



# Pacific Hemostasis® APTT-XL

## I. Intended Use

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

## II. Summary and Principles

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 Factors 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.<sup>12</sup>

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.

## III. Reagent

For *in vitro* diagnostic use.

**Composition:** 0.003% ellagic acid, 0.005% BSA, 0.30% phenol, 2.6% buffers, salts and stabilizers  
Store unopened vials at 2-8°C. **Do not freeze.** Opened vials are stable for 30 days when stored at 2-8°C.<sup>8</sup>

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.

## IV. Specimen Collection

3.2% (0.109M) trisodium citrate anticoagulant is recommended for coagulation assays. Avoid hemolysis and contamination by tissue fluids. Samples that have less than 90% of the expected fill volume should be rejected. Centrifuge blood for 15 minutes at 1500 x g. Test within 2 hours if samples are held at 22-24°C. For more details on specimen collection and storage, see NCCLS Document H21-A4.<sup>3</sup>

- Do not delay mixing the blood with anticoagulant.
- Avoid foaming the specimen.
- Use only plastic or siliconized borosilicate glass containers.
- Turbid, icteric, lipemic, or hemolyzed specimens may generate erroneous results.
- Freezing and thawing plasma that contains residual cells will generate damaged cell membranes that can affect results.
- Acute inflammatory reactions can shorten APTT results because of elevated fibrinogen.
- Plasma samples with hematocrits outside the range of 20-55% may be improperly anticoagulated and should be adjusted appropriately.

## V. Test Procedure

**Materials Provided:** APTT-XL Reagent, liquid, 10 x 10 mL or 10 x 4 mL

**Materials Required, But Not Provided:**

Pacific Hemostasis Calcium Chloride solution (0.02M)

Stopwatch or timer

Precision pipette: 0.1 mL

Normal and abnormal controls such as Pacific Hemostasis Coagulation Control Plasmas, Level 1, 2, and 3

APTT-XL is suitable for use with manual, mechanical, photo-optical, or other means of clot detection. Follow manufacturer's recommendations for proper use of instrumentation. For manual assays:

- A. Prewarm Calcium Chloride (0.02M) to 37°C.
- B. Add 0.1 mL test plasma to cuvette and prewarm to 37°C.
- C. Add 0.1 mL APTT-XL to the test plasma. Mix.
- D. Incubate the plasma-reagent mixture at 37°C for 3-5 minutes (activation time). For consistent results, test all plasmas with the same activation time.
- E. Forcibly add 0.1 mL prewarmed Calcium Chloride and time clot formation.

## VI. Quality Control

Normal and abnormal plasmas such as Pacific Hemostasis Coagulation Control Level 1, 2, and 3 should be tested in conjunction with patient plasmas. Level 1 is a normal plasma, and Levels 2 and 3 are adjusted to mimic moderately and severely deficient plasmas, respectively. A normal control and at least one abnormal control should be run at the initiation of testing each day and at least once each shift, or with each group of assays. Controls should also be tested with each reagent change or major instrument adjustment. Each laboratory should establish a control range to represent the allowable variation in day to day performance for each control.

## VII. Results

Report clotting times for each plasma to the nearest 0.1 second. A Normal Reference Range can also be reported for comparison. Do not report patient values relative to commercial control plasma clotting times. Controls are intended only for quality assurance of the test system.

## VIII. 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.<sup>3</sup>

### Technique

- Plasma pH will increase if exposed to air. Store samples stoppered.
- APTT-XL 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.

### Interfering Substances

- 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.<sup>4</sup>

## IX. Expected Values

When APTT-XL was evaluated on a normal population, the following results were obtained:<sup>9</sup>

mean	± 2SD range
29.9	24.0 - 35.2
29.8	24.2 - 36.3

These values should only be used as a guideline. Each laboratory should establish a Normal Reference Range (NRR) using instrumentation, blood collection methods, and testing techniques used in that laboratory. The NRR should be reestablished or at least verified when changing lot numbers of the same reagent.<sup>5</sup> A new NRR should be established with any change in reagents, instrumentation, blood collection techniques, or anticoagulant.

## ENGLISH

## X. Performance Characteristics

### 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-XL reagent:<sup>10</sup>

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 salt forms.<sup>12,5</sup>

### Factor Sensitivity

An APTT reagent with adequate sensitivity should demonstrate a prolonged clotting time in samples having ≤ 30-40% factor activity.<sup>12</sup> APTT-XL was evaluated on mildly and severely deficient plasmas with the following results:<sup>11</sup>

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-XL to Factor VIII has been determined as follows:<sup>12</sup>

% 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.

### XI. References

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., 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.
- 8-12. Daten in 510(K)-Datei.

## Pacific Hemostasis

### APTT-XL

## I. Verwendungszweck

Pacific Hemostasis APTT-XL wird eingesetzt zur Durchführung des APTT-Tests (aktivierte partielle Thromboplastinzeit) und für auf APTT-basierte Faktor-Assays mit Hilfe von Ellagsäure-Aktivatoren.

## II. Zusammenfassung und Prinzipien

Der APTT-Test eignet sich als Screening-Tool und als quantitativer Test für die intrinsischen Koagulationsfaktoren. Es ist ein sehr einfacher und vielseitiger Test, der auf Mängel aller Plasmapräzisionsfaktoren außer Faktor VII reagiert. Er wird jedoch hauptsächlich verwendet, um Mängel bei den Faktoren VIII, IX, XI und Prekallikrein zu erkennen.

Der APTT-Test wird häufig zur Monitoring der Heparintherapie verwendet, da die APTT-Verlängerung direkt proportional zur zunehmenden Heparinmenge ist.<sup>12</sup> Der APTT-Test wird durchgeführt, indem dem der Probe ein Reagenz hinzugefügt wird, das einen Plasmapräzessor und Phospholipid enthält. Diese Mischung wird 3 Minuten lang bei 37 °C für eine optimale Aktivierung inkubiert. Kalziumchlorid wird hinzugefügt und anschließend wird die zur Gerinnung erforderliche Zeit erfasst.

## III. Reagenz

Für die Verwendung in der *in vitro*-Diagnostik.

**Zusammensetzung:** 0,003 % Ellagsäure, 0,005 % BSA, 0,30 % Phenol, 2,6 % Puffer, Salze und Stabilisatoren.

Ungeöffnete Flaschen bei 2-8 °C lagern. **Nicht einfrieren.** Geöffnete Flaschen sollten bei einer Lagertemperatur von 2-8 °C innerhalb von 30 Tagen verwendet werden.<sup>1</sup>

Nach einer längeren Lagerung kann sich gelbes Sediment bilden. Vor der Verwendung vorsichtig schütteln. Fehlerhafte Werte, Qualitätskontrolle außerhalb der festgelegten Bereiche oder Abweichungen in der Farbe des Produkts können auf eine Verschlechterung des Produkts hinweisen. Eine mangelhafte Qualität kann jedoch auch durch andere Faktoren innerhalb des Testsystems begründet sein.

## IV. Probenbereitung

Für Koagulationsversuche werden 3,2 % (0,109 M) des Thrombininhibitoren Trinatriumcitrat empfohlen. Hämolyse und Kontamination durch Gewebeflüssigkeiten vermeiden. Proben mit weniger als 90 % des erwarteten Füllvolumens sollten nicht verwendet werden. Blut für 15 Minuten bei 1500 x g zentrifugieren. Innerhalb von zwei Stunden Testen, wenn die Proben bei 22-24 °C gehalten werden. Weitere Informationen zur Entnahme und Lagerung von Proben finden Sie im NCCLS-Dokument H21-A4.<sup>3</sup>

- Das Mischen des Blutes mit dem Thrombininhibitor sollte sofort erfolgen.
- Eine Schaumbildung ist zu vermeiden.
- Nur Behälter aus Kunststoff oder silikonisiertem Borosilikatglas verwenden.
- Trübe, ikterische, lipämische oder hämolytierte Proben können fehlerhafte Ergebnisse verursachen.
- Das Einfrieren und Auftauen von Residualzellen enthaltendem Plasma verursacht eine Beschädigung der Zellmembranen, die sich auf die Ergebnisse auswirken kann.
- Akute entzündliche Reaktionen können die APTT-Ergebnisse aufgrund von erhöhtem Fibrinogen beeinträchtigen.
- Plasmaproben mit Hämatokritwerten außerhalb eines Bereichs von 20-55 % wurden wahrscheinlich nicht ordnungsgemäß antikoaguliert und sollten entsprechend angepasst werden.

## V. Testverfahren

Im Lieferumfang enthaltene Materialien: APTT-XL Reagenz, flüssig, 10 x 10 mL oder 10 x 4 mL

Nicht im Lieferumfang enthaltene aber erforderliche Materialien:

Pacific Hemostasis Calcium Chloride solution (0,02 M)

Stoppphur oder Zeitgeber

Präzisionspipette: 0,1 mL

Normale und abnormale Kontrollen, z. B. Pacific Hemostasis Coagulation Control Plasmas, Level 1, 2 und 3.

APTT-XL eignet sich für manuelle, mechanische, photo-optische oder andere Erkennungsmethoden von Gerinnungsverzögerungen. Für eine ordnungsgemäße Verwendung der Instrumente sind die Anweisungen des Herstellers zu beachten. Manuelle Durchführung:

- A. Calcium Chlorid (0,02 M) auf 37 °C vorwärmen.
- B. 0,1 mL Testplasma zur Küvette hinzufügen und auf 37 °C vorwärmen.
- C. 0,1 mL APTT-XL zum Testplasma hinzufügen. Mischen.</li



# Pacific Hemostasis

## APTT-XL

### I. Utilisation prévue

Le test APTT-XL Pacific Hemostasis est destiné à être utilisé dans le cadre du test TCA (Temps de Céphaline Activée), ainsi que lors des tests de facteur basé sur l'APTT et utilisant un activateur d'acide ellagique.

### II. Résumé et principes

Le test TCA sent l'outil de dépistage et comme dosage quantitatif des facteurs de coagulation intrinsèques. Il s'agit d'un test simple et polyvalent qui est sensible aux déficits en facteurs de coagulation plasmatiques qu'ils soient, à l'exception du facteur VII. Cependant, il est principalement utilisé pour dépister les déficits en facteurs VIII, IX, XI, XII et en prékallicréine.

Le test TCA est également souvent utilisé dans le suivi de l'héparinisation car l'allongement du temps de thromboplastine partielle activée est directement proportionnel à l'augmentation de la quantité d'héparine.<sup>1,2</sup>

Le test TCA est réalisé en ajoutant un réactif contenant un activateur de plasma et un phospholipide à l'échantillon à analyser. Ce mélange est mis à incuber pendant 3 minutes à 37 °C pour une activation optimale. Le chlorure de calcium est ajouté et la formation du caillot est chronométrée.

### III. Réactivité

Pour utilisation diagnostique *in vitro*.

**Composition:** 0,003 % acide ellagique, 0,005 % albumine bovine, 0,30 % phénol, 2,6 % tampons, sels et stabilisateurs.

Stocker les flacons non ouverts entre 2 et 8 °C. **Ne pas congeler.** Les flacons ouverts sont stables pendant 30 jours lorsqu'ils sont stockés entre 2 et 8 °C.<sup>3</sup>

Un dépôt jaune peut se former après un stockage prolongé. Mélanger doucement avant utilisation. Des valeurs aberrantes, des valeurs de contrôle qualité en dehors des intervalles établis ou des variations de couleur du produit peuvent indiquer une détérioration. Cependant, de mauvais résultats peuvent également être dus à d'autres facteurs inhérents au système de test.

### IV. Prélevement d'échantillon

Il est recommandé d'ajouter 3,2 % (0,109 M) de citrate trisodique comme anticoagulant lors des tests de coagulation. Éviter l'hémolyse et la contamination par des liquides tissulaires. Les échantillons contenant moins de 90 % du volume de remplissage escompté doivent être éliminés. Centrifuger le sang pendant 15 minutes à 1500 x g. Tester dans les 2 heures si les échantillons sont maintenus entre 22 et 24 °C. Pour plus de détails sur le prélevement d'échantillon et le stockage, consulter le Document H21-A4 de la NCCLS.<sup>3</sup>

- Mélanger sans délai le sang aux anticoagulants.
- Éviter la formation de mousse dans l'échantillon.
- Utiliser uniquement des contenants en verre au borosilicate siliconé ou en plastique.
- Les échantillons troubles, ictériques, lipémiques ou hémolysés peuvent donner des résultats erronés.
- Les échantillons de plasma congelés ou en cours de décongélation qui contiennent des cellules résiduelles produisent des membranes cellulaires abîmées qui peuvent altérer les résultats.
- Des réactions inflammatoires aiguës peuvent raccourcir les temps TCA en raison d'un taux élevé de fibrinogène.
- Les échantillons de plasma présentant des taux d'hématocrite en dehors de la plage de 20–55 % peuvent être mal traités à l'anticoagulant et doivent être corrigés en conséquence.

### V. Procédure de test

Matériel fourni : APTT-XL Reagent, 10 x 10 mL ou 10 x 4 mL

Matériel nécessaire mais non fourni :

Pacific Hemostasis Calcium Chloride solution (0,02 M)

Chronomètre ou minuterie

Pipette de précision : 0,1 mL

Contrôles normaux et anormaux, tels que le Pacific Hemostasis Coagulation Control Plasmas, Level 1, 2 et 3

L'APTT-XL peut être utilisé avec des instruments de détection de caillots, qu'ils soient manuels, mécaniques, à cellule photoélectrique, ou de tout autre type. Suivre les recommandations du fabricant pour utiliser correctement les instruments. Pour les dosages manuels :

- A. Préchauffer le Calcium Chloride (0,02 M) à 37 °C.
- B. Ajouter 0,1 mL de plasma à analyser à la cuvette et préchauffer à 37 °C.
- C. Ajouter 0,1 mL d'APTT-XL au plasma à analyser. Mélanger.
- D. Mettre à incuber le mélange réactif-plasma à 37 °C pendant 3 à 5 minutes (temps d'activation). Pour des résultats cohérents, analyser tous les échantillons de plasma ayant le même temps d'activation.
- E. Ajouter 0,1 mL de Calcium Chloride préchauffé et chronométrer la formation des caillots.

### VI. Contrôle de qualité

Les contrôles normaux et anormaux, tels que les plasmas de Pacific Hemostasis Coagulation Control, Les niveaux 1, 2 et 3 doivent être analysés en association avec les échantillons de plasma des patients. Le niveau 1 correspond à un plasma normal, et les niveaux 2 et 3 sont ajustés pour reproduire les échantillons de plasma moyennement et fortement déficients respectivement. Un contrôle normal et au moins un contrôle anormal doivent être effectués quotidiennement en début d'analyse, et au moins une fois lors de chaque utilisation, ou avec chaque série d'analyses. Les contrôles doivent également être testés avec chaque nouveau réactif, ou après chaque réglage important des instruments. Chaque laboratoire doit élaborer un intervalle de contrôle afin de représenter les variations constatées dans les résultats au jour le jour, pour chaque contrôle.

### VII. Résultats

Noter les temps de coagulation de chaque échantillon de plasma, arrondis au dixième de seconde le plus proche. À titre de comparaison, un intervalle de référence normal peut également être défini. Ne pas comparer les valeurs des patients aux temps de coagulation des contrôles de plasma fournis. Les contrôles ne sont destinés qu'à l'assurance qualité du système de test.

### VIII. Limites

La biochimie de la coagulation implique une série de réactions influencées par diverses conditions préalables au test. Ces variables doivent être contrôlées afin d'obtenir des résultats reproductibles.<sup>3</sup>

Technique

- Au contact de l'air, le pH du plasma augmente. Stocker les échantillons rebouchés.
- Le test APTT-XL a été conçu pour travailler à 37 °C ± 0,5 °C. Vérifier fréquemment la température de tous les éléments chauffants.
- Tout matériel de laboratoire doit être propre et exempt de toute trace de détergent.
- Respecter scrupuleusement les indications du fabricant en matière d'entretien.

### Substances interférentes

- L'oxalate de sodium, l'EDTA et l'héparine ne sont pas des anticoagulants appropriés.
- Les contraceptifs oraux, les œstrogènes, la grossesse, les médicaments type coumarine, l'héparine, l'aspiragine et la naloxone sont susceptibles d'affecter les résultats du test TCA.<sup>4</sup>

### IX. Valeurs escomptées

Lors de l'évaluation de l'APTT-XL sur une population normale, on a obtenu les résultats suivants :<sup>5</sup>

moy	plage ± 2 ET
Mécanique	29,9
Photoélectrique	29,8

Ces valeurs ne sont données qu'à titre indicatif. Chaque laboratoire doit élaborer un intervalle de référence normal (IRN), en utilisant les instruments, les méthodes de prélevement sanguin et les techniques de test qui lui sont propres. L'INR doit être mis à jour, ou du moins vérifié, en cas de changement du numéro de lot d'un même réactif.<sup>5</sup> Tout changement de réactif, d'instruments, de technique de prélevement sanguin ou d'anticoagulants implique l'élaboration d'un nouvel INR.

## FRANÇAIS



# Pacific Hemostasis

## APTT-XL

### I. Uso previsto

Pacific Hemostasis APTT-XL se utiliza para las pruebas del tiempo de tromboplastina parcial activada, y para la valoración de factores basados en TTPA con ácido elágico como activador.

### II. Resumen y fundamento

La prueba del TTPA es útil como prueba discriminativa y como prueba cuantitativa para determinar los factores intrínsecos de la coagulación. Se trata de una prueba sencilla y versátil que es sensible a las deficiencias de todos los factores de coagulación del plasma, con la excepción del factor VII. Sin embargo, se utiliza principalmente para detectar deficiencias en los Factores VIII, IX, XI, XII y Precalicerina.

El TTPA también se utiliza para monitorizar tratamientos con heparina, dado que la prolongación del TTPA es directamente proporcional al aumento de la heparina<sup>1,2</sup>.

Para realizar la prueba de TTPA, se añade a la muestra un reactivo que contiene un activador plasmático y fosfolípidos. La mezcla se incubará durante 3 minutos a 37 °C para obtener una activación óptima. Se añade cloruro de calcio y se cronometra la formación del coágulo.

### III. Reactivo

Para uso diagnóstico *in vitro*.

**Composición:** Ácido elágico al 0,003 %, BSA al 0,005 %, fenol al 0,30 %, soluciones tampón al 2,6 %, sales y estabilizantes. Conservar los frascos sin abrir a 2–8 °C. **No congelar.** Los frascos abiertos permanecen estables durante 30 días cuando se conservan a 2–8 °C.

Es posible que se forme un sedimento amarillo tras una conservación prolongada. Mezclar con cuidado antes de utilizarlo. Valores erróneos, valores de control de calidad fuera de los intervalos establecidos, o variaciones del color del producto pueden indicar deterioro del mismo. Sin embargo, un funcionamiento deficiente del producto también puede deberse a otros factores de la prueba.

### IV. Recogida de muestras

Para las pruebas de coagulación se recomienda utilizar como anticoagulante citrato de trisódico al 3,2 % (0,109 M). Evitar las hemólisis y la contaminación por los fluidos tisulares. Rechazar las muestras con volumen de llenado inferior al 90 % del volumen esperado. Centrifugar la sangre durante 15 minutos a 1500 x g. Realizar la prueba antes de las 2 horas si las muestras han sido conservadas a 22–24 °C. Para más información sobre la recogida y conservación de las muestras, consultar el documento H21-A3 del NCCLS<sup>3</sup>.

- No retrasar la mezcla de la sangre con el anticoagulante.
- Evitar la formación de espuma en la muestra.
- Utilizar únicamente recipientes de plástico o de vidrio de borosilicato siliconado.
- Las muestras turbias, ictericas, lipémicas o hemolizadas pueden generar resultados erróneos.
- La congelación y posterior descongelación del plasma con células residuales puede romper las membranas de las células, afectando adversamente a los resultados.
- Las reacciones inflamatorias agudas pueden acortar los resultados de TTPA debido a la elevada tasa de fibrinógeno.
- Las muestras de plasma con hematocritos fuera del intervalo de 20–55 % pueden no resultar correctamente anticoaguladas y el anticoagulante debe ser ajustado adecuadamente.

### V. Procedimiento de la prueba

**Material suministrado:** APTT-XL Reagent, líquido, 10 x 10 mL o 10 x 4 mL

**Material necesario pero no suministrado:**

Pacific Hemostasis Calcium Chloride Solution (0,02 M)

Cronómetro

Pipeta de precisión: 0,1 mL

Controles normales y anormales tales como Pacific Hemostasis Coagulation Control Plasmas, Level 1, 2 y 3.

APTT-XL puede utilizarse con métodos manuales, mecánicos, fotoópticos y otros, para la detección de coágulos. Siga las instrucciones del fabricante sobre el uso correcto del instrumento.

Para ensayos manuales:

- A. Precalentar el Calcium Chloride (0,02 M) a 37 °C.
- B. Poner 0,1 mL de plasma de prueba en la cubeta y precalentar a 37 °C.
- C. Añadir 0,1 mL de APTT-XL al plasma de prueba. Mezclar.
- D. Incubar la mezcla de plasma y reactivo a 37 °C durante 3–5 minutos (tiempo de activación).
- E. Para garantizar unos resultados coherentes, analizar todas las muestras de plasma con el mismo tiempo de activación.
- F. Añadir fuertemente 0,1 mL de Calcium Chloride precalentado y cronometrar la formación del coágulo.

### VI. Control de calidad

Los plasmas normales y anormales, tales como los plasmas de Pacific Hemostasis Coagulation Control, Level 1, 2 y 3, deben ser analizados junto con el plasma del paciente. El Level 1 es un plasma normal, mientras que los Levels 2 y 3 han sido ajustados para simular plasmas moderada y seriamente deficientes, respectivamente. Debe analizarse un control normal y al menos un control anormal cada día al inicio de las pruebas, y al menos una vez en cada turno, o con cada grupo de ensayos. Asimismo, los controles deben ser analizados con cada cambio de reactivo o cada vez que se haga un ajuste importante del instrumento. Cada laboratorio debe establecer un intervalo de control que representa la variación diaria permisible para cada control.

### VII. Resultados

Informar de los tiempos de coagulación para cada plasma a la décima de segundo más próxima. También puede informarse de un intervalo de referencia normal para comparación. No informar de los valores de los pacientes relacionados con los tiempos de coagulación de plasma de control comercial. Dichos controles sólo se utilizan como garantía de calidad del sistema de prueba.

### VIII. Limitaciones

El proceso bioquímico de coagulación implica una serie de reacciones que están influenciadas por múltiples condiciones previas a la prueba. Es necesario controlar estas variables si se desea obtener resultados reproductibles.<sup>3</sup>

### Técnica

- El pH del plasma subirá si éste queda expuesto al aire. Guardar las muestras en frascos tapados.
- APTT-XL está diseñado para funcionar a una temperatura de 37 °C ± 0,5 °C. Compruebe frecuentemente la temperatura de todos los elementos calefactores.
- Todos el material del laboratorio debe estar limpio y exento de restos de detergentes.
- Siga cuidadosamente las instrucciones del fabricante sobre el mantenimiento correcto del instrumento.

### Sustancias interferentes

- Oxalato de sodio, EDTA y heparina no son anticoagulantes adecuados.
- Es sabido que los contraceptivos orales, los estrógenos, el embarazo, los fármacos derivados de la cumarina, la heparina, la aspiraginasa, y la naloxona afectan a los resultados de TTPA<sup>4</sup>.

Conc. d'héparine (unités/mL)	TCA (secondes)
0,0	28,8
0,1	38,3
0,2	50,1
0,3	63,1
0,4	80,9
0,5	98,0

Chaque laboratoire doit élaborer sa propre courbe de sensibilité à l'héparine en utilisant la même source d'héparine que celle employée par cette institution pour le traitement. Les résultats peuvent varier en fonction des marques d'héparine, de l'origine des tissus et des formes salines.<sup>1,2</sup>

### Sensibilité à l'héparine

L'effet anticoagulant de l'héparine dépend de plusieurs facteurs, notamment : un niveau approprié d'antitrombine-III, l'activation plaquette et la libération consécutive du facteur plaquette 4 lors de la préparation de l'échantillon, la présence *in vivo* d'autres médicaments, le taux du métabolisme de l'héparine, le mode d'administration de l'héparine y un retard dans la manipulation de l'échantillon. Parallèlement à ces variables, le laboratoire peut mesurer la sensibilité relative d'un réactif donné à l'héparine en ajoutant des quantités d'héparine connues à des pools d'échantillons de plasma normal et en effectuant un test TCA.

Ainsi, les résultats suivants ont été obtenus sur un instrument à cellule photoélectrique avec un lot de réactif APTT-XL.<sup>10</sup>

Facteur	% d'activité	TCA (secondes)
</tbl



# Pacific Hemostasis

## APTT-XL

### I. Uso previsto

Il reagente Pacific Hemostasis APTT-XL può essere utilizzato per eseguire il test del tempo della trombofattina parziale attivata (APTT) e per le analisi basate su APTT utilizzando l'attivatore acido ellagico.

### II. Riepilogo e principi del test

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

Il test APTT viene, inoltre, utilizzato per monitorare la terapia a base di epatina dal momento che il prolungamento dell'APTT è direttamente proporzionale a quantità maggiori di epatina.<sup>12</sup>

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.

### III. Reagente

Per diagnostica *in vitro*.

**Composizione:** 0,003 % acido ellagico, 0,005 % sieroalbumina bovina (BSA), 0,30 % fenolo, 2,6 % tamponi, sali e stabilizzanti.

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.<sup>4</sup>

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

### IV. Raccolta dei campioni

Per il test sulla coagulazione si raccomanda l'uso dell'anticoagulante al citrato trisodico al 3,2% (0,109 M). Evitare l'emolisì e la contaminazione da parte dei liquidi tessutali. Non utilizzare i campioni con un volume di riempimento previsto inferiore al 90 %. 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. Per maggiori informazioni sulla raccolta e sulla conservazione dei campioni vedere il documento NCCLS H21-A3.<sup>3</sup>

- Non ritardare la miscelazione del sangue con l'anticoagulante.
- Evitare la formazione di schiuma nei campioni.
- Utilizzare esclusivamente contenitori di vetro al borosilicato siliconato oppure in plastica.
- I campioni torbidi, itenici, lipemici oppure emolizzati potrebbero dare luogo a risultati errati.
- Il congelamento e lo scongelamento del plasma contenente cellule residue può danneggiare le membrane delle cellule compromettendo i risultati.
- Reazioni infiammatorie acute possono ridurre il valore dell'APTT a causa dell'aumentata quantità di fibrinogeno.
- Campioni di plasma con ematocrito non compreso tra 20–55 % potrebbero non rispondere correttamente al test di coagulazione e dovranno essere opportunamente corretti.

### V. Procedura del test

**Materiali in dotazione:** APTT-XL Reagent liquido, 10 x 10 mL oppure 10 x 4 mL

**Materiali necessari, ma non in dotazione:**

Pacific Hemostasis Calcium Chloride solution (0,02 M)

Cronometro o timer

Pipettatrice di precisione: 0,1 mL

Controlli normali ed abnormali quali campioni di Pacific Hemostasis Coagulation Control Plasmas, Level 1, 2 e 3

APTT-XL è indicato per l'uso con metodi di rilevamento del coagulo manuale, meccanico, foto-ottico oppure di altro tipo. Per un corretto utilizzo della strumentazione attenersi alle raccomandazioni della ditta produttrice. Per le analisi manuali:

- A. Preriscaldare il Calcio Cloruro (0,02 M) a 37 °C.
- B. Aggiungere 0,1 mL di plasma da testare nella cuvetta e preriscaldare a 37 °C.
- C. Aggiungere 0,1 mL di APTT-XL al plasma da testare. Miscolare.
- D. Incubare la miscela reagente-plasma a 37 °C per 3–5 minuti (tempo di attivazione). Per risultati coerenti, testare tutti i campioni di plasma con lo stesso tempo di attivazione.
- E. Aggiungere quindi 0,1 mL di Calcio Cloruro (Calcio Cloruro) preriscaldato e cronometrare il tempo di formazione del coagulo.

### VI. Controllo della qualità

Insieme al campione di plasma del paziente testare sempre anche i campioni di plasma normale ed anomale quali i campioni di plasma di Pacific Hemostasis Coagulation Control, Level 1, 2 e 3. Il Level 1 rappresenta un campione di plasma normale ed i Level 2 e 3 vengono corretti per simulare, rispettivamente, plasma con deficit moderati e gravi. Prima di iniziare i test ogni giorno ed almeno una volta ad ogni cambio di turno oppure con ciascun gruppo di test, procedere ad un controllo normale ed almeno un controllo anomale. È necessario, inoltre, procedere ad un test dei controlli ad ogni cambio del reagente oppure in occasione di importanti regolazioni della strumentazione. Ciascun laboratorio è tenuto a stabilire un range di controllo che rappresenti la variazione ammessa nelle prestazioni giornaliere per ciascun controllo.

### VII. Risultati

Arrotondare i tempi di coagulazione relativi a ciascun campione di plasma allo 0,1 secondi più vicino. È possibile, inoltre, indicare un range di riferimento normale per effettuare la comparazione. Non annotare i valori del paziente relativi a tempi di coagulazione del plasma di controllo commerciali. I controlli servono esclusivamente a garantire la qualità del sistema di analisi.

### VIII. Limitazioni

L'analisi biochimica della coagulazione comprende una serie di reazioni influenzate da numerose condizioni preesistenti all'analisi. Per ottenere risultati riproducibili è necessario controllare tali variabili.<sup>3</sup>

#### Tecnica

- Il pH del plasma aumenta se esposto all'aria. Conservare i campioni tappati.
- APTT-XL 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.

#### Sostanze interferenti

- Ossalato di sodio, EDTA ed epatina non sono adatti come anticoagulanti.
- È riportato in letteratura che i contraccettivi orali, gli estrogeni, la gravidanza, i farmaci tipo cumarina, l'epatina, l'asparaginasi ed il nalossone influenzano i risultati dell'APTT.<sup>4</sup>

### ITALIANO

#### IX. Valori attesi

Dall'analisi dell'APTT-XL su una popolazione normale, sono emersi i seguenti risultati:<sup>9</sup>

	valore medio	range ± 2SD
Meccanico	29,9	24,0 – 35,2
Foto-ottico	29,8	24,2 – 36,3

Questi valori vanno considerati esclusivamente come linee guida. Ciascun laboratorio deve stabilire un range di riferimento normale (NRR, Normal Reference Range) utilizzando la strumentazione, i metodi di raccolta del sangue e le tecniche di analisi utilizzate in tale laboratorio. Il NRR deve essere nuovamente stabilito o verificato almeno ad ogni cambio del numero di lotto dello stesso reagente.<sup>10</sup> Stabilire un nuovo NRR ad ogni cambio di reagente, strumentazione, tecniche di raccolta del sangue o di anticoagulante.

#### X. Caratteristiche delle prestazioni

##### Sensibilità all'epatina

L'azione anticoagulante dell'epatina 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'epatina, il modo di somministrazione dell'epatina 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'epatina aggiungendo un quantitativo noto di epatina 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-XL:<sup>10</sup>

Concentraz. epatina (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'epatina utilizzando la stessa fonte di epatina utilizzata in loco per la terapia. Le variazioni possono essere dovute a diversità nelle marche di epatina, nell'origine del tessuto e alle diverse forme di sale.<sup>12,5</sup>

##### Sensibilità al fattore

Un reagente APTT con adeguata sensibilità deve presentare un tempo di coagulazione prolungato in campioni con attività del fattore pari al ≤ 30–40 %.<sup>6,7</sup> APTT-XL è stato esaminato su plasma medianamente o gravemente carente ottenendo i seguenti risultati:<sup>11</sup>

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
Prekalikrein	<1 %	69,5

La sensibilità, inoltre, di APTT-XL al fattore VIII è stata determinata nel modo seguente:<sup>12</sup>

% 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.

#### XI. 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., 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.
- 8-12. Informazioni ottenute dal file 510(k).

Symbols Key	
	Manufacturer Hersteller Fabricant Fabricante Fabbricante
	IVD <i>In Vitro Diagnostic Medical Device</i> Medizinprodukt für die <i>in-vitro-Diagnostik</i> Matériel médical pour utilisation diagnostique <i>in vitro</i> Dispositivo medico per diagnosi <i>in vitro</i>
	LOT Lot Number Chargenummer Numéro de lot Número de lote Numero di lotto
	Use By Verfallsdatum Utiliser jusque Fecha de caducidad Da utilizzare entro
	Temperature Limitation Temperatur einschränkungen Limite de température Límite de temperatura Limiti di temperatura
	CE CE Mark CE-Markierung Marquage CE Marca CE Marchio CE
	REF Catalogue Number Katalognummer Référence catalogue Número de catálogo Numero di catalogo
	i Consult Instructions for Use Bedienungsanleitung lesen Consulter le manuel d'utilisation Consultar las instrucciones de uso Consultare le istruzioni per l'uso
	EC REP Authorized Representative in the European Community Autorisierte Vertretung in der Europäische Gemeinschaft Représentant agréé pour La Communauté européenne Representante autorizado en la Comunidad Europea Rappresentante autorizzato nella Comunità europea

||
||
||