

LAPORAN KASUS**Interferensi Hematokrit Tinggi Terhadap Pemeriksaan *Prothrombin Time* dan *Activated Partial Thromboplastin Time***Hevrina Yufani¹, Zelly Dia Rofinda²

1. Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas/Rumah Sakit Umum Pusat Dr. M. Djamil Padang; 2. Bagian Patologi Klinik dan Kedokteran Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Andalas/Rumah Sakit Umum Pusat Dr. M. Djamil Padang

Korespondensi: Zelly Dia Rofinda; zellydiarofinda@med.unand.ac.id; 08126618919

Abstrak

Pendahuluan: Hematokrit (Ht) yang tinggi merupakan salah satu faktor interferensi pemeriksaan hemostasis yang sering luput dari perhatian. Penurunan volume plasma relatif terhadap keseluruhan darah pada hematokrit yang tinggi akan meningkatkan rasio antikoagulan terhadap plasma sehingga menyebabkan pemanjangan palsu hasil pemeriksaan prothrombin time (PT) dan activated partial thromboplastin time (aPTT). Rasio antikoagulan natrium sitrat terhadap darah pada pemeriksaan hemostasis adalah 1:9 yang efektif pada Ht $\leq 55\%$. Penyesuaian jumlah antikoagulan pada Ht $>55\%$ direkomendasikan berdasarkan pedoman Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). **Kasus:** Sampel darah anak laki-laki 7 tahun dengan keterangan klinik penyakit jantung bawaan sianotik datang untuk pemeriksaan hematologi dan hemostasis. Pemeriksaan hematologi didapatkan Hb 23,4 g/dL dan Ht 76%. Pemeriksaan hemostasis didapatkan hasil PT dan APTT memanjang, INR meningkat (PT 25,7 detik; INR 2,36 dan aPTT 51,6 detik). Pemeriksaan hemostasis setelah dilakukan penyesuaian jumlah antikoagulan berdasarkan nilai hematokrit (natrium sitrat 0,09 mL) didapatkan hasil PT, aPTT dan INR dalam batas normal (PT 12,2 detik; INR 1,13 dan aPTT 38,1 detik). Nilai rujukan PT 10,1-13,5 detik; INR $<1,2$ dan aPTT 33,2-43,0 detik. **Kesimpulan:** Pemeriksaan PT dan aPTT pada nilai Ht $>55\%$ memerlukan penyesuaian jumlah antikoagulan untuk menjamin hasil pemeriksaan yang akurat.

Kata kunci: activated partial thromboplastin time (aPTT); hematokrit; prothrombin time (PT)

Abstract

Introduction: High hematocrit (Ht) is one of the interference factors in hemostasis testing that often goes unnoticed. In high hematocrits, the decrease of plasma volume relative to whole blood will increase the anticoagulant ratio to plasma. The condition leads to falsely prolonged prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT) results. The anticoagulant ratio of sodium citrate to blood on hemostasis is 1:9 and effective in Ht $\leq 55\%$. The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines recommend an anticoagulant adjustment in Ht $>55\%$. **Case:** A blood sample of 7-years-old boy came into the laboratory for hematology and hemostasis testing. The diagnosis was cyanotic congenital heart disease. Hematology testing results showed Hb 23.4 g/dL and Ht 76%. Hemostasis testing results showed that the PT and aPTT were prolonged, INR increased (PT 25.7 seconds; INR 2.36 and aPTT 51.6 seconds). After anticoagulant adjustment based on the hematocrit value (sodium citrate 0.09 mL), PT, aPTT and INR were within normal limits (PT 12.2 seconds; INR 1.13 and aPTT 38.1 seconds). The reference value of PT was 10.1-13.5 seconds; INR <1.2 and aPTT 33.2-43.0 seconds. **Conclusion:** Prothrombin time and aPTT testing in Ht value $>55\%$ require anticoagulant adjustment to ensure accurate results.

Keywords: activated partial thromboplastin time (aPTT); hematocrit; prothrombin time (PT)

PENDAHULUAN

Pemeriksaan hemostasis sangat penting dilakukan pada banyak gangguan perdarahan dan trombotik, dimana laboratorium dapat memberikan informasi penting untuk diagnosis, prognosis, dan pemantauan terapeutik. Pemeriksaan ini harus dilakukan dengan tingkat kualitas tertinggi mencakup standardisasi dan pemantauan semua tahap proses pemeriksaan.¹

Tahap preanalitik merupakan bagian paling rentan pada keseluruhan proses pemeriksaan laboratorium, karena hingga 70% kesalahan diagnostik terjadi pada tahap ini.¹ Tahap preanalitik meliputi persiapan pasien dan pengumpulan sampel biologis, serta penanganan, transportasi, persiapan, dan penyimpanan spesimen darah.^{1,2} Matriks sampel khusus diperlukan untuk pemeriksaan hemostasis, yaitu plasma dengan antikoagulan, sehingga masalah tambahan dapat memengaruhi reliabilitas pemeriksaan ini.^{1,3}

Antikoagulan yang digunakan pada pemeriksaan hemostasis adalah *buffer* natrium sitrat. Natrium sitrat berikatan dengan ion kalsium untuk mencegah pembekuan dan *buffer* menstabilisasi pH spesimen sepanjang tabung penampung darah tertutup.^{2,4,5} Konsentrasi antikoagulan natrium sitrat yang direkomendasikan oleh Clinical Laboratory Standards Institute, International Committee for Standardization in Hematology, dan International Society for Thrombosis and Haemostasis adalah 3,2% (0,105 M hingga 0,109 M).^{3,5,6,7} Antikoagulan natrium sitrat 3,2% menghasilkan sampel plasma-antikoagulan yang lemah dan dapat dengan mudah memulai proses koagulasi

dengan penambahan sejumlah kecil bahan prokoagulan pada pemeriksaan hemostasis yaitu kalsium klorida atau trombin.¹

Pengisian tabung pemeriksaan hemostasis yang sesuai hingga batasan volume yang ditunjukkan pada tabung sangat penting untuk menghasilkan rasio antikoagulan dan darah yang tepat.³ Rasio antikoagulan dan darah yang direkomendasikan pada pemeriksaan hemostasis adalah 1:9.^{5,6,7} Rasio ini akan menghasilkan konsentrasi akhir antikoagulan natrium sitrat sebesar 0,105 M hingga 0,109 M pada darah. Proporsi antikoagulan dan darah yang tidak tepat merupakan kesalahan preanalitik yang paling umum dengan frekuensi mendekati 60%.⁸

Rasio antikoagulan dan darah 1:9 efektif apabila nilai hematokrit pasien $\leq 55\%$.^{5,6,7} Peningkatan hematokrit seperti pada polisitemia vera atau kondisi hipoksia pada penyakit jantung sianotik atau penyakit paru obstruksi kronis menyebabkan penurunan volume plasma relatif terhadap seluruh darah sehingga akan meningkatkan rasio antikoagulan natrium sitrat terhadap plasma.^{4,5,6,9} Kelebihan antikoagulan natrium sitrat ini akan mengikat sejumlah besar kalsium yang ditambahkan pada proses pemeriksaan dan meningkatkan waktu pembekuan, dibuktikan dengan pemanjangan *prothrombin time/international normalized ratio* (PT/INR) dan *activated partial thromboplastin time* (aPTT).^{5,10}

Penyesuaian jumlah antikoagulan natrium sitrat pada tabung hemostasis direkomendasikan pada pasien dengan hematokrit $>55\%$ sebelum dilakukan pengambilan darah.^{2,5,6} Jumlah

antikoagulan natrium sitrat yang dibutuhkan dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$C = (1,85 \times 10^{-3}) \times (100 - Ht) \times V$$

C adalah volume antikoagulan natrium sitrat yang dibutuhkan dalam mililiter, V adalah volume keseluruhan larutan darah dan antikoagulan natrium sitrat dalam mililiter, dan Ht adalah hematokrit dalam persen.^{2,4,5,6}

LAPORAN KASUS

Pasien laki-laki usia 7 tahun dibawa ke IGD RSUP Dr. M. Djamil Padang dengan keluhan sesak napas yang semakin meningkat sejak 1 hari sebelum masuk rumah sakit. Sesak telah dirasakan pasien sejak dua minggu sebelumnya, terutama dirasakan setelah beraktivitas ringan dan disertai kebiruan pada ujung jari kaki dan tangan, pasien cenderung lelah dan lebih memilih untuk duduk. Pasien juga mengeluh sembab pada kaki, batuk berdahak, dan penurunan berat badan.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Hematologi

Parameter	Hasil	Satuan	Nilai Rujukan	Metode
Hemoglobin	23,4	g/dL	10,2 - 15,2	Cyanide-free Hemoglobin Spectrophotometry
Leukosit	5.730	/mm ³	5.000 - 17.000	Laser Optical Flowcitometry
Eritrosit	7,80	Juta	4,0 - 5,2	Electronic Impedance dengan Hidrodinamic Focusing DC Detection
Hematokrit	76	%	34 - 48	RBC Pulse Height Detection
Trombosit	108.000	/mm ³	150.000-450.000	Electronic Impedance dengan Hidrodinamic Focusing DC Detection

Kesan : Eritrositosis, trombositopenia

Pemeriksaan hemostasis didapatkan PT dan aPTT memanjang, INR meningkat (Tabel 2). Volume plasma terhadap volume keseluruhan darah relatif menurun terlihat setelah dilakukan sentrifugasi pada sampel darah dalam tabung penampung dengan antikoagulan natrium sitrat 3,2% untuk

Pasien telah dikenal menderita *congestive heart failure* (CHF) fungsional *grade III-IV et causa* prolaps aorta, ventrikel septal defek (VSD), atrial septal defek (ASD), *overriding aorta* dan *patent ductus arteriosus* (PDA).

Pemeriksaan fisik ditemukan keadaan umum sakit berat, tekanan darah 110/70 mmHg, frekuensi pernapasan 45 kali/menit, frekuensi nadi 110 kali/menit dengan status gizi kurang, napas cuping hidung, sianosis sekitar mulut dan peningkatan tekanan vena jugularis. Pemeriksaan paru didapatkan retraksi dinding dada dan rhonki basah. Pemeriksaan jantung didapatkan kardiomegali dengan bising pansistolik pada ruang intercostae (RIC) III-IV. Ekstremitas ditemukan pitting edema, sianosis akral dan *clubbing finger*.

Pemeriksaan hematologi didapatkan hemoglobin 23,4 g/dL, leukosit 5.730/mm³, eritrosit 7,8 juta/mm³, hematokrit 76% dan trombosit 108.000/mm³ (Tabel 1).

pemeriksaan hemostasis (Gambar 1). Hal ini disebabkan karena hematokrit pasien yang tinggi. Jumlah antikoagulan natrium sitrat 3,2% pada tabung penampung kemudian disesuaikan berdasarkan nilai hematokrit pasien dan dilakukan pengambilan darah kembali pada hari yang sama.



Gambar 1. Sampel Darah Sitrat Pasien dengan Hematokrit Tinggi

Hasil pemeriksaan PT dan aPTT setelah dilakukan penyesuaian jumlah

antikoagulan didapatkan kesan hasil dalam batas normal (tabel 3).

Tabel 3. Hasil Pemeriksaan Hemostasis Setelah Penyesuaian Jumlah Antikoagulan Natrium Sitrat

Parameter	Hasil	Satuan	Kontrol	Nilai Rujukan	Metode
PT	12,2	detik	13,4	10,1 – 13,5	<i>Optical Detection Coagulation Method</i>
INR	1,13			< 1,2	
aPTT	38,1	detik	42,9	33,2 – 43,0	<i>Optical Detection Coagulation Method</i>

Kesan : Hasil dalam batas normal

PEMBAHASAN

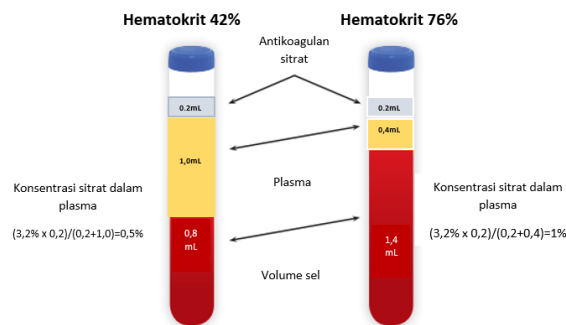
Hematokrit (*Packed Cell Volume/PVC*) adalah rasio dari volume eritrosit dengan volume dari keseluruhan darah dan secara manual ditentukan dengan memasukkan darah kedalam tabung plastik, sentrifugasi, mengukur ketinggian eritrosit dan membagi dengan panjang total tinggi eritrosit dibanding plasma.¹¹ Rasio ini diukur dan dinyatakan sebagai persentase atau pecahan desimal. Hematokrit secara klinis digunakan untuk mendeteksi anemia, polisitemia, hemodilusi, atau hemokonsentrasi.⁷

Peningkatan kadar hematokrit disebabkan oleh peningkatan jumlah eritrosit (eritrositosis) atau karena dehidrasi. Eritrositosis dapat disebabkan oleh penyakit yang memengaruhi sumsum tulang (eritrositosis primer, seperti polisitemia vera) atau oleh penyakit atau lingkungan yang memengaruhi saturasi oksigen (eritrositosis sekunder).¹²

Eritrositosis sekunder dapat terjadi karena penggunaan eritropoetin eksogen atau oleh produksi eritropoetin patologis oleh tumor tertentu (misalnya karsinoma/adenoma paratiroid, karsinoma hepatoseluler, kanker sel ginjal, feokromositoma), tetapi umumnya merupakan akibat dari kondisi yang mengarah pada hipoksia contohnya penyakit paru obstruksi kronis atau penyakit jantung sianotik.^{9,12}

Pada penyakit jantung bawaan seperti atrial septal defek (ASD), ventrikel septal defek (VSD) atau kelainan jantung lain dengan defek antara ruang jantung kanan dan kiri, darah dengan kadar oksigen rendah akan bercampur dengan darah kaya oksigen yang akan mengalir ke seluruh tubuh sehingga terjadi hipoksia. Cara tubuh mengkompensasi kondisi tersebut adalah dengan meningkatkan kemampuan darah membawa oksigen

dengan meningkatkan produksi eritrosit melalui peningkatan produksi eritropoetin.¹²



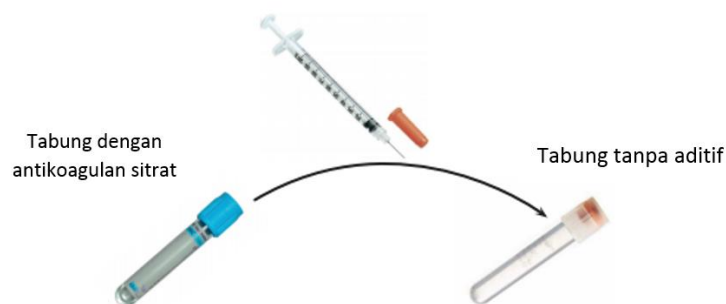
Gambar 2. Ilustrasi Efek Hematokrit pada Rasio Antikoagulan Natrium Sitrat dan Plasma pada Tabung 3,2% Natrium sitrat 2,0 mL.¹³

Peningkatan hematokrit akan menyebabkan penurunan volume plasma relatif terhadap keseluruhan darah sehingga akan meningkatkan rasio antikoagulan natrium sitrat terhadap plasma (Gambar 2).^{4,5,6} Kelebihan antikoagulan natrium sitrat ini akan mengikat sejumlah besar kalsium yang ditambahkan pada proses pemeriksaan dan meningkatkan waktu pembekuan, yang dibuktikan dengan pemanjangan *prothrombin time* (PT/INR) dan *activated partial thromboplastin time* (aPTT).^{5,10}

Konsentrasi natrium sitrat yang direkomendasikan adalah 3,2% (0,105 M

hingga 0,109 M) dengan rasio antikoagulan dan darah 1:9. Rasio ini efektif pada nilai hematokrit $\leq 55\%$.^{5,6,7} Penyesuaian jumlah antikoagulan natrium sitrat perlu dilakukan pada nilai hematokrit $> 55\%$ sesuai rekomendasi Clinical Laboratory Standards Institute.^{2,4,5,6}

Antikoagulan yang dibutuhkan dapat diambil dari tabung pemeriksaan hemostasis (tabung penampung biru berisi antikoagulan natrium sitrat 3,2%) menggunakan *syringe* 1,0 mL yang kemudian dipindahkan ke dalam tabung lain tanpa aditif (Gambar 3).¹³



Gambar 3 . Prosedur Penyesuaian Jumlah Antikoagulan Natrium Sitrat.¹³

Penyesuaian jumlah antikoagulan natrium sitrat juga dapat dilakukan dengan membuka tutup vakum tabung penampung biru, mengeluarkan

antikoagulan natrium sitrat dengan menggunakan *syringe* 1,0 mL dan menyalurkan antikoagulan natrium sitrat yang dibutuhkan sesuai dengan perhitungan. Darah diambil dan

dipindahkan ke dalam tabung penampung sampai batas volume minimal yang diperlukan (tanda batas pengisian pada tabung penampung), tutup kembali tabung penampung dan segera homogenkan darah dan antikoagulan natrium sitrat dengan membolakbalikkan tabung 3-6 kali.⁵

Nilai hematokrit pasien adalah 76% dan tabung penampung darah yang digunakan adalah tabung dengan antikoagulan natrium sitrat 3,2% dengan volume 2,0 mL, maka jumlah antikoagulan natrium sitrat yang diperlukan adalah 0,09 mL. Jumlah antikoagulan natrium sitrat yang dibutuhkan pasien dihitung dengan:

$$C = (1,85 \times 10^{-3}) \times (100 - Ht) \times V$$
$$C = (1,85 \times 10^{-3}) \times (100\% - 76\%) \times 2,0 \text{ mL}$$
$$C = (1,85 \times 10^{-3}) \times 24\% \times 2,0 \text{ mL}$$
$$C = 0,09 \text{ mL}$$

Volume antikoagulan natrium sitrat pada tabung penampung darah yang digunakan adalah 2,0 mL, maka jumlah antikoagulan natrium sitrat yang harus dikeluarkan dari tabung adalah 0,11 mL (0,2 mL - 0,09 mL).

Antikoagulan natrium sitrat dikeluarkan dari tabung penampung darah dengan cara membuka tutup tabung kemudian antikoagulan natrium sitrat 0,11 mL diambil menggunakan *syringe* 1,0 mL sehingga menyisakan 0,09 mL antikoagulan natrium sitrat dalam tabung. Darah sebanyak 1,91 mL dimasukkan kedalam tabung penampung (sampai tanda batas pengisian pada tabung),

DAFTAR PUSTAKA

1. Lippi G and Favaloro E.J. Chapter 2. Preanalytical Issues in Hemostasis and Thrombosis Testing in Hemostasis and Thrombosis: Methods and Protocols. 2017; p: 29-42.

tabung ditutup dan homogenkan darah dan antikoagulan natrium sitrat dengan cara membolakbalikkan tabung sebanyak 3-6 kali.⁵

Pemeriksaan PT dan aPTT pasien setelah dilakukan penyesuaian volume antikoagulan natrium sitrat berdasarkan kadar hematokrit menunjukkan hasil PT, aPTT dan INR dalam batas normal. Pemanjangan hasil PT dan aPTT pada pemeriksaan awal disebabkan karena interferensi hematokrit pasien yang tinggi.

SIMPULAN

Penyesuaian jumlah antikoagulan natrium sitrat untuk pemeriksaan *prothrombin time/international normalized ratio* (PT/INR) dan *activated partial thromboplastin time* (aPTT) direkomendasikan pada pasien dengan nilai hematokrit >55% untuk menjamin hasil pemeriksaan yang akurat.

DUKUNGAN FINANSIAL

Penulis tidak mendapat dana bantuan dalam laporan kasus ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak yang terlibat dalam laporan kasus ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan pada laporan kasus ini.

2. Magnette A, Chatelain M, Chatelain B, Ten Cate H, Mullier F. Pre-analytical Issues in The Haemostasis Laboratory: Guidance for The Clinical Laboratories. *Thrombosis Journal*. 2016.; p:14:49.

3. Lippi G, Salvagno GL, Montagna M, Lima-Oliveira G, Guidi GC and Favaloro EJ. Quality Standards for Sample Collection in Coagulation Testing. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. New York: Thieme Medical Publishers. 2012. 38 (6); p: 565-75.
4. Favaloro EJ, Funk DM, Lippi G. Pre-analytical Variables in Coagulation Testing Associated With Diagnostic Errors in Hemostasis. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 2012; 34 (7); p:612-630.
5. Fritsma G. Chapter 41. Laboratory Evaluation of Hemostasis in Rodak's Hematology Clinical Principles and Applications 6th edition. Missouri: Elsevier. 2020; p: 765-792.
6. Arkin CF, Adcock DM, Ernst DJ, Marlar RA, Parish GT, Szamozsi DI, et al. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays: Approved Guideline. 5th Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute Document H21-A5. 2008.
7. Turgeon ML. Chapter 1. Safety and Quality in the Hematology Laboratory in Clinical Hematology Theory and Procedure 5th Edition. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins. 2012; p: p26-27.
8. Plebani M, Favaloro EJ, and Lippi G. Patient Safety and Quality in Laboratory and Hemostasis Testing: A Renewed Loop?. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. New York: Thieme Medical Publishers. 2012. 38 (6); p: 553-558.
9. Keohane C, McMullin MF, Harrison C. The Diagnosis and Management of Erythrocytosis. *British Medical Journal*. 2013. 347 (16667); p: 1-6.
10. Silva VM, Rezende DC, Garcia ES, Cavalheiro C, and Strunz CC. Effect of Anticoagulant Adjustment on Prothrombin Time Test Using Two Different PT Reagents in Patients with Elevated Hematocrit. *Practical Laboratory Medicine*. Sao Paulo: Elsevier. 2020. 22 (e00177); p: 1-4.
11. Keohane EM. Chapter 1. An Overview of Clinical Laboratory Hematology in Rodak's Hematology Clinical Principles and Applications 6th edition. Missouri: Elsevier. 2020; p: 1-7.
12. Schreijer AJM, Reitsma PH, Cannegieter SC. High Hematocrit as A Risk Factor for Venous Thrombosis. Cause or Innocent Bystander. *Netherlands: Haematologica*. 2010. 95(2); p: 182-184.
13. Pikta M, Zolotarerav, Vaide L, Laane E, Kleinson I, Pulk R et al. Pre-analytical Variables in Coagulation Testing: Focus on High Hematocrit. 2017. DOI: 10.13140/RG.2.2.31475.43045.