

Dondurulmuş Plazmada Protrombin Zamanı ve Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı Stabilitesi

Stability of Prothrombin Time and Activated Partial Thromboplastin Time in Frozen Plasma

Fatma Demet İnce İnanç Karakoyun

Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya, İzmir, Türkiye

Başvuru Tarihi: 10 Şubat 2016

Kabul Tarihi: 20 Nisan 2016

ÖZET

Amaç: Klinik laboratuvarlarda protrombin zamanı (PT) ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) testleri kan alımından sonra genellikle hızlı bir şekilde gerçekleştirilir. Bununla birlikte, bazen kan örnekleri ileri bir zamanda çalışılmak üzere dondurularak saklanabilmektedir. Yaptığımız çalışmada, -20°C'de dondurularak saklanan örneklerde saklama süresinin PT ve aPTT stabilitesi üzerine etkisini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Sağlıklı 256 kişinin kanından elde edilen ilk plazma örneği 60 dakika içerisinde çalışıldı, ikinci plazma örneği ise 4 gruba ayrıldı. 1.grup 2.aya (n=49), 2.grup 3.aya (n=44), 3.grup 4.aya (n=93) ve 4.grup 5. aya (n=70) kadar -20°C dondurucuda saklandı. Plazma örneklerinde PT ve aPTT, TriniCLOT reaktifi ile Denstiny Plus cihazında çalışıldı. Dondurularak çözülürldükten önce ve sonraki sonuçlar arasındaki değişim(%), toplam izin verilen tıbbi hata değerinden fazla ise klinik olarak anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular: Tüm gruplarda dondurma-çözdürme işleminden sonra PT, INR ve aPTT değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış bulundu (p<0.001). PT ve INR değerlerindeki artış toplam izin verilen tıbbi hata değeri içinde iken, aPTT değerlerindeki değişimlerin 2.ay, 3.ay ve 5.ayda toplam izin verilen tıbbi hata değerini geçtiği saptandı.

Sonuç: -20°C'da dondurularak saklama işlemi PT, INR ve aPTT değerlerini etkilemekle birlikte PT ve INR testlerindeki değişikliklerin aPTT'ye göre klinik açıdan daha kabul edilebilir sınırlar içinde olduğunu söyleyebiliriz. Bu kararı verirken klinik ihtiyaçlar ve seçilen izin verilen toplam hata oranı çok önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Kan pıhtılaşma testleri; plazma; dondurma

ABSTRACT

Objective: In clinical laboratories, the tests of prothrombin time (PT), and partial thromboplastin time (aPTT) are generally analysed fastly after blood collection. In addition to this, sometimes the blood samples can be kept as frozen in order to be analysed at a later time. In our study, we aimed to examine the effect of storage time of samples, which are kept frozen at -20°C, on the stability of PT and aPTT.

Materials and methods: The first plasma sample which was obtained from the bloods of 256 healthy individual, analysed in 60 minutes. The second plasma sample was divided into 4 groups and kept

frozen at -20°C up to time, which were 2 months for 1st group (n=49), 3 months for 2nd group (n=44), 4 months for 3rd group (n=93) and 5 months for 4th group (n=70). PT and aPTT were analysed by TriniCLOT reagent on Destiny Plus instrument. The changes, which exceed the total allowable medical error between before frozen and after thawing, were accepted clinically significant.

Results: After freeze-thawing, there were found statistically significant increases on the PT, INR and aPTT values in all groups (p<0.001). While the increase of PT and INR values was in the limits of the total allowable medical error, we found that the increase of aPTT values exceed the limits of the total allowable medical error.

Conclusion: While there was the effect of keeping process at -20°C on PT, INR and aPTT values, it can said that the changes in the PT and INR tests are within the clinically more acceptable limits compared with aPTT. While deciding that, the clinical needs and choosen allowable total error rate are very important.

Key words: Blood coagulation tests; plasma; freezing

Giriş

Protrombin zamanı (PT) ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT), koagülasyonun ekstrinsik ve intristik yollarının araştırılmasında yaygın olarak kullanılan testlerdir. Koagülasyon testleri, tanı ve tedavi kararlarının verilmesinde önemlidir. PT sıklıkla prostetik kapağı olan, derin ven trombozu ve atrial fibrilasyon geçiren hastada antikoagulan profilaksi (warfarin, vs) takibinde kullanılmaktadır. Burun kanaması, diş eti kanaması, travma olmaksızın deride oluşan morarma, hematüri, hematemez, hemartroz gibi kanama diyatezi olan hastalarda tanı amaçlı veya ameliyat öncesinde pıhtılaşma mekanizmasının normal işlediğinden emin olmak amacıyla istenebilmektedir. aPTT ise unfraksiyone heparin tedavi alan hastaların takibinde veya preoperatif olarak istenebilmektedir.

Klinik laboratuvarlarda PT ve aPTT testleri kan alımından sonra genellikle hızlı bir şekilde analiz edilmektedir. Bazen kan örnekleri ileri bir zamanda toplu olarak analiz edilmek, rutin laboratuvarlar tarafından kontrol materyalleri olarak kullanılmak veya klinik çalışmalarda kullanılmak üzere dondurularak saklanabilmektedir. Günümüzde laboratuvarlar kendi kliniklerinden gelen örnek haricinde, uydu kliniklerden veya çeşitli sebeplerle bu testleri çalışmayan dış laboratuvarlardan gelen örnekler için de laboratuvar hizmeti vermektedir. Hizmet veren laboratuvarlara örnek transferi dondurularak yapılabilir.

Klinik Laboratuvar Standart Enstitüsü (CLSI) kılavuzunda, 18-24°C'da saklanan santrifüj

edilmiş veya edilmemiş örneklerde PT testinin 24 saat içerisinde, aPTT testinin ise 4 saat içerisinde tamamlanması gerekliliği belirtilmektedir (1). Bu zaman dilimi içerisinde testleri tamamlanamayacak olan tüm örneklerin dondurularak saklanması gerekmektedir. Dondurularak saklanacak plazma örnekleri için, örnek tüplerinin likit nitrojene batırılması gibi hızlı dondurma teknikleri uygulanarak -70°C'da saklanması önerilmektedir. Birçok laboratuvar da likit nitrojen ve/veya -70°C'da soğutma sağlayan cihazlar bulunmadığından, dondurularak örnek saklama işlemi için genellikle -20°C soğutma sağlayan cihazlar tercih edilmektedir. CLSI kılavuzunda örneklerin -20°C'da dondurularak saklanması sonucunda PT ve aPTT testlerinin 2 haftaya kadar etkilenmediği belirtilmiştir, fakat 2 haftayı geçen sürelerde CLSI'nın önerisi bulunmamaktadır. Plazmanın -20°C'da dondurularak saklanması sonucunda, örnek saklama süresinin PT ve aPTT değerlerini etkilemesi ile ilgili olarak literatürde bir konsensus bulunmamaktadır (2-6). Yaptığımız çalışmada, yüksek örnek sayısı ile -20°C'da dondurularak saklanan örneklerde saklama süresinin PT ve aPTT stabilitesi üzerine etkisini araştırmak yoluyla bu alanda bir katkı sağlamayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Çalışma grubu

Çalışmaya hemostatik sistem bozukluğunu dışlayacak anket uygulanarak sağlıklı olduğu düşünülen 256 gönüllü kişi dahil edildi. Yerel etik kurul onayı (Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu, İzmir) alınarak çalış-

maya dahil edilen gönüllülere yazılı onam formu dolduruldu. Katılımcıların araştırmaya dışlama kriterleri; 1. Antikoagulan tedavi alması veya herhangi bir ilaç kullanması; 2. Ailesel veya geçmiş kanama hikayesi olması; 3. Tromboembolik ya da hemorajik hastalık hikayesi olması; 4. Alınan kan örneklerinin istenen seviyede olmaması; 5. Alınan kan örneklerinin pıhtılı, hemolizli, ikterik, lipemik olması; 6. Katılımcıların hematokritinin %55'den büyük olması şeklinde belirlendi.

Çalışma dizaynı

Gönüllülerden kan örnekleri 9 volüm kan için 1 volüm %3.2'lik trisodyum sitrat içeren, mavi kapaklı BD Vacutainer (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) marka tüplere alındı. Kan alma işlemi staz önlemek için sadece hafif turnike kullanılarak tercihen holder yardımıyla antekübital venden yapıldı. Homojenizasyon için tüpler 5-6 kez alt üst edildi. Alınan kan örnekleri oda sıcaklığında 1500 g'de 15 dk santrifüj edildi ve elde edilen plazma her bir gönüllü için 2 kısma ayrıldı. İlk plazma örneği 60 dakika içerisinde çalışıldı, ikinci plazma örneği ise 4 porsiyona ayrılarak 4 grup oluşturuldu. 1.grup 2.aya (n=49), 2.grup 3.aya (n=44), 3.grup 4.aya (n=93) ve 4.grup 5. aya (n=70) kadar derece takibi yapılan -20°C dondurucuda saklandı (-18°C ile -25°C aralığında). Dondurulan örnekler 37°C su banyosunda 5 dakika tutularak çözdürüldü ve sonrasında analiz edildi.

Biyokimyasal analiz

Analiz için TriniCLOT PT HTF (Tcoag Ireland Ltd, Wicklow, Ireland), TriniCLOT aPTT HS (Tcoag Ireland Ltd, Wicklow, Ireland) marka reaktifleri ile Denstiny Plus (Trinity Biotech, Acton, USA) analizörü kullanıldı. INR değerini hesaplamak için PT Oranı= Hasta PT/Normal PT ve INR=PT Oranı^{ISI} formülleri uygulandı. TriniCLOT PT HTF reaktifine ait Uluslararası Duyarlılık İndeksi (ISI) değeri 1.26 idi. PT ve aPTT manyetik tanımlama ile pıhtılaşma esasına göre ölçüldü. Laboratuvarımızda PT için referans aralığı 11.5-14.5 saniye, aPTT için 22.6-38.2 saniye ve INR için 0.8-1.2'dür.

Kesinlik çalışması, CLSI EP15-A3 protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi (7). PT ve aPTT için çalışma içi varyasyon katsayısı (CV)

sırasıyla %2.8 ve %3.0; total CV sırasıyla %4.8 ve %4.5 idi.

İstatistiksel analiz

Herbir gruptaki verilerin dağılımı Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uymayan veriler tespit edildiği için parametrik olmayan test kullanıldı. 60 dakika içerisinde analiz edilen ilk örnek verileri bazal değer olarak kabul edildi. 2.ay, 3.ay, 4.ay ve 5.ayda analiz edilen örneklerin sonuçları, bazal değerlerle Wilcoxon İşaretli Sıra Testi kullanılarak karşılaştırıldı. 0.05'den küçük p değeri, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Herbir gruptaki testler için ortanca ve %25-%75 yüzdeler hesaplandı. Dondurma işleminden önceki ve sonraki değerler arasındaki fark(%)=[(bazal değer - dondurma sonrası değer) / bazal değer] × 100 şeklinde hesaplandı; ortalama ve standart sapma olarak gösterildi. Grup içindeki ortalama fark(%), PT, INR ve aPTT için izin verilebilir toplam hatadan (sırasıyla, ±%15, ±%20, ±%15) fazla ise klinik olarak anlamlı değişiklik olarak kabul edildi (8,9).

Bulgular

Plazma örneklerinin -20°C'de dondurulmadan önce ve sonraki PT, INR ve aPTT değerleri ve aralarındaki fark(%) Tablo 1'de gösterildi. Tüm gruplarda (2., 3., 4. ve 5. ayda) dondurma-çözdürme işleminden sonra PT, INR ve aPTT değerlerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0.001).

Dondurma-çözdürme işleminden sonra PT, INR ve aPTT değerlerindeki yüzde değişim Grafik 1 ve 2'de gösterildi. Dondurma süresi uzadıkça PT, INR ve aPTT değerlerindeki yüzde değişimin varyansı artmaktaydı. Grafikte PT, INR ve aPTT değerlerindeki ortalama değişimler izin verilebilir toplam hata sınırları içindeydi.

Tartışma

Kan alımı öncesi hastaların hazırlanma süreci, örneklerin doğru barkodlanması, doğru venöz stazın sağlanması, doğru teknikle kan alınması, uygun iğne ve aletlerin kullanılması, hemoliz ve pıhtı için örneklerin denetlenmesi, örnek alınmasında tüplerin önceliği

Tablo 1. -20°C'de dondurulmadan önce ve sonra PT, INR ve aPTT değerleri ve fark (%)

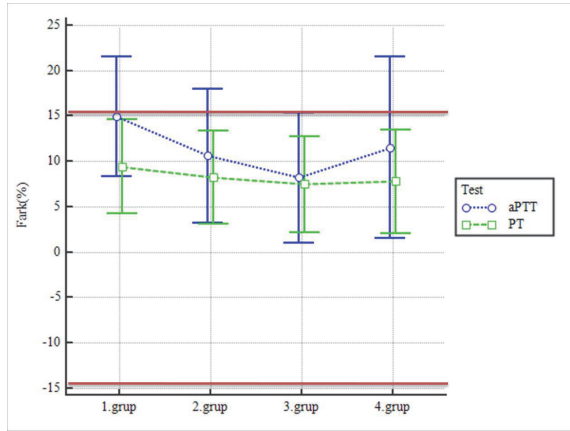
	PT (saniye)				INR				aPTT (saniye)				
	n	Dondurma öncesi	Dondurma sonrası	Fark (%)	P değeri	Dondurma öncesi	Dondurma sonrası	Fark (%)	P değeri	Dondurma öncesi	Dondurma sonrası	Fark (%)	P değeri
1.grup	49	12.8 (11.4-14.5)	14.0 (12.4-16.8)	9.4±5.2	<0.001	0.96 (0.84-1.16)	1.07 (0.92-1.34)	8.0±6.3	<0.001	30.9 (24.8-46.2)	35.9 (29.7-57.3)	14.9±6.6	<0.001
2.grup	44	12.8 (11.5-19.5)	13.9 (12.7-17.7)	8.3±5.2	<0.001	0.99 (0.87-1.23)	1.06 (0.94-1.43)	6.9±5.4	<0.001	29.2 (23.0-49.2)	33.4 (24.9-53.1)	10.6±7.4	<0.001
3.grup	93	13.5 (12.0-15.4)	14.5 (12.6-18.5)	7.5±5.3	<0.001	1.07 (0.91-1.25)	1.11 (0.94-1.51)	5.1±6.5	0.001	32.6 (20.6-51.9)	34.8 (24.5-54.7)	8.2±7.2	<0.001
4.grup	70	13.4 (12.0-14.9)	14.3 (12.7-18.5)	7.8±5.7	<0.001	1.05 (0.91-1.20)	1.09 (0.94-1.51)	5.5±6.7	<0.001	31.9 (25.4-45.6)	35.6 (27.7-52.5)	11.5±10.0	<0.001

1. grup, 2.aya; 2.grup, 3.aya; 3.grup 4.aya ve 4.grup 5. aya kadar -20°C dondurucuda saklandı.

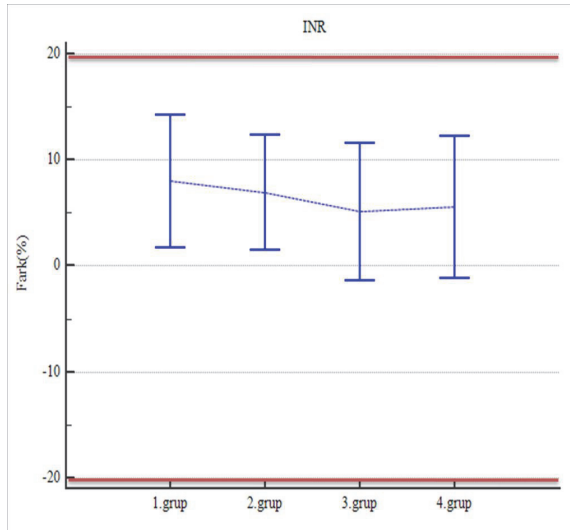
Fark(%); Dondurma öncesi ve sonrası sonuçlar arası fark

PT, INR ve aPTT değerleri (ortanca, %25-%75 yüzdellik) ve fark(%) (ortalama, standart sapma) gösterilmiştir.

vb. gibi pekçok faktör için kılavuzlar yayınlanmıştır (1,10). Bu kılavuzlardan biri olan CLSI, örneklerin -20°C 'da dondurularak saklanması sonucunda PT ve aPTT testlerinin 2 haftaya kadar etkilenmediğini belirtmiştir (1). Kan bankası için dondurulmuş plazma Avrupa'da, -20°C 'de en fazla üç ay ABD'de 12 ay boyunca saklanabildiği belirtilmiştir (11,12). Literatürü taradığımızda ise örnek alındıktan sonra depolama süresi ve ısısının PT ve aPTT stabilitesi üzerine etkisiyle ilgili pekçok farklı görüş olduğunu saptadık (2-6, 13-16).



Grafik 1. -20°C 'de dondurulmadan önce ve sonra PT ve aPTT değerleri arasındaki fark(%)



Grafik 2. -20°C 'de dondurulmadan önce ve sonra INR değerleri arasındaki fark(%)

Foshat ve arkadaşları yaptıkları çalışmada -20°C 'da dondurularak saklanan örneklerde 2 haftaya kadar PT ve aPTT testlerinin etkilen-

mediğini belirtmişlerdir (2). Woodhams ve arkadaşları sağlıklı katılımcılardan aferez ile toplanan sitratlı plazmanın -24°C 'da saklanması sonucunda PT değerleri 16 aya kadar ve aPTT değerleri 12 aya kadar %10'un altında bir varyasyon olduğunu göstermişlerdir (3). Rao ve arkadaşları -20°C 'da saklanan örneklerde PT değerlerinin 12. saatte ve aPTT değerlerinin 6. saatte anlamlı artış olduğunu göstermişlerdir (4). van den Besselaar ve arkadaşları -20°C 'da saklanan plazma örneklerinin yaklaşık 3 yıl süren takiplerinde INR değerlerinin zamanla artış olduğunu saptamışlardır (17).

Yaptığımız çalışmada 2., 3., 4. ve 5. aya kadar -20°C 'da dondurularak saklanan örneklerde PT, INR ve aPTT değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğunu saptadık. Alesci ve arkadaşları 4. aya kadar -20°C 'da plazma örneklerini saklamışlar ve tüm periyotlarda en fazla aPTT değerlerinde olmakla birlikte her iki testte de istatistiksel olarak anlamlı yükselmelerin meydana geldiğini göstermişlerdir (5). Alesci ve arkadaşlarının sonuçlarıyla uyumludur.

PT, faktör 7'nin işlev gördüğü ekstrinsik koagülasyon kaskadını; aPTT ise faktör 8, 9 ve 11'in işlev gördüğü intrinsik koagülasyon kaskadını değerlendirir. Diğer çalışmalarda olduğu gibi faktör 7'nin kısa yarı ömrü ve faktör 5 ve 8'in kararsız doğası nedeniyle PT ve aPTT' de uzama görüldü. Donmuş örneklerde PT ve aPTT stabilitesini değerlendiren çalışmaların çoğu uzun süreli depolama kapasitesini saptamayı amaçlamıştır. Ancak, benzer koşullar altında çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Flebotomi yapan kişinin, kan alma sistemlerinin, kan alma tüplerinin, santrifüj hızlarının, tromboplastin reaktif ve analizörlerinin, ölçüm yönteminin (optik ya da mekanik) farklı olması gibi preanalitik ve analitik faktörler sonuçları etkileyebilir. Çoğu çalışmada sağlıklı birey örneği alınmasına rağmen sadece bir kısmında antikoagulan kullanan hastalar da değerlendirmeye dahil edilmiştir. Depolama sıcaklığı ve süresinin etkisini istatistiksel ve klinik olarak değerlendirirken, anlamlı değişiklikler arasında tutarsızlıklar saptanabilmektedir. Önceki çalışmalar koagülasyon testleri yorumlanması için klinik önemin derecesini ifade etmek ve

hasta bakımı üzerindeki etkisini yansıtması için ortalama yüzde değişim sınırını $\pm\%10$ ve $\pm\%15$ kullanmıştır (4-6,13-15). Çalışmamızda dondurularak saklanan örneklerde PT, INR ve aPTT değerlerinde saptanan istatistiksel olarak anlamlı artışın, ortalama yüzde değişim oranları dikkate alındığında toplam izin verilen tıbbi hata limitleri içinde olduğu tespit edildi. Testlerin yüzde değişim oranları karşılaştırıldığında aPTT'de daha büyük değişimin olması, daha labil olmasından kaynaklandığını düşündürmektedir.

-20°C 'de dondurularak saklanma işleminin tüm parametreler üzerine 2. aydan itibaren istatistiksel olarak anlamlı değişikliğe sebep olduğu için -20°C soğutma sağlayan soğutuculara daha kolay ulaşabiliyorken, incelediğimiz parametreler açısından uzun süreli stabilizasyonda bu soğutma derecesi yeterli olmayabilir. Bu kararı vermek için önerilen izin verilen toplam hata oranı ve klinik anlamlılık için duyulan ihtiyaç çok önemlidir.

Hasta örneklerinin saklanmasında daha düşük derecelerde soğutma sağlayan sistemlerin (örneğin -70°C); daha kısa veya daha uzun dondurma sürelerinin (1, 3, 6, 12 ay gibi) çalışmamıza dahil edilmemiş olması çalışmamızın sınırlaması olarak sayılabilir. Çalışmamızın bir diğer sınırlaması sağlıklı popülasyona sahip olan gönüllülerde yapılması dolayısı ile antikoagulan tedavi alan hastalarda değişimin tespitine olanak sağlamış olmasıdır. Çalışmamızda değerlendirilen koagülasyon testlerindeki değişimin altında yatan mekanizmayı anlamak için ek olarak faktörlerin aktivite veya düzeylerinin de araştırılması gerekebilir. Böylece plazma örneklerinin analiz edilene kadar daha uzun süre saklanabilmesi için yeni mekanizmalar oluşturulabilir. Çalışmamızdaki sınırlamalar telafi edilerek ve altta yatan mekanizmayı açıklayabilecek ileri çalışmalarla konuya ışık tutulabilir.

KAYNAKLAR

1. CLSI. Collection, Transport and Processing of Blood Samples for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline- Fifth Edition. CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Sciences Institute; 2008.

2. Foshat M, Bates S, Russo W, Huerta A, Albright K, Giddings K, et al. Effect of freezing plasma at -20°C for 2 weeks on prothrombin time, activated partial thromboplastin time, dilute russell viper venom time, activated protein C resistance, and D-dimer levels. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 2015; 21: 41-47.
3. Woodhams B, Girardot O, Blanco MJ, Colesse G, Gourmelin Y. Stability of coagulation proteins in frozen plasma. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2001; 12(4):229-36.
4. Rao LV, Okorodudu AO, Petersen JR, Elghetani MT. Stability of prothrombin time and activated partial thromboplastin time tests under different storage conditions. *Clin Chim Acta* 2000; 300:13-21.
5. Alesci S, Borggreffe M, Dempfle CE. Effect of freezing method and storage at -20°C and -70°C on prothrombin time, aPTT and plasma fibrinogen levels. *Thrombosis Research* 2009; 124(1):121-6.
6. 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(3): 561-568.
7. Carey RN, Durham AP, Hauck WW, Kallner A, Kondratovich MV, Middle JG, et al. User Verification of Performance for Precision and Trueness, EP15-A3; Approved Guideline-3rd ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute 2014.
8. Westgard James O, Westgard Sten A. The Quality of Laboratory Testing Today: An Assessment of Sigma Metrics for Analytic Quality Using Performance Data From Proficiency Testing Surveys and the CLIA Criteria for Acceptable Performance. *Am J Clin Pathol*. 2006;125:343-354.
9. Department of Health and Human Services. Clinical laboratory improvement amendments of 1988: final rules and notice. 42 CFR Part 493. The Federal Register 1992; 57: 7188-7288.
10. Adcock Funk DM, Lippi G, Favaloro EJ. Quality standards for sample processing, transportation, and storage in hemostasis testing. *Semin Thromb Hemost*. 2012; 38(6):576-85.
11. Lackwood WB, Leonard J, Liles SL. Storage, Monitoring, Pretransfusion Processing, and Distribution of Blood Components. Roback JD et al, ed. AABB Technical Manual, 16th ed, Bethesda MD, 2008. pp. 283-299.
12. Haris SB, Hillyer CB. Blood Manufacturing: Component Preparation, Storage, and Transportation. Hillyer CD et al, ed. Blood Banking and Transfusion Medicine, 2nd ed, Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia PA, 2007. pp. 196-197.
13. Kemkes-Matthes B, Fischer R, Peetz D. Influence of 8 and 24-h storage of whole blood at ambient temperature on prothrombin time, activated partial thromboplastin time, fibrinogen, thrombin time, antithrombin and D-dimer. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2011; 22(3): 215-220.

14. Zurcher M, Sulzer I, Barizzi G, Lammle B, Alberio L. Stability of coagulation assays performed in plasma citrated whole blood transported at ambient temperature. *Thromb Haemost* 2008; 99(2):416-426.
15. Froom P, Barak M. Testing for lupus anticoagulants-fresh or frozen? *Clin Chem Lab Med* 2012; 50(9):1607-9.
16. Zhao Y, Lv G. Influence of temperature and storage duration on measurement of activated partial thromboplastin time, D-dimers, fibrinogen, prothrombin time and thrombin time, in citrate-anticoagulated whole blood specimens. *Int J Lab Hematol*. 2013 Oct;35(5):566-70.
17. van den Besselaar AM, Witteveen E, van der Meer FJ. Long-term stability of frozen pooled plasmas stored at -70 C, -40 C and -20 C for prothrombin time and International Normalized Ratio (INR) assessment. *Thrombosis Research* 2013;131(4): 349-51.

Yazışma adresi:

Fatma Demet İnce
Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Tıbbi Biyokimya, İzmir
E-mail: fatmademet.arslan@gmail.com
