

# **Preamalytische voorschriften voor stollingsbepalingen**

**2008**

Sectie Stolling van de SKML  
Secretariaat:  
Postbus 200  
2250 AE VOORSCHOTEN

## Inhoudsopgave

1.	Inleiding	3
2.	Venapunctie	3
3.	Afname- en opslagbuizen	4
4.	Anticoagulans	4
5.	Transport naar het laboratorium	4
6.	Centrifugeren van het bloed	4
7.	Bewaren van bloed en plasma	5
8.	Referenties	8
	Appendix	11

## Gebruikte afkortingen

AT	Antitrombine
aPTT	Geactiveerde partiële tromboplastine tijd
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
ECAT	European Concerted Action on Thrombosis
EDTA	Ethyleendiaminotetra-azijnzuur
D-dim	D-dimeren
F	Factor
Fbg	Fibrinogeen
Ht	Hematocriet
INR	International Normalized Ratio
ISTH	International Society on Thrombosis and Haemostasis
LAC	Lupus anticoagulans
PT	Protrombinetijd
SSC	Scientific and Standardization Committee

## 1. Inleiding

De activiteit van de bloedstollingsfactoren in vitro kan worden beïnvloed door de omstandigheden waaronder het bloed en plasma zijn verkregen en bewaard. Hierbij spelen vele factoren een rol, zoals de oppervlakken waarmee het bloed c.q. plasma in aanraking komt, de pH, de temperatuur en de aanwezigheid van bloedplaatjes. Ook speelt de tijdsduur tussen venapunctie en stollingsbepaling een belangrijke rol. De optimale preanalytische omstandigheden zijn niet voor alle bepalingen identiek. Sommige bepalingen (bijvoorbeeld de aPTT bij heparine-monitoring) zijn gevoeliger voor preanalytische variaties dan andere (bijvoorbeeld de PT/PT-INR). Er bestaat in de literatuur geen volledige overeenstemming over de optimale omstandigheden. In het huidige voorschrift is een keuze gemaakt uit de bestaande literatuur.

## 2. Venapunctie

Veneus bloed wordt standaard verkregen door middel van een vacuüm systeem. Desinfectie van de huid voor venapunctie is bij patiënten zonder verminderde weerstand tegen infectie niet nodig (Werkgroep Infectiepreventie, richtlijn Algemene Huidinfectie 2003). Alle containers moeten zijn vervaardigd van niet-reactieve materialen, zoals polypropyleen of gesiliconeerd glas; 19-21 gauge naalden zijn optimaal. Zowel te kleine als te grote naaldopeningen kunnen hemolyse induceren. Het bloed moet vlot stromen en moet onmiddellijk goed worden gemengd met anticoagulans d.m.v. voorzichtig kantelen van het buisje (minimaal 3-6 volledige kantelingen in de lengterichting) (CLSI H21-A5, 2008). Gebruik van een stuwband mag niet langer dan 1 minuut plaatsvinden (Lippi *et al*, 2005). De druk moet ongeveer 10 mm Hg (1,33 kPa) onder de diastolische bloeddruk zijn. Zodra het bloed stroomt, moet de stuwband worden losgelaten.

Indien de PT/PT-INR of aPTT moet worden uitgevoerd, is de eerste buis bloed adequaat. Eerder werd voor de bepaling van stollingsfactoren gesteld dat de eerste buis moest worden weggegooid en de tweede buis moest worden gebruikt. De onderbouwing hiervoor is op zijn best indirect en inmiddels kan gesteld worden dat deze praktijk bij gebruik van een standaard vacuüm systeem niet meer vereist is. Zij kan nog worden overwogen bij een moeizame venapunctie maar in de meeste gevallen zal dan een tweede venapunctie in de andere arm nodig zijn (CLSI H21-A5, 2008). Het wordt afgeraden om bloedmonsters via katheters af te nemen. Als dit niet kan worden vermeden moeten heparine contaminatie en monsterverdunning worden voorkomen door de lijn te spoelen met 5 ml NaCl 0.9% en de eerste 5 ml bloed of 6 maal het dode volume van het systeem weg te gooien (CLSI H21-A5, 2008).

De aanbevolen volgorde van afname is:

1. bloedkweek
2. citraatbuis
3. serumbuis met of zonder stollingsactivator of gel
4. heparinebuis met of zonder gel
5. EDTA buis
6. buis met glycolyseremmer (NCCLS H3-A5, 2003)

Het is ook mogelijk bloed af te nemen met behulp van een vleugelnaald. Bij gebruik van een spuit met bloed moet deze onmiddellijk (binnen 1 minuut) in een citraatbuis worden geleegd door de tuit tegen de wand van het buisje te houden, zodat het bloed

langs de wand naar beneden stroomt en er geen schuimvorming of overmatige turbulentie optreedt. Buizen met bloed dienen goed afgesloten te worden bewaard.

Een aantal bepalingen, bijvoorbeeld van factor VIII en diverse fibrinolyse parameters, kan worden beïnvloed door stressfactoren. De patiënten hoeven niet nuchter te zijn. Vetrijke maaltijden kunnen optische meetmethoden verstoren. Na afname dient het volume van het bloedmonster te worden gecontroleerd. Onder- of overvulling is een preanalytische fout, die consequenties voor de uitslag kan hebben.

### 3. **Afname- en opslagbuizen**

Kunststof buizen zijn geschikt indien deze geen contactactivatie veroorzaken. Ook gesiliconeerde glazen buizen kunnen worden gebruikt. Vacuümbuizen van zowel kunststof (bijvoorbeeld polypropyleen) als gesiliconeerd glas zijn in de handel verkrijgbaar. De samenstelling van het buismateriaal en het fabricageproces van de buizen kunnen van invloed zijn op de uiteindelijke testresultaten. Zo bleken de resultaten van PT en PT-INR uit bloed afgenomen in een glazen buis hoger of lager te zijn dan uit bloed afgenomen in een kunststof buis (Fiebig *et al*, 2005; van den Besselaar *et al*, 2005). Bij een overstap van glas naar kunststof maar ook bij een verandering van buizen fabrikant is daarom een validatie op basis van een parallel onderzoek, gebruik makend van monsters in de normale range en daarbuiten, noodzakelijk (CLSI H21-A5, 2008).

### 4. **Anticoagulans**

Het bij stollingsonderzoek gebruikte anticoagulans is trinitriumcitraat (0,105 tot 0,109 mol/l). Sommige laboratoria gebruiken nog een hogere citraat concentratie (3,8% trinitriumcitraat 2 H<sub>2</sub>O; dit is 0,129 mol/l). Deze laboratoria wordt dringend aangeraden de door de SSC (ISTH) aanbevolen concentratie (0,109 mol/l) te gaan gebruiken voor de bepaling van de PT/PT-INR. Vanwege de verwaarloosbare verschillen zijn citraat concentraties van 0,105 en 0,106 mol/l ook acceptabel (Van den Besselaar *et al*, 2000). Vanuit een praktisch oogpunt is het gewenst de voor de PT/PT-INR aanbevolen citraat concentratie ook voor de andere stollingsbepalingen te gebruiken. Eén volumedeel anticoagulans wordt gemengd met negen volumedelen bloed. Vanuit wetenschappelijk oogpunt zou deze verhouding anders gekozen moeten worden, indien de hematocriet van het bloed lager dan 0,20 of hoger dan 0,55 is (zie appendix). De invloed van de anticoagulans:bloed verhouding op de PT/PT-INR en aPTT is verwaarloosbaar mits deze tussen 1 + 8 en 1 + 12 ligt (Peterson & Gottfried, 1982; Reneke *et al*, 1998). Een mengsel van citroenzuur en natriumcitraat (pH 5-6) kan ook worden gebruikt mits de totale citraat + citroenzuur concentratie 0,105 - 0,109 mol/l is.

Indien de tijd tussen venapunctie en meting langer dan 2 uur is wordt een speciale anticoagulans oplossing (CTAD mengsel: 0,109 mol/l citroenzuur, 0,015 mol/l theophylline, 0,0037 mol/l adenosine en 0,198 mmol/l dipyridamol, pH met NaOH op 5,0 gesteld) aanbevolen voor het bewaken van heparine therapie (Contant *et al*, 1983). CTAD remt het vrijkomen van plaatjesfactor 4 dat heparine inactiveert.

## 5. Transport naar het laboratorium

Tijdens het transport van bloedmonsters naar het laboratorium dienen de daarvoor gebruikte buizen in verticale positie te worden vervoerd (Van Geest-Daalderop *et al*, 2005). Voor bewaarcondities zie par. 7.

## 6. Centrifugeren van het bloed

Om plasma te verkrijgen dienen de buizen afgesloten te worden gecentrifugeerd bij een snelheid en gedurende een tijd die benodigd zijn om consistent bloedplaatjesarm plasma te produceren ( $< 10 \times 10^9/l$  trombocyten). De centrifugatie snelheid en tijd moeten door het laboratorium zelf worden getest en gevalideerd maar veel gebruikte condities zijn  $1.500 \times g$  gedurende minstens 15 minuten (CLSI H21-A5 2008). Centrifugeren met een hogere snelheid en gedurende een kortere tijd (bijvoorbeeld in microcentrifuges) kan, opnieuw na validatie, eventueel voor citomonsters worden toegepast.

Voor de PT/PT-INR en aPTT in vers plasma kan korter worden gecentrifugeerd (5 of 10 minuten). Deze bepalingen zijn ongevoelig voor trombocyten aantallen tot minstens  $200 \times 10^9/l$  (CLSI H21-A5, 2008).

Moderne centrifuges zijn met een thermostaat uitgerust. De aanbevolen temperatuur voor het centrifugeren van bloed voor stollingsbepalingen is “kamertemperatuur” (CLSI H21-A5, 2008). Van centrifugeren bij lagere temperaturen ( $4^\circ C$ ,  $12^\circ C$ ) is inmiddels beschreven dat er geen significant effect op de aPTT, PT, Fbg en D-dimeren resultaten is gevonden (Lippi *et al.*, 2006). Het risico op koude activatie van bijvoorbeeld factor VII overwegend lijkt een temperatuurgebied tussen koelkast- en kamertemperatuur ( $13 - 21^\circ C$ ) daarom acceptabel.

Na centrifugeren wordt het plasma voorzichtig afgepipetteerd met een plastic pipet.

Bloedplaatjes en/of bloedcellen kunnen de gevoeligheid van de bepaling van Lupus Anticoagulans beperken, in het bijzonder na invriezen van plasmamonsters. Voor de bepaling van Lupus Anticoagulans geldt daarom de eis dat het plasma “bloedplaatjesvrij” moet zijn (CLSI H21-A5, 2008).

Dit plasma kan voorafgaand aan het invriezen op verschillende manieren worden bereid:

1. door het afgepipetteerde plaatjesarme plasma nogmaals op dezelfde wijze te centrifugeren en over te brengen in een schone buis. NB: het plasma moet voorzichtig worden afgepipetteerd zonder het gesedimenteerde materiaal te beroeren.
2. door het afgepipetteerde plasma 5 minuten bij  $10.000 \times g$  te centrifugeren in een microcentrifuge en over te brengen in een schone buis. NB: het plasma moet voorzichtig worden afgepipetteerd zonder het gesedimenteerde materiaal te beroeren
3. door het afgepipetteerde plasma langzaam te filtreren door een  $0,2 \mu m$  celluloseacetaat filter. Deze methode is niet voor alle stollingstesten geschikt (selectieve verwijdering van factor V, VIII, IX, XII en von Willebrand factor) en wordt daarom ontraden (CLSI H21-A5 2008).

## 7. Bewaren van bloed en plasma

Zie tabel voor de verschillende bewaarcondities.

Gecentrifugeerde monsters voor de PT/PT-INR en van niet-gehepariniseerde patiënten voor de aPTT kunnen met het plasma op de cellen in een niet-geopende buis worden bewaard (Adcock *et al*, 1998; Van Geest-Daalderop *et al*, 2005).

Niet-gecentrifugeerde en gecentrifugeerde bloedmonsters voor de PT/PT-INR bepaling kunnen 18 – 24 uur in een niet-geopende buis worden bewaard. De bepaling moet binnen 24 uur worden uitgevoerd. Bewaren bij 2 – 4° C kan koude activatie van factor VII geven, waardoor de resultaten van de PT kunnen veranderen. (CLSI H21-A5, 2008). Sommige PT reagens – apparaat combinaties zijn gevoeliger dan andere en geven na 24 uur bewaren van niet-gecentrifugeerd bloed een grote verandering te zien, zowel bij kamertemperatuur als bij 4-6° C (Van Geest-Daalderop *et al*, 2005).

Bloedmonsters voor de PT/PT-INR mogen niet langer dan 6 uur bij 37° C worden bewaard, wat van belang is voor het transport per auto op warme dagen.

Bloedmonsters voor controle van ongefractioneerde heparine of laagmoleculair heparine dienen binnen 1 uur na de venapunctie te worden gecentrifugeerd en na centrifugeren en afpipetteren moet het plasma binnen 4 uur na venapunctie worden geanalyseerd. Tijdens voornoemde periode van 4 uur kan het plasma zowel bij een temperatuur van 2 – 4° C of van 18 – 24° C worden bewaard.

Bloedmonsters voor bepaling van D-dimeer moeten binnen 6 uur worden gecentrifugeerd (Gogstad *et al*, 1993). Plasma monsters voor bepaling van D-dimeer kunnen tenminste 1 week bij 4° C worden bewaard (Hillyard *et al*, 1987; Gogstad *et al*, 1993).

Indien het plasma langer moet worden bewaard, tot maximaal twee weken, moet het (plaatjesarm, zie 6.) ingevroren worden bij een temperatuur van –20°C of lager.

Plaatjesarm plasma, bewaard bij –70°C, is tenminste 12 maanden houdbaar (criterium: de uitkomst van individuele stollingstesten wijkt minder dan +/- 10% af van het uitgangresultaat) (CLSI H21-A5, 2008). Ook bij –70°C loopt de factor VIII:C activiteit echter langzaam terug (Woodhams *et al*, 2001).

Het ingevroren plasma kan in een waterbad bij 37°C worden ontdooid totdat tenminste kamertemperatuur bereikt is. In de praktijk blijkt 5 minuten voldoende te zijn bij een volume van 1 ml plasma. Na mengen dient het monster onmiddellijk voor de bepalingen te worden gebruikt.

## Tabel

Bewaartemperatuur (in °C) van citraatbloed, gecentrifugeerd en afgepipetteerd citraatplasma en ingevroren citraatplasma en maximum tijdsinterval tussen bloedafname en analyse, zoals aanbevolen door CLSI (H21-A5), Van Geest-Daalderop *et al* (2005), en Gogstad *et al.* (1993).

Test	Volbloed			Plasma			
	18-24°C	2-4°C	-20°C / -70°C	18-24°C	2-4°C	-20°C*	-70°C*
<b>PT/PT- INR</b>	6 uur	Niet acceptabel	Niet acceptabel	24 uur	Niet acceptabel	2 wk	12 mnd
<b>aPTT</b>	4 uur**	4 uur**	Niet acceptabel	4 uur	4 uur	2 wk#	12 mnd#
<b>Fbg</b>	4 uur	4 uur	Niet acceptabel	4 uur	4 uur	2 wk	12 mnd
<b>FV en FVIII</b>	4 uur	4 uur	Niet acceptabel	4 uur	4 uur	2 wk	12 mnd
<b>AT</b>	4 uur	4 uur	Niet acceptabel	4 uur	4 uur	2 wk	12 mnd
<b>LAC</b>	4 uur	Niet acceptabel	Niet acceptabel	4 uur	4 uur	2 wk	NB
<b>D-dim</b>	6 uur	Niet acceptabel	Niet acceptabel	6 uur	1 week	2 wk	12 mnd

\* Goed mengen voor testen

\*\* gehepariniseerd: 1 uur

# gehepariniseerd: trombocyten < 10 x 10<sup>9</sup>/L

NB niet bekend

## REFERENTIES

**Adcock DM, Kressin DC, Marlar RA.**

Effect of 3.2% vs 3.8% sodium citrate concentration on routine coagulation testing. *Am J Clin Pathol* 1997; 107: 105-110.

**Adcock DM, Kressin DC, Marlar RA.**

The effect of time and temperature variables on routine coagulation tests. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 1998; 9: 463-470.

**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.

**Brien WF, Schaus MR, Cooper KE, O'Keefe BT, Inwoon M.**

Lupus anticoagulant testing: effect of platelet count on the activated partial thromboplastin time. *Br J Biomed Sc* 1993; 50: 114-116.

**Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharer I.**

Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. On behalf of the Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the ISTH. *Thromb Haemost* 1995; 74:1185-1190.

**Capel P, Chatelain B, Leclercq R, Lust A, Masure R, Arnout J.**

Quality control in haemostasis. *Acta Clinica Belgica* 1992; 47: 308-318.

**Contant G, Gouault-Heilmann M, Martinoli JL.**

Heparin inactivation during blood storage: its prevention by blood collection in citric acid, theophylline, adenosine, dipyridamole –C.T.A.D. mixture-. *Thromb Res* 1983; 31:365-374.

**European Committee for clinical laboratory standards. Standard for specimen collection.** Part 2: Blood specimen by venipuncture. *ECCLS Document vol. 4, no. 1 (1987)*. Beuth Verlag GmbH, Berlin.

**Fiebig EW, Ezzell JE, Ng VL.**

Clinically relevant differences in prothrombin time and INR values related to blood sample collection in plastic vs glass tubes. *Am J Clin Pathol*. 2005;124:902-9.

**Gilmer PR.**

Preanalytical variables in coagulation testing. In: DA Triplett (editor), Standardization of coagulation assays: an overview. *College of American Pathologists. Skokie, Illinois, 1982; pp 1-8*.

**Gogstad GO, Dale S, Brosstad F, Brandsnes Ø, Holtlund J, Mørk E, Gärtner E, Borch SM.**

Assay of D-dimer based on immunofiltration and staining with gold colloids. *Clin Chem* 1993 ; 39 :2070-2076.

**Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I.**

Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. *Br J Haematol* 2000; 109: 704-715.

**Ho CH, Wu S-Y.**

The influence of time, temperature and packed cell on activated partial thromboplastin time and prothrombin time. *Thromb Res* 1991; 62: 625-633.

**Hope E, Mayorga SR, Robinson S, Goldberg L, Leveson JE, Marengo-Rowe AJ, Peerschke EIB.**

Preparation of plasma for coagulation testing. Evaluation of the StatSpin high-speed centrifuge. *Laboratory Medicine* 1991; 22: 190-193.

**Hillyard CJ, Blake AS, Wilson K, Rylatt DB, Miles S, Bunch R, Elms MJ, Barnes A, Bundesen PG.**

A latex agglutination assay for D dimer: evaluation and application to the diagnosis of thrombotic disease. *Clin Chem* 1987; 33:1837-1840.

**Iversen LH.**

Pre-analytical variation in the measurements of sensitive markers of coagulation and fibrinolysis: the influence of venipuncture and mixing of blood.

*Haemostasis* 1997; 27: 119-124.

**Koerner K, Stampe D.**

Die Stabilität von Faktoren des Gerinnungssystems im tief-gefrorenen Frischplasma während der Lagerung bei -20 C und -40 C.

*Infusionstherapie* 1984; 11: 46-50.

**Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Guidi GC.**

Short-term venous stasis influences routine coagulation testing. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2005; 16: 453-458.

**Lippi G, Salvagno GL, Poli G, Guidi GC.**

Influence of centrifugation temperature on routine coagulation testing. *Clin. Chem.* 2006; 52: 537-538.

**Lutze G, Breyer J, Naumann Ch, Zawta B**

Useful Facts about Coagulation, second edition, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim 2000

**NCCLS**

**Procedures for the collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard-Fifth Edition** Number H3-A5. Pennsylvania, NCCLS; 2003; vol 23, No 32

**CLSI**

Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemaostasis assays; Approved guideline – Fifth Edition. *CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute;; 2008.*

**Peterson P, Gottfried EL.**

The effects of inaccurate blood sample volume on prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT). *Thromb Haemost* 1982; 47:101-103.

**Reneke J, Ezzell J, Leslie S, Ng VL, Gottfried EL.**

Prolonged prothrombin time and activated partial thromboplastin time due to underfilled specimen tubes with 109 mmol/l (3.2%) citrate anticoagulant.

*Am J Clin Pathol* 1998; 109: 754-757.

**Ray MJ, Carroll PA, Just SJE, Hanson GAT.**

A low volume specimen container suitable for monitoring the aPTT of heparinized patients. *Blood Coagul Fibrinol* 1993; 4: 805-807.

**Sletnes KE, Gravem K, Wisloff F.**

Preparation of plasma for the detection of lupus anticoagulants and antiphospholipid antibodies. *Thrombosis Res* 1992; 66: 43-53.

**Stibbe J, Hemker HC, van Creveld S.**

The inactivation of factor VIII in vitro. *Thromb Diathes haemorrh* 1972; 27:43-58.

**Triplett DA.**

Screening for the lupus anticoagulant. *Res Clin Lab* 1989; 19: 379-389.

**Van den Besselaar AMHP, Chantarangkul V, Tripodi A.**

A comparison of two sodium citrate concentrations in two evacuated blood collection systems for prothrombin time and ISI determination. *Thromb Haemost* 2000 ; 84 :664-667.

**Van den Besselaar AMHP, Rutten WPF, Witteveen E.**

Effect of magnesium contamination in evacuated blood collection tubes on the prothrombin time test and ISI calibration using recombinant human thromboplastin and different types of coagulometer. *Thromb Res* 2005 ; 115 :239-244.

**Van Geest-Daalderop JHH, Mulder AB, Boonman-de Winter LJM, Hoekstra MMCL, Van den Besselaar AMHP.**

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.

**Walker ID.**

Blood collection and sample preparation: pre-analytical variation. In: J Jespersen, RM Bertina, F Haverkate (editors), 2<sup>nd</sup> revised edition of ECAT assay procedures. *A manual of laboratory techniques. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1999; pp 21-28*

**Werkgroep Infectiepreventie.** Richtlijn Algemene Huidinfectie 2003. *Www.wip.nl.*

**Woodhams B, Girardot O, Blanco MJ, Colesse G, Gourmelin.**

Stability of coagulation proteins in frozen plasma. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2001; 12:229-236.

## Appendix

De verhouding van 1 deel natriumcitraat op 9 delen bloed geeft de juiste antistolling bij hematocriet-waarden, die rond 0,45 l/l liggen (0,20 – 0,55). Bij afwijkende Ht-waarden dient de verhouding te worden aangepast en moet er aan het vaste volume citraat in de buis respectievelijk meer ( $Ht > 0,55$  l/l) of minder ( $Ht < 0,20$  l/l) bloed worden toegevoegd. Het uitgangspunt bij de berekeningen is dat het plasmavolume dat aan een vast volume citraat wordt toegevoegd constant blijft. Het citraat verdeelt zich alleen over het plasma en niet over de bloedcellen.

Bij een afnamebuis, die 0,5 ml citraat bevat en waarin 4,5 ml bloed ( $Ht = 0,45$  l/l) wordt afgenomen, is de berekening als volgt:

$$\text{Plasmavolume} = (1 - Ht) \times \text{bloedvolume} = (1 - 0,45) \times 4,5$$

voeg toe:  $4,5 \times (1 - 0,45)/(1 - Ht)$  ml bloed, dus 4,5 ml bloed.

Bijv.:  $Ht = 0,16$  l/l:

$$\text{voeg toe: } 4,5 \times (1 - 0,45)/(1 - 0,16) = 2,9 \text{ ml bloed}$$

Bijv.:  $Ht = 0,78$  l/l:

$$\text{voeg toe: } 4,5 \times (1 - 0,45)/(1 - 0,78) = 11,3 \text{ ml bloed}$$

In de praktijk is een afwijkende Ht van het bloed meestal pas bekend na centrifugeren van de afnamebuis.

Bij een hoge Ht ( $> 0,55$  l/l) betekent dit, dat er ten opzichte van het in de buis aanwezige volume citraat te weinig bloed is afgenomen en zal veelal een nieuwe afname dienen plaats te vinden van de juiste, berekende hoeveelheid bloed.

Bij een lage Ht ( $< 0,20$  l/l) is er juist sprake van een relatief tekort aan citraat en dient dit tekort te worden aangevuld volgens onderstaande berekening.

Bij een bloedvolume = 4,5 ml is de benodigde hoeveelheid citraat:

$$0,5 \times (1 - Ht)/(1 - 0,45) = \text{ml citraat}$$

Bijv. bij:  $Ht = 0,16$  l/l is de benodigde hoeveelheid citraat:

$$0,5 \times (1 - 0,16)/(1 - 0,45) = 0,76 \text{ ml citraat}$$

Er bevond zich al 0,5 ml citraat in de buis, dus er moet  $0,76 - 0,5 = 0,26$  ml citraat worden toegevoegd aan het bloed-citraat mengsel.

Bij een normale Ht is er derhalve sprake van:

0,5 ml citraat per 4,5 ml bloed

$$\text{ofwel } 0,5 \text{ ml citraat per } 4,5 \times (1 - 0,45) = 2,48 \text{ ml plasma}$$

$$\text{ofwel } 0,20 \text{ ml citraat per ml plasma.}$$

Bij een Ht van 0,16 l/l geldt: 0,5 ml citraat per 4,5 ml bloed

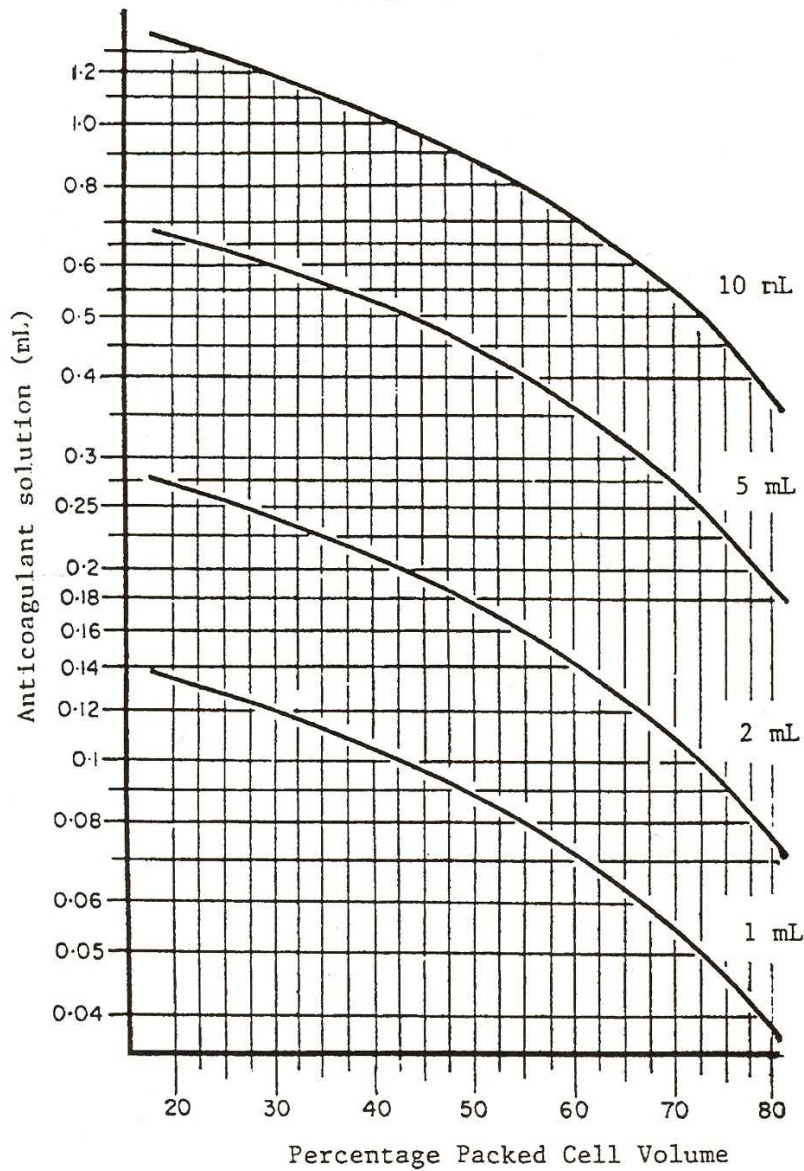
$$\text{ofwel } 0,5 \text{ ml citraat per } 4,5 \times (1 - 0,16) = 3,78 \text{ ml plasma}$$

$$\text{ofwel } 0,13 \text{ ml citraat per ml plasma}$$

De uiteindelijk aan het citraatplasma toe te voegen hoeveelheid citraat is dan bij een Ht van 0,16 l/l:

$$0,20 - 0,13 = 0,07 \text{ ml citraat per ml plasma.}$$

Reagents



Select the curve for the total volume of anticoagulated blood required (10, 5, 2, or 1 mL). Enter the chart at the patient's packed cell volume on the horizontal axis and read off the corresponding volume of anticoagulant solution on the vertical axis. Place the volume in a collection tube and add blood up to the required total volume. The chart assumes a normal packed cell volume of 43%; in that case, 1 volume of anticoagulant is made up to 10 volumes with blood.

Alternatively, the anticoagulant volume may be calculated from the expression:

$$X = (100 - PCV) / (595 - PCV) \text{ vol,}$$

where, X is the volume of anticoagulant required to prepare unit volume of anticoagulated blood, and PCV is the packed cell volume in %; e.g., to determine the volume required for 5 mL anticoagulated blood, calculate 5 x mL.

(Reproduced from Ingram, G.I.C., Brozovic, M., and Slater, N.G.P. Bleeding disorders, investigations and management, 2nd edition. Blackwell's Scientific Publications, Oxford: pp. 244-245, 1982, by permission of the authors and publishers.)

CLSI H21-A5