



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



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, LİPEMI 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 pihti oluşumu ve doku tamiri ile devam eden süreçleri içerir. Hemostaz sisteminin ana elemanları; damar endotel hücreleri, trombositler, Von Willebrand Faktör (VWF), doku faktörü, pihtlaşma proteinleri, fibrinolitik sistem ve antikoagülan proteinlerdir. Damar hasarı meydana geldiğinde trombositler hızlı bir şekilde fibrin tıkaçı oluşturarak kan kaybını önler ve damar bütünlüğünü sağlayacak mekanizmalar sırası ile devreye girer. Pihtlaşma 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 üçüncü (tersiyer) olmak üzere üç evrede gerçekleşir. Primer hemostaz, damar endoteli trombositler ve vWF aracılığı ile gerçekleşen adezyon ve agregasyonu, sekonder hemostaz ise plazma pihtlaşma 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 sayımidır. Sekonder hemostaz testleri olarak da bilinen protrombin zamanı (PZ), uluslararası normalleştirilmiş oran (INR), ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTZ) klinik laboratuvarlarda sıkılıkla çalışılan koagülasyon testlerindendir. 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 F1, 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 antagonistleri 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 antikoagülanı (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 protokoller 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 etkileyecektir ve hastaya ait sonucun hatalı raporlanması neden olacaktır. Özellikle oral antikoagülen kullanan hastalarda antikoagülen ilaç dozu bu sonuçlara göre ayarlandığı için koagülasyon testlerindeki hatalar hayatı önem taşımaktadır (3).

Bu ulusal kılavuz, plazma kullanılarak yapılan tarama amaçlı ve özellikle 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 tanımlamakta ve öneriler içermektedir. Ayrıca bu kılavuz koagülasyon testleri üzerinde etkili olabilecek fizyolojik durumları ve ilaç etkileşimlerini de değerlendirmektedir. Hemostaz sisteminin değerlendirilmesinde kullanılan moleküller 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 inaktivatorudur.

Anti-faktör X(Heparin): Heparin çeşitli konumlarında sülfat kökleri içeren idorinük asit ve D-glukozaminden oluşmuş bir polisakkartittir. Hem standart hem de düşük molekül ağırlıklı heparin antitrombin'e bağlanarak FXa'yi inaktiv 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 antikoagülen cevabı ile karakterizedir.

Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı (aPTZ, aPTT): İntrensek yolak ve ortak yolaktaki faktörlerin fonksiyonunu belirlemede kullanılır. Bu yolaklar daki faktörlerin eksiklikleri veya onlara karşı gelişmiş antikor varlığında uzamış bulunur. Bu testte plazmaya kalsiyum ve parsiyel tromboplastin (doku faktörü) eklenecek, intrensek fibrin pihtısı 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 pihtısının plazmin tarafından yıkılması sonucu oluşur.

Faktör I (fibrinojen): Fibrinin çözünebilir öncülü olan fibrinojen, karaciğerde sentezlenen, 340 kDa ağırlığında bir proteindir. Fibrinojen, fibrin pihtısı oluşumunda primer substrattır. Karaciğerde sentezlenen bir glikoproteindir. Trombin etkisiyle görünür pihti 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. Pihtlaşma sürecindeki rolü, zimojen protrombinden trombin oluşumunun başlatılmasıdır.

Faktör IV (kalsiyum): Koagülasyon faktörlerinin fosfolipitlere bağlanması 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 gereklidir.

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

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

Faktör X (Stuart Faktör, Prower Faktör, Stuart-Prower Faktör): Karaciğerde sentezlenir. Aktif şekele 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], antihemophilic Faktör C): Karaciğerde sentezlenir. İntrinsic koagülasyon yolunda FXII ve FIX'u aktif hale getirir.

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

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

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

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

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

LA doğrulama: Lupus tarama testinin uzaması durumunda lupus antikoagulan 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): Pihtlaşmanın ortak ve ekstrinsik yolunu değerlendirmede kullanılan bir testtir. Bu teste plazmaya kalsiyum ve tromboplastin (doku faktörü) eklenecek, ekstrinsik yoldan fibrin pihtısı oluşana dek geçen süre ölçülür.

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

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

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

3. AKILCI KOAGÜLASYON TEST İSTEMİ

Uygunuz 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 aPTT temelli bir lupus antikoagülan tarama testi kullanılıyorsa LA tanısının atlanması 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 trombofilin değerlendirilmesi için istenen testlerin 1/3'ünün varfarin ve/heparin tedavisi alan hastalardan istendiğini veya numuneye heparin bulaştığını ve bu nedenle bu numunelerin yüksek hatalı tanı potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Başka bir açıdan bakıldığından, anormal trombofili test sonuçlarının, %80'inden fazlası, antikoagülan tedavi sırasında istenen uygunsuz testin bir yansımı 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 özellikle 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

Koagülaston 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 koagülaston ve fibrinoliz takibi için isteniyorsa, mümkünse, günün hep aynı zaman diliminde numune alınması önemlidir (13).

Öneri:

Koagülaston 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

Koagülaston testleri için kullanılan tüpler açık mavi renkli kapak ile tanımlanmış olup antikoagülan olarak sitrat içermektedir (13). Pihtlaşma temelli testler için tüm numuneler, aktivatör içermeyen yüzeye sahip tüplere alınmalıdır (4). Plazmada analiz edilen pihtlaşma 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 koagülaston analiz sonuçlarında farklılıklar olabileceği akılda tutulmalıdır (14).

4.2.1 Cam Tüpleri

Yüksek kaliteli camdan üretilmiş tüplerin yüzeyi koagülaston kaskatını aktive etme özelliğine sahiptir. Bunu önlemek için cam tüpler siliyonize edilirler (4,15). Koagülaston testleri için cam tüpler geçmişte daha sıkılıkla kullanılırken, cam tüplerin kırılabilme 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 kullanılmaktadır.

Plastik tüpler, polietilen tetrafitalat (PET) gibi poliesterler, polietilen ve polipropilen (PP) gibi poliolefinler, poliakrililik, politetrafloroetan, polisilosan, polivinil klorid, poliakrilonitril ve polistrenden üretilirler (19). Bununla birlikte plastik tüplerin cam tüplere göre gaz geçirgenliği daha fazladır. Kırılmaz ve daha uzun süre vakum sağlaması 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 çözeltisinin 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 pihtlaşma 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 sağlama-lıdır (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 çalıştırılmasında en sık kullanılan antikoagülan sitratdır. Tüp içindeki sitrat, çözünür bir kompleks oluşturmak için plazmada var olan kalsiyumu hızla bağlayarak pihti oluşumunu engeller. Pihtlaşma temelli testlerde, reaksiyon ortamına kalsiyum eklenmesinin ardından, pihti oluşumu için geçen süre takip edilerek raporlanır. Bu nedenle koagülasyon testleri için kullanılan tüplerdeki sitrat konsantrasyonu, pihtlaşma 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 trihydrate 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, pihtlaşma 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 teofillin, adenozin ve dipiridamol (CTAD) içeren 109 mmol/L'lik tamponlu sodyum sitratlı tüpler de koagülasyon testlerinde kullanılabilir. Diğer antikoagülanlar (okzalat, heparin veya EDTA) hiçbir şekilde kullanılamaz (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 metodda sitrat konsantrasyonuna bağlı referans aralık farklılığını 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.

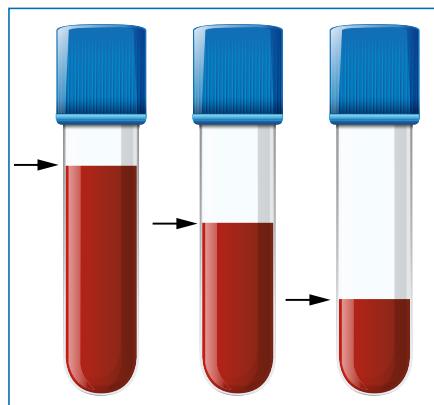
4.3.1 Kan /Antikoagülen Oranı

Koagülasyon testleri için kan/antikoagülen sitrat oranı 9:1'dir. Kan alma tüplerinin yetersiz veya aşırı dolumu, bu oranı değiştireceğinden doğru olmayan test sonuçlarının alınmasına neden olabilir (27-29).Tİpe alınan kan hacmi azaldığında, kan/antikoagülen oranı 9:1'in altına düşeceğinden, testlerin pihtlaşma süresi uzayacaktır. Bu etki %3.2'lik sodyum sitratlı tüplerle %3.8'lik tüplerde benzerdir (23). Doğru test sonuçları için gerekli olan kan/antikoagülen oranının sağlanması için, üretici firma tarafından belirlenmiş kan miktarının (dolum çizgisinde) alınmasına dikkat edilmelidir. Genel yaklaşım nominal (optimum) tüp dolum çizgisinin $\pm 10\%$ 'una kadar (%90-%110) kan ile doldurulabileceği yönündedir (4). Pediatrik (yani 2 mL veya daha az hacimli) 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). Sitratın uçucu olması ve açık toplama esnasında dökülkerek doğru kan katkı maddesi oranını sağlamayı tehlkiye atabileceğinden pediatrik tüplerde de açık toplama yapılmamalıdır. Doku tromboplastinin etkisinden ötürü yanlış sonuçlar alınabileceğinden kapiler toplamadan uzak durulmalı yalnızca venöz kan alma yapılmalıdır. 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).

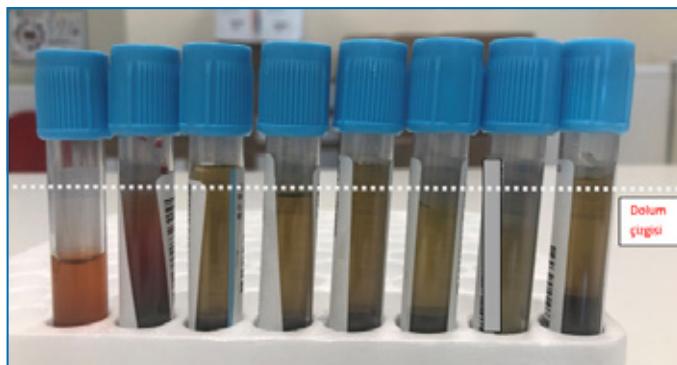
Bazı tüplerde eksik dolumun tespitini kolaylaştırmak üzere nominal çizgi (%100) yerine minimum dolum çizgisi (%90) bulunabileceği de akılda tutulmalıdır. Bu durumda minimum dolum çizgisi altında kalan tüm örnekler ($<90\%$) reddedilmelidir.

Öneri:

- Doğru kan/antikoagülan oranının sağlanmasıında, 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**).
- Sitratın uçucu olması ve açık toplama esnasında dökülkerek doğru kan katkı maddesi oranını sağlamayı tehlkiye atabileceğinden pediatrik tüplerde de açık toplama yapılmamalıdır.
- Doku tromboplastinin etkisinden ötürü yanlış sonuçlar alınabileceğinden kapiler toplamadan uzak durulmalı yalnızca venöz kan alma yapılmalıdır.



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 ve hatalı alınmış numuneler.

4.4. Kan Alma İğnesi

Kan alma seti üreticileri iğneleri de kan tüpleri ile birlikte üretilmektedirler. İğnelerde hemolize ve in vitro pihtlaşmanın aktivasyonuna neden olabilecek iğne iç yüzeyindeki pürüzleri ortadan kaldırmak için yeni üretim teknikleri geliştirmektedirler. Venöz kan alırken, kan alma iğnesinin büyülüğu alınacak kan miktarına, hastanın yaşına ve hastanın ven çapına göre belirlenmelidir. Antekübital veden kan almak için 19-21 (gauge, G) ölçü numaralı iğneler idealdir, yenidoğan ve çocuklarda ve ince vene sahip yetişkinlerde daha küçük ölçülu 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 olabileceğiinden tercih edilmemelidirler (31). Küçük ölçü numaralı yani büyük çaplı iğnelerde ise tam kan numunelerinde türbulansa 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 periferal 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, tımkıte 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 periferal) 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 almış sırası, kullanılacak ekipmanların özellikleri ve tüp dolum hacmi konusunda eğitim almış olması gerekmektedir.

Öneri:

- Kan alma elemanlarına özellikle 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 etkileyebilecek olan pihti aktivasyonu ile oluşacak mikro pihtılardan ve diğer katkı maddesi içeren tüplerden bulaşma olasılığını en aza indirmek için, sitratlı tüplere kan numunesi, Venöz Kan Alma Kılavuzu’nda da belirtildiği 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 ıskarta tüp uygulamasına (bir miktar kanın başka bir tüpe alınarak atılması) ihtiyaç olmadığı gösterilmiştir (4, 13). Koagülasyon testleri için ıskarta tüpün kullanımı sadece kelebek set kullanılarak gerçekleştirilen kan alma işlemleri için kelebek set içeirisindeki havanın oluşturacağı hacim farkını ortadan kaldırmak için kullanılmalıdır (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 önerilmemişsurece, kan alındıktan hemen sonra 3-6 kez alt-üst edilerek, karıştırılmışmalıdır. Tüpler sallanmamalı veya şiddetle çalkalanmamalıdır. Aşırı karıştırma hemoliz ve/veya trombosit kümelenmesine ve aktivasyonuna neden olarak koagülasyon testlerinde hatalı sonuçlara yol açabilir (4).

Öneri:

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

4.5.5. Hematokrit Değerine Göre Sitrat Konsantrasyonunun Düzeltilmesi

Hematokrit değeri yüksek olan numunelerde, koagülasyon testleri için gereklili 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 pihtlaşma temelli ölçümleerde, fazla kalsiyumun bağlanması ve var olan sıvı antikoagülan nedeniyle dilüsyon etkisine neden olarak pihtlaşma 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).

Tüpde 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 koagülyasyon testlerinin etkilenmediği dolayısıyla sitrat konsantrasyonunun düzeltilemesine ihtiyaç olmadığı bildirilmiştir (36).

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

%Hct	Tüp te kalması gereken sitrat hacmi (mL)	Olması 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.

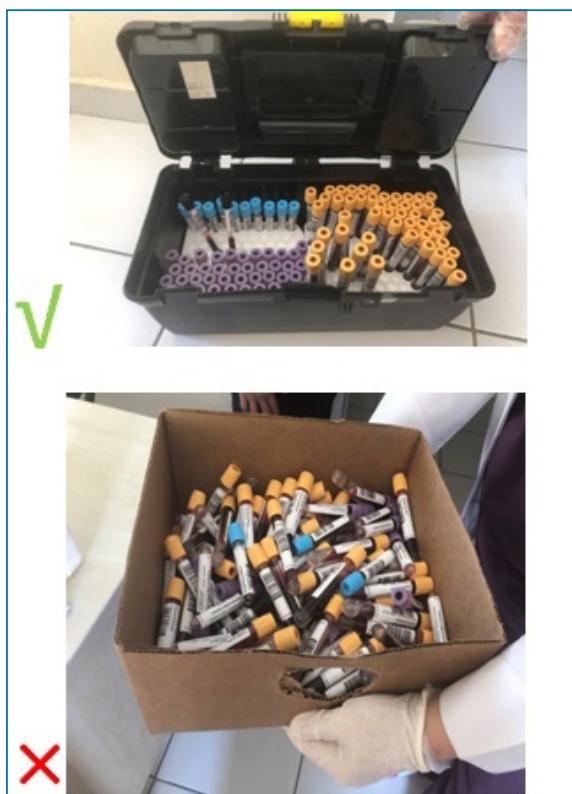
Öneri:

- Hematokrit değeri >%55 olan hastalar için koagülyasyon test sonucu verilmemeli ve rapora; "Yüksek hematokrit (%XX) değeri nedeniyle, koagülyasyon 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 yapılması uygundur" şeklinde bir yorum eklenmelidir.
- Koagülyasyon testleri çalışıldıktan sonra sonuç raporunda; "Koagülyasyon testleri, hastadaki yüksek hematokrit değeri nedeniyle (%XX), düzeltilmiş sitrat konsantrasyonuna sahip plazmadan çalışılmıştır." şeklinde bir yorum yer almmalıdır.

5. NUMUNELERİN TAŞINMASI

5.1. Koagülasyon Testleri İçin Numunelerin Taşınması

Koagülasyon testleri için venöz kan alımından sonra, numuneler mümkün olan en kısa sürede (<4 saat) oda sıcaklığında laboratuvara ulaştırılmalıdır. Taşınma 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 stabbildir (4, 37). Tüm koagülasyon testleri için, numuneler alındıktan sonra tüplerin kapakları açılılmamalıdır. Bu, numunelerde taşıma güvenliğini sağladığı gibi, pH artışına ve dolayısıyla PZ ve aPTZ sonuçlarında uzamaya neden olabilen CO_2 kaybını azaltır. Numuneler kan tüplerini sabit ve dikey pozisyonda tutan bir taşıma çantası ile taşınmalı, taşıırken numunelerin sarsılmamalarına 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 dönüşülerden 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 yıkalabilir (39). Bu faktörlerin kaybı, sıcaklık artışıyla hızlanır ve numune alımından 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 konusuya, plazma ayrılmalı ve 4 saat içinde ilgili laboratuvara transferi gerçekleştirilerek çalışılmalıdır (42).

6. NUMUNE RET KİTERLERİ

Zorunlu olarak reddilmesi gereken numuneler:

- Hatalı tüpe alınmış numuneler (uygun olmayan antikoagülen içeren veya antikoagülen içermeyen numuneler)
- Miadı geçmiş tüplere alınmış numuneler
- Gerekli kan/antikoagülen oranının bozulduğu yetersiz/fazla hacimde alınmış numuneler
- Pihtılı 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 red-dedilmelidir. 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 pihti varlığı açısından kontrol edilmelidir. Bu kontrol noktalarının birindeki olumsuzluk, numunenin reddedilmesini gerektirir (13, 29). Her numunenin pihti varlığı açısından kontrol edilmesi zor olabilir. Hatta bazen, koagülasyon test sonuçlarını etkileyebilen mikro pihti varlığı gözden kaçabilir. Bu nedenle beklenmeyen PZ ve/veya aPTZ sonuçları elde edildiğinde tüplerde pihti olabileceği akılda tutulmalıdır (37).

Öneri:

- Numune kabul bölümündeki elemanlar, santrifüj işleminden önce, geçen numuneyi, barkodun doğruluğu, tüpün son kullanma tarihi, numune miktarı ve pihti 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 ($18\text{--}25^{\circ}\text{C}$), 1500 g'de 15 dakika santrifüj edilmesiyle elde edilen plateetten fakir plazmada (PFP) gerçekleştirilir. Genellikle elde edilen numunede, trombosit sayısı $<10 \times 10^9/\text{L}$ ($10\ 000/\mu\text{L}$) 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 kullanılabileceği söylenmektedir (44). Ancak yüksek santrifüj hızının eritrositlerde hemolize, trombositlerde ise aktivasyona neden olarak, koagülasyon testlerini

etkileyebileceği akılda tutulmalıdır (4, 39). Taze plazma numunesinden yapılan aPTZ, PZ/INR, fibrinojen ve D-Dimer testlerinin $>200 \times 10^9 / L$ (200 000/ μL)'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/ μL) 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 kanörneğinin 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 antikoagulanları maskeleyebilir ve yalancı negatif sonuçların alınmasına neden olabilir.

Öneri:

- Eğer koagülasyon testleri hemen çalışmayıp 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.) kullanılmayacaksız kapağı kapalı tutulmalıdır (4). Koagülasyon testleri için numune mümkün olduğunda 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 kararlılıklar ile ilgili CLSI H21 A5 kılavuzu ile yapılan kararlılık çalışmalarında farklı bilgiler bulunmaktadır (Tablo 2).

	Tam kan numunesinin kararlılığı	
Test adı	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'İN 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 yayılarda her ne kadar 24 saatte kadar uzasa da numune kararlılığı, kan alma tüpü, koagüometre, 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 olabileceğiinden dikkatli olunmalıdır (4, 38). Buzdolabında saklama (2-8°C'de) FVII'nin soğuk ile aktivasyonuna ve PZ sonuçlarında değişikliklere neden olabileceğiinden 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 (anfraksiyonel) heparin kullanmayan hastalarda aPTZ ve çoğu özellikli koagülasyon testi (faktör ölçümü, 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 saatı geçecek olursa laboratuvar tarafından, normal ve patolojik aPTZ numunelerini içeren hasta serisinde, bu sürenin test sonuçlarına olan etkisi açısından doğrulanması gereklidir. Aynı doğrulama çalışmasında FV ve FVIII aktivitelerinin yapılması 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 ölçümü, 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 özelilikli koagülasyon testleri için 4 saatten daha kısa sürede çalışılamayacaksa, 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 gereklidir. 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 çalışılması yukarıda belirtilen süreleri geçeceklese, plazma numunesi ayrıldıktan sonra <2 hafta depolama için -20°C'da, daha uzun depolamalar için <- 70°C'da saklanmalıdır.

8.3. Dondurma - Çözme İşlemleri

Genellikle, koagülasyon testleri için numunenin bir kez dondurulup çözülmerek 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 söylemektedir (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 çözünmemiş 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 çözürme 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 TESTLERİNE HEMOLİZ, İKTER, LİPEMI İNTERFERANSI

Hemoliz, ikter ve lipemi tam kandaki plazma içeriğine, test prensibine ve cihaz özelliğine göre ışık geçişini interferere 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, damarçı yaygın koagülasyon, transfüzyon reaksiyonları gibi) in vivo ve kan alınması ve sonrasında aşamalarda in vitro koşullarda oluşabilir. Genellikle in vitro olarak değerlendirilir ve preanalitik evrede örnek kalitesinin izlenmesinde göstergeli olarak kullanılır (53). Her koagülasyon testi elde edilen plazma örneğinin kalitesine son derece bağımlıdır (13).

Hemoliz ile eritrosit içi veya zar bileşenlerinin salınması (fosfolipitler, enzimler, proteinler, ADP vb), in vitro primer ve sekonder hemostazi aktive veya inhibe edebilir. Ayrıca serbest hemoglobin, spektrotometrik olarak veya yalancı peroksidaz aktivitesine bağlı olarak interferans yaratabilir. Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü yönergeleri (CLSI) görünür hemolizli tüm örneklerin olası pihtlaşma faktörlerinin aktivasyonu ve son nokta ölçüm interferansları nedeniyle çalışmamasını tavsiye eder (13). Hemolizin yarattığı interferans için birden fazla teori vardır. Hemolizin pihtlaşma faktörlerini aktive etmesine ve sonuçları kısıtlamasına neden olabilecek bir doku faktörü kaynağı sağladığı öne sürüülür. Diğer bir teori de hemoliz sürecinin koagülasyon reaktifleriyle rekabet etmesi ve pihtlaşma sonuçlarının uzamasına neden olmasıdır (52). Bu etkileşimler ister fotooptik ister elektromekanik son nokta ölçüm yöntemi kullanılın, 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 varsayılamaz (52). Test yöntemi, reaktif ve cihazların farklı kombinasyonları ile yapılan farklı çalışmalar arasında karşılaştırma yapmak çok zordur. Ayrıca hemolizat ile yapılan interfrans 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 düzeyde hemolizli (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 prokoagulanların salınması sonucu aktive olan koagülasyon mekanizması numune-nin 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 raporlanması 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 absorbsiyona 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, bilirubin konsantrasyonu <20 mg/dL ise koagülasyon test sonuçlarında 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, tiroithastalıkları, 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 pihtlaşma 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 ögün içeriğindeki farklılıklarla (az yağlı, bitkisel yağlı yiyecekler vb) değişkenliği gösterilmiştir (56). Yağlı bir yemekten sonra post-

prandiyal lipemisin 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 boyalarında optik absorbansı veya ışık transmitansını bozarak veya ışık saçılımı nedeniyle interferans yaratabilir. Bu interferans özel bir dalga boyu (650 nm ve üzerinde) kullanılarak önlenebilir. Analitik interferans özellikle optik pihti belirleme temelinde çalışan testlerde oluşur. Bu etkiyi en aza indirmek için elektromekanik bazlı çalışan veya koagülasyon testlerini alternatif dalga boyalarında çalışan cihazlar kullanılması önerilir. Bununla birlikte, en iyi yaklaşım dislipidemi gibi bir metabolik hastalık yoksa, açlık durumunda kanörneğini yeniden almaktır (3). Lipemi interferansını azaltmak için lipidi uzaklaştırmanın farklı yöntemleri (ultrasantrifüj, lipit temizleyici kimyasal uygulamalar veya dilüsyon)masına rağmen, güvenilir sonuçlar için henüz tek bir yöntem tavsiye edilememektedir. Ultrasantrifüj fibrinojen veya FVII/vWF kompleksi gibi büyük protein kütelerinin çökmesiyle sonuçlanabilir, dolayısı ile hatalı sonuçlara yol açabilir. Lipitleri uzaklaştmak için n-hekzan gibi organik çözücüler uygulanabilir, ancak ölçülen analitin etkilenip etkilenmediğinin doğrulanması gereklidir. Kantitatif D-dimer ve vWF aktivitesi/antijeni gibi turbidimetrik olarak ölçülyorsa plazma dilüe edilerek lipemisin etkisi azaltılabilir. Doğal olarak, seyreltme yöntemi PZ, aPTT testleri için kullanılamaz (3, 53).

Öneri:

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

10. KOAGÜLASYON TEST SONUCUNU ETKİLEYEN FAKTORLER

10.1. Sirkadiyen Ritm

Koagülasyon sisteminin en önemli faktörlerinden biri olan trombositler, saýsal olarak öğleden sonra, aktivite olarak da sabah saatlerinde en yüksek düzeye ulaşmaktadır (58). Hem aPTT hem de PT testlerinin sabah saatlerinde daha kısa ölçüldüğü yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (24 saat içerisinde en uzun ve en kısa süreler 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'ün sabah saatlerinde (6:00) en yüksek konsantrasyonlarda, öğle 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 ölçülmektedir (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 pozisyonundan oturur pozisyonaya geçen veya ayağa kalkan hastalarda özellikle fibrinojen ve PT için azalan yönde, aPTT için artan yönde etkilidir. PT için yatar pozisyonundaki hastaların ayağa kalkmalarıyla elde edilen %3.7'lik bir azalma özellikle K vitmini 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 pozisyonundan oturur ya da ayakta pozisyonuna geçişlerde meydana gelen plazma kaçışı ve hemokonsantrasyonun kan kogülasyonunda ekstrinsik yolağı aktive ederek PT sürelerinin kısalmasına neden olabileceği düşünülmektedir (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).

Trombosit agregasyonu üzerindeki olası bir etki nedeniyle, venöz girişimden 2 saat önce sigara içmekten kaçınılması önerilir. (63).

10.4. Fiziksel Aktivite

Egzersizin yoğunluğuna ve süresine göre koagülasyon ve fibrinoliz ölçümüleri 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 değişiklik görülür ya da hiçbir değişiklik görülmmez (66). aPTT'deki bu azalmanın FVIII'deki artışa bağlı olduğu düşünülmektedir. 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 görülen artış, orta derece egzersizde 30 dakika içinde gerçekleşir ancak bu artış, ağır egzersizde bile, referans aralıklar içerisinde kalır. D-dimer düzeyinde de artış görülür 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 ilişkildir (73). Menopozlu kadınlarda replasman tedavisine başlamanın, F1 ve FII'yi artırarak, APCR'ye 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 karmaşılaşır. 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 alımından 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 kadınlararda 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 değerlendirdirirken bireyin kullanıldığı 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 kullanılabi- lir) (79)	aPTT (FI, FII, FV, FVIII, FIX, FX, FXI, FXII eks- sikliğine sensitif ve replasman takibinde kullanılabi- lir) (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 uza- ma	↑ 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 inhibitoru) 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 reaksiyonlarda)	↑ 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)	↑			Sıklık lipopeptit sınıfı antibiyotik
Tigesiklin (86)	↑	↑	↓	Geniş spektrumlu (iv) antibiyotik. Trombin zamanında uzama
N-metiltiyotetrazol yan zincir içeren antibiyotikler (87, 88)	↑			2. ve 3. jenerasyon sefaloспорinler (Moksazalaktam, sefapeazon)
Oritavansin (89)	↑	↑		Lipoglikopeptit antibiyotik Fosfolipit içerikli reaksiyonlarda 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)	-	-		Eikosapentatonikasit+dokohekzaenik asit (EPA-DHA) 52 hafta 1.5g/gün dozunda kullanım (8) trombosit agregasyonunu EPA erkeklerde, DHA kadınlarda daha etkili azaltır (11).
L-karnitin gıda desteği (97)			↓	12 hafta 1000 mg/gün kullanımından sonra FV, FVII, FIX ve protein C aktivitesinde değişim yok
Gıda destekleri (98)	Klinik çalışma yok			Trombosit fonksiyonunu ve koagülasyonu etkilediği bilinmekte olan sarımsak, ekinezya, zencefil, yeşil çay, balık yağınına kana-ma riskini arttırdığına dair bulgular var (11).

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

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

DOAK: direkt oral antkoagülanlar **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, kırlılcık, yaban mersini, avokado, ginseng, gingkobilabo, sarı kantaron, kırmızı adaçayı, greyfurt suyu, yeşil çay, kurt üzümü (*lyciumbarbarum*), soya, cüce palme 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, Prziola 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/LM749BQETKYPYPVM
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-Smolcić 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, Falavolfo 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, Vermylen 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 ClinPathol*. 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, Etzell 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. Lawrence 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 Tibbi 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, Jousselme E, Sobas F, Pousseur V, Negrer 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;11651–1655. 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, Sothern 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'Brodovich 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, Bärtsch 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, Odlind 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, Almqvist 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: [10.1161/bm.2012.035](https://doi.org/10.1161/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, Szkołtak 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, Guerciolini 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, Matíes 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 Haemost*.

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 omega-3-enriched medical nutrition. *Clin Nutr*. 2018;37:948-957. doi:10.1016/j.clnu.2017.03.027.

97. Hakemhzadeh 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.