42,6
	Vzorek 8	10,9	13,8	14,1	42,2
	Vzorek 9	11,4	12,6	15,0	44,3
	Vzorek 10	11,2	12,4	14,2	43,6
	Vzorek 11	11,4	12,0	13,9	42,7
	Vzorek 12	12,5	13,2	14,7	44,2
	Vzorek 13	11,4	12,8	14,3	43,1
	Vzorek 14	12,5	13,2	15,1	42,3
	Vzorek 15	12,0	13,5	14,8	43,1

## 6 DISKUZE

V této části práce se zaměřím na shrnutí a následky vlivu správného odběru vzorku na výsledek měření koagulačních vyšetření aPTT a PT. Z celého výčtu jednotlivých prvků v procesu konečného stanovení hodnot byl při mém měření porušen pouze jediný faktor, a to poměr protisrážlivého činidla (citrátu sodného) a krve.

APTT je testem zaměřujícím se na funkci vnitřního koagulačního systému. Využívá se jako jeden ze základních testů předoperačního vyšetření, při zjištění poruch srážlivosti krve a dalších hematologických vyšetření. Naměřené hodnoty se udávají v sekundách.

PT další ze skupiny základních vyšetření, který se naopak zaměřuje se na zevní cestu koagulace a zevní cestu tvorby a přeměny protrombinového komplexu. Provádí se v obdobných případech jako aPTT. Výsledky lze vyjádřit dvěma hodnotami, a to buď v sekundách nebo mezinárodním normalizovaným poměrem INR.

Pro splnění všech cílů své bakalářské práce bylo třeba připomenout obecná fakta o krvi a její funkci, podrobněji přiblížit proces hemostázy, uvést všechny faktory, které by mohly negativně ovlivňovat správnost výsledku a v neposlední řadě samotné zjištění skutečných hodnot měření. Praktickou část jsem prováděla v Nemocnici Rudolfa a Stefanie v Benešově na transfúzním a hematologickém oddělení. Vzhledem k tomu, že zde probíhají dva krát v týdnu odběry bezpříspěvkových dárců krve, několik z nich jsem individuálně oslovila, zda by byli ochotni poskytnout mi krev pro testování a následné výsledky anonymně zveřejnit ve své práci. Jednalo se o jedince bez hematologických onemocnění. Pro

porovnání jsem provedla měření u jednoho warfarinem léčeného pacienta. V tomto případě byla odebrána pouze jedna zkumavka, kdy jsem nasimulovala klasický případ nesprávného odběru (5:1) a provedla měření. Rozdíly ve zjištěných hodnotách se v tomto případě nijak nelišily od zdravých pacientů, ovšem následky pro jedince mohou mít vážnější dopad. Prodloužený čas u pacienta s antikoagulační léčbou může lékař vyhodnotit jako léčbu správnou. Ve skutečnosti je pacientovi podáváno nedostatečné množství léku a tím se opět dostává do rizika trombózy.

Z výsledků měření vyplynulo následující. V případě dodržení správného poměru citrátu sodného byla velká většina výsledků v odpovídajícím rozmezí. U nepatrného množství testů došlo k menším odchylkám. Při provádění testů s nesprávnými poměry ředění, a to 7:1 a 5:1 se naměřené časy postupně zvyšovaly v řádu jednotek, v několika případech v řádu desítek. Byla-li koncentrace zvýšena na poměr 3:1, hodnoty šly skokově nahoru a lišily se v řádu stovek. Můžeme konstatovat, že při dodržení předepsaných postupů, při dodržení dostatečného množství materiálu a s tím související poměr citrátu sodného vychází výsledky obou testů ve fyziologických normách, což indikuje, že osoby nemají hematologické onemocnění a v případě předoperačního vyšetření může dojít k zákroku bez předpokládaných komplikací. Z takto zjištěných výsledků můžeme dále vycházet a považovat je za směrodatné a lze předpokládat, že případné onemocnění při správně provedených testech bude odhaleno. Naopak při nedodržení správného množství vychází hodnoty, které indikují hemokoagulační onemocnění, kdy v tomto případě se jedná o zbytečnou léčbu pacienta.

Kvalita poskytovaných zdravotních služeb je citlivým tématem a zajímá jak provozovatele zdravotnických zařízení, tak plátce zdravotního pojištění, ale hlavně širokou veřejnost, tedy pacienty.

Zdravotnická zařízení, i laboratoře, se snaží dělat maximum pro zvyšování kvality, snaží se získat osvědčení, které dokládají, že procesy má nastaveny tak, aby odpovídaly platným normám. Jednotlivé procesy má popsány a pracuje podle nich. Kromě toho se podrobuje auditům, přezkoumává postupy a cíle kvality, aby se mohly dále zlepšovat a byly odhaleny případné nedostatky.

Výsledek jakéhokoli testu není záležitostí pouze laboratoře. Můžeme ho chápat jako součást procesu na sebe navazujících činností, které mají určitá pravidla. Začíná ordinací lékařem, provedením odběru sestrou, přes dopravu biologického materiálu, jeho zpracování až po vydání výsledku. Správnost provedení jednotlivých úkonů vede k jedinému cíli a tím je vyléčený pacient.

Při měřeních, která jsem prováděla se vzorky pro testování připravovaly tak, že se do krve přidával citrát sodný. Ve skutečné zdravotnické praxi se úkony provádí naopak. Máme dané množství citrátu ve zkumavce, do které přidáváme určené odebrané množství krve. I přes to, že je v odběrové zkumavce předdefinované vakuum pro přesný objem a nádobka označena ryskou, tak denně přichází do laboratoří požadavky na vyšetření vzorků s nevyhovujícím množstvím krve. Provádět testy u takovýchto vzorků je neefektivní, neboť nemáme zaručenu objektivitu výsledků. Vezmeme-li to do důsledku, tak jsou vlastně posílány do laboratoří pouze k likvidaci. Vzhledem k mému měření a tomu, že pro stanovení diagnózy pacienta je výsledek vydaný laboratoří rozhodující, považuji za více než správné, že laboratoře testy u takto dodaných vzorků neprovádí.

Z mého pohledu chodí do laboratoře poměrně vysoké procento takto nesprávně odebraných vzorků. Pro lékaře a pro jejich stanovení diagnózy nebo další léčebné postupy mají rychlé laboratorní výsledky zásadní význam, mnohdy

jsou jediným ukazatelem, o který se může opřít. Včasné a kvalitní výsledky leckdy zachraňují lidské životy.

Nebudeme – li zacházet až do extrému, kdy by nedodané informace mohly ohrozit život, je opakování všech úkonů vedoucích k provedení testů zbytečnou zátěží jak pro zdravotnictví, tak pro pacienty. Za příklad uvedu imobilní nebo starší jedince, pro které je návštěva lékaře už tak obtížná a výzva k dalšímu odběru pro ně značí i psychickou zátěž. I přes ztížený odběr by bylo třeba, aby bylo vyvinuto veškeré úsilí k tomu, aby byl vzorek správně odebrán.

Možným řešením situace by bylo dbát na řádné zaškolení personálu, dohlížet na dodržování přesných pracovních postupů. Tímto by se zvýšila efektivita práce a musíme zohlednit i ekonomické hledisko, kdy by se neplýtvalo zdravotnickým materiálem. Situacím by bylo možné předcházet zvýšením počtu sester ve všech typech zdravotnických zařízeních. Ale toto není problém jedné konkrétní nemocnice, ale celého zdravotnického systému a jeho nastavení.

## 7 ZÁVĚR

Cílem mé bakalářské práce bylo dokázat, že nesprávný odběr vzorku krve má zásadní vliv na výsledek koagulačního vyšetření. Tento cíl byl splněn. Výsledky měření dokázaly, že jejich správnost závisí na přesně daném poměru krve a citrátu sodného, odchylky nejsou přípustné.

Ze všech faktorů ovlivňující výsledek jsem svojí práci zaměřila pouze na nesprávný odběr vzorku. Tento prvotní faktor je velmi důležitý, ovšem laboratoří neovlivnitelný. Celý proces provázané činnosti začíná ordinací lékaře, odběrem zdravotní sestrou a vydáním výsledků. Jednotlivé úkony musí být provedeny tak, aby byla laboratoř, jako koncový zpracovatel biologického materiálu nejen schopna měření provést, ale vydat výsledek v takové kvalitě, na jehož základě může lékař dále rozhodovat. Hodnota každého výsledku musí být vždy jediná, a to správná.

Provedená a vyhodnocená měření potvrzují výrok často citovaný v laboratorních příručkách: *“60 % falešných laboratorních výsledků v koagulační analytice má za příčinu nesprávně provedený odběr (Lechner, 1980).”* [9]



## 8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ADP	adenosindifosfát
APTT	aktivovaný parciální trombinový čas
DIC	diseminovaná intravaskulární koagulopatie
HMWK	vysokomolekulární heparin
INR	international ratio
LA	lupus anticoagulans
PT	protrombinový čas
SEKK	systém externí kontroly kvality
SOP	správné operační postupy
TAFI	trombinem aktivovaný inhibitor fibrinolýzy
tPA	tkáňový aktivátor plazminogenu
TT	trombinový čas
vWF	von Willebrandův faktor

## 9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. CHOTTOVÁ DVOŘÁKOVÁ, Magdaléna a Eliška MISTROVÁ. *Fyziologie krve a základy imunity*. Praha: Univerzita Karlova – Nakladatelství Karolinum, 2018. Učební texty Univerzity Karlovy. ISBN 978-80-246-3833-1.
2. PENKA, Miroslav a Eva SLAVÍČKOVÁ. *Hematologie a transfuzní lékařství*. Praha: Grada, 2011. ISBN 9788024734590.
3. PECKA, Miroslav. *Laboratorní hematologie v přehledu*. Český Těšín: FINIDR, 2006. ISBN 8086682005.
4. LANGMEIER, Miloš. *Základy lékařské fyziologie*. Praha: Grada, 2009. ISBN 9788024725260.
5. FABER, Edgar. *Základy hematologické diagnostiky*. Druhé přepracované vydání. Praha: Mladá fronta, 2015. Edice postgraduální medicíny. ISBN 9788020437426.
6. Nigel Key, Michael Makris, Denise O'Shaughnessy and David Lilicrap, *Practical hemostasis and thrombosis*. Second edition. Chichester. Wiley – Blackwell. 2017 ISBN 978-1-4051-8460-1
7. PENKA, Miroslav a Alena BULIKOVÁ. *Neonkologická hematologie*. 2., dopl. a zcela přeprac. vyd. Praha: Grada, 2009. ISBN 9788024722993.
8. CHLUMSKÝ, Jaromír. *Antikoagulační léčba*. Praha: Grada, 2005. Malá monografie (Grada). ISBN 8024790610.
9. LABORATORNÍ PŘÍRUČKA THO-LP001, verze 3 z 15.1.2015 Dostupnost na internetu: < [http://www.hospital-bn.cz/laboratorni-komplement/laboratorni\\_pri\\_ruca](http://www.hospital-bn.cz/laboratorni-komplement/laboratorni_pri_ruca)
10. MATÝŠKOVÁ, Miloslava, Jiřina ZAVŘELOVÁ a Stanislav MATÝŠEK. *System managementu jakosti: využití v laboratoři*. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 2002. ISBN 8070133678.

11. ČSN EN ISO 15189. Zdravotnické laboratoře – Požadavky na kvalitu a způsobilost. Praha: přeloženo Úřadem pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2013, Třídící znak 85 5101
12. SYSMEX CORPORATION KOBE, JAPAN, *uživatelský manuál Automatický koagulační analyzátor*
13. ZIMA, Tomáš. *Laboratorní diagnostika. 3., dopl. a přeprac. vyd.* Praha: Galén, c2013. ISBN 9788074920622.
14. Příbalový leták *Siemens Dade® Actin® FS*
15. Příbalový leták *Siemens Thromborel® S*
16. Odstředivka, *Uživatelský manuál Heraeus MEGAFUGE 16*

## 10 SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Měření aPTT den 1. – poměr krev a citrát sodný 9:1 .....	42
Obrázek 2 Měření aPTT den 2. – poměr krev a citrát sodný 9:1 .....	43
Obrázek 3 Měření aPTT den 1. – poměr krev a citrát sodný 7:1 .....	44
Obrázek 4 Měření aPTT den 2. – poměr krev a citrát sodný 7:1.....	45
Obrázek 5 Měření aPTT den 1. – poměr krev a citrát sodný 5:1.....	46
Obrázek 6 Měření aPTT den 2. – poměr krev a citrát sodný 5:1.....	47
Obrázek 7 Měření aPTT den 1. – poměr krev a citrát sodný 3:1.....	48
Obrázek 8 Měření aPTT den 2. – poměr krev a citrát sodný 3:1.....	49
Obrázek 9 Měření PT den 1. – poměr krev a citrát sodný 9:1.....	50
Obrázek 10 Měření PT den 2. – poměr krev a citrát sodný 9:1.....	51
Obrázek 11 Měření PT den 1. – poměr krev a citrát sodný 7:1.....	52
Obrázek 12 Měření PT den 2. – poměr krev a citrát sodný 7:1.....	53
Obrázek 13 Měření PT den 1. – poměr krev a citrát sodný 5:1.....	54
Obrázek 14 Měření PT den 2. – poměr krev a citrát sodný 5:1.....	55
Obrázek 15 Měření PT den 1. – poměr krev a citrát sodný 3:1.....	56
Obrázek 16 Měření PT den 2. – poměr krev a citrát sodný 3:1.....	57

## 11 SEZNAM POUŽITÝCH TABULEK

Tabulka 1 Koagulační faktory .....	18
Tabulka 2 Přírodní inhibitory .....	19
Tabulka 3 Měření aPTT den 1. – poměr krev a citrát sodný 9:1 .....	42
Tabulka 4 Měření aPTT den 2. – poměr krev a citrát sodný 9:1 .....	43
Tabulka 5 Měření aPTT den 1. – poměr krev a citrát sodný 7:1 .....	44
Tabulka 6 Měření aPTT den 2. – poměr krev a citrát sodný 7:1.....	45
Tabulka 7 Měření aPTT den 1. – poměr krev a citrát sodný 5:1.....	46
Tabulka 8 Měření aPTT den 2. – poměr krev a citrát sodný 5:1.....	47
Tabulka 9 Měření aPTT den 1. – poměr krev a citrát sodný 3:1.....	48
Tabulka 10 Měření aPTT den 2. – poměr krev a citrát sodný 3:1.....	49
Tabulka 11 Měření PT den 1. – poměr krev a citrát sodný 9:1.....	50
Tabulka 12 Měření PT den 2. – poměr krev a citrát sodný 9:1.....	51
Tabulka 13 Měření PT den 1. – poměr krev a citrát sodný 7:1.....	52
Tabulka 14 Měření PT den 2. – poměr krev a citrát sodný 7:1.....	53
Tabulka 15 Měření PT den 1. – poměr krev a citrát sodný 5:1.....	54
Tabulka 16 Měření PT den 2. – poměr krev a citrát sodný 5:1.....	55
Tabulka 17 Měření PT den 1. – poměr krev a citrát sodný 3:1.....	56
Tabulka 18 Měření PT den 2. – poměr krev a citrát sodný 3:1.....	57
Tabulka 19 Souhrn měření aPTT.....	58
Tabulka 20 Souhrn měření PT.....	59