

APTT

Tempo di Tromboplastina parziale

REF. 1002/12 12x4 ml



AZIENDA CERTIFICATA DNV

UNI EN ISO 9001:2008
UNI EN ISO 13485:2012



USO PREVISTO

Il reagente può essere utilizzato per eseguire il test del tempo di tromboplastina parziale attivata (APTT) e per le analisi basate su APTT utilizzando l'attivatore acido allagico.

PRINCIPIO

L'APTT è utile come strumento di screening e come test quantitativo per i fattori di coagulazione intrinseci. E' un test semplice e versatile sensibile ai deficit di tutti i fattori plasmatici di coagulazione ad eccezione del Fattore VII. E' frequentemente utilizzato per rilevare i deficit di fattori VIII, IX, XI, XII e precalcicreina.

Il test APTT viene inoltre utilizzato per monitorare la terapia a base di eparina dal momento che il prolungamento dell'APTT è direttamente proporzionale a quantità maggiori di eparina.

Il test APTT viene eseguito aggiungendo al campione da controllare un reagente contenente un attivatore plasmatico e un fosfolipide. Questa miscela viene incubata per 3 minuti a 37°C per un'attivazione ottimale. Viene quindi aggiunto cloruro di calcio e viene valutato il tempo necessario alla formazione del coagulo.

CAMPIONE

Plasma in citrato trisodico al 3.2 % (0.109 M).

Evitare l'emolisi e la contaminazione da parte di liquidi tissutali. Centrifugare il sangue per 15 minuti a 1500 x g. Nel caso in cui i campioni siano mantenuti a una temperatura di 22 - 24°C, eseguire l'analisi entro 2 ore.

COMPONENTI FORNITI

Reagente (4 ml)	Acido ellagico 0.003 %; Sieroalbumina bovina (BSA) 0.005 %; fenolo 0.30 %; tamponi 2,6 %; sali e stabilizzanti.
CaCl ₂ *	Cloruro di calcio

* Il Cloruro di Calcio 0.02 M va ordinato a parte (Ref. 1009 - 6x10 ml).

Conservare le fiale chiuse a 2-8°C. Non congelare. Le fiale aperte si mantengono stabili per 30 giorni se conservate a 2-8°C.

Dopo una conservazione prolungata potrebbe formarsi un sedimento giallo. Agitare delicatamente prima dell'uso.

Valori irregolari, valori del controllo di qualità oltre i limiti stabiliti oppure alterazioni del colore del prodotto potrebbero indicarne un deterioramento. In ogni caso, prestazioni scadenti potrebbero essere dovute ad altri fattori legati al sistema di test.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Reagente liquido, pronto all'uso.

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Regolamento (CE) 1272/2008 (CLP):



Pericolo

- H360** Può nuocere alla fertilità o al feto.
- P201** Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.
- P405** Conservare sotto chiave.
- P501** Smaltire il contenuto/contenitore in un impianto di smaltimento rifiuti autorizzato.
- P308+P313** In caso di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico.

Il reagente può contenere componenti non reattivi e conservanti di varia natura. Utilizzare le normali precauzioni previste in laboratorio.

PROCEDURA DEL TEST

Dispensare il campione in una provetta di plastica o in vetro siliconato come riportato nello schema:

plasma citrato (sovratanante)	100 µl
Reagente (preriscaldato a 37°C)	100 µl
Miscelare, Incubare 3 - 4 minuti a 37°C. Aggiungere:	
Cloruro di calcio	100 µl
Cronometrare il tempo di formazione del coagulo.	

VALORI ATTESI

Dall'analisi dell'APTT su una popolazione normale sono emersi i seguenti risultati:

Valore medio	Range
30.0	20.0 - 40.0

Questi valori vanno considerati esclusivamente come linee guida.

Ciascun laboratorio deve stabilire il proprio intervallo di riferimento.

LIMITAZIONI

L'analisi biochimica della coagulazione comprende una serie di reazioni influenzate da numerosi condizioni preesistenti all'analisi. Per ottenere risultati riproducibili è necessario controllare tali variabili.

- Il pH del plasma aumenta se esposto all'aria. Conservare i campioni tappati.
- APTT è stato studiato per essere usato a 37°C ± 0.5°C. Verificare di frequente la temperatura di tutti gli elementi riscaldanti.
- Tutte le attrezzature di laboratorio devono risultare pulite e prive di tracce di detergenti.
- Per una corretta manutenzione attenersi sempre alle istruzioni fornite dalla ditta produttrice della strumentazione.
- Ossalato di sodio, EDTA ed eparina non sono adatti come anticoagulanti.
- E' riportato in letteratura che i contraccettivi orali, gli estrogeni, la gravidanza, i farmaci tipo cumarina, eparina, asparaginasi e nalossone influenzano i risultati dell'APTT.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Insieme al campione di plasma del paziente eseguire sempre anche un controllo normale e uno patologico ad ogni utilizzo del kit. A tale scopo si consiglia l'uso dei Controlli: CONTROL PLASMA N (Ref. 1007) e CONTROL PLASMA P (Ref. 1008).

PRESTAZIONI DEL METODO

Sensibilità all'eparina:

L'azione anticoagulante dell'eparina dipende da numerosi fattori tra cui un adeguato livello di antitrombina III, l'attivazione piastrinica e il conseguente rilascio del fattore 4 piastrinico durante la preparazione dei campioni, la presenza in vivo di altri farmaci, la velocità del metabolismo dell'eparina, il modo di somministrazione dell'eparina e il trattamento ritardato dei campioni. Controllando tali variabili, il laboratorio è in grado di determinare la sensibilità relativa di un determinato reagente rispetto all'eparina aggiungendo un quantitativo noto di eparina ad un pool di plasma normale ed eseguendo un APTT. Ad esempio, i seguenti risultati sono stati ottenuti con uno strumento foto-ottico con un unico lotto del reagente APTT:

Giesse Diagnostics srl

V. Enrico Fermi, 3 - Z.I. V. Tiburtina Km 18.300 - 00012 Guidonia Montecelio (RM)

Tel. +39 0774 051100 - Fax +39 0774 051111

e-mail: info@giessediagnostics.com - web site: www.giessediagnostics.com

100207

Ed. 2016/05 rev. 05

Concentraz. eparina (unità/ml)	APTT (secondi)
0.0	28.8
0.1	38.3
0.2	50.1
0.3	63.1
0.4	80.9
0.5	98.0

Ciascun laboratorio deve determinare la propria curva di sensibilità all'eparina utilizzando la stessa fonte di eparina utilizzata in loco per la terapia. Le variazioni possono essere dovute a diversità nelle marche di eparina, nell'origine del tessuto e alle diverse forme di sale.

Sensibilità al fattore

Un reagente APTT con adeguata sensibilità deve presentare un tempo di coagulazione prolungato in campioni con attività del fattore pari al $\leq 30\text{-}40\%$. APTT è stato esaminato su plasma mediamente o gravemente carente ottenendo i seguenti risultati:

Fattore	% attività	APTT (secondi)
VIII	< 1%	82.0
VIII	20 %	44.8
IX	< 1%	83.5
IX	20 %	40.9
XI	< 1%	134.2
XI	20 %	47.8
XII	< 1%	> 200
XII	20 %	36.2
Prekallikrein	< 1%	69.5

La sensibilità, inoltre, di APTT al fattore VIII è stata determinata nel modo seguente:

% Fattore VIII	APTT (secondi)
100 %	32.5
70 %	34.0
50 %	36.9
40 %	38.9
30 %	40.8
20 %	44.4
10 %	50.6
5 %	56.1
1 %	68.1
< 1 %	83.6

Questi valori devono essere considerati solo come riferimento. Ciascun laboratorio deve stabilire la sensibilità a singoli fattori utilizzando la strumentazione, i reagenti e le tecniche utilizzati in loco.

BIBLIOGRAFIA

1. Brandt, J. T, Triplett, D.A.: Laboratory Monitoring of Heparin. Effect of Reagents and Instruments in the Activated Partial Thromboplastin Time. *Amer J Clin Path* 76:530, 1981.
2. Thompson, J.M.: The Control of Heparin Therapy by the Activated Partial Thromboplastin Time. Sensitivity of Various Thromboplastins to Heparin. *Standardization of Coagulation Assays: An Overview*. Edited by D.A. Triplett, College of American Pathologists, Skokie, Ill. 1982, pp 195.
3. NCCLS: *Collection, transport, and processing of blood specimens for coagulation testing and performance of coagulation assays*. 4th edition. Approved guideline. NCCLS Document H21-A4. Wayne, PA, 2003.
4. Young, D.S., Thomas, D.W., D.W., Friedman, R.B., et al: Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests. *Clin Chem* 18:1041, 1972.
5. Banez, E.L., Triplett, D.A., Koepke, J.: Laboratory Monitoring of Heparin Therapy. The Effect of Different Salts of Heparin on the Activated Partial Thromboplastin Time. *Amer J Clin Path* 74:569, 1980.
6. Wujastyk, J., Triplett, D.A.: Selecting Instrumentation and Reagents for the Coagulation Laboratory. *Pathologist* 37:398, 1983.
7. Christensen, R.L., Triplett, D.A.: Factor Assay (VIII and IX) Results in the College of American Pathologists Survey Program (1980-1982). *Amer J Clin Path* 80 (Suppl):633, 1983.

APTT
Partial Thromboplastin Time

REF. 1002/12 12x4 ml



DNV CERTIFIED COMPANY
UNI EN ISO 9001:2008
UNI EN ISO 13485:2012



INTENDED USE

The Reagent is intended for use in performing the activated partial thromboplastin time (APTT) test, and for APTT based factor assays using ellagic acid activator.

PRINCIPLE

The APTT is useful as a screening tool, and as a quantitative test for the intrinsic coagulation factors. It is a simple and versatile test which is sensitive to deficiencies of all plasma clotting factors except Factor VII. However, it is mainly used to detect deficiencies in Factor VIII, IX, XI, XII and Prekallikrein.

The APTT is also commonly used to monitor heparin therapy since APTT prolongation is directly proportional to increasing amounts of heparin.

The APTT test is performed by adding reagent containing a plasma activator and phospholipid to the test specimen. This mixture is incubated for 3 minutes at 37°C for optimum activation. Calcium chloride is added and clot formation is timed.

SAMPLE

Plasma in trisodium citrate 3.2 % (0.109 M).

Avoid hemolysis and contamination by tissue fluids. Centrifuge blood for 15 minutes at 1500 x g. Test within 2 hours if samples are held at 22-24°C.

KIT COMPONENTS

Reagent (10 x 4 ml)	Ellagic Acid 0.003 %; Bovine serum albumin (BSA) 0.005 %; phenol 0.30 %; buffers 2,6 %; salts and stabilizers.
CaCl ₂ *	Calcium chloride

* Calcium Chloride 0.02 M is available separately, (Ref. 1009 - 6x10 ml)

Store unopened vials at 2-8°C. Do not freeze. Opened vials are stable for 30 days when stored at 2-8°C.

A yellow sediment may form after prolonged storage. Mix gently before use. Erratic values, quality control values outside established ranges, or product color variations could indicate deterioration. However, poor performance could also be due to other factors within the test system.

REAGENT PREPARATION

Liquid reagent, ready to use.

PRECAUTIONS AND WARNINGS

EC Regulation 1272/2008 (CLP):



Danger

- H360** May damage fertility or the unborn child.
- P201** Do not handle until all safety precautions have been read and understood.
- P405** Store locked up.
- P501** Dispose of contents/container to an approved waste disposal plant.
- P308+P313** If exposed or concerned: Get medical advice.

Reagent may contain some non-reactive and preservative components. Use the normal precautions required in the laboratory.

TEST PROCEDURE

Dispense the sample into a tube of plastic or siliconized glass as shown in the diagram:

plasma citrate (supernatant)	100 µl
Reagent (prewarm to 37°C)	100 µl

Mix, Incubate 3 – 4 minutes at 37°C. Add:

Calcium chloride	100 µl
------------------	--------

Time clot formation.

EXPECTED VALUES

When APTT was evaluated on a normal population, the following results were obtained:

Mean	± 2SD Range
30.0	20.0 - 40.0

These values should only be used as a guideline.

Each laboratory should establish its own reference range.

LIMITATIONS

The biochemistry of coagulation involves a series of reactions that are influenced by many pre-test conditions. These variables must be controlled to obtain reproducible results.

- Plasma pH will increase if exposed to air. Store samples stoppered.
- APTT was designed to work at 37°C ± 0.5°C. Frequently check the temperature of all heating elements.
- All labware must be clean and free of trace amounts of detergents.
- Always follow instrument manufacturer's instructions for proper maintenance.
- Sodium oxalate, EDTA, and heparin are not suitable anticoagulants.
- Oral contraceptives, estrogen, pregnancy, coumarin type drugs, heparin, asparaginase, and naloxone have been reported to influence APTT results.

QUALITY CONTROL

Normal and abnormal plasmas should be tested in conjunction with patient plasmas for each use of the kit. For this purpose we recommend the use of control: CONTROL PLASMA N (Ref. 1007) and CONTROL PLASMA P (Ref. 1008).

PERFORMANCE

Heparin Sensitivity:

The anticoagulant action of heparin depends on many factors, including an adequate level of Antithrombin-III, platelet activation and subsequent Platelet Factor-4 release during specimen preparation, in vivo presence of other medications, rate of heparin metabolism, mode of heparin administration, and delayed specimen handling. While recognizing these variables, the laboratory can determine the relative sensitivity of a given reagent to heparin by adding known amounts of heparin to pooled normal plasma and performing an APTT. For example, the following results were obtained on a photo-optical instrument with one lot of APTT reagent:

Heparin conc. (units/ml)	APTT (seconds)
0.0	28.8
0.1	38.3
0.2	50.1
0.3	63.1
0.4	80.9
0.5	98.0

Each laboratory should establish its own heparin sensitivity curve using the same heparin source used for therapy in that institution. Variations can result from different brands of heparin, tissue origin, and salts forms.

Factor Sensitivity:

An APTT reagent with adequate sensitivity should demonstrate a prolonged clotting time in samples having ≤ 30 -40% factor activity. APTT was evaluated on mildly and severely deficient plasmas with the following results:

Factor	% activity	APTT (seconds)
VIII	< 1%	82.0
VIII	20 %	44.8
IX	< 1%	83.5
IX	20 %	40.9
XI	< 1%	134.2
XI	20 %	47.8
XII	< 1%	> 200
XII	20 %	36.2
Prekallikrein	< 1%	69.5

Furthermore, the sensitivity of APTT to factor VIII has been determined as follows:

% Factor VIII	APTT (seconds)
100 %	32.5
70 %	34.0
50 %	36.9
40 %	38.9
30 %	40.8
20 %	44.4
10 %	50.6
5 %	56.1
1 %	68.1
< 1 %	83.6

These values should only be used as guidelines. Each Laboratory should establish sensitivity to individual factors using instruments, reagents, and techniques used in their laboratory.

REFERENCES

- Brandt, J. T, Triplett, D.A.: Laboratory Monitoring of Heparin. Effect of Reagents and Instruments in the Activated Partial Thromboplastin Time. *Amer J Clin Path* 76:530, 1981.
- Thompson, J.M.: The Control of Heparin Therapy by the Activated Partial Thromboplastin Time. Sensitivity of Various Thromboplastins to Heparin. *Standardization of Coagulation Assays: An Overview*. Edited by D.A. Triplett, College of American Pathologists, Skokie, Ill. 1982, pp 195.
- NCCLS: *Collection, transport, and processing of blood specimens for coagulation testing and performance of coagulation assays*. 4th edition. Approved guideline. NCCLS Document H21-A4. Wayne, PA, 2003.
- Young, D.S., Thomas, D.W., D.W., Friedman, R.B., et al: Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests. *Clin Chem* 18:1041, 1972.
- Banez, E.L., Triplett, D.A., Koepke, J.: Laboratory Monitoring of Heparin Therapy. The Effect of Different Salts of Heparin on the Activated Partial Thromboplastin Time. *Amer J Clin Path* 74:569, 1980.
- Wujastyk, J., Triplett, D.A.: Selecting Instrumentation and Reagents for the Coagulation Laboratory. *Pathologist* 37:398, 1983.
- Christensen, R.L., Triplett, D.A.: Factor Assay (VIII and IX) Results in the College of American Pathologists Survey Program (1980-1982). *Amer J Clin Path* 80 (Suppl):633, 1983.