

تأثیر متقابل غلظت های مختلف سدیم سیترات و حداقل حجم نمونه بر نتایج آزمون های انعقادی

دکتر پیمان محمدی تربتی*

Assessment of mutual impact of different sodium citrate concentrations and minimum specimen volume on the result of routine coagulation tests

P. Mohammadi Torbati

*Abstract

Background: Routine coagulation assays including prothrombin time [PT] and activated partial thromboplastin time [aPTT] are influenced by two independent parameters comprising sample volume and tri-sodium citrate concentration.

Objective: To evaluate minimum specimen volume requirements for routine coagulation testing with dependence on citrate concentration.

Methods: An experimental study was performed on samples obtained from randomized healthy persons and patients receiving oral anticoagulant therapy. The tubes (3.2% and 3.8% sodium citrate) were filled to varying total sample volumes ranging from 3.0 to 5.0 mL and results of routine coagulation tests were compared.

Findings: By using 3.8% citrate, there is a statistically significant difference in the results of PT and aPTT assays in the sample less than 80% and 90% filled compared with those that are 100% filled. There is no significant difference in PT results from a 3.2% citrate tube between fill volume of 60% and 100% as well as 70% and 100% for aPTT.

Conclusion: Underfilling may significantly affect the aPTT and PT, resulting in artifactual prolongation of results, particularly in samples drawn into 3.8% citrate. This study supports the recommendations to use 3.2% citrate, because 60% of the optimum filled for PT and 70% for aPTT are acceptable.

Keywords: Prothrombin Time, Thromboplastin, Tri-sodium Citrate, Blood

*چکیده

زمینه: نتایج آزمون های متعارف انعقادی مشتمل بر زمان پروترومبین و زمان ترومبوپلاستین فعال شده تحت تأثیر دو متغیر مستقل شامل حجم پرشدگی نهایی نمونه و غلظت تری سدیم سیترات قرار می گیرند.

هدف: مطالعه به منظور تعیین اثر حداقل حجم نمونه و غلظت سدیم سیترات بر نتایج آزمون های متعارف انعقادی انجام شد.

مواد و روش ها: این مطالعه تجربی طی ماه های مهر و آبان ۱۳۸۱ و در آزمایشگاه بیمارستان شهید دکتر لبافی نژاد بر روی نمونه های به دست آمده از داوطلبین سالم و بیمارانی که داروهای ضد انعقادی خوراکی مصرف می کردند انجام شد. لوله های آزمایش در دو گروه متفاوت با غلظت های ۳/۲٪ و ۳/۸٪ تری سدیم سیترات تهیه و با حجم های متفاوت خون از ۳ تا ۵ میلی لیتر پر شدند. آن گاه نتایج آزمون های انعقادی با آزمون آماری تی مورد مقایسه قرار گرفتند.

یافته ها: به هنگام استفاده از سیترات ۳/۸٪ اختلاف آماری معنی داری در نتایج آزمون PT و aPTT بین نمونه هایی که با ۸۰٪ و ۹۰٪ حجم توصیه شده (۴/۵ میلی لیتر) پر شده بودند دیده شد ($p < 0/05$). در صورت استفاده از سیترات ۳/۲٪، اختلاف حجم نمونه از ۶۰٪ تا ۱۰۰٪ برای آزمون PT و اختلاف حجم نمونه از ۷۰٪ تا ۱۰۰٪ برای آزمون aPTT باعث ایجاد اختلاف معنی داری نشد.

نتیجه گیری: حجم کم نمونه به ویژه هنگام استفاده از سیترات ۳/۸٪ می تواند به طور قابل ملاحظه ای زمان PT و aPTT را افزایش کاذب دهد. این مطالعه مؤید استفاده از سیترات ۳/۲٪ است، زیرا انجام آزمون PT با ۶۰٪ حجم توصیه شده و aPTT با ۷۰٪ حجم توصیه شده قابل قبول به نظر می رسد.

کلید واژه ها: زمان پروترومبین، ترومبوپلاستین، تری سدیم سیترات، خون

* استادیار پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

آدرس مکاتبه: تهران، مرکز پزشکی، آموزشی- درمانی شهید لبافی نژاد، بخش پاتولوژی و آزمایشگاه، تلفن ۲۵۴۹۰۱۰

*** مقدمه :**

متغیرهای مختلف پیش از آزمایش می‌توانند بر نتایج آزمون‌های انعقادی اثر بگذارند. دو متغیر مهم گزارش شده عبارت‌اند از غلظت سدیم سیترات و نسبت حجم خون به ماده ضد انعقادی مصرفی. در حال حاضر در اکثر آزمایشگاه‌های کشور ۱/۸ میلی لیتر خون به ۰/۲ میلی لیتر سدیم سیترات ۳/۸ یا ۳/۲ درصد افزوده می‌شود تا نسبت توصیه شده ۹ قسمت خون به ۱ قسمت ماده ضد انعقاد رعایت شود. در عین حال باید میزان هماتوکریت باید بین ۲۵ درصد تا ۵۵ درصد باشد. بنابر توصیه NCCLS نمونه‌هایی که کمتر از ۹۰ درصد حجم پرشدگی توصیه شده (۵ میلی لیتر) پر شده‌اند یا میزان هماتوکریت آنها بالاتر از ۵۵ درصد باشد نباید مورد آزمون قرار گیرند، زیرا در این حالت نسبت خون به ماده ضد انعقاد تغییر می‌کند و باعث افزایش قابل توجه ماده ضد انعقادی برای پلاسمای موجود می‌گردد و از طرف دیگر افزایش حجم نمونه با اثر ترقیقی خود باعث افزایش کاذب زمان پروترومبین (PT) و زمان ترومبوپلاستین نسبی فعال شده aPTT می‌شود.^(۲۹) هر چند در آخرین راهنمای NCCLS استفاده از سدیم سیترات ۳/۲ درصد توصیه شده است، ولی حداقل حجم قابل قبول که موجب اختلاف آماری معنی‌داری در نتایج می‌شود مشخص نشده است.^(۳۰) در مطالعه حاضر سعی بر آن است تا حداقل حجم نمونه قابل قبول برای کسب نتایج دقیق PT و aPTT همچنین وابستگی نتایج آزمون‌های انعقادی به تغییرات حجم نمونه در دو غلظت متفاوت سدیم سیترات به طور موازی مورد ارزیابی قرار گیرند.

*** مواد و روش‌ها :**

مطالعه با تهیه دو پروتکل موازی طی ماه‌های مهر و آبان سال ۱۳۸۱ در آزمایشگاه بیمارستان شهید دکتر لافی نژاد و پارس تهران انجام شد. نمونه‌ها به روش تصادفی ساده انتخاب شدند. در پروتکل اول ۶۰ فرد سالم داوطلب و ۳۰ بیماری که داروی ضد انعقاد خوراکی مصرف می‌کردند با اخذ مجوز جهت نمونه‌گیری انتخاب شدند و نمونه‌های پلاسمای آنها به شرح ذیل استخراج و مورد آزمایش قرار گرفت.

ابتدا دو سری لوله آزمایش ۱۱×۱۲×۱۰۰ میلی متر مدرج شدند، به نیمی از آنها ۰/۵ میلی لیتر سدیم سیترات ۳/۸ درصد و نیمی دیگر سیترات ۳/۲ درصد افزوده شد.^(۵۴) ۳۵ میلی لیتر خون کامل از هر فرد توسط دو نمونه‌گیر و با استفاده از دو سرنگ ۲۰ میلی لیتری و یک سرسوزن تهیه گردید. نحوه پرکردن لوله‌ها به این ترتیب بود که لوله‌های حاوی سیترات ۳/۸ درصد تا حجم نهایی ۳، ۳/۵، ۴، ۴/۵ و ۵ میلی لیتر و لوله‌های حاوی سیترات ۳/۲ درصد تا حجم نهایی ۲، ۲/۵، ۳، ۳/۵ و ۴ میلی لیتر پر شدند. نمونه‌ها حداکثر ظرف مدت ۲ ساعت در شرایط یکسان به مدت ۱۵ دقیقه با نیروی ۱۵۰۰g سانتریفیوژ شدند.^(۶) برای اطمینان از حصول پلاسمای کم پلاکت (Plateletpoor plasma) از هر مجموعه کاری یک نمونه به صورت تصادفی تحت شمارش پلاکت قرار گرفت تا تعداد آن به کمتر از 10^9 در لیتر رسیده باشد.^(۶) نمونه‌های ۴۰ فرد با سیترات ۳/۸ درصد و نمونه‌های ۲۰ فرد دیگر با سیترات ۳/۲ درصد مورد ارزیابی قرار گرفتند. آزمون‌ها با معرف PT و aPTT کمپانی بیومریو و توسط دستگاه کوگولومتر نیمه اتوماتیک Sysmex

پرشدگی لوله‌ها به وضوح کاهش می‌یافت، به طوری که حد اختلاف آماری معنی‌دار برای آزمون‌های PT و aPTT به ترتیب به حجم‌های کمتر از ۵۰ درصد و ۶۰ درصد حجم پرشدگی توصیه شده تقلیل می‌یافت (جدول شماره ۱).

نتایج PT و aPTT، ۳۰ بیماری که داروی ضد انعقاد خوراکی مصرف کرده بودند نشان داد که اختلاف آماری معنی‌داری در میزان PT بین حجم‌های ۶۰ درصد تا ۱۰۰ درصد مشاهده نشد. برای تعیین aPTT اختلاف معنی‌دار به هنگام استفاده از ۶۰ درصد حجم مطلوب بروز کرد که این نتایج با یافته‌های مربوط به افراد سالم مندرج در جدول شماره ۱ مطابقت داشت. لذا نتایج PT و aPTT با کاهش حجم پرشدگی نهایی افزایش نشان داد به ویژه آن که این تغییرات در صورت استفاده از غلظت ۳/۸ درصد سدیم سیترات به مراتب بیش‌تر از سدیم سیترات ۳/۲ درصد بود (جدول شماره ۲).

مقایسه نتایج PT و aPTT در ۱۶۸ بیماری که داروی ضد انعقاد خوراکی مصرف می‌کردند در حجم مطلوب (۱۰۰ درصد پرشدگی) و حجم کمتر (به صورت متغیر)، اختلاف آماری معنی‌دار حدود ۱۵ درصد بین لوله مرجع با لوله‌های ناقص پر شده، را نشان داد. در صورت استفاده از سدیم سیترات ۳/۸ درصد اختلاف آماری معنی‌دار برای آزمون‌های PT و aPTT به ترتیب در حجم‌های ۸۰ و ۷۰ درصد حادث شد. به همین صورت اختلاف آماری معنی‌دار برای آزمون‌های PT و aPTT سدیم سیترات ۳/۲ درصد در حجم‌های ۷۰ و ۶۰ درصد نمایان شد (جدول شماره ۳).

انجام شدند. فرآیند اجرایی مشابهی برای ۳۰ بیمار دریافت‌کننده داروهای ضد انعقادی به عمل آمد و تمام آزمون‌ها به صورت «دو بار تکرار» انجام شد.

مجموع حجم خون و حجم ماده ضد انعقاد در هر لوله به عنوان «حجم پرشدگی لوله» و نسبت خون اضافه شده به میزان توصیه شده یعنی ۴/۵ میلی‌لیتر به صورت «درصد پرشدگی» تعریف شدند. در پروتکل دوم نمونه‌های مربوط به ۱۶۸ بیمار مصرف‌کننده داروهای ضد انعقادی خوراکی به روش مشابهی ارزیابی شدند. نمونه خون هر بیمار به داخل دو لوله حاوی ۰/۵ میلی‌لیتر سدیم سیترات ۳/۸ درصد منتقل شد، لوله اول به صورت عمودی با حجمی کمتر از حجم توصیه شده و لوله دوم با حجم پرشدگی توصیه شده (۵ میلی‌لیتر) پر شدند. همین فرآیند برای لوله‌های حاوی تری سدیم سیترات ۳/۲ درصد نیز تکرار شد. حجمی که به داخل لوله اول منتقل می‌شد به صورت اختیاری به عهده فرد نمونه‌گیر گذاشته شد تا با شرایط واقعی نمونه‌گیری در بخش‌ها مطابقت داشته باشد. مقدار میانگین و انحراف معیار بر اساس آزمون آماری تی مربوط به گروه‌های توزیع نرمال برای هر آزمون انعقادی محاسبه شد.

* یافته‌ها :

بررسی نتایج آزمون‌های PT و aPTT نشان داد که در لوله‌های حاوی سدیم سیترات ۳/۸ درصد اختلاف آماری معنی‌داری برای تعیین PT و aPTT به ترتیب در حجم‌های کمتر از ۷۰ و ۸۰ درصد مقدار توصیه شده به چشم می‌خورد، حال آن که با استفاده از سیترات ۳/۲ درصد میزان تأثیرپذیری نتایج PT و aPTT از درصد حجم

جدول ۱- تأثیر غلظت سدیم سیترات و حجم پرشدگی لوله ها بر نتایج aPTT و PT داوطلبان سالم

سطح معنی داری	aPTT(s)	سطح معنی داری	PT(s)	درصد پرشدگی لوله ها	سیترات ۳/۸ درصد (تعداد = ۴۰)
NS	۲۷/۳ ± ۰/۵	NS	۱۰/۹ ± ۰/۲	۱۰۰	
NS	۲۸/۳ ± ۰/۶	NS	۱۱/۱ ± ۰/۲	۹۰	
< ۰/۰۵	۲۹/۸ ± ۰/۷	NS	۱۱/۴ ± ۰/۲	۸۰	
< ۰/۰۵	۳۴/۷ ± ۰/۹	< ۰/۰۵	۱۲/۵ ± ۰/۲	۷۰	
< ۰/۰۵	۴۰/۴ ± ۱/۲	< ۰/۰۵	۱۴/۲ ± ۰/۲	۶۰	
NS	۲۵/۲ ± ۱/۵	NS	۱۰/۷ ± ۰/۶	۱۰۰	سیترات ۳/۲ درصد (تعداد = ۴۰)
NS	۲۵/۷ ± ۱/۶	NS	۱۰/۶ ± ۰/۷	۹۰	
NS	۲۶/۱ ± ۱/۴	NS	۱۰/۷ ± ۰/۷	۸۰	
NS	۲۶/۸ ± ۱/۸	NS	۱۰/۹ ± ۰/۸	۷۰	
< ۰/۰۵	۲۸/۲ ± ۱/۸	NS	۱۱/۲ ± ۱	۶۰	
< ۰/۰۵	۳۱/۵ ± ۲/۵	< ۰/۰۵	۱۲/۷ ± ۱/۱	۵۰	
< ۰/۰۵	۳۶/۹ ± ۴/۳	< ۰/۰۵	۱۴/۷ ± ۱/۸	۴۰	

NS: فاقد اختلاف آماری معنی دار

درصد پرشدگی لوله ها: حجم خون تام افزودنی به هر لوله/ حجم خون توصیه شده (۴/۵ میلی لیتر) × ۱۰۰

جدول ۲- تأثیر درصد پرشدگی لوله ها بر نتایج PT و aPTT بیماران تحت درمان با داروی ضد انعقاد خوراکی در صورت استفاده از سدیم سیترات ۳/۲ درصد

سطح معنی داری	aPTT(s)	سطح معنی داری	PT(s)	درصد پر شدگی لوله ها
NS	۳۱/۴ ± ۴/۳	NS	۱۹/۱ ± ۳/۶	۱۰۰
NS	۳۴/۵ ± ۴/۶	NS	۱۹/۰ ± ۳/۵	۹۰
NS	۳۵/۳ ± ۴/۹	NS	۱۹/۱ ± ۳/۷	۸۰
NS	۳۷/۱ ± ۵/۵	NS	۲۰/۳ ± ۶/۲	۷۰
< ۰/۰۵	۴۷/۳ ± ۱۰/۴	NS	۲۰/۷ ± ۴/۸	۶۰

NS: فاقد اختلاف آماری معنی دار

درصد پرشدگی لوله ها: حجم خون تام افزودنی به هر لوله/ حجم خون توصیه شده (۴/۵ میلی لیتر)

جدول ۳- تأثیر حجم پرشدگی نهایی لوله بر نتایج PT و aPTT در بیماران تحت درمان با داروهای ضد انعقاد با دو غلظت متفاوت ۳/۲ و ۳/۸ درصد سدیم سیترات

درصد تغییر	aPTT (s) کمتر از حجم مطلوب	aPTT (s) ۱۰۰٪ پرشدگی	درصد تغییر	PT (s) کمتر از حجم مطلوب	PT (s) ۱۰۰٪ پرشدگی	تعداد نمونه ها	حجم پرشدگی نهایی لوله ها	
-۲	۴۰/۶ ± ۱/۶	۴۱/۳ ± ۷	۴	۲۲/۹ ± ۲/۴	۲۱/۹ ± ۸/۸	۲۵	۴/۴ - ۵	سیترات ۳/۸ درصد
۲	۵۰/۴ ± ۱/۷	۴۹/۴ ± ۵/۴	۱۴	۳۶/۶ ± ۴/۴	۳۱/۷ ± ۱۰/۸	۱۶	۴ - ۴/۴	
۸	۴۶/۶ ± ۱/۹	۴۲/۷ ± ۸	۲۱	۳۰/۵ ± ۲/۸	۲۴/۳ ± ۱۰/۲	۳۷	۳/۵ - ۳/۹	
۳۲	۶۲/۴ ± ۴/۹	۴۶/۳ ± ۱۱/۲	۷۰	۵۳/۵ ± ۷/۶	۲۹/۲ ± ۱۵/۳	۳۲	۳ - ۳/۴	
۵۲	۶۸/۶ ± ۴/۳	۴۴/۸ ± ۹	۱۰۳	۴۹/۹ ± ۶/۴	۲۳/۴ ± ۱۱/۷	۳۶	۲/۵ - ۲/۹	
۹۵	۹۰/۱ ± ۹/۳	۴۵/۵ ± ۹/۵	۲۱۴	۸۰/۳ ± ۱۱/۲	۲۴/۶ ± ۹/۵	۱۵	۲ - ۲/۴	
۱۶۷	۱۱۰/۷ ± ۲۲/۷	۴۰/۶ ± ۱۰/۳	۲۹۳	۸۰/۲ ± ۱۶/۲	۲۶/۴ - ۹/۹	۷	۱/۵ - ۱/۹	
۲	۳۹/۵ ± ۸	۳۹ ± ۷/۶	۲	۱۵/۷ ± ۵	۱۵/۴ ± ۴/۷	۱۸	۴ - ۵	سیترات ۳/۲ درصد
۶	۴۹/۱ ± ۷/۷	۴۶/۵ ± ۶/۹	۱۳	۲۹ ± ۹/۷	۲۵/۵ ± ۷/۴	۲۵	۳/۵ - ۳/۹	
۱۱	۵۲/۴ ± ۱۲/۷	۴۷ ± ۱۰/۶	۱۸	۲۷/۱ ± ۹/۷	۲۲/۷ ± ۷/۳	۲۳	۳ - ۳/۴	
۳۲	۵۹/۶ ± ۲۴/۳	۴۵ ± ۱۲/۵	۵۲	۳۲/۵ ± ۱۶/۳	۲۱/۱ ± ۸/۴	۱۹	۲/۵ - ۲/۹	
۵۵	۷۲/۸ ± ۲۶/۷	۴۷/۱ ± ۱۳	۶۶	۴۳/۲ ± ۲۵/۷	۲۴/۹ ± ۹/۸	۳۶	۲ - ۲/۴	
۱۸۹	۱۰۹ ± ۳۷/۴	۳۹/۴ ± ۱۲/۴	۲۰۱	۶۱/۱ ± ۵۱/۸	۱۹/۱ ± ۱۰/۵	۲۷	۱/۵ - ۱/۹	
۳۰۸	۱۵۳/۶ ± ۳۶	۳۹/۲ ± ۹/۴	۵۹۶	۱۱۹/۲ ± ۵۲/۱	۱۹/۱ ± ۵/۹	۲۰	۱ - ۱/۴	

حجم پرشدگی نهایی لوله ها = حجم ماده ضد انعقاد در هر لوله (۰/۵ میلی لیتر) + حجم خون تام افزودنی به هر لوله

درصد تغییر: $100 \times \frac{aPTT \text{ یا } PT \text{ در لوله هایی با پرشدگی کامل} - aPTT \text{ یا } PT \text{ در لوله های پر شده با کمتر از حجم مطلوب}}{aPTT \text{ یا } PT \text{ در لوله هایی با پرشدگی کامل}}$

PT یا aPTT در لوله هایی با پرشدگی کامل

* بحث و نتیجه گیری :

در این مطالعه اختلاف آماری معنی دار در نتایج PT و aPTT بین لوله های پُر شده با حجم مورد انتظار و لوله هایی که کمتر از حجم مورد انتظار پُر شده بودند در غلظت ۳/۲ درصد به مراتب کمتر از ۳/۸ درصد بود. وقتی از سدیم سیترات غلیظ تر استفاده می شود کفایت حجم نمونه به عنوان یک متغیر محدودکننده دقت نتایج آزمون ظاهر می شود. در آزمون aPTT در صورت استفاده از غلظت ۳/۸ اختلاف معنی دار در مرز بحرانی ۹۰ درصد حجم پرشدگی خود را نمایان می سازد. این

این مطالعه نشان داد که نتایج آزمون های PT و aPTT به حجم پرشدگی لوله ها وابسته است. زیرا زمان انعقاد همواره به موازات کاهش حجم پرشدگی افزایش می یابد. البته این واقعیت در مورد هر دو گروه یعنی افراد سالم و بیماران تحت درمان با داروهای ضد انعقادی صدق می کند.^(۸) از طرف دیگر مشخص شد که حداقل حجم نمونه مورد نیاز برای انجام دقیق PT و aPTT، به غلظت سدیم سیترات بستگی دارد.

افزایش کاذب زمان PT و aPTT خواهد شد. مطالعه ادکوک و همکاران نشان داده که نتایج PT و aPTT نمونه افراد سالم و بیماران تحت درمان در صورت استفاده از سدیم سیترات ۳/۸ درصد طولانی تر از سدیم سیترات ۳/۲ درصد است.^(۱۱) نتایج حاصل از یکی از مطالعه های پترسون و همکاران، اختلاف آماری معنی داری برای آزمون PT در غلظت های متفاوت سدیم سیترات نشان نداده است.

بر اساس نتایج حاصل از یافته جنبی نشان داده شد که در بیماران پلی سائیمیک با هماتوکریت بیش از ۵۵ درصد در صورت استفاده از غلظت ۳/۲ درصد نتایج قابل قبول هستند، هر چند که این متغیر به صورت مستقل مورد ارزیابی قرار نگرفته است.

در یافته جنبی دیگری مشخص شد که در ۲۵ درصد نمونه های بیماران تحت درمان با داروهای ضد انعقاد با تغییر غلظت سدیم سیترات از ۳/۲ درصد به ۳/۸ درصد، میزان International Ratio Normalization بین ۰/۷ تا ۲/۷ متغیر است.

نتایج این مطالعه بر اساس یک نوع معرف مصرفی و با استفاده از سیستم نیمه اتوماتیک به دست آمدند. لذا تعمیم آن به سایر موارد که دربرگیرنده معرف های مختلف دیگر و روش های دستی تا تمام اتوماتیک است توصیه نمی شود و تنها استاندارد کردن فرآیند اجرایی آزمایش در هر آزمایشگاه با امکانات و شرایط خاص همان آزمایشگاه مهم است.

بنا به دلایل متعددی توصیه می شود که در تمام آزمایشگاه ها از غلظت واحد سدیم سیترات استفاده شود، اول ثبات و تکرارپذیری نتایج PT و aPTT با تغییر معرف در صورت استفاده از غلظت ۳/۲ درصد کمتر است. دوم این که آزمایش های

نتایج با یافته های NCCLS هماهنگی نشان می دهد.^(۳) همچنین در آزمون PT در صورت استفاده از غلظت ۳/۸ درصد این مرز بحرانی به ۸۰ درصد حجم پرشدگی توصیه شده تقلیل یافت. حال آن که در صورت استفاده از سدیم سیترات ۳/۲ درصد مرز بحرانی حجم پرشدگی به ترتیب برای آزمون های PT و aPTT به ۷۰ و ۶۰ درصد حجم توصیه شده تقلیل یافت. لذا استفاده از سدیم سیترات ۳/۲ درصد در شرایطی که نمونه گیر ملزم به اخذ تعداد زیادی نمونه در مدت زمان کوتاه باشد باعث تسهیل و تسریع در پُر کردن لوله ها خواهد شد، بدون آن که تأثیر معنی داری بر نتایج داشته باشد.

مدرک شماره H21-A2 از مستندات NCCLS فرآیند اجرایی استاندارد شده آزمون PT و aPTT را معرفی کرده است. NCCLS توصیه می کند در صورتی که حجم نمونه کمتر از ۹۰ درصد حجم مورد انتظار باشد یا هماتوکریت بیش از ۵۵ درصد باشد نمونه غیر قابل پذیرش تلقی شود.^(۱) در هر دو حالت حجم پلاسما به طور نسبی کاهش خواهد یافت و باعث تغییر نسبت حجم خون به ماده ضد انعقاد خواهد شد. بر اساس توصیه های NCCLS نسبت حجم خون به ماده ضد انعقادی باید ۹ به ۱ باشد. سدیم سیترات تنها ماده ضد انعقاد قابل قبول است.^(۳)

غلظت نهایی کلسیم افزودنی حین آزمایش بستگی به نسبت حجم خون به ماده ضد انعقاد همچنین غلظت ماده ضد انعقاد مصرفی خواهد داشت.^(۹) وقتی غلظت ماده ضد انعقاد افزایش یابد، برای مثال وقتی که از سدیم سیترات غلیظ تر استفاده می شود یا وقتی حجم پلاسما کاهش می یابد مقدار بیش تری از کلسیم به ماده ضد انعقاد اتصال می یابد و مقدار کمتری برای تشکیل لخته در دسترس باقی می ماند. این پدیده باعث

4. Dacie SJV, Lewis SM. Practical haematology. 9th ed, 2001, 456-69
5. Linne J, Ringsrud KM. Clinical laboratory science. 4th ed, Mosby, 1999, 408-21
6. International Committee for Standardization in Hematology. International Committee on Thrombosis and Haemostasis: ICSH/ ICTH recommendations for reporting prothrombin time in oral anticoagulant control. *Thromb Haemost* 1993; 53: 155-6
7. Turgeon ML. Clinical hematology: theory and procedures. 3rd ed, Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, 1998, 312-9
8. Pai SH, Michalaros K. Effect of sample volume on coagulation test. *Lab Med* 1990; 21: 371-3
9. Ingram GIC, Hills M. The prothrombin time test: effect of varying citrate concentration. *Thromb Haemost* 1976; 36: 230-6
10. Adcock DM, Kressin DC, Marlar RA. Are discard tubes necessary in coagulation studies?. *Lab Med* 1997; 28: 530-2
11. Adcock PM, Kressing DC, Marlar RD. Effect of 3.2% vs 3.8% sodium citrate concentration on routine coagulation testing. *Am J Clin Pathol* 1997; 107: 105-10
12. Peterson P, Gottfried EL. The effects of inaccurate blood sample volume on prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin (APTT). *Thrombo Haemost* 1982; 47: 101-3

انعقادی با غلظت ۳/۸ درصد در مقایسه با ۳/۲ درصد طولانی تر هستند.^(۱۱)

نمونه هایی با حجم پرشدگی کمتر از حد مورد انتظار همواره با طولانی شدن زمان تشکیل لخته همراه هستند. چنانچه تا حجم پرشدگی ۷۰ درصد نتیجه آزمون PT و aPTT در محدوده طبیعی قرار گیرد نتیجه آزمایش را می توان طبیعی تلقی کرد (صرف نظر از حجم نمونه)، ولی اگر نتایج آزمون حتی به میزان ۰/۱ ثانیه خارج از محدوده مرجع باشد نمونه گیری باید تکرار شود.

* مراجع :

1. National committee for clinical laboratory standards. Collection, transport and processing of blood specimens for coagulation testing and performance of coagulation assays. 2nd ed, Waven, Pa National committee for clinical laboratory standards, NCCLS document H21-A2, 1991
2. Glenn P, Swami VK. The effect of low hematocrit on the activated partial thromboplastin time and prothrombin time. *Am J Clin Pathol* 1996; 105: 513
3. NCCLS. one-stage prothrombin time (PT) test and activated partial thromboplastin time (aPTT) test: approved guideline. Villanova, Pa National Committee for Clinical Laboratory standards, document H47-A, 1996