

εργαστηριακός έλεγχος αιμορραγικών διαθέσεων



- 9.1 Εισαγωγή
- 9.2 Δοκιμασία περιχειρίδος ή δοκιμασία θετικής πίεσης RUBMEL - LEED
- 9.3 Τεχνική μέτρησης του χρόνου ροής ή τεχνική του DUKE
- 9.4 Τεχνική του IVY
- 9.5 Μέθοδος μέτρησης του χρόνου πήξης σε αντικειμενοφύρο πλάκα
- 9.6 Μέθοδος μέτρησης του χρόνου πήξης σε δοκιμαστικό σωληνάριο ή μέθοδος LEE -WHITE
- 9.7 Σύστολή του θρόμβου
- 9.8 Χρόνος προθρομβίνης του πλάσματος (PT) ή χρόνος QUICK
- 9.9 Προσδιορισμός του χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης ενεργοποιημένης με καολίνη
- 9.10 Προδιορισμός ινωδογόνου μέθοδος CLAUSS
- 9.11 Thrombotest
- 9.12 Άλλες τεχνικές ελέγχου των αιμορραγικών καταστάσεων

Όταν ολοκληρωθεί αυτή η ενότητα θα έχεις τη δυνατότητα:

- ✓ *Να δίνεις οδηγίες προς τον εξεταζόμενο για το τι πρέπει να κάνει πριν την εξέταση.*
- ✓ *Να αντιμετωπίζεις τις δυσκολίες κατά τη λήψη των δειγμάτων.*
- ✓ *Να επεξεργάζεσαι τα δείγματα.*
- ✓ *Να επιλέγεις τα κατάλληλα όργανα, υλικά και σκεύη για την εκτέλεση των προσδιορισμών.*
- ✓ *Να εκτελείς τις βασικότερες διαγνωστικές τεχνικές διερεύνησης των αιμορραγικών παθήσεων.*
- ✓ *Να συγκρίνεις τις τιμές των αποτελεσμάτων.*
- ✓ *Να διατηρείς τον εργαστηριακό χώρο καθαρό.*



Αν συναντήσεις λέξεις που δε γνωρίζεις τη σημασία τους, ψάξε πρώτα στο λεξιλόγιο και μετά ρώτησε τον καθηγητή σου.

9.1. Εισαγωγή

Φυσιολογικά ο οργανισμός, μόλις συμβεί μία αυτόματη ή προκλητή αιμορραγία, αντιδρά με πολύπλοκους μηχανισμούς για να τη σταματήσει. Οι μηχανισμοί αυτοί ενεργοποιούνται ο ένας μετά τον άλλο.

Από την αγγειοσύσπαση που «πυροδοτεί» την έναρξη του αιμοστατικού μηχανισμού, μέχρι τη διάλυση του θρόμβου στο τέλος του μηχανισμού πήξης, συμβαίνουν διαδοχικά σημαντικά φαινόμενα.

Αν κάτι δεν πάει καλά, τότε αλυσιδωτά επηρεάζονται οι παράγοντες που συμμετέχουν με συνέπεια ή να καθυστερεί η πήξη του αίματος ή να μην πήζει καθόλου.

Το εργαστήριο πρέπει να δώσει απάντηση στο ερώτημα: **“Ποια είναι τα αίτια αυτών των παθολογικών καταστάσεων που εκδηλώνονται με καθυστέρηση ή αδυναμία πήξης;”**. Γι’ αυτό, χρειάζεται να γίνουν πολλοί και διαφορετικοί προσδιορισμοί παραγόντων που μπορεί να ευθύνονται για τη διαταραχή.

Οι έλεγχοι στο εργαστήριο έχουν τους παρακάτω στόχους:

1ος στόχος: Να εκτελεστούν τεχνικές απλές και αξιόπιστες οι οποίες θα έχουν την ευαισθησία να εντοπίσουν τα πιο συχνά αίτια των αιμορραγικών διαταραχών.

2ος στόχος: Να ανιχνευθούν τα λιγότερο συχνά αίτια της αιμορραγικής διαταραχής με ειδικές και περισσότερο ευαίσθητες τεχνικές.

9.2. Δοκιμασία περιχειρίδος ή

δοκιμασία θετικής πίεσης RUMBEL – LEED

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

- Τι ελέγχουμε με τη δοκιμασία αυτή;

Αξιολογούμε το πόσο αντέχουν ή πόσο εύθραυστα είναι τα τοιχώματα των τριχοειδών αγγείων, όταν βρεθούν κάτω από συνθήκες πίεσης.

• **Σε τι μας χρησιμεύει αυτή η γνώση;**

Το τοίχωμα των αγγείων, όταν χαλάσει, απειλευθερώνει κάποιες ουσίες. Οι ουσίες αυτές, σε αλληλεπίδραση με τα αιμοπετάλια, πυροδοτούν την πρώτη φάση της αιμόστασης. Όταν, λοιπόν, έχουμε να ρύσουμε ένα πρόβλημα του τύπου: **«Τι δεν πάει καλά με το μηχανισμό πήξης αυτού του ασθενούς;»**, επιχειρούμε να αξιολογήσουμε την αντοχή ή την ευθραυστότητα των αγγείων. Ανάλογα με το αποτέλεσμα, κατευθυνόμαστε για διαφορετικό ή συμπληρωματικό είδος εργαστηριακής διάγνωσης των παθήσεων οι οποίες προκαλούν διαταραχή της αιμόστασης και της πήξης. Οι κυριότερες τέτοιες παθήσεις είναι:

- ▶ Οι θρομβοασθένειες
- ▶ Η απλαστική αναιμία
- ▶ Η αιμορροφιλία
- ▶ Η αληθεργική πορφύρα

ΟΡΓΑΝΟ

 σφυγμομανόμετρο

ΠΟΡΕΙΑ ΤΕΧΝΙΚΗΣ

Η δοκιμασία θα γίνει στο βραχίονα.

1. Εφαρμόζουμε την περιχειρίδα (τον αεροθάλαμο) στο βραχίονα (μπράτσο) του εξεταζόμενου.

2. Φουσκώνουμε την περιχειρίδα μέχρι το μανόμετρο να φτάσει σε πίεση 70 – 90 mmHg.



ΠΡΟΣΟΧΗ!

Κρατάμε σταθερή την πίεση για 5 λεπτά της ώρας.

3. Ανοίγουμε τη βαλβίδα για να φύγει όλος ο αέρας από την περιχειρίδα και την αφαιρούμε από το βραχίονα του εξεταζόμενου.

4. Παρατηρούμε σε όλα τα μέρη του χεριού για να δούμε αν σχηματίστηκαν ή δε σχηματίστηκαν πετέχιες (αιμορραγικές κηλίδες).



ΠΡΟΣΟΧΗ!

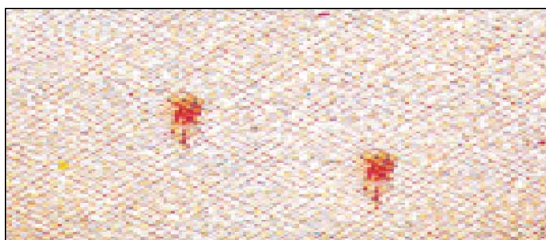
Εάν ζητηθεί επανάληψη λόγω αμφιβολιών, η δοκιμασία γίνεται στο άλλο χέρι.



Η εξέταση μπορεί να επαναληφθεί στο ίδιο χέρι 10 μέρες μετά την προηγούμενη δοκιμασία.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

α. Αρνητική: Δε σχηματίστηκε παθογνωμικός αριθμός κηλίδων.



Εικόνα 9.1: Κηλίδες (πετέχειες)



ΠΡΟΣΟΧΗ!

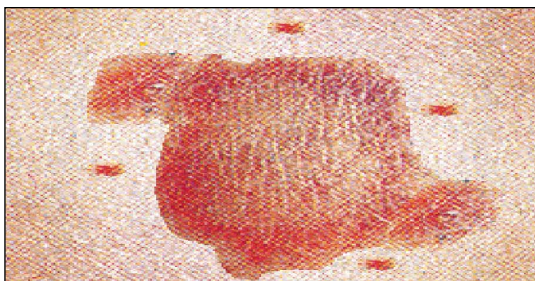
Μέχρι 5 σποραδικές κηλίδες, είναι φυσιολογική κατάσταση.



Δεν εφηνουχάζουμε στην περίπτωση που δε σχηματιστεί καμία κηλίδα. Η αρνητική δοκιμασία δεν αποκλείει διαταραχή.

β. Θετική: Σε όλες τις παρακάτω περιπτώσεις:

- ▶ Εάν υπάρχουν **λίγες** κηλίδες στην πάνω επιφάνεια του βραχίονα, σημειώνουμε **1 σταυρό (+)**.
- ▶ Εάν υπάρχουν **πολλές** κηλίδες στην πάνω επιφάνεια του βραχίονα, σημειώνουμε **2 σταυρούς (++)**.
- ▶ Εάν υπάρχουν **πολλές** κηλίδες σε όλο το βραχίονα και στη ραχιαία (επάνω) επιφάνεια του άκρου χεριού, σημειώνουμε **3 σταυρούς (+++)**.
- ▶ Εάν υπάρχουν **πολλές, μεγάλες και συγκεντρωμένες στο ίδιο μέρος** κηλίδες (στο βραχίονα, στον αντιβραχίονα και στην επάνω ή στην παλαμιαία επιφάνεια του άκρου του χεριού), σημειώνουμε **4 σταυρούς (++++)**.



Εικόνα 9.2: Κηλίδα (μεγάλην-συρρέουσα)

Πριν χαρακτηρίσουμε τη δοκιμασία ως **θετική** ή ως **αρνητική**, συνυπολογίζουμε τους παράγοντες που την επηρεάζουν:



ΠΡΟΣΟΧΗ!

Ανάλογα με την υφή και το πάχος του δέρματος του εξεταζόμενου, μπορεί να έχουμε πλασματικά θετική ή και αρνητική τη δοκιμασία.



Αν το εξεταζόμενο άτομο πέρασε ή περνά περίοδο ιογενών λοιμώξεων (γρίπη, ιλαρά), έχει έμμηνη ροή ή έχει πάρει κορτικοειδή φάρμακα, τα τοιχώματα των τριχοειδών είναι πολύ εύθραυστα.



Γυναίκες με επίπεδο οιστρογόνων χαμηλότερο από το φυσιολογικό, μπορεί να δώσουν θετική τη δοκιμασία, χωρίς να σημαίνει ότι έχουν διαταραχή της αιμόστασης.

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ

Η δοκιμασία σε άτομα με φυσιολογικά τοιχώματα αγγείων βγαίνει αρνητική.

9.3. Τεχνική μέτρησης του χρόνου ροής ή τεχνική του DUKE

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

- **Τι δηλώνει ο χρόνος ροής;**

Ο χρόνος ροής δηλώνει το χρονικό διάστημα, από τη στιγμή που θα αρχίσει η αιμορραγία του τριχοειδούς, την οποία εμείς προκαλέσαμε, μέχρι τη στιγμή που θα σταματήσει.

- **Γιατί προκαλούμε αιμορραγία;**

Όπως είναι γνωστό, μετά τον τραυματισμό ενός αγγείου,

αμύνεται ο οργανισμός για να σταματήσει την αιμορραγία (αιμόσταση). Στην πολύπλοκη αυτή λειτουργία, παίρνουν μέρος τα αιμοπετάλια, το τοίχωμα των αγγείων και παράγοντες πήξης. Οι δράσεις όλην αυτών των παραγόντων αλληλεξαρτώνται. Εμείς, λοιπόν, στο εργαστήριο προκαλώντας αιμορραγία μπορούμε να μελετήσουμε το πόσο γρήγορα θα αντιδράσει το τοίχωμα του τραυματισμένου αγγείου και πόσο αποτελεσματικά θα συνεργαστούν τα αιμοπετάλια, για να σταματήσει η αιμορραγία.

- **Σε τι μας χρησιμεύει αυτή η γνώση;**

Η ενεργοποίηση του αιμοστατικού μηχανισμού διαταράσσεται σε ομάδα νοσημάτων με αποτέλεσμα να καθυστερεί το σταμάτημα της προκλητής -στο εργαστήριο - αιμορραγίας. Άρα, μετρώντας το χρόνο ροής, ανιχνεύουμε τις διαταραχές του αιμοστατικού μηχανισμού και βοηθάμε στη διάγνωση των παθήσεων.

ΟΡΓΑΝΑ, ΥΛΙΚΑ-ΣΚΕΥΗ

- 🕒 χρονόμετρο χειρός
- 🧤 γάντια
- 🧻 βαμβάκι
- 🫧 οινόπνευμα
- 🩸 σκαριφιστήρα (αιμοθέτα ή Lancet)
- 📄 διηθητικό χαρτί σε σχήμα κύκλου
- 🪣 δοχείο απόρριψης αιχμηρών αντικειμένων
- 🪣 απορριμματοδοχείο

ΠΟΡΕΙΑ ΤΕΧΝΙΚΗΣ

1. Εμποτίζουμε με οινόπνευμα ένα κομμάτι βαμβάκι και κάνουμε αντισηψία στο λοβό του αυτιού του εξεταζομένου.



ΠΡΟΣΟΧΗ!

Προτιμότερο είναι να χρησιμοποιούμε αιθέρα για να αποφύγουμε υπεραιμία.

Ο αιθέρας, όταν παραμένει στον αέρα, δημιουργεί εκρηκτικό μείγμα.



Προσέχουμε να μη δημιουργήσουμε υπεραιμία γιατί θα έχουμε πλασματικά μεγαλύτερο χρόνο ροής.



Μετά την αντισηψία πετάμε το βαμβάκι στο απορριμματοδοχείο.

2. Ετοιμάζουμε το σκαριφιστήρα.



ΠΡΟΣΟΧΗ!

Δεν πάνουμε το τμήμα της ακίδας, έστω και αν φοράμε γάντια.

3. Σταθεροποιούμε, ανάμεσα στο δείκτη και στο μεγάλο δάχτυλο του χεριού μας το λοβό του αυτιού του εξεταζόμενου πιέζοντας ελαφρά.

4. Κάνουμε νύξη του δέρματος του λοβού με το σκαριφιστήρα.



ΠΡΟΣΟΧΗ!

Χρειάζεται σταθερότητα του χεριού για να μην τρυπήσουμε τα δάχτυλά μας.



Η νύξη δεν πρέπει να δημιουργήσει μεγάλη πληγή στο δέρμα γιατί θα έχουμε πλασματική παράταση του χρόνου ροής.



Πετάμε το σκαριφιστήρα στο ειδικό δοχείο για τα αιχμηρά αντικείμενα.

5. **Βάζουμε σε λειτουργία το χρονόμετρο** μόλις εμφανιστεί η πρώτη σταγόνα αίματος στο σημείο της νύξης.

6. Απορροφούμε με το διηθητικό χαρτί τη σταγόνα του αίματος.



ΠΡΟΣΟΧΗ!

Το διηθητικό χαρτί δεν πρέπει να ακουμπήσει στην πληγή.

Μετά από 15 δευτερόλεπτα:

7. Απορροφούμε τη δεύτερη σταγόνα.

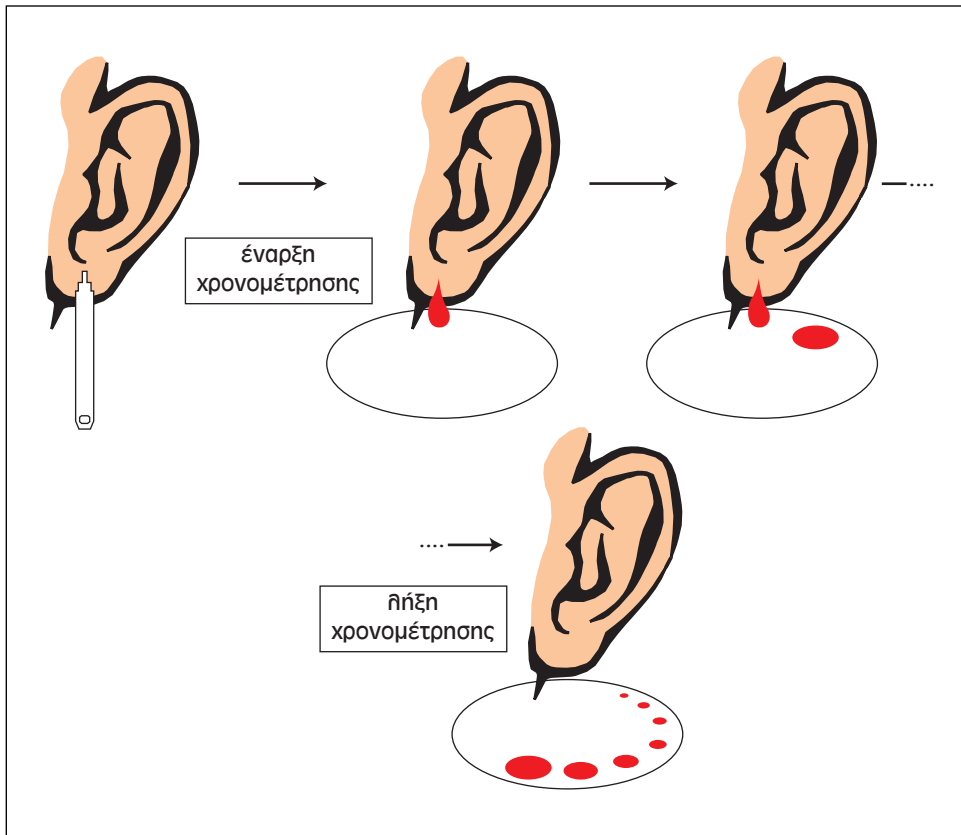


ΠΡΟΣΟΧΗ!

Δεν ακουμπάμε την πληγή. Εάν αποσπαστεί ο σχηματιζόμενος θρόμβος θα έχουμε πλασματική παράταση του χρόνου ροής.

8. Συνεχίζουμε ανά 15 δευτερόλεπτα, μέχρι να σταματήσει να τρέχει αίμα.

Με το σταμάτημα της ροής σταματάμε και το χρονόμετρο.
Καταγράφουμε το χρόνο που κράτησε η αιμορραγία.



Εικόνα 9.3: Χρόνος ροής κατά Duke

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ

Ο χρόνος ροής σε φυσιολογικά άτομα είναι:

1 – 4 λεπτά της ώρας.

Μέσα στο χρονικό αυτό διάστημα θα πρέπει τα αιμοπετάλια **να συσσωρευτούν** στο σημείο του τραυματισμού, **να προσκολληθούν** επάνω στο ενδοθήλιο του αγγείου, το οποίο πρέπει στη συνέχεια **να συσπαστεί** για να σταματήσει η αιμορραγία.



ΠΡΟΣΟΧΗ!

Η μεγάλη κατανάλωση οινόπνεύματος παρατείνει το χρόνο ροής.



Η λήψη ασπιρίνης πρέπει να διακοπεί 3 τουλάχιστον ημέρες πριν την εξέταση.



Εάν η εξέταση γίνει σε συνθήκη πολύ χαμηλής ή πολύ υψηλής θερμοκρασίας, επηρεάζονται τα αποτελέσματα με ελάττωση και παράταση αντίστοιχα του χρόνου ροής.



Εάν σημειωθεί χρόνος μεγαλύτερος από 6 λεπτά επαναλαμβάνεται ο προσδιορισμός με περισσότερη ευαίσθητες τεχνικές, π.χ. χρόνος ροής κατά Ivy.

Εκτός από την απλή και διαδεδομένη τεχνική προσδιορισμού χρόνου ροής κατά Duke υπάρχει και η μέθοδος IVY που συνδυάζει τη φιλοσοφία του χρόνου ροής και της περιχειρίδας.

9.4. Τεχνική του IVY

• Πότε επιλέγουμε την τεχνική αυτή;

Σε περίπτωση που με την τεχνική του Duke ο χρόνος ροής βρίσκεται παρατεταμένος, καταφεύγουμε για επαλήθευση στην τεχνική Ivy.

Είναι δοκιμασία περισσότερο πολυπλοκή από την προηγούμενη, αλλήλ ανιχνεύει με μεγαλύτερη ευαισθησία τις αιμορραγικές διαταραχές.

ΟΡΓΑΝΑ, ΥΛΙΚΑ-ΣΚΕΥΗ



σφυγμομανόμετρο



χρονόμετρο χειρός



γάντια



βαμβάκι



οινόπνευμα



σκαριφιστήρα



δοχείο απόρριψης αιχμηρών αντικειμένων



διηθητικό χαρτί κομμένο σε τετράγωνο σχήμα



απορριμματοδοχείο



διάλυμα Betadine



Αποστειρωμένος αυτοκόλλητος επίδεσμος (π.χ. Hansaplast)

ΠΟΡΕΙΑ ΤΕΧΝΙΚΗΣ

1. Βάζουμε γύρω από το βραχίονα του εξεταζομένου την περιχειρίδα του σφυγμομανομέτρου.

2. Κάνουμε αντισηψία σε μία περιοχή του αντιβραχίονα χωρίς επιφανειακές φλέβες.

**ΠΡΟΣΟΧΗ !**

Εάν γίνει διατομή μεγαλύτερου αιμοφόρου αγγείου, η δοκιμασία σταματά και επιλέγουμε κατάλληλο σημείο στο άλλο χέρι.



Πετάμε το βαμβάκι της αντισηψίας στο απορριμματοφόρο δοχείο.

3. Φουσκώνουμε την περιχειρίδα μέχρι τα 40 mmHg.

**ΠΡΟΣΟΧΗ!**

Η πίεση που ασκείται πρέπει να είναι σταθερή σε όλη τη διάρκεια της διαδικασίας.

4. **Βάζουμε σε λειτουργία το χρονόμετρο** μόλις φανεί έστω και λίγο αίμα μετά τη νύξη του δέρματος.

**ΠΡΟΣΟΧΗ!**

Πετάμε το σκαριφιστήρα στο ειδικό δοχείο για τα αιχμηρά αντικείμενα.

5. Απορροφούμε με διηθητικό χαρτί το αίμα.

**ΠΡΟΣΟΧΗ!**

Το διηθητικό χαρτί δεν ακουμπά στην τομή.

6. Συνεχίζουμε να απορροφούμε το αίμα που αναβλήζει, κάθε 10 δευτερόλεπτα.

**ΠΡΟΣΟΧΗ!**

Τοποθετούμε απαλά το διηθητικό χαρτί επάνω στο αίμα για να μην παρασύρουμε το θρόμβο.

Όταν σταματήσει η τομή να δίνει αίμα:

7. Σταματάμε το χρονόμετρο και καταγράφουμε το χρόνο.

8. Βγάζουμε την περιχειρίδα από το βραχίονα του εξεταζομένου.

9. Επαλείφουμε με αντισηπτικό διάλυμα (π.χ. Betadine) την τομή και την καλύπτουμε με αποστειρωμένο αυτοκόλλητο επίδεσμο.



ΔΕΝ ΞΕΧΝΩ!

Κάθε παραβίαση της ακεραιότητας της επιδερμίδας είναι ένα πέρασμα για τα μικρόβια τα οποία προκαλούν σοβαρότατες λοιμώξεις.



Πετάμε το βαμβάκι της αντισηψίας στο απορριμματοφόρο δοχείο.

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ

Ο χρόνος ροής σε φυσιολογικά άτομα διαρκεί:

2 – 9 λεπτά.

Ορισμένα εργαστήρια δίνουν χρόνο ροής 7 λεπτά.

Παράταση του χρόνου ροής έχουμε στις παρακάτω περιπτώσεις:

- ▶ θρομβοπενία
- ▶ απ्लाστική αναιμία
- ▶ διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη
- ▶ βαριά ηπατοπάθεια, κ.λπ.

9.5. Μέθοδος μέτρησης του χρόνου πήξης σε αντικειμενοφόρο πλάκα

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

- **Τι είναι ο χρόνος πήξης;**

Χρόνος πήξης είναι ο χρόνος που χρειάζεται για να πήξει μία ποσότητα αίματος έξω από τον οργανισμό του ανθρώπου.

Με τον προσδιορισμό αυτό ελέγχουμε την ποιότητα και την ποσότητα των αιμοπεταλίων κατά την πρώτη φάση της αιμόστασης.

ΔΕΙΓΜΑ

Εξετάζουμε τριχοειδικό αίμα.

**ΠΡΟΣΟΧΗ!**

Μπορούμε να υποβοηθήσουμε το αίμα να αναβλύσει πιέζοντας με τη ράγα του δακτύλου **απαλά**, ώστε να μην αναμειχθεί το αίμα με υγρά του τραυματισμένου ιστού. Η παρουσία των ιστικών υγρών συντομεύει την πήξη του αίματος.

**ΟΡΓΑΝΑ
ΥΛΙΚΑ, ΣΚΕΥΗ**

χρονόμετρο χειρός



γάντια



αντικειμενοφόρος πλάκα



βεβήθνα σύριγγας ή σκαριφιστήρα



δοχείο απόρριψης αιχμηρών

αντικειμένων



Ας θυμηθούμε τον τρόπο λήψης τριχοειδικού αίματος.



Οι ακραίες θερμοκρασίες περιβάλλοντος έξω από το όριο των 18°-22° C επηρεάζουν ανάλογα το χρόνο πήξης.

ΠΟΡΕΙΑ ΤΕΧΝΙΚΗΣ

1. Βάζουμε την πρώτη κατάλληλη σταγόνα στο κέντρο της αντικειμενοφόρου πλάκας και **βάζουμε σε λειτουργία το χρονόμετρο.**

**ΠΡΟΣΟΧΗ!**

Στο αίμα δεν πρέπει να υπάρχει το παραμικρό ίχνος ιστού από τη νύξη του δέρματος.



Η διάμετρος της σταγόνας του αίματος να είναι περίπου 5 mm.

**ΑΣ ΘΥΜΗΘΟΥΜΕ:**

Η αντικειμενοφόρος πλάκα πρέπει να είναι σχολαστικά καθαρή.

2. Περιμένουμε 2 λεπτά.

3. Βαπτίζουμε την άκρη μιας βεβήθνας μέσα στη σταγόνα του αίματος με φορά παράλληλη προς την επιφάνεια της αντικειμενοφόρου πλάκας.

4. Ανασηκώνουμε τη βελόνα αργά και παρατηρούμε εάν σχηματίστηκαν “κλωστές” ινικής.



ΠΡΟΣΟΧΗ!

Εάν ανασηκώσουμε απότομα τη βελόνα, υπάρχει κίνδυνος να αποσπαστεί η ινική με αποτέλεσμα να κάνουμε αναξιόπιστη χρονομέτρηση.

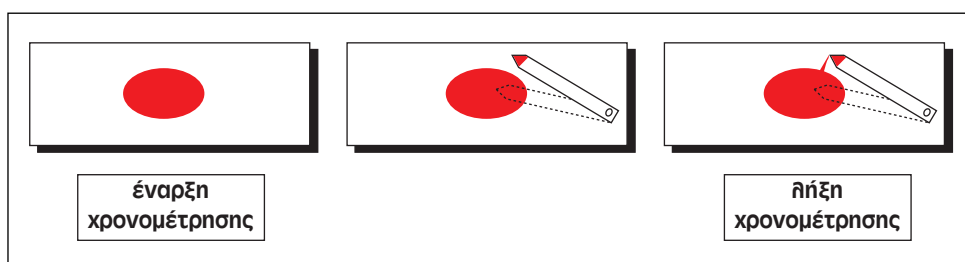
Επαναλαμβάνουμε κατά διαστήματα τους χειρισμούς των σταδίων Νο 3 και 4.

5. **Σταματάμε το χρονόμετρο** μόλις το άκρο της βελόνας συγκρατήσει “κλωστές” ινικής και καταγράφουμε το χρόνο που απαιτήθηκε για να πήξει η σταγόνα του αίματος.



ΠΡΟΣΟΧΗ!

Πετάμε τη βελόνα μέσα στο ειδικό δοχείο για τα αιχμηρά αντικείμενα.



Εικόνα 9.4: Σχηματισμός ινικής (χρόνος πήξης)

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ

Ο χρόνος πήξης σε φυσιολογικά άτομα είναι:

4 – 8 λεπτά.

9.6. Μέθοδος μέτρησης του χρόνου πήξης σε δοκιμαστικό σωληνάριο ή μέθοδος LEE - WHITE

Επειδή κατά τη λήψη φλεβικού αίματος, ο κίνδυνος να ανακατευτεί υγρό των ιστών με το αίμα είναι μικρότερος, εκτελούν με την τεχνική των Lee και White.

 Ας θυμηθούμε τον τρόπο λήψης φλεβικού αίματος.

ΔΕΙΓΜΑ

Εξετάζουμε 5 ml φλεβικού αίματος



ΠΡΟΣΟΧΗ!

Βάζουμε σε λειτουργία το χρονόμετρο μόλις φανεί αίμα μέσα στη σύριγγα.



Προσέχουμε να μη δημιουργηθούν φυσαλίδες κατά την ώρα της λήψης.



Εάν δεν παρακεντηθεί εύκολα η φλέβα, επιχειρούμε φλεβοπαρακέντηση στο άλλο χέρι για να αποφύγουμε την παρουσία ιστικών υγρών στο δείγμα.



Μετά την αιμοληψία δεν πωματίζουμε τη βελόνα, αλλά την αφαιρούμε από τη σύριγγα περνώντας τη από την ειδική εγκοπή του δοχείου αιχμηρών αντικειμένων.

ΟΡΓΑΝΑ ΥΛΙΚΑ, ΣΚΕΥΗ



υδατόλουτρο
θερμοκρασίας 37 °C



χρονόμετρο χειρός



επιτραπέζιο

χρονόμετρο



γάντια



έδρανο στήριξης

δοκιμαστικών σωληναρίων
(στατώ)



δοκιμαστικά σωληνάρια

διαμέτρου 8 mm



υαλογράφος

ΠΟΡΕΙΑ ΤΕΧΝΙΚΗΣ

1. Αριθμούμε 4 δοκιμαστικά σωληνάρια με υαλογράφο και τα τοποθετούμε σε έδρανο.



Τα σωληνάρια πρέπει να είναι σχολαστικά καθαρά.



Η διάμετρος όλων των δοκιμαστικών σωληναρίων να είναι 8 mm. Εάν χρησιμοποιηθούν σωληνάρια μικρότερης διαμέτρου, η πήξη του αίματος γίνεται συντομότερα.

2. Αφήνουμε τα σωληνάρια για 5 λεπτά σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37°C.

3. Ανασπώνουμε ένα ένα τα σωληνάρια και βάζουμε ακριβώς 1 ml αίμα.

**ΠΡΟΣΟΧΗ!**

Προσέχουμε να μην πέσουν σταγόνες από το νερό του υδατόλουτρου μέσα στα σωληνάκια.



Μοιράζουμε στα σωληνάκια το αίμα αργά χωρίς τη βελόνα της σύριγγας για να μη δημιουργηθούν φυσαλίδες.



Πετάμε τη βελόνα στο ειδικό δοχείο συγκέντρωσης των αιχμηρών αντικειμένων.



Η διανομή γίνεται προσεκτικά για να μην τρέξει αίμα στην εξωτερική επιφάνεια του σωληναρίου και λερωθεί το νερό του υδατόλουτρου.



Ο όγκος του αίματος επηρεάζει ανάλογα το χρόνο πήξης.



Το 1 ml αίματος που απομένει μέσα στη σύριγγα δεν το χρησιμοποιούμε.

4. Περιμένουμε 2 λεπτά.

5. Γέρνουμε αργά, με μικρή κλίση, με τη σειρά ένα - ένα τα σωληνάκια και ελέγχουμε εάν έπηξε το αίμα.

**ΠΡΟΣΟΧΗ!**

Ο τρόπος κίνησης των σωληναρίων επηρεάζει το χρόνο πήξης του αίματος.

6. Επαναλαμβάνουμε τον ίδιο χειρισμό μετά 1 λεπτό και επανελέγχουμε κατά διαστήματα 30 δευτερολέπτων.

Θεωρούμε ότι έγινε η πήξη όταν το αίμα δεν κυλά στα τοιχώματα του σωληναρίου.

**ΠΡΟΣΟΧΗ!**

Η κλίση που γέρνουμε τα σωληνάκια μεγαλώνει σε μίρες όσο περνά ο χρόνος της διαδικασίας.

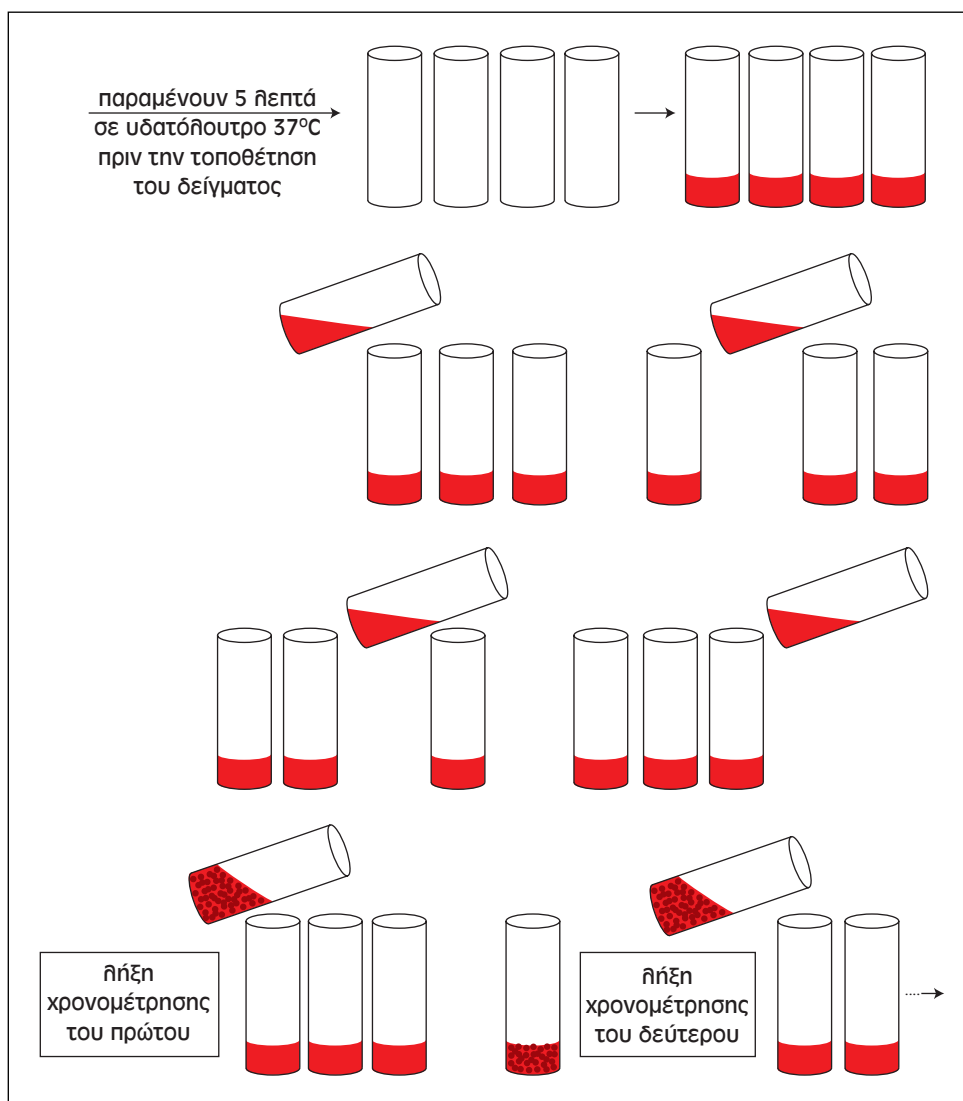


Εάν η συχνότητα κίνησης είναι μεγαλύτερη, το αίμα πήζει νωρίτερα.

7. Καταγράφουμε το χρόνο. Συνεχίζουμε με τους ίδιους χειρισμούς μέχρι να καταγράψουμε το χρόνο πήξης του δεύτερου σωληναρίου κ.ο.κ.

8. Υπολογίζουμε το χρόνο πήξης του εξεταζόμενου αφού βρούμε τη μέση τιμή του χρόνου πήξης όλων των σωληναρίων. Δηλαδή:

$$\text{Χρόνος πήξης εξεταζομένου} = \frac{\text{Χρόνος πήξης } 1\text{ου} + 2\text{ου} + 3\text{ου} + 4\text{ου σωληναρίου}}{4}$$



Εικόνα 9.5 : Χρόνος πήξης κατά Lee – White

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ

Ο χρόνος πήξης σε φυσιολογικά άτομα είναι 6 – 12 λεπτά της ώρας.

Παραλλαγές της τεχνικής:

α) Σε θερμοκρασία δωματίου.



Φυσιολογικές τιμές 5 – 18 λεπτά

β) Σε δοκιμαστικά σωληνάρια με επάλειψη σιλικόνης.

Έχει το πλεονέκτημα ότι λόγω μεγάλου εύρους τιμής είναι περισσότερο σαφής η διάκριση μεταξύ φυσιολογικού και παθολογικού χρόνου.



Φυσιολογικές τιμές 12 – 20 λεπτά

Οι τεχνικές αυτές, στα περισσότερα εργαστήρια, έχουν αντικατασταθεί με άλλες, μεγαλύτερης ακρίβειας, όπως τεχνική μέτρησης του χρόνου πήξης μερικής θρομβοπλαστικής (PTT) και του χρόνου πήξης ενεργοποιημένης θρομβοπλαστικής (APTT).

9.7. Συστολή του θρόμβου

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Με τη δοκιμασία αυτή υπολογίζουμε ποιοτικά και ποσοτικά την ένταση της συστολής του θρόμβου μετά την πήξη του αίματος.

• Ποια η χρησιμότητα του προσδιορισμού;

Είναι η δεύτερη βασική δοκιμασία μετά τη δοκιμασία υπολογισμού του χρόνου ροής με την οποία μπορούμε να ανιχνεύσουμε διαταραχές των αγγείων και των αιμοπεταλίων. Μαζί με τα αποτελέσματα της μέτρησης των αιμοπεταλίων μπορούμε να κάνουμε διάγνωση ομάδων νοσημάτων, π.χ.:

- ▶ διαταραχές συσώρευσης των αιμοπεταλίων
- ▶ θρομβοπενίες
- ▶ αγγειακές βλάβες

Την παραπάνω δοκιμασία μπορούμε να εκτελέσουμε και ως συνέχεια της δοκιμασίας μέτρησης του χρόνου πήξης.

ΔΕΙΓΜΑ

Εξετάζουμε 2 ml φθιβικό αίμα



ΠΡΟΣΟΧΗ!

Εάν υπάρχει πολυκυτταραιμία, η συστολή του θρόμβου θα είναι μειωμένη.



Πρέπει να αποφεύγεται η λήψη αίματος με συσκευή “πεταλούδα”.



Μετά την αιμοληψία δεν πωματίζουμε τη βελόνα, αλλά την αφαιρούμε από τη σύριγγα περνώντας τη από την ειδική εγκοπή του δοχείου αιχμηρών αντικειμένων.

ΟΡΓΑΝΑ, ΥΛΙΚΑ-ΣΚΕΥΗ



υδατόλουτρο



επιτραπέζιο χρονόμετρο



γάντια



αυτόματη πιπέτα



υαλογράφος



πληστικά δοκιμαστικά



σωληνάρια



έδρανο στήριξης



δοκιμαστικών σωληναρίων



ξύλινο ραβδάκι



σιφώνια Pasteur



ογκομετρικό δοκιμαστικό



σωληνάριο



ποτήρι ζέσεως με διάλυμα



χλωρίνης 1:10



Για να σταματήσουμε τον κύκλο μετάδοσης πιθανών λοιμώξεων, βάζουμε όλα τα χρησιμοποιημένα ρύγχοι, σιφώνια και τα ραβδάκια σε διάλυμα χλωρίνης. Το υποχλωριώδες νάτριο, αδρανοποιεί τα ενζυμικά συστήματα των ιών και των βακτηρίων. Τα αφήνουμε 30 λεπτά της ώρας και κατόπιν τα πετάμε στο απορριμματοδοχείο.

ΠΟΡΕΙΑ ΤΕΧΝΙΚΗΣ

1. Σημειώνουμε με υαλογράφο τα στοιχεία του εξεταζόμενου στο δοκιμαστικό σωληνάριο.

2. Βάζουμε μέσα 2 ml φλεβικό αίμα, τοποθετούμε το σωληνάριο σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37°C για 3 ώρες και βάζουμε σε λειτουργία το χρονόμετρο.

3. Ελέγχουμε την πρώτη ώρα αν σχηματίστηκε θρόμβος και αν αποκοιλιάζεται από τα τοιχώματα του σωληναρίου. Αν δεν αποκοιλιάζεται, ανασπκνουμε το σωληνάριο και με ένα ξύλινο ραβδάκι πιέζουμε περιφερικά για να τον αποκοιλιήσουμε.

4. Επανατοποθετούμε το σωληνάριο στο υδατόλουτρο μέχρι να οηοκλήρωθει ο χρόνος της τεχνικής.

5. Παρατηρούμε τη μορφή, το μέγεθος και τη θέση του θρόμβου.

Αν ζητηθεί ποσοτικός προσδιορισμός του παραγόμενου ορού τότε:

6. Αναρροφούμε με σιφώνιο Pasteur τον ορό που έχει αναβηύσει και τον μεταφέρουμε σε ογκομετρικό δοκιμαστικό σωληνάριο.



Για την ασφάλεια όλων φροντίζουμε οι πάγκοι εργασίας να μην λερωθούν με βιολογικά υγρά, γι' αυτό βάζουμε το σιφώνιο Pasteur στο διάλυμα χλωρίνης.

7. Αποστραγγίζουμε το θρόμβο και τον πετάμε σε απορριμματοδοχείο.

8. Αναρροφούμε τον υπόλοιπο ορό και το βάζουμε στο ογκομετρικό σωληνάριο.

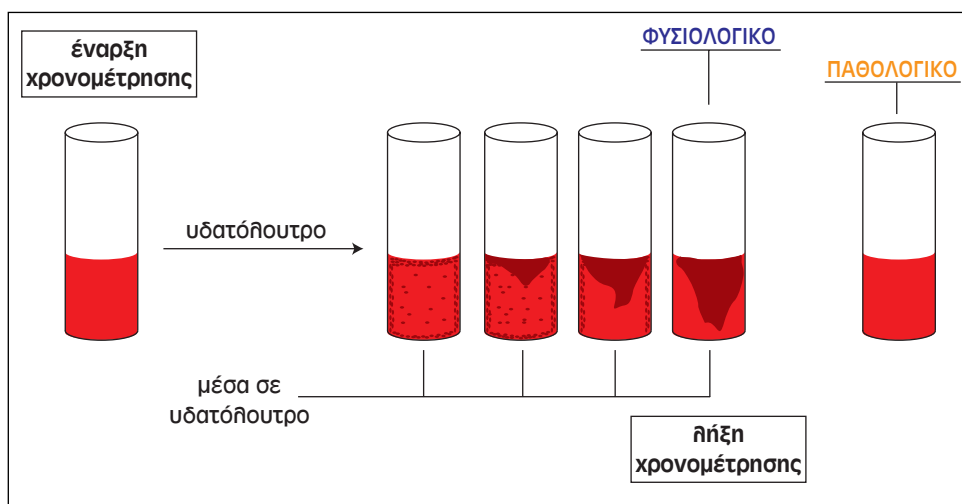


ΝΑ ΜΗΝ ΞΕΧΝΑΜΕ!

Πετάμε το σιφώνιο στο διάλυμα χλωρίνης.

9. Υπολογίζουμε τον όγκο του παραγόμενου ορού εφαρμόζοντας τον τύπο:

$$\text{ικανότητα συστολής \% του θρόμβου} = \frac{\text{όγκος ορού}}{\text{όγκος φλεβικού αίματος}} \times 100$$



Εικόνα 9.6 : Σχηματισμός θρόμβου

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**A. Ποιοτική εκτίμηση:**

Το αποτέλεσμα της δοκιμασίας θεωρείται:

α. Φυσιολογικό όταν ο θρόμβος έχει **συρρικνωθεί, αιωρείται** μέσα στον παραγόμενο ορό και **διατηρεί το σχήμα του σωληναρίου** από το οποίο απομακρύνθηκε.

β. Παθολογικό στις εξής περιπτώσεις:

- α.** Όταν δε σχηματιστεί θρόμβος.
- β.** Όταν σχηματιστεί θρόμβος αληθής:
 - β1.** Δεν αιωρείται μέσα στον παραγόμενο ορό.
 - β2.** Δεν αποκοιλιάζεται από τα τοιχώματα του δοκιμαστικού σωληναρίου.
 - β3.** Είναι λεπτός και καταστρέφεται εύκολα.
 - β4.** Αφού αποκοιλιηθεί από το σωληνάριο, γίνεται μία άμορφη μάζα.

B. Ποσοτική εκτίμηση:

70 – 100%



ΠΡΟΣΟΧΗ!

Ο τρόπος και ο χρόνος συστολής του θρόμβου επηρεάζεται από: Την τιμή του αιματοκρίτη, τον αριθμό των αιμοπεταλίων και την τιμή του ινωδογόνου.

9.8. Χρόνος προθρομβίνης του πλάσματος (PT) ή χρόνος QUICK

• Τι είναι ο χρόνος προθρομβίνης;

Το χρονικό διάστημα από τη στιγμή που προσθέτουμε ασβεστιούχο θρομβοπλαστίνη μέσα στο πλάσμα του εξεταζομένου μέχρι τη στιγμή που θα πήξει το πλάσμα, ονομάζεται **χρόνος προθρομβίνης**.

Η προθρομβίνη είναι η ανενεργή – πρόδρομη ουσία της θρομβίνης. Κατά τον μηχανισμό της πήξης μετατρέπεται σε θρομβίνη με την επίδραση της θρομβοπλαστικής.



• Τι ελέγχουμε με τη δοκιμασία αυτή;

Με τη δοκιμασία προσδιορισμού του χρόνου προθρομβίνης:

- ▶ Εξετάζουμε αν έγιναν μεταβολές στους παράγοντες του εξωγενούς συστήματος πήξης.
- ▶ Εντοπίζουμε διαταραχές στο μηχανισμό του δεύτερου σταδίου πήξης του αίματος.

• Πότε χρειάζεται να γίνει αυτή η τεχνική;

Η τεχνική γίνεται πάντα σε περιπτώσεις:

- ▶ ηπατικής βλάβης
- ▶ για τη ρύθμιση της αντιπηκτικής αγωγής (λήψη αντιπηκτικών από το στόμα)
- ▶ πριν από εγχείρηση (προφύλαξη από φλεβική θρόμβωση)

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η παρουσία της ασβεστούχου ιστικής θρομβοπλαστικής ενεργοποιεί τους παράγοντες του προθρομβονικού συμπλέγματος (II, V, VII και X) με αποτέλεσμα το πλάσμα να πήξει.

ΔΕΙΓΜΑ

Εξετάζουμε πλάσμα ολικού αίματος σε κιτρικό νάτριο.

**ΠΡΟΣΟΧΗ!**

Η λήψη του αίματος πρέπει να γίνει σε σωληνάρια κενού (τεχνική Vacutainer).



Αν υπάρχουν ιστικά υγρά μέσα στο πλάσμα, ο χρόνος προθρομβίνης συντομεύεται.



Η αναλογία του κιτρικού νατρίου με το αίμα πρέπει να είναι 4,5 ml αίμα σε 0,5 ml αντιπηκτικό.



Η ανάμειξη πρέπει να γίνει γρήγορα και προσεκτικά για να μη δημιουργηθούν θρόμβοι.



Πλάσμα που παρέμεινε 4 ώρες μετά τη λήψη του ολικού αίματος είναι ακατάλληλο για τον προσδιορισμό.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ**1. Ιστική θρομβοπλασίνη με κλωριούχο ασβέστιο (CaCl_2)**

σε ξηρή (ήλιοφιλιοποιημένη) μορφή: Περιέχει απόσταγμα εγκεφάλου ή πνεύμονα ή πηακούντα από κουνέλι ή βοοειδές. Μεγαλύτερη ευαισθησία για περισσότερους παράγοντες πήξης έχει η λευκωματίνη που προέρχεται από εγκεφαλο κουνελιού, είτε μόνη της είτε με CaCl_2 . Πριν από τη χρήση του CaCl_2 γίνεται ανασύσταση σύμφωνα με τις οδηγίες της εταιρείας στους $\pm 4^\circ\text{C}$ για 7 ημέρες.

2. Πλάσμα φυσιολογικού ατόμου (plasma control) ή μείγμα πλάσμάτων φυσιολογικών ατόμων: Χρησιμοποιείται ως μάρτυρας για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων (οι χρόνοι που δίνει λαμβάνονται ως οι φυσιολογικοί)

**ΠΡΟΣΟΧΗ!**

Όλα τα αντιδραστήρια προθερμαίνονται στους 37°C για 15 λεπτά. Αν παραταθεί ο χρόνος, τα αντιδραστήρια θα αλλοιωθούν.



Στην περίπτωση της αιμορροφιλίας ο χρόνος προθρομβίνης είναι φυσιολογικός, επειδή η πλήρης θρομβοπλαστική δεν ανιχνεύει την έλλειψη του παράγοντα VIII.

ΟΡΓΑΝΑ ΥΛΙΚΑ, ΣΚΕΥΗ

- 🔧 υδατόλουτρο
θερμοκρασίας 37°C
- 🔧 χρονόμετρο χειρός
- 🔧 επιτραπέζιο
χρονόμετρο
- 🧤 γάντια
- 🔧 υαλογράφος
- 🔧 πηλαστικά δοκιμαστικά
σωληνάρια εσωτερικής
διαμέτρου 8 mm
- 🔧 έδρανο στήριξης
δοκιμαστικών σωληναρίων
- 🔧 αυτόματες πιπέτες
- 🔧 ποτήρι ζέσεως με διάλυμα
χλωρίνης 1:10



Για να σταματήσουμε τον κύκλο μετάδοσης πιθανών λοιμώξεων, βάζουμε όλα τα χρησιμοποιημένα ρύγχη, σε διάλυμα χλωρίνης. Τα αφήνουμε 30 λεπτά της ώρας και κατόπιν τα πετάμε στο απορριμματοδοχείο.

ΠΟΡΕΙΑ ΤΕΧΝΙΚΗΣ

1. Σημειώνουμε με υαλογράφο τα στοιχεία του εξεταζόμενου σε ένα δοκιμαστικό σωληνάριο αιμοϋσεως και σε ένα άλλο την ένδειξη M (Μάρτυρας).



Υπενθυμίζουμε ως προς τα σωληνάρια: Τα σωληνάρια πρέπει να έχουν εσωτερική διάμετρο 8 mm και να είναι πολύ καθαρά.

2. Τοποθετούμε δοκιμαστικά σωληνάρια σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37 °C για 5 λεπτά.

3. Βάζουμε 0,1ml πλάσμα του εξεταζόμενου στο αντίστοιχο σωληνάριο και 0,1 ml πλάσμα μάρτυρα στο αντίστοιχο σωληνάριο.

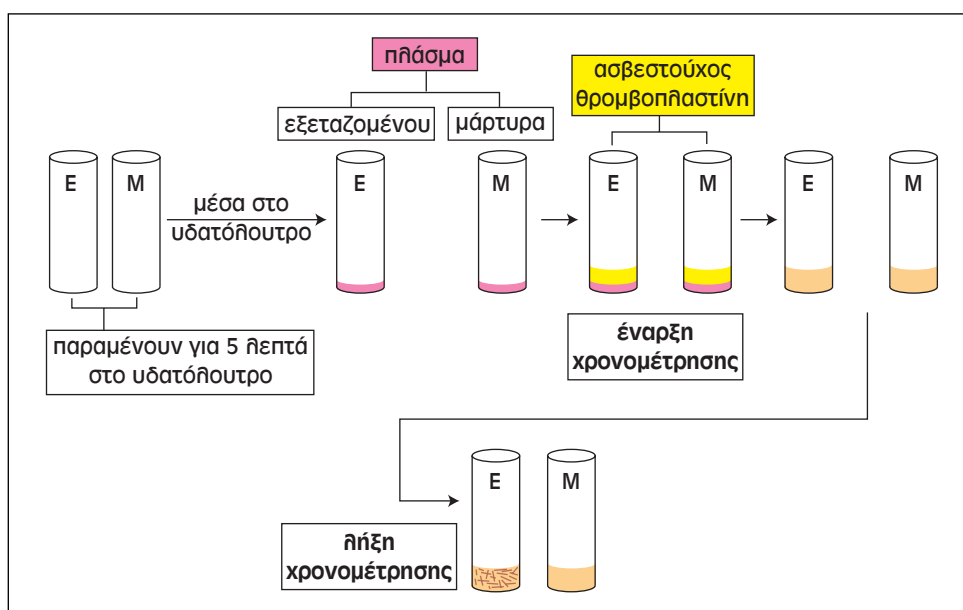
4. Προσθέτουμε 0,2 ml διαλύματος ασβεστούχου θρομβοπλαστίνης στο εξεταζόμενο δείγμα και **βάζουμε σε λειτουργία το χρονόμετρο.**

5. Ανασηκώνουμε το σωληνάριο από το υδατόλουτρο, το κινούμε για 10 δευτερόλεπτα, ώστε να αναμειχθούν τα υλικά και το επανατοποθετούμε στο υδατόλουτρο.

6. Ελέγχουμε αν σχηματίστηκε ή δε σχηματίστηκε ινώδες με απαλή ανακίνηση του σωληναρίου σε λοξή θέση.

7. Σταματάμε το χρονόμετρο, μόλις παρατηρηθεί σχηματισμός ινώδους, και καταγράφουμε το χρόνο.

8. Επαναλαμβάνουμε τους ίδιους χειρισμούς των σταδίων Νο 3, 4, 5 και 6 για το δείγμα του μάρτυρα.



Εικόνα 9.7: Χρόνος Προθρομβίνης

9. Υπολογίζουμε το χρόνο προθρομβίνης. Ανάλογα με τον τρόπο υπολογισμού εκφράζεται με δύο τρόπους:

α. Ως πηλίκο του χρόνου του ενός δείγματος σε σχέση με το χρόνο του άηλου δείγματος. Όταν το άηλο δείγμα είναι η θρομβοπλαστίνη διεθνούς αναφοράς, τότε το πηλίκο εκφράζεται ως αναλογία (Ratio) προσαρμοσμένη στα διεθνή δεδομένα και λέμε ότι είναι I.N.R. (= International Normalized Ratio)

$$\text{I.N.R. ή R} = \frac{\text{χρόνος εξεταζόμενου}}{\text{χρόνος μάρτυρα}}$$

Ο τρόπος αυτός υπολογισμού του χρόνου προθρομβίνης έγινε για να μην δημιουργείται σύγχυση στη ρύθμιση της αντιπηκτικής αγωγής λόγω διαφορετικών εργαστηριακών αποτελεσμάτων.

β. Ως αριθμητική σχέση της μέτρησης του χρόνου του εξεταζόμενου προς το χρόνο του μάρτυρα . Η σχέση αυτή συγκρίνεται με το σταθερό πρότυπο θρομβοπλαστικής (Index) χρησιμοποιώντας ειδικές καμπύλες αναφοράς. Ο δείκτης που προκύπτει λέγεται I.S.I (= International Sensitivity Index).

$$\text{I.S.I. ή I} = \frac{\text{χρόνος μάρτυρα}}{\text{χρόνος εξεταζόμενου}} \times 100$$

Είναι ένας δείκτης που χαρακτηρίζει τη δραστικότητα και την ευαισθησία της θρομβοπλαστικής.

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ

- **Ποιος χρόνος θεωρείται φυσιολογικός;**

11 – 14 δευτερόλεπτα.



ΠΡΟΣΟΧΗ!

Κάθε εργαστηριακή μεθοδολογία δίνει διαφορετικές τιμές.



Τα αντιπηκτικά παρατείνουν το χρόνο προθρομβίνης.



Διατροφή πλούσια σε πράσινα λαχανικά συντομεύει το χρόνο πήξης του πλάσματος.



Η υπερβολική κατανάλωση οινοπνευματωδών παρατείνει σημαντικά το χρόνο προθρομβίνης.



Καταστάσεις αφυδάτωσης του οργανισμού συντομεύουν το χρόνο προθρομβίνης.

Αυξημένες τιμές χρόνου προθρομβίνης έχουμε σε περιπτώσεις:

1. Έλλειψης βιταμίνης K
2. Αιμορραγικής νόσου των νεογνών
3. Δηλητηρίασης από σαλικυλικά, κ.λπ.

Ελαττωμένες τιμές χρόνου προθρομβίνης έχουμε σε περιπτώσεις:

Υπερδραστηριότητας ωοθηκών, κ.λπ.

9.9. Προσδιορισμός του χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης ενεργοποιημένης με καολίνη



Ας θυμηθούμε:

Για την εκτέλεση της **τεχνικής του χρόνου πήξης** (βλέπε προηγούμενη διδακτική ενότητα) χρησιμοποιείται διάλυμα θρομβοπλαστίνης με μεγάλη ευαισθησία για την ανίχνευση πολλών παραγόντων. *Παρ'όλα αυτά δεν ανιχνεύεται η έλληψη του παράγοντα VIII (αιμορροφιλία).*

Ύστερα από έρευνες διαπιστώθηκε ότι αν χρησιμοποιηθεί λιγότερο ισχυρή θρομβοπλαστίνη, δηλαδή θρομβοπλαστίνη μερικής ευαισθησίας, στο πλάσμα που προέρχεται από αιμορροφιλικό άτομο, θα πάρουμε σαφή αποτελέσματα, τα οποία θα μας επιτρέψουν να κάνουμε καλύτερη διάγνωση.

Επίσης παρατήρησαν ότι και πολλοί άηλοι παράγοντες του ενδογενούς συστήματος πήξης ανιχνεύτηκαν με αξιοπιστία, όταν προστέθηκε καολίνη-κεφαλίνη (μέθοδος προσδιορισμού χρόνου ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης). Όλα αυτά έδωσαν στη μέθοδο αξία, γι' αυτό είναι διαδεδομένη.

Η μέθοδος ελέγχου ηηκτικότητας χρόνου μερικής θρομβοπλαστίνης PTT χρησιμοποιείται για τον προσυμπτωματικό έλεγχο των διαταραχών του ενδογενούς συστήματος πήξης. Η μέθοδος ελέγχου ηηκτικότητας Activated Partial Thromboplastin Time APTT ελέγχει τις ίδιες λειτουργίες και επιπλέον χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση των ατόμων που ακολουθούν αντιπηκτική αγωγή με ηπαρίνη.

- **Υπάρχει θρομβοπλαστίνη στον ανθρώπινο οργανισμό;**

Η θρομβοπλαστίνη στον οργανισμό παράγεται στο πλάσμα και βρίσκεται σε όλους τους ιστούς του σώματος. Κατά το μηχανισμό της πήξης επιδρά στην προθρομβίνη και τη μετατρέπει σε θρομβίνη.

- **Τι είναι ο χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης;**

Ως **χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης** ορίζεται το χρονικό διάστημα που απαιτείται για την πήξη πλάσματος που

επωάστηκε με καοήληνη – κεφαήληνη, μόλις αυτό έρθει σε επαφή με CaCl_2 .

ΔΕΙΓΜΑ

Εξετάζουμε πλάσμα προθερμασμένο σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37°C .



ΠΡΟΣΟΧΗ!

Το πλάσμα να έχει διαχωριστεί από ολικό αίμα σε κεντρικό νάτριο τηρώντας τις αναλογίες.



Ο προσδιορισμός πρέπει να γίνει μέσα σε 2 ώρες από το διαχωρισμό του πλάσματος.



Το πλάσμα δεν πρέπει να έχει ίχνη αιμόλυσης.



Εάν δε γίνει αμέσως η εξέταση, το πλάσμα μπορεί να καταψυχθεί στους -20°C .

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

1. Ατελής θρομβοπλασίνη. Το Thromboplastin είναι ένα από τους τύπους αντιδραστηρίων που κυκλοφορούν στο εμπόριο. Βρίσκεται σε ξηρή μορφή και είναι μείγμα Καοήληνης και Κεφαήληνης. Ακολουθούμε πιστά τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρείας για την ανασύσταση και τη συντήρησή του. Στις συσκευασίες του εμπορίου κυκλοφορεί και ως Kontakt APTT.

2. Διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου (CaCl_2). Είναι έτοιμο και διατηρείται στους $\pm 4^\circ\text{C}$ και έχει καθορισμένο χρόνο λήξης.



ΠΡΟΣΟΧΗ!

Προθερμαίνουμε μικρές ποσότητες από τα αντιδραστήρια σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37°C για 15 λεπτά σε διαφορετικά δοκιμαστικά σωληνάρια.

ΟΡΓΑΝΑ, ΥΛΙΚΑ-ΣΚΕΥΗ



υδατόλουτρο
θερμοκρασίας 37°C



χρονόμετρο χειρός



επιτραπέζιο χρονόμετρο



γάντια



υαλογράφος



πληστικά δοκιμαστικά



σωληνάρια εσωτερικής
διαμέτρου 8 mm



έδρανο στήριξης



αυτόματες πιπέτες



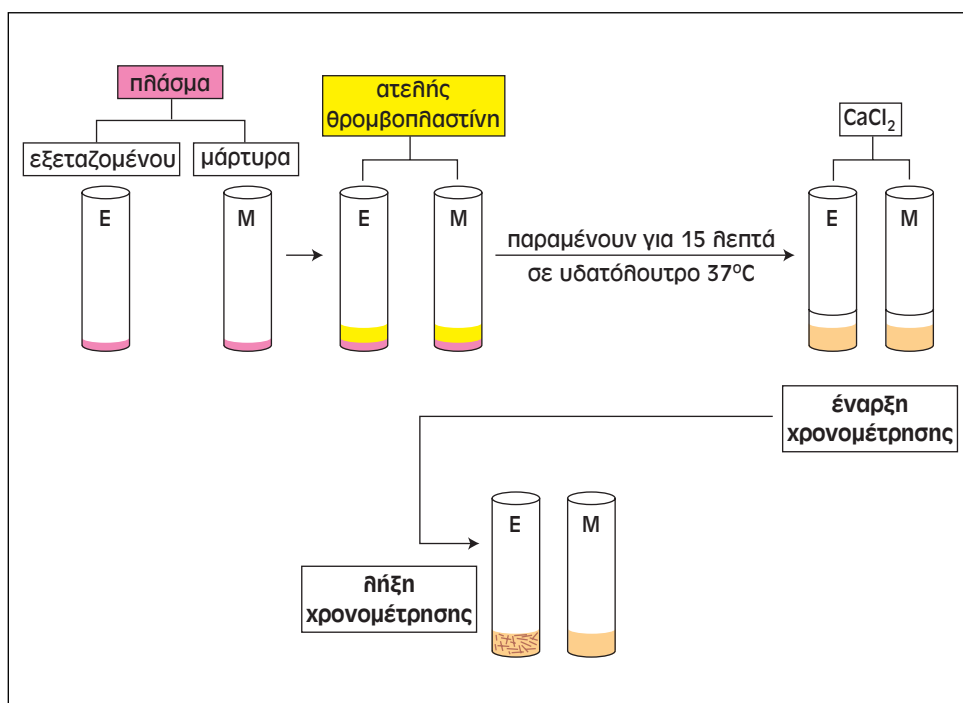
ποτήρι ζέσεως με διάλυμα
χλωρίνης 1:10



Για να σταματήσουμε τον κύκλο μετάδοσης πιθανών λοιμώξεων, βάζουμε όλα τα χρησιμοποιημένα ρύγχη σε διάλυμα χλωρίνης. Τα αφήνουμε 30 λεπτά της ώρας και κατόπιν τα πετάμε στο απορριμματοδοχείο.

ΠΟΡΕΙΑ ΤΕΧΝΙΚΗΣ

1. Σημειώνουμε με υαλογράφο τις ενδείξεις "Ε" (εξεταστέο) και "Μ" (μάρτυρας) σε δύο δοκιμαστικά σωληνάρια.
2. Βάζουμε 0,1 ml πλάσματος του εξεταζόμενου και 0,1 ml πλάσματος μάρτυρα στα αντίστοιχα δοκιμαστικά σωληνάρια.
3. Προσθέτουμε 0,1 ml ατελούς θρομβοπλαστίνης (Thromboplastin) και στα δύο σωληνάρια.
4. Ανακινούμε για να αναμειχθούν και τοποθετούμε τα σωληνάρια σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37°C για 15 λεπτά.
5. Προσθέτουμε 0,1 ml CaCl_2 και στα δύο σωληνάρια και **βάζουμε σε λειτουργία το χρονόμετρο**.
6. **Σταματάμε το χρονόμετρο μόλις δημιουργηθεί πλάσματικός θρόμβος** και καταγράφουμε το χρόνο.



Εικόνα 9.8: Χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ

Στα φυσιολογικά άτομα ο χρόνος πήξης του πλάσματος είναι 20-40 δευτερόλεπτα.

Ο χρόνος P.T. είναι παρατεταμένος σε καταστάσεις:

- ▶ αιμορροφιλίας A και B
- ▶ ηπαρινοπάθειας
- ▶ έλλειψης βιταμίνης, κ.λπ.

Ο χρόνος P.T. είναι μειωμένος σε καταστάσεις:

- ▶ νεοπλάσιών
- ▶ οξείας αιμορραγίας, κ.λπ.

9.10. Προσδιορισμός ινωδογόνου μέθοδος CLAUSS

Είναι η καλύτερη μέθοδος προσδιορισμού του ινωδογόνου, γιατί προσδιορίζει το βιολογικά ενεργό ινωδογόνο.

 Ας θυμηθούμε:

Το ινωδογόνο είναι μία πολύπλοκη πρωτεΐνη του πλάσματος σε αναλογία 200 – 400 mg/dl. Κατά την τρίτη φάση της πήξης, μετατρέπεται σε ινώδες με την επίδραση της θρομβίνης.

$$\text{Ινωδογόνο} = \frac{\text{Θρομβίνη}}{\text{Ινώδες}} >$$

Εκτός από αυτή τη βιοχημική αντίδραση, αυξάνεται σε καταστάσεις φλεγμονών και καταστροφής των ιστών. Ο προσδιορισμός του ίλοιπών, είναι διπλά χρήσιμος και έχει αντικαταστήσει τον προσδιορισμό χρόνου της θρομβίνης.

• Πότε κάνουμε τον προσδιορισμό;

- ▶ Στις περιπτώσεις που οι προηγούμενες δοκιμασίες πήξης έδωσαν παρατεταμένους χρόνους, πρέπει να διερευνηθεί το αποτέλεσμα με τον προσδιορισμό του ινωδογόνου.
- ▶ Για την παρακολούθηση καταστάσεων ινωδόλυσης και διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το ζητούμενο είναι ο χρόνος που χρειάζεται το αραιωμένο πλάσμα του εξεταζόμενου για να πήξει, μόλις έρθει σε επαφή με τη θρομβίνη.

ΔΕΙΓΜΑ

Εξετάζουμε πλάσμα αραιωμένο με ρυθμιστικό διάλυμα σε αναλογία 1:10.

**ΠΡΟΣΟΧΗ!**

Το πλάσμα δεν πρέπει να έχει ίχνη αιμόλυσης.



Ακολουθούμε προσεκτικά τις οδηγίες της εταιρείας.

Η έντονη μυϊκή άσκηση να αποφεύγεται πριν από τη λήψη του αίματος.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ**1. Διάλυμα θρομβίνης**

2. Ρυθμιστικό διάλυμα: Χρησιμοποιείται για τις αραιώσεις του πλάσματος.

ΟΡΓΑΝΑ, ΥΛΙΚΑ-ΣΚΕΥΗ

υδατόλουτρο
θερμοκρασίας 37°C
χρονόμετρο χειρός



γάντια
υαλογράφος
έδρανο στήριξης δοκιμαστικών σωληνίων
π्लाστικά δοκιμαστικά σωληνάρια διαμέτρου 8mm
αυτόματη πιπέτα
ποτήρι ζέσεως με διάλυμα χλωρίνης 1:10



Για να σταματήσουμε τον κύκλο μετάδοσης πιθανών λοιμώξεων, βάζουμε όλα τα χρησιμοποιημένα ρύγχη, σε διάλυμα χλωρίνης. Τα αφήνουμε 30 λεπτά της ώρας και κατόπιν τα πετάμε στο απορριμματοδοχείο.

ΠΟΡΕΙΑ ΤΕΧΝΙΚΗΣ

1. Σημειώνουμε με υαλογράφο τα στοιχεία του εξεταζόμενου σ' ένα δοκιμαστικό σωληνάριο.

**ΠΡΟΣΟΧΗ !**

Στο υλικό κατασκευής, τη διάμετρο και την καθαρότητα των δοκιμαστικών σωληνίων.

2. Βάζουμε μέσα μία ποσότητα αραιωμένου πλάσματος και το επωάζουμε σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37°C για 2 λεπτά.

3. Προσθέτουμε ίση ποσότητα θρομβίνης και **βάζουμε σε λειτουργία το χρονόμετρο.**

4. Παρατηρούμε αν δημιουργήθηκε ή όχι ινώδες. **Μόλις σημειωθεί η πήξη καταγράφουμε το χρόνο.**

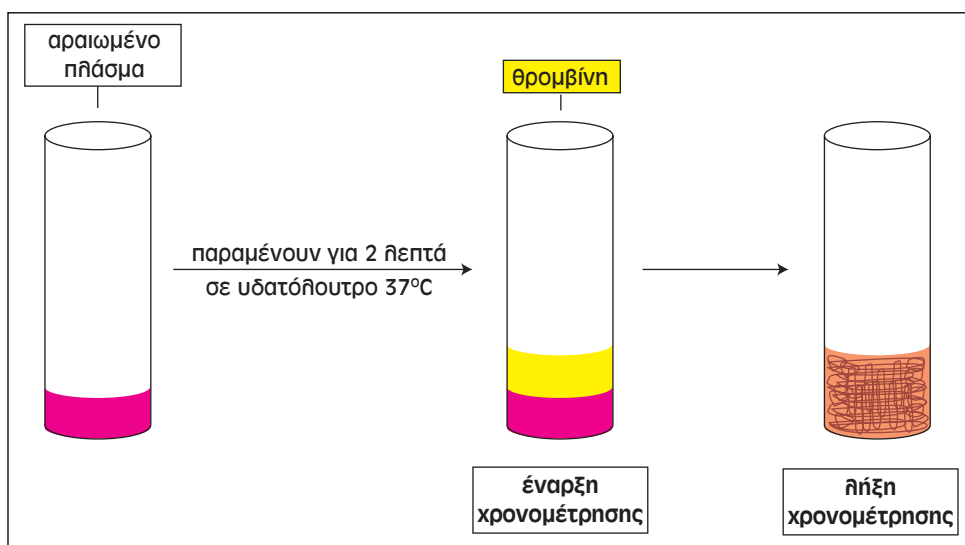


ΠΡΟΣΟΧΗ!

Αν το πλάσμα πήξει σε χρόνο μικρότερο από 5 δευτερόλεπτα επαναλαμβάνουμε τη διαδικασία. Αραιώνουμε 1:20 το πλάσμα και διπλασιάζουμε τη νέα μέτρηση του χρόνου.



Αν το πλάσμα πήξει σε χρόνο μεγαλύτερο από 15 δευτερόλεπτα, επαναλαμβάνουμε τη διαδικασία. Αραιώνουμε 1:5 το πλάσμα και υποδιπλασιάζουμε τη νέα μέτρηση του χρόνου.



Εικόνα 9.9: Προσδιορισμός ινωδογόνου

Τα αποτελέσματα δίνονται βάσει καμπύλης και εκφράζονται σε mg/dl.

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ

200 – 400 mg/dl

Τιμές υψηλότερες του φυσιολογικού έχουμε σε καταστάσεις:

- ▶ φλεγμονών (π.χ. ρευματοειδής αρθρίτιδα)
- ▶ καρκίνου
- ▶ κύησης, κ.λπ.

Τιμές χαμηλότερες του φυσιολογικού έχουμε σε καταστάσεις:

- ▶ ηπατοπάθειας
- ▶ ινωδόλυσης
- ▶ διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης, κ.λπ.



ΠΡΟΣΟΧΗ!

Η λήψη αντισυλληπτικών επηρεάζει το αποτέλεσμα.

9.11. Thrombotest

Είναι μία δοκιμασία που ελέγχει συγχρόνως τους παράγοντες II, VII, X και IX.

ΔΕΙΓΜΑ

Εξετάζουμε ολικό αίμα σε κιτρικό νάτριο.



Μετά την αιμοληψία δεν πωματίζουμε τη βελόνα, αλλά την αφαιρούμε από τη σύριγγα περνώντας τη από την ειδική εγκοπή του δοχείου αιχμηρών αντικειμένων.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Thrombotest: Είναι έτοιμο από την εταιρεία και περιέχει βόεια εγκεφαλική θρομβοπλασίνη με μεγάλη ευαισθησία και βόειο πλάσμα.

ΟΡΓΑΝΑ, ΥΛΙΚΑ-ΣΚΕΥΗ

- | | |
|---------------------|-------------------------|
| 🔧 υδατόλουτρο | 🔧 γάντια |
| 🔧 χρονόμετρο χειρός | 🔧 υαλογράφος |
| | 🔧 έδρανο στήριξης |
| | δοκιμαστικών σωληναρίων |
| | 🔧 αυτόματες πιπέτες |
| | 🔧 δοκιμαστικό σωληνάριο |

ΠΟΡΕΙΑ ΤΕΧΝΙΚΗΣ

1. Σημειώνουμε τα στοιχεία του εξεταζόμενου σ' ένα γυάλινο δοκιμαστικό σωληνάριο και βάζουμε μέσα 50 μl ολικού αίματος.

2. Προσθέτουμε 250 μl αντιδραστήριο Thrombotest και **πατάμε το χρονόμετρο.**



ΠΡΟΣΟΧΗ!

Το αντιδραστήριο πρέπει να έχει προθερμανθεί σε υδατόλουτρο στους 37°C

3. Παρατηρούμε πότε θα πήξει το πλάσμα και **καταγράφουμε το χρόνο.**



ΠΡΟΣΟΧΗ!

Οι οδηγίες της εταιρείας πρέπει να τηρούνται σχολαστικά.

Η αξιολόγηση γίνεται με βάση την πρότυπη καμπύλη.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

- **Τι είδους τιμές παίρνουμε;**

Ποσοστό στα εκατό (%)

< 50%

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ

ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΘΕΩΡΗΣΗ ΤΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ

ΟΝΟΜΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ	ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ	ΑΙΜΟ- ΠΕΤΑΛΙΑ	ΣΤΑΔΙΟ			
			1ο	2ο	3ο	4ο
Δοκιμασία περιχειρίδας	✓	✓				
Χρόνος ροής	✓	✓				
Χρόνος πήξης		✓	✓			
Συστολή του θρόμβου		✓				
Χρόνος προθρομβίνης		✓				
Χρόνος APTT		✓				
Προσδιορισμός ινωδογόνου					✓	

9.12. Άλλες τεχνικές έλεγχου των αιμορραγικών καταστάσεων

Εκτός από τους προσδιορισμούς που αναλύθηκαν ενδεικτικά στις προηγούμενες ενότητες, ένας περισσότερο λεπτομερής

έλεγχος των αιμορραγικών καταστάσεων μπορεί να περιλαμβάνει (και όχι μόνο) κατηγοριοποιημένες τις παρακάτω εξετάσεις.

Εργαστηριακές δοκιμασίες διερεύνησης διαταραχών στην αιμόσταση

1. Αρίθμηση αιμοπεταλίων	150000 – 400000/mm ³
2. Μέσος όγκος των αιμοπεταλίων	7,4 – 10,4 fl
3. Ποιοτικός έλεγχος αιμοπεταλίων:	
α. Δοκιμασία προσκόλλησης και συσσώρευσης των αιμοπεταλίων	32 – 65%
β. Έλεγχος του 3 ^{ου} αιμοπεταλιακού παράγοντα (PF ₃).	

Εργαστηριακές δοκιμασίες διερεύνησης διαταραχών στο ενδογενές και εξωγενές σύστημα της πήξης

1. Χρόνος πήξης σε τριχοειδές σωληνάριο	5 – 7 λεπτά
2. Χρόνος Howell (επανασβεστωμένου πλάσματος)	90 – 250 δ/τα
3. Αυτοματοποιημένος χρόνος πήξης (ACT)	150 – 180 δ/τα
4. Χρόνος θρομβίνης (T.T)	7 – 12 δ/τα
5. Προσδιορισμός του παράγοντα II	80 – 100%
6. Προσδιορισμός του παράγοντα XI	65 – 135%
7. Προσδιορισμός του παράγοντα V	50 – 150%
8. Προσδιορισμός του παράγοντα XII	50 – 150%
9. Προσδιορισμός του παράγοντα VII	65 – 140%
10. Προσδιορισμός του παράγοντα VIII	55 – 145%
11. Προσδιορισμός του παράγοντα IX	60 – 140%
12. Προσδιορισμός του παράγοντα X	45 – 155%
13. Έλεγχος ινωδολυτικής ικανότητας	30 δ/τα
14. Έλεγχος αποδομής ινώδους	5 – 10 mg
15. Προσδιορισμός της πρωτεΐνης C	71 – 142%
16. Thrombotest (ελέγχει συγχρόνως τους παράγοντες II, VI, X και IX)	<50%

ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ

Στις ενότητες αυτού του κεφαλαίου αναλύθηκαν δοκιμασίες που ελέγχουν διαταραχές στο τοίχωμα των αιμοφόρων αγγείων, στην *ποσότητα* και την *ποιότητα* των αιμοπεταλίων και στον μηχανισμό πήξης του αίματος.

Μόνο ο έλεγχος της αντοχής του τοιχώματος των αιμοφόρων αγγείων δε μας διαφωτίζει ιδιαίτερα. Προκαλώντας όμως τον τραυματισμό τους (βλέπε τεχνική χρόνου ροής), επιβεβαιώνουμε την αξιολόγηση της αντοχής τους και παίρνουμε στοιχεία σχετικά με την ποσότητα και την ποιότητα των αιμοπεταλίων.

Έτσι, αν τα αποτελέσματα με αυτές τις τεχνικές είναι παθολογικά, τότε:

- ▶ Θα αναζητήσουμε τη διαταραχή στις πρόδρομες και ανενεργές ουσίες που προϋπάρχουν στο πλάσμα (τεχνική χρόνου προθρομβίνης, προσδιορισμός ινωδογόνου).
- ▶ Αν χρειαστεί, θα παρατηρήσουμε το πώς αντιδρούν οι παράγοντες πήξης, όταν έρθουν σε επαφή με ενεργοποιητικές ουσίες, όπως είναι η ιστική θρομβοπλασίνη, η θρομβοπλασίνη με καοθίνη, η θρομβίνη.
- ▶ Τέλος, θα χρονομετρήσουμε το διάστημα που χρειάζεται το τελικό προϊόν (ινώδες) για να δημιουργηθεί.

**Ας ελέγξουμε τις γνώσεις μας:**

1. Μετατρέπουμε τους πηγαϊότιτλους σε ερωτηματικές προτάσεις και δίνουμε τις αντίστοιχες απαντήσεις. Π.χ.: Ποια είναι η αρχή της μεθόδου; Τι δείγμα χρησιμοποιούμε; κ.ο.κ.
2. Απαντάμε σε όλες τις ερωτήσεις που ακολουθούν τους πηγαϊότιτλους και ορίζουν το θέμα που αναπτύσσεται στις παραγράφους.

Ας δούμε τι καταλάβαμε:

1. Έστω ότι ο χρόνος που χρειάστηκε το αίμα του εξεταζόμενου να σχηματίσει ινώδες είναι 18 δευτερόλεπτα. Ποιο είναι το R και ποιο το I του εξεταζόμενου. Αξιολογούμε τα αποτελέσματα.
2. Κατά τον προσδιορισμό του χρόνου πήξης σε αντικειμενοφόρο πλάκα, ποιο ή ποια από τα παρακάτω «ήδη τεχνικής» θα μπορούσε να προκαλέσει παράταση του χρόνου πήξης;
 - α. Σκονισμένη αντικειμενοφόρος πλάκα
 - β. Θερμοκρασία χώρου 33°C.
 - γ. Παρουσία ιστικών υγρών.
 - δ. Διάμετρος σταγόνας 3mm.
3. Κατά τον προσδιορισμό του χρόνου πήξης με τη μέθοδο Lee-White, ποιο ή ποια από τα παρακάτω «ήδη τεχνικής» θα μπορούσε να προκαλέσει συντόμευση του χρόνου πήξης;
 - α. Λερωμένοι δοκιμαστικοί σωλήνες
 - β. Δοκιμαστικοί σωλήνες μικρότερης διαμέτρου
 - γ. Παρουσία ιστικών υγρών
 - δ. Γρήγορη ανακίνηση σωληναρίων
4. Εφαρμόζουμε την τεχνική Duke για να προσδιορίσουμε το χρόνο ροής ενός ατόμου. Το βρίσκουμε να έχει παραταθεί. Πριν δώσουμε το αποτέλεσμα:
 - α. Ποια ήδη ή αμέλειες πρέπει να βεβαιωθούμε ότι δεν κάναμε, τα οποία ενδεχομένως να ευθύνονται για την παράταση του χρόνου που μετρήσαμε;
 - β. Αν βεβαιωθούμε ότι δεν διαπράχθηκαν ήδη, θα προχωρήσουμε σε ανακοίνωση του αποτελέσματος;
5. Σε ποια δοκιμασία ελέγχου πηκτικότητας έχει σημασία το αν ο εξεταζόμενος έρχεται για να πάρουμε το δείγμα στο εργαστήριο μετά από άσκηση σε γυμναστήριο;
6. Αν στα παρακάτω άτομα πραγματοποιήσουμε προσδιορισμό χρόνου προθρομβίνης, συμπληρώστε δίπλα από την κάθε περίπτωση το πώς θα επηρεαστεί το αποτέλεσμα της εξέτασης (συντομευμένος χρόνος, παρατεταμένος χρόνος):

ΕΞΕΤΑΖΟΜΕΝΟΣ	ΧΡΟΝΟΣ ΠΡΟΘΡΟΜΒΙΝΗΣ
Αλκοολικός	
Αφυδατωμένο βρέφος	
Ηλικιωμένος με αντιπηκτική αγωγή	
Νεογέννητο με αιμολυτική νόσο	
Ρευματοπαθής, που παίρνει ασπιρίνες	
Φανατικός φυτοφάγος, ήλτρης λαχανικών	

7. Το αντιδραστήριο που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση του χρόνου μερικής θρομβοπλαστικής είναι:
- α. Κεφαλίνη
 - β. Ιστική θρομβοπλασίνη
 - γ. Ηπαρίνη
 - δ. Θρομβίνη

Πρόταση για περαιτέρω διερεύνηση:

Έχετε διαβάσει τον όρκο του Ιπποκράτη; Αν ναι, ποια ανθρωπιστικά και δεοντολογικά στοιχεία περιλαμβάνει;