

01-2019/v.1.

**Hrvatsko društvo za medicinsku biokemiju i
laboratorijsku medicinu: Nacionalne preporuke za
postupke uzorkovanja, pripreme i analize uzoraka
te izvještavanje rezultata probirnih koagulacijskih
pretraga protrombinskog vremena, aktiviranog
parcijalnog tromboplastinskog vremena,
trombinskog vremena, fibrinogena i D-dimera**

**Ana Bronić, Desiree Coen Herak,
Marija Milić, Sandra Margetić**

Zagreb, svibanj 2019.

Naslov:

Hrvatsko društvo za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu: Nacionalne preporuke za postupke uzorkovanja, pripreme i analize uzoraka te izvještavanje rezultata probirnih koagulacijskih pretraga protrombinskog vremena, aktiviranog parcijalnog tromboplastinskog vremena, trombinskog vremena, fibrinogena i D-dimera

Autori:

Ana Bronić, Desiree Coen Herak, Marija Milić, Sandra Margetić

Izdavač:

Hrvatsko društvo za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu (HDMBLM)

Prijevod:

Ana Bronić, Marija Milić

Ovaj dokument je prijevod članka objavljenog u časopisu Biochemia Medica: Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine: National recommendations for blood collection, processing, performance and reporting of results for coagulation screening assays: Prothrombin time, Activated partial thromboplastin time, Thrombin time, Fibrinogen and D-dimer. Biochem Med 2019;29(2):020503

Korektura:

Desiree Coen Herak, Sandra Margetić

Grafičko oblikovanje:

Maja Mravec, Braće Radića 107, Mraclin

Tisak:

Mediaprint Tiskara Hrastić d.o.o., Murati 16, 10000 Zagreb

Naklada:

560 primjeraka

ISBN:

978-953-57778-7-8

Hrvatsko društvo za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu: Nacionalne preporuke za postupke uzorkovanja, pripreme i analize uzoraka te izvještavanje rezultata probirnih koagulacijskih pretraga protrombinskog vremena, aktiviranog parcijalnog tromboplastinskog vremena, trombinskog vremena, fibrinogena i D-dimera

Ana Bronić

Klinički zavod za kemiju,
Klinički bolnički centar
Sestre milosrdnice, Zagreb

Desiree Coen Herak

Klinički zavod za laboratorijsku
dijagnostiku,
Klinički bolnički centar Zagreb

Marija Milić

Zavod za kliničko laboratorijsku
dijagnostiku,
Klinički bolnički centar Osijek

Sandra Margetić

Klinički zavod za kemiju,
Klinički bolnički centar Sestre
milosrdnice, Zagreb

SADRŽAJ

SAŽETAK	4
UVOD	5
MATERIJALI I METODE	5
1. PRIJEANALITIČKA FAZA RADA PRI IZRADI KOAGULACIJSKIH PRETRAGA	6
1.1 Zahtjev za pretragama - uputnica.....	6
1.2 Priprema i identifikacija bolesnika.....	6
1.3 Spremnici za uzorkovanje i antikoagulans.....	6
1.4 Uzorkovanje krvi.....	7
1.5 Redoslijed uzorkovanja spremnika.....	8
1.6 Neprihvatanje uzoraka.....	8
1.7 Priprema uzoraka krvi za analizu.....	8
1.8 Uzorci s visokim vrijednostima hematokrita.....	9
1.9 Hemoliza, hiperbilirubinemija i lipemija.....	10
1.10 Pohrana uzoraka do analize.....	11
1.11 Transport uzoraka u udaljene laboratorije.....	12
1.12 Odmrzavanje zamrznutih uzoraka plazme.....	13
2. ANALITIČKA FAZA RADA PRI IZRADI KOAGULACIJSKIH PRETRAGA	13
2.1 Kontrola kvalitete.....	13
2.2 Koagulacijske pretrage.....	14
2.2.1 Protrombinsko vrijeme.....	14
2.2.2 Aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme.....	15
2.2.3 Trombinsko vrijeme.....	16
2.2.4 Fibrinogen.....	17
2.2.5 D-dimeri.....	18
3. POSLIJEANALITIČKA FAZA RADA PRI IZRADI KOAGULACIJSKIH PRETRAGA	18
3.1 Referentni intervali, granične vrijednosti i usklađivanje izvještavanja o rezultatima.....	18
3.2 Izvještavanje rezultata pojedinih probirnih koagulacijskih pretraga i D-dimera.....	19
3.2.1 Izvještavanje rezultata PV/INR-a.....	19
3.2.2 Izvještavanje rezultata APTV-a.....	20
3.2.3 Izvještavanje rezultata TV-a.....	20
3.2.4 Izvještavanje rezultata fibrinogena.....	20
3.2.5 Izvještavanje rezultata D-dimera.....	21
3.3 Interpretativni komentari.....	21
3.4 Kritične vrijednosti.....	22
ZAKLJUČAK	23
LITERATURA	24
DODATCI	27
DODATAK 1. – Tablični prikaz osnovnih preporuka za postupke u prijeanalitičkoj, analitičkoj i poslijeanalitičkoj fazi izrade probirnih koagulacijskih pretraga protrombinskog vremena, aktiviranog parcijalnog tromboplastinskog vremena, trombinskog vremena, fibrinogena i D-dimera.....	27
DODATAK 2. – Komentari i recenzije pristigle tijekom javne rasprave radne verzije dokumenta Nacionalne preporuke za postupke uzorkovanja, pripreme i analize uzoraka te izvještavanje rezultata probirnih koagulacijskih pretraga: protrombinskog vremena, aktiviranog parcijalnog tromboplastinskog vremena, trombinskog vremena, fibrinogena i D-dimera.....	32

Atellica COAG 360 System

The scientific overlay is not that of the individual pictured and is not from a device of Siemens Healthineers. It was modified for better visualization.



One hemostasis system.

Engineered by Siemens Healthineers to deliver control and simplicity so you can drive better outcomes

<https://www.siemens-healthineers.com/>

SAŽETAK

Moderni dijagnostički laboratoriji nude širok spektar koagulacijskih pretraga koje se koriste u dijagnostici i liječenju bolesnika s hemostat-skim poremećajima, u preoperativnom probiru te praćenju antikoagu-lacijske terapije. Nedavno provedeno istraživanje među medicinsko-biokemijskim i transfuziološkim laboratorijima u Republici Hrvatskoj pokazalo je različitu praksu i način postupanja u pojedinim fazama laboratorijskog rada pri izradi koagulacijskih pretraga i istaknulo je područja koja zahtijevaju poboljšanja. Nedostatak standardizacije po-

stupaka i neharmonizirani rezultati između različitih mjernih metoda mogu uzrokovati pogrešne odluke u liječenju i time ugroziti sigurnost bolesnika. Stoga su u ovim preporukama sažeti standardizirani postupci u prijeanalitičkoj, analitičkoj i poslijeanalitičkoj fazi izrade probirnih koagulacijskih pretraga protrombinskog vremena, aktiviranog parcijal-nog tromboplastinskog vremena, trombinskog vremena, fibrinogena i D-dimera, kako bi pomogli laboratorijima u dobivanju točnih i pouzda-nih rezultata ispitivanja.

UVOD

Hemostaza je fiziološki odgovor na ozljedu. Rezultat je složenog međudjelovanja između krvnih žila, trombocita i faktora zgrušavanja iz plazme s glavnom funkcijom zaustavljanja krvarenja na mjestu ozljede krvne žile uz održavanje protoka krvi u intaktnim krvnim žilama (1).

Moderni dijagnostički laboratorij nudi širok spektar koagulacijskih pretraga koje se koriste u dijagnostici i liječenju bolesnika s hemostatskim poremećajima, prijeoperativnom probiru i praćenju antikoagulacijske terapije (2). Među njima, protrombinsko vrijeme (PV), aktivirano parcijalno trombotičko vrijeme (APTV) i fibrinogen su najčešće pretrage probiranja, koje pružaju brzu, iako nespecifičnu informaciju o prirodi hemostatskih poremećaja (3). Rezultati ovih probirnih pretraga, zajedno s bolesnikovom povijesti bolesti, usmjeravaju dijagnostiku prema specifičnim pretragama za ispitivanje poremećaja sustava hemostaze. Komercijalno je dostupan velik broj različitih testova koji se metodološki razlikuju, a nedostatak standardizacije i neharmonizirani rezultati između različitih mjernih metoda mogu dovesti do pogrešne odluke u liječenju bolesnika (4). Slijedom toga, sigurnost bolesnika može biti ugrožena, uzrokujući ujedno i dodatne troškove zdravstvene zaštite (5).

Nedavno provedeno istraživanje među medicinsko-biokemijskim i transfuziološkim laboratorijima u Republici Hrvatskoj (RH) pokazalo je različitu praksu i postupanje u pojedinim fazama laboratorijskog rada prilikom izrade koagulacijskih pretraga i istaknulo je područja koja zahtijevaju poboljšanja (6). S obzirom na potrebu standardiziranja i usklađivanja cjelokupnog laboratorijskog procesa pri ispitivanju poremećaja hemostatskog sustava na nacio-

nalnoj razini, u ovim preporukama je sažet pregled postupaka u prijeanalitičkoj, analitičkoj i poslijeanalitičkoj fazi određivanja probirnih koagulacijskih pretraga PV, APTV, trombinskog vremena (TV), fibrinogena i D-dimera.

MATERIJALI I METODE

Preporuke za postupke u prijeanalitičkoj, analitičkoj i poslijeanalitičkoj fazi laboratorijskog rada pri određivanju probirnih koagulacijskih pretraga PV-a, APTV-a, TV-a, fibrinogena i D-dimera izradila je Radna grupa za laboratorijsku koagulaciju (RGZLK) koju je osnovalo Hrvatsko društvo za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu (HDMBLM). Izrada preporuka potaknuta je rezultatima istraživanja koje je RGZLK provela tijekom 2015. godine među medicinsko-biokemijskim i transfuziološkim laboratorijima u RH koji izvode koagulacijske pretrage (6). Podaci prikazani u ovim preporukama prikupljeni su pretraživanjem baza podataka PubMed i Ovid, kao i relevantnih publikacija Instituta za kliničke i laboratorijske standarde (engl. *Clinical & Laboratory Standards Institute*, CLSI), Britanskog društva za hematologiju (engl. *British Society for Hematology*, BSH) te Međunarodnog društva za trombozu i hemostazu (engl. *International Society on Thrombosis and Haemostasis*, ISTH). Ključne riječi koje su korištene u pretraživanju bile su prijeanalitička, analitička i poslijeanalitička faza ispitivanja hemostaze i/ili koagulacije, koagulacijske pretrage, pretrage hemostaze, PV, internacionalni normalizirajući omjer (INR), APTV, TV, fibrinogen, D-dimeri, preporuke za izradu koagulacijskih pretraga i/ili pretraga hemostaze, tumačenje rezultata pretraga, standardizacija i/ili harmonizacija u ispitivanju hemostaze.

1. Prijeanalitička faza rada pri izradi koagulacijskih pretraga

Prijeanalitička faza rada u laboratoriju uključuje sve postupke koji se provode od vremena kada liječnik podnese zahtjev za određenom laboratorijskom pretragom, pa sve do vremena kad je uzorak spreman za analizu. Većina laboratorijskih grešaka događa se upravo u prijeanalitičkoj fazi rada (5,7). Budući da se greške nastale u prijeanalitičkoj fazi rada često prepoznaju tek u analitičkoj i poslijeanalitičkoj fazi, potrebno je osigurati stroge kontrolne mehanizme prijeanalitičke faze kako bi se rizik od grešaka izbjegao ili smanjio na najmanju moguću mjeru (7-9). Uzorkovanje krvi najsloženiji je postupak u prijeanalitičkoj fazi rada i stoga je najpodložniji greškama. Standardizirani postupci za uzorkovanje krvi opisani su u prethodno objavljenim Nacionalnim preporukama za uzimanje uzoraka venske krvi i potrebno ih je slijediti, a u daljnjem će se tekstu raspraviti postupci specifični za prijeanalitičku fazu rada izrade koagulacijskih pretraga (10).

1.1 Zahtjev za pretragama - uputnica

Kao jedan od glavnih problema nedavno provedenog istraživanja među dijagnostičkim laboratorijima koji izrađuju koagulacijske pretrage istaknut je nedostatak informacija na uputnici (6). Nedostatak odgovarajućih informacija kao što su radna ili potvrđena dijagnoza, odnosno podaci o primijenjenoj antikoagulacijskoj terapiji može dovesti do pogrešnog tumačenja rezultata analize, izvođenja dodatnih ili ponavljanja pretraga što u konačnici rezultira i dodatnim troškovima. Stoga, uz zatražene koagulacijske pretrage, informacije o radnoj ili potvrđenoj dijagnozi, kao i podatak o antikoagulacijskoj terapiji trebaju biti sastavni dio uputnice (10). Njihova dostupnost izrazito je važna za ispravno izvještavanje i tumačenje rezultata.

Preporuka:

Informacije o radnoj ili potvrđenoj dijagnozi, kao i podatak o primijenjenoj antikoagulacijskoj terapiji trebaju biti sastavni dio zahtjeva za pretragama.

1.2 Priprema i identifikacija bolesnika

Preporuke za pripremu bolesnika prije uzimanja venskih uzoraka krvi kao i odgovarajući način identifikacije bolesnika tijekom uzorkovanja dio su Nacionalnih preporuka za uzimanje venskih uzoraka te su primjenjive i za koagulacijske pretrage (10).

Preporuka:

Priprema i identifikacija bolesnika prije uzorkovanja krvi mora se provesti sukladno Nacionalnim preporukama za uzimanje venskih uzoraka (10).

1.3 Spremnici za uzorkovanje i antikoagulans

Uzorci venske krvi za koagulacijske pretrage uzimaju se u staklene ili plastične spremnike s neaktivirajućom površinom. Stoga, stakleni spremnici trebaju biti silikonizirani, a plastični moraju sadržavati polipropilen kao neaktivirajući materijal (11,13). Spremnici trebaju sadržavati puferirani trinitrijev citrat kao antikoagulans u preporučenoj koncentraciji od 105-109 mmol/L, tj. 3,2% trinitrijev citrat. Iako su na tržištu dostupni i spremnici s 129 mmol/L tj. 3,8% trinitrijevim citratom, važno je naglasiti da se referentni intervali i rezultati pretraga mogu razlikovati između uzoraka prikupljenih u spremnike s različitim koncentracijama citra-

ta. Na primjer, u uzorcima uzetim na 3,8% trinatrijev citrat kao antikoagulans, vrijeme zgrušavanja PV-a i APTV-a može biti kraće, a fibrinogena dulje u odnosu na vrijednosti dobivene uz 3,2% trinatrijev citrat, što je značajno ako se koriste referentni intervali određeni u uzorcima plazme prikupljenim u spremnike s 3,2% trinatrijevim citratom (11-13). Stoga je glavna preporuka da laboratoriji standardiziraju uporabu spremnika i koriste uvijek one s istom koncentracijom trinatrijevog citrata, po mogućnosti 3,2% (11). Ovo je važno jer se samo spremnici s 3,2% trinatrijevim citratom koriste za određivanje međunarodnog indeksa osjetljivosti tromboplastina (engl. *International Sensitivity Index*, ISI), pa ih stoga preporučuju i Znanstveni i standardizacijski odbor (*The Scientific and Standardization Committee*, SSC) ISTH-a i CLSI (11). Omjer krvi i antikoagulansa u spremniku treba biti 9:1. Uvijek je potrebno uzorkovati točnu količinu krvi koja je naznačena na spremniku, kako bi se osigurao odgovarajući omjer krvi i antikoagulansa te dobili točni rezultati (11). Iako su rezultati nekoliko nedavnih istraživanja pokazali da bi za određene analize mogla biti prihvatljiva i veća odstupanja, još uvijek je opće prihvaćena preporuka o dozvoljenom odstupanju od +/-10%, što odgovara 90 do 110% količine naznačene na spremniku (12-14).

Preporuke:

1. Uzorci venske krvi za koagulacijske pretrage uzimaju se u staklene ili plastične spremnike s neaktivirajućom površinom.
2. Spremnici trebaju sadržavati puferirani trinatrijev citrat kao antikoagulans u koncentraciji od 105-109 mmol/L, tj. 3,2%-tni trinatrijev citrat.
3. Omjer krvi i antikoagulansa u spremniku za koagulacijske pretrage treba biti 9:1.

4. Uzorci s volumenom krvi +/-10% u odnosu na potrebnu količinu naznačenu na spremniku prihvatljivi su za analizu.

1.4 Uzorkovanje krvi

Uzorci krvi uzimaju se iz periferne vene, bez traume i na mjestu udaljenom od intravenskog katetera ukoliko je prisutan. Postupci koji se odnose na uzorkovanje, uključujući vrijeme trajanja podveze i miješanje spremnika, trebaju biti u skladu s prethodno objavljenim preporukama (8,10,11). Za bolesnike kod kojih nije moguće izvaditi krv na ovaj način, uzorkovanje se izvodi putem intravenskog sustava (središnjeg ili perifernog venskog katetera) za vađenje krvi. Ukoliko je kateter prethodno ispran heparinom, potrebno je postupiti prema dalje opisanoj proceduri. Prije sakupljanja krvi u koagulacijske spremnike preporučuje se ispiranje katetera fiziološkom otopinom i odbacivanje prvih 5 mL krvi ili šesterostrukog volumena središnjeg katetera (11,15). Kada se uzorci prikupljaju iz periferno postavljene venske kanile potrebno je odbaciti dva volumena katetera (11,15). Ukoliko su uzorci prikupljeni na ovaj način, to je uvijek potrebno navesti i na uputnici i na nalazu, a pri interpretaciji rezultata u obzir treba uzeti mogućnost kontaminacije heparinom i razrjeđivanja uzorka (11).

Preporuke:

1. Uzorkovanje krvi za koagulacijske pretrage mora se provesti sukladno Nacionalnim preporukama za uzimanje venskih uzoraka (10).
2. Prije uzorkovanja krvi putem intravenskih katetera, preporučuje se ispiranje katetera fiziološkom otopinom i odbacivanje prvih 5 mL krvi ili šesterostrukog volu-

mena središnjeg katetera, odnosno dva volumena perifernog venskog katetera.

1.5 Redoslijed uzorkovanja spremnika

Kada je krv potrebno uzorkovati u više spremnika, uzorkovanje je potrebno provesti prema točno određenom redoslijedu, čime se smanjuje mogućnost kontaminacije uzoraka za koagulacijske pretrage i sprječava mogućnost dobivanja pogrešnih rezultata analize uslijed prenošenja aditiva i mogućeg stvaranja mikro-ugrušaka u spremniku (10-14). Uzorkovanje u spremnik za koagulacijske pretrage potrebno je izvršiti prije uzorkovanja bilo kojeg drugog spremnika s aditivom (koji sadrži aktivatore ugruška tj. trombin) ili antikoagulansima poput etilendiamintetraoctene kiseline (EDTA), litijevog heparina i inhibitora glikolize (11,13,14).

Prema nedavno objavljenim istraživanjima, nije potrebno uzorkovati spremnik koji se odbacuje prije prikupljanja uzoraka za probirne koagulacijske pretrage i D-dimere (10,11,14). Izuzetak od ovog pravila uključuje postupak kada se koriste leptirići za uzorkovanje, budući da zrak u sustavu za vađenje može utjecati na punjenje spremnika, a time i na omjer krvi i antikoagulansa u spremniku. Spremnik koji se odbacuje u ovom slučaju mora biti bez aditiva (10,11).

Preporuke:

1. Kada je krv potrebno uzorkovati u više spremnika, uzorkovanje krvi u spremnik za koagulacijske pretrage potrebno je izvršiti prije uzorkovanja bilo kojeg drugog spremnika s aditivom (koji sadrži aktivatore ugruška ili antikoagulans).
2. Prije prikupljanja uzoraka venske krvi za probirne koagulacijske pretrage i D-di-

mere nije potrebno uzorkovati spremnik koji se odbacuje. Izuzetak od ovog pravila uključuje postupak kada se koriste leptirići za uzorkovanje, budući da zrak u sustavu za vađenje može utjecati na punjenje spremnika a time i na omjer krvi i antikoagulansa u spremniku. Spremnik koji se odbacuje u ovom slučaju mora biti bez aditiva.

1.6 Neprihvatanje uzoraka

Svaki laboratorij mora imati definirane kriterije za neprihvatanje koagulacijskih uzoraka. Uzorci koji u laboratorij ne stignu u odgovarajućem vremenskom razdoblju od uzorkovanja (vidjeti poglavlje: Pohrana uzoraka do analize) neoznačeni ili pogrešno označeni uzorci, zgrušani uzorci, uzorci sakupljeni u spremnik s pogrešnim antikoagulansom ili oni s neodgovarajućim omjerom krvi i antikoagulansa te izrazito hemolizirani uzorci i uzorci koji su prije ispitivanja bili pohranjeni u hladnjaku, nisu prihvatljivi za analizu (8,11,16).

Preporuka:

Svaki laboratorij treba imati definirane kriterije za neprihvatanje koagulacijskih uzoraka.

1.7 Priprema uzoraka krvi za analizu

Pretrage probira PV, APTV, TV, fibrinogen kao i D-dimeri određuju se u plazmi koja se priprema centrifugiranjem primarnog spremnika za prikupljanje uzoraka na 1500xg na sobnoj temperaturi (18-25 °C) tijekom 15 minuta (8,11,16). Iako je moguće koristiti veću brzinu i kraće vrijeme centrifugiranja, važno je napomenuti da upotreba visokih centrifugalnih sila može po-

taknuti aktivaciju trombocita i razgradnju eritrocita (8,11,16,17). Za koagulacijske pretrage potrebno je koristiti centrifuge koje imaju rotor s promjenjivim kutom (engl. *swing-out rotor*), a pri centrifugiranju bi trebalo izbjegavati upotrebu funkcije kočenja (16). Ukoliko se koristi centrifuga s hlađenjem, centrifugiranje treba izvoditi na sobnoj temperaturi, budući da niže temperature mogu dovesti do aktivacije trombocita (11). Sve uzorke plazme koji se zamrzavaju, prije izvođenja analize potrebno je centrifugirati još jednom (tzv. dvostruko centrifugiranje) kako bi se dobila plazma siromašna trombocitima (engl. *platelet poor plasma*, PPP) koja sadrži $<10 \times 10^9/L$ trombocita (16,17). Alikvot plazme koji će se zamrznuti ne smije se uzimati blizu stanica.

Preporuke:

1. Plazma za određivanje pretraga probira PV, APTV, TV, fibrinogena i D-dimera priprema se centrifugiranjem primarnog spremnika za prikupljanje uzoraka krvi na $1500 \times g$ na sobnoj temperaturi ($18-25 \text{ }^\circ\text{C}$) tijekom 15 minuta.
2. Sve uzorke plazme koji se zamrzavaju, prije izvođenja analize potrebno je centrifugirati još jednom (tzv. dvostruko centrifugiranje) kako bi se dobila plazma siromašna trombocitima (engl. *platelet poor plasma*, PPP) koja sadrži $<10 \times 10^9/L$ trombocita.

1.8 Uzorci s visokim vrijednostima hematokrita

U uzorcima s vrijednostima hematokrita (Hct), iznad $0,55 \text{ L/L}$, potrebno je prilagoditi konačnu koncentraciju citrata u spremniku, kako bi se održao odgovarajući omjer krvi i antikoagu-

lansa od 9:1. Ovo je važno zbog toga što se u uzorcima s povišenim vrijednostima Hct-a, omjer krvi i antikoagulansa smanjuje ispod 9:1, uzrokujući time višak citrata za određeni volumen plazme u spremniku što može utjecati na rezultate koagulacijskih pretraga.

Kao prvi korak u postupku, potrebno je izračunati ostatni volumen citrata u spremniku primjenom sljedeće jednadžbe (11,18):

$$C \text{ (mL)} = 0,185 * x [\text{volumen krvi (mL)}]** x [1,0 - \text{Hct (L/L)}]$$

C = ostatni volumen citrata u mL

*0,185 = konstanta

**volumen krvi u mL, ovisan o volumenu upotrijebljenog spremnika

Hct = bolesnikov hematokrit (L/L)

Ostatni volumen citrata u mL treba oduzeti od ukupnog volumena citrata u spremniku, pri čemu se kao rezultat dobije volumen citrata koji treba ukloniti iz spremnika. Kako bi se u spremniku održao podtlak, pri uklanjanju antikoagulansa preporučuje se korištenje tuberkulinske štrcaljke. Ukoliko tuberkulinska štrcaljka nije dostupna, za uklanjanje citrata mogu se koristiti automatske pipete. Budući da upotreba automatskih pipeta za prilagođavanje koncentracije citrata onemogućuje održavanje podtlaka u spremniku, bolesniku je potrebno uzorkovati krv pomoću otvorenog sustava. Nakon uklanjanja čepa sa spremnika i prilagodbe volumena citrata, krv treba dodati do oznake. Spremnik treba ručno začepiti, a uzorak dobro promiješati. Daljnje je rukovanje s uzorkom isto kao i sa svim ostalim uzorcima za koagulacijske pretrage. Bez obzira na način kako će se citrat ukloniti iz spremnika, obveza laboratorijskog osoblja je informirati korisnike o potrebi korekcije volumena citrata i odgovarajućem postupku za daljnje uzorkovanje. Na nalazu treba uvijek naznačiti da je volumen ci-

trata u spremniku korigiran zbog visoke vrijednosti hematokrita: Koagulacijske pretrage su napravljene iz uzorka s prilagođenim volumenom antikoagulansa (citrata) zbog visoke vrijednosti hematokrita (Hct = xx L/L). Pri tome xx predstavlja točnu vrijednost hematokrita. Ako nije moguće uzorkovati novi uzorak u spremnik s korigiranim volumenom citrata, uz rezultate na nalazu potrebno je napisati odgovarajući komentar: Nije moguće izvesti prilagodbu volumena antikoagulansa (citrata) koja je potrebna zbog visoke vrijednosti hematokrita (Hct = xx L/L). Neodgovarajući omjer antikoagulansa i krvi može utjecati na rezultate koagulacijskih pretraga. Preporuka je ponoviti uzorkovanje uz prethodni dogovor s laboratorijskim osobljem.

Preporuke:

1. U uzorcima za određivanje koagulacijskih pretraga s vrijednostima hematokrita iznad 0,55 L/L, potrebno je prilagoditi konačnu koncentraciju citrata u spremniku, kako bi se održao odgovarajući omjer krvi i antikoagulansa 9:1.
2. Za uzorke u kojima je potrebno prilagoditi volumen citrata na nalazu treba uvijek naznačiti da je volumen citrata u spremniku korigiran zbog visoke vrijednosti hematokrita uz interpretativni komentar: Koagulacijske pretrage su napravljene u uzorku s prilagođenim volumenom antikoagulansa (citrata) zbog visoke vrijednosti hematokrita (Hct = xx L/L). Pri tome xx predstavlja točnu vrijednost hematokrita.

1.9 Hemoliza, hiperbilirubinemija i lipemija

Na rezultate koagulacijskih pretraga mogu utjecati hemoliza, hiperbilirubinemija i lipemija (19). Njihovu prisutnost moguće je detektirati vizualnim pregledom i/ili automatski. Analitičke interferencije su uglavnom rezultat spektralnog preklapanja interferirajućih supstanci (hemoglobina, bilirubina i čestica masti). Nova generacija koagulacijskih analizatora mjeri optičku apsorpciju na različitim valnim duljinama, kao i indeks hemolize, ikterije i lipemije (tzv. HIL indeks) pa se problematični uzorci mogu prepoznati prije izvođenja analize, a utjecaj interferirajućih supstanci može se smanjiti automatskim odabirom odgovarajuće valne duljine (19,20). Ukoliko ne postoji mogućnost automatskog određivanja HIL indeksa, prihvatljiva koncentracija interferirajućih supstanci se mora procijeniti vizualno.

Osim optičkih interferencija, hemolizirani uzorci mogu biti problematični i zbog otpuštanja staničnih sastojaka koji aktiviraju sustav koagulacije te dovode do neodgovarajuće detekcije ugruška (19).

Stoga, kad god se posumnja na navedeno, potrebno je uzorkovati novi, nehemolizirani uzorak (11). Osim hemolize nastale *in vitro*, kao posljedica određenih medicinskih stanja može biti prisutna i intravaskularna hemoliza, odnosno hemoliza *in vivo*. Postojanje intravaskularne hemolize može se utvrditi i isključiti prije ponovnog uzorkovanja uz odgovarajuću komunikaciju i razmjenu informacija s kliničkim osobljem. U takvim slučajevima, rezultati ispitivanja trebaju biti izdani s odgovarajućim komentarom na nalazu (intravaskularna hemoliza).

Optički *bias* uslijed hiperbilirubinemije uglavnom nije značajan i može se spriječiti mjerenjem na alternativnim valnim duljinama, pri čemu se rezultati analize mogu pouzdano izvijestiti (19).

Slično, upotreba različitih valnih duljina i/ili većih razrjeđenja uzoraka kod pretraga u kojima se uzorak plazme razrjeđuje (npr. fibrinogen) mogu spriječiti optički *bias* zbog lipemije (19). Za uklanjanje utjecaja lipemije u nekim kliničkim laboratorijima se koristi postupak ultracentrifugiranja, međutim, podaci o validaciji ovog postupka nisu objavljeni (16). Kada god je to moguće, za analizu uzoraka koji sadrže supstance koje interferiraju uslijed spektralnog preklapanja, preporučuje se upotreba mehaničke i/ili elektromehaničke metode detekcije ugruška (11). Unatoč toj mogućnosti, biološke interferencije mogu imati utjecaj na rezultate koagulacijskih pretraga. Primjerice, značajna lipemija utjecat će na koagulaciju potiskivanjem plazme, što će se očitovati produženim vremenom zgrušavanja koagulacijskih pretraga.

Preporuke:

1. Pri izvođenju probirnih koagulacijskih pretraga laboratoriji trebaju procijeniti prihvatljivu koncentraciju interferirajućih supstanci za vlastiti sustav reagens/koagulometar koji je u uporabi.
2. Ukoliko se sumnja na intravaskularnu, odnosno hemolizu *in vivo*, rezultati ispitivanja trebaju biti izdani s odgovarajućim komentarom na nalazu (intravaskularna hemoliza).
3. Mehanička i/ili elektromehanička metoda detekcije ugruška preporučuje se za analizu uzoraka koji sadrže supstance koje interferiraju uslijed spektralnog preklapanja.

1.10 Pohrana uzoraka do analize

U idealnim uvjetima, sve koagulacijske pretrage potrebno je analizirati unutar 4 sata od uzorkovanja. Prema nedavnim istraživanjima, izuzetak od ovog pravila može se primijeniti za pretrage PV i D-dimeri, za koje se uzorci mogu pohraniti na sobnoj temperaturi do 24 sata nakon uzorkovanja, što se odnosi na necentrifugirane ili centrifugirane uzorke s plazmom koja ostaje iznad staničnih komponenti u zatvorenom spremniku (11,12,20). Međutim, kako stabilnost uzorka može ovisiti o mjernom sustavu u upotrebi (tromboplastinski reagens i koagulometar), laboratoriji koji prihvaćaju uzorke za PV i D-dimere pohranjene unutar 24 sata od prikupljanja krvi, trebaju provjeriti stabilnost uzorka na vlastitom sustavu (21).

Uzorke za sve koagulacijske pretrage potrebno je do analize pohraniti u neotvorenom spremniku na sobnoj temperaturi (18-25 °C). Pohrana uzoraka na niskoj temperaturi (2-8 °C) se ne preporučuje zbog moguće aktivacije koagulacijskog faktora VII (FVII) i gubitka aktivnosti koagulacijskog faktora VIII (FVIII) na hladnom te posljedičnog utjecaja na rezultate PV-a i APTV-a (16,20,22). Ako se pretraga APTV određuje u svrhu praćenja terapije nefrakcioniranim heparinom (engl. *unfractionated heparin*, UFH), uzorke treba centrifugirati, a plazmu odvojiti od stanica unutar jednog sata od uzorkovanja, zbog potencijalne neutralizacije heparina posredovanog trombocitnim faktorom 4 (11,16,21).

Ako koagulacijske pretrage nije moguće izraditi unutar dozvoljenog vremena, nakon centrifugiranja uzorka, plazmu treba odmah odvojiti od stanica i zamrznuti na temperaturi od -20 °C za kratkotrajnu pohranu (do dva tjedna) odnosno na temperaturi od -70 °C za pohranu do šest mjeseci. Kada se iz istog uzorka traži više pretraga ili će se pretrage izvoditi u različito vrijeme, potrebno je pripremiti i smrznuti više odvojenih alikvota (16,20).

Preporuke:

1. Uzorci za koagulacijske pretrage pohranjuju se do analize na sobnoj temperaturi (18-25 °C) u neotvorenom spremniku.
2. Sve koagulacijske pretrage potrebno je izvesti unutar 4 sata od uzorkovanja. Izuzetak mogu biti pretrage PV i D-dimeri, za koje se uzorci mogu pohraniti na sobnoj temperaturi necentrifugirani ili centrifugirani i do 24 sata od uzorkovanja.
3. Laboratoriji koji prihvaćaju uzorke za PV i D-dimere pohranjene unutar 24 sata od prikupljanja krvi, trebaju provjeriti stabilnost uzorka na vlastitom sustavu.
4. Ako se pretraga APTV određuje u svrhu praćenja terapije nefrakcioniranim heparinom, uzorke treba centrifugirati, a plazmu odvojiti od stanica unutar jednog sata od uzorkovanja.
5. Ukoliko koagulacijske pretrage nije moguće izraditi unutar vremena dozvoljenog za analizu, plazmu treba centrifugirati unutar 1 sata od uzorkovanja, odvojiti od stanica i odmah zamrznuti (na temperaturi od -20 °C za kratkotrajnu pohranu (do dva tjedna) odnosno na temperaturi od -70 °C za pohranu do šest mjeseci).

1.11 Transport uzoraka u udaljene laboratorije

Ukoliko se uzorci za koagulacijske pretrage šalju na analizu u udaljene laboratorije, potrebno ih je dostaviti u odgovarajućem vremenskom roku dozvoljenom za izradu pojedine tražene pretrage (16,20). Ako to nije moguće, uzorke krvi je potrebno dva puta centrifugirati, a potom plazmu prenijeti u polipropilenski sprem-

nik. Svaki spremnik treba biti označen punim imenom i prezimenom bolesnika, datumom rođenja i identifikacijskim brojem (matični broj osiguranika i/ili jedinstveni identifikacijski broj u laboratoriju). Uz to, treba navesti informaciju o vrsti uzorka (npr. citratna plazma), datumu i vremenu uzorkovanja. Uzorak plazme treba odmah zamrznuti prema prethodno opisanom postupku. Uzorci zamrznute plazme trebaju se transportirati na suhom ledu, a ukoliko to nije moguće, na dovoljnoj količini običnog leda u spremniku od stiropora, kako bi ostali čvrsto zamrznuti dok ne stignu u laboratorij za ispitivanje. Analize se ne smiju izvoditi iz uzorka koji u laboratorij ne stigne čvrsto zamrznut (5,8,11).

Preporuke:

1. Uzorke za koagulacijske pretrage koji se na analizu šalju u udaljene laboratorije, potrebno je dostaviti u odgovarajućem vremenskom roku, poštujući vrijeme dozvoljeno za analizu pojedine tražene pretrage. Ukoliko to nije moguće, potrebno je postupiti prema postupku navedenom u prethodnom poglavlju, preporuci broj 5.
2. Svaki spremnik s uzorkom koji se šalje na analizu u udaljene laboratorije treba biti označen punim imenom i prezimenom bolesnika, datumom rođenja i identifikacijskim brojem (matični broj osiguranika i/ili jedinstveni identifikacijski broj u laboratoriju) te informacijom o vrsti uzorka (npr. citratna plazma), datumu i vremenu uzorkovanja.
3. Uzorci zamrznute plazme trebaju se transportirati na suhom ledu, a ukoliko to nije moguće, na dovoljnoj količini običnog leda u spremniku od stiropora, kako bi ostali čvrsto zamrznuti dok ne stignu u laboratorij za analizu.

1.12 Odmrzavanje zamrznutih uzoraka plazme

Odmrzavanje zamrznutih uzoraka plazme treba provesti brzo, tijekom 10 minuta na 37 °C u inkubatoru, suhom termo bloku ili vodenoj kupelji (5,16,20). Kako bi se osigurala cjelovitost uzorka, odmrznuti uzorak treba prije analize temeljito promiješati. Optimalan postupak miješanja je lagano okretanje uzorka 6 puta tako da se spremnik s uzorkom svaki put okrene za 180° i vrati u početni položaj (23). Nepotpuno odmrzavanje uzoraka ili predugo stajanje na 37 °C može rezultirati nepouzdanim rezultatima zbog aktivacije faktora zgrušavanja i nehomogenosti uzorka (5,20,24). Ukoliko laboratorij za odmrzavanje uzoraka koristi vodenu kupelj, nužno je osigurati cjelovitost podataka na naljepnici na kojoj se nalaze podaci o pacijentu.

Preporuka

1. Odmrzavanje zamrznutih uzoraka plazme treba provesti brzo, tijekom 10 minuta na 37 °C u inkubatoru, suhom termo bloku ili vodenoj kupelji.
2. Odmrznuti uzorak prije analize treba temeljito promiješati laganim okretanjem uzorka 6 puta tako da se spremnik s uzorkom svaki put okrene za 180° i vrati u početni položaj.

2. Analitička faza rada pri izradi koagulacijskih pretraga

2.1 Kontrola kvalitete

Svrha kontrole kvalitete (KK) je osiguranje vjerodostojnih rezultata pretraga. Stoga sheme upravljanja unutarnjom (UKK) i vanjskom kontrolom kvalitete (VKK) trebaju biti sastavni dio

osiguranja kvalitete rada dijagnostičkih laboratorija koji izrađuju koagulacijske pretrage. UKK osigurava kontinuiranu procjenu kvalitete rezultata i svodi varijacije unutar ili iz dana u dan na najmanju moguću mjeru, dok je glavni cilj VKK utvrditi usporedivost rezultata među laboratorijima, odnosno, istinitosti rezultata laboratorija koji u njoj sudjeluje (27,28). UKK treba provoditi nakon otvaranja i/ili otapanja svakog pojedinog reagensa, te nakon umjeravanja, preventivnog održavanja i servisa analizatora (27). Za kvantitativne testove, potrebno je koristiti najmanje dvije razine kontrolnog materijala, uključujući normalnu i patološku razinu, svakih osam sati neprekidnog rada (29). Učestalost UKK može biti propisana i drugačije, ukoliko je laboratorij proveo analizu vlastitog procesa rada i procjenu rizika prije same primjene.

Za VKK još uvijek nema dokaza o optimalnoj učestalosti izvođenja, ali ona mora biti sastavni dio ukupnog sustava upravljanja kvalitetom u laboratoriju (2).

Preporuka:

1. Unutarnju kontrolu kvalitete treba provesti nakon otvaranja i/ili otapanja svakog pojedinog reagensa, te nakon umjeravanja, preventivnog održavanja i servisa analizatora.
2. Za kvantitativne koagulacijske testove, kontrolne plazme s normalnim i patološkim vrijednostima potrebno je analizirati nakon svakih osam sati neprekidnog rada. Učestalost može biti propisana i drugačije ukoliko je laboratorij proveo analizu rizika, uzevši u obzir broj uzoraka i opterećenje tijekom radnog vremena.
3. Vanjska kontrola kvalitete treba biti sastavni dio ukupnog upravljanja kvalitetom u laboratoriju koji izrađuje koagulacijske pretrage.

2.2 Koagulacijske pretrage

U svrhu dobivanja točnih i pouzdanih rezultata koagulacijskih pretraga, ključno je odabrati prikladnu metodu za njihovo određivanje. Na tržištu su dostupni različiti komercijalni testovi koji se mogu podijeliti u tri glavne kategorije: koagulometrijski, kromogeni i imunokemijski testovi. Specifične informacije vezane uz načelo ispitivanja, opremu i tehnike koje se koriste u koagulacijskim laboratorijima opisane su u radu Mackie i suradnika i nisu sastavni dio ovih preporuka (25). Za implementaciju koagulometara u svakodnevnu praksu, postupak evaluacije i validacije treba provesti u skladu s prethodno objavljenim preporukama (26).

Kako je pri odabiru prikladnih metoda za izradu koagulacijskih pretraga važno poznavati i njihove analitičke značajke (4) u daljnjem tekstu navedeni su najvažniji podaci o analitičkim značajkama pretraga PV-a, APTV-a, TV-a, fibrinogena i D-dimera.

Preporuka:

Postupak evaluacije i validacije koagulometara potrebno je provesti u skladu s prethodno objavljenim preporukama (26).

2.2.1 Protrombinsko vrijeme

PV je najčešća probirna koagulacijska pretraga. Koristi se za praćenje terapije antagonistima vitamina K (engl. *vitamin K antagonists*, VKA) te za procjenu nasljednog ili stečenog manjka faktora zgrušavanja II (FII), V (FV), VII (FVII), X (FX) i fibrinogena te prisutnosti njihovih inhibitora (29). Svi komercijalni reagensi za PV (također poznati kao tromboplastini) sadrže tkivni faktor (engl. *Tissue Factor*, TF), fosfolipide i kalcijev klorid. Dostupni su različiti komercijalni pripravci tromboplastina koji mogu biti huma-

nog ili životinjskog podrijetla ili rekombinantni. Rezultati PV-a značajno ovise o vrsti reagensa i koagulometru u uporabi te se stoga mogu razlikovati između laboratorija (4). U svrhu standardizacije PV-a i praćenja terapije s VKA u različitim laboratorijima, Svjetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organization*, WHO) za izvještavanje rezultata PV-a uvela je sustav INR-a (29-31). Za svaki serijski broj PV reagensa, proizvođači moraju odrediti i naznačiti specifičnu vrijednost ISI-ja koja odražava osjetljivost reagensa na faktore zgrušavanja ovisne o vitaminu K u odnosu na odgovarajući referentni standard WHO, tzv. međunarodni referentni pripravak (engl. *International Reference Preparation*, IRP). INR se dobiva računski, a predstavlja omjer (engl. *prothrombin ratio*, PR) vrijednosti PV-a u sekundama izmjerenog kod bolesnika i srednjeg normalnog protrombinskog vremena (engl. *Mean Normal Prothrombin Time*, MNPV), uz eksponent ISI za odgovarajući PV reagens (31,32). MNPV predstavlja geometrijsku sredinu vrijednosti PV-a dobivenih od najmanje 20 zdravih dobrovoljaca.

Jednadžba za izračun je slijedeća:

$$\text{INR} = (\text{PR})^{\text{ISI}}$$

ili

$$\text{INR} = [\text{PV (s) bolesnika} / \text{MNPV (s)}]^{\text{ISI}}$$

PV - vrijeme u sekundama izmjereno kod bolesnika

PR - omjer PV-a, predstavlja omjer PV-a u sekundama izmjerenog kod bolesnika prema MNPV-u

MNPV - srednje normalno protrombinsko vrijeme, predstavlja geometrijsku sredinu vrijednosti PV-a dobivenih od najmanje 20 zdravih dobrovoljaca.

ISI – indeks osjetljivosti za odgovarajući PV reagens

Iako su na tržištu dostupni tromboplastini s vrijednostima ISI-ja do 1,5 ili čak 1,7, preporučuje se upotreba rekombinantnih tromboplastina s vrijednostima ISI-ja manjim od 1,2, zbog veće osjetljivosti na manjak faktora i veće preciznosti određivanja INR-a (29-33). Budući da varijacije u vrijednostima mogu postojati i uslijed netočnog određivanja MNPV-a ili različite vrijednosti ISI-ja koja se primjenjuje u laboratoriju, INR određen s različitim tromboplastinima u uzorku plazme istog bolesnika nije uvijek istovjetan (31). Kad god je to moguće, potrebno je koristiti vrijednost ISI-ja specifičnog za kombinaciju tromboplastina i koagulometra koji su u uporabi, čime se postiže veća točnost u određivanju INR-a u odnosu na uporabu generičkog ISI-ja (ISI određen za tromboplastin koji nije specifičan za koagulometar već za skupinu koagulometara). Ako vrijednost ISI-ja za određenu kombinaciju tromboplastina i koagulometra nije dostupna, preporučuje se lokalno određivanje ISI-ja (29,30,32).

Određivanje lokalnog ISI-ja može se izvesti pomoću seta liofiliziranih uzoraka plazme s deklariranim vrijednostima PV-a, a koje su određene uporabom IRP-a i ručne tehnike. Uzorke plazme treba analizirati na lokalno-specifičnoj kombinaciji koagulometra i reagensa te dobivene vrijednosti grafički prikazati stavljanjem u odnos s deklariranim vrijednostima. Nagib pravca dobiven ortogonalnom regresijskom analizom koristi se za izračunavanje lokalnog ISI-ja prema jednadžbi:

$$\text{ISI (lokalni)} = \text{nagib pravca} \times \text{ISI (IRP)}$$

Određivanje INR-a za kombinaciju tromboplastina i koagulometra u uporabi moguće je i bez poznavanja vrijednosti ISI-ja i MNPV-a, tzv. metodom direktnog INR-a, ukoliko su dostup-

ne liofilizirane kalibracijske plazme s poznatim vrijednostima INR-a. Uzorci kalibracijske plazme analiziraju se na specifičnoj kombinaciji koagulometra i reagensa, pri čemu se generira kalibracijska krivulja na kojoj se izmjereno vrijeme zgrušavanja u sekundama stavlja u odnos s naznačenim vrijednostima INR-a. Na ovaj način se također povećava točnost određivanja INR-a i postiže bolja usporedivost rezultata među laboratorijima. Za dodatne detalje čitatelji se upućuju na literaturne navode 29, 30 i 32.

Preporuka:

1. Za određivanje pretrage PV, preporučuje se koristiti rekombinantne tromboplastine koji imaju vrijednost ISI manju od 1,2.
2. Pri određivanju pretrage PV preporučuje se koristiti i/ili odrediti vrijednost ISI-ja specifičnu za kombinaciju tromboplastina i koagulometra koja se koristi u laboratoriju.

2.2.2 Aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme

Pretraga APTV probirni je test koji se koristi u procjeni manjka faktora zgrušavanja VIII (FVIII), IX (FIX), XI (FXI) i XII (FXII) ili prisutnosti njihovih inhibitora. Svaki APTV reagens sadrži kontaktni aktivator (silicijev dioksid, kaolin, elaginsku kiselinu) i fosfolipide različitog podrijetla, ali kako ne sadrži TF, naziva se „parcijalni tromboplastin“. Faktori zgrušavanja prisutni u uzorku ispitivane plazme „aktiviraju se“ nakon dodatka APTV reagensa i kalcijevog klorida kao zasebnog reagensa na 37 °C (29,34).

Pretraga APTV se mjeri u sekundama, a rezultati pretrage značajno ovise o reagensu i koagulacijskom analizatoru koji su u uporabi. Zbog varijabilnosti u sastavu reagensa, tj. fosfolipida i aktivatora, pojedini se APTV reagensi znatno razlikuju prema osjetljivosti na faktore zgrušavanja, terapiji UFH-om i lupus antikoagulansu (LA). Za izvođenje APTV-a kao probirne pretrage preporučuje se upotreba APTV reagensa koji su osjetljivi na manjak faktora zgrušavanja i na terapiju UFH-om, ali koji istodobno ne moraju biti osjetljivi na LA (4,29,34).

APTV je prikladna pretraga za praćenje terapije UFH-om, ali je pretragu teško standardizirati između različitih laboratorija zbog različitih svojstava pojedinih komercijalnih reagensa (35). Kako bi se to postiglo, preporuka je da se terapijski raspon za praćenje terapije UFH-om s APTV reagensom odredi u odnosu na anti-FXa aktivnost heparina i to tako da odgovara rasponu od 0,3 do 0,7 anti-Xa kIU/L. U ovu svrhu, potrebno je prikupiti uzorke krvi bolesnika koji su na kontinuiranoj intravenskoj terapiji UFH-om, uzorkovanih najmanje 4-6 sati nakon bolusa heparina, ali i manje od 24 sata nakon primjene prve doze VKA. Uzorci krvi trebaju biti obrađeni prema standardnom postupku, potrebno ih je centrifugirati dva puta, a plazma se do izvođenja analize treba zamrznuti na -35 °C ili na nižoj temperaturi. Plazma se odmrzava na 37 °C tijekom 10 minuta, nakon čega se odredi APTV i aktivnost heparina anti-Xa testom. Odnos između vrijednosti APTV-a na osi Y i heparina na osi X, prikazuje se regresijom analizom (35-37).

Za razliku od UFH-a, niskomolekularni heparin (engl. *low molecular weight heparin*, LMWH), koji je zamijenio primjenu UFH-a u većini kliničkih situacija, ne zahtijeva rutinsko laboratorijsko praćenje. Izuzetak su neka klinička stanja i/ili populacije bolesnika u kojima je potrebno praćenje terapije s LMWH, uključujući bolesnike sa zatajenjem bubrega, pretile bolesnike,

djecu i trudnice te bilo kojeg bolesnika kod kojeg se ne postigne očekivani antikoagulacijski učinak. S obzirom da LMWH ima pretežno anti-Xa aktivnost i ne pokazuje odgovarajući utjecaj na APTV (38), za praćenje terapije s LMWH, APTV nije prikladna pretraga, već je za procjenu terapijskog odgovora u ovom slučaju potrebno koristiti isključivo anti-Xa pretragu kalibriranu s LMWH (38).

Preporuke:

1. Za izvođenje APTV-a kao probirne pretrage preporučuje se upotreba APTV reagensa koji su osjetljivi na manjak čimbenika zgrušavanja i na terapiju UFH-om, ali koji istodobno ne moraju biti osjetljivi na LA.
2. APTV je prikladna pretraga za praćenje terapije UFH-om.
3. Za praćenje terapije UFH pomoću pretrage APTV, preporučuje se da svaki laboratorij odredi osjetljivost APTV reagensu u uporabi na UFH s ciljem uspostave vlastitog terapijskog intervala.
4. APTV nije prikladan test za praćenje terapije s LMWH. Ukoliko je potrebno pratiti terapiju s LMWH, prikladna pretraga je određivanje anti-FXa aktivnosti.

2.2.3 Trombinsko vrijeme

TV je probirna koagulacijska pretraga koja se koristi za procjenu manjka ili kvalitativnih poremećaja fibrinogena te prisutnosti inhibitora trombina [aktiviranog FII (FIIa)] (39,40). Pretragom se procjenjuje sposobnost pretvorbe fibrinogena u fibrin nakon dodavanja govedeg ili ljudskog trombina u suvišku uzorku PPP-a, a mjeri se u sekundama. Test je osjetljiv na antikoagulacijsku terapiju inhibitorima trombina koji mogu biti prisutni u plazmi (npr. heparin i

dabigatran), a može otkriti i kontaminaciju uzorka heparinom iz venskih katetera čak i pri vrlo niskim koncentracijama heparina (> 0.05 anti-Xa kIU/L). Međutim, zbog preosjetljivosti na inhibitore trombina (heparin, dabigatran), test nije prikladan za praćenje antikoagulacijske terapije heparinom i dabigatranom, te nije standardiziran za tu svrhu (40).

Preporuka:

Trombinsko vrijeme nije prikladan test za praćenje antikoagulacijske terapije heparinom i direktnim inhibitorima trombina.

2.2.4 Fibrinogen

U većini slučajeva, fibrinogen uz pretrage PV i APTV služi kao dio općeg probira u ispitivanju poremećaja hemostaze (41,42). Za mjerenje količine fibrinogena u plazmi postoji nekoliko vrsta testova, među kojima se najčešće koristi test određivanja funkcionalne aktivnosti fibrinogena temeljen na Claussovoj metodi (42). Načelo Claussove metode sastoji se u dodatku visoke koncentracije trombina razrijeđenoj plazmi ispitanika i određivanju vremena zgrušavanja plazme u sekundama. Budući da se rezultat izražava u g/L, test zahtijeva kalibraciju pomoću referentne plazme poznate koncentracije fibrinogena kalibrirane prema međunarodnom standardu. Naznačene i izmjerene vrijednosti fibrinogena stavljaju se u odnos kako bi se dobila kalibracijska krivulja u širokom rasponu koncentracija fibrinogena (42,43). Iako kombinacija reagensa i koagulometra ima minimalni učinak na određivanje fibrinogena Claussovom metodom, prema nekim istraživanjima u određenim podskupinama bolesnika (npr. diseminirana intravaskularna koagulacija; DIK ili trombolitička terapija), različita koncentracija trombina ili različit pufer u sastavu rea-

gensa mogu biti uzrokom različitih rezultata (42). Funkcionalni test fibrinogena se općenito smatra najboljom metodom za široku primjenu u laboratorijima (42).

Imunokemijski testovi kao što su enzim-imunokemijska metoda na krutom nosaču (engl. *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*, ELISA) i imunonefelometrija mjere koncentraciju antigena fibrinogena, a ne njegovu funkcionalnu aktivnost (5). Primjena je ograničena na diferencijalnu dijagnostiku disfibrinogenemije koja se temelji na razlici rezultata dobivenog mjerenjem funkcionalne aktivnosti i koncentracije antigena fibrinogena. Ovi testovi se primjenjuju samo u visokospecijaliziranim laboratorijima (42).

Metoda određivanja deriviranog fibrinogena omogućuje procjenu fibrinogena iz reakcijske krivulje za PV na automatiziranim optičkim koagulometrima. PV se određuje promjenom optičke gustoće za određeni raspon razrjeđenja u plazmi s poznatim koncentracijama fibrinogena, a optička promjena za različite vrijednosti fibrinogena prikazana je kao kalibracijska krivulja. Međutim, literaturni podaci koji se odnose na procjenu prikladnosti metode za kliničku primjenu su proturječni (44,45). Stoga, iako je metoda jednostavna i jeftina, kod određenih poremećaja i kliničkih stanja može rezultirati netočnim i nepouzdanim rezultatom, zbog čega se ne preporučuje za rutinsku laboratorijsku primjenu (42).

Preporuke:

1. Test određivanja funkcionalne aktivnosti fibrinogena je najprikladnija metoda određivanja fibrinogena za rutinsku primjenu u laboratorijima.
2. Imunokemijski testovi za fibrinogen, koji mjere koncentraciju antigena, a ne funkcionalnu aktivnost primjenjuju se isključivo u diferencijalnoj dijagnostici disfibrinogenemija.
3. Metoda deriviranog fibrinogena ne preporučuje se za rutinsku uporabu.

2.2.5 D-dimer

Za mjerenje koncentracije D-dimera dostupni su različiti kvalitativni (rezultat se izražava kao pozitivan ili negativan), polukvantitativni i kvantitativni testovi, poput ELISA-e, enzim imuno florimetrijske metode (engl. *EnzymeLinked Fluorescent Assay*, ELFA) ili lateks-imunokemijskih testova (engl. *Latex Immunoassay*, LIA) koji koriste monoklonska antitijela specifična za različite epitope D-dimera (46,47). Glavni problem vezan uz određivanje D-dimera je taj što različiti komercijalni testovi za D-dimere nisu standardizirani, obzirom da se u metodama često upotrebljavaju različita monoklonska antitijela i kalibratori (46-49). Kako do danas još uvijek nije dostupan standardni referentni pripravak (tj. međunarodni standard) i mjerne jedinice nisu standardizirane, rezultati, referentni intervali i granične vrijednosti na kojima se temelji klinička odluka nisu usporedivi između različitih metoda. Stoga se rezultati D-dimera moraju pažljivo tumačiti ovisno o metodi koja se koristi za njihovo određivanje (48-50). Uz rezultat pretrage na nalazu je potrebno istaknuti i mjernu metodu kojom se određuju D-dimeri (primjerice: Mjerna metoda ELFA).

Preporuke:

1. Rezultate, referentne intervale i granične vrijednosti za pretragu D-dimeri potrebno je uvijek interpretirati ovisno o metodi koju laboratorij koristi.
2. Uz rezultat pretrage D-dimera na nalazu je potrebno istaknuti i mjernu metodu kojom se oni određuju.

3. Poslijeanalitička faza rada pri izradi koagulacijskih pretraga

3.1 Referentni intervali, granične vrijednosti i usklađivanje izvještavanja o rezultatima

Rezultati većine koagulacijskih pretraga, kao i referentni intervali koji se primjenjuju značajno ovise o kombinaciji reagensa i koagulacijskog analizatora u upotrebi. Stoga, rezultati koagulacijskih pretraga za istog bolesnika dobiveni u različitim laboratorijima mogu biti neusporedivi. Prema literaturi, opća preporuka za svaki laboratorij je određivanje vlastitih referentnih intervala na lokalnoj populaciji (25,53). Međutim, kako je ovu preporuku teško primijeniti u svakodnevnoj praksi, većina laboratorija koristi referentne intervale koji su preuzeti od strane proizvođača ili su dostupni u literaturi (25,51-53). Određivanje vlastitih referentnih intervala u praksi se najčešće primjenjuje ukoliko pri uvođenju nove metode nisu dostupni odgovarajući literaturni podaci. Ukoliko se referentni intervali preuzimaju od proizvođača ili iz literature, potrebno je provjeriti podatke o populaciji i metodi kojom su određeni (primjenjivost za lokalnu populaciju) te se preporučuje njihova verifikacija. Pri postupku verifikacije referentnog intervala na lokalnoj populaciji, koristi se uzorak od minimalno 20 do 40 zdravih ispitanika, pri čemu vrijednosti za određenu pretragu trebaju biti ravnomjerno raspoređene u cijelom preporučenom referentnom intervalu. Ako se 95% rezultata nalazi u rasponu objavljenog referentnog intervala, on se može prihvatiti za upotrebu. Za cjelovitu statističku validaciju potrebno je 120 ili više ispitanika (25,53).

Za neke analite, kao što su D-dimeri, prikladnije je utvrditi granične vrijednosti zasnovane na kliničkim podacima (25,48). Korištenje refer-

entnih intervala prilagođenih prema dobi ključno je kako bi se osiguralo pravilno liječenje djece s poremećajima hemostaze. Međutim, objavljeni referentni intervali prema dobnim skupinama nisu dostupni za većinu reagensa koji se trenutno koriste u praksi. Opća preporuka SSC-a ISTH-a za laboratorije koji analiziraju pedijatrijske uzorke je definiranje vlastitih referentnih intervala ovisno o dobnim skupinama, koagulometru i reagensu u upotrebi (54). Dakako, laboratoriji koji nisu u mogućnosti odrediti vlastite pedijatrijske referentne intervale mogu preuzeti i verificirati referentne intervale prilagođene dobnj skupini ukoliko su oni dostupni u literaturi.

Preporuke:

1. Referentne intervale za koagulacijske pretrage koji se preuzimaju od proizvođača ili iz literature, preporučeno je prethodno verificirati tj. provjeriti njihovu primjenjivost na lokalnoj populaciji.
2. Pri analizi pedijatrijskih uzoraka potrebno je primijeniti referentne intervale prilagođene dobi, kako bi se osigurala ispravna dijagnostika i liječenje djece s hemostatskim poremećajima.

3.2 Izvještavanje rezultata probirnih koagulacijskih pretraga i D-dimera

3.2.1 Izvještavanje rezultata PV-a i INR-a

Preduvjet za pravilno izvještavanje o rezultatima PV-a je odgovarajuća informacija na uputnici (radna dijagnoza i/ili terapija koju bolesnik

prima). Razumijevanje različitog načina izražavanja ovisno o pojedinim kliničkim stanjima ili terapiji koju bolesnik prima je izrazito važno i može imati izravan utjecaj na praćenje liječenja bolesnika.

PV se mjeri u sekundama, dok se koagulabilnost krvi obično izražava kao "postotak aktivnosti od normalne vrijednosti". Kod odrasle osobe koja ne prima VKA vrijednost PV-a je >70%. Vrijednost manja od 70% ukazuje na vrijeme zgrušavanja dulje od normalnog i upućuje na hipokoagulabilnost krvi (29,51). Rezultati PV-a se trebaju izvještavati kao INR samo za bolesnike na terapiji s VKA, dok se u svim ostalim kliničkim indikacijama određivanja PV-a, INR ne smije izvještavati. Rezultati PV-a izraženog kao omjer (PR) nisu prikladni za pouzdano prilagođavanje doze kod bolesnika na terapiji s VKA. Međutim, neki autori smatraju da u određenim stanjima kao što su npr. kronične bolesti jetre ili DIK, izvještavanje rezultata PV-a kao omjer može biti informativno (30,33,55). Općenito, predloženi terapijski interval za INR iznosi od 2,0 do 3,0 za većinu kliničkih indikacija, a za bolesnike s mehaničkim srčanim zaliscima terapijski interval INR-a može biti nešto veći tj. od 2,0 do 3,5 (30,33). Vrijednosti INR-a iznad preporučenog terapijskog intervala ukazuju na povećani rizik od krvarenja, dok su vrijednosti ispod terapijskog intervala povezane s povećanim rizikom za trombozu. Važno je napomenuti da vrijednost INR-a treba uvijek biti izražena kao brojčana vrijednost do granice mjernog područja koja je promjenjiva ovisno o dobivenoj kalibracijskoj krivulji tj. zadnjoj točki kalibracije za određeni serijski broj reagensa. Nažalost, iako značajno smanjuje varijacije i pruža klinički korisne informacije, niti INR kao način izvještavanja PV-a, nije savršen u smislu usporedivosti rezultata među laboratorijima (29,30).

Preporuke:

1. Rezultate pretrage PV za bolesnike koji nisu na terapiji s VKA treba izvijestiti kao postotak aktivnosti.
2. INR se ne izvještava u bolesnika koji nisu na terapiji s VKA.
3. Rezultate pretrage PV-a za bolesnike na terapiji s VKA treba izvještavati isključivo kao INR.

3.2.2 Izvještavanje rezultata APTV-a

APTV se mjeri i izvještava u sekundama. Ispravno tumačenje rezultata APTV-a zahtijeva razumijevanje kliničkog konteksta u kojem se provodi ispitivanje, kao i ograničenja samog testa (29,34). Budući da se APTV reagensi razlikuju prema svojoj osjetljivosti na manjak faktora zgrušavanja, UFH i LA (29,34-37), izvještavanje APTV-a isključivo u sekundama može rezultirati neodgovarajućom usporedivošću rezultata među laboratorijima, budući da se i referentni interval i rezultat testa razlikuju za određene kombinacije reagensa i koagulometra. Stoga, na nalazu koagulacijskih pretraga, uz rezultat izražen u sekundama, uvijek treba izvijestiti i omjer APTV-a. Omjer APTV-a se izračunava dijeljenjem bolesnikovog APTV-a sa srednjom vrijednošću referentnog intervala za određeni sustav reagens/koagulometar (51).

Referentni interval izražen u sekundama moguće je preuzeti od proizvođača ili iz literature, a u oba slučaja se preporučuje verifikacija preuzetog intervala. Referentni interval za om-

Preporuka:

Rezultat probirne pretrage APTV uvijek je potrebno izvijestiti u sekundama i kao APTV omjer.

jer APTV-a se uglavnom nalazi u rasponu od 0,8 do 1,2, neovisno o sustavu u uporabi.

3.2.3 Izvještavanje rezultata TV-a

Rezultat pretrage TV treba tumačiti zajedno s rezultatima općih probirnih pretraga PV-a, APTV-a i fibrinogena. TV se mjeri i izvještava u sekundama. Referentni intervali još uvijek nisu harmonizirani i značajno ovise o kombinaciji reagensa (tj. koncentraciji trombina u TV reagensu) i koagulometra u upotrebi (39,40). Kao i kod APTV-a, referentni interval moguće je preuzeti od proizvođača ili iz literature pri čemu se preporučuje njegova verifikacija.

Preporuka:

Rezultat pretrage TV izvještava se u sekundama.

3.2.4 Izvještavanje rezultata fibrinogena

Rezultat pretrage fibrinogen izražava se u g/L. U zdravih odraslih osoba, referentni interval se općenito nalazi u rasponu između 1,8-4,0 g/L, ali može biti različit za različite komercijalne testove fibrinogena (42). Nedavno istraživanje među laboratorijima u RH pokazalo je da laboratoriji koriste referentni interval prema dokumentu o harmonizaciji koji je objavila HKMB tijekom 2005. godine (6,33). Međutim, kako se taj referentni interval temelji na rezultatima dobivenim u spremnicima s 3,8% trinatrijevim citratom, potrebno ga je revidirati. Referentni interval moguće je preuzeti od proizvođača ili iz literature pri čemu se preporučuje njegova verifikacija.

Preporuka:

Rezultat pretrage fibrinogen izvještava se u g/L.

3.2.5 Izvještavanje rezultata D-dimera

Različite metode određivanja D-dimera koriste monoklonska antitijela različite specifičnosti, različite mjerne jedinice i granične vrijednosti. Stoga, rezultate dobivene različitim metodama nije moguće usporediti (46,47,50).

Rezultati pretrage D-dimera, izraženi u jedinicama ekvivalentnim fibrinogenu (engl. *Fibrinogen equivalent units*, FEU) približno su dva puta veći od rezultata izraženih u jedinicama D-dimera (engl. *D-dimer units*, DDU), tj. 1,0 mg/L FEU otprilike odgovara 0,5 mg/L DDU. Dogovor o poželjnoj jedinici izvještavanja još uvijek nije postignut. Primjena komercijalnih testova koji ne pružaju informaciju o vrsti jedinice koja se u testu koristi (DDU ili FEU) se ne preporučuje.

Nadalje, postoje i značajne razlike u izvještavanju mjernih jedinica D-dimera, kao što su mg/L ili µg/L, za različite komercijalne testove, što može izazvati pogrešno tumačenje nalaza (46,47). Budući da se rezultati različitih metoda za D-dimere ne mogu uspoređivati, laboratoriji bi uz rezultat na nalazu trebali navesti metodu koju upotrebljavaju zajedno s odgovarajućom vrstom jedinice, dakle DDU ili FEU. S obzirom na mjerne jedinice rezultati trebaju biti izraženi kao mg/L DDU ili FEU.

Opća preporuka za svaki laboratorij je da se za vlastitu metodu određivanja D-dimera odredi granična vrijednost na kojoj se temelji klinička odluka (48). Međutim, budući da je ovaj uvjet vrlo teško ispuniti u realnim laboratorijskim uvjetima, odabir granične vrijednosti uglavnom se temelji na vrijednostima koje deklarira proizvođač. Stoga se preporučuje klinička validacija tako preuzete granične vrijednosti. Treba naglasiti da granične vrijednosti za D-dimere imaju visoku negativnu prediktivnu vrijednost, pa je glavna vrijednost pretrage odsutnost povišenih vrijednosti D-dimera.

Preporuke:

1. Rezultate pretrage D-dimeri preporučuje se izvještavati u mjernim jedinicama mg/L DDU ili FEU.
2. Uz rezultat pretrage D-dimeri na nalazu se preporučuje navesti i metodu kojom se pretraga određuje.
3. Ne preporučuje se korištenje komercijalnih testova za D-dimere koji ne pružaju informaciju o vrsti jedinice (DDU ili FEU) koja se u testu koristi.

3.3 Interpretativni komentari

Nedavno provedena anketa među dijagnostičkim laboratorijima u RH pokazala je kako samo mali broj laboratorija na nalazu koagulacijskih pretraga dodatno interpretira rezultate ili daje preporuke za daljnja ispitivanja (6). U današnje vrijeme, kao sastavni dio laboratorijske usluge, sve se više potiče davanje interpretativnih i/ili informativnih komentara vezanih uz interferencije i nalaze za pojedine uzorke bolesnika (56). Interpretativni i/ili informativni komentari u izvješću o rezultatima mogu pomoći kliničaru da na odgovarajući način upotrijebi laboratorijske podatke. Stoga, u svrhu sprječavanja ili smanjenja pogrešaka i poboljšanja ishoda za bolesnika, preporučuje se uvođenje odgovarajućih interpretativnih i/ili informativnih komentara vezanih za prijeanalitičku i analitičku fazu ispitivanja, kao i onih vezanih uz proširenje prvotnog kliničkog zahtjeva kad god je to opravdano. Harmonizacija interpretativnih komentara prelazi opseg ovih smjernica, pa ipak gdje god je to bilo moguće u ovim smjernicama su ponuđeni interpretativni komentari.

Preporuka:

Preporučuje se uvođenje odgovarajućih interpretativnih i/ili informativnih komentara vezanih za prijeanalitičku i analitičku fazu ispitivanja, kao i onih vezanih uz proširenje prvotnog kliničkog zahtjeva kad god je to opravdano.

3.2.7 Kritične vrijednosti

Kritični rezultati su vrijednosti koje predstavljaju patofiziološko stanje pri kojem je promjena u usporedbi s normalnim (očekivanim vrijednostima) ili prethodno dobivenim vrijednostima po život opasna i za koje treba odmah poduzeti korektivne mjere. U sklopu procjene hemostatskog sustava, to bi značilo povećan rizik od krvarenja ili tromboze (57).

Općenito se kritične vrijednosti za PV, APTV i fibrinogen razlikuju u različitim zemljama i još uvijek nisu standardizirane. U kliničkoj praksi, vrijednost INR-a $>5,0$ smatra se klinički značajnom, jer zahtijeva hitnu intervenciju kako bi se smanjio antikoagulacijski učinak VKA (npr. uklanjanje doze) i spriječio rizik od krvarenja (npr. primjena vitamina K, svježe smrznute plazme ili protrombinskog kompleksa) (59). Prilikom određivanja kritične vrijednosti za APTV, laboratoriji trebaju uzeti u obzir rezultate APTV-a specifične za njihovu kombinaciju reagensa i koagulometra prema prethodno opisanom postupku (59). Općenito, terapijski interval za omjer APTV-a trebao bi biti 1,5 do 2,5 puta veći od gornje granice referentnog intervala, a bilo koji omjer veći od toga može ukazivati na povećani rizik od krvarenja i zahtijeva hitnu intervenciju (npr. prilagođavanje doze heparina) (57). Stoga takvu vrijednost treba izvijestiti kliničaru, budući da još uvijek nema dogovora oko odgovarajuće kritične vrijednosti. Nadalje, vrijednost fibrinogena manja od 0,8 g/L također

ukazuje na povećani rizik od krvarenja i treba je odmah izvijestiti kliničaru (57,59). U nedostatku opće prihvaćenih preporuka, laboratoriji se potiču da na lokalnoj razini definiraju klinički značajne kritične vrijednosti i/ili prošire postojeći popis kritičnih vrijednosti u suradnji s liječnicima (57). Pravila za izvještavanje kritičnih vrijednosti mogu biti različita za uzorke koje su u laboratorij došli po prvi put u odnosu na sljedeća uzorkovanja kod istog bolesnika. Prvi kritičan rezultat potrebno je odmah izvijestiti liječniku, a ovisno o dogovoru s kliničkim osobljem postupa se s izvještavanjem svakog sljedećeg kritičnog rezultata za istog bolesnika. Stoga je važno naglasiti kako izvještavanje o kritičnoj vrijednosti u svakoj ustanovi treba biti rezultat zajedničkog rada između laboratorijskih i kliničkih djelatnika (60).

Preporuke

1. Koagulacijski laboratoriji se potiču da na lokalnoj razini definiraju klinički značajne kritične vrijednosti i/ili prošire postojeći popis kritičnih vrijednosti za koagulacijske pretrage u suradnji s liječnicima.
2. Prvi kritičan rezultat potrebno je odmah izvijestiti liječniku, a ovisno o dogovoru s kliničkim osobljem postupa se s izvještavanjem svakog sljedećeg kritičnog rezultata za istog bolesnika.
3. Vrijednost INR-a $>5,0$ smatra se kritičnom jer zahtijeva hitnu intervenciju kako bi se smanjio antikoagulacijski učinak varfarina.
4. Za praćenje terapije s UFH-om, omjer APTV-a 2,5 puta veći od gornje granice referentnog intervala, može ukazivati na povećani rizik od krvarenja i treba je odmah izvijestiti kliničaru.
5. Vrijednost fibrinogena manja od 0,8 g/L ukazuje na povišeni rizik od krvarenja i treba je odmah izvijestiti kliničaru.

ZAKLJUČAK

Nedavno provedeno istraživanje među dijagnostičkim laboratorijima u RH pokazalo je različit način postupanja u svakodnevnoj praksi u pojedinoj fazi izrade koagulacijskih pretraga (5). To nije iznenađujuće obzirom da laboratoriji rade na različitim razinama zdravstvene zaštite i pod okriljem različitih profesionalnih društava. Stoga je cilj ovog rada bio sažeti osnovne preporuke za postupke u prijeanalitičkoj, analitičkoj i poslijeanalitičkoj fazi izrade najčešće izvođenih koagulacijskih pretraga. Međutim, među laboratorijima s malim i velikim brojem uzoraka postoje razlike u tehnološkim rješenjima. Koagulacijske pretrage se sve više integriraju u velike automatizirane laboratorijske sustave u svrhu poboljšanja kvalitete, učinkovitosti i brige o bolesnicima, uz istodobno smanjenje troškova. Neovisno o

broju pretraga ili integraciji, laboratorijska dijagnostika poremećaja sustava hemostaze zahtjeva specifične vještine (61). Tumačenje i upotreba dobivenih informacija na odgovarajući način od presudne je važnosti, kao i prepoznavanje potencijalnih izvora pogrešaka u cjelokupnom procesu laboratorijskog rada. Stoga, smatramo da će ove preporuke biti korisne u svakodnevnoj praksi laboratorija koji izvode probirne koagulacijske pretrage i D-dimere. Kako se prikupljene informacije temelje na prethodno objavljenim smjernicama, izvješćima stručnih odbora ili stručnom mišljenju, snaga dokaza nije toliko izražena. Ipak, smatramo ove preporuke važnim iskorakom prema standardizaciji postupaka i boljoj usporedivosti rezultata (Dodatak 1).

LITERATURA

1. Versteeg HH, Heemskerk JWM, Levi M, Reitsma PH. *New fundamentals in hemostasis*. *Physiol Rev* 2013;93:327–58.
2. Bonar R, Favaloro EJ, Adcock DM. *Quality in coagulation and haemostasis testing*. *Biochem Med* 2010;20:184-99.
3. Harris NS, Bazydlo LAL, Winter WE. *A Primer on Haemostasis for Clinical Chemists*. *Clinical Laboratory News* 2012. Source: <https://www.aacc.org/publications/cln/articles2012/January/coagulation-tests>. Accessed March 17th 2016
4. Chandler WL. *Initial evaluation of hemostasis: reagent and method selection*. U: Kitchen S, Olson JD and Preston FE, ur. *Quality in Laboratory Hemostasis and Thrombosis, Second Edition*. Oxford, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2013. str. 63-71.
5. Favaloro EJ, Funk DM, Lippi G. *Pre-analytical variables in coagulation testing associated with diagnostic errors in haemostasis*. *Lab Med* 2012;43:1-10.
6. Bronić A, Coen Herak D, Margetić S, Milić M. *Policies and practices in haemostasis testing among laboratories in Croatia: a survey on behalf of a Working Group for Laboratory Coagulation of the Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine*. *Biochem Med* 2017;27:199-216.
7. Lippi G, Favaloro EJ. *Causes of errors in medical laboratories*. U: Kitchen S, Olson JD and Preston FE, ur. *Quality in Laboratory Hemostasis and Thrombosis, Second Edition*. Oxford, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2013. str. 22-31.
8. 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.
9. Lippi G, Favaloro EJ. *Preanalytical Issues in Hemostasis and Thrombosis Testing*. *Methods Mol Biol* 2017;1646:29-42.
10. Nikolac N, Šupak-Smolčić V, Šimundić AM, Čelap I. *Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine: national recommendations for venous blood sampling*. *Biochem Med* 2013;23:242-54.
11. *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline-Fifth Edition*. CLSI document H21-A5. Wayne, PA; Clinical Laboratory Standards Institute, 2008.
12. Adcock D, Kressin DC, Marlar RA. *Minimum Specimen Volume Requirements for Routine Coagulation Testing Dependence on Citrate Concentration*. *Am J Clin Pathol* 1998;109:595-9.
13. Bennett ST. *Collection of Coagulation Specimens*. U: Bennett ST, Lehman CM, Rodgers GM, ur. *Laboratory Hemostasis - A Practical Guide for Pathologists*. Springer International Publishing Switzerland; 2015. str. 19-32.
14. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Lima-Oliveira G, Guidi GC, Favaloro EJ. *Quality Standards for Sample Collection in Coagulation Testing*. *Semin Thromb-Haemost* 2012;38: 565-75.
15. Laxson CJ, Titler MG. *Drawing coagulation studies from arterial lines; an integrative literature review*. *Am J Critical Care* 1994;1:16-24.
16. Adcock Funk D. *Sample integrity and preanalytical variables*. U: Kitchen S, Olson JD and Preston FE, ur. *Quality in Laboratory Hemostasis and Thrombosis, Second Edition*. Oxford, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2013. str. 45-56.
17. Suchsland J, Friedrich N, Grotevendt A, Kallner A, Lüdemann J, Nauck M, Petersmann A. *Optimizing centrifugation of coagulation samples in laboratory automation*. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:1187-91.
18. Marlar RA, Potts MR, 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;126:400-5.
19. Lippi G, Plebani M, Favaloro EJ. *Interference in coagulation testing: Focus on spurious hemolysis, icterus, and lipemia*. *Semin Thromb Hemost* 2013;39:258–66.
20. Adcock Funk DM, Lippi G, Favaloro EJ. *Quality Standards for Sample Processing, Transportation, and Storage in Hemostasis Testing*. *Semin Thromb Hemost* 2012; 38:576-85.
21. Van Geest-Daalderop JHH, Mulder AB, Boonman-de Winter LJM, Hoekstra MMCL, van den Besselaar AMH. *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;51:561-8.
22. Favaloro EJ, Soltani S, McDonald J. *Potential laboratory misdiagnosis of haemophilia and von Willebrand Disorder due to cold activation of blood samples for testing*. *Am J Clin Path* 2004;122:686-92.
23. Lima-Oliveira G, Adcock DM, Salvagno GL, Favaloro EJ, Lippi G. *Mixing of thawed coagulation samples prior to testing: Is any technique better than another?* *Clin Biochem* 2016;49:1399-401.
24. Gosselin RC, Honeychurch K, Kang HJ, Dwyre DM. *Effects of storage and thawing conditions on coagulation testing*. *Int J Lab Hematol* 2015;37:551-9.
25. Mackie I, Cooper P, Lawrie A, Kitchen S, Gray E, Laffan M; *British Committee for Standards in Haematology. Guidelines on the laboratory aspects of assays used*

- in haemostasis and thrombosis. *Int J Lab Hematol* 2013;35:1-13.
26. Gardiner C, Kitchen S, Dauer RJ, Kottke-Marchant K, Adcock DM. Recommendations for evaluation of coagulation analyzers. *Laboratory Hematology: Official Publication of the International Society for Laboratory Hematology* 2006;12:32-8.
 27. Kitchen S, Preston EF, Olson JD. *Internal Quality Control in the Hemostasis Laboratory*. U: Kitchen S, Olson JD and Preston FE, ur. *Quality in Laboratory Hemostasis and Thrombosis, Second Edition*. Oxford, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2013. str.57-64.
 28. Preston EF, Kitchen S, Srivastava A. *External Quality Assessment in Hemostasis: Its Importance and Significance*. U: Kitchen S, Olson JD and Preston FE, ur. *Quality in Laboratory Hemostasis and Thrombosis, Second Edition*. Oxford, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2013. str.65-76.
 29. CLSI. *One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test; Approved Guideline—Second Edition H47-A2*, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standard Institute; 2008.
 30. Tripodi A. *Monitoring Oral Anticoagulant Therapy*. U: Kitchen S, Olson JD and Preston FE, ur. *Quality in Laboratory Hemostasis and Thrombosis, Second Edition*. Oxford, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2013. str. 253-63.
 31. Bonar R, Favaloro EJ. Explaining and reducing the variation in inter-laboratory reported values for International Normalised Ratio. *Thromb Res* 2017;150:22-9.
 32. Adcock DM, Brien WF, Duff SL, Johnston M, Kitchen S, Marlar RA, Ng VL, van den Besselaar T, Woodhams BJ. *Procedures for Validation of INR and Local Calibration of PT/INR Systems; Approved Guideline*. CLSI guideline H54-A. Wayne PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
 33. Harmonizacija laboratorijskih nalaza u području opće medicinske biokemije. Dostupno na: <http://www.hkmb.hr/obavijesti/obavijesti-index.html>. Pristupljeno: 21. ozujka, 2016.
 34. Lippi G, Favaloro EJ. Activated partial thromboplastin time: New tricks for an old dogma. *Semin Thromb Haemost* 2008;34:604-11.
 35. Johnston M. *Monitoring Heparin Therapy*. U: Kitchen S, Olson JD and Preston FE, ur. *Quality in Laboratory Hemostasis and Thrombosis, Second Edition*. Oxford, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2013. str. 224-52.
 36. Brill-Edwards P, Gunsberg JS, Johnston M, Hirsh J. Establishing a therapeutic range for heparin therapy. *Ann Intern Med* 1993;119:104-9.
 37. Marlar RA, Gausman J. The optimum number and types of plasma samples necessary for an accurate activated partial thromboplastin time – based heparin therapeutic range. *Arch Pathol Lab Med* 2013;137:77-82.
 38. Laposata M, Green D, Van Cott EM, Barrowcliffe TW, Goodnight SH, Sosolik RC. College of American Pathologists Conference XXXI on laboratory monitoring of anticoagulant therapy; the clinical use and laboratory monitoring of low-molecular-weight heparin, danaparoid, hirudin and related compounds, and argatroban. *Arch Pathol Lab Med* 1998;122:799-807.
 39. Rodgers GM, Lehman CM. *Hemostasis Screening Assays*. U: Bennett ST, Lehman CM, Rodgers GM, ur. *Laboratory Hemostasis: A Practical Guide for Pathologists*. Springer International Publishing Switzerland; 2007. str. 85-101.
 40. Teruya J. Thrombin Time. <http://emedicine.medscape.com/article/2086278-overview>. Pristupljeno: Ožujak 2016.
 41. Ariens RAS. Fibrin(ogen) and thrombotic disease. *J Thromb Haemost* 2013;11:294-305.
 42. Mackie IJ, Kitchen S, Machin SJ, Lowe GDO. On Behalf of the Haemostasis and Thrombosis Task Force of the British Committee for Standards in Haematology. Guidelines on fibrinogen assays. *Br J Haematol* 2003;121:396-404.
 43. Van den Besselaar AMHP, van Rijn CJJ, Cobbaert CM, Reijnen GLA, Hollestelle MJ, Niessen R. et al. Fibrinogen determination according to Clauss: commutability assessment of International and commercial standards and quality control samples. *Clin Chem Lab Med* 2017; 55:1761-9.
 44. Miesbach W, Schenk J, Alesci S, Lindhoff-Last E. Comparison of the fibrinogen Clauss assay and the fibrinogen PT derived method in patients with dysfibrinogenemia. *Thromb Res* 2010;126:428-33.
 45. Chitolie A, Mackie IJ, Grant D, Hamilton JL, Machin SM. Inaccuracy of the „derived“ fibrinogen measurement. *Blood Coagul Fibrinol* 1994;5:955-7.
 46. Olson JD, Cunningham MT, Higgins RA, Eby CS, Brandt JT. D-dimer: simple test, tough problems. *Arch Pathol Lab Med* 2013;137:1030-8.
 47. Lippi G, Tripodi A, Simundic AM, Favaloro EJ. International survey on D-dimer test reporting: a call for standardization. *Semin Thromb Haemost* 2015;41:287-93.
 48. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Quantitative D-Dimer for the Exclusion of Venous Thromboembolic Disease; Approved Guideline H59-A*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standard Institute; 2011.
 49. Elferink RFM, Loot AE, Van de Klashorst CGJ, Hulsebos-Huygen M, Piersma-Wichers M, Oudega R. Clini-

- cal evaluation of eight different D-dimer test for the exclusion of deep venous thrombosis in primary care patients. *Scand J Clin Lab Invest* 2015;75:230-8.
50. Douma RA, Tan M, Schutgens RE, Bates SM, Perrier A, Legnani C i sur. Using an age-dependent D-dimer cut-off value increases the number of older patients in whom deep vein thrombosis can be safely excluded. *Haematologica* 2012; 97:1507-13.
51. Favaloro EJ, Lippi G. Laboratory reporting of haemostasis assays: The final post-analytical opportunity to reduce errors of clinical diagnosis in hemostasis? *Clin Chem Lab Med* 2010;48:309-21.
52. Marlar RA. Hemostasis test validation, performance, and reference intervals: international recommendations and guidelines. U: Kitchen S, Olson JD and Preston FE, ur. *Quality in Laboratory Hemostasis and Thrombosis, Second Edition*. Oxford, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2013. str.13-21.
53. Castellone DD. Establishing reference intervals in the coagulation laboratory. *Int J Lab Hematol* 2017; 39:121-27.
54. Ignjatovic V, Kenet G, Monagle P, on behalf of the Perinatal and Paediatric Haemostasis Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Developmental hemostasis: recommendations for laboratories reporting paediatric samples. *J Thromb Haemost* 2012;10:298-300.
55. Tripodi A, Lippi G, Plebani M. How to report results of prothrombin and activated partial thromboplastin times. *Clin Chem Lab Med* 2015;54:215-22.
56. Vasikaran S, Sikaris K, Kilpatrick E, French J, Badrick T, Osypiw J, Plebani M. IFCC WG Harmonization of Quality Assessment of Interpretative Comments. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:1901-11.
57. Lippi G, Adcock D, Simundic AM, Tripodi A, Favaloro EJ. Critical laboratory values in hemostasis: toward consensus. *Ann Med* 2017;49:455-461.
58. Ansell J, Hirsh J, Hylek E, Jacobson A, Crowther M, Palareti G. Pharmacology and management of the vitamin K antagonists: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th ed.). *Chest* 2008;133:160S-98S.
59. Pal M, Moffat KA, Plumhoff E, Hayward CM. Critical values in the coagulation laboratory: results of a survey of the North American Specialized Coagulation Laboratory Association. *Am J Clin Pathol* 2011;136:836-41.
60. Don-Wauchope AC, Chetty VT. Laboratory defined critical value limits: how do hospital physicians perceive laboratory based critical values? *Clin Biochem* 2009;42:766-70.
61. Huber AR; Méndez A; Brunner-Agten S: Automation in haemostasis. *Hämostaseologie* 2013;4:295-8.

DODATCI

DODATAK 1. – Tablični prikaz osnovnih preporuka za postupke u prijeanalitičkoj, analitičkoj i poslijeanalitičkoj fazi izrade probirnih koagulacijskih pretraga protrombinskog vremena, aktiviranog parcijalnog trombotičnog vremena, trombinskog vremena, fibrinogena i D-dimera

Faze rada pri izradi koagulacijskih pretraga	Preporuka	Literatura
PRIJEANALITIČKA FAZA RADA PRI IZRADI KOAGULACIJSKIH PRETRAGA		
Zahtjev za pretragama - uputnica		
	Informacije o radnoj ili potvrđenoj dijagnozi, kao i podatak o primijenjenoj antikoagulacijskoj terapiji trebaju biti sastavni dio zahtjeva za pretragama.	10
Priprema i identifikacija bolesnika		
	Priprema i identifikacija bolesnika prije uzorkovanja krvi mora se provesti sukladno Nacionalnim preporukama za uzimanje venskih uzoraka.	10
Spremnici za uzorkovanje i antikoagulans		
	1. Uzorci venske krvi za koagulacijske pretrage uzimaju se u staklene ili plastične spremnike s neaktivirajućom površinom.	11,13
	2. Spremnici trebaju sadržavati puferirani trinitrijev citrat kao antikoagulans u koncentraciji od 105-109 mmol/L, tj. 3,2%-tnitrijev citrat.	11
	3. Omjer krvi i antikoagulansa u spremniku za koagulacijske pretrage treba biti 9:1.	11
	4. Uzorci s volumenom krvi +/-10% u odnosu na potrebnu količinu naznačenu na spremniku prihvatljivi su za analizu.	11,12-14
Uzorkovanje krvi		
	1. Uzorkovanje krvi za koagulacijske pretrage mora se provesti sukladno Nacionalnim preporukama za uzimanje venskih uzoraka.	10
	2. Prije uzorkovanja krvi putem intravenskih katetera, preporučuje se ispiranje katetera fiziološkom otopinom i odbacivanje prvih 5 mL krvi ili šesterostrukog volumena središnjeg venskog katetera, odnosno dva volumena perifernog venskog katetera.	8,10,11,15
Redosljed uzorkovanja spremnika		
	1. Kada je krv potrebno uzorkovati u više spremnika, uzorkovanje krvi u spremnik za koagulacijske pretrage potrebno je izvršiti prije uzorkovanja bilo kojeg drugog spremnika s aditivom (koji sadrži aktivatore ugruška ili antikoagulans).	10,11,14
	2. Prije prikupljanja uzoraka venske krvi za probirne koagulacijske pretrage i D-dimere nije potrebno uzorkovati spremnik koji se odbacuje. Izuzetak od ovog pravila uključuje postupak kada se koriste leptirici za uzorkovanje, budući da zrak u sustavu za vađenje može utjecati na punjenje spremnika a time i na omjer krvi i antikoagulansa u spremniku. Spremnik koji se odbacuje u ovom slučaju mora biti bez aditiva.	10,11,14
Neprihvatanje uzoraka		
	Svaki laboratorij treba imati definirane kriterije za neprihvatanje koagulacijskih uzoraka.	8,11,16
Priprema uzoraka krvi za analizu		
	1. Plazma za određivanje pretraga probira PV, APTV, TV, fibrinogena i D-dimera priprema se centrifugiranjem primarnog spremnika za prikupljanje uzoraka krvi na 1500xg na sobnoj temperaturi (18-25 °C) tijekom 15 minuta.	11,13,17

	2. Sve uzorke plazme koji se zamrzavaju do trenutka Izvođenja analize potrebno je centrifugirati još jednom (tzv. dvostruko centrifugiranje) kako bi se dobila plazma siromašna trombocitima (engl. <i>platelet poor plasma</i> , PPP) koja sadrži $<10 \times 10^9/L$ trombocita.	16,17
Uzorcima s visokim vrijednostima hematokrita		
	1. U uzorcima za određivanje koagulacijskih pretraga s vrijednostima hematokrita iznad 0,55 L/L, potrebno je prilagoditi konačnu koncentraciju citrata u spremniku kako bi se održao odgovarajući omjer krvi i antikoagulansa od 9:1.	11,18
	2. Za uzorke u kojima je potrebno prilagoditi volumen antikoagulansa (citrata) na nalazu treba uvijek naznačiti da je volumen citrata u spremniku korigiran zbog visoke vrijednosti hematokrita uz interpretativni komentar: Koagulacijske pretrage su napravljene u uzorku s prilagodenim volumenom antikoagulansa (citrata) zbog visoke vrijednosti hematokrita (Hct = xx L/L). Pri tome xx predstavlja točnu vrijednost hematokrita.	11,18
Hemoliza, hiperbilirubinemija, lipemija		
	1. Pri izvođenju probirnih koagulacijskih pretraga laboratoriji trebaju procijeniti prihvatljivu koncentraciju interferirajućih supstanci za vlastiti sustav reagens/koagulometar koji je u uporabi.	19,20
	2. Ukoliko se sumnja na intravaskularnu, odnosno hemolizu <i>in vivo</i> , rezultati ispitivanja trebaju biti izdani s odgovarajućim komentarom na nalazu (intravaskularna hemoliza).	11,19,20
	3. Mehanička i/ili elektromehanička metoda detekcije ugruška preporučuje se kada god je to moguće, za analizu uzoraka koji sadrže supstance koje interferiraju uslijed spektralnog preklapanja.	11
Pohrana uzoraka do analize		
	1. Uzorci za koagulacijske pretrage pohranjuju se do analize na sobnoj temperaturi (18-25 °C) u neotvorenom spremniku.	11,12,20
	2. Sve koagulacijske pretrage potrebno je analizirati unutar 4 sata od uzorkovanja. Izuzetak od ove preporuke mogu biti pretrage PV* i D-dimeri, za koje se uzorci mogu pohraniti na sobnoj temperaturi necentrifugirani ili centrifugirani i do 24 sata od uzorkovanja.	11,12,20
	3. Laboratoriji koji prihvaćaju za analizu uzorke za PV i D-dimere pohranjene unutar 24 sata od prikupljanja krvi, trebaju potvrditi stabilnost uzorka na vlastitom sustavu.	21
	4. Ukoliko se pretraga APTV određuje u svrhu praćenja terapije nefrakcioniranim heparinom (UFH) uzorke treba centrifugirati, a plazmu odvojiti od stanica unutar 1 sata od uzorkovanja.	11,16,21
	5. Ukoliko koagulacijske pretrage nije moguće izraditi unutar vremena dozvoljenog za analizu, plazmu treba centrifugirati, odvojiti od stanica i odmah zamrznuti (poželjno unutar jednog sata od uzorkovanja) na temperaturi od -20 °C ili nižoj za kratkotrajnu pohranu (do dva tjedna) odnosno na temperaturi od -70 °C za pohranu do šest mjeseci.	16,20
Transport uzoraka na udaljene lokacije		
	1. Uzorke za koagulacijske pretrage koji se na analizu šalju u udaljene laboratorije, potrebno je dostaviti u odgovarajućem vremenskom roku, poštujući vrijeme dozvoljeno za analizu pojedine tražene pretrage. Ukoliko to nije moguće s uzorcima je potrebno postupiti kao što je to opisano u prethodnom poglavlju, preporuci broj 5.	16,20
	2. Svaki spremnik s uzorkom koji se šalje na analizu u udaljene laboratorije treba biti označen punim imenom i prezimenom bolesnika, datumom rođenja i identifikacijskim brojem (matični broj osiguranika i/ili jedinstveni identifikacijski broj u laboratoriju). Uz to, treba navesti informaciju o vrsti uzorka (npr. citratna plazma), datumu i vremenu uzorkovanja.	16,20

	3. Uzorci zamrznute plazme trebaju se transportirati na suhom ledu, a ukoliko to nije moguće, na dovoljnoj količini običnog leda u spremniku od stiropora, kako bi ostali čvrsto zamrznuti dok ne stignu u laboratorij za analizu.	5,8,11
Odmrzavanje zamrznutih uzoraka plazme		
	1. Odmrzavanje zamrznutih uzoraka plazme treba provesti brzo, tijekom 10 minuta na 37 °C u inkubatoru, suhom termo bloku ili vodenoj kupelji.	5,16,20,23
	2. Odmrznuti uzorak prije analize treba temeljito promiješati laganim okretanjem uzorka 6 puta tako da se spremnik s uzorkom svaki put okrene za 180° i vrati u početni položaj.	23
ANALITIČKA FAZA PRI IZRADI KOAGULACIJSKIH PRETRAGA		
Kontrola kvalitete		
	1. Unutarnju kontrolu kvalitete treba provesti nakon otvaranja i/ili otapanja svakog pojedinog reagensa, te nakon umjeravanja, preventivnog održavanja i servisa analizatora.	27
	2. Za kvantitativne koagulacijske testove, kontrolne plazme s normalnim i patološkim vrijednostima potrebno je analizirati svakih osam sati neprekidnog rada. Učestalost može biti propisana i drugačije ukoliko je laboratorij proveo analizu vlastitog procesa rada i procjenu rizika uzevši u obzir broj uzoraka i opterećenje tijekom radnog vremena.	27,29
	3. Vanjska kontrola kvalitete treba biti sastavni dio ukupnog upravljanja kvalitetom u laboratoriju koji izrađuje koagulacijske pretrage	27,29
Koagulacijske pretrage		
	Postupak evaluacije i validacije koagulometara potrebno je provesti u skladu s prethodno objavljenim preporukama.	26
Protrombinsko vrijeme		
	1. Za određivanje pretrage PV, preporuka je koristiti rekombinantne tromboplastine koji imaju ISI vrijednost manju od 1,2.	29-33
	2. Pri određivanju pretrage PV-a preporučuje se koristiti i/ili odrediti vrijednost ISI ^S specifičnu za kombinaciju tromboplastina i koagulometra koja se koristi u laboratoriju.	29,30,32
Aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme		
	1. Za izvođenje APTV-a kao probirne pretrage preporučuje se upotreba APTV reagensa koji su osjetljivi na manjak čimbenika zgrušavanja i na terapiju UFH-om, ali koji istodobno ne moraju biti osjetljivi na LA.	4, 29, 34
	2. APTV je prikladna pretraga za praćenje terapije UFH-om.	35
	3. Za praćenje terapije UFH pomoću pretrage APTV, preporuka je da svaki laboratorij odredi osjetljivost APTV reagensa u uporabi na UFH s ciljem uspostave vlastitog terapijskog intervala.	35-37
	4. APTV nije prikladan test za praćenje terapije s LMWH. Ukoliko je potrebno pratiti terapiju s LMWH, prikladna pretraga je određivanje anti-FXa aktivnosti.	38
Trombinsko vrijeme		
	Trombinsko vrijeme nije prikladan test za praćenje antikoagulacijske terapije heparinom i direktnim inhibitorima trombina.	39,40
Fibrinogen		
	1. Test određivanja funkcionalne aktivnosti fibrinogena je najprikladnija metoda određivanja fibrinogena za rutinsku primjenu u laboratorijima.	42
	2. Imunokemijski testovi za fibrinogen, koji mjere koncentraciju antigena, a ne funkcionalnu aktivnost primjenjuju se isključivo u diferencijalnoj dijagnostici disfibrinogenemije.	39,42

	3. Metoda deriviranog fibrinogena se ne preporučuje za rutinsku uporabu.	42,44,45
D-dimeri		
	1. Rezultate, referentne intervale i granične vrijednosti za pretragu D-dimeri potrebno je uvijek interpretirati ovisno o metodi koju laboratorij koristi.	47,48
	2. Uz rezultat pretrage D-dimera na nalazu je potrebno istaknuti i mjernu metodu kojom se oni određuju.	48-50
POSILJEANALITIČKA FAZA RADA PRI IZRADI KOAGULACIJSKIH PRETRAGA		
Referentni intervale, granične vrijednosti i usklađivanje izvještavanja o rezultatima		
	1. Referentne intervale za koagulacijske pretrage koji se preuzimaju od proizvođača ili iz literature, preporučeno je prethodno verificirati tj. provjeriti njihovu primjenjivost na lokalnoj populaciji.	25,53
	2. Pri analizi pedijatrijskih uzoraka potrebno je primijeniti referentne intervale prilagođene dobi kako bi se osigurala ispravna dijagnostika i liječenje djece s poremećajima hemostaze.	54
IZVJEŠTAVANJE REZULTATA POJEDINIH PROBIRNIH KOAGULACIJSKIH PRETRAGA I D-DIMERA		
Izveštavanje rezultata PV-a i INR-a		
	1. Rezultate pretrage PV-a za bolesnike koji nisu na terapiji s VKA treba izvijestiti kao postotak aktivnosti.	30,29,51
	2. INR se ne izvještava u bolesnika koji nisu na terapiji s VKA.	30
	3. Rezultate pretrage PV-a za bolesnike na terapiji s VKA treba izvještavati isključivo kao INR.	29,30
Izveštavanje rezultata APTV		
	Rezultat probirne pretrage APTV uvijek je potrebno izvijestiti u sekundama i kao APTV omjer.	29,34-37
Izveštavanje rezultata TV		
	Rezultat pretrage TV izvještava se u sekundama.	39,40
Izveštavanje rezultata fibrinogena		
	Rezultat pretrage fibrinogena izvještava se u g/L.	42
Izveštavanje rezultata D-dimera		
	1. Rezultate pretrage D-dimeri preporučuje se izvještavati u mjernim jedinicama mg/L DDU ili FEU.	46-48
	2. Uz rezultat pretrage D-dimeri na nalazu se preporučuje navesti i metodu kojom se pretraga određuje.	46-48
	3. Ne preporučuje se korištenje komercijalnih testova za D-dimere koji su prisutni na tržištu, a koji ne pružaju informaciju o vrsti jedinice (DDU ili FEU) koja se u testu koristi.	46-48
Interpretativni komentari		
	Preporučuje se uvođenje odgovarajućih interpretativnih komentara vezanih za prijeanalitičku i analitičku fazu ispitivanja, kao i onih vezanih uz proširenje prvotnog kliničkog zahtjeva kad god je to opravdano.	56
Kritične vrijednosti		
	1. Koagulacijski laboratoriji se potiču da na lokalnoj razini definiraju klinički značajne kritične vrijednosti i/ili prošire postojeći popis kritičnih vrijednosti u suradnji s liječnicima.	57,59
	2. Prvi kritičan rezultat potrebno je odmah izvijestiti liječniku, a ovisno o dogovoru s kliničkim osobljem postupa se s izvještavanjem svakog sljedećeg kritičnog rezultata za istog bolesnika.	57,59

	3. Vrijednost INR-a >5,0 smatra se klinički značajnom jer zahtijeva hitnu intervenciju kako bi se smanjio antikoagulacijski učinak varfarina.	58
	4. Za praćenje terapije s UFH svaki omjer APTV-a veći 2,5 puta od gornje granice referentnog intervala, može ukazivati na povećani rizik od krvarenja i treba je odmah izvijestiti kliničaru.	57
	5. Vrijednost fibrinogena manja od 0,8 g/L ukazuje na povišeni rizik od krvarenja i treba je odmah izvijestiti kliničaru	57,59

PV – protrombinsko vrijeme; APTT – aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme; TV – trombinsko vrijeme; ISI – Međunarodni indeks osjetljivosti; INR – međunarodni normalizirajući omjer; LMWH – niskomolekularni heparin; UFH – nefrakcionirani heparin; VKA – antagonisti vitamina K antagonist; DDU – jedinice D-dimera; FEU – jedinice ekvivalentne fibrinogenu; LA – lupus antikoagulans

DODATAK 2. – Komentari i recenzije pristigle tijekom javne rasprave radne verzije dokumenta Nacionalne preporuke za postupke uzorkovanja, pripreme i analize uzoraka te izvještavanje rezultata probirnih koagulacijskih pretraga protrombinskog vremena, aktiviranog parcijalnog tromboplastinskog vremena, trombinskog vremena, fibrinogena i D-dimera.

KOMENTARI RECENZENATA	ODGOVOR AUTORA
RECENZENT 1	
OPĆI KOMENTAR:	
1. Predlažemo da na kraju svakog poglavlja izdvojite preporuku RG, kako bi čitatelju odmah bilo jasno što su nacionalne preporuke. Tablica na kraju može ostati, ali treba biti usklađena s preporukama u tekstu.	Zahvaljujemo na komentaru. Prema pravilniku HDMBLM preporuke prolaze recenziju prije javne rasprave. Kako bi preporuke bile koncizne i sažete na jednom mjestu tada nam je sugerirana izrada Tablice 1. Mišljenja smo bili da u tom slučaju nije potrebno dodatno stavljati okvir s preporukom na kraju svakog poglavlja. Sukladno sugestiji na kraju svakog poglavlja istaknut ćemo jasnu preporuku.
UVOD	
2. "Istaknulo" umjesto "istaknula" jer se radi o istraživanju	(treći paragraf, prva rečenica) Izmijenjeno prema sugestiji.
UZORKOVANJE KRVI	
3. Riječi "istodobno uzorkovanje" su suvišne. Potrebno je naglasiti sa treba postupiti prema dalje opisanoj proceduri.	(četvrta rečenica) Izmijenjeno prema sugestiji.
4. Upotreba pojma "zatvoreni venski sustav" je zbunjujuća. Misli li se na "periferni venski kateter"? Ako da, potrebno je objasniti razliku između katetera opisanog prethodno jer se u prethodnoj rečenici koja se odnosi na kateter navodi da se odbacuje šesterostruki volumen katetera, a ovdje se sugerira odbacivanje dva volumena katetera.	(šesta rečenica) Da, misli se na periferni venski kateter. Sukladno sugestiji pojam zatvoreni venski sustav je izmijenjen. Nadamo se da je tekst sada jasniji.
REDOSLIJED UZORKOVANJA SPREMNIKA	
5. Umjesto "analize" sugeriram "analiza" ili "pretraga"	(prva rečenica) Smatramo da je rečenica jasna i da promjena nije neophodna.
NEPRIHVAĆANJE UZORAKA	
6. Kriteriji neprihvatanja uzoraka za koagulacijske pretrage iz naslova moraju biti u potpunoj sukladnosti s ovim preporukama. Bilo bi nužno specificirati poželjno vrijeme za pretrage o kojima je ovdje riječ, a ne samo u poglavlju Pohrana prije analize.	U skladu s zahtjevom rečenice su djelomice korigirane na način da se čitatelji upućuju na poglavlje Pohrana uzoraka do analize. Smatramo suvišnim ponavljati podatke o dozvoljenom vremenu izrade pretraga koje je navedeno u poglavlju Pohrana uzoraka do analize.
PRIPREMA UZORAKA KRVI ZA ANALIZU	
7. Potrebno je izbaciti ovu rečenicu. Nacionalne preporuke za koag. pretrage iz naslova usklađene su s CLSI (11) preporukama. Smatramo da je u ovom odlomku nepotrebno naglašavati ostale koagulacijske pretrage. Naglašavamo da većina MBL nema CLSI specifične smjernice, pa zato izdajemo naše nacionalne i nije zgodno upućivati bez detalja na CLSI.	(prva rečenica) Rečenica je stavljena kao uvod u poglavlje, a ne kao preporuka. Postupci pripreme uzoraka opisani su dalje u tekstu. Kako prva rečenica ne bi izazivala daljnju zabunu, brisana je iz teksta. Nismo razumjeli koje se to ostale pretrage naglašavaju u ovom poglavlju.
8. Najmanje je suvišno, jer je preporuka iza dvostruko centrifugiranje	(treća rečenica) Većina preporuka korištena pri izradi ovih smjernica za centrifugiranje koagulacijskih uzoraka navodi vrijeme „ne manje od 15 minuta“. Sukladno ostalim zahtjevima recenzenata poglavlje je izmijenjeno, a najmanje je izmijenjeno u tijekom 15 minuta kako bi informacija bila jasnija.

9. Navedite za koje pretrage je nužno ovo provesti. Jer preporuka treba biti jednoznačna.	(četvrta rečenica) Mišljenja smo da se iz prethodne dvije rečenice jasno da zaključiti da se radi o mogućoj opciji za sve pretrage koje se obrađuju u ovim smjericama. Sukladno ostalim zahtjevima recenzenata poglavlje je djelomično izmijenjeno pa se nadamo da će i ovaj dio sada biti jasniji.
10. Izbaciti. Nastavak rečenice je obrazloženje za prethodno navedene uvjete.	(peta rečenica) Nismo sigurni dali smo u potpunosti razumjeli zahtjev. Smatramo da nije potrebno izvršiti predloženu izmjenu za razumijevanje teksta.
11. Navedite koji se tip rotora centrifuge MORA koristiti (primjerice, <i>swing-out</i>).	Za koagulacijske pretrage potrebno je koristiti centrifuge koje imaju rotor s promjenjivim kutom (engl. <i>swing-out rotor</i>), a pri centrifugiranju bi trebalo izbjegavati upotrebu funkcije kočenja. Podatak je dodan u rečenicu broj 5.
12. Ova rečenica je nejasna, osim obrazloženja zašto se ne smije centrifugirati na nižim temperaturama. Može se shvatiti kao da je potrebno koristiti centrifuge s hlađenjem, ali da se centrifugira na 22°C jer se centrifuga bez hlađenja može pregrijavati. Iz toga se postavlja pitanje može li se i centrifuga s hlađenjem pregrijati ako se ne koristi opcija centrifugiranja na nižim temperaturama?	(predzadnja rečenica) Nismo sigurni dali smo u potpunosti razumjeli navedeni komentar. Dio rečenice je brisan kako bi se izbjegle dodatne zabune, a ostalo je navedeno da ukoliko se koristi centrifuga s hlađenjem, centrifugiranje treba izvoditi na sobnoj temperaturi budući da niže temperature mogu dovesti do aktivacije trombocita. Nadamo da je rečenica sada jasnija za čitatelje.
13. Ponavljanje navedenog prethodno, nužno je izostaviti ovdje, a prethodno specificirati koje su to pretrage od ovih iz naslova preporuke.	(zadnja rečenica) Smatramo da nije potrebno izvršiti predloženu izmjenu obzirom da je jasno navedeno da za sve uzorke plazme koji se zamrzavaju do trenutka izvođenja analize je potrebno provesti dvostruko centrifugiranje te da nije potrebno dodatno naglašavati svaku pojedinu pretragu. Sukladno ostalim zahtjevima recenzenata poglavlje je djelomično izmijenjeno pa se nadamo da će i ovaj dio sada biti jasniji.
UZORCI S VISOKIM VRIJEDNOSTIMA HEMATOKRITA	
14. Pažnja nije uvijek unaprijed moguće otkriti visoku vrijednost Htc _c -a pa molim vas u ovoj preporuci predložite kako postupiti u situacijama koje su najčešće u praksi. Primjerice: ne izdati rezultate; izdati s interpretativnim komentarom; i drugo	U tekstu nigdje nije navedeno da je uvijek unaprijed moguće znati vrijednost hematokrita. Opisan je standardizirani postupak korekcije citrata (referenca 11), a na kraju poglavlja navedeno je da ukoliko nije moguće izvesti postupak korekcije da se nalaz izdaje uz odgovarajući komentar. Ukoliko je sugestija usmjerena na to da se ponekad sumnja na visoku vrijednost hematokrita, a točna vrijednost nije poznata, mišljenja smo da je stvar dobre laboratorijske prakse provjeriti vrijednost kada god je to moguće prije nego se poduzmu daljnji koraci vezani za korekciju. Sukladno ostalim komentarima recenzenata nastojat ćemo dodatno razjasniti pojedine dijelove u poglavlju.
15. Sugeriram staviti sliku tuberkulinske štrcaljke	Zbog obujma teksta i tablice umjesto slike nastojat ćemo ovdje opisati o kakvim se štrcaljkama radi: Tuberkulinske štrcaljke su sterilne štrcaljke koje su najčešće zapremine 1 mL, namijenjene za jednokratnu uporabu i to primarno za primjenu na čovjeku. Štrcaljke su graduirane, opremljenom s kratkom iglom koso odrezanog vrha, a najmanji odjeljak ljestvice ima vrijednost od 0,01 mL.
16. "Igle" je suvišno. Potrebno je navesti da s obzirom da nije više moguće uzorkovanje u sustav s podlakom, uzorkovanje se izvodi, takozvanim otvorenim sustavom ili štrcaljkom	Sukladno sugestiji zamijenili smo pomoću igle s otvorenim sustavom.
17. Specificirajte komentar koji treba biti na nalazu kako bi svi MBL u RH koristili ISTI	Vežano na zahtjev 17. Interpretativni komentari na kraju poglavlja su dodatno specificirani. Koagulacijske pretrage su napravljene u uzorku s prilagodenim volumenom antikoagulansa (citrata) zbog visoke vrijednosti hematokrita (Hct = xx L/L). Pri tome je xx-točna vrijednost hematokrita. Nije moguće izvršiti prilagodbu volumena antikoagulansa (citrata) potrebne zbog visoke vrijednosti hematokrita. Neodgovarajući omjer antikoagulansa i krvi može utjecati na rezultate koagulacijskih pretraga. Preporuka je ponoviti uzorkovanje uz prethodni dogovor s laboratorijskim osobljem.

HEMOLIZA, HIPERBILIRUBINEMIJA I LIPEMIJA	
18. Potrebno je istaknuti da nove generacije analizatora omogućavaju određivanje HIL indeksa, pa se interferirajuće supstance automatski detektiraju i automatski se odabire odgovarajuća valna duljina.	(treća rečenica) Sukladno zahtjevu naveden je podatak o HIL indeksu. Rečenica je izmijenjena u: Nova generacija koagulacijskih analizatora mjeri optičku apsorpciju na različitim valnim duljinama, kao i indeks hemolize, ikterije i lipemije (tvz. HIL indeks) pa se problematični uzorci mogu prepoznati prije izvođenja analize a utjecaj ovih interferirajućih supstanci tijekom ispitivanja se smanjuje automatskim odabirom odgovarajuće valne duljine (19,20).
19. Suvišna rečenica.	(četvrta rečenica) Korigirano prema sugestiji. Izbrisana je rečenica: Ako je laboratorij opremljen takvim analizatorima, prihvatljivu koncentraciju interferirajućih tvari moguće je lokalno ispitati.
20. Pojam "veća valna duljina (570 nm ili više)" je vrlo paušalan., bolje je koristiti pojam "druge valne duljine" ili "alternativne valne duljine". To ovisi o postavkama analizatora pa smatram da je to potrebno naglasiti.	Paragraf 2 Korigirano prema sugestiji. Rečenica izmijenjena u: Optički <i>bias</i> uslijed hiperbilirubinemije uglavnom nije značajan i može se spriječiti mjerenjem na alternativnim valnim duljinama, pri čemu se rezultati analize mogu pouzdano izvijestiti (19).
21. Riječ "međutim" dvaput se ponavlja na početku dvije rečenice.	(predzadnja rečenica) Korigirano prema sugestiji. Brisano međutim u predzadnjoj rečenici. Unatoč toj mogućnosti, biološke interferencije mogu imati utjecaj na rezultate koagulacijskih pretraga.
POHRANA UZORAKA DO ANALIZE	
22. Mišljenja sam da je ovo nepotrebno naglašavati.	(prva rečenica) Zahvaljujemo na komentaru, međutim smatramo da je važno da rečenica ostane kao uvod u poglavlje obzirom da se kasnije navode i neki izuzetci od navedenog.
23. Poglavljem "Neprihvatanje uzoraka" ili obrnuto. Ova preporuka mora biti usklađena s kriterijima za prihvaćanje/ ne prihvaćanje uzoraka	(prva rečenica) Poveznica je stavljena prema prethodnom zahtjevu u poglavlju o neprihvatanju uzoraka. Mišljenja smo da poveznica s neprihvatanjem uzoraka na ovom mjestu ne bi doprinijela boljem razumijevanju teksta.
24. Predložimo "mjernom sustavu" umjesto "sustavu" i "provjeriti" umjesto "potvrditi"	(treća rečenica) Izmijenjeno prema sugestiji: Međutim, kako stabilnost uzorka može ovisiti o mjernom sustavu u upotrebi (tromboplastinski reagens, koagulometar i spremnici za prikupljanje uzoraka), laboratoriji koji prihvaćaju uzorke za PV i D-dimere pohranjene unutar 24 sata od prikupljanja krvi, trebaju provjeriti stabilnost uzorka na vlastitom sustavu (21).
25. Je li ovo kriterij neprihvatanja uzoraka za analizu u pacijenata na ovoj specifičnoj terapiji? Ako da, navesti u odgovarajućem poglavlju	Vidjeti komentar pod prethodnim zahtjevom, broj 23. Poveznica je stavljena u poglavlju o neprihvatanju uzoraka.
26. "Poželjno unutar 1 h od sakupljanja" uzrokuje nejasnoće jer specificiramo 4 sata za izradu pretraga te u preporukama za prihvaćanje/neprihvatanje uzoraka TREBA navesti da SVAKI laboratorij mora dobro poznavati svoje procese. Podrazumijeva se da znaju koliko je uobičajeno vrijeme od vađenja do dostave u laboratorij i osigurava li sam laboratorijski proces završetak analize unutar 4 sata OD UZORKOVANJA.	Dio teksta koji je uzrokovao nejasnoće o vremenu prikupljanja je izbrisan, međutim nastavak zahtjeva nam nije u potpunosti jasan. Nadamo se da će promjene koje su uklopljene u tekst oba poglavlja ipak doprinijeti boljem razumijevanju teksta.
TRANSPORT UZORAKA U UDALJENE LABORATORIJE	
27. Specificirajte pretrage za koje je to moguće. Cijeli je odlomak preopćenit, a ove preporuke se odnose na 5 pretraga.	Zahvaljujemo na komentaru. Kao što ste i naveli smjernice se odnose na pet pretraga i smatramo da nije u svakom poglavlju to neophodno naglašavati.

ODMRZAVANJE ZAMRZNUTIH UZORAKA PLAZME	
28. Rađe specificirajte točne minute, jer niže obrazlažete što uzrokuje produljeno ili kratko držanje na 37°C.	Izmijenjeno prema sugestiji. Odmrzavanje zamrznutih uzoraka plazme treba provesti brzo, tijekom 10 minuta na 37°C u inkubatoru, suhom termo bloku ili vodenoj kupelji (5, 16, 20).
29. Ukoliko se koristi vodena kupelj, nužno je osigurati cjelovitost podataka na naljepnici na kojoj su podatci o pacijentu. Molim vas dodajte upozorenje.	Zahvaljujemo na komentaru. Mišljenja smo da to nije nužno naglašavati djelatnicima laboratorija, međutim, kako su možda i moguće situacije u kojima to neće biti osigurano na kraju poglavlja smo dodali rečenicu u skladu sa sugestijom: Ukoliko laboratorij za odmrzavanje uzoraka koristi vodenu kupelj, nužno je osigurati cjelovitost podataka na naljepnici na kojoj se nalaze podatci o pacijentu.
30. Ispraviti u "Lima-Olivier"	Ispravljeno prema sugestiji.
31. Ova preporuka služi za standardizaciju, pa ne bi SVAKI laboratorij sam trebao standardizirati postupak	Glavna preporuka prema navedenoj referenci Lima-Olivier je da svaki laboratorij treba standardizirati postupak miješanja odmrznute plazme uporabom (jedne) tehnike. Prema sugestiji preporuku smo specificirali: Optimalan postupak miješanja je lagano okretanje uzorka 6-puta tako da se spremnik s uzorkom svaki put okrene za 180° i vrati u početni položaj.
32. Umjesto međutim, ovo ostaviti kao obrazloženje	Ispravljeno prema sugestiji: Nepotpuno odmrzavanje uzoraka ili predugo stajanje na 37°C može rezultirati nepouzdanim rezultatima zbog aktivacije faktora zgrušavanja i nehomogenosti uzorka (5, 24, 20).
ANALITIČKA FAZA	
33. Cijeli odlomak je u neskladu s poglavljem KOAGULACIJSKE PRETRAGE. Premjestiti u uvod odlomka koagulacijske pretrage.	Sukladno sugestiji tekst je premješten u uvod odlomka koagulacijske pretrage.
KONTROLA KVALITETE	
34. Preopćenito, suvišno i dijelom netočno !!! UKK osigurava nadzor nad analitičkim specifikacijama; VKK osigurava usporedivost rezultata s drugim laboratorijima, NE TOČNOST.	Mišljenja smo da se ne radi o preopćenitim i suvišnim informacijama. Na temelju našeg istraživanja iz 2015.g. smo smatrali da je u ovom poglavlju najpotrebnije naglasiti važnost i dinamiku provođenja postupka UKK te da bi sve ostale informacije nepotrebno opteretile tekst. Dio o VKK je u tekst dodan na temelju zahtjeva recenzije koja prethodi javnoj raspravi. Nadalje ćemo pokušat obrazložiti dio vezan za komentar o (ne) točnosti: Dio definicije vezan za VKK je citiran prema referenci br 28: Preston i sur., a gotovo ista se može naći i u publikaciji ECAT Foundation: Quality in the Medical laboratory with a focus on blood coagulation, P. Meijer, urednik. Slažemo se da je možda skraćena na način koji nije u potpunosti jasan te da smo trebali naglasiti dio o usporedivosti rezultata. Sukladno tome, a uzevši u obzir i prijevod riječi trueness koja je korištena u engleskoj verziji teksta rečenicu smo reorganizirali na slijedeći način: VKK osigurava usporedivost rezultata među laboratorijima, a posljedično daje informaciju o istinitosti rezultata laboratorija koji u njoj sudjeluje.
35. izrađuju	Ispravljeno prema sugestiji.
36. PAZITE, slijedimo li i sami ove preporuke za svakih 8 sati? U prvom redu treba naglasiti da svaki laboratorij treba procijeniti rizik za učestalost provođenja UKK ukoliko radi 24 sata i s obzirom na broj uzoraka, tijekom ta 24 h uzimajući u obzir i vršna opterećenja.	Prema CLSI smjernicama preporuka je raditi kontrolu svakih 8h na dvije razine, a u laboratorijima s većim opterećenjem i češće, odnosno svaka 4h pri kontinuiranom radu (referenca 29). Neki autori smatraju da za laboratorij koji ima više od 100 uzoraka dnevno, kontrola PV-a i APTV-a kroz svaka 2 sata ne bi trebala biti preveliko financijsko opterećenje. Autori reference 27 smatraju da je pri kontinuiranom radu potrebna kontrola svaka 2h za laboratorije koji analiziraju više od 20 uzoraka po satu.

	S obzirom na dostupne informacije o učestalosti kontrolnog postupka i provedenog istraživanja o tome na koji način se provodi kontrola u našim laboratorijima mišljenja smo da je najoptimalnija preporuka o kontroli svakih 8 sati s tim da smo u daljnjem tekstu zato i naveli da laboratorij može odlučiti o drugačijoj dinamici ako se napravi procjena rizika i analiza vlastitog procesa rada.
37. Suvišno i neispravno. Opisano gore u komentaru.	Prema sugestiji rečenica je brisana kako ne bi unosila dodatno zabunu. Za ostalo molim vidjeti prethodno obrazloženje pod brojem 34.
KOAGULACIJSKE PRETRAGE	
38. Dajte preporuku koji je reagens PRVOG IZBORA tamo gdje je to moguće (rekombinantni tromboplastin za PV)	Dodano prema sugestiji.
PV	
39. Molim Vas svakako ISTAKNITE da je PREPORUKA da se koristi reagens koji ima istaknutu vrijednost ISI-ja za određenu kombinaciju tromboplastina i koagulometra. Izostavite iz preporuke generički ISI. Nadalje možete ostaviti postupak lokalnog određivanja.	Smatramo da je jasno navedeno da je potrebno koristiti ISI za određenu kombinaciju reagensa i koagulometra, a ukoliko informacija nije dostupna da je potrebno odrediti vrijednost ISI-ja lokalno što je jasno i naglašeno u okviru preporuke.
40. Koje plazme???? Kalibracijske???	(treća rečenica od nazad). Da, radi se o kalibracijskoj plazmi. Dodana je riječ kalibracijska. Nadamo se da je sada jasnije.
APTV	
41. Pribojavam se da ovaj zahtjev neće moći biti zadovoljen niti u KB i KBC-ovima (Opća preporuka je određivanje osjetljivosti pojedinih APTV reagensa na UFH te određivanja vlastitog terapijskog intervala za svaki novi serijski broj reagensa, vrstu reagensa ili koagulometar).	APTV drugi paragraf, zadnja rečenica. Slažemo se s komentarem da je ovo vrlo zahtjevna stavka, međutim mišljenja smo da je potrebno opisati ispravan pristup ukoliko se APTV pretraga koristi u navedenu svrhu. Mogućnost izvedbe ne možemo komentirati. Detalji postupka su opisani prema referenci 36, a tekst je djelomice modificiran i prema drugim komentarima kako bi postupak bio jasniji.
42. Za prosječnog korisnika uvodna rečenica je potpuno nerazumljiva. Odnosi li se ovaj odlomak na sve MBL koji rade APTV ili samo na bolničke laboratorije jer uključujete anti-Xa pretragu ?	(treći paragraf) U preporukama smo nastojali opisati najvažnije činjenice vezane uz svaku pretragu probira. Preporuka je pisana za sve laboratorije koji izvode koagulacijske pretrage, neovisno o razini zdravstvene zaštite kojoj pripadaju i opsegu koagulacijskih pretraga koje izvode. Kako se APTV još uvijek navodi kao test izbora za praćenje terapije UFH, mišljenja smo da korisnicima mora biti dostupna i navedena informacija. Dakle ako se test APTV koristi za praćenje terapije heparinom, u svrhu standardizacije preporuka je da se terapijski raspon za praćenje terapije UFH-om s APTV reagensom odredi u odnosu na anti-FXa aktivnost heparina i to tako da odgovara rasponu od 0,3 do 0,7 anti-Xa kIU/L. Sukladno zahtjevu 59 i 61 izvršene su izmjene u tekstu.
43. U preporuci mora biti striktno pravilo, MORA ili NE MORA	(treći paragraf, treća rečenica) Ispravljeno prema sugestiji: uzorke je potrebno dva puta centrifugirati.
44. Isti komentar kao i gore, ne odnosi se na sve MBL i preopširno je.	(četvrti paragraf) Terapija nefrakcioniranim (visoko molekularnim) heparinom može se pratiti APTV reagensom pa smatramo da je uz ovaj test poželjno navesti i određene mogućnosti u tom smislu. Smatramo da je važno naglasiti i razlike u određivanju nisko i visokomolekularnih heparina što je nemoguće napraviti bez spominjanja testa anti-Xa za koji smo svjesni da ne rade svi laboratoriji pa stoga ne mogu niti odrediti terapijski raspon na predloženi način, odnosno odrediti terapiju s LMWH. Tekst smo nastojali maksimalno skratiti i razjasniti.

TROMBINSKO VRIJEME	
45. Ne postoji preporuka koja je jasno istaknuta.	Preporuka je da se terapija inhibitorima trombina ne može pratiti ovim testom što je i napisano u zadnjoj rečenici poglavlja. Prema općem zahtjevu preporuke su naglašene na kraju svakog poglavlja pa se nadamo da je sada jasnija.
FIBRNOGEN	
46. S obzirom na opisane 3 metode, dajte jasnu preporuku koja je metoda prvog izbora!!!	Mišljenja smo da je iz teksta jasno da se metoda po Claussu smatra metodom prvog izbora. Isto je navedeno u preporuci na kraju poglavlja i priloženoj Tablici.
47. Koju bi informaciju pružio biokemičar liječniku s obzirom na nepotpuno opisana ograničenja??? Koji tekst na nalazu treba biti?	Nismo sigurni da smo u potpunosti razumjeli navedeni komentar. Na isti način kao što su i za ostale pretrage na pojedinim mjestima opisani mogući izvori varijabilnosti to je napravljeno i za ovu pretragu. Navedena je opća informacija o mogućem izvoru varijabilnosti prema referenci 42 kako bi je laboratoriji imali u vidu. U rečenici je dodano prema nekim istraživanjima kako se ne bi shvatila kao stroga preporuka. Nadamo se da je sada jasnije.
48. Pojasniti za prosječnog čitatelja. Napišite: ovi testovi se primjenjuju samo u visokospecijaliziranim koagulacijskim laboratorijima za razlikovanje afibrinogenemije i disfibrinogenemije.	Ispravljeno prema sugestiji. Primjena je ograničena na diferencijalnu dijagnostiku disfibrinogenemije koja se temelji na razlici rezultata dobivenog mjerenjem funkcionalne aktivnosti i koncentracije antigena fibrinogena. Ovi testovi se primjenjuju samo u visokospecijaliziranim laboratorijima (42).
D-DIMERI	
49. Dodajte da na nalazu treba biti preporuka da su rezultati različitih metoda neusporedivi	(zadnja rečenica) Mišljenja smo da navedeni komentar kao samostalan nije informativan da bi se nalazio na svakom nalazu. Poželjnije je da se na nalazu navede informacija o metodi kojom se pretraga izrađuje kao što smo to i bili naveli u preporuci na kraju poglavlja i u Tablici 1, a predloženi komentar se može staviti kao neka vrsta proširene informacije uz metodu koju je potrebno istaknuti na nalazu. Obrazloženje: predloženi komentar kao samostalan može se istaknuti ukoliko je poznato da se pretraga za istog pacijenta u nekom kratkom vremenu određuje u različitim laboratorijima uz primjenu različitih komercijalnih metoda. Međutim informaciju nije uvijek moguće znati. Slično je kada se pretrage rade s duljim vremenskim odmakom.
REFERENTNI INTERVALI	
50. Ovo je nezgodno PREPORUČITI u nacionalnoj preporuci.	Za određivanje RI je opisan poželjni redoslijed prema prethodno objavljenim smjernicama (referenca 25 i 53), a u tekstu se jasno navodi da se radi o zahtjevnom postupku koji nije uvijek moguće provesti u praksi što se u ostalom navodi i u većini literature o RI. Također je predložen i postupak što napraviti u slučaju kada to nije moguće. U skladu s ostalim zahtjevima tekst je djelomice reorganiziran i nadamo se da je sada jasniji.
51. Umjesto preporučuje, naložite da se provjere podatci proizvođača o populaciji i metodi na kojoj su određeni RI i je li to primjenljivo na našu populaciju. Ako nije mora se provesti provjera.	Tekst je djelomice izmijenjen u skladu s prethodnom preporukom.
52. Ovo će biti dio općih preporuka verifikacije metoda pa je ovdje suvišno detaljizirati. Možete se referirati da će to biti predmet drugih preporuka.	Autori nisu upoznati da će to biti dio budućih preporuka, a mišljenja smo da bi čitatelji trebali biti upoznati s onim što se za sada može primijeniti. Vrlo rado ćemo osvježiti ove preporuke i referirati se na opće preporuke verifikacije kada budu objavljene.
53. Ovdje ste proturječne, jer navodite da uglavnom ne postoje prema dobi.	(predzadnja rečenica) Rečenica je djelomice izmijenjena kako bi bilo jasnije da se to odnosi na situacije ako su i kada su RI dostupni u literaturi.

54. Višak, stavite radije podnaslov Izvještavanje rezultata pojedinačnih probirnih koag. pretraga.	Izmijenjeno prema sugestiji. Kreiran je novi podnaslov.
PV/INR	
55. Kako izvijestiti isključivo INR ako je podatak o terapiji nepoznat, a događat će se. Molim vas preporučite interpretativni komentar UKOLIKO je nepoznat podatak o terapiji uz izdavanje oba rezultata [% i INR].	Mislim da je jasno navedeno da se rezultat na terapiji s VKA izvještava kao INR. Ako nemamo podatak o terapiji, rezultat se izvještava kao PV%. Ukoliko je podatak o INR-u potreban kliničarima, mišljenja smo da će predloženi način izražavanja utjecati na poboljšanje u smislu jasnijih zahtjeva prema laboratoriju s naznačenom terapijom. Nismo sigurni da smo dobro razumjeli dio s interpretativnim komentarom. Ali ako je sugestija usmjerena na to da se za sve rezultate ispod 70% PV izvještava na oba načina (INR i %) te stavi komentar: Podatak o antikoagulantnoj terapiji nije poznat, nismo u potpunosti sigurni u konačan ishod. Primjerice, rezultat PV-a od 60% može biti uslijed terapije s VKA, NOAK ili npr zbog bolesti jetre. Nismo sigurni koja bi bila njegova dodana vrijednost.
56. vrijednost ???mjera?	Izmijenjeno prema sugestiji: izražavanje PV-a kao INR-a. Poglavlje je reorganizirano prema svim komentarima.
57. Ponavljanje već rečenog, vidi komentar gore. Kako provesti u praksi ???	Vidjeti komentar 55.
58. Uveli ste novi pojam "PV-omjer". Niste opisali kako se dolazi do njega (kako se izračunava). Potrebna je konkretna preporuka TKO ga MORA koristiti i u kojim situacijama (ako mora).	Kako se dolazi do omjera PV-a je opisano u poglavlju Protrombinsko vrijeme. Nehotice je ispušteno objašnjenje kratice PV-a na engleskom jeziku koje je sada dodano. Mišljenja smo da omjer PV-a nije potrebno izvještavati na nalazu, pa stoga to i nismo naveli kao preporuku a tekst je djelomice reorganiziran kako bi to bilo jasnije.
59. Korisnije je prebaciti na početak odlomka.	Slažemo se. Izmijenjeno prema sugestiji. Reorganizirano poglavlje prema svim komentarima.
APTV	
60. Uskladite nakon što razmotrite komentare dane vezano uz provjeru ili ispitivanje RI	Izmijenjeno prema sugestiji. Referentni interval izražen u sekundama moguće je preuzeti od proizvođača ili iz literature pri čemu je potrebno provjeriti podatke o populaciji i metodi kojom je određen, a u oba slučaja se preporučuje verifikacija preuzetog intervala.
TV	
61. Uskladi s prethodnim vezano uz RI	Izmijenjeno prema sugestiji. Referentni interval izražen u sekundama moguće je preuzeti od proizvođača ili iz literature pri čemu je potrebno provjeriti podatke o populaciji i metodi kojom je određen, a u oba slučaja se preporučuje verifikacija preuzetog intervala.
FIBRINOGEN	
62. Referirajte se na harmonizirani HKMB RI i onda obrazložite zašto ga treba revidirati. Nemojte ovdje specificirati 1,8-4,0	Ovdje se ne radi o preporuci koji RI treba koristiti, već općem podatku iz literature gdje se općenito kreću vrijednosti fibrinogena. Kako bi bilo jasnije rečenica je djelomice preformulirana.
63. Uskladite općenito s preporukom o RI	Izmijenjeno prema sugestiji.
INTERPRETATIVNI KOMENTARI	
64. Bilo bi jako korisno da nacionalne preporuke sadrže najvažnije interpretativne komentare jer govorimo o harmonizaciji.	Svrha poglavlja o interpretativnim komentarima je potaknuti laboratorije da gdje je god to potrebno rezultat poprate s interpretativnim komentarom obzirom da ih prema našem istraživanju iz 2015. g. koristi vrlo mali broj laboratorija. Na mjestima gdje je bilo moguće ponudili smo interpretativni komentar. Kako bi se ponudio set standardnih komentara, odnosno provela standardizacija interpretativnih komentara potrebno je istražiti koji se komentari i u kojim situacijama upotrebljavaju u koagulacijskim laboratorijima. Bez toga je vrlo teško predvidjeti sve moguće scenarije.

	Uz to, potrebno bi bilo dodati i podatke o značenju rezultata pojedinih pretraga što bi dodatno opteretilo ovaj dokument kao smjernice. Ovo jest vrlo aktualna tema i slažemo se da je potrebno na tome raditi, međutim prema spoznajama autora, set standardnih i standardiziranih komentara za većinu područja laboratorijske medicine još uvijek nije objavljen. Mišljenja smo da ponuđene smjernice moraju biti promjenjiv dokument, a sukladno novim spoznajama vrlo rado ćemo osvježiti i nadopuniti dokument odgovarajućim citatom ili podacima provedenog istraživanja čim bude moguće. Kako bi ovo bilo jasnije na kraju poglavlja je dodana rečenica da gdje god je to bilo moguće su ponuđeni komentari, te da harmonizacija interpretativnih komentara prelazi opseg ovih smjernica.
REFERENCE	
65. Referenca 23	Izmijenjeno prema sugestiji.
TABLICA 1	
	Redoslijed dijela preporuka i tekst u Tablici 1 su korigirani u skladu s zahtjevima za izmjenom u tekstu.
66. Tablica 1/Preporuka 7	
-koristiti jasniji termin	Usklađeno s izmjenama u tekstu.
67. Tablica 1/Preporuka 16	
-dajte primjer izračuna	Mišljenja smo da bi ovo nepotrebno opteretilo tekst i da su jasno naznačene sve komponente koje treba uzeti u obzir pri izračunu.
RECENZENT 2	
PRIJEANALITIČKA FAZA PRI IZRADI KOAGULACIJSKIH PRETRAGA	
1. Mehanizme u prijeanalitičkoj fazi	(treća rečenica) Smatramo da bi predložena izmjena nepotrebno opteretila rečenicu jer bi se dva puta na isti način ponovio isti izraz. Mišljenja smo da treba ostati ovako kako je napisana.
UZORKOVANJE KRVI	
2. Uzimaju se	(druga rečenica). Korigirano prema sugestiji.
PRIPREMA UZORAKA KRVI ZA ANALIZU	
3. Kako se provodi dvostruko centrifugiranje? Prema nekim autorima plazmu bi nakon prvog centrifugiranja trebalo prebaciti u čisti spremnik i tek tada centrifugirati drugi put. Koji je stav RG?	Mišljenja smo da za probirne koagulacijske pretrage nije neophodno prebaciti plazmu u čisti spremnik te da to nepotrebno oduzima vrijeme za izradu pretrage. Dovoljno je isti uzorak centrifugirati dodatnih 15 minuta pod istim uvjetima, a alikvote uzorka koji se pohranjuju ne uzimati blizu stanica. Sukladno ostalim zahtjevima recenzenata poglavlje je djelomično izmijenjeno pa se nadamo da će i ovaj dio sada biti jasniji.
HEMOLIZA, HIPERBILIRUBINEMIJA I LIPEMIJA	
4. S obzirom na to da su ovo nacionalne preporuke i da će ih većinom koristiti manji, nespécializirani laboratoriji, mišljenja sam da bi u ovom odlomku bilo dobro obuhvatiti i utjecaj interferencija na metode koje se koriste u tim laboratorijima (mehaničke i elektromehaničke). Tj. naglasiti jesu li i koliko te metode podložne utjecaju interferencija.	Mišljenja smo da je ovo jasno opisano u zadnje tri rečenice poglavlja te da dodatna izmjena teksta nije neophodna.
POHRANA UZORAKA DO ANALIZE	
5. Mišljenja sam da je ovo nepotrebno naglašavati.	(prva rečenica). Zahvaljujemo na komentaru, međutim smatramo da je važno da rečenica ostane kao uvod u poglavlje obzirom da se kasnije navode i neki izuzetci od navedenog.
6. i/ili	Mišljenja smo da je umjesto predložene izmjene za razumijevanje rečenice najbolje ili zamijeniti u: Prema nedavnim istraživanjima, izuzetak od ovog pravila može se primijeniti za pretrage PV i D-dimeri, za koje se uzorci mogu pohraniti na sobnoj temperaturi do 24 sata nakon uzorkovanja, što se odnosi na necentrifugirane i centrifugirane uzorke s plazmom koja ostaje iznad staničnih komponenti u zatvorenom spremniku (11, 12, 20).

7. Nisam sigurna treba li spremnike ovdje naglasiti, ako je u odlomku o uzorkovanju preporučeno koji se spremnici koriste za koagulacijske pretrage?	Izmijenjeno prema sugestiji u svrhu kraćenja teksta.
8. Možda trebalo ponoviti "unutar 4 sata od uzorkovanja" umjesto "dozvoljenog vremena".	Zahvaljujemo na komentaru, međutim smatramo da nije nužno izvršiti izmjenu za razumijevanje rečenice obzirom na prethodno navedena dozvoljena vremena uzorkovanja.
9. Ako je prijedlog da se odvaja više alikvota zbog toga što se pretrage izvode u različito vrijeme, onda to ne može biti dio preporuka jer svaki laboratorij ima svoju organizaciju rada koja može biti takva da će se sve pretrage učiniti iz jednog alikvota tj. u paralelnom određivanju. Ako je ovaj prijedlog naveden zato da bi se osigurala kvaliteta uzorka zbog mogućnosti gubitka integracije uzorka uslijed zamrzavanja/ otapanja onda predlažem da se to i obrazloži.	Sukladno sugestiji i komentarima ostalih recenzenata izmjene su uklopljene u tekst: Kada se iz istog uzorka traži više pretraga ili će se pretrage izvoditi u različito vrijeme, potrebno je pripremiti i smrznuti više odvojenih alikvota.
TRANSPORT UZORAKA U UDALJENE LABORATORIJE	
10. Što je identifikacijski broj ako se uzorak šalje iz ustanove X u ustanovu Y? Misli li se na MBO/OIB ili sl? Ili na identifikacijski broj bolesnika u ustanovi X?	Najvažnije je svakako osigurati sljedivost uzorka i stoga bi idealno bilo označiti uzorak s oba broja, dakle s matičnim brojem osiguranika i identifikacijskim brojem laboratorija. Kao što je u prethodnim komentarima navedeno, neke stavke podliježe organizaciji laboratorija i dogovorima među ustanovama. Smatramo da je ovo jedna od takvih. Kako bi bilo jasnije dodali smo u zagradu matični broj osiguranika i/ili jedinstveni identifikacijski broj u laboratoriju.
KONTROLA KVALITETE	
11. Otapanja ili otvaranja. Mišljenja sam da ste nehotice ispustile kontrolu ready-to-use reagensa	(rečenica br 3) Ispravljeno prema sugestiji.
12. Veliko radno opterećenje je pojam podložan subjektivnoj procjeni. Može li se izraziti preko broja analiza?	Vidjeti obrazloženje prethodnom recenzentu pod brojem 36. Rečenica je brisana kako ne bi dodatno unosila zabunu u napisani tekst. Usklađeno je s zahtjevom i prethodnog recenzenta. Smatramo da bi sada trebalo biti jasnije.
KOAGULACIJSKE PRETRAGE	
PV	
13. Koju vrstu reagensa preporučujete kao RG?	Metoda je navedena u poglavlju.
14. Predlažem da se ovo prikaže formulom umjesto teksta	(Izračun INR-a). Ispravljeno prema sugestiji.
15. Predlažem da se prvi dio rečenice preformulira na način da se izbaci "prihvatljivo" i samo navede da postoje tromboplastini s tim vrijednostima ISI-ja.	Sukladno zahtjevu i općem zahtjevu navedena preporuka o reagensu prvog izbora i poželjnom ISI-ju:D
16. Predlažem izdvojiti jednadžbu iz rečenice u novi red.	Ispravljeno prema sugestiji.
APTV	
17. Koji reagens (više/manje/podjednako osjetljiv) preporučuje RG za korištenje u općim MBL?	(APTV drugi paragraf, druga rečenica.) Kao što smo naveli APTV reagensi imaju različitu osjetljivost prema nedostatku faktora, prisutnosti antikoagulansa i Lupusa. Konsenzus oko određenih sastojaka reagensa i njihovog omjera nije postignut a favorizirati neki od komercijalnih pripravaka ne bi bilo primjereno. Odabir reagensa će prvenstveno ovisiti o tome za koje se sve svrhe reagens u laboratoriju koristi. Laboratoriji koji ga koristi kao test probira ne mora koristiti reagens koji je osjetljiviji na prisutnost LA. Kako bi to bilo jasnije u tekst smo dodali rečenicu: Za izvođenje APTV-a kao probirne pretrage preporučuje se upotreba APTV reagensa koji su osjetljivi na manjak čimbenika zgrušavanja i na terapiju UFH-om, ali koji istodobno ne moraju biti osjetljivi na LA (4, 29, 34).
TROMBINSKO VRIJEME	
18. Dodati: antikoagulacijsku terapiju inhibitorima trombina	(treća rečenica) Ispravljeno prema sugestiji.

19. Dodati i ta heparinom: iz venskih katetera	Ispravljeno prema sugestiji.
FIBRNOGEN	
20. S obzirom na to da se ne predlaže primjena ove metode, predlažem da se odjeljak svede na 2 rečenice.	S obzirom da se u prethodnom tekstu naveo princip svih ostalih metoda te da se u laboratorijima ova metoda ponekad sugerira kao jednostavna i isplativija metoda procjene fibrinogena, mišljenja smo da je važno ostaviti tekst u ovoj formi.
D-DIMERI	
21. Je li ovo važno navesti u preporuci za biokemičare?	(prva rečenica) Nismo baš sigurni da smo razumjeli zahtjev. Nedvojbeno je da su kolege biokemičari upoznati s načinom izražavanja, međutim moguće je, a i nadamo se da će preporuke služiti i drugim korisnicima. Puno je sličnih činjenica je navedeno kroz tekst i mišljenja smo da ne ometa tekst.
REFERENTNI INTERVALI	
22. Umjesto "djece" predlažem napisati "osoba". Npr. za D-dimere možemo govoriti o starijoj populaciji.	Rečenica nije vezana za D-dimere već za tekst ispod. Autori su mišljenja da nije potrebna izmjena.
PV/INR	
23. Čini mi se da ponavlja WHO-INR-IPR iz odlomka o reagensu	Rečenica brisana prema sugestiji. Poglavlje je reorganizirano prema svim ostalim komentarima recenzentata.
24. Umjesto "iako" predlažem "a"	Izmijenjeno prema sugestiji.
25. Nejasno. Ako je granica mjernog područja 7,0, a kritična vrijednost 5,0, kako treba izraziti vrijednost INR-a? Kao >5,0 ili broj do granice mjernog područja od 7,0?	Slažemo se da možda izraz kritična vrijednost treba zamijeniti kako bi se izbjegla kriva interpretacija rečenice. Ovdje se nije mislilo na kritične rezultate u smislu patofiziološkog stanja bolesnika koje bi zahtijevale hitnu intervenciju već graničnu vrijednost koja se mjeri zadnjom točkom kalibracije i koja je promjenjiva ovisno o dobivenoj kalibracijskoj krivulji za određeni lot reagensa. Ona može biti i veća od npr. >5,0 što ovisi o vrijednosti kalibratora. Tekst je izmijenjen sukladno ovoj i drugim sugestijama.
D-DIMERI	
26. Ovo shvaćam kao preporuku pa ju, molim, naglasite.	Izmijenjeno prema sugestiji, u skladu s općim zahtjevom.
KRITIČNI REZULTATI	
27. Ova rečenica nije jasno napisana. Znači li to da će se izvještavati o kritičnom rezultatu prvi put, ali se neće izvještavati za svaki sljedeći isti, kritični, rezultat u istog bolesnika? Ako da, onda bih navela da se "u dogovoru s kliničkim osobljem ne mora izvještavati svaki sljedeći kritičan rezultat kod istog bolesnika"	Slažemo se da način izvještavanja kritičnih rezultata isključivo ovisi o dogovoru laboratorija i korisnika i da bi tekst trebalo djelomice reorganizirati što je i učinjeno. Dodana je rečenica: Prvi kritičan rezultat potrebno je odmah izvijestiti liječniku, a ovisno o dogovoru s kliničkim osobljem postupa se s izvještavanjem svakog sljedećeg kritičnog rezultata za istog bolesnika.
SAŽETAK	
28. Komentar: postavlja se pitanje koliko je moguće dobiti usporedive rezultate kada se kroz cijelu preporuku navode ograničenja za dobivanje usporedivih rezultata.	Ne slažemo se s komentarom da se kroz dokument samo navode ograničenja, obzirom da je preporučeno čitav niz postupaka koji se mogu primjenjivati u laboratorijima u svrhu poboljšanja usporedivosti koagulacijskih pretraga. Ukoliko recenzent misli konkretno na izvještavanje rezultata, opće je poznato da je ono zahtjevno za svaki laboratorij, a posebice za koagulacijske laboratorije koji provode analizu na uzorcima ograničene stabilnosti s reagensima koji su problematični za standardizaciju. Prema podacima našeg istraživanja iz 2015.g. praksa među laboratorijima pri izvođenju koagulacijskih pretraga je zaista različita, a primjenu navedenih postupaka u svakoj od faza cjelokupnog laboratorijskog procesa smatramo važnim korakom ka harmonizaciji. Za sada su u smjernicama predloženi postupci za koje je poznato da ih je moguće provesti, a kao što smo već u prethodnom komentaru naveli, sukladno novim spoznajama vrlo rado ćemo osvježiti i nadopuniti dokument kada to bude moguće.

REFERENCE	
29. Reference 16,20	Izmijenjeno prema sugestiji.
TABLICA 1	Redoslijed dijela preporuka i tekst u Tablici 1 su korigirani u skladu s zahtjevima za izmjenom u tekstu.
30. Tablica 1/Preporuka 3	
Ima li još proizvođača koji nude staklene spremnike?	Na tržištu postoje stakleni spremnici iako se sve manje koriste u praksi.
31. Tablica 1/Preporuka 11	
Mišljenja sam da se kriteriji za neprihvatanje uzorka ipak mogu definirati na višoj razini (u ovim preporukama).	Usklađeno s izmjenama u tekstu.
32. Tablica 1/Preporuka 13	
33. Vidi komentare u odlomku "priprema uzoraka za analizu"	Usklađeno s izmjenama u tekstu.
Tablica 1/Preporuka 18	
34. Prihvatljiva koncentracija se može i mora i vizualno odrediti i procjenjivati, ako nema automatskog određivanja indeksa H, I, L.	Izmijenjeno prema sugestiji, u tekst je dodana i informacija o vizualnoj procjeni.
Tablica 1/Preporuka 31	
35. Ne iščitava se preporuka koliko puta treba lagano okretati uzorak. 6x ili neki drugi broj koji ovdje nije naveden. Što je druga ili treća tehnika?	Usklađeno s izmjenama u tekstu.
Tablica 1/Preporuka 33	
36. -komentar u odlomku "Kontrola kvalitete"	Usklađeno s izmjenama u tekstu.
Tablica 1/Preporuka 50	
37. Rezultate PV-a za bolesnike na terapiji s VKA treba izvještavati samo kao INR	Izmijenjeno prema sugestiji.
Tablica 1/Preporuka 54	
38. Nebitno za preporuku. I PV se mjeri u sekundama pa to gore nije navedeno	Usklađeno s izmjenama u tekstu.
RECENZENT 3	
1. Nemam primjedbi na prijedlog Nacionalnih preporuka za testiranje koagulacije.	Zahvaljujemo se na komentaru.

Dragi članovi,

Hrvatsko društvo za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu definiralo je unaprjeđenje kvalitete laboratorijskog rada u Hrvatskoj kao jedan od svojih glavnih strateških ciljeva. U tu svrhu osnovan je velik broj Radnih grupa čiji je cilj promicanje harmonizacije i standardizacije laboratorijskih postupaka u svim fazama laboratorijskog rada.

Kao rezultat rada Radne grupe HDMBLM-a za laboratorijsku koagulaciju nastale su ove preporuke, a još je nekoliko dokumenata u pripremi te će uskoro biti dostupne svim članovima Društva.

U nadolazećem razdoblju najavljujemo:

- Preporuke za postupanje s hemolitičnim, lipemičnim i ikteričnim uzorcima
- Preporuka za pleuralnu, perikardijalnu, peritonealnu, zglobnu, sjemenu tekućinu, znoj, dijalizat/dren, amnijsku tekućinu i BAL
- Preporuka za cerebrospinalnu tekućinu
- Preporuka za laboratorijsku dijagnostiku autoimunih bolesti
- Preporuke za poslijeanalitičku fazu
- Preporuke za pretrage uz bolesnika

HDMBLM

ISBN: 978-953-57778-7-8

Tisak i distribuciju ovog dokumenta omogućila je tvrtka Siemens.