

המלצות הפורום הארצי למעבדות קרישה, האיגוד הישראלי להמטולוגיה ולרפואת עירוניים הנחיות לטיפול פרה אנליטי בדגימות תפקודי קרישה - נובמבר 2018

נהלי בטיחות ללקיחת דגימות:

חובה על לוקחי הדם להיות בעלי אישור מתאים ממשרד הבריאות.
חובה ללבוש חלוק, לחבוש כפפות חדשות בנוכחות הלקוח ולהחליפן בין לקוח ללקוח.
חובה להשתמש בכלי מיוחד לאיסוף מחטים ומיכלים לפינוי פסולת ביולוגית.

סוגי המבחנות:

יש להשתמש במבחנות פלסטיק בעלות דופן כפולה או מבחנות זכוכית מצופות בסיליקון¹.
בכל החלפת סוג המבחנות יש לבדוק התאמה למכשיר הקרישה ולקבל את אישור המעבדה לשימוש במבחנות אלה.

תכולת המבחנות:

המבחנות מכילות נוגד קרישה המורכב מבופר סודיום ציטראט די-הידראט.

לפי ה (CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute יש להשתמש בריכוז סופי שבין 3.13% (0.105M) ל-3.20% (0.109M)². יש להקפיד על נפח מילוי המבחנות לפי הוראות היצרן. בתנאים אלה נשמר היחס ההכרחי של מיהול הדם 1:10 בנוגד הקרישה. בכל מקרה יש לבדוק את המבחנות לפקיעת התוקף³.

אופן לקיחת הדם:

מומלץ לקחת דם עם מערכת וקוטיינר ישירה או במערכת וקוטיינר עם פרפרית. כאשר הדם נלקח עם פרפרית יש להשתמש במבחנה שניה בלבד. בכל צורת לקיחה אחרת יש לקבל אישור מהמעבדה שאופן הלקיחה משביע רצון³. יש להכין מראש את כל הציוד הנדרש ללקיחה. יש לשים את החסם סמוך ככל האפשר ללקיחה אם לוקחים מספר סוגי מבחנות, יש להקפיד על סדר הלקיחה לפי הוראות היצרן.
לאחר הלקיחה יש להקפיד על ערבוב המבחנות ע"י היפוך איטי ומבוקר מספר פעמים למניעת קרישת הדם במבחנה, יש להקפיד שלא ייווצר קצף, המוליזה או שפעול טסיות הדם מחד, אך שיבטיח מגע של כל הדם שנלקח עם נוגד הקרישה שבמבחנה מאידך.

תיעוד הלקיחות:

יש לבצע את הפעולות הבאות:
חובה על לוקחי הדם לחתום על טופס ההזמנה או במחשב⁴.
יש לציין את זמן הלקיחה על גבי המבחנה או טופס ההפניה או במחשב.
מספור הטופס והמבחנה: המבחנות חייבות להיות מסומנות כך שניתן יהיה לזהות את המבחנה וההזמנה באופן חד, חד, ערכי⁴.

יש להקפיד על פרטי הדמוגרפיה למניעת טעויות זיהוי⁴.
יש לציין את שם מזמין הבדיקה למקרה של בירור.
יש לציין אם הלקוח בטיפול של נוגדי קרישה.
כאשר ברור כי הדגימה אינה מתאימה לביצוע (דם קרוש, המוליטי וכו') אין לשלוח את הדגימה למעבדה.
יש להוסיף הערה במחשב או על הטופס, לגבי כל לקיחה שהייתה בעייתית.
כל מעבדה יכולה להחליט על הוספת דרישות נוספות או על ביטול חלק מהדרישות למעט הנחיות משרד הבריאות שמחייבות.

שינוע:

1. כל מעבדה צריכה להגדיר את התנאים ויהיו הבדלים בין בתי החולים והמרפאות. במעבדות המרוחקות מתחנות האיסוף יש להקפיד על שינוע במיכלים מתאימים, מוגנים, עם מעמדים למבחנות שהם בטיחותיים ומקובעים. המיכלים צריכים להיות מצוידים בקרחומים לשמירה על טמפרטורה שבין 10 ל-25 מעלות צלזיוס. הקרחומים צריכים לשהות במקפא -20 מעלות לפחות בלילה שלפני הלקיחה ולעבור למיכלים לפני המשלוח. יש להימנע ממגע ישיר בין הדמים והקרחומים.
במעבדות סמוכות לתחנת לקיחת הדמים בהן השינוע נעשה בתוך מבנה נתון, דרישות השינוע פחות מורכבות ויש אפשרות של שינוע פנאומטי (לא כולל בדיקות תפקוד טסיות).
2. השינוע אמור להתבצע במסגרת הזמנים שהוגדרו לבדיקות השונות כולל הזמן שהוגדר לביצוע הבדיקה במעבדה או הזמן הנדרש להפרדת הפלסמות. הנחיות ה CLSI הן לבצע את סרכוז המבחנות תוך שעתים

- מזמן הלקיחה. בכל מקרה יש להפריד את הפלסמה מהדם עד 4 שעות מלקיחת הדם^{5,7}. אם יש הנחות ספציפיות השונות מההנחיה הכללית הן תצוינה בנפרד.
3. ככלל רצוי להעביר את המבחנות לא מסורכזות. במעבדות בהן סרכוז המבחנות מתבצע לפני השינוע חשוב ביותר שכמות הטסיות ותאי דם אחרים בפלסמה המסורכזת תתאים לדרישות המעבדה ומומלץ לבדוק את הנושא תקופתית³.
4. יש להקפיד שלקיחת דגימות הדם, השינוע, והגעת המבחנות למעבדה יתבצעו בטמפרטורה בין 10 ל 25 מעלות צלזיוס. אין לשנע את הדגימות בתנאים שיגרמו להקפאה (<0), שפעול בקור או השקעת הפיברינוגן, ⁴⁻⁷ אקטיביציה ודנטורציה של הדגימות בחום (>30)^{5,6}.

בדיקת כשירות הדגימות עם הגעתן למעבדה:

- יש לוודא את הדברים הבאים:
שלמות המבחנות
המבחנות מתאימות לבדיקה
זמן התפוגה של המבחנות בתוקף
הדגימות אינן קרושות
נפח הדם במבחנות מתאים לנהלים בהתאם להוראות היצרן.
הרישום על המבחנות תואם את הנהלים.
תאריך הקבלה תואם את תאריך הלקיחה.
לאחר הסרכוז יש לבדוק האם הדם המוליטי או ליפמי במידה שמכשיר הקרישה אינו מסוגל לבצע את הבדיקה ולפסול את הדגימה במידת הצורך.
פרק הזמן עד לבדיקה:
הדגימות אמורות להיבדק תוך פרק הזמן המומלץ על ידי יצרן הריאגנטים או לעבור ולידציה אם משנים המלצות יצרן.
כל הדגימות למעט PT חייבות להיבדק תוך ארבע שעות מזמן הלקיחה^{5,7} או לעבור הקפאה לפי התנאים דלהלן.

תנאי הסרכוז:

1. טמפרטורת הסרכוז
ההמלצות הן שהטמפרטורה בעת הסרכוז תהיה בין 15 ל 25 מעלות צלזיוס ועדיף להשתמש בצנטריפוגות שמאפשרות קירור לפי התנאים המומלצים⁷.
2. מהירות וזמן הסרכוז
תנאי הסרכוז מוכתבים בשילוב של עצמה וזמן לפי המלצת ה CLSI יש לסרכוז את הדגימות בעצמה של x g1500 למשך לא פחות מ 15 דקות⁵. מומלץ להיעזר בנוסחת המעבר בין g לסל"ד $RCF (g) = 1.118 \times 10^{-5} \times r \times n^2$
מספר הסרכוזים
3. מבדיקות המבוצעות על פלסמה טריה מספיק סרכוז אחד למעט LAC (Lupus Anti Coagulant).
לבדיקות שמבוצעות על פלסמות שהוקפאו והופשרו יש לבצע סרכוז נוסף לאחר הפרדת הפלסמה ולפני ההקפאה. בבדיקות LAC מומלץ תמיד לבצע סרכוז שני. את הסרכוז הראשון יש לבצע כך שמספר הטסיות לא יעלה על 20,000 למיקרוליטר ואת הסרכוז השני יש לבצע כך שמספר הטסיות לא יעלה על 10,000 למיקרוליטר. בכל מקרה בדגימות המיועדות להקפאה והפשרה אסור שמספר הטסיות יעלה על 10,000 למיקרוליטר⁵.

הכנסת הדגימות למכשירים

מעבדות בהן אין במכשירים מחט חודרת פקקים חובה להקפיד על הסרת הפקק באמצעות מכשיר להסרת פקקים או לוודא שהסרת הפקקים נעשית בזהירות יתרה אחרי הסרכוז. הסרת הפקקים תבוצע סמוך ככל האפשר להכנסת למכשירים.

חלוקה לדגימות שניוניות :

אם הדגימה הגיעה במספר מבחנות ראשוניות, ניתן לאחד את הפלסמה מהמבחנות השונות לפני החלוקה. אין אחדות דעות לגבי היתרונות לצד החסרונות שבפעולה זו ולכן הוועדה לא ממליצה על נוהל אחיד.

הקפאת הדגימות לפני הבדיקה:

בבדיקות שאינן מבוצעות מפלסמה טריה יש להקפיא את הפלסמה עד למועד ביצוע הבדיקה.

תנאי ההקפאה:

1. מבחנות מומלצות להקפאה:
 - 1.1. מבחנות פוליפרופילן ולא פוליסטירן. האחרונות עלולות להיסדק בזמן ההקפאה.
 - 1.2. מבחנות בעלות פקק מתברג המונע נידוף.
 - 1.3. מבחנות בעלות אישור להקפאה מהיצרן.
 - 1.4. מבחנות מסומנות בסימון עמיד לתנאי ההקפאה.

 2. טמפרטורת ההקפאה:

לתקופה שאינה עולה על שבועיים ניתן להקפיא בטמפרטורה נמוכה מ-20°C.

לתקופה של עד ששה חודשים מומלץ להקפיא בטמפרטורה של -70°C⁷.

בכל מקרה ההקפאה חייבת להיעשות במקפיא ולא בתא ההקפאה של מקרר עם תא הקפאה ובשום מקרה לא במקרר No frost.

 3. תנאי הפשרה לפני בדיקה:

יש להפשיר את הדגימות באמבט מים בטמפרטורה של 37°C (± 1.0°C) במשך כ-5 דקות⁵. לאחר ההפשרה יש להפוך את המבחנה מספר פעמים בעדינות ולחפש שאריות פיברין. במקרה שמוצאים שאריות אלה יש לפסול את הדגימה⁴. יש לבצע את הבדיקה מיד לאחר ההפשרה⁵. אין לחזור ולהקפיא דגימות שהוקפאו והופשרו.
-
- א. בכל החלפת סוג המבחנות יש לבדוק התאמה למכשיר ולקבל את אישור המעבדה לשימוש במבחנות אלה. בנוסף, צריך להיות ערים לכך שבמבחנות פלסטיק כושר היניקה עלול לפוג עוד טרם פקיעת התוקף הרשום. הואיל והמידע על הטיפול בנבדקים בנוגדי קרישה לטיב התוצאה, רצוי להשתמש במבחנות בעלות סימון מיוחד למטופלים בנוגדי קרישה.
- ב. עפ"י המלצות ה-CLSI³ כאשר הדם נלקח עם פרפרית יש להשתמש במבחנה שניה וזאת רק בגלל נפח הדם שנדרש ע"מ למלא את הצינורית העלול לגרוע מנפח הדם במבחנה. במערכת וקוטיינר ישירה ניתן להשתמש במבחנה הראשונה.
- ג. יש יתרון בכך שהסרכוז נעשה תוך שעה מלקיחת הדם, אך יש אפשרות שטלטול המבחנות בדרכים עד להגעת המבחנות למעבדה עלול לגרום לערבול שיעלה את כמות הטסיות בפלסמה למעל ל-20,000 למיקרוליטר דבר העלול להשפיע על תוצאות הבדיקה⁵. לכן במקרים שהסרכוז מבוצע לפני השינוע מומלץ לבצע באופן מדגמי ספירת טסיות.
- ד. במעבדות בהן הצנטריפוגות פועלות ברצף למשך מספר שעות, מומלץ להשתמש בצנטריפוגה מקוררת ובכך למנוע עליית טמפרטורה אל מעבר למותר.

References:

1. Alexander Kratz et al. A comparison of glass and plastic blood collection tubes for routine and specialized coagulation assays: a comprehensive study. Archives of Pathology and Laboratory Medicine: Vol. 130, No. 1, pp. 39-44 2005.
2. Charles F. Arkin et al.: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays; Approved Guideline—Fourth Edition global consensus guideline NCCLS: Vol. 23, No. 35, H21-A4, p. 4, sec. 4.2.1, 2003.
3. Galit Sarig et al. Quality management in hematology laboratory improved preanalytical variables. Accred Qual Assur Vol. 8 267 – 271, 2003.
4. גזית ע. רישום בדיקות וסימון. נוהל מספר, 11004/2CL, משרד הבריאות, המחלקה למעבדות. יוני 2007.
5. Adcock D.M. , Warunek D.J. et al. : Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular

Hemostasis Assays; Approved Guideline—Fifth Edition CLSI: Vol. 28, No. 5,
H21-A5, 2008.

Frank Axelsson and Steffen Rosen. APC Resistance, Product Monograph 1997. .6
Chromogenix APC Resistance ver. 2.1, p. 27, 1997.

Joyce Curvers et al. Effects of (Pre)analytical Variables on Activated Protein C .7
Resistance Via a Thrombin Generation-based Assay. Thromb Haemost, Vol. 87 p.
483-492, 2002.