



Koagülasyon Testlerinde Preanalitik Evre Kılavuzu



Türk Biyokimya Derneği Preanalitik Evre Çalışma Grubu Tarafından Hazırlanmıştır.
2020-ANKARA
ISBN: 978-605-87229-8-9



**Türk Biyokimya
Derneği**



**Türk Biyokimya
Derneği**

Koagülasyon Testlerinde Preanalitik Evre Kılavuzu

Türk Biyokimya Derneği Preanalitik Evre Çalışma Grubu tarafından hazırlanmıştır.

2020-Ankara

ISBN: 978-605-87229-8-9

Yayımlayan
Türk Biyokimya Derneği
Hirfanlı Sokak 9/3 G.O.P. Çankaya/Ankara

Tel: 0 312 447 09 97
Fax:0 312 447 09 63
Basım yılı 2020

HAZIRLAYANLAR

Fehime Benli Aksungar

Fatma Demet Arslan

Esin Avcı

Güzin Aykal

Cihan Coşkun

İpek Çınaroğlu

Ayfer Çolak

Pınar Eker

Funda Güçel

Alper Gümüş

Aylin Haklıgör

Berrin Berçik İnal

Bağnu Orhan

Çiğdem Sönmez

Mehmet Şeneş

Fatma Taneli

Canan Yılmaz

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-----------|
| 1. GİRİŞ | 8 |
| 1.1. Koagülasyon Testleri İçin Preanalitik Evre Neden Önemlidir? | 9 |
| 2. TANIMLAMALAR VE KISALTMALAR | 9 |
| 3. AKILCI KOAGÜLASYON TEST İSTEMİ | 12 |
| 4. KOAGÜLASYON TESTLERİ İÇİN VENÖZ KAN ALMA | 13 |
| 4.1. Numune Alma Zamanı | 13 |
| 4.2. Kan Alma Tüpleri | 13 |
| 4.2.1 Cam Tüpler | 13 |
| 4.2.2. Plastik Tüpler..... | 14 |
| 4.2.3 Kullanılacak Tüp Hacmi Ve Sayısı | 14 |
| 4.3. Tüp Katkı Maddeleri: Antikoagülanlar | 15 |
| 4.3.1 Kan /Antikoagülan Oranı..... | 16 |
| 4.4. Kan Alma İğnesi | 18 |
| 4.5. Koagülasyon Testleri İçin Venöz Kan Alma | 18 |
| 4.5.1. Venöz Kan Almada Özel Durumlar | 18 |
| 4.5.2. Kan Alma Personeli | 19 |
| 4.5.3. Sitratlı Tüpe Kan Alma Sırası | 19 |
| 4.5.4. Sitratlı Tüpün Alt Üst Edilmesi | 20 |
| 4.5.5. Hematokrit Değerine Göre Sitrat Konsantrasyonunun Düzeltilmesi | 20 |
| 5. NUMUNELERİN TAŞINMASI | 22 |
| 5.1. Koagülasyon Testleri İçin Numunelerin Taşınması | 22 |
| 5.2. Taşıma Sırasında Sıcaklık | 23 |
| 5.3. Taşıma Süresi | 23 |

| | |
|---|-----------|
| 6. NUMUNE RET KRİTERLERİ | 23 |
| 7. NUMUNENİN İŞLENMESİ | 24 |
| 7.1. Koagülasyon Numunelerinin Santrifüj Edilmesi | 24 |
| 7.2. Numune Saklama | 25 |
| 8. NUMUNENİN DEPOLANMASI..... | 26 |
| 8.1. Analize Kadar Kısa Süreli Depolama | 26 |
| 8.2. Analize Kadar Uzun Süreli Depolama | 28 |
| 8.3. Dondurma - Çözme İşlemleri | 28 |
| 8.4. Dondurulan Numunenin Çözülmesi | 28 |
| 9. KOAGÜLASYON TESTLERİNDE HEMOLİZ, İKTER, LİPEMİ İNTERFERANSI | 29 |
| 9.1. Hemoliz..... | 29 |
| 9.2. İkter | 31 |
| 9.3. Lipemi | 31 |
| 10. KOAGÜLASYON TEST SONUCUNU ETKİLEYEN FAKTÖRLER | 32 |
| 10.1. Sirkadiyen Ritm..... | 32 |
| 10.2. Postür | 33 |
| 10.3. Günlük Diyet ve Sigara İçme | 33 |
| 10.4. Fiziksel Aktivite | 33 |
| 10.5. Menstrüel Siklus ve Hormon Replasman Tedavisi (HRT)..... | 34 |
| 10.6. Gebelik ve Koagülasyon..... | 34 |
| 10.7. İlaç, Gıda Takviyesi, Bitkisel İlaç Etkileşimleri..... | 35 |
| KAYNAKLAR | 40 |

1. GİRİŞ

Kanın, damar sistemi içerisinde sağlıklı bir şekilde akması hemostatik sistem tarafından sağlanır. Normal hemostaz, damar duvarındaki hasarı takiben pıhtı oluşumu ve doku tamiri ile devam eden süreçleri içerir. Hemostaz sisteminin ana elemanları; damar endotel hücreleri, trombositler, Von Willebrand Faktör (VWF), doku faktörü, pıhtılaşma proteinleri, fibrinolitik sistem ve antikoagülan proteinlerdir. Damar hasarı meydana geldiğinde trombositler hızlı bir şekilde fibrin tikacı oluşturarak kan kaybını önler ve damar bütünlüğünü sağlayacak mekanizmalar sırası ile devreye girer. Pıhtılaşma sistemi, doğal antikoagülanlar ve fibrinolitik sistemin dengede ilerlemesi, hemostazın esasıdır. Bu dengenin bozulması durumunda tromboz ya da kanama ortaya çıkabilir (1-3).

Hemostaz, birincil (primer) ikincil (sekonder) ve üçüncül (tersiyer) olmak üzere üç evrede gerçekleşir. Primer hemostaz, damar endoteli trombositler ve vWF aracılığı ile gerçekleşen adezyon ve agregasyonu, sekonder hemostaz ise plazma pıhtılaşma faktörleri ile gerçekleşen fibrin oluşumunu içerir. Tersiyer hemostaz ise fibrinin polimer oluşumu ile sağlamlaşması ve fibrinoliz sürecidir (1, 2).

Tıbbi laboratuvarlarda hemostaz bozuklukları bir dizi tarama testi ile değerlendirilmektedir. Modern hemostaz laboratuvarları bu testleri birçok farklı teknik ve yöntem ile çalışmaktadır.

Primer hemostazın temel testi trombosit sayımıdır. Sekonder hemostaz testleri olarak da bilinen protrombin zamanı (PZ), uluslararası normalleştirilmiş oran (INR), ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTZ) klinik laboratuvarlarda sıklıkla çalışılan koagülasyon testlerindedir. Trombin zamanı (TZ) diğerleri kadar sık olmasa da çalışılan testler arasındadır (2, 3). PZ/INR, aPTZ ve TZ bir veya daha çok prokoagülan faktörün eksikliği ve yokluğuna duyarlı testlerdir. PZ/INR testi Faktör(F) I, FII, FV, FVII ve FX'a duyarlı iken, aPTZ testi ise FI, FII, FV, FVIII, FIX, FX, FXI ve FXII'ye duyarlıdır. Tek ya da birden fazla faktör eksikliği veya yokluğu, kanamaya eğilim, hemofili A ya da B'ye neden olabilir. Bunun yanında PZ/INR testi, varfarin gibi vitamin K antagonisti olan oral antikoagülan izleminde önemlidir. aPTZ ile intrinsik ve ortak yol fonksiyonları değerlendirilebilir; bu test yüksek molekül ağırlıklı kininojen, prekallikrein, FVIII, FIX, FXI ve FXII düzeylerinden etkilenir. Bununla birlikte bazı prokoagülanların (FVIII, FIX ve FXI) fazlalığı trombofiliye yol açabilir. Bu testlerin yanında koagülasyon laboratuvarında faktör düzeyleri, fibrinojen, D-dimer, FII, FV, FVII, FVIII, FIX, FX, FXI ve FXII, faktör inhibitörleri, protein S ve protein C, anti-FXa, aktive protein C rezistansı (APCR), lupus antioagülanı (LA) tarama ve doğrulama, trombosit fonksiyon testleri ve genetik testler ile bireylerin hemostaz sistemleri değerlendirilmektedir (2, 3).

1.1. Koagülasyon Testleri İçin Preanalitik Evre Neden Önemlidir?

Modern koagülasyon cihazlarının kullanımı ve koagülasyon testlerinde gerekli kalite güvence önlemlerinin alınması, test güvenilirliğini artırmakta ve analitik hataların azaltılmasını sağlamaktadır. İç kalite kontrol materyalleri ve dış kalite değerlendirme protokolleri ile analiz süreci kaliteli bir şekilde yürütülmektedir. Ancak yine de uygun olmayan test sonuçları hala raporlanabilmektedir ve bu genellikle analiz evresi dışındaki süreçlerden kaynaklanmaktadır. Tüm diğer laboratuvar testlerinde olduğu gibi koagülasyon testlerinde de preanalitik süreç laboratuvar hatalarının en sık gerçekleştiği evredir. Bunların çoğu kontrol edilebilir ve düzeltilebilir hatalardır. Doğru hastadan, doğru zamanda, doğru numune alınmaması preanalitik hata kaynaklarının başında gelir. Meydana gelebilecek preanalitik hatalar analiz aşamasını etkileyecek ve hastaya ait sonucun hatalı raporlanmasına neden olacaktır. Özellikle oral antikoagülan kullanan hastalarda antikoagülan ilaç dozu bu sonuçlara göre ayarlandığı için koagülasyon testlerindeki hatalar hayati önem taşımaktadır (3).

Bu ulusal kılavuz, plazma kullanılarak çalışılan tarama amaçlı ve özellikli koagülasyon testleri için, test istemi, numune alınması, taşınması, işlenmesi ve depolanması ile ilgili preanalitik süreçleri kapsamaktadır. Bu kılavuz koagülasyon testlerindeki her işlem basamağını ayrıntılı olarak tanımlanmakta ve öneriler içermektedir. Ayrıca bu kılavuz koagülasyon testleri üzerinde etkili olabilecek fizyolojik durumları ve ilaç etkileşimlerini de değerlendirmektedir. Hemostaz sisteminin değerlendirilmesinde kullanılan moleküler tanı testleri ve trombosit fonksiyon testleri bu kılavuzun kapsamı dışındadır.

2. TANIMLAMALAR VE KISALTMALAR

Antitrombin III (AT-III): Trombini aktive ederek koagülasyonu inhibe eden bir proteindir. Karaciğerde sentezlenen AT-III, trombinin ve FIX, FX, FXI, FXII numaralı koagülasyon faktörlerinin ve aktif formlarının ve prekallikrein gibi serin proteazların inhibe edilmesini sağlayan plazma inaktivarördür.

Anti-faktör X(Heparin): Heparin çeşitli konumlarında sülfat kökleri içeren idorinük asit ve D-glukozaminden oluşmuş bir polisakkarittir. Hem standart hem de düşük molekül ağırlıklı heparin antitrombin'e bağlanarak FXa'yı inaktive eder.

Aktive protein C rezistansı (APCR): Başlıca Faktör V Leiden mutasyonunun, seyrek olarak da Faktör V yapısında ortaya çıkan bazı nadir mutasyonlar sonucu gelişen APCR'nin araştırılmasında tarama testi olarak kullanılır. APC ilavesini takiben hasta plazmasının düşük antikoagülan cevabı ile karakterizedir.

Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı (aPTZ, aPTT): İntrensek yolak ve ortak yolaktaki faktörlerin fonksiyonunu belirlemede kullanılır. Bu yolaklardaki faktörlerin eksiklikleri veya onlara karşı gelişmiş antikor varlığında uzamış bulunur. Bu testte plazmaya kalsiyum ve parsiyel tromboplastin (doku faktörü) eklenerek, intrinsek yoldan fibrin pıhtısı oluşana dek geçen süre ölçülür.

D-dimer: Plazma d-dimerleri, plazminin çapraz bağlı fibrin D fragmanları üzerine etkisi ile oluşan fibrin ürünleridir. D-dimer (DD), koagülasyon sisteminin herhangi bir nedenle aktivasyonu sonrasında çapraz bağlarla oluşan fibrin pıhtısının plazmin tarafından yıkılması sonucu oluşur.

Faktör I (fibrinojen): Fibrinin çözünebilir öncülü olan fibrinojen, karaciğerde sentezlenen, 340 kDa ağırlığında bir proteindir. Fibrinojen, fibrin pıhtısı oluşumunda primer substrattır. Karaciğerde sentezlenen bir glikoproteindir. Trombin etkisiyle görünür pıhtı olan fibrin haline gelir.

Faktör II (protrombin): Karaciğerde sentezlenir. Sadece K vitamini ile karboksilasyonundan sonra aktif hale gelir, trombine dönüştürülür. Koagülasyon-kaskadının son aşamasında fibrinojeni fibrine dönüştüren reaksiyonda rol alır.

Faktör III (doku faktörü, tromboplastin): FVIIa'nın kofaktörüdür. Ayrıca trombosit doku faktörü, FIII veya CD142 olarak da adlandırılan doku ve lökositlerde bulunan FIII geni tarafından kodlanan bir proteindir. Pıhtılaşma sürecindeki rolü, zimojen protrombinden trombin oluşumunun başlatılmasıdır.

Faktör IV (kalsiyum): Koagülasyon faktörlerinin fosfolipitlere bağlanmasını sağlar

Faktör V (labil Faktör): Karaciğerde sentezlenir, %20 oranında trombositlerden salınır. FII'nin FIIa'ya dönüşümünde kofaktör görevi yapar. K vitamininin aktivitesi üzerine etkisi yoktur. Protein C/S kompleksi ile proteolize uğrar.

Faktör VII (stabil faktör): Karaciğerde sentezlenir. Doku faktörü ile kompleks oluşturarak aktif hale gelir. Aktif olabilmesi için K vitamini ile karboksilasyonu gerekir.

Faktör VIII (antihemofilik Faktör [AHF], antihemofilikglobulin, antihemofilik Faktör A): Karaciğerde ve diğer organların endotel hücrelerinde sentezlenir. Karaciğer yetmezliği ve K vitamini eksikliğinden etkilenmez. İntrensek koagülasyon yolunda esas faktördür.

Faktör IX (plazma tromboplastin komponenti [PTC], Christmas Faktör, antihemofilik Faktör B): Karaciğerde sentezlenir. Aktif şekle dönüşebilmek için K vitaminine ihtiyaç duyar. İntrensek koagülasyon yolunda esas faktördür.

Faktör X (Stuart Faktör, Prower Faktör, Stuart-Prower Faktör): Karaciğerde sentezlenir. Aktif şekilde dönüşebilmek için K vitaminine ihtiyaç duyar. Ortak koagülasyon yolunda esas faktördür. FII'yi aktive eder ve Faktör V ile protrombinaz kompleksini oluşturur.

Faktör XI (plazma tromboplastin antecedent [PTA], antihemophilik Faktör C): Karaciğerde sentezlenir. İntrinsek koagülasyon yolunda FXII ve FIX'u aktif hale getirir.

Faktör XII (Hageman Faktör, yüzey Faktörü, temas/kontakt Faktörü): Karaciğerde sentezlenir. FXI, FVII ve prekalikrein'i aktive eder.

Faktör XIII (Fibrin stabilize edici faktör): Fibrin monomerlerini fibrin polimerlerine dönüştürür.

Uluslararası Normalleştirilmiş Oran (INR): Uzun süreli oral antikoagülan tedavi alan hastadan alınan bir plazma veya tam kan örneği için, bilinen bir Uluslararası Duyarlılık İndeksi (International Sensitivity Index, ISI) değerine sahip protrombin zamanı reaktif olarak kullanılarak, protrombin zamanının standardize edilmesini sağlayan orandır.

ISI: ISI değeri, protrombin zamanı testinde reaktif olarak kullanılan tromboplastinin birincil uluslararası referans materyaline (67/70 kodlu kombine insan tromboplastini) göre kalibrasyonundan elde edilen değerdir.

Lupus antikoagülan (LA) tarama: Fosfolipit-bağımlı koagülasyon testlerini uzatan otoantikörlerin (LA) varlığını taramada kullanılan testtir.

LA doğrulama: Lupus tarama testinin uzaması durumunda lupus antikoagülan varlığını doğrulamak için yapılan testlerdir.

von Willebrand faktör (VWF): vWF düz bir polipeptit olarak endotel hücresi ve megakaryositte sentezlenir. vWF hasar gören damarın endotel altı dokusundaki kollajene ve GPIb reseptörüne bağlanarak trombositlerin damar duvarına yapışmasını (adezyon) sağlar.

Protrombin Zamanı (PT): Pıhtılaşmanın ortak ve ekstrinsik yolunu değerlendirmede kullanılan bir testtir. Bu testte plazmaya kalsiyum ve tromboplastin (doku faktörü) eklenerek, ekstrinsik yoldan fibrin pıhtısı oluşana dek geçen süre ölçülür.

Protein C (Otoprotrombin IIA ve koagülasyon faktörü XIX): K vitaminine bağımlı olarak karaciğerde üretilen, plazmada bulunan, antikoagülan etkiye sahip bir proenzimdir.

Protein S: Temel olarak karaciğerde sentezlenen, K vitamini ile ilişkili bir plazma proteindir. Koagülasyon sürecinde, APC için kofaktör rolü oynayarak temel bir antikoagülan fonksiyonu gösterir.

Trombin Zamanı (TZ): Koagülasyon sisteminin son basamağında fibrinogenin, fibrine dönüşüm süresini gösterir.

3. AKILCI KOAGÜLASYON TEST İSTEMİ

Uygunsuz test istemi bir preanalitik hata kaynağıdır. Son zamanlarda koagülasyon laboratuvarları hızla büyüyen ve belki de “aşırı” veya “uygunsuz” test istemine neden olan bir araştırma alanı olarak karşımıza çıkmaktadır (5). Testin uygun zamanda istenmesi önemlidir, ancak zamanlama, çoğunlukla yeterince önemsenmeyen bir konudur (6, 7). Örneğin bir trombotik olayın ardından doğal antikoagülanların kaybı (tükenmesi) ortaya çıkabilir; bu nedenle trombozdan kısa süre sonra yapılacak olan testler, hatalı değerlendirmeye neden olabilir. Tromboz sonrasında FVIII artabilir ve sadece aPTZ temelli bir lupus antikoagülan tarama testi kullanılıyorsa LA tanısının atlanmasına neden olabilir. Bunun aksine, heparin tedavisi ATIII ölçümünü, varfarin ise protein C, protein S düzeylerini, heparin ve varfarin birlikte kullanımı ise APCR testinde olduğu gibi, doğal antikoagülan ölçümlerinin düzeylerini etkileyebilecektir. Heparin ve varfarin tedavisi uygun LA saptanmasını da etkileyebilir. Yapılan çalışmalarda trombofilinin değerlendirilmesi için istenen testlerin 1/3’ünün varfarin ve/veya heparin tedavisi alan hastalardan istendiğini veya numuneye heparin bulaştığını ve bu nedenle bu numunelerin yüksek hatalı tanı potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Başka bir açıdan bakıldığında, anormal trombofili test sonuçlarının, %80’inden fazlası, antikoagülan tedavi sırasında istenen uygunsuz testin bir yansıması olabilir (7). Dolayısıyla test istemi ile birlikte hastanın tanısı ve kullandığı antikoagülanlar konusunda laboratuvarın bilgilendirilmemesi, hatalı tanıya ve gereksiz test tekrarlarına neden olabilir (8).

Öneri:

- Her laboratuvar özellikli koagülasyon testleri için, bir bilgi formu oluşturmalıdır.
- Bu form, test istemiyle birlikte basılı ya da elektronik ortamda laboratuvara ulaştırılmalıdır.
- Formda hastanın kimlik ve demografik bilgileri yanında ilgili klinik ve laboratuvar bilgileri, ön tanı, tanı, kullandığı ilaçlar belirtilebilir olmalıdır (4, 8).

4. KOAGÜLASYON TESTLERİ İÇİN VENÖZ KAN ALMA

4.1. Numune Alma Zamanı

Koagülasyon testlerinde numune alma zamanı önemlidir. Tercih edilen ve önerilen sabah erken saatte en az 8-12 saatlik açlık sonrasında numunenin alınmasıdır. Venöz kan alımı öncesi hastanın en az 10-15 dk. oturur pozisyonda dinlenmesi önerilir. Sabah 07:00 ile 09:00 saatleri arasında ve eğer hasta sigara içiyorsa, sigara içiminden en az 30 dk. sonra numune alınmalıdır (9-12). Hastada testler koagülasyon ve fibrinoliz takibi için isteniyorsa, mümkünse, günün hep aynı zaman diliminde numune alınması önemlidir (13).

Öneri:

Koagülasyon testleri için venöz kan alma işleminin;

- 8-12 saatlik açlığı takiben sabah 07:00-09:00 saatleri arasında,
- Birey eğer sigara kullanıyorsa sigara içiminden 30dk. sonra,
- Tedavi takibi için günün hep aynı saat dilimi içerisinde yapılması önerilir.

4.2. Kan Alma Tüpleri

Koagülasyon testleri için kullanılan tüpler açık mavi renkli kapak ile tanımlanmış olup antikoagülan olarak sitrat içermektedir (13). Pıhtılaşma temelli testler için tüm numuneler, aktivatör içermeyen yüzeye sahip tüplere alınmalıdır (4). Plazmada analiz edilen pıhtılaşma testi için venöz numunenin doğrudan uygun antikoagülan içeren cam veya plastik tüpe bir kan alma sistemi kullanılarak alınması önerilir (4). Ticari olarak pazarda birçok tüp üreticisi vardır. Tüplerin içerdiği sitrat konsantrasyonu ile ilgili üreticiler arasındaki benzerliklere rağmen, tüpler arasında yapısal olarak önemli farklılıklar (cam, plastik, çift katmanlı, tek katmanlı vb.) olduğu ve potansiyel olarak farklı tüplere alınan kandan elde edilen plazmalardan yapılan koagülasyon analiz sonuçlarında farklılıklar olabileceği akılda tutulmalıdır (14).

4.2.1 Cam Tüpler

Yüksek kaliteli camdan üretilmiş tüplerin yüzeyi koagülasyon kaskatını aktive etme özelliğine sahiptir. Bunu önlemek için cam tüpler silikonize edilirler (4,15). Koagülasyon testleri için cam tüpler geçmişte daha sıklıkla kullanılırken, cam tüplerin kırılabilirlik özelliği, basınca dayanıklılığının az olması nedeniyle yüksek santrifüj hızlarına dayanmaması, laboratuvar çalışanlarının güvenliğini riske atması gibi nedenlerden dolayı, günümüzde bunların yerini plastik tüpler almıştır (16).

4.2.2. Plastik Tüpler

Plastik tüplerin esnekliği, yüksek santrifüj hızına dayanabilmesi, çalışanlar için daha güvenli olmalarının yanında, yakılabilme özellikleri nedeniyle tıbbi atık miktarında azalma sağlayarak çevreye de daha az zarar vermektedirler (17, 18). Bu nedenlere bağlı olarak plastik tüpler günümüzde daha fazla tercih edilmekte ve yaygın olarak kullanılmaktadırlar.

Plastik tüpler, polietilen tetrafitalat (PET) gibi poliesterler, polietilen ve polipropilen (PP) gibi poliolefinler, poliakrilik, politetrafloroetan, polisiloksan, polivinil klorid, poliakrilonitril ve polistrenden üretilirler (19). Bununla birlikte plastik tüplerin cam tüplere göre gaz geçirgenliği daha fazladır. Kırılmaz ve daha uzun süre vakum sağlama özelliği olan PET, kan alma tüplerinin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. PP ise, daha az su geçirgenliğine sahip olması nedeniyle, sıvı antikoagülan hacminin ve konsantrasyonunun korunmasını sağladığı için tercih edilen diğer bir plastik materyaldir. Bu nedenle bazı plastik tüpler koagülasyon testleri için, buharlaşmayı engelleyici çift katmanlı yapıya sahiptir; iç PP katman sitrat çözeltilisinin buharlaşmasını en aza indirgerken, dıştaki PET, tüp dolumunun daha kolay gözlenmesini sağlar. PP ve PET bileşimli çift katman tüplerin raf ömrünü uzatırken aynı zamanda antikoagülan hacminin korunmasını da sağlar (20).

Öneri:

- Koagülasyon testleri için plastik kan alma tüpleri kullanılabilir.
- Plastik kan alma tüplerinin çift katmanlı olması önerilir.

4.2.3 Kullanılacak Tüp Hacmi Ve Sayısı

Koagülasyon testlerinde kullanılmak üzere ulusal ve uluslararası birçok tüp üreticisi, gerek cam gerekse plastik (tek veya çift cidarlı), farklı hacimlerde ürünler sunmaktadır. (örneğin 2.7mL, 2.8 mL, 1.8 mL, 4.5mL cam v.b.). Her laboratuvar çalıştığı pıhtılaşma temelli test paneline göre kişiden alınacak tüp sayısını ve kullanılacak tüpün hacmini belirlemelidir. Bu konu özellikle yatan ve yenidoğan hastalarında oluşabilecek iyatrojenik anemi için son derece önemlidir. Tüp boyutu için en iyi uygulama en küçük tüpü kullanmaktır. Ancak bu, istemi yapılan tüm testler için yeterli plazma sağlamalı ve elde edilen plazmanın yaklaşık %50'sinin gerektiğinde ek testler için depolanmasına olanak sağlamalıdır (14).

Öneri:

Her laboratuvar çalıştığı koagülasyon test paneline göre kişiden alınacak tüp sayısını ve kullanılacak tüpün çeşidi ve hacmini kendi koşullarına göre belirlemelidir.

4.3. Tüp Katkı Maddeleri: Antikoagülanlar

Koagülasyon testlerinin çalışılmasında en sık kullanılan antikoagülan sitrattır. Tüp içindeki sitrat, çözünür bir kompleks oluşturmak için plazmada var olan kalsiyumu hızla bağlayarak pıhtı oluşumunu engeller. Pıhtılaşma temelli testlerde, reaksiyon ortamına kalsiyum eklenmesinin ardından, pıhtı oluşumu için geçen süre takip edilerek raporlanır. Bu nedenle koagülasyon testleri için kullanılan tüplerdeki sitrat konsantrasyonu, pıhtılaşma temelli testlerin sonucunu etkileyebilecek ana değişkenlerden birisini oluşturur (21, 22).

Koagülasyon testleri için önerilen antikoagülan 105-109 mmol/L'lik (%3.1-%3.2, genellikle %3.2 olarak ifade edilen), tamponlu veya tamponsuz trisodyum sitratın dihidrate formudur ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Bunun yanında, 129 mmol/L'lik (%3.8'lik) trisodyum sitratın trihidrate formu da kullanılabilir (4). Laboratuvarlar, bu farklı sitrat konsantrasyonları arasında normal değerler açısından değişkenlikler gösterebileceği için sodyum sitrat konsantrasyonlarını (%3.2 ya da %3.8) standardize etmelidirler. Özellikle referans aralık dışındaki aPTZ ve PZ sonuçları farklı sitrat konsantrasyonlarında değişkenlik gösterir. %3.8'lik sodyum sitrat %3.2'likten, test sırasında eklenen kalsiyumu daha fazla bağlayacağından, pıhtılaşma süresi bu konsantrasyonda daha uzun olma eğilimi gösterir (23, 24). Örneğin, PZ, aPTZ ve fibrinojen için referans aralıklar %3.2'lik sodyum sitrat içeren tüplere göre belirlenmişse, %3.8'lik tüplere alınan numunelerde PZ ve aPTZ sonuçları yüksek, fibrinojen ise düşük tespit edilebilir (23, 25). Trombosit aktivasyonunu azaltmak için kullanılan teofilin, adenozin ve dipiridamol (CTAD) içeren 109 mmol/L'lik tamponlu sodyum sitratlı tüpler de koagülasyon testlerinde kullanılabilir. Diğer antikoagülanlar (okzalot, heparin veya EDTA) hiçbir şekilde kullanılmaz (4).

Laboratuvarların, koagülasyon testleri için kullandıkları tüpleri değiştirme zorunluluğu doğduğu zaman, farklı tüp veya üreticilerinin plazma temelli koagülasyon testleri üzerine etkilerini değerlendirmesi için paralel bir çalışma yapılması yerinde olur. Tüp kapları veya üreticilere bağlı farklılıklar veya değişkenliklerin etkisi koagülasyon test sonuçları referans aralığı içerisindeyse görülmeyebilir. Bununla birlikte uzamış değerlere sahip numunelerde test sonuçları anlamlı farklılıklar gösterebilir (4, 26). Bu nedenle karşılaştırma çalışmaları sadece referans aralığı içindeki normal numuneler ile değil, patolojik değere sahip numuneler ile de yapılmalıdır.

Öneri:

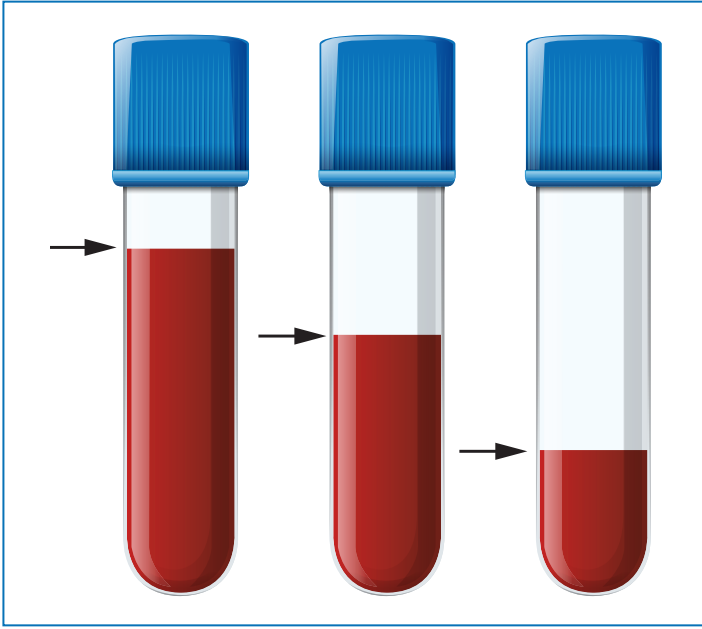
- Koagülasyon testleri için sitrat konsantrasyonu 105-109 mmol/L (%3.2) olan tüpler önerilmektedir.
- Laboratuvar uzmanları, aynı metotta sitrat konsantrasyonuna bağlı referans aralık farklılığı olabileceğini akılda tutmalı ve buna bağlı olarak referans aralıklarını düzeltmelidir.
- Tüp değişikliğinin söz konusu olduğu durumlarda laboratuvar karşılaştırma çalışmaları yapmalı ve bu çalışmalar normal ve patolojik değerlere sahip numuneler ile yapılmalıdır.

4.3.1 Kan /Antikoagülan Oranı

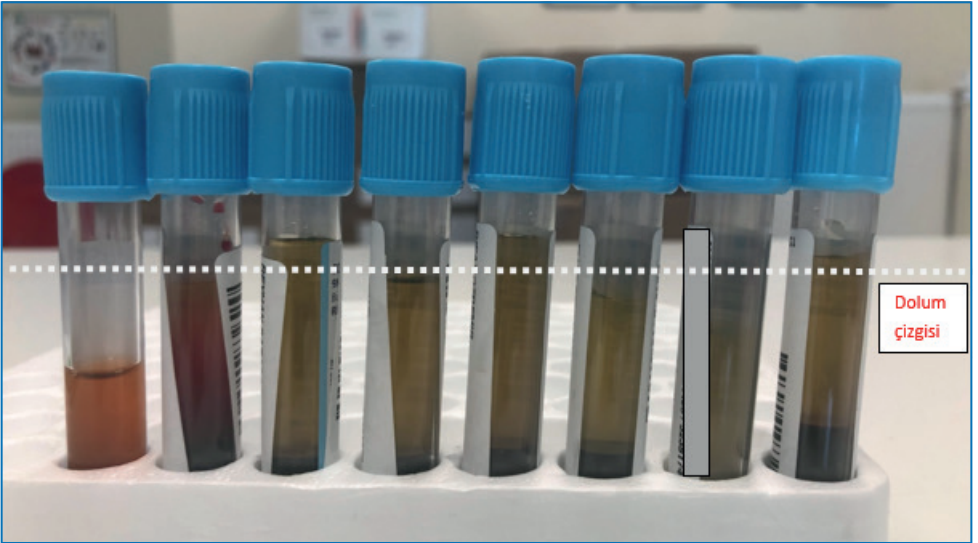
Koagülasyon testleri için kan/antikoagülan sitrat oranı 9:1'dir. Kan alma tüplerinin yetersiz veya aşırı dolumu, bu oranı değiştireceğinden doğru olmayan test sonuçlarının alınmasına neden olabilir (27-29).Tüpe alınan kan hacmi azaldığında, kan/antikoagülan oranı 9:1'in altına düşeceğinden, testlerin pıhtılaşma süresi uzayacaktır. Bu etki %3.2'lik sodyum sitratlı tüplerle %3.8'lik tüplerde benzerdir (23). Doğru test sonuçları için gerekli olan kan/antikoagülan oranının sağlanması için, üretici firma tarafından belirlenmiş kan miktarının (dolum çizgisinde) alınmasına dikkat edilmelidir. Genel yaklaşım tüp dolum çizgisinin \pm %10'una kadar (%90-%110) kan ile doldurulabileceği yönündedir (4). Pediyatrik (yani 2 mL veya daha az hacimli) vakumlu kan alma tüpleri standart 5 mL'lik tüplerden dolum hacmindeki değişkenlere göre daha duyarlıdır, öyle ki, %90'dan az dolum hacminde yanlış ve klinik olarak anlamlı, yüksek INR sonuçları bildirilmiştir (30). Farklı üreticilerin tüplerinde, uygun olan dolum hacmi tüpün yalnızca "yarısının dolu olduğu" noktaya denk gelebilir (Şekil 1). Bu, genellikle flebotomistler için tüpü "tamamen" doldurmaları talimatı verildiğinden, flebotomist tarafından kabul edilebilir dolum hacminden fazla kan alınması durumunda bir sorun olarak karşımıza çıkabilir. Önemli olan tüp üzerindeki dolum noktası işaretidir. Aşırı doldurulmuş veya yetersiz doldurulmuş tüpler test için kabul edilemez ve reddedilmelidir (Şekil 2).

Öneri:

- Doğru kan/antikoagülan oranının sağlanmasında, kan miktarının tüp üreticisi tarafından belirlenmiş tüp dolum çizgisine denk gelecek şekilde alınmasına dikkat edilmelidir.
- Tüp dolum çizgisinin, sitratlı tüpün hacmine göre değil, doğru kan sitrat oranını (9:1) sağlayacak şekilde belirlendiğine dikkat edilmelidir (Şekil 1).



Şekil 1. Dolum çizgisi, üretici firma tarafından sitratlı tüpün hacmine göre değil, doğru kan/sitrat oranını sağlayacak şekilde belirlenir.



Şekil 2. Dolum çizgisine göre doğru (tüp dolm çizgisinin $\pm\%10$ 'una kadar) ve hatalı alınmış numuneler.

4.4. Kan Alma İğnesi

Kan alma seti üreticileri iğneleri de kan tüpleri ile birlikte üretmektedirler. İğnelerde hemolize ve in vitro pıhtılaşmanın aktivasyonuna neden olabilecek iğne iç yüzeyindeki pürüzleri ortadan kaldırmak için yeni üretim teknikleri geliştirmektedirler. Venöz kan alırken, kan alma iğnesinin büyüklüğü alınacak kan miktarına, hastanın yaşına ve hastanın ven çapına göre belirlenmelidir. Antekübital venden kan almak için 19-21 (gauge, G) ölçü numaralı iğneler idealdir, yenidoğan ve çocuklarda ve ince vene sahip yetişkinlerde daha küçük ölçülü iğneler (21 G ve üzeri) kullanılabilir (4). Büyük G ölçü numarasının küçük çaplı iğneleri, küçük G ölçü numarasının ise büyük çaplı iğneleri ifade ettiği unutulmamalıdır. >25G ölçü numaralı iğneler koagülasyon testlerinde hatalı sonuçların alınmasına neden olabilecek hemolize veya trombosit aktivasyonuna neden olabileceğinden tercih edilmemelidirler (31). Büyük ölçü numaralı iğnelerde ise tam kan numunelerinde türbülansa bağlı hemoliz gelişebilmektedir (4).

Öneri:

- Kan alma elemanı venöz kan alırken kan alma iğnesinin ölçü numarasını hastadan alınacak kan miktarı, hastanın yaşı ve hastanın ven çapına göre belirlemelidir.
- Koagülasyon testleri için 19-21G ölçü numaralı kan alma iğneleri kullanılmalıdır. Çocuklar ve ince vene sahip bireyler için daha küçük ölçü numaralı (>21G) iğneler kullanılabilir.

4.5. Koagülasyon Testleri İçin Venöz Kan Alma

Koagülasyon testleri için numunenin periferik venlerden mümkün olan en az hasar ile ve eğer hastada intravenöz katater varsa bu katatere en uzak bölgeden alınması son derece önemlidir. Hastanın kimliğinin doğrulanması, turnike zamanı, koagülasyon testleri için tüpün hangi sırada doldurulacağı ve karıştırılması ile ilgili işlemlerin gerçekleştirilmesi için izlenecek basamaklar “Türk Biyokimya Derneği (TBD) Venöz Kan Alma Kılavuzu”nda ayrıntılı bir şekilde belirtilmiştir (32).

4.5.1. Venöz Kan Almada Özel Durumlar

Kan almak için venleri uygun olmayan hastalar için, kan numuneleri intravenöz kateterden (santral veya periferik) alınabilir. Ancak laboratuvar bu konuda, test istem formuna eklenen bilgi ile mutlaka bilgilendirilmelidir. Sonuçlar

yorumlanırken heparin bulaşması veya numune dilüsyonu olabileceği akılda tutulmalıdır.

Heparin uygulanmış kateterden numune almaktan kaçınılmalıdır. Bununla birlikte başka bir alternatif yoksa, koagülasyon testleri için kan alınmadan önce, kateter serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra ilk 5 mL'lik kanın veya kateter hattı hacminin altı katına denk gelen kateter ölü hacminin atılması önerilir (4, 33).

4.5.2. Kan Alma Personeli

Özellikli koagülasyon testleri için venöz kan almanın, eğitim almış hemşireler ve flebotomistler tarafından gerçekleştirilmesi önerilmektedir. Kan alma personelinin özellikle sitratlı tüp alım sırası, kullanılacak ekipmanların özellikleri ve tüp dolum hacmi konusunda eğitim almış olması gerekmektedir.

Öneri:

- Kan alma elemanlarına özellikli koagülasyon testleri için belirli aralıklarla (6 ayda bir) eğitim verilmelidir.

4.5.3. Sitratlı Tüpe Kan Alma Sırası

Diğer laboratuvar testleri ile birlikte koagülasyon test istemi yapılan hastalarda farklı özellikteki tüplere kan alma sırası son derece önemlidir. Damara girdikten sonra, koagülasyon testlerini etkileyecek olan pıhtı aktivasyonu ile oluşacak mikro pıhtılardan ve diğer katkı maddesi içeren tüplerden bulaşma olasılığını en aza indirmek için, sitratlı tüplere kan numunesi, Venöz Kan Alma Kılavuzu'nda da belirttiği gibi ilk sırada alınmalıdır. Eğer hastadan kan kültür istemi de yapılmışsa, bu kültür numunesi alındıktan sonra ikinci sırada sitratlı numune alınmalıdır (32).

Yapılan çalışmalarda rutin koagülasyon testleri ve D-dimer için iskarta tüp uygulamasına (bir miktar kanın başka bir tüpe alınarak atılması) ihtiyaç olmadığı gösterilmiştir (4, 13). Koagülasyon testleri için iskarta tüpün kullanımı sadece kelebek set kullanılarak gerçekleştirilen kan alma işlemleri için kelebek set içerisindeki havanın oluşturacağı hacim farkını ortadan kaldırmak için kullanılmaktadır (4, 34).

Öneri:

- Diğer laboratuvar testleri ile birlikte koagülasyon test istemi yapılan hastalarda kan sitratlı tüpe ilk sırada alınmalıdır.

4.5.4. Sitratlı Tüpün Alt Üst Edilmesi

Numune almak için kullanılan tüpe bakılmaksızın, antikoagülan içeren tüm tüpler numunenin antikoagülan ile iyice karışmasını sağlamak için, üretici tarafından farklı bir prosedür önerilmediği sürece, kan alındıktan hemen sonra 3-6 kez alt-üst edilerek, karıştırılmalıdır. Tüpler sallanmamalı veya şiddetle çalkalanmamalıdır. Aşırı karıştırma hemoliz ve/veya trombosit kümeleşmesine ve aktivasyonuna neden olarak koagülasyon testlerinde hatalı sonuçlara yol açabilir (4).

Öneri:

- Üretici firma tarafından farklı bir prosedür belirtilmediği sürece antikoagülan içeren tüpler kan alındıktan sonra 3-6 kez alt üst edilerek karıştırılmalıdır.

4.5.5. Hematokrit Değerine Göre Sitrat Konsantrasyonunun Düzeltmesi

Hematokrit değeri yüksek olan numunelerde, koagülasyon testleri için gerekli olan 9:1 kan/antikoagülan (ya da plazma/antikoagülan) oranı azalır. Bu durumda elde edilen plazmada sitrat nispi olarak fazla miktarda bulunur. Plazma içerisindeki yüksek sitrat konsantrasyonu pıhtılaşma temelli ölçümlerde, fazla kalsiyumun bağlanmasına ve var olan sıvı antikoagülan nedeniyle dilüsyon etkisine neden olarak pıhtılaşma süresinin uzamasına neden olur (4).

Hematokrit değeri >%55 olan hastalarda, numune tüpündeki sıvı sitratın belirli bir hacminin uzaklaştırılması ile düzeltme yapılmalıdır. Kan alma tüpünde ihtiyaç duyulan sitrat miktarını hesaplamak için aşağıdaki formül kullanılır (4, 35).

Tüpte kalması gereken sitrat hacmi= $(1.85 \times 10^{-3})(100-Hct)(VKan)$,

- Hct= Hastanın hematokrit değerini;
- V= Alınacak kan hacmini (eğer 3 mL'lik tüp kullanılıyorsa, hacim 2.7 mL); ve
- 1.85×10^{-3} , sitrat hacmi, kan hacmi ve sitrat konsantrasyonu dikkate alınarak belirlenmiş sabiti ifade etmektedir.

Kan uygun sitrat hacmi üzerine alındıktan sonra numune karıştırılır ve plazma ayrılır. Hematokrit değerleri <%25 olduğunda koagülasyon testlerinin etkilendiği dolayısıyla sitrat konsantrasyonunun düzeltilmesine ihtiyaç olmadığı bildirilmiştir (36).

- Örneğin, 0.3 mL sodyum sitrat içeren, 2.7 mL kan alınan, 3 mL'lik bir koagülasyon numune tüpünde %55, %60, %65, %70 hematokrit değerleri için, olması gereken düzeltilmiş sodyum sitrat hacmi **Tablo 1**'de verilmiştir.

| %Hct | Tüpte kalması gereken sitrat hacmi (mL) | Olmaması gereken sitrat hacmi (mL) | Uzaklaştırılması gereken sitrat hacmi (mL) |
|------|---|------------------------------------|--|
| %55 | $=(1.85 \times 10^{-3}) \times (100-55) \times 2.7$ | 0.225 | 0.075 |
| %60 | $=(1.85 \times 10^{-3}) \times (100-60) \times 2.7$ | 0.200 | 0.100 |
| %65 | $=(1.85 \times 10^{-3}) \times (100-65) \times 2.7$ | 0.175 | 0.125 |
| %70 | $=(1.85 \times 10^{-3}) \times (100-70) \times 2.7$ | 0.150 | 0.150 |

Tablo 1. Hematokrit değerine göre düzeltilmiş sitrat konsantrasyonları.

Öneri:

- Hematokrit değeri >%55 olan hastalar için koagülasyon test sonucu verilmemeli ve rapora; “Yüksek hematokrit (%XX) değeri nedeniyle, koagülasyon testleri için gerekli olan antikoagülan (sitrat)/kan oranı sağlanamamıştır. Uygun olmayan antikoagülan/kan oranı test sonuçlarında değişkenliğe neden olur. Laboratuvar uzmanı ile iletişime geçilerek testin yeni numuneden çalışılması uygundur” şeklinde bir yorum eklenmelidir.
- Koagülasyon testleri çalışıldıktan sonra sonuç raporunda; “Koagülasyon testleri, hastadaki yüksek hematokrit değeri nedeniyle (%XX), düzeltilmiş sitrat konsantrasyonuna sahip plazmadan çalışılmıştır.” şeklinde bir yorum yer almalıdır.

5. NUMUNELERİN TAŞINMASI

5.1. Koagülasyon Testleri İçin Numunelerin Taşınması

Koagülasyon testleri için venöz kan alımından sonra, numuneler mümkün olan en kısa sürede (<4saat) oda sıcaklığında laboratuvara ulaştırılmalıdır. Taşıma öncesinde numuneler kimlik doğrulama, hasta ve çalışan güvenlik koşulları ve taşıma sürecindeki stabiliteleri açısından kontrol edilmelidirler (4). Yapılan çalışmalar süre açısından bu kuralın PZ ve D-dimer testi hariç diğer koagülasyon testleri için geçerli olabileceğini göstermiştir. Bu testler için, numune santrifüj edilmeden veya edildikten sonra oda sıcaklığında 24 saat stabildir (4, 37). Tüm koagülasyon testleri için, numuneler alındıktan sonra tüplerin kapakları açılmamalıdır. Bu, numunelerde taşıma güvenliğini sağladığı gibi, pH artışına ve dolayısıyla PZ ve aPTZ sonuçlarında uzamaya neden olabilen CO2 kaybını azaltır. Numuneler kan tüplerini sabit ve dikey pozisyonda tutan bir taşıma çantası ile taşınmalı, taşırken numunelerin sarsılmalarına özen gösterilmelidir (Şekil 3) (38, 39).



Şekil 3. Kan tüplerinin doğru ve yanlış taşıma şekilleri

Numuneler pnömatik sistem ile taşınırken, trombosit aktivasyonu ve protein denatürasyonunu önlemek için, numune tüpleri titreşimden ve hızlı, keskin dönüşlerden korunmalıdır (4).

5.2. Taşıma Sırasında Sıcaklık

Numune transferi sırasında aşırı sıcaklıklardan (yüksek ve düşük) kaçınılmalıdır. Koagülasyon testlerinin tamamı için tam kan numuneleri oda sıcaklığında (18-25°C) taşınmalıdır. FVII'nin soğuk aktivasyonu, VWF kaybı ve trombosit bütünlüğünün bozulması nedeniyle soğukta taşıma (2-8°C) önerilmez (4, 37, 40, 41).

5.3. Taşıma Süresi

Numune almadan analize kadar geçen sürede koagülasyon proteinleri (özellikle FV ve FVIII) in vitro olarak yıkılabilir (39). Bu faktörlerin kaybı, sıcaklık artışıyla hızlanır ve numune alınmadan analizine kadar geçen zamanda gecikmeler olduğunda, çoğu hastada PZ ve aPTZ'nin yalancı uzamasına neden olur. Heparinize olmamış hastalarda aPTZ ve diğer koagülasyon testleri için santrifüj edilmemiş veya edilmiş numuneler, numune alındıktan sonraki 4 saat içinde test edilmelidir. Santrifügasyondan sonra uzağa transfer söz konusuysa, plazma ayrılmalı ve 4 saat içinde ilgili laboratuvara transferi gerçekleştirilerek çalışılmalıdır (42).

6. NUMUNE RET KRİTERLERİ

Zorunlu olarak reddilmesi gereken numuneler:

- Hatalı tüpe alınmış numuneler (uygun olmayan antikoagülan içeren veya antikoagülan içermeyen numuneler)
- Miadı geçmiş tüplere alınmış numuneler
- Gerekli kan/antikoagülan oranının bozulduğu yetersiz/fazla hacimde alınmış numuneler
- Pıhtılı numuneler (39).

Öneri:

- Yukarıdaki öneriler koagülasyon testleri için zorunlu ret kriterlerini içermektedir. Her laboratuvarın, kendi koşullarına göre ek ret kriterlerini belirlemesi önerilir.

Hangi tip tüpe alındığı bilinmeden elde edilen, hücrelerinden ayrılmış numuneler (serum, plazma, diğer), görüntü olarak benzer olduğundan reddedilmelidir. Reddedilen numuneler, hastanın tanı veya tedavisinin takibinde gecikmelere neden olacağından kan alma elemanları, numune ret nedenleri konusunda mutlaka bilgilendirilmeli ve eğitilmelidirler.

7. NUMUNENİN İŞLENMESİ

Koagülasyon testleri için numuneler santrifüj edilmeden önce, barkodun doğruluğu, tüpün son kullanma tarihi, numune miktarı ve pıhtı varlığı açısından kontrol edilmelidir. Bu kontrol noktalarının birindeki olumsuzluk, numunenin reddedilmesini gerektirir (13, 29). Her numunenin pıhtı varlığı açısından kontrol edilmesi zor olabilir. Hatta bazen, koagülasyon test sonuçlarını etkileyebilen mikro pıhtı varlığı gözden kaçabilir. Bu nedenle beklenmeyen PZ ve/veya aPTZ sonuçları elde edildiğinde tüplerde pıhtı olabileceği akılda tutulmalıdır (37).

Öneri:

- Numune kabul bölümündeki elemanlar, santrifüj işleminden önce, gelen numuneyi, barkodun doğruluğu, tüpün son kullanma tarihi, numune miktarı ve pıhtı açısından kontrol etmelidir.
- Bu konularda numune kabul elemanlarına belirli aralıklarla (6 ayda bir) düzenli eğitimler verilmelidir.

7.1. Koagülasyon Numunelerinin Santrifüj Edilmesi

PZ, aPTZ, TZ, fibrinojen ve D-dimer gibi koagülasyon ölçümleri, sitratlı tam kan numunesinin oda sıcaklığında (18-25°C), 1500 g'de 15 dakika santrifüj edilmesiyle elde edilen plateletten fakir plazmada (PFP) gerçekleştirilir. Genellikle elde edilen numunede, trombosit sayısı $<10 \times 10^9/L$ (10 000/ μL) olmalıdır (4). PFP hazırlamada santrifüj işleminin yeterliliği, kalite güvence sürecinin bir parçası olarak, yılda bir kez plazma numunesinde trombositlerin rutin kan sayım cihazlarında sayılıp, belgelendirilmesiyle kanıtlanabilir. Plazma numunesine, trombositlerin ve diğer hücrelerin bulaşmasını engellemek için sıcaklık kontrollü, açılır başlıklı ve frensiz santrifüj cihazı kullanılmalıdır. Santrifüjün, ilk kurulumda ve her altı ayda veya bakımlardan sonra, PFP elde edilmesi için yeterli olduğu plazma trombosit sayısı ölçülerek doğrulanmalıdır (4). Santrifüj bakımları düzenli yapılmalı ve bakım eksikliğine bağlı titreşim olmadığı (hızlanma ve/veya yavaşlama sırasında) kontrol edilmelidir (43).

Özellikle acil rutin koagülasyon testleri için, daha yüksek hızda (>1500 g) ve daha kısa sürede (<10 dakika) santrifüj işlemiyle elde edilen plazmanın kullanılabilmesi söylenmektedir (44). Ancak yüksek santrifüj hızının eritrositlerde hemolize, trombositlerde ise aktivasyona neden olarak, koagülasyon testlerini

etkileyebileceği akılda tutulmalıdır (4, 39). Taze plazma numunesinden çalışılan aPTZ, PZ/INR, fibrinojen ve D-Dimer testlerinin $>200 \times 10^9/L$ ($200\ 000/\mu L$)'ye kadar trombosit sayısından etkilenmediği de bildirilmiştir (45, 46). Ancak bu numuneler daha sonraki analizler için dondurularak saklanmamalıdır (47).

Özellikle dondurulduktan sonra analiz edilecek özellikli koagülasyon testleri (protein S ve C, APCR, LA tarama ve doğrulama, antifosfolipit antikor testi, VWF, koagülasyon faktörleri gibi) için trombosit sayısının $<10 \times 10^9/L$ ($10\ 000/\mu L$) olması önemlidir (42).

Öneri:

- Plazma numunesinin hazırlanmasında, sıcaklık kontrollü, açılır başlıklı ve frensiz santrifüj kullanılmalıdır.
- Santrifüjün, ilk kurulumda ve her altı ayda veya bakımlardan sonra PFP eldesinde yeterli olduğu doğrulanmalı ve kayıt altına alınmalıdır.
- Santrifüj bakımları düzenli yapılmalı ve bakım eksikliğine bağlı titreşim olmadığı (hızlanma ve/veya yavaşlama sırasında) kontrol edilmelidir.
- Koagülasyon testleri için alınan sitratlı tam kan örneğinin oda sıcaklığında ($18-25^\circ C$), $1500\ g$ 'de ≥ 15 dakika santrifüj edilmesi önerilir.
- Acil PZ, aPTZ ve fibrinojen testleri için daha yüksek santrifüj hızı ($>1500\ g$) ve daha kısa süre (<10 dakika) kullanılabilir.
- Kalıntı trombosit sayısı $\leq 10 \times 10^9/L$ olan PFP hazırlamak için çift santrifüj prosedürü önerilir.

7.2. Numune Saklama

Saklanacak olan numune, başka bir tüpe aktarılırken, dipteki trombosit kalıntılarının alınmamasına dikkat edilmelidir. Tek bir dondurma çözme işlemi santrifüj edilerek ayrılmış plazma numunelerindeki trombositlerin parçalanmasına neden olur. Bu parçalanma özellikle trombositlerde bulunan plazminojen aktivatör inhibitör-1 gibi analitlerin artmasına neden olur. Bunun yanında plazma numunesindeki kalıntı trombositlerin membranlarında bulunan anyonik fosfolipitler, fosfolipitlere dayalı koagülasyon testlerini etkilerler. Numunenin dondurulup çözülmesi sırasında trombositlerden salınan fosfolipitler, bazı lupus antikoagülanları maskeleyebilir ve yalancı negatif sonuçların alınmasına neden olabilir.

Öneri:

- Eğer koagülasyon testleri hemen çalışılmayıp saklanacaksa, numunenin porsiyonlanması sırasında dipteki trombosit kalıntılarının alınmamasına dikkat edilmelidir.

8. NUMUNENİN DEPOLANMASI

Koagülasyon testleri için numunenin alınması ve analiz edilmesi arasındaki izin verilen zaman aralığı, yapılacak olan teste ve hem numunenin taşınması hem de saklanması sırasındaki sıcaklığa bağlıdır. Eğer sitratlı tam kan örneği alındıktan sonra kısa süre içerisinde (<30dk.) kullanılmayacaksa kapağı kapalı tutulmalıdır (4). Koagülasyon testleri için numune mümkün olduğunca hızlı işlenmeli ve uygun koşullarda saklanmalıdır. Bu testler için numunenin kısa ve uzun süreli saklama koşulları farklılık göstermektedir. Laboratuvarlar, numune saklama koşullarını kendileri belirleyebilirler, ancak bu koşullar test edilmeli ve doğruluğu kanıtlanmalıdır.

8.1. Analize Kadar Kısa Süreli Depolama

Sitratlı tam kan numunesinde, farklı koagülasyon testlerinin numune alındıktan sonra santrifüj edilene kadar geçen süreçte kararlılıkları ile ilgili CLSI H21 A5 kılavuzu ile yapılan kararlılık çalışmalarında farklı bilgiler bulunmaktadır (Tablo 2).

| Test adı | Tam kan numunesinin kararlılığı | |
|--|---------------------------------|-------------------------|
| | CLSI (4) | Diğer kaynaklar (50-55) |
| PZ | 24 saat | 24-72 saat |
| aPTZ | 4 saat | 18-24 saat |
| Fibrinojen | 4 saat | 48 saat- 7 gün |
| D-dimer | 4 saat | 48 saat |
| Faktör II, VII, IX, X ve XI | 4 saat | 48 saat |
| Faktör V ve VIII | 4 saat | 24 saat |
| von Willebrand faktör antijeni, ve von Willebrand faktör ristosetin kofaktör | 4 saat | 24-48 saat |
| Antitrombin aktivitesi | 4 saat | 48 saat-7 gün |
| Protein C aktivitesi | 4 saat | 48 saat |
| Protein S aktivitesi | 4 saat | 4-6 saat |
| Serbest protein S | 4 saat | 24 saat |
| Anfraksiyone heparin içeren numunede aPTZ veya anti-Xa | 1 saat | - |
| Düşük molekül ağırlıklı heparin içeren numunede aPTZ veya anti-Xa | 4 saat | 24 saat |

Tablo 2. Koagülasyon testlerinde sitratlı tam kan numunesinin kararlılığı.

Kan alındıktan sonra kapağı kapalı, dik pozisyonda ve oda sıcaklığında tutulmalıdır (37). Buzdolabında (2-8°C'de) saklama önerilmemektedir. Çünkü soğuk, FVII'nin aktivasyonuna ve FVIII'in kaybına neden olur. Buna bağlı olarak PZ ve aPTZ test sonuçları etkilenir (37, 41).

PZ ve D-dimer testleri için, kan alındıktan sonra santrifüj edilmiş veya edilmemiş numunelerde bu süre yayınlarında her ne kadar 24 saate kadar uzasa da numune kararlılığı, kan alma tüpü, koagülometre, tromboplastin reaktifi veya bunların birleşimi ile ilişkili olduğundan laboratuvarların bu süreyi kendi sistemleri için kontrol etmeleri önemlidir. Oda sıcaklığında santrifüj edilmeden bekletilen tam kan numunelerinde mekanik ajitasyon, PZ/INR testlerinde bilinmeyen bir mekanizmayla yalancı yüksekliklere neden olabileceğinden dikkatli olunmalıdır (4, 38). Buzdolabında saklama (2-8°C'de) FVII'nin soğuk ile aktivasyonuna ve PZ sonuçlarında değişikliklere neden olabileceğinden önerilmemektedir. Eğer hasta hem heparin hem de kumarin antikoagülan tedavisini birlikte alıyorsa, PZ için kullanılan reaktif eğer heparin nötralize edici içermiyorsa PZ, numunenin depolanma süresi ile değişkenlik gösterebilir (4).

Standart (anfraksiyone) heparin kullanmayan hastalarda aPTZ ve çoğu özellikli koagülasyon testi (faktör ölçümleri, LA ve VWF ölçümü gibi) için numuneler, alındıktan sonra santrifüj edilmemiş olarak veya santrifüj edilip plazması hücrelerle birlikte, kapakları açılmadan oda sıcaklığında 4 saat depolanabilir (48-50). Eğer aPTZ çalışma süresi 4 saati geçecek olursa laboratuvar tarafından, normal ve patolojik aPTZ numunelerini içeren hasta serisinde, bu sürenin test sonuçlarına olan etkisi açısından doğrulanması gerekir. Aynı doğrulama çalışmasında FV ve FVIII aktivitelerinin çalışılması da gerekmektedir. aPTZ testi standart heparin kullanımı takibi için istenmişse olası heparin nötralizasyonunu azaltmak için kan numunesinin santrifüj edilerek plazmanın farklı bir tüpe ayrılması son derece önemlidir (4, 38). Standart heparin kullanan hastaların izleminde, aPTZ testi için alınan numuneler oda sıcaklığında tutulmalı, 1 saat içinde santrifüj edilmeli ve 4 saat içinde çalışılmalıdır.

Öneri:

- Kan alındıktan sonra koagülasyon tüpü kapağı kapalı, dik pozisyonda ve oda sıcaklığında (18-25°C) tutulmalıdır.
- Tüm koagülasyon ölçümleri, kan numunesi alındıktan sonra ilk 4 saat içinde gerçekleştirilmelidir.
- PZ ve D-dimer testleri 24 saat içinde çalışılabilir. Ancak laboratuvarlar, numune kararlılığını kendi sistemleri için değerlendirmelidirler.
- Eğer aPTZ testi standart heparin izlemi için istenmişse tam kan numunesi, numune alındıktan sonra 1 saat içinde santrifüj edilerek plazma ayrılmalıdır.

8.2. Analize Kadar Uzun Süreli Depolama

Eğer numuneler PZ ve D-dimer için 24 saat, aPTZ ve diğer rutin ve özelikli koagülasyon testleri için 4 saatten daha kısa sürede çalışılmayacaksa, plazma numuneleri dikkatli bir şekilde, altta kalan hücreler ile bulaşma olmadan ayrılarak, porsiyone edilmeli ve dondurularak saklanmalıdır (4). Numuneler eğer 2 hafta içerisinde çalışılacaksa -20°C 'lik dondurucuda saklanabilir. Ancak dondurucunun otomatik dondurma-çözme özelliğinin olmaması gerekir. Çünkü bu otomatik dondurma-çözme döngüleri FVII'nin soğuk ile aktivasyonuna, diğer faktörlerin ise yıkılmalarına neden olabilir (4). Daha uzun süreli saklamalar (2 haftadan uzun) -70°C veya daha soğuk dondurucularda yapılmalıdır (51).

Öneri:

- Eğer testlerin çalışması yukarıda belirtilen süreleri geçecekse, plazma numunesi ayrıldıktan sonra <2 hafta depolama için -20°C 'da, daha uzun depolamalar için $<-70^{\circ}\text{C}$ 'da saklanmalıdır.

8.3. Dondurma - Çözme İşlemleri

Genellikle, koagülasyon testleri için numunenin bir kez dondurulup çözülerek kullanılması önerilmektedir. Çoklu dondurma-çözme döngülerinden kaçınılmalıdır. Bununla birlikte FII, FVII, FX, FIX, FXI aktivitelerinin ve ATIII, protein C, VWF ve plazminojenin çoklu dondurma çözme döngülerinden etkilenmediği söylenmektedir (37).

Öneri:

- Her laboratuvar kendi koşullarına göre, çalışılan özellikli koagülasyon testleri ve çalışma zamanları için porsiyonlayacağı numune sayısını belirlemelidir.

8.4. Dondurulan Numunenin Çözülmesi

Dondurulmuş plazma numunelerinin çözülmesi inkübatör, kuru sıcak blok veya su banyosunda 37°C 'de, 5-10 dakikada gerçekleştirilmelidir (3, 4, 37). Analitik aşamadan önce numune bütünlüğünün sağlanması için çözünmüş numuneler yeterince karıştırılmalıdır. En uygun karıştırma şekli 6 kez, 180° 'lik açı ile alt üstetmektir. Eğer numuneler tamamen çözünmemiş veya 37°C 'de çok uzun süre bekletilmişse koagülasyon faktör aktivitelerinin değişmesi ve numune bütünlüğünün bozulması hatalı test sonuçlarının alınmasına neden olur (3, 37, 52). Eğer çözme işlemi sırasında su banyosu kullanılıyorsa hasta bilgilerinin yazılı olduğu barkod bütünlüğünün bozulmamasına dikkat edilmelidir.

Öneri:

- Koagülasyon testleri için dondurulmuş numuneler kuru sıcak blok veya su banyosunda 37°C'de, 5-10 dakikada çözülmelidir.
- Çözünen numuneler çalışmadan önce alt üst edilerek yeterince karıştırılmalıdır.

9. KOAGÜLASYON TESTLERİNDE HEMOLİZ, İKTER, LİPEMİ İNTERFERANSI

Hemoliz, ikter ve lipemi tam kandaki plazma içeriğine, test prensibine ve cihaz özelliğine göre ışık geçişini interfere ederek koagülasyon testleri sonuçlarında değişikliklere sebep olur (4).

9.1. Hemoliz

Hemoliz, tam kandaki parçalanmış eritrosit içeriği ile ortaya çıkan serbest hemoglobin ve eritrosit lizis ürünlerinin oluşturduğu durumdur. Plazmadaki serbest hemoglobinin 0.2 g/L üzerinde ölçülmesiyle değerlendirilebilir (52). Hemoliz, eritrosit lizisi ile seyreden kalıtsal, kazanılmış veya iyatrojenik klinik durumlarda (hemolitik anemiler, ciddi enfeksiyonlar, damariçi yaygın koagülasyon, transfüzyon reaksiyonları gibi) in vivo ve kan alınması ve sonrasındaki aşamalarda in vitro koşullarda oluşabilir. Genellikle in vitro olarak değerlendirilir ve preanalitik evrede örnek kalitesinin izlenmesinde gösterge olarak kullanılır (53). Her koagülasyon testi elde edilen plazma örneğinin kalitesine son derece bağlıdır (13).

Hemoliz ile eritrosit içi veya zar bileşenlerinin salınması (fosfolipitler, enzimler, proteinler, ADP vb), in vitro primer ve sekonder hemostazı aktive veya inhibe edebilir. Ayrıca serbest hemoglobin, spektrofotometrik olarak veya yalancı peroksidaz aktivitesine bağlı olarak interferans yaratabilir. Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü yönergeleri (CLSI) görünür hemolizli tüm örneklerin olası pıhtılaşma faktörlerinin aktivasyonu ve son nokta ölçüm interferansları nedeniyle çalışılmamasını tavsiye eder (13). Hemolizin yarattığı interferans için birden fazla teori vardır. Hemolizin pıhtılaşma faktörlerini aktive etmesine ve sonuçları kısaltmasına neden olabilecek bir doku faktörü kaynağı sağladığı öne sürülür. Diğer bir teori de hemoliz sürecinin koagülasyon reaktifleriyle rekabet etmesi ve pıhtılaşma sonuçlarının uzamasına neden olmasıdır (52). Bu etkileşimler ister fotooptik ister elektromekanik son nokta ölçüm yöntemi kullanılsın, koagülasyon test sonuçlarında geniş bir aralıkta değişkenlik yaratabilir. Yani, sonuçlar yanlış yüksek veya dilüsyonel etkiler ile düşük çıkabilir. Hemoliz ile net olarak gözlenen etkiler;

- Hemoliz artışı ile fibrinojen seviyelerinde azalma,
- D-dimer seviyesinde artma,
- Anti-trombin seviyesinde azalmadır (38, 52).

Literatürde hemolizli örneklerle yapılan PZ ve aPTZ çalışma sonuçlarının değerlendirmesinin farklılık gösterdiği aktarılmaktadır (3, 13, 39). Hemoliz nedeniyle koagülasyon test sonuçlarının uzadığı veya kısaldığı varsayılmaz (52). Test yöntemi, reaktif ve cihazların farklı kombinasyonları ile yapılan farklı çalışmalar arasında karşılaştırma yapmak çok zordur. Ayrıca hemolizat ile yapılan interferans çalışmalarında hemolizat oluşturma tekniklerindeki farklılıkların da sonuçların üzerinde etkili olduğu, bunun da yorumlamayı zorlaştırdığı tartışılmaktadır. Bu nedenle laboratuvarların test prensibi ve cihaz özelliklerini lokal değerlendirmeleri, etkileşim hakkında önfikir edinmeleri tavsiye edilebilir (Şekil 4) (54).



Şekil 4. Laboratuarlarda kullanılan optik ve fotometrik koagülasyon cihazlarına örnekler.

Potansiyel interferans nedeniyle, aşırı derecede hemolizli numuneler kullanılmamalı, yeniden numune alınmalıdır. Farklı cihazlardaki serbest hemoglobin miktarı farklı hemoliz indeksi derecesine denk gelmektedir. Hemoliz indeksinin sisteme entegre edildiği durumlarda test/cihaz üreticisinin hemoliz interferansı ile ilgili kesim değerleri bilinmelidir (52). Görsel olarak saptanabilecek düzeydeki (pembe -kırmızı renkli) plazma örnekleri, ışık geçirgenliği ile etkileşime girmesi nedeniyle optik sistem ile ölçüm yapan analizörlerde kullanılmamalıdır. Hemolizli plazmanın reddedilmesi yerine ideal olanı mekanik son nokta ölçüm yöntemi kullanılmasıdır. Endotel hasarını takiben tromboplastin benzeri prokoagülanların salınması sonucu aktive olan koagülasyon mekanizması numunenin kalitesini değiştirebilir. Bu hem fotooptik hem elektromekanik cihazlarda etkili olacaktır, çünkü analitik etkileri az olsa bile, biyolojik etkileri önemlidir. Bu görüş sebebiyle hemolizli numunenin sonuçlarının raporlanmaması da tavsiye edilmektedir (54).

9.2. İkter

Bilirubin konsantrasyonunun >1.5 mg/dL üzerinde olması ile tanımlanan hiperbilirubinemi, koagülasyon testlerinde spektral örtüşmeden kaynaklanan interferans oluşturur. Bilirubin 400 - 520 nm arasında yüksek bir absorpsiyona sahiptir (54). 570 nm'den daha yüksek dalga boyları kullanan optik sistemle ölçüldüğünde ikterik numunelerdeki test sonuçlarının, elektromekanik yöntemle uyumlu olduğu tespit edilmiştir (55). İkterik numunelerde farklı ikinci bir dalga boyu (650nm ve üzerinde) seçilmesi kaydıyla, koagülasyon test sonuçlarında bilirubin konsantrasyonu <20 mg/dL ise interferans beklenmez (54).

9.3. Lipemi

Lipemik numunelerde temel olarak, bulanıklık büyük lipit parçacıklarından kaynaklanır, genellikle trigliserit konsantrasyonu 500 mg/dL'nin üzerindedir. Lipemi, toklukta alınan numunelerde, intravenöz lipitlerin uygulanmasında, diyabet, kronik alkol kullanımı, bozulmuş böbrek fonksiyonu, tiroit hastalıkları, akut pankreatit, miyelom, primer biliyer siroz, sistemik lupus eritematöz gibi hastalıklarda, östrojen, streoit, proteaz inhibitörleri gibi ilaç kullanımında görülebilir (54). Lipemik örneklerde gözlenen interferans hem optik hem de biyolojik kökenlidir. Biyolojik etki farklı kaynaklardan gelişir. FVII'nin aktivitesinin akut yükselmesi çok yağlı öğünden sonra gözlenir, çoğunlukla FVIIa'nın konsantrasyon artışı da birlikte eşlik eder. Çok yağlı öğünler platelet fonksiyonu üzerinde akut etkisi ile bazı pıhtılaşma faktörlerinin aktivitesinde düşmeye sebep olur (FII, FIX, FX, FVII, FVIIa, FXIIa gibi) (3). Yağdan zengin diyeti takiben lipemi periyodunda FIX aktivitesinde artış olduğu, tromboplastin zamanının öğün içeriğindeki farklılıklarla (az yağlı, bitkisel yağlı yiyecekler vb) değişkenliği gösterilmiştir (56). Yağlı bir yemekten sonra post-

prandiyal lipeminin trombosit ve monosit aktivasyonunu araştıran bir çalışmada monoklonal antikorlar kullanılarak, yüzey p-selektini eksprese eden trombositlerin yüzdesinin ve GPIIb-IIIa reseptörünün aktive edilmiş konformasyonunun artışı gösterilmiştir (57). Belirgin lipemi özellikle 500 nm'den kısa dalga boylarında optik absorbandsı veya ışık transmittansını bozarak veya ışık saçılımlı nedeniyle interferans yaratabilir. Bu interferans özel bir dalga boyu (650 nm ve üzerinde) kullanılarak nlenebilir. Analitik interferans özellikle optik pıhtı belirleme temelinde çalışan testlerde olur. Bu etkiyi en aza indirmek için elektromekanik bazlı çalışan veya koagülasyon testlerini alternatif dalga boylarında çalışan cihazlar kullanılması önerilir. Bununla birlikte, en iyi yaklaşım dislipidemi gibi bir metabolik hastalık yoksa, açlık durumunda kan örneğini yeniden almaktır (3). Lipemi interferansını azaltmak için lipidi uzaklaştırmanın farklı yöntemleri (ultrasantrifj, lipit temizleyici kimyasal uygulamalar veya dilüsyon) olmasına rağmen, güvenilir sonuçlar için henüz tek bir yöntem tavsiye edilememektedir. Ultrasantrifj fibrinojen veya FVII/vWF kompleksi gibi büyük protein kütlelerinin çökmesiyle sonuçlanabilir, dolayısı ile hatalı sonuçlara yol açabilir. Lipitleri uzaklaştırmak için n-hekzan gibi organik çözücüler uygulanabilir, ancak llen analitin etkilenip etkilenmediğinin doğru lanması gereklidir. Kantitatif D-dimer ve vWF aktivitesi/antijeni gibi türbidimetrik olarak llyorsa plazma dile edilerek lipeminin etkisi azaltılabilir. Doğal olarak, seyreltme yöntemi PZ, aPTZ testleri için kullanılamaz (3, 53).

neri:

- Laboratuvarlar koagülasyon testlerinin hemoliz, lipemi ve ikterden etkilenme düzeylerini kendi laboratuvar koşullarına göre belirlemelidirler.
- Analiz ncesi numunenin bu interferanslar açısından değerlendirmesi mutlaka yapılmalıdır.

10. KOAGÜLASYON TEST SONUCUNU ETKİLEYEN FAKTÖRLER

10.1. Sirkadiyen Ritm

Koagülasyon sisteminin en önemli faktörlerinden biri olan trombositler, sayısal olarak gleden sonra, aktivite olarak da sabah saatlerinde en yüksek düzeye ulaşmaktadırlar (58). Hem aPTT hem de PT testlerinin sabah saatlerinde daha kısa lldğ yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (24 saat içerisinde en uzun ve en kısa sreler arasındaki fark PT için 0.95 sn iken aPTT için 3.27 sn. olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte bu değişkenliğin klinik olarak anlamlı olmadığı belirtilmektedir (59). Endojen koagülasyon inhibitörleri protein S ve C ile ATIII'n sabah saatlerinde (6:00) en yüksek konsantrasyonlarda, ögle saatlerinde ise düşük düzeylerde oldukları yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (58). Fibrinojen ise sentezini uyaran interlökin 6'nın sirkadiyen ritmine (gece saatlerinde yüksek konsantrasyonlarda) bağlı olarak sabah saatlerinde yüksek konsantrasyonlarda llmektedir (60).

10.2. Postür

Postür değişikliklerinin hem tanı hem de tedavi izleminde kullanılan rutin koagülasyon testleri üzerine anlamlı etkisi olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (61). Bu değişim özellikle yatar pozisyondan oturur pozisyona geçen veya ayağa kalkan hastalarda özellikle fibrinojen ve PT için azalan yönde, aPTT için artan yönde etkilidir. PT için yatar pozisyondaki hastaların ayağa kalkmalarıyla elde edilen %3.7'lik bir azalma özellikle K vitamini kullanan hastalarda gereksiz ilaç dozu değişimine neden olabilir. Fibrinojendeki azalma, dik pozisyonda uzun süre ayakta dururken meydana gelen plazma kaçışı, filtrelenebilir elementlerin ve suyun interstisyel boşluğa difüzyonu, daha büyük ve difüzyona uğramayan plazma bileşenlerinin kan damarlarında tutulması ile açıklanabilir (62). Bununla birlikte yatar pozisyondan oturur ya da ayakta pozisyona geçişlerde meydana gelen plazma kaçışı ve hemokonsantrasyonun kan koagülasyonunda ekstrinsik yolağı aktive ederek PT sürelerinin kısalmasına neden olabileceği düşünölmektedir (61).

10.3. Günlük Diyet ve Sigara İçme

Günlük diyet (gece beslenme, aşırı yağlı gıda alımı, kafeinli içeceklerin tüketimi gibi) ve sigara içiminin koagülasyon testleri üzerine etkisine ilişkin literatürde yeterince kanıtlanmış bilgi yoktur. Bununla beraber lipemik örneklerin birçok testte interferans verdiği bilinmektedir (63).

Sigara içiminden iki saat önce kan alınması önerilir. Çünkü sigara içiminin, trombosit agregasyonunu artırabileceği bildirilmiştir (63).

10.4. Fiziksel Aktivite

Egzersizin yoğunluğuna ve süresine göre koagülasyon ve fibrinoliz ölçümleri değişiklik gösterir. Bu etki bireyin yaşı ve fiziksel durumuna bağlıdır (64, 65). aPTT, maksimum güç dayanıklılık egzersizleri (halter kaldırma vb), maraton ve vücut geliştirme gibi ağır direnç egzersizleri sırasında azalırken PT'de çok az ya da hiçbir değişiklik görülmez (66). aPTT'deki bu azalmanın FVIII'deki artışa bağlı olduğu düşünölmektedir. FVIII, vWF antijeni ve vWF ristosetin kofaktör aktivitesi egzersizle beraber 2,5 kat kadar artar ve artış egzersiz bitiminden sonra on saat kadar devam eder. FXII, FV, FVII, FII ve fibrinojen düzeylerinde belirgin değişiklik görülmez (67). Trombin düzeyinde görölen artış, orta derece egzersizde 30 dakika içinde gerçekleşir ancak bu artış, ağır egzersizde bile, referans aralıklar içerisinde kalır. D-dimer düzeyinde de artış görölür ve egzersiz sonrası bir saat kadar devam eder (68).

10.5. Menstrüel Siklus ve Hormon Replasman Tedavisi (HRT)

FII, FVII, FX, ATIII, APCR, plazminojen, D-dimer gibi hemostatik değişkenlerde menstrüelsiklus boyunca çok az değişiklik görülür (69-71). Bununla birlikte menstrüasyon döneminde görülen değişiklikler en çok luteal fazda gerçekleşir. Foliküler fazda; FVII ve FVIIa düzeyleri artarken, protein-S düzeyleri azalır. Luteal fazda; FVIII, vWF antijeni ve ristosetin kofaktör düzeyleri ve fibrinojen düzeyleri artar (63).

HRT etkileri, tedavinin östrojen içeriğine bağlıdır. Progesteronların tek başına etkileri konusunda net bilgi bulunmamaktadır. Kombine oral kontraseptiflerle indüklenen klasik APCR ve diğer hemostatik değişikliklerin derecesi progestinler tarafından modifiye edilir (72). Menopozdaki sağlıklı kadınlarda FVIII ve fibrinojen gibi koagülasyon faktörlerinde artış olduğu tespit edilmiştir. Bu etkiler yaş ve östrojen düzeyleri ile ilişkilidir (73). Menopozlu kadınlarda replasman tedavisine başlamanın, FI ve FII'yi artırarak, APCR'yive protein S düzeylerini azaltarak koagülasyon sistemini aktive ettiği bildirilmiştir (74, 75). HRT tedavisini transdermal olarak alanlarda koagülasyon süreçlerindeki değişiklik oral tedavi alanlara göre daha azdır (76).

10.6. Gebelik ve Koagülasyon

Hemostazın karmaşık süreci, gebelikte, doğum sırasında kanamayı engellemek nedeniyle gerçekleşen fizyolojik değişiklikler nedeniyle daha da karmaşıklaşır. Gebelik sürecinde koagülasyon sisteminde çoklu değişiklikler oluşur (77). Trombositlerdeki ve koagülasyon faktörlerindeki azalma uteroplasental tüketim ve dilüsyonel etkilerden kaynaklanır. Özellikle 3. trimester sürecinde yıkımın ve hemodilüsyonun artması nedeniyle bu azalış daha da belirginleşir. Bu değişikliklere rağmen rutin koagülasyon testlerinin sonuçlarında (PZ ve aPTZ) değişiklik gözlenmez veya hafifçe azalma gözlenir. Gebelikte, fibrinoliz süreci belirgin şekilde azalır. Fibrinojen düzeyi gebelik öncesine göre,%200'e kadar yükselir. Plasentadan salınan, plazminojen aktivatör inhibitör 1 ve 2 (PAI-1 ve 2) düzeyleri artar ve doku plazminojen aktivatörü düzeyi azalır. Ayrıca trombin-aktive edilebilir fibrinoliz inhibitördüzeyi 3. trimesterde belirgin artar. D-Dimer düzeyi gebelikte artar ancak bu artış, intravasküler koagülasyon artışından kaynaklı değildir (78). Gebelikte koagülasyon sistemindeki değişiklikler Tablo 3'te belirtilmiştir.

| Hemostaz parametreleri | Gebelik sürecindeki değişimler |
|---|--------------------------------|
| FII ve FV | Genellikle stabil |
| FVII | %1000 artış |
| FVIII, FIX, FXII,VWF,RCOA (ristosetin kofaktör) | %100'den fazla artış |
| FXI | Değişken(stabil yada artma) |
| FXIII | %50 artış |
| Protein-C | Genellikle stabil |
| Protein-S | %50 azalma |
| Fibrinojen | %100'den fazla artış |
| D-Dimer | %400 artış |
| t-PA aktivitesi | Azalma |
| PAI-1 ve 2 | Artma |
| Trombosit sayısı | %20 azalma |

Tablo 3. Gebelikte izlenen koagülasyon testlerindeki değişimler.

Öneriler:

- Kan alımından 24 saat önce yoğun fiziksel egzersizden kaçınılmalıdır.
- Kan alımadan önce 8-12 saatlik açlık önerilir.
- Koagülasyon testleri için kan alınmadan önce en az 2 saat sigara içilmemesi önerilir.
- Kombine oral kontraseptif ve HRT alan kadınlarda protein-S, protein-C ve APCR değerlendirilmesi için bu tedavilerin iki ay öncesinde bırakılması önerilir.
- vWF, FVIII eksikliği, protein S eksikliği gibi kalıtsal hastalıklar için numune alımı gerektiğinde, normal adet döngüleri başladığında ya da doğum sonrası en az iki ay içerisinde numuneler alınmalıdır. Gebelikle bağlantılı antifosfolipit antikorlarda dahil olmak üzere tüm anormal değerler tekrar kan alınarak doğrulanmalıdır.

10.7. İlaç, Gıda Takviyesi, Bitkisel İlaç Etkileşimleri

Koagülasyon test sonuçlarını değerlendirirken bireyin kullandığı ilaçların laboatuvar uzmanına bildirilmesi gerekliliği bu kılavuzun 3. ve 4.1 maddelerinde belirtilmiştir. Bireyin kullandığı ilaç, gıda takviyesi ve bitkisel ilaçların rutin biyokimyasal testler üzerine olası etkileri aşağıda **Tablo 4**'te verilmiştir.

| Etkenler | PT/INR (FI, FII, FV, FVII, FX eksikliğine duyarlı ve replasman takibinde kullanılabilir) (79) | aPTT (FI, FII, FV, FVIII, FIX, FX, FXI, FXII eksikliğine sensitif ve replasman takibinde kullanılabilir) (79) | Fibrinojen | Açıklama |
|---|---|---|------------|--|
| Varfarin (VKA) (80) (81) | ↑ | Hafif uzama | | INR ilaç düzeyi takibinde kullanılır. (azitromisin, siprofloksasin, klaritromisin, flukanazol ve diğer azol antifungaller, levofloksasin, metronidazol, trimetoprim/sulfametoksazol ile birlikte PT'de yükselme artar) |
| Heparin (LMWH) (80) | - | ↑ az duyarlı | | Trombin zamanında uzama ile birlikte kullanılabilir. İlaç düzeyi takibinde yetersiz |
| Heparin(UFH) (80) | -/hafif uzama | ↑ çok duyarlı | | PT, Trombin zamanında uzama çok sensitif. Anti-FXa ile birlikte ilaç düzeyi takibinde kullanılır |
| Kumarin (80) | ↑ | ↑ | | INR ilaç düzeyi takibinde kullanılır |
| Apiksaban (Faktör 10a inhibitörü) DOAK (81, 82) | değişken | ↑ | | PT'de cihaz ve reaktif bağımlı ilaç düzeyi takibinde Anti-FXa düzeyi kullanılır |

| | | | | |
|---|-----------------------|--------------------------------------|-----------|---|
| Dabigatran (Trombin inhibitörü) DOAK (83) | - | ↑ hafif, Lineer değil | | Anti FIIa ilaç düzeyi takibinde kullanılır (80). Trombin zamanı ile fibrinojen yüksekliği birlikte güvenilir bir takip yöntemi olabilir (83). |
| Rivaroksaban (Faktör 10a inhibitörü)DOAK (80) | ↑ (bazı reaktiflerde) | ↑ doz bağımlı, PTden daha az duyarlı | | İlaç düzeyi takibinde Anti-FXa düzeyi kullanılır |
| Amikasin (84) | - | ↑ | - | Trombin zamanında da değişiklik yok |
| Gentamisin (84) | - | ↑ | - | Trombin zamanında da değişiklik yok |
| Daptomisin (85) | ↑ | | | Siklik lipopeptit sınıfı antibiyotik |
| Tigesiklin (86) | ↑ | ↑ | ↓ | Geniş spektrumlu (iv) antibiyotik. Trombin zamanında uzama |
| N-metiltiyotetrazol yan zincir içeren antibiyotikler (87, 88) | ↑ | | | 2. ve 3. Jenerasyon sefalosporinler (Moksalaktam, sefape-razon) |
| Oritavansin (89) | ↑ | ↑ | | Lipoglikopeptit antibiyotik Fosfolipit içerikli reaktiflerde uzama doz bağımlı izlenir |
| Teikoplanin (90) | - | - | | |
| Metformin (91) | - | - | -/hafif ↓ | Fenofibrat ile kombinasyonda fibrinojen düşüklüğü belirgin (92). |

| | | | | |
|--|--------------------|-----|------------------------------|--|
| PCOS tedavisinde/antiandrojenik OKS+metformin (93) | ↓/↑ | -/↓ | ↑ | |
| Glukokortikoid (94) | | | Düşük dozda ↓/yüksek dozda ↑ | Doza bağımlı bifa-zik cevap |
| Arjininemi (üre siklusu bzk) (95) | ↑ | ↑ | | Düşük FVII ve FIX, normal FII ve FX ile seyreder |
| Balık yağı (PUFA) (96) | - | - | | Eikosapentatonika-sit+dokohekzaenoi-k asit (EPA-DHA) 52 hafta 1.5g/gün dozunda kullanım (8) trombosit ag-regasyonunu EPA erkeklerde, DHA kadınlarda daha etkili azaltır (11). |
| L-karnitin gıda desteği (97) | | | ↓ | 12 hafta 1000 mg/gün kullanımdan sonra FV, FVII, FIX ve protein C akti-vitesinde değişim yok |
| Gıda destekleri (98) | Klinik çalışma yok | | | Trombosit fonksi-yonunu ve koagü-lasyonu etkilediği bilinmekte olan sarımsak, ekinezya, zencefil, yeşil çay, balık yağının kana-ma riskini arttırdı-ğına dair bulgular var (11). |

| | | | | |
|---|---|--|---|--|
| Bitkisel ilaç+varfarin etkileşimi (99)* | ↑ | | | Kurt üzümü (Lyciumbarbarum)/ quilinggao/ boldo-çemen tohumu (boldo/fenugreek) karışımının varfarin ile birlikteliğinde görülür |
| Valproik asit (100) | | | ↓ | Tedaviye başladıktan sonra 6 ay içinde görülür |

Tablo 4. İlaç, gıda takviyesi, bitkisel ilaçlara bağlı oluşabilecek etkileşimler.

DOAK: direkt oral antikoagülanlar **VKA:** Vitamin K antagonistleri **OKS:** Oral kontraseptifler

* Bazı vaka raporlarında varfarin ile etkileştiği düşünülen bitkisel ürünler: Çin geveni (astragalus), çemen tohumu (boldo/fenugreek), tatlı su yosunu (klorella), kondroitin sülfat, melatonin, ko-enzim Q10,papain, kızılıçık, yaban mersini, avokado, ginseng, ginkgoblabo, sarı kantaron, kırmızı adaçayı, greyfurt suyu, yeşil çay, kurt üzümü (lyciumbarbarum), soya, cüce palmiye özütü (palmetto/ serenoarepens) (99).

KAYNAKLAR

1. Gale AJ. Continuing education course #2: current understanding of hemostasis. *Toxicol Pathol.* 2011;39(1):273–280. doi:10.1177/0192623310389474
2. Smythe MA, Priziola J, Dobesh PP, Wirth D, Cuker A, Wittkowsky AK. Guidance for the practical management of the heparin anticoagulants in the treatment of venous thromboembolism. *J Thromb Thrombolysis.* 2016;41(1):165–186. doi:10.1007/s11239-015-1315-2
3. Favaloro EJ, Funk DM, Lippi G. Pre-analytical variables in coagulation testing associated with diagnostic errors in haemostasis. *Lab Med.* 2012;43:1-10. doi: 10.1309/LM749BQETKYPYPM
4. CLSI H21 A5 Guideline, Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline-Fifth Edition, January 2008.
5. Favaloro EJ, Lippi G, Adcock DM. Preanalytical and postanalytical variables: the leading causes of diagnostic error in hemostasis?. *Semin Thromb Hemost.* 2008;34:612–634. doi:10.1055/s-0028-1104540
6. Favaloro EJ, McDonald D, Lippi G. Laboratory investigation of thrombophilia: the good, the bad, and the ugly. *Semin Thromb Hemost.* 2009;35:695–710. doi:10.1055/s-0029-1242723
7. Favaloro EJ, Mohammed S, Pati N, Ho MY, McDonald D. A clinical audit of congenital thrombophilia investigation in tertiary practice. *Pathology.* 2011;43(3):266–272. doi:10.1097/PAT.0b013e328344e5fc.
8. Nikolac N, Supak-Smolčić V, Simundić AM, Celap I; Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine. Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine: national recommendations for venous blood sampling. *Biochem Med (Zagreb).* 2013;23(3):242–254. doi:10.11613/bm.2013.031
9. Guder WG, Narayanan S. Pre-Examination Procedures in Laboratory Diagnostics: Preanalytical Aspects and Their Impact on the Quality of Medical Laboratory Results. De Gruyter; 2015. doi: [10.1515/9783110334043](https://doi.org/10.1515/9783110334043).
10. Harrison P, Mackie I, Mumford A, et al. Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function. *Br J Haematol.* 2011;155:30–44. doi:10.1111/j.1365-2141.2011.08793.x
11. Cattaneo M, Cerletti C, Harrison P, et al. Recommendations for the

Standardization of Light Transmission Aggregometry: A Consensus of the Working Party from the Platelet Physiology Subcommittee of SSC/ISTH J Thromb Haemost 2013; 11: 1183–9. doi:10.1111/jth.12231

12. Mullier F, Bailly N, Chatelain C, Chatelain B, Dogné JM. Pre-analytical issues in the measurement of circulating microparticles: current recommendations and pending questions. *J Thromb Haemost.* 2013;11:693–696. doi:10.1111/jth.12171

13. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Lima-Oliveira G, Guidi GC, Falavaro EJ. Quality standards for sample collection in coagulation testing. *Semin Thromb Hemost.* 2012;38:565–575. doi:10.1055/s-0032-1315961

14. Gosselin RC, Marlar RA. Preanalytical Variables in Coagulation Testing: Setting the Stage for Accurate Results. *Semin Thromb Hemost.* 2019;45:433–448. doi:10.1055/s-0039-1692700

15. Rapaport SI, Vermynen J, Hoylaerts M, et al. The multiple faces of the partial thromboplastin time APTT. *J Thromb Haemost.* 2004;2:2250–2259. doi:10.1111/j.1538-7836.2004.00994.x

16. Kratz A, Stanganelli N, Van Cott EM. A comparison of glass and plastic blood collection tubes for routine and specialized coagulation assays: a comprehensive study. *Arch Pathol Lab Med.* 2006;130:39–44. doi:10.1043/1543-2165(2006)130[39:ACOGAP]2.0.CO;2

17. Landt M, Wilhite TR, Smith CH. A new plastic evacuated tube with plasma separator. *J Clin Lab Anal.* 1995;9:101–106. doi:10.1002/jcla.1860090205

18. Hill BM, Laessig RH, Koch DD, Hassemer DJ. Comparison of plastic vs. glass evacuated serum-separator (SST) blood-drawing tubes for common clinical chemistry determinations. *Clin Chem.* 1992;38:1474–1478.

19. Bowen RA, Remaley AT. Interferences from blood collection tube components on clinical chemistry assays. *Biochem Med (Zagreb).* 2014;24:31–44. doi:10.11613/BM.2014.006

20. Flanders MM, Crist R, Rodgers GM. A comparison of blood collection in glass versus plastic Vacutainers on results of esoteric coagulation assays. *Lab Med* 2003;34:732-5. doi:10.1309/BMQHCD6B8984RLA3

21. Fairweather RB, Ansell J, van den Besselaar AM, et al. College of American Pathologists Conference XXXI on laboratory monitoring of anticoagulant therapy: laboratory monitoring of oral anticoagulant therapy. *Arch Pathol Lab Med.* 1998;122:768–781.

22. Chantarangkul V, Tripodi A, Clerici M, Negri B, Mannucci PM. Assessment of the influence of citrate concentration on the International Normalized Ratio (INR) determined with twelve reagent-instrument combinations. *Thromb Haemost.* 1998;80:258–262.

23. Adcock DM, Kressin DC, Marlar RA. Effect of 3.2% vs 3.8% sodium citrate concentration on routine coagulation testing. *Am J Clin Pathol.* 1997;107:105–110. doi:10.1093/ajcp/107.1.105

24. Duncan EM, Casey CR, Duncan BM, Lloyd JV. Effect of concentration of trisodium citrate anticoagulant on calculation of the International Normalised Ratio and the International Sensitivity Index of thromboplastin. *Thromb Haemost.* 1994;72:84–88.

25. Bennett ST, Lehman CM, Rodgers GM, eds. *Laboratory Hemostasis-A Practical Guide for Pathologists*. Basel: Springer International Publishing Switzerland; 2015. p.19-32. doi:10.1007/978-3-319-08924-9_2

26. Ridyard J, Bhavnani M, Seal LH. Laboratory control of oral anticoagulant therapy: preservation of prothrombin time specimens using a polypropylene collection system. *Clin Lab Haematol.* 1998;20:369–372. doi:10.1046/j.1365-2257.1998.00164.x

27. Peterson P, Gottfried EL. The effects of inaccurate blood sample volume on prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT). *Thromb Haemost.* 1982;47(2):101–103.

28. Reneke J, Ezzell J, Leslie S, Ng VL, Gottfried EL. Prolonged prothrombin time and activated partial thromboplastin time due to underfilled specimen tubes with 109 mmol/L (3.2%) citrate anticoagulant. *Am J Clin Pathol.* 1998;109:754–757. doi:10.1093/ajcp/109.6.754

29. Adcock DM, Kressin DC, Marlar RA. Minimum specimen volume requirements for routine coagulation testing: dependence on citrate concentration. *Am J Clin Pathol.* 1998;109:595–599. doi:10.1093/ajcp/109.5.595

30. Chuang J, Sadler MA, Witt DM. Impact of evacuated collection tube fill volume and mixing on routine coagulation testing using 2.5-ml (pediatric) tubes. *Chest.* 2004;126:1262–1266. doi:10.1378/chest.126.4.1262

31. Sharp MK, Mohammad SF. Scaling of hemolysis in needles and catheters. *Ann Biomed Eng.* 1998;26:788–797. doi:10.1114/1.65

32. Türk Biyokimya Derneği Venöz Kan Alma Kılavuzu. 2015, ISBN 978-605-87229-3-4.

33. Laxson CJ, Titler MG. Drawing coagulation studies from arterial lines: an integrative literature review. *Am J Crit Care*. 1994;3:16–24.
34. Raijmakers MT, Menting CH, Vader HL, van der Graaf F. Collection of blood specimens by venipuncture for plasma-based coagulation assays: necessity of a discard tube. *Am J Clin Pathol*. 2010;133:331–335. doi:10.1309/AJCP9ATB0AXPFJCC
35. Marlar RA, Potts RM, Marlar AA. Effect on routine and special coagulation testing values of citrate anticoagulant adjustment in patients with high hematocrit values. *Am J Clin Pathol* 2006;126:400–405.doi:10.1309/RRQKT-2JEYV33D19D
36. Siegel JE, Swami VK, Glenn P, Peterson P. Effect (or lack of it) of severe anemia on PT and APTT results. *Am J Clin Pathol* 1998;110:106–110. doi:10.1093/ajcp/110.1.106
37. Adcock Funk DM, Lippi G, Favaloro EJ. Quality standards for sample processing, transportation, and storage in hemostasis testing. *Semin Thromb Hemost* 2012;38:576–585. doi:10.1055/s-0032-1319768
38. van Geest-Daalderop JH, Mulder AB, Boonman-de Winter LJ, Hoekstra MM, van den Besselaar AM. Preanalytical variables and off-site blood collection: influences on the results of the prothrombin time/international normalized ratio test and implications for monitoring of oral anticoagulant therapy. *Clin Chem* 2005;51:561–568. doi:10.1373/clinchem.2004.043174.
39. Magnette A, Chatelain M, Chatelain B, Ten Cate H, Mullier F. Pre-analytical issues in the haemostasis laboratory: guidance for the clinical laboratories. *Thromb J* 2016;14:49.doi:10.1186/s12959-016-0123-z
40. Kitchen S, Olson JD and Preston FE, eds. *Quality in Laboratory Hemostasis and Thrombosis, Second Edition*. Oxford: John Wiley & Sons, Ltd; 2013. p. 45-56. doi. org/10.1002/9781118543467.ch5
41. Favaloro EJ, Soltani S, McDonald J. Potential laboratory misdiagnosis of hemophilia and von Willebrand disorder owing to cold activation of blood samples for testing. *Am J Clin Pathol*. 2004;122:686–692. doi:10.1309/E494-7DG4-8TVY-19C2
42. Lawrance JB. Preanalytical Variables in the Coagulation Laboratory. *Lab Med* 2003;34:49-57. doi: [10.1309/ER9P-64EB-MCFR-47KY](https://doi.org/10.1309/ER9P-64EB-MCFR-47KY).
43. Türk Biyokimya Derneği Tıbbi Laboratuvarlarda Santrifüj Kullanımı Kılavuzu. 2017, ISBN 978-605-87229-4..

44. Nelson S, Pritt A, Marlar RA. Rapid preparation of plasma for 'Stat' coagulation testing. *Arch Pathol Lab Med.* 1994;118:175–176.
45. Carroll WE, Wollitzer AO, Harris L, Ling MC, Whitaker WL, Jackson RD. The significance of platelet counts in coagulation studies. *J Med.* 2001;32:83–96.
46. Suchsland J, Friedrich N, Grotevendt A, et al. Optimizing centrifugation of coagulation samples in laboratory automation. *Clin Chem Lab Med.* 2014;52:1187–1191. doi:10.1515/cclm-2014-0038
47. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Manzato F, Guidi GC. Influence of the centrifuge time of primary plasma tubes on routine coagulation testing. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2007;18:525–528. doi:10.1097/MBC.0b013e-3281eec945
48. Heil W, Grunewald R, Amend M, Heins M. Influence of time and temperature on coagulation analytes in stored plasma. *Clin Chem Lab Med.* 1998;36:459–462. doi:10.1515/CCLM.1998.077
49. Neofotistos D, Oropeza M, Ts'ao CH. Stability of plasma for add-on PT and APTT tests. *Am J Clin Pathol.* 1998;109:758–763. doi:10.1093/ajcp/109.6.758
50. Adcock D, Kressin D, Marlar RA. The effect of time and temperature variables on routine coagulation tests. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 1998;9:463–470. doi:10.1097/00001721-199809000-00002
51. Woodhams B, Girardot O, Blanco MJ, Colesse G, Gourmelin Y. Stability of coagulation proteins in frozen plasma. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2001;12:229–236. doi:10.1097/00001721-200106000-00002
52. D'Angelo G, Villa C, Tamborini A, Villa S. Evaluation of the main coagulation tests in the presence of hemolysis in healthy subjects and patients on oral anticoagulant therapy. *Int J Lab Hematol.* 2015;37:819–833. doi:10.1111/ijlh.12417
53. Cadamuro J, Lippi G, von Meyer A, Ibarz M, van Dongen E, Cornes M, et al. European survey on preanalytical sample handling - Part 2: Practices of European laboratories on monitoring and processing haemolytic, icteric and lipemic samples. On behalf of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for the Preanalytical Phase (WG-PRE). *Biochem Med (Zagreb).* 2019;29:020705. doi: 10.11613/BM.2019.020705.

54. Lippi G, Plebani M, Favaloro EJ. Interference in coagulation testing: focus on spurious hemolysis, icterus, and lipemia. *Semin Thromb Hemost.* 2013;39:258–266. doi:10.1055/s-0032-1328972.

55. Nougier C, Jousset E, Sobas F, Pousseur V, Négrier C. Effects of hemolysis, bilirubin, and lipemia interference on coagulation tests detected by two analytical systems. *Int J Lab Hematol.* 2020;42:88–94. doi:10.1111/ijlh.13147.

56. Mustard JF, Murphy EA. Effect of different dietary fats on blood coagulation, platelet economy, and blood lipids. *Br Med J.* 1962;1:1651–1655. doi:10.1136/bmj.1.5293.1651

57. Hyson DA, Paglieroni TG, Wun T, Rutledge JC. Postprandial lipemia is associated with platelet and monocyte activation and increased monocyte cytokine expression in normolipemic men. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2002;8:147–155. doi:10.1177/107602960200800211

58. Budkowska M, Lebiecka A, Marcinowska Z, Woźniak J, Jastrzębska M, Dołęgowska B. The circadian rhythm of selected parameters of the hemostasis system in healthy people. *Thromb Res.* 2019;182:79–88. doi:10.1016/j.thromres.2019.08.015

59. Haus E. Chronobiology of hemostasis and inferences for the chronotherapy of coagulation disorders and thrombosis prevention. *Adv Drug Deliv Rev.* 2007;59:966–984. doi:10.1016/j.addr.2006.11.002

60. Kanabrocki EL, Sothorn RB, Messmore HL, et al. Circadian interrelationships among levels of plasma fibrinogen, blood platelets, and serum interleukin-6. *Clin Appl Thromb Hemost.* 1999;5:37–42. doi:10.1177/107602969900500108.

61. Lippi G, Salvagno GL, Lima-Oliveira G, Danese E, Favaloro EJ, Guidi GC. Influence of posture on routine hemostasis testing. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2015;26:716–719. doi:10.1097/MBC.0000000000000326.

62. Dixon M, Paterson CR. Posture and the composition of plasma. *Clin Chem.* 1978;24:824–826.

63. Blombäck M, Konkle BA, Manco-Johnson MJ, et al. Preanalytical conditions that affect coagulation testing, including hormonal status and therapy. *J Thromb Haemost.* 2007;5:855–858. doi:10.1111/j.1538-7836.2007.02401.x

64. van den Burg PJ, Hospers JE, van Vliet M, Mosterd WL, Bouma BN, Huisveld IA. Changes in haemostatic factors and activation products after exer-

cise in healthy subjects with different ages. *Thromb Haemost.* 1995;74:1457–1464.

65. DeSouza CA, Jones PP, Seals DR. Physical activity status and adverse age-related differences in coagulation and fibrinolytic factors in women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18:362–368. doi:10.1161/01.atv.18.3.362.

66. Millar Craig MW, Mann S, Balasubramanian V, Raftery EB. Blood pressure circadian rhythm in essential hypertension. *Clin Sci Mol Med Suppl.* 1978;4:391s–393s. doi:10.1042/cs055391s.

67. Andrew M, Carter C, O’Brodivich H, Heigenhauser G. Increases in factor VIII complex and fibrinolytic activity are dependent on exercise intensity. *J Appl Physiol* (1985). 1986;60:1917–1922. doi:10.1152/jappl.1986.60.6.1917.

68. Weiss C, Seitel G, Bärtisch P. Coagulation and fibrinolysis after moderate and very heavy exercise in healthy male subjects. *Med Sci Sports Exerc.* 1998;30:246–251. doi:10.1097/00005768-199802000-00012.

69. Blombäck M, Eneroth P, Landgren BM, Lagerström M, Anderson O. On the intraindividual and gender variability of haemostatic components. *Thromb Haemost.* 1992;67:70–75.

70. Siegbahn A, Od lind V, Hedner U, Venge P. Coagulation and fibrinolysis during the normal menstrual cycle. *Ups J Med Sci.* 1989;94:137–152. doi:10.3109/03009738909178559.

71. Wramsby ML, Bokarewa MI, Blombäck M, Bremme AK. Response to activated protein C during normal menstrual cycle and ovarian stimulation. *Hum Reprod.* 2000;15:795–797. doi:10.1093/humrep/15.4.795.

72. Kemmeren JM, Algra A, Meijers JC, Bouma BN, Grobbee DE. Effects of second and third generation oral contraceptives and their respective progestagens on the coagulation system in the absence or presence of the factor V Leiden mutation. *Thromb Haemost.* 2002;87:199–205.

73. Meade TW, Haines AP, Imeson JD, Stirling Y, Thompson SG. Menopausal status and haemostatic variables. *Lancet.* 1983;122–24. doi:10.1016/s0140-6736(83)91562-3.

74. Caine YG, Bauer KA, Barzegar S, et al. Coagulation activation following estrogen administration to postmenopausal women. *Thromb Haemost.* 1992;68:392–395.

75. Luyer MD, Khosla S, Owen WG, Miller VM. Prospective randomized

study of effects of unopposed estrogen replacement therapy on markers of coagulation and inflammation in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:3629–3634. doi:10.1210/jcem.86.8.7768

76. Scarabin PY, Alhenc-Gelas M, Plu-Bureau G, Taisne P, Agher R, Aiach M. Effects of oral and transdermal estrogen/progesterone regimens on blood coagulation and fibrinolysis in postmenopausal women. A randomized controlled trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17:3071–3078. doi:10.1161/01.atv.17.11.3071

77. Bremme K, Ostlund E, Almquist I, Heinonen K, Blombäck M. Enhanced thrombin generation and fibrinolytic activity in normal pregnancy and the puerperium. *Obstet Gynecol.* 1992;80:132–137.

78. Bremme KA. Haemostatic changes in pregnancy. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2003;16:153–168. doi:10.1016/s1521-6926(03)00021-5

79. Green D. Interpreting coagulation assays. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2010;21 Suppl 1:S3-6. doi: 10.1097/01.mbc.0000388935.77612.d0.

80. Favaloro EJ, Lippi G. The new oral anticoagulants and the future of haemostasis laboratory testing. *Biochem Med (Zagreb).* 2012;22:329-41. doi: [10.11613/bm.2012.035](https://doi.org/10.11613/bm.2012.035)

81. Funk DM. Coagulation assays and anticoagulant monitoring. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2012(1):460–465. doi: [10.1182/asheducation.V2012.1.460.3798662](https://doi.org/10.1182/asheducation.V2012.1.460.3798662)

82. Guadarrama DS, DeMarinis SM, Sweeney JD. Coagulation assays in a case of apixaban overdose. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2018 ;29:231-235. doi: 10.1097/MBC.0000000000000706.

83. Stang L, Nahirniak S, Butcher K, Szkotak AJ. Dabigatran assessment in patients with acute complications using routine coagulation assays. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2014;25:426-34. doi: 10.1097/MBC.0000000000000056.

84. Chen G, Fei X, Ling J. The effects of aminoglycoside antibiotics on platelet aggregation and blood coagulation. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2012 ;18:538-41. doi: 10.1177/1076029611430955.

85. Hashimoto H, Saito M, Kanda N, Yamamoto T, Mieno M, Hatakeyama S. Dose-dependent effect of daptomycin on the artificial prolongation of prothrombin time in coagulation abnormalities: in vitro verification. *BMC Pharmacol Toxicol.* 2017 28;18:74. doi: 10.1186/s40360-017-0180-3.

86. Zhang Q, Zhou S, Zhou J. Tigecycline treatment causes a decrease in fibrinogen levels. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59:1650-5. doi: 10.1128/AAC.04305-14.

87. Schentag JJ, Welage LS, Grasela TH, Adelman MH. Determinants of antibiotic-associated hypoprothrombinemia. *Pharmacotherapy.* 1987;7:80-6.

88. Aziz F, Patil P. Role of prophylactic vitamin K in preventing antibiotic induced hypoprothrombinemia. *Indian J Pediatr.* 2015;82:363-7. doi: 10.1007/s12098-014-1584-3.

89. Belley A, Robson R, Francis JL, Adcock DM, Tiefenbacher S, Rubino CM, Moeck G, Sylvester D, Dudley MN, Loutit J. Effects of Oritavancin on Coagulation Tests in the Clinical Laboratory. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;24:61. pii:e01968-16. doi: 10.1128/AAC.01968-16.

90. Agnelli G, Longetti M, Gueriolini R, Menichetti F, Grasselli S, Boldrini F, Bucaneve G, Nenci GG, Del Favero A. Effects of the new glycopeptide antibiotic teicoplanin on platelet function and blood coagulation. *Antimicrob Agents Chemother.* 1987;31:1609-12.

91. Markowicz-Piasecka M, Huttunen KM, Mateusiak L, Mikiciuk-Olasik E, Sikora J. Is Metformin a Perfect Drug? Updates in Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. *Curr Pharm Des.* 2017;23:2532-2550. doi: 10.2174/1381612822666161201152941.

92. Krysiak R, Gdula-Dymek A, Okopień B. Effect of metformin on selected parameters of hemostasis in fenofibrate-treated patients with impaired glucose tolerance. *Pharmacol Rep.* 2013;65:208-13. doi: 10.1016/s1734-1140(13)70980-0

93. Luque-Ramírez M, Mendieta-Azcona C, del Rey Sánchez JM, Maties M, Escobar-Morreale HF. Effects of an antiandrogenic oral contraceptive pill compared with metformin on blood coagulation tests and endothelial function in women with the polycystic ovary syndrome: influence of obesity and smoking. *Eur J Endocrinol.* 2009;160:469-80. doi: 10.1530/EJE-08-0725.

94. Isidori AM, Minnetti M, Sbardella E, Graziadio C, Grossman AB. Mechanisms in endocrinology: The spectrum of haemostatic abnormalities in glucocorticoid excess and defect. *Eur J Endocrinol.* 2015;173:R101-13. doi: 10.1530/EJE-15-0308.

95. Kiykim E, Zubarioglu T, Cansever MS, Celkan T, Häberle J, Aktuglu Zeybek AC. Coagulation Disturbances in Patients with Argininemia. *Acta Hae-*

matol. 2018;140:221-225. doi: 10.1159/000493678.

96. Jeansen S, Witkamp RF, Garthoff JA, van Helvoort A, Calder PC. Fish oil LC-PUFAs do not affect blood coagulation parameters and bleeding manifestations: Analysis of 8 clinical studies with selected patient groups on ome a-3-enriched medical nutrition. *Clin Nutr.* 2018;37:948-957. doi:10.1016/j.clnu.2017.03.027.

97. Hakeshzadeh F, Tabibi H, Ahmadinejad M, Malakoutian T, Hedayati M. Effects of L-Carnitine supplement on plasma coagulation and anticoagulation factors in hemodialysis patients. *Ren Fail.* 2010;32:1109-14. doi: 10.3109/0886022X.2010.510617.

98. Olas B. Dietary Supplements with Antiplatelet Activity: A Solution for Everyone? *Adv Nutr.* 2018;9:51-57. doi: 10.1093/advances/nmx014.

99. Javed F, Golagani A, Sharp H. Potential effects of herbal medicines and nutritional supplements on coagulation in ENT practice. *J Laryngol Otol.* 2008;122(2):116-9.

100. Kumar R, Vidaurre J, Gedela S. Valproic Acid-Induced Coagulopathy. *Pediatr Neurol.* 2019;98:25-30. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2019.04.019.



**Türk Biyokimya
Derneği**

ISBN: 978-605-87229-8-9

Bu kılavuz BD'nin koşulsuz desteği ile basılmıştır.