

Expertgruppen för koagulation

2023-11-01

Rekommendation för provtagning och hantering av koagulationsprover

Rekommendationen har tagits fram av Equalis expertgrupp för koagulation som består av David Willman (ordförande), Emely Sjölander, Jovan Antovic, Fariba Baghaei, Andreas Hillarp, Lukas Löwing Svensson och Karin Strandberg.

Equalis rekommendationer tas fram i syfte att harmonisera undersökningsresultat inom medicinsk diagnostik i Sverige. De riktar sig till hälso- och sjukvårdspersonal.

Frågor angående rekommendationen ställs till info@equalis.se.

Bakgrund

Preanalytiska faktorer påverkar resultat för många laboratorieprover och är en vanlig orsak till att provsvar inte kan levereras eller blir felaktiga, vilket kan påverka patientsäkerheten. Flera koagulationsanalyser är känsliga för preanalytiska faktorer. Faktorer relaterade till provtagning och hantering av provrör utgör särskilda utmaningar. Flera av faktorerna är möjliga att standardisera enligt generella riktlinjer, som provtagningens utförande och viss provhantering, men några behöver utvärderas lokalt, såsom centrifugering till trombocytfrihet, förlängd hållbarhet, påverkan av interferenser och transport i rörpost. Interferenser av hemolys, ikterus och lipemi (HIL) påverkar i varierande utsträckning beroende på instrumentering och även här behöver lokala riktlinjer etableras för när analys kan utföras. Generellt gäller att koagulationen riskerar att aktiveras om det uppstår hemolys i provet efter provtagning, som då inte avspeglar koagulationen in vivo. Koagel kan uppstå i flera steg efter provtagningen t.ex. vid långsam rörfyllnad och otillräcklig blandning av blod och antikoagulantia. Analysresultatet påverkas olika beroende på om det är mikrokoagel eller mer fullständigt koagulerat prov.

Internationella riktlinjer har nyligen uppdaterats för koagulationsanalyser med rekommendationen att laboratorier bör ha en skriftlig policy för provtagning och hantering [1,2]. En nationell förlaga är efterfrågad och målsättningen är att denna rekommendation ska kunna bidra till att öka analyskvaliteten.

Utförande

Rekommendationen har tagits fram genom en sammanställning av relevant litteratur inom området [1-3] och är i vissa fall även baserad på expertgruppens erfarenhet.

Rekommendation

Provtagning och hantering av koagulationsprover	Rekommendation [referenser 1,2 om inget annat anges]
Provrör	Citratrör, ljusblå kork med 3,2 % (109 mmol/L) Natriumcitrat. I undantagsfall tas PK(INR) i kapillärt EDTA-rör.
Rörföljd	Citratrör tas före rör med annan tillsats (särskilt serumrör med koagulationsaktivator och EDTA-rör), men efter blododling.

Expertgruppen för koagulation

Provtagning och hantering av koagulationsprover	Rekommendation [referenser 1,2 om inget annat anges]
Venpunktion	Direkt venpunktion rekommenderas. Om prov tas ur ineliggande venkanyl eller med butterfly ska slaskrör tas. Kapillär provtagning kan endast användas för PK(INR).
Rörfyllnad	Blodet späds med citratlösningen i röret, en del citrat och nio delar blod (1+9). Rör med <80 % fyllnad ska inte analyseras. Rör med 80–90 % fyllnadsgrad kan accepteras om lokal validering av analysresultat har gjorts.
Blandning av blod och antikoagulantia (Natriumcitrat)	Vänd röret försiktigt och långsamt minst 5 gånger direkt efter provtagning tills blodet blandats med antikoagulantian.
Minsta provvolym (plasma)	Varierar beroende på den dödvolum instrumenteringen kräver. Lokalt lab kan ha egna föreskrifter.
Förvaring av helblod	Förvaras med kork vid rumstemperatur (18–24 °C). Får <u>ej</u> förvaras i kyl (2–8 °C).
Provtransport helblod	Transporteras i rumstemperatur. Får <u>ej</u> transporteras kylt (2–8 °C).
Rörpost (helblod)	Transport i rörpost påverkar <u>ej</u> de flesta koagulationsanalyserna, men bör testas lokalt. Använd <u>ej</u> för prov där trombocytfunktionen utvärderas.
Hållbarhet helblod	Prov för de flesta koagulationsanalyser är hållbara i minst 4 timmar [3]. Längre hållbarhet tillåts vid lokal verifiering [2]. Prov för PK(INR) är stabilt i 24 timmar.
Prov för heparinmätning	Prov där APTT beställts för heparinmätning bör centrifugeras inom 1 timme och analys bör utföras inom 4 timmar. Detta gäller även när information saknas om varför provet beställts.
Centrifugering och centrifugeringstid	Prover som analyseras färska kan vanligtvis centrifugeras i rumstemperatur i 15 min vid 1500 g eller 10 min vid 1700 g. Plasman bör vara trombocytfri (TPK <10 x 10 ⁹ /L) men TPK <200 x 10 ⁹ /L kan accepteras om detta verifieras lokalt. Frost plasma bör alltid vara trombocytfri och prov för vissa specialkoagulationsanalyser dubbelcentrifugeras.
Dubbelcentrifugering	Vissa prov för specialkoagulationsanalyser behöver dubbelcentrifugeras (plasma centrifugeras om i nytt rör) före frysning, t.ex. prov för lupus antikoagulans.
Frysa plasma	Plasma ska pipetteras av till annat rör och frysas om prov inte kan analyseras inom hållbarhetstiden.
Provtransport plasma	Frusen plasma transporteras vid -20 °C.
Förvaring av plasma	Plasma kan förvaras vid -20 °C upp till 3 månader eller vid -70 °C upp till 6 månader före analys. Undvik upprepad tining-frysning.
Tina frysta prov	Tina i vattenbad/värmeblock i 5 min vid 37 °C.
Interferens av bl.a. HIL	Plasma för koagulationsanalys bör testas för HIL, helst med automatiserat system. Hantering ska ske enligt tillverkarens föreskrift.
Hemolys	Flera koagulationsanalyser är känsliga för hemolys som inträffat in vitro vid provtagning eller hantering, bl.a. APTT (hemolysgräns <1 g/L).
Ikterus	Vid interferens av bilirubin kan fibrinogenresultat bli falskt låga och ytterligare provspädningar kan ev. behövas.
Lipemi	Om resultat inte kan erhållas p.g.a. lipemi i en metod baserad på koagulationstidsbestämning, kan provet centrifugeras vid

Expertgruppen för koagulation

Provtagning och hantering av koagulationsprover	Rekommendation [referenser 1,2 om inget annat anges]
	10 000 g i 10 minuter, och plasman pipetteras av och analyseras om.
Koagel detekteras	Om koagel oavsett storlek detekteras/syns i ett provrör, ska analys inte utföras utan provet ska tas om.
Koagel misstänks	Om APTT resultatet är ≥ 4 sekunder kortare än nedre referensintervallsgränsen ska provet kontrolleras för koagel. Plasma ska då pipetteras av till ett annat rör och med hjälp av tråpinnar blandas blodkropparna upp för att hitta eventuellt koagel.

Referenser

1. Kitchen S, Adcock DM, Dauer R et al. International Council for Standardisation in Haematology (ICSH) recommendations for collection of blood samples for coagulation testing. Int J Lab Hematol. 2021;43:571-580.
2. Kitchen S, Adcock DM, Dauer R et al. International Council for Standardisation in Haematology (ICSH) recommendations for processing of blood samples for coagulation testing. Int J Lab Hematol. 2021;43:1272-1283.
3. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Collection, Transport and processing of Blood Specimens for Testin Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assay; Approved Guideline-Fifth Edition. CLSI H21-A510;2008.