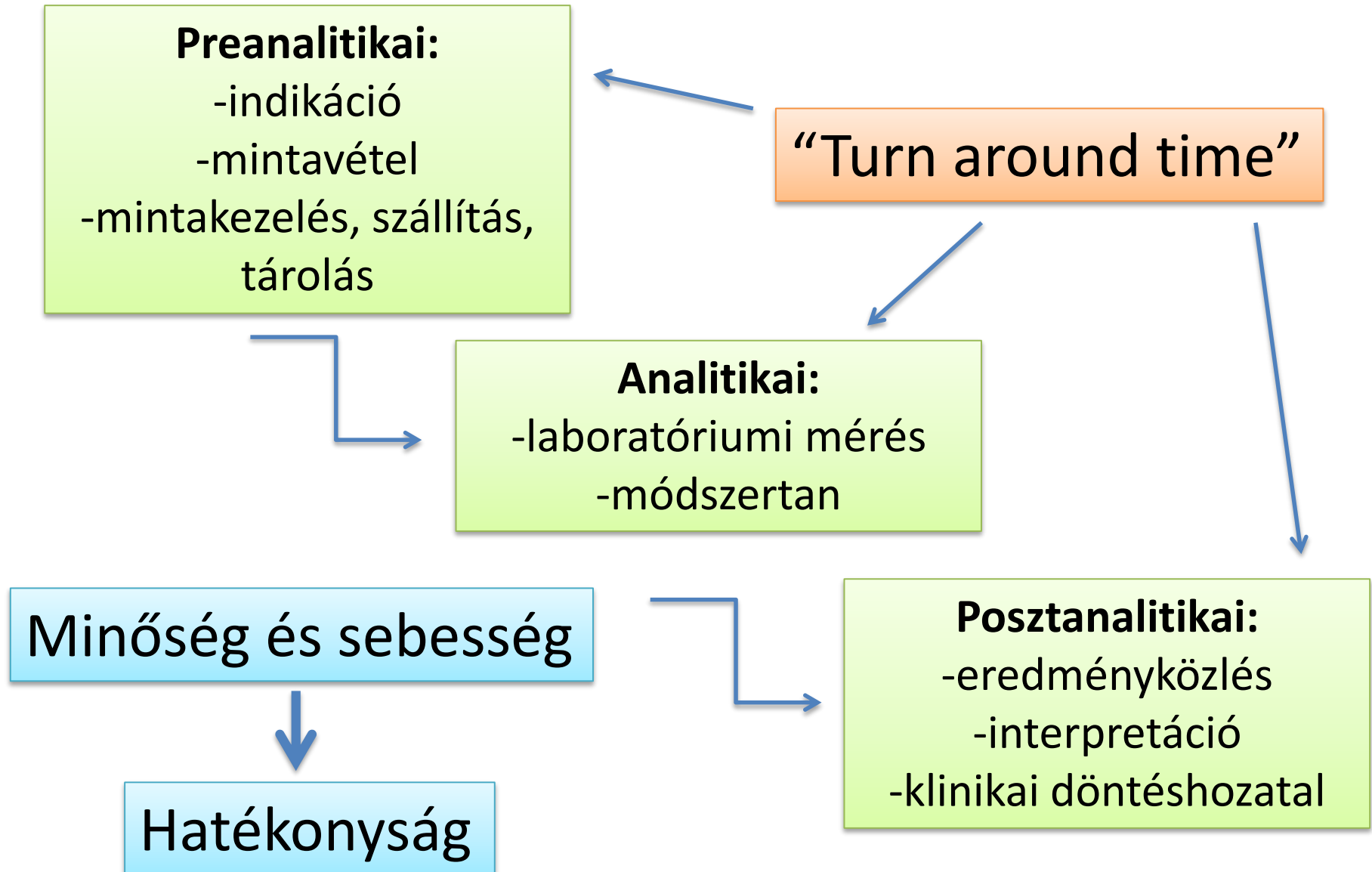


Vérzékenységi állapotok laboratóriumi diagnosztikája

Bereczky Zsuzsanna
Debreceni Egyetem, ÁOK
Laboratóriumi Medicina Intézet
Klinikai Laboratóriumi Kutató Tanszék

A laboratóriumi diagnosztika fázisai



A laboratóriumi hibák

Preamalitikai hiba (60-70%):

- indikáció
- mintavétel
- mintakezelés, szállítás, tárolás

A helytelen eredmények
hátterében leggyakrabban ezek
állnak!

Analitikai hiba (10%):

- laboratóriumi mérés
- módszertan

Posztanalitikai hiba (20-30%):

- eredményközlés
- interpretáció
- klinikai döntéshozatal

Preanalitikai változók, melyek hatással lehetnek az eredményekre (CLSI guidelines)

1. A beteg:

- alkohol, koffein, cigaretta, stress (vWF, fibrinogén, FVIII↑)
- Mintaazonosítás: legalább két azonosító, mintavételi időpontok feltüntetése, ha releváns (több mintavétel, azonos időben beküldése, PK meghatározások)

2. Vérvételi technika: atraumatikus, alvadék elkerülése (stasis, lassú vérvétel, vérvételi tűvel manipuláció a vénában), citráttal azonnal összeforgatni (de nem rázni!-Thr aktiváció, hemolízis); Vérvételi tű: 19-23 G (kisebb-hemolízis; nagyobb-alvadék); vérvételi cső: ne legyen felszínaktivátor (szilikonizált üveg vagy polipropilén)

3. Vér-citrát arány: 9:1 (0,109M=3,2% az ajánlott)

Magas Htc esetén: $C = (1,85 \times 10^{-3})(100 - Htc)(V_{\text{blood}})$

4. Mintaszállítás, tárolás: 2-4 órán belül szeparálni, nem hűtve szállítani (pneumatikus csőrendszer alkalmas). Hűtve tárolni a teljes vért NEM szabad! (50% FVIII↓, 6h alatt)

5. Centrifugálás, tárolás: 1500g ≥15 min, csak a plazma felső 2/3-a használható; RT 2-3h, -70°C 18 hó, (2-8°C 4h és -20°C 2 hét-NEM ajánlott)

6. Felolvasztás: 37°C vízfürdőben 4-5 min (ha RT-cryoprecipitatum)

Különböző antikoagulánsok hatása a koaguláció paramétereire

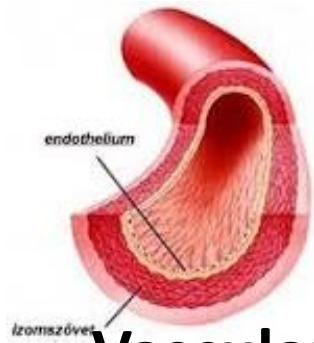
Table 5.2 Effect of sample matrix on common hemostasis assays

Tube type assay	3.2% Citrate mean/range	EDTA mean/range	Sodium heparin mean/range	Serum mean/range
aPTT (s)	29/25–33	68/45–92	>180	>180
PT (s)	12.4/11.5–13.2	23/19–27	>60	>60
dRVVT (s)	34.6/27–43	55/45–64	>150	>150
FV Act (%)	113/84–142	71/39–103	81/59–103	23/13–33
FVII Act (%)	115/50–180	116/51–182	77/43–107	308/80–437
→ FVIII Act (%)	141/80–202	7.5/2–19	<1	4.5/1.3–7.7
→ FIX Act (%)	122/97–148	115/63–168	<1	350/135–565
VWF:Ag (%)	122/50–194	143/59–228	70/42–98	101/32–169
VWF:RCo (%)	114/41–188	131/46–215	37/13–60	74/25–124
PC Ag	97/60–134	115/97–159	125/94–156	120/71–169
PC Act (%)	111/66–155	152/100–205	<1	21.6/0–70
PS Act (%)	96/73–119	30/17–42	<1	15.3/0–39.5
Free PS Ag (%)	108/72–144	131/91–171	126/94–159	131/97–164
AT Act (%)	102/86–118	121/105–138	126/108–143	47/30–65
AT Ag (%)	110/832–138	121–92–150	100/83–118	114/79–148

Source: Unpublished data. Valcour A, Marshall T. 2007 Laboratory Corporation of America®.

Az EDTA inhibitor hatással (is) bír, FVIII gátlótest jelenlétét mutathatja.

Haemorrhagias diathesisek vizsgálata (BAT- guidance of the ISTH; JTH 2011;8:2063-5.) Nincs hivatalos magyar fordítás



**Vascularis
rendellenességek**

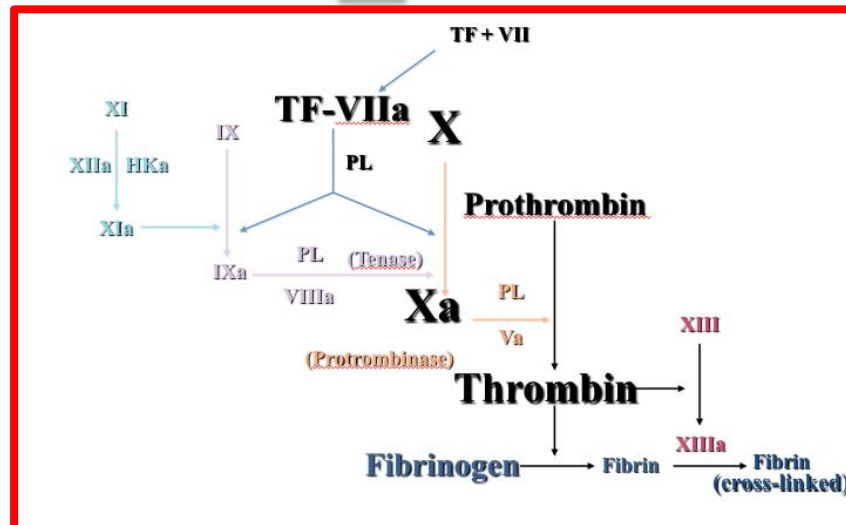
Vérzési idő,
Betegség-specifikus
kritériumok
(eg. Curacao crit.-HHT)

**coagulopathiák
(PI, APTI, TI)**



**Thrombocyta funkció
zavarok**

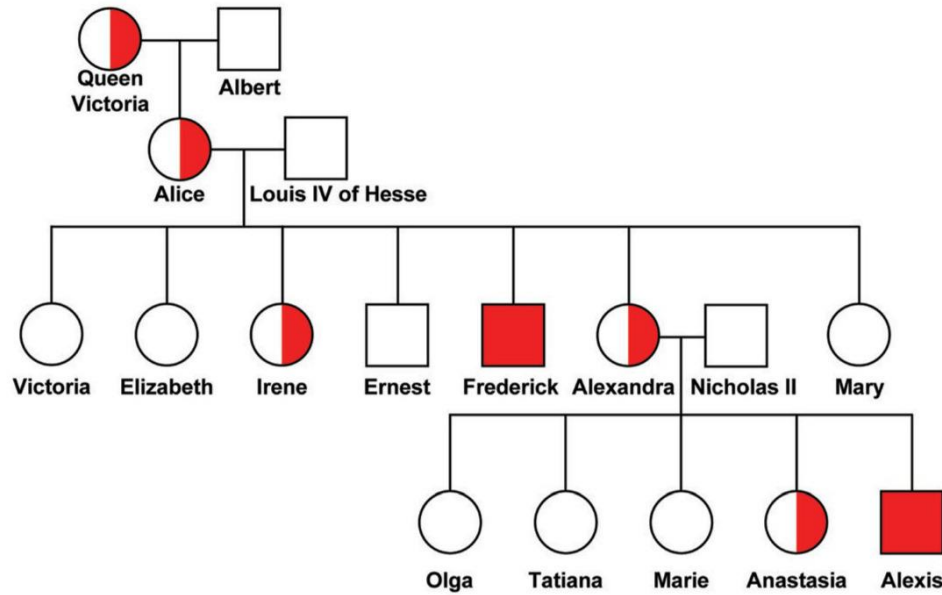
THR szám, PFA-
100,
Vérzési idő



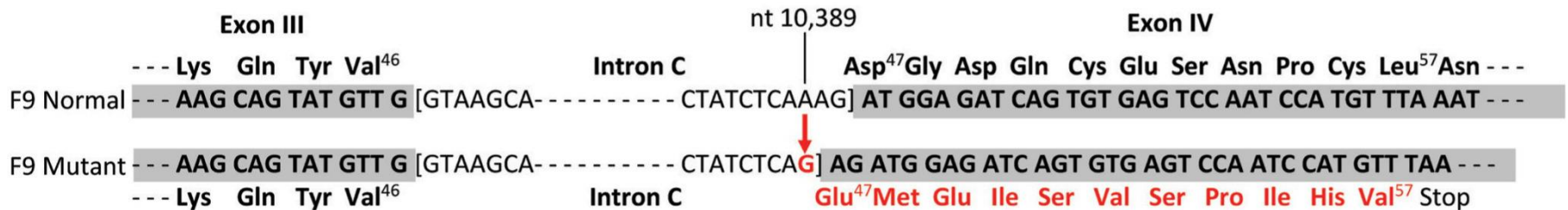
Haemophilia az angol királyi családban



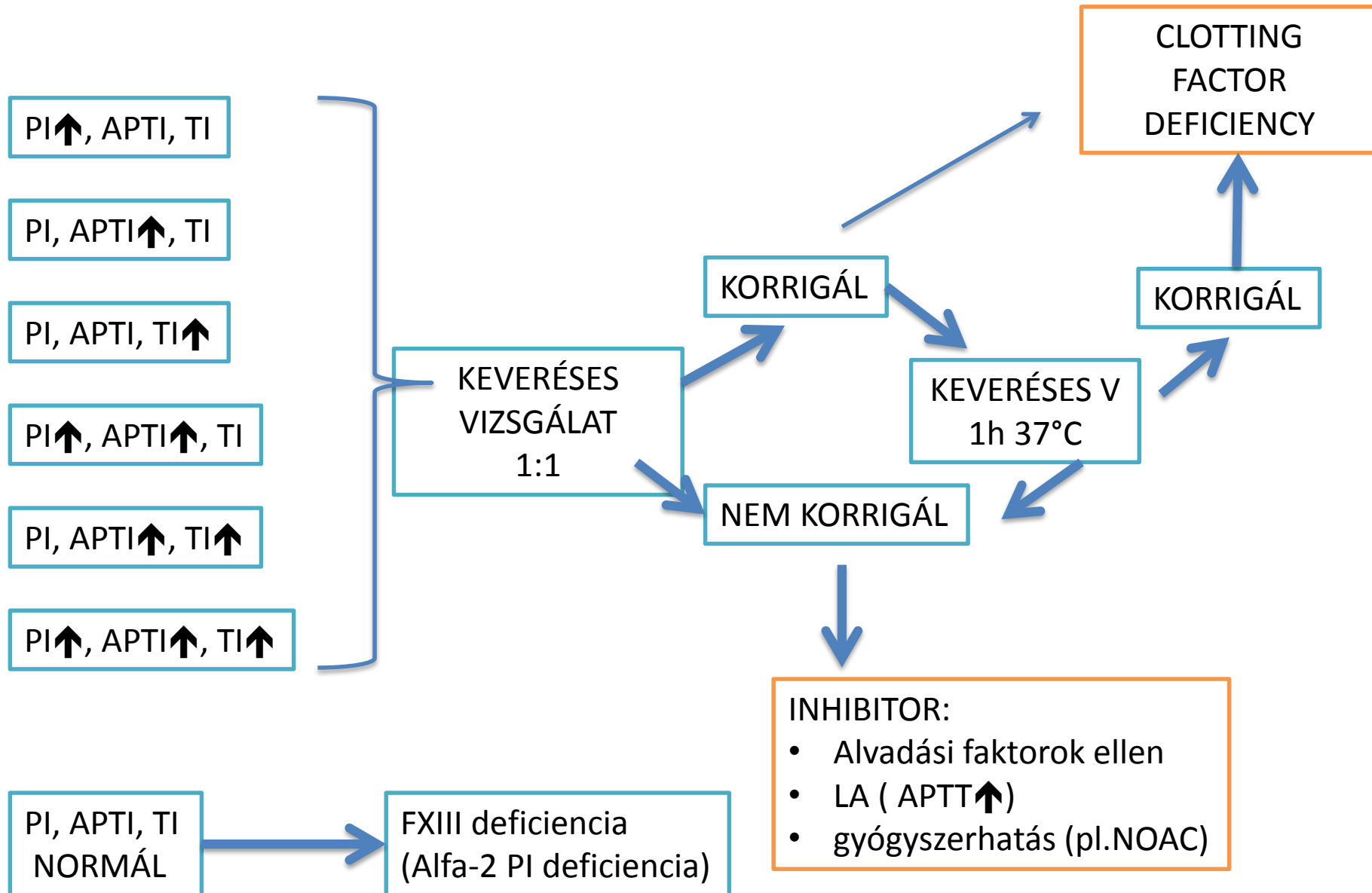
A



B

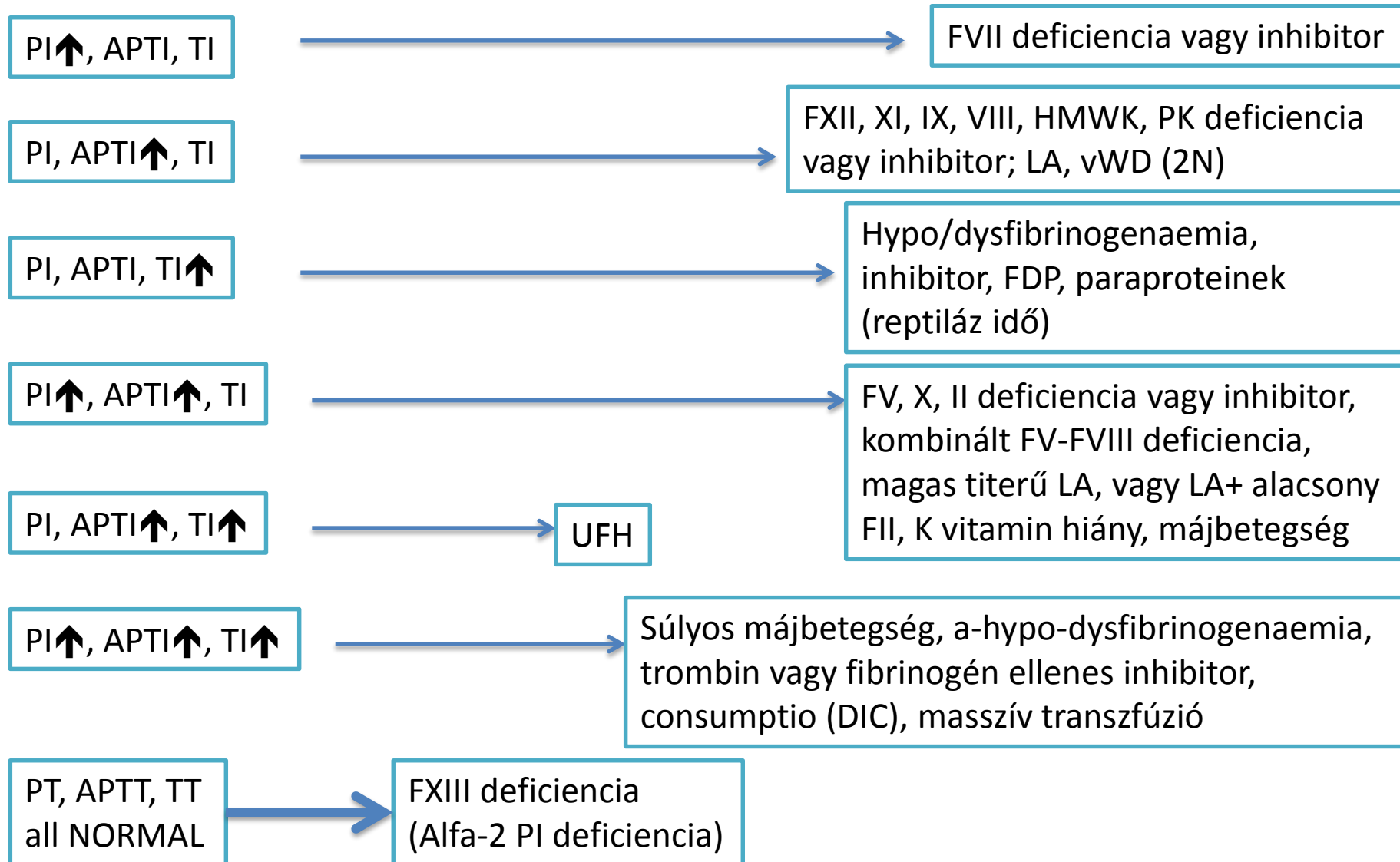


Szűrővizsgálatok coagulopathiákban



Coagulopathiák vizsgálata

(ha NINCS gyógyszerhatás vagy pre-analitikai hiba)



Tromboplasztin készítmények tulajdonságai

NÉV	GYÁRTÓ	EREDET	REF. TART. (sec)	FELHASZNÁLÓK SZÁMA (UK NEQAS)
INNOVIN	Siemens	hu rekombináns	7.7-9.7	250
HemosIL Recombiplastin	IL	hu rekombináns	9.1-12.1	212
STA Neoplastine R	Stago	hu rekombináns	13.0-17.0	36
Thromborel S	Siemens	hu placenta	10.4-13.0	57
HemosIL PT-FIB HS plus	IL	nyúl agy	11.8-15.1	82
STA Neoplastine Cl plus	Stago	nyúl agy	12.3-14.4	50
Manchester R	Helena	nyúl agy	10.4-12.4	18

total: 836

Thromboplasztin reagensek jellemzése

KÉSZÍTMÉNY	ISI	FAKTOR ÉRZÉKENYSÉG	HEPARIN INSZENZITIVITÁS	LA DG.
INNOVIN	≈1.0	+++	2 IU/mL	++
THROMBOREL	≈1.1	++	0.6 IU/mL	-
RECOMBI- PLASTIN	≈1.0	+++	1 IU/mL	?
PT-FIB HS	≈1.4	++	0.5 IU/mL	-
STA Neoplastine Cl+	≈1.3	++	+	-
STA Neoplastine R	≈1.0	+++	+++	?

Reagent	Approx. ISI	Factor VII Sensitivity	Heparin Insensitivity	Reconstituted Stability at 2-8°C
ReadiPlasTin	1.0	Excellent	Up to 1.0 U/mL	10 d
RecombiPlasTin 2G	1.0	Excellent	Up to 1.0 U/mL	10 d
PT-Fibrinogen HS Plus	1.2	Very Good	Up to 0.5 U/mL	5 d
PT-Fibrinogen	2.0	Good	Up to 1.0 U/mL	5 d

APTI reagensek jellemzése

NÉV	GYÁRTÓ	AKTIVÁTOR/FL	REF. TART. (sec)	LA érzékenység
Actin FS	Siemens	Ellagsav/szója	23.0-31.9	+
Pathromtin SL	Siemens	Szilika/növény	25.9-36.6	+
Actin FSL	Siemens	Ellagsav/nyúl agy, szója	25.0-33.0	+++
SynthASiL	IL	Kolloid szilika/szintetikus	25.4-38.4	++
APTT SP Liq	IL	Szilika/szintetikus	24.3-35.0	+++
SynthAFax	IL	Ellagsav/szintetikus	19.7-27.6	+
PTT-Automate	Stago	Szilika/cephalin	29.0-38.0	+++
STA Cephascreen	Stago	Polifenol/nyúl agy	23.7-34.9	+

Reagent	Heparin Sensitivity	Factor Sensitivity	Lupus Sensitivity	Liquid or Lyophilised	Open Vial or Reconstituted Stability at 2-8°C	Approx. Normal Range
SynthASiL	Excellent	Very Good	Very Good	Liquid	30 d	30 s
APTT-SP	Excellent	Excellent	Excellent	Liquid	30 d	30 s
SynthAFax	Very Good	Good	Good	Liquid	30 d	24 s

Laboratóriumi vizsgálatok coagulopathiákban

1/ Alváadási tényező hiányának, kóros voltának kimutatása **funkcionális teszttel:**

- Extrinsic-Intrinsic út faktorok aktivitásának meghatározása → alváadási teszt (egy-vagy kétfázisú) kromogén teszt

- Fibrinogén, FXIII, α_2 plazmin inhibitor

2/ Faktor deficienciák klasszifikálása:

-Alváadási faktorok **antigén** meghatározása immunológiai módszerrel (ELISA)

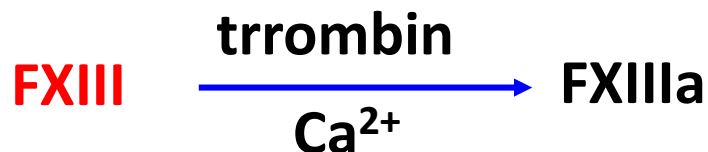
3/ Gátlótestek meghatározása

4/ Molekuláris genetikai vizsgálat

FXIII aktivitás meghatározás ammónia felszabadulás detektálással

(Muszbek et al. Clin Chem 1985; 31: 35-40)

1. Aktiváció (lag fázis):

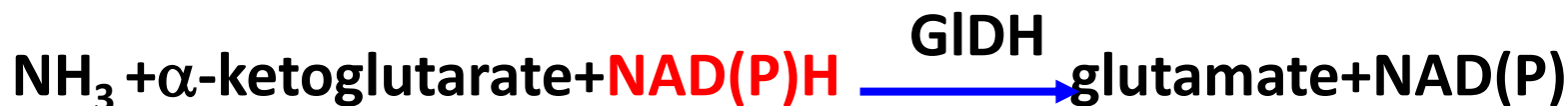


fibrin polimerizáció gátlása: GPRP(A)-NH₂

2. Transzglutamináz reakció:



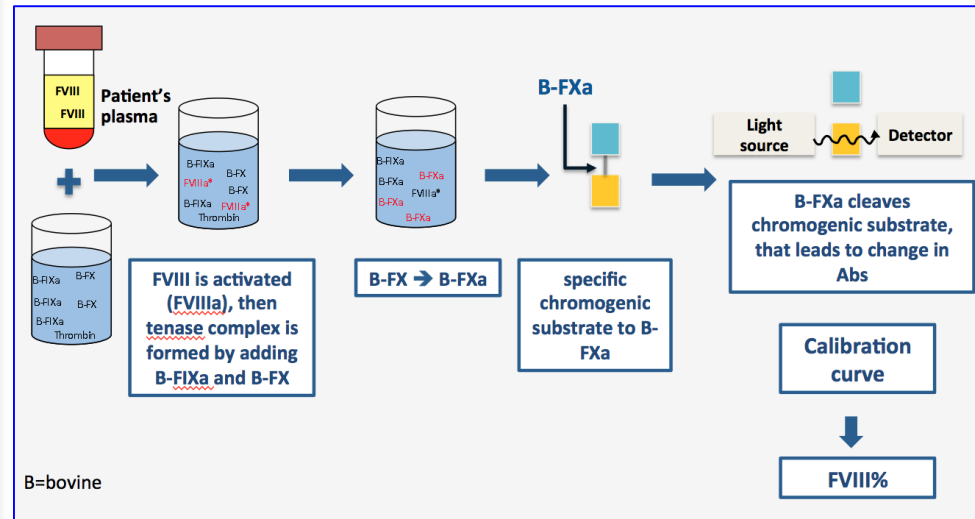
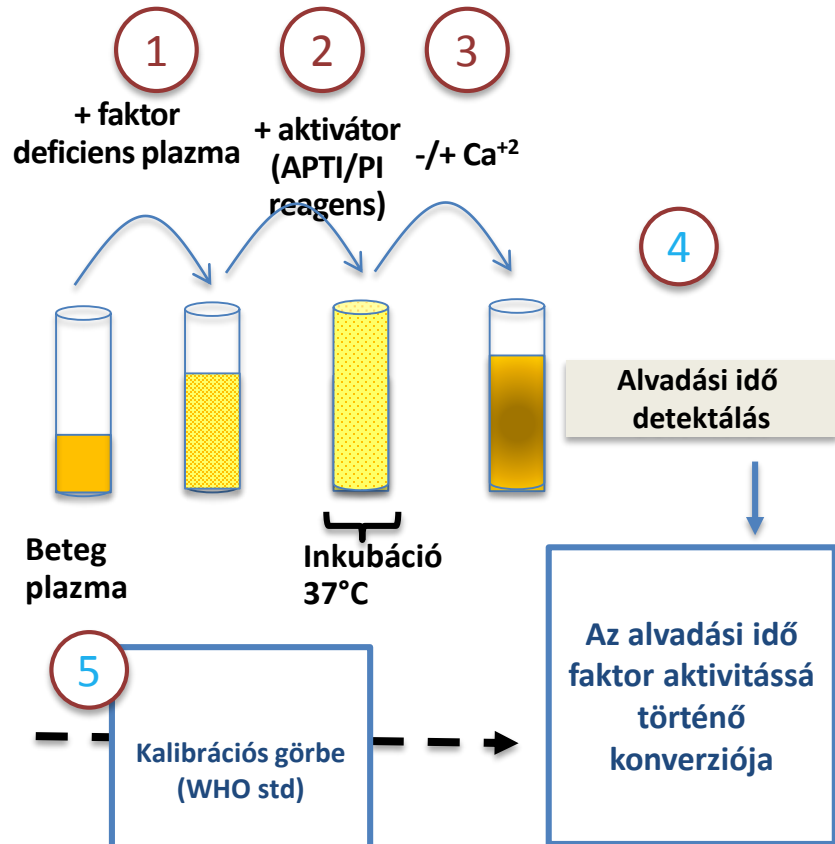
3. Ammonia felszabadulás detektálása:



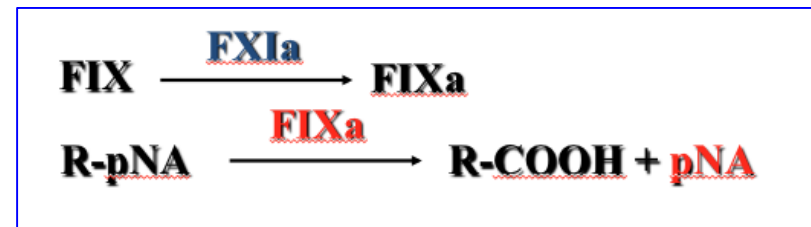
FXIII antigén meghatározás: ELISA- FXIIIA₂B₂, FXIII-A, FXIII total and free B subunits

Alvadási faktor aktivitás mérés egyfázisú alvadási teszttel és kromogén módszerrel

Indirekt teszt (pl. FVIII)



Direkt teszt (pl. FIX)



FVIII meghatározás az ECAT programban

	n	assigned value	CV (%)	range	your result	z-score
Total Group	237	39	12.1	4 - 68	40	0.23
two-stage clotting assay	4	42		34 - 47		
IL Hemosil, SynthASil	1	34				
Siemens Actin FS	1	47				
Siemens Pathromtin SL	2	42		39 - 46		
one-stage clotting assay	233	39	11.9	4 - 68	40	0.25
IL Hemosil, APTT-SP liquid silica	9	36		33 - 39		
IL Hemosil, SynthASil	71	36	7.8	29 - 46		
Siemens Actin	1	42				
Siemens Actin FS	34	40	11.9	4 - 68		
Siemens Actin FSL	19	41	12.7	18 - 49		
Siemens Pathromtin SL	24	40	11.3	26 - 49	40	-0.01
Stago Cephalin/Kaolin/CK Preat	29	40	12.8	32 - 52		
Stago Cephascreen	7	46		38 - 50		
Stago PTT (automate)/STA APTT	28	39	10.6	33 - 52		
Toag Automated APTT	2	39		38 - 40		
Toag TriniClot APTT S	5	37		35 - 46		
Toag TriniClot APTT-HS	4	37		30 - 43		

	n	assigned value	CV (%)	range	your result	z-score
Total Group	54	43	10.2	36 - 56		
Chromogenic assay	54	43	10.2	36 - 56		
Chromogenic Coamatic Factor VIII	12	42	9.7	36 - 51		
Chromogenic Coatest Factor VIII	3	43		37 - 45		
Hyphen Biomed. Biophen Factor VIII	21	42	9.0	37 - 55		
Other	4	41		39 - 56		
Siemens Factor VIII	11	44	10.0	36 - 50		
Technicon Factor VIII	3	47		40 - 49		

Ha nem parallel:
inhibitor, LA
technikai error

Az aladási faktor aktivitás meghatározás módszereinek összehasonlítása

Egyfázisú aladási teszt

- **Nagy variabilitás** (APTI/PI reagensek, deficiens plazma, kalibrátor), főleg az alacsony tartományban
- **Bizonyos esetekben** (pl. extended half-life factor products) a teszt NEM **alkalmas monitorozásra, vagy csak módosításokkal alkalmas** (termék-specifikus std,-Refacto)
- **Az aladási időt befolyásoló tényezők módosíthatják az eredményeket** (pl. NOAC, LA)
- **Interferencia** optikai coagulometeren

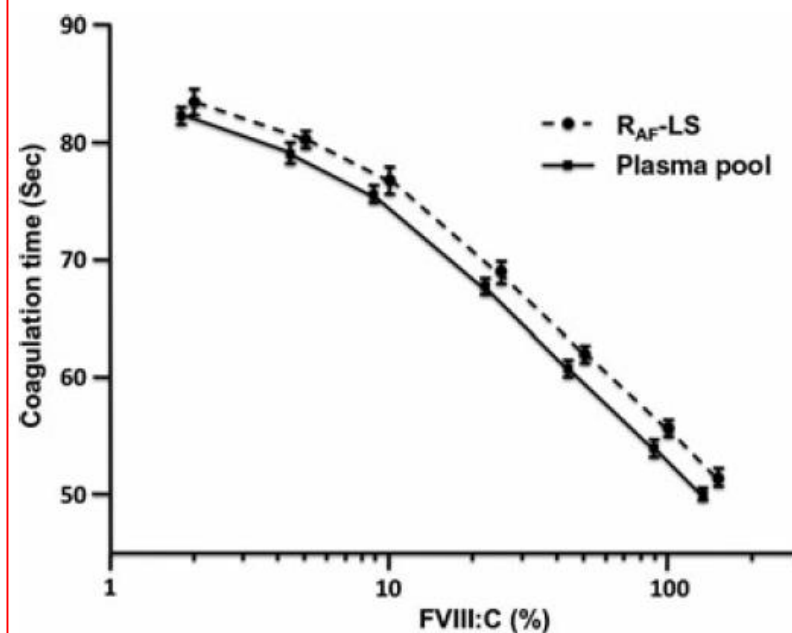
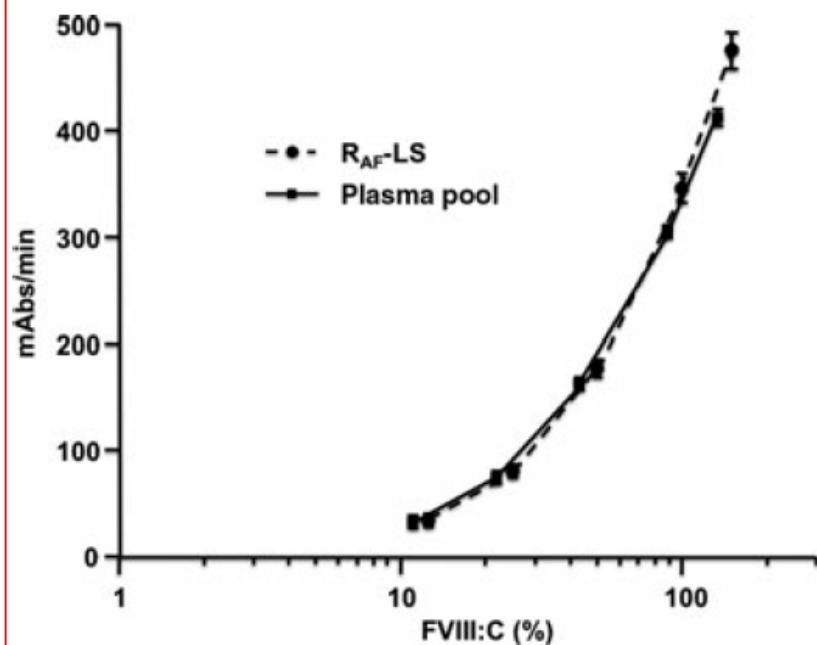
Kromogén teszt

- **Interferencia** (hemolysis, icterus, lipemia)
- Bizonyos faktor készítmények esetén az eredmények különböznek az aladási tesztben kapott értékektől
- Általában pontosabb mint az aladási teszt, **alacsonyabb variabilitás**
- **Bovine vagy human komponensek (FIXa, FX)**
- Rutinban NEM használják Mo-on

Számos FVIII készítmény különböző jellemzőkkel -laboratóriumi tesztekben különböző viselkedés?-

Generation	Products	FVIII	Technology	Half-life*	Date of US FDA approval
Plasma derived	Antihemophilic factor (Hemofil M [®] , Koate-DVI [®] , Monarc-M [®] , Monoclate-P [®])	Full length	Pooled human plasma	14.8–17.5 hours	1966 (Hemofil M), 1974 (Koate-DVI)
Plasma derived/VWF complex	Antihemophilic factor/VWF complex (Alphanate [®] , Humate-P [®] , Wilate [®])	Full length with VWF	Pooled human plasma	12.2–17.9 hours	1978 (Alphanate), 1986 (Humate-P), August 2009 (Wilate)
Recombinant: first generation	Antihemophilic factor recombinant (Recombinate [®])	Full length	BSA in culture and human albumin as stabilizer	14.6 ± 4.9 hours	December 1992
Recombinant: second generation	rFVIII-FS (Helixate [®] , Kogenate [®])	Full length	Human plasma protein solution in culture	13.74 hours	June 2000
Recombinant: third generation	Antihemophilic factor recombinant (Advate [®] , Kovaltry [®])	Full length	No human or animal protein added	12–14.2 hours	July 2003 (Advate), March 2016 (Kovaltry)
Recombinant: second generation	Moroctocog alfa (ReFacto [®])	BDD	Human plasma protein solution in culture	14.5 ± 5.3 hours	March 2000
Recombinant: third generation	Moroctocog alfa (Xyntha [®]), Turoctocog alfa (Novoeight [®])	BDD	No human or animal protein added	10.8–12 hours	February 2008 (Xyntha), October 2013 (Novoeight)
Recombinant: fourth generation	Simoctocog alfa (Nuwiq [®])	BDD	HEK cells to allow human glycosylation	17.1 ± 11.2 hours	September 2015
Recombinant: third-generation EHL	Octocog alfa pegol (Adynovate [®])	BDD-PEGylated	PEGylation to parent drug Advate	14.69 ± 3.79 hours	December 2016
Recombinant: fourth-generation EHL	rFVIII-Fc (Eloctate [®])	BDD-rFVIII-Fc	HEK cells to allow human glycosylation	19.7 ± 2.3 hours	June 2014
Recombinant: third-generation EHL	rFVIII-SC (Afstyl [®])	EHL single chain	No human or animal protein added	14.2 hours	May 2016

FVIII:C (%) calibration curves generated with			
Coagulation time (s)*	Plasma [†]	R _{AF} LS [‡]	Difference (%) [§]
55	80.9	106.8	−32.0
60	48.7	64.2	−31.6
65	28.7	37.8	−31.5
70	16.3	21.5	−31.7
75	8.7	11.6	−32.7



ReFacto AF[®] Laboratory Standard használata

Step 1

- Reconstitute at room temperature using 1.0 mL sterile water
- Transfer to stoppered plastic tube
- Maintain at room temperature and use within 2 hours

Step 2

- Pre-dilute in FVIII-deficient (haemophilic or artificially depleted) plasma containing normal functional levels of von Willebrand factor to yield a 1.0 IU/mL solution
- Use the prepared standard once and discard – do not refreeze

Step 3

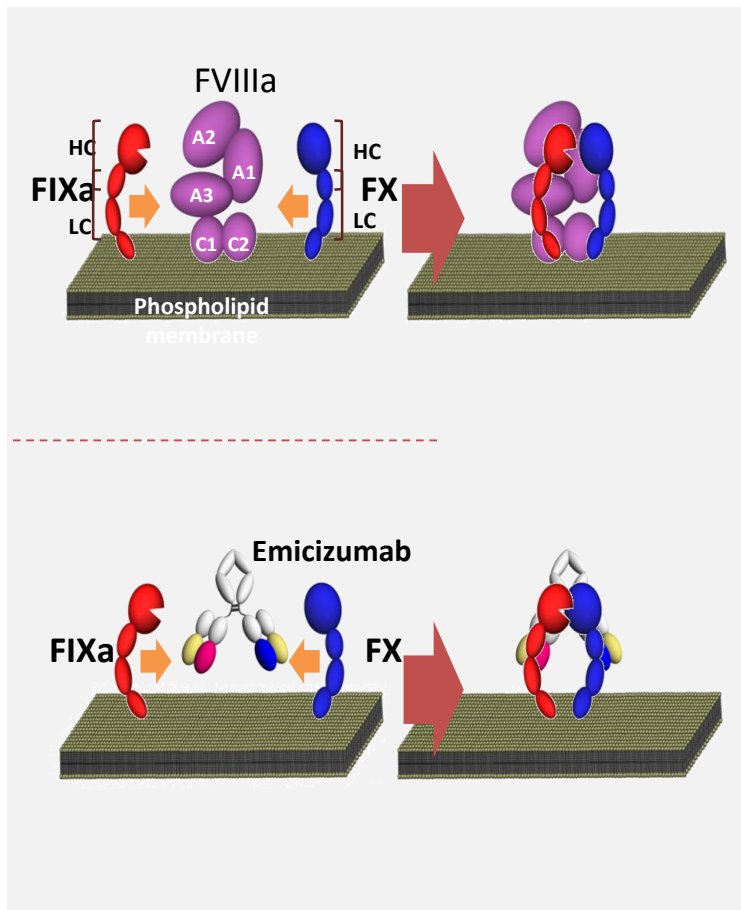
- Use the solution to create a standard curve for analysis
- Analyse plasma samples from patients treated with ReFacto AF[®]
- Store unopened vials at –20°C

ReFacto AF[®] Laboratory Standard Package Insert, 2009.

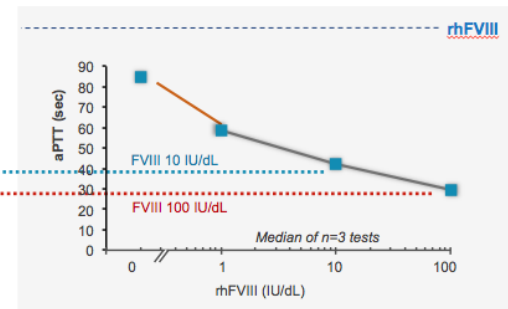
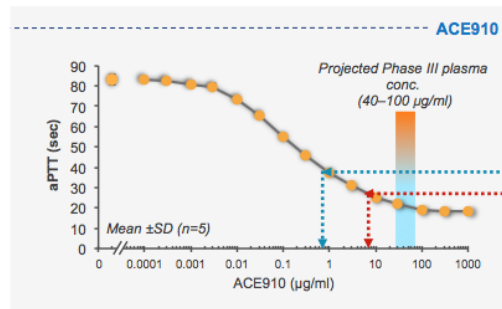
Problémák:

- 
1. Nincs QC plazma; a plazma eredetű kontroll plazma az elfogadhatósági tartományon kívül eső FVIII% értékeket adhat.
 2. kromogén FVIII módszer nem elérhető Mo-n (magas ár)

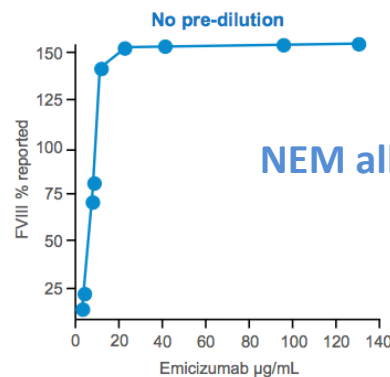
Emicizumab-bispecifikus antitest HA-ban -laboratóriumi kihívások-



APTI rövidül már szubterápiás dózis (5µg/mL) mellett is



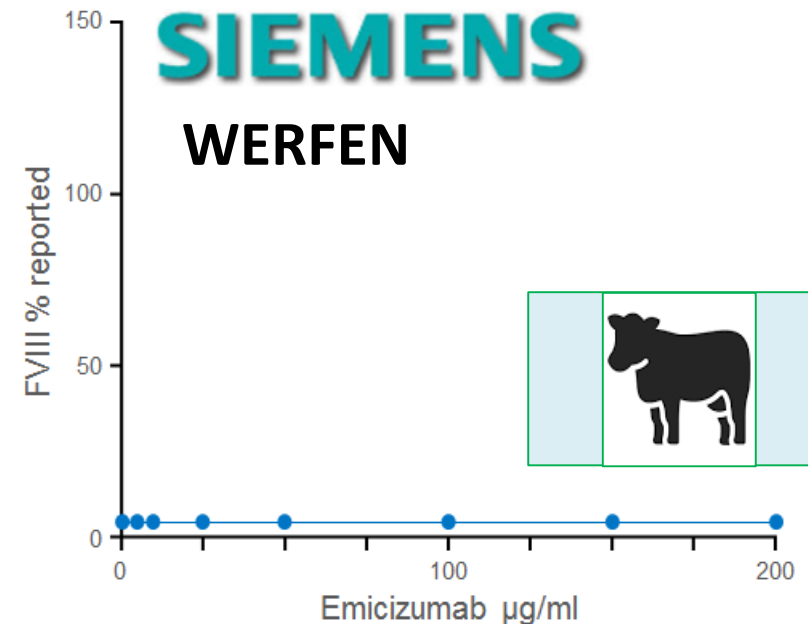
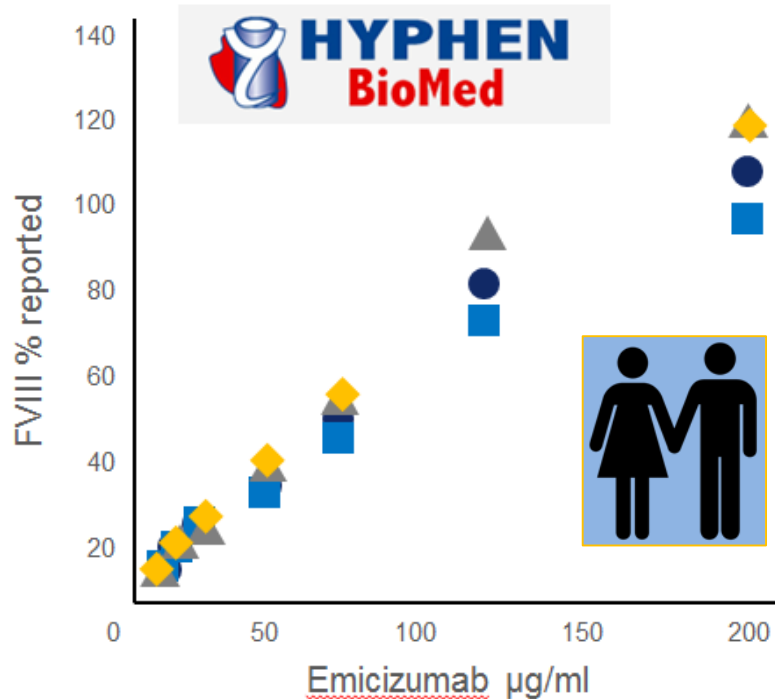
FVIII aktivitás fals magas
az 1-fázisú alvadási tesztben



NEM alkalmas az emicizumab mérésére

1. Kitazawa T et al. *Nat Med*. 2012;18:1570-1574; 2. Uchida N et al. *Blood*. 2016;127:1633-1641;

Az emicizumab különböző módon viselkedik a **humán** és a **bovin** FIXa-FX alapú kromogén tesztekben



Emicizumab-ra és FVIII-ra is érzékeny

a FVIII% érték, ami a kalibrációs görbéről leolvasható, NEM azonos a beteg valódi FVIII szintjével!

- **NEM érzékeny emicizumab-ra**
- Érzékeny FVIII-ra

➤ emicizumab jelenlétében is a beteg keringésében lévő FVIII szintet mutatja (FVIII készítmények, inhibitorok)

Gátlótestek alvadási faktorok ellen

Osztályozás:

A,

Neutralizáló antitestek: a faktor aktivitását gátolják

Nem-neutralizáló antitestek: clearance-t fokozzák

B,

Auto-antitestek: nem faktor deficiens betegeken, gyakran társul autoimmun betegséggel, idősekben, post partum haemophilia

Allo-antitestek: pótló terápián lévő faktor deficiens betegeken.

C,

Gyenge inhibitorok (csak 37 ° C-on)

Erős, azonnal ható inhibitorok

Inhibitor meghatározás

(Bethesda assay Nijmegen módosítása)

1. cső: beteg plazma keverékek
A beteg plazma hígításai 1:1 arányban vannak keverve 0.1 M imidazol pufferelt (pH 7.4) normál plazmával

2. cső: kontroll keverék
FVIII deficiens plazma van keverve 1:1 arányban 0.1 M imidazol pufferelt (pH 7.4) normál plazmával

Mindkét csövet inkubáljuk 37 °C-on 2 h

Mindkét cső FVIII aktivitásának meghatározása

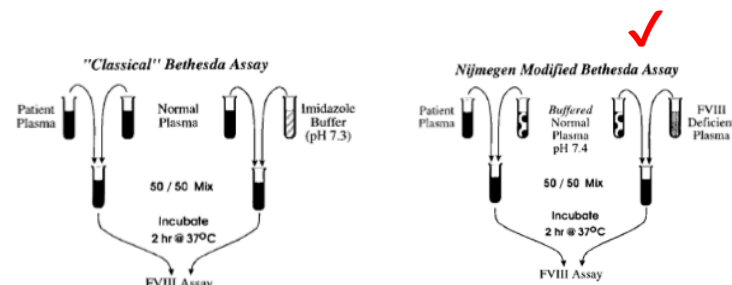
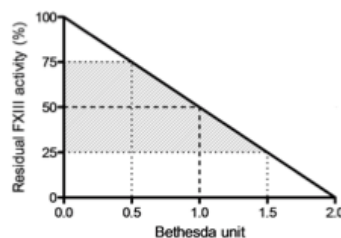
(ha a beteg plazma tartalmaz maradék FVIII-t, korrigálni kell rá)

Reziduális faktorszint meghatározása:

Faktor aktivitás (korrigált) 1. cső x 100

Faktor aktivitás 2. cső

→ az eredményt Bethesda egységben leolvasni (25-75% reziduális faktor aktivitásnál lehet). Hígítás mértékével korrigálni kell! Cut-off: 0.6 BU/mL



Thromb Haemost 1998;79:872-5.

ECAT ajánlás

(2015)

1, beteg plazma hígítása

→ minél kisebb hígítást alkalmazzunk

→ FVIII deficiens plazmával kell hígítani

2, normal pool plasma (NPP)

→ FVIII aktivitása legalább 100% (1U/mL) legyen

→ puffer: 4M Imidazole puffer, pH7.4
össze kell keverni 1:39 arányban a NPP-val, majd pH állítás 7.3-7.5-re

3, kontroll/referencia minta

→ FVIII deficiens plazmát kell használni

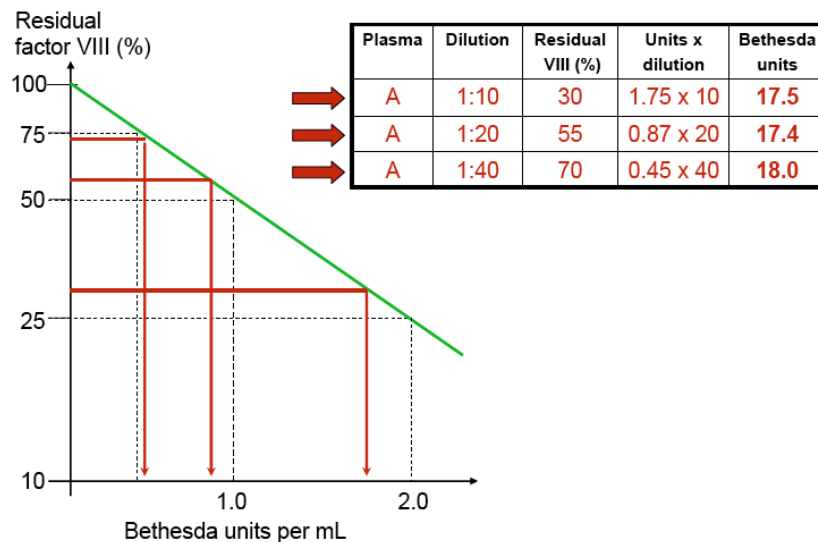
ISTH: a reziduális faktor aktivitást “kiiktatni” a beteg plazmában és a FVIII deficiens plazmában a Bethesda teszt előtt 58°C 1,5h inkubációval, majd 4000g 2 min centrifugálással.

A neutralizáló antitestek típusai

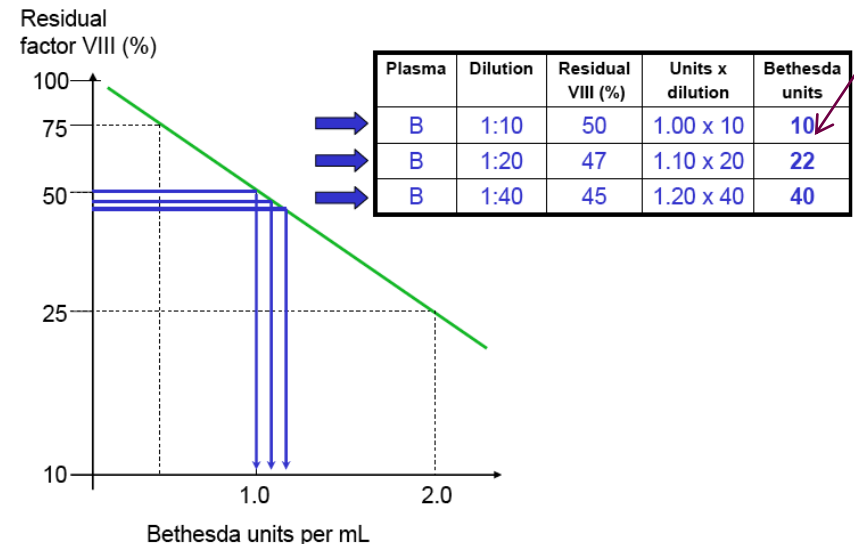
Type I. egyszerű, 2nd rendű kinetikával rendelkező: a FVIII teljes gátlása (általában allo-antitestek esetén)

Type II. komplex kinetikával rendelkező: nincs teljes FVIII gátlás, (főleg auto-antitestek esetén látjuk)

Type I

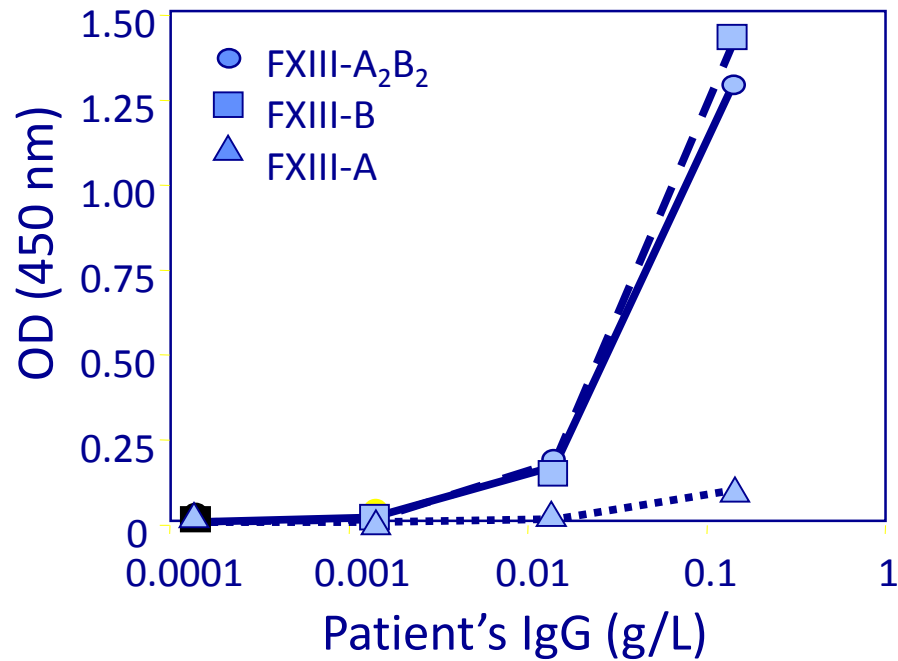


Type II



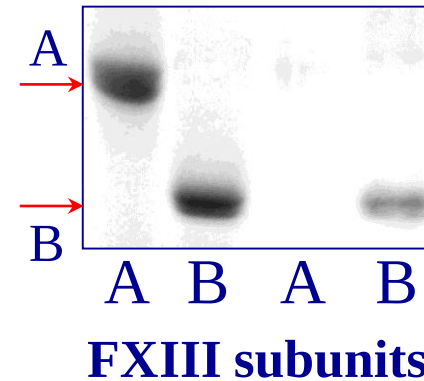
Kötődési vizsgálatok nem-neutralizáló antitestek kimutatására (pl. szerzett FXIII deficiencia)

A. ELISA

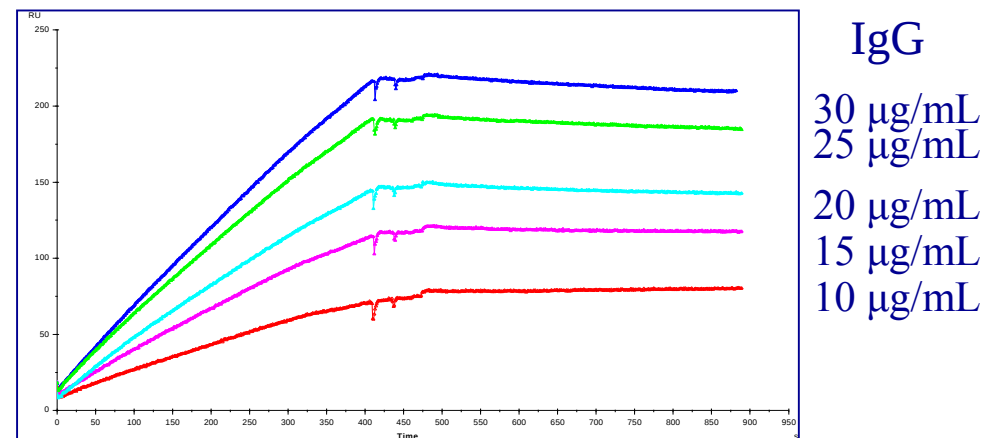


Ajzner et al. Blood 2009

B. Western blotting

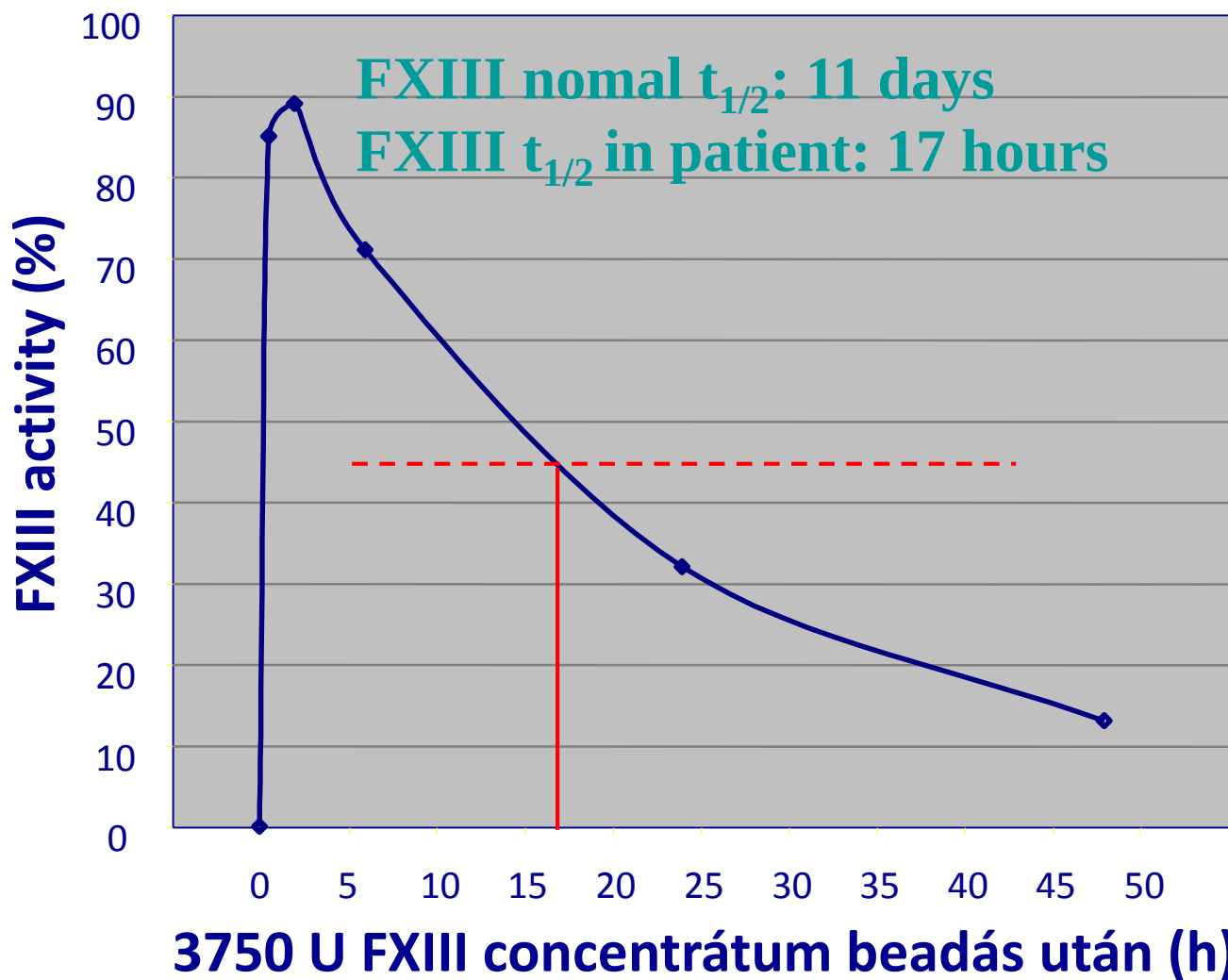


C. SPR technika



Pénzes et al. Haemophilia 2015

Fokozott FXIII elimináció nem-neutralizáló anti-FXIIIB antitest jelenléte miatt



Differenciál diagnózis

Anti-faktor antitestek vs LA

Fő problémák:

- LA megnyújtja az APTI-t és interferál a faktor (és inhibitor) meghatározással → fals pozitív inhibitor titerek
- Anti-faktor antitestek interferálnak az LA meghatározással → fals pozitív LA eredmények
- Mind az LA mind az anti-faktor antitestek fals alacsony alvadási faktor aktivitásokat eredményezhetnek az egyfázisú alvadási tesztben

Lehetséges megoldások:

- Legalább 2 eltérő elvű LA teszt használata (pl. DRVVT és Hex)
- Kromogén faktor meghatározás (akár a Bethesda tesztben is)
- LA-inszenzitív APTI használata az egyfázisú alvadási tesztben (pl. ActinFS)
- 2 vagy több hígítás alkalmazása az egyfázisú alvadási tesztben (parallel lefutás)

Esetismertetés No.1.

Horrorisztikus laboratóriumi eredmény klinikai következmény nélkül

23 éves nő, tünetmentes. Rutin laboratóriumi vizsgálat során az alábbi eredményeket kapták:

Laboratóriumi eredmények	beteg	Referencia tartomány
Protrombin idő (sec)	9.2	8.7-11.3
APTI (sec)	154.5	28.3-41.0
Trombin idő (sec)	19.3	14.4-21.4
APTI keverés (sec)	31.5	APTI kontroll: 28.1
APTT keverék 1h 37C (sec)	31.0	APTI kontroll: 28.4
FVIII aktivitás (%)	80	60-150
FIX aktivitás (%)	79	60-150
FXI aktivitás (%)	102	60-140
FXII aktivitás (%)	77	60-140
PK aktivitás (%)	<5	60-140
HMWK aktivitás (%)	108	60-140

Esetismertetés No.2.

enyhe laboratóriumi eltérések klinikai következményekkel

34 éves nő invazív procedúrákat követő súlyos, transzfúzió igényű vérzésekkel.
(császármetszés, emlő implantáció, myoma enukleáció)

Laboratóriumi eredmények	beteg	Referencia tartomány
Protrombin idő (sec)	11.3	8.7-11.3
APTI (sec)	45.9	28.3-41.0
Trombin idő (sec)	17.6	14.4-21.4
APTI keverék (sec)	33.9	APTI kontroll: 33.5
PFA-100 CT COLL/ADP (sec)	75	55-118
PFA-100 CT COLL/EPI (sec)	127	63-142
FVIII aktivitás (%)	124	60-150
FIX aktivitás (%)	73	60-150
FXI aktivitás (%)	77	60-140
FXII aktivitás (%)	111	60-140
FV aktivitás (%)	27	70-130
FX aktivitás (%)	95	70-130
FII aktivitás (%)	99	70-130

THR aggregáció
és szekréció N;
vWD kizárható.

FV deficiencia genetikai diagnózinga

- A beteg 2 lánya eddig tünetmentes
- KCS inguinalis hernia műtét előtt áll

Beteg (anya, RR)

Apa

FV:C: 37%

FV:Ag a plazmában: 38%

FV:Ag a thrombocytaban: 59%

FV:C: 119%

FV:Ag a plazmában ND

FV:Ag a thrombocytaban:
ND

c.327A>G c.1651G>A c.2863A>G c.5380A>G
p.Gln51 p.Gly493Arg p.Lys897Glu p.Met1736Val

c.327A>G c.1651G>A c.2863A>G c.5380A>G
p.Gln51 p.Gly493Arg p.Lys897Glu p.Met1736Val

KK

KCS

FV:C: 86%

FV:Ag a plazmában: 82%

FV:Ag a thrombocytaban: 97%

FV:C: 35%

FV:Ag a plazmában: 33%

FV:Ag a thrombocytaban: 29%

c.327A>G c.1651G>A c.2863A>G c.5380A>G
p.Gln51 p.Gly493Arg p.Lys897Glu p.Met1736Val

c.327A>G c.1651G>A c.2863A>G c.5380A>G
p.Gln51 p.Gly493Arg p.Lys897Glu p.Met1736Val

Esetismertetés No.3.

Szignifikáns laboratóriumi eltérések súlyos klinikai tünetekkel

1 éves fiú intracranialis vérzéssel. Családi anamnesis negatív, rokonházasság valószínű.

Laboratóriumi eredmények	beteg	Referencia tartomány
Protrombin idő (sec)	73.1	8.7-11.3
APTI (sec)	103.1	28.3-41.0
Trombin idő (sec)	18.3	14.4-21.4
APTI keverék (sec)	32.9	APTI kontroll: 31.5
PI keverék (sec)	10.2	PI kontroll: 9.9
FV aktivitás (%)	99	70-130
FII aktivitás (%)	95	70-130
FX aktivitás (%)	<1	70-130
FX aktivitás (%)	1	70-130
Genetikai dg.	c.730G>A p.Gly204Arg	
	HoZ	

Esetimertetés No.4.

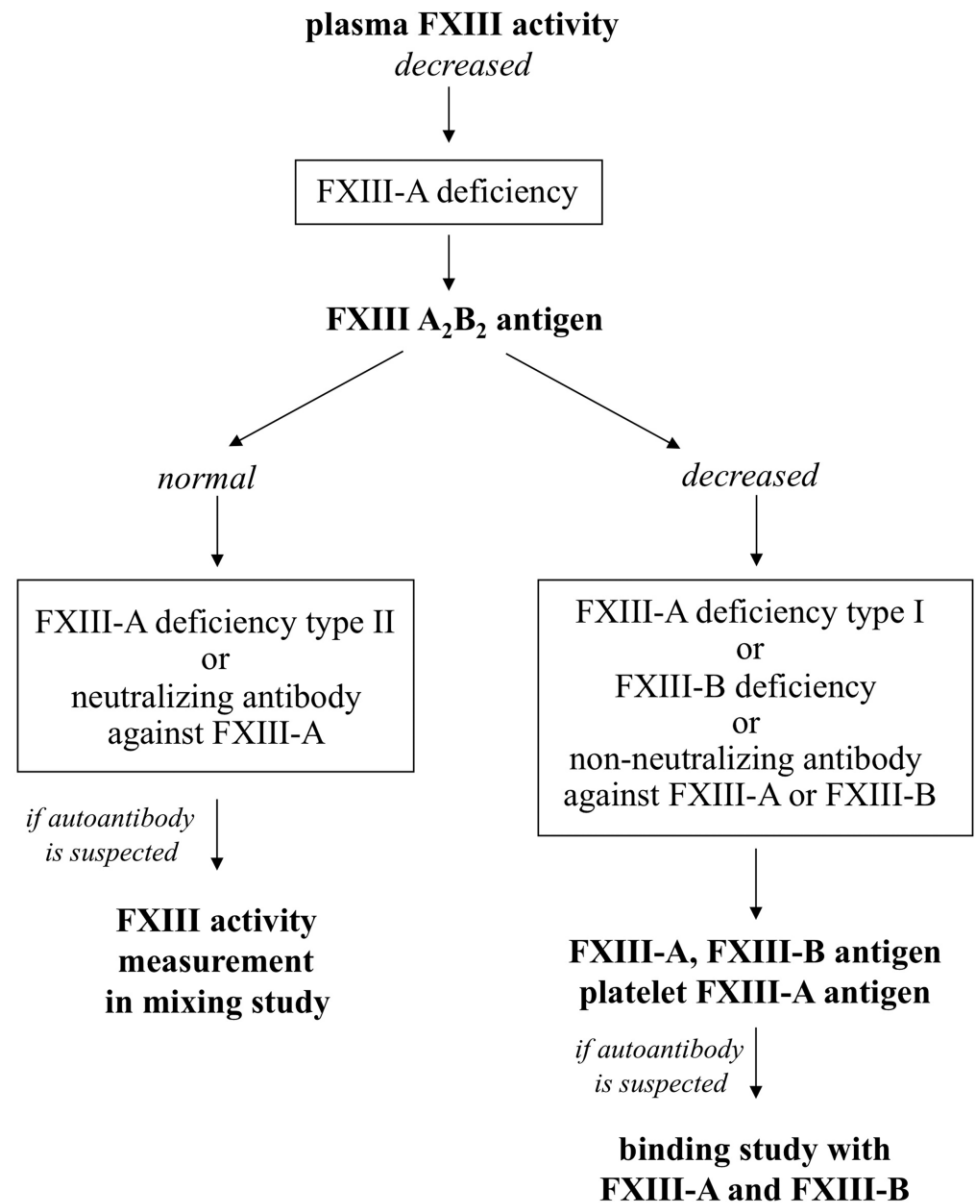
NEGATÍV szűrőtesztek súlyos vérzéssel

16 éves fiú umbilicalis vérzés (3/7napos), subduralis hematoma (5 éves), ízületi vérzések, hematomák, intramuscularis vérzések. Családi anamnesis negatív, nem rokonházasság.

Laboratóriumi eredmények	beteg	Referencia tartomány
Protrombin idő (sec)	9.5	8.7-11.3
APTI (sec)	34.4	28.3-41.0
Trombin idő (sec)	16.8	14.4-21.4
THR (G/L)	241	150-400
Vérzési idő és PFA-100 CT	NORM	
FXIII aktivitás (%)	<1	69-143

Algorithm for the laboratory diagnosis and classification of FXIII deficiency

Muszbek et al. Curr Opin Hematol
2011; 18: 366-72



Additional tests: platelet FXIII-A activity, evaluation of fibrin γ -, and α -chain cross-linking by SDS PAGE analysis of fibrin clot formed from the patient plasma, molecular genetic tests to confirm inherited deficiencies.

Esetimertetés No.4.

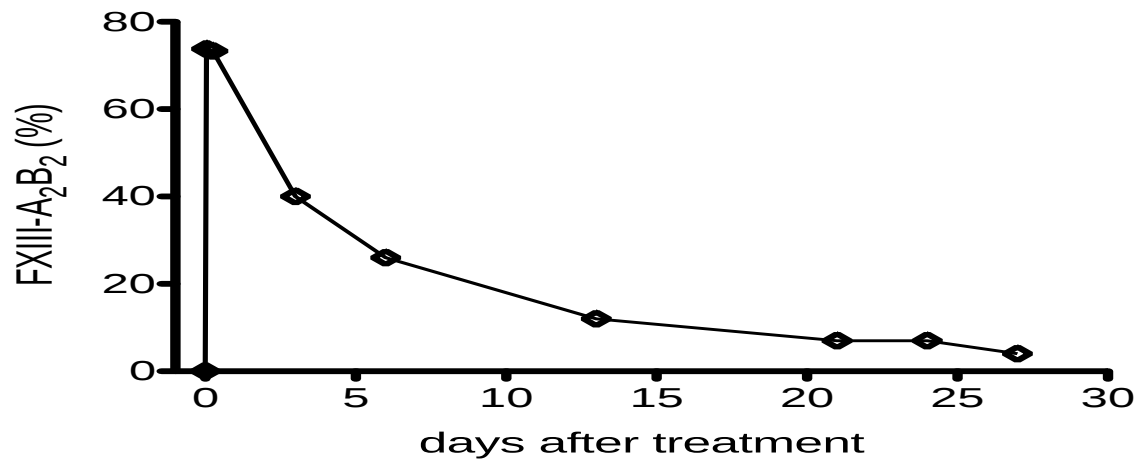
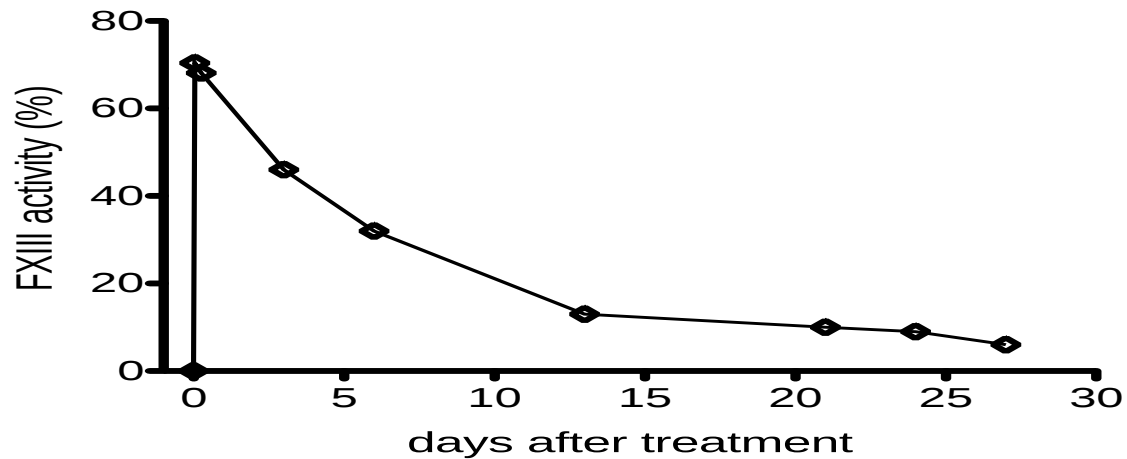
NEGATÍV szűrőtesztek súlyos vérzéssel

16 éves fiú umbilicalis vérzés (3/7napos), subduralis hematoma (5 éves), ízületi vérzések, hematomák, intramuscularis vérzések. Családi anamnesis negatív, nem rokonházasság.

Laboratóriumi eredmények	beteg	Referencia tartomány
Protrombin time (sec)	9.5	8.7-11.3
APTI (sec)	34.4	28.3-41.0
Trombin idő (sec)	16.8	14.4-21.4
THR (G/L)	241	150-400
Vérzési idő és PFA-100 CT	NORM	
FXIII aktivitás (%)	<1	69-143
FXIII A2B2 antigén (%)	<1	67-133
FXIII-A antigén (%)	<0.1	67-133
FXIII-B antigén (%)	33.5	64-136
THR FXIII aktivitás (%)	2	
THR FXIII-A antigén (%)	<0.1	67-133

Genetikai dg. c.1149 G>C, p.Arg382Ser és c.1201C>T, p.Gln400X összetett HeZ

Farmacokinetikai study Novothirteen (rFXIII) adminisztrációt követően



A vérzékenység laboratóriumi kivizsgálásának állomásai

- Szűrőtesztek és keverékes vizsgálat: MINDEN kórházi laboratórium
➔ koaguláció (**PI, APTI, TI**) és trombocita funkció zavar (**PFA-100/vérzési idő**)
- Alvási faktorok aktivitásának meghatározása: MEGYEI kórházak
➔ **FVIII, FIX és neutralizáló inhibitor kimutatás (Bethesda assay)**
- Alvási faktorok aktivitásának meghatározása: EGYETEMI laboratóriumok (országos intézet(ek))
➔ **FVIII, FIX, FXI, FXII, FII, FVII, FV, FX és neutralizáló inhibitor kimutatás (Bethesda assay), vWF:Ag és funkcionális vizsgálat (legalább 1), thrombocyta aggregáció és szekréció vizsgálat**
- ➔ **FXIII, PK, HMWK és komplex inhibitor tesztelés, vWD komplex kivizsgálás, komplex thrombocyta vizsgálatok, molekuláris genetikai vizsgálatok: 1-2 laboratórium/Mo**