



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.^{1,2} 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. ⁸

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-A4.³

- 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 pipetter: 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.³

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.⁴

IX. Expected Values

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

	mean	± 2SD range
Mechanical	29.9	24.0 - 35.2
Photo-optical	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.³ A new NRR should be established with any change in reagents, instrumentation, blood collection techniques, or anticoagulant.

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: ¹⁰

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. ^{12,5}

Factor Sensitivity

An APTT reagent with adequate sensitivity should demonstrate a prolonged clotting time in samples having ≤ 30-40% factor activity.^{6,7} APTT-XL was evaluated on mildly and severely deficient plasmas with the following results: ¹¹

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: ¹²

% 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. Data found in 510(K) file.

ORDERING INFORMATION		
Cat. No.	Description	Contents
100402	APTT-XL	10 x 4 mL
100403	APTT-XL	10 x 10 mL
100304	CaCl ₂ (0.02M)	10 x 10 mL

FISHER DIAGNOSTICS® LIMITED WARRANTY		
Fisher Diagnostics (FD) warrants to the purchaser only that FD products will perform as described on their labeling and product literature. Purchaser must determine the suitability of FD products for their specific applications. FD's sole obligation will be, at its option, to either replace a non-conforming or defective product, or return the purchase price. FD DISCLAIMS ALL OTHER WARRANTIES, EXPRESSED OR IMPLIED, INCLUDING THE WARRANTIES OF MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR ANY PARTICULAR PURPOSE. Neither FD nor its affiliates shall, in any event, be liable for incidental or consequential loss or damage.		
All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.		



Pacific Hemostasis APTT-XL

I. Verwendungszweck

Pacific Hemostasis APTT-XL wird eingesetzt zur Durchführung des APPT-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 Plasmaerinnungsfaktoren außer Faktor VII reagiert. Er wird jedoch hauptsächlich verwendet, um Mängel bei den Faktoren VIII, IX, XI, XII und Präkallikrein zu erkennen.

Der APTT-Test wird häufig zur Monitorisierung der Heparintherapie verwendet, da die APTT-Verlängerung direkt proportional zur zunehmenden Heparinmenge ist.^{1,2} Der APTT-Test wird durchgeführt, indem dem der Probe ein Reagenz hinzugefügt wird, das einen Plasmaaktivator 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.¹

Nach einer längeren Lagerung kann sich gelbes Sediment bilden. Vor der Verwendung vorsichtig schütteln. Fehlerhafte Werte, Qualitätskontrollwerte 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. Probenvorbereitung

Für Koagulationsversuche werden 3,2 % (0,109 M) des Thrombininhibitors Trinitriumcitrat 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-A4.³

- 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 hämolyzierte 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 Reagent, 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)

Stoppuhr 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 Gerinnungsvorgängen. Für eine ordnungsgemäße Verwendung der Instrumente sind die Anweisungen des Herstellers zu beachten. Manuelle Durchführung:

- A. Calcium Chloride (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.
- D. Die Plasma-Reagenz-Mischung 3–5 Minuten lang bei 37 °C inkubieren (Aktivierungszeit). Um konsistente Ergebnisse zu gewährleisten, sollten alle Plasmen mit derselben Aktivierungszeit getestet werden.
- E. 0,1 mL vorgewärmtes Calcium Chloride hinzufügen und mit einer Stoppuhr messen, wann der Gerinnungsvorgang beginnt.

VI. Qualitätskontrolle

Normale und abnormale Plasmen, z. B. Pacific Hemostasis Coagulation Control Level 1, 2 und 3, sollten zusammen mit Patientenplasmen getestet werden. Level 1 ist ein normales Plasma und Level 2 und 3 sind angepasst, um moderat bzw. schwer defizientes Plasma zu imitieren. Bei der Testinitiation sollte eine normale und mindestens eine abnormale Kontrolle jeden Tag und mindestens einmal pro Schicht oder mit jeder Versuchsreihe durchgeführt werden. Die Kontrollen sollten auch bei jedem Reagenzwechsel oder einer umfassenden Instrumentenanpassung durchgeführt werden. Jedes Laboratorium sollte einen Kontrollbereich festlegen, der die zulässigen Abweichungen der täglichen Ausführung für alle Kontrollen darlegt.

VII. Ergebnisse

Zeichnen Sie die Gerinnungszeit für jedes Plasma bis auf 0,1 Sekunden genau auf. Zum Vergleich kann auch ein normaler Referenzbereich herangezogen werden. Die Gerinnungszeiten von kommerziellen Kontrollplasmen zur relativen Gerinnungszeit werden nicht dokumentiert. Die Kontrollen dienen nur der Qualitätskontrolle des Testsystems.

VIII. Grenzen des Verfahrens

Die Biochemie der Koagulation umfasst eine Reihe von Reaktionen, die durch viele Bedingungen bei der Testvorbereitung beeinflusst werden. Um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, müssen diese Variablen kontrolliert werden.³

Technische Hinweise

- Wenn die Proben Luft ausgesetzt werden, erhöht sich der Plasma-pH-Wert. Die Proben daher verschlossen lagern.
- APTT-XL wurde für den Einsatz bei 37 °C ± 0,5 °C entwickelt. Die Temperatur aller Heizelemente muss daher regelmäßig geprüft werden.
- Alle Instrumente müssen gereinigt und frei von Reinigungsmittelrückständen sein.
- Für eine ordnungsgemäße Wartung sind die Anweisungen des Herstellers zu beachten.

Störende Substanzen

- Natriumoxalat, EDTA und Heparin sind keine geeigneten Thrombininhibitoren.
- Orale Kontrazeptiva, Östrogene, Schwangerschaft, Kumarinderivate, Heparin, Asparaginase und Naloxon wirken sich auf APTT-Ergebnisse aus.⁴

IX. Erwartete Werte

Eine Auswertung von APTT-XL in einer normalen Population ergab die folgenden Ergebnisse: ⁹

	Mittelwert	± 2 SD-Bereich
Mechanisch	29.9	24.0 – 35.2
Photo-optisch	29.8	24.2 – 36,3

Diese Werte sollten nur als Richtlinie verwendet werden. Jedes Labor sollte einen normalen Referenzbereich (NRR) festlegen, der die in diesem Labor verwendete Instrumentierung, die Blutentnahmeverfahren und Versuchsmethoden berücksichtigt. Der NRR sollte neu festgelegt oder zumindest überprüft werden, wenn die Chargennummern innerhalb desselben Reagenz geändert werden.¹ Bei einem Wechsel des Reagenz, der Instrumentierung, der Blutentnahmeverfahren oder des Thrombininhibitors sollte ein neuer NRR festgelegt werden.

X. Leistungsmerkmale

Heparinempfindlichkeit

Die thrombininhibitorische Aktivität von Heparin ist von vielen Faktoren abhängig, einschließlich einer ausreichenden Menge an Antithrombin-III, der Thrombozytenaktivierung und der anschließenden Freisetzung des Thrombozytenfaktors 4 während der Probenvorbereitung, weiterer *In-vivo*-Medikationen, des Heparin-Klärfaktors, der Methode der Heparin-Verabreichung und einer verzögerten Probenverarbeitung. Unter Berücksichtigung dieser Variablen kann das Laboratorium die relative Heparinempfindlichkeit eines gegebenen Reagenz ermitteln, indem bekannte Mengen an Heparin zu gepooltem normalen Plasma hinzugefügt werden und ein APTT ausgeführt wird. Die folgenden Ergebnisse wurden auf einem photo-optischen Instrument mit einem Los des APTT-XL-Reagenz erzielt: ¹⁰

Heparinkonzentration (Einheit/ml)/mL)	APTT (Sekunden)
0.0	28.8
0.1	38.3
0.2	50.1
0.3	63.1
0.4	80.9
0.5	98.0

Jedes Laboratorium sollte mit Hilfe der „in-house“ für die Therapie verwendeten Heparinkonzentration seine eigene Heparinempfindlichkeitskurve erstellen. Abweichungen können auf unterschiedliche Heparinderivate, Gewebersprung und Salzformen beruhen.^{12,5}

Empfindlichkeitsfaktor

Ein APTT-Reagenz mit einer angemessenen Empfindlichkeit sollte in Proben mit einer Faktoraktivität von ≤30–40 % eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.^{6,7} APTT-XL wurde bei moderat und schwer defizienten Plasmen mit den folgenden Ergebnissen beurteilt:¹¹

Faktor	% Aktivität	APTT (Sekunden)
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

Desweiteren wurde die Empfindlichkeit von APTT-XL gegenüber Faktor VIII folgendermaßen ermittelt: ¹²

% Faktor VIII	APTT (Sekunden)
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

Diese Werte sollten nur als Richtlinie verwendet werden. Jedes Laboratorium sollte die Empfindlichkeit gegenüber einzelnen Faktoren unter Berücksichtigung der in diesem Laboratorium verwendeten Instrumentierung, der Blutentnahmeverfahren und der Versuchsmethoden festlegen.

XI. Referenzen

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*. Hrsg. 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.

BESTELLINFORMATIONEN		
Kat.- Nr.	Beschreibung	Inhalt
100402	APTT-XL	10 x 4 mL
100403	APTT-XL	10 x 10 mL
100304	CaCl ₂ (0,02 M)	10 x 10 mL

FISHER DIAGNOSTICS® GEWÄHRLEISTUNGSAUSSCHLUSS		
Fisher Diagnostics (FD) garantiert dem Käufer nur, dass die FD-Produkte die Angaben auf den Etiketten und in der entsprechenden Produktdokumentation erfüllen. Der Käufer muss die spezifische Anwendungstauglichkeit der FD-Produkte selbst ermitteln. FD verpflichtet sich nach eigenem Ermessen ein fehlerhaftes oder unbrauchbares Produkt zu ersetzen oder die Anschaffungskosten zu ersetzen. FD SCHLIESST ALLE ANDEREN GEWÄHRLEISTUNGEN, AUSDRÜCKLICH ODER STILLSCHWEIGEND, EINSCHLIESSLICH DER GEWÄHRLEISTUNGEN DER MARKTGÄNGIGKEIT UND TAUGLICHKEIT FÜR BESTIMMTE ZWECKE AUS. Desweiteren sind weder FD noch ihre Vertreter in keinem Fall haftbar für beiläufig entstandene oder Folgeschäden bzw. -verluste.		

All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.



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 prélèvement 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.² Tout changement de réactif, d'instruments, de technique de prélèvement sanguin ou d'anticoagulants implique l'élaboration d'un nouvel INR.

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, IL, 1982, pp 195.
3. NCCLS: *Collection, transport, and processing of blood specimens for coagulation testing and performance 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. Données figurant dans le dossier 510(k).

All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

Pacific Hemostasis APTT-XL

- 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 asparaginasa, y la naloxona afectan a los resultados de TTPA⁴.

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, IL, 1982, pp 195.
3. NCCLS: *Collection, transport, and processing of blood specimens for coagulation testing and performance of coagulation assays*. 4th edition. Updated 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. Información procedente de un archivo de 510(K).

Fisher Diagnostics (FD) garantiza al comprador que sólo los productos de Fisher Diagnostics funcionarán tal y como se describe en sus etiquetas y documentación. El comprador debe determinar si los productos de Fisher Diagnostics son idóneos para sus aplicaciones específicas. La única obligación de Fisher Diagnostics será, a su elección, la sustitución de un producto defectuoso o que no cumpla con las especificaciones, o bien la devolución del precio de compra. **FD RECHAZA CUALQUIER OTRA GARANTÍA, SEA EXPRESA O IMPLÍCITA, INCLUYENDO LAS GARANTÍAS DE COMERCIABILIDAD E IDONEIDAD PARA CUALQUIER PROPÓSITO DETERMINADO.** Ni FD ni sus afiliados podrán ser considerados responsables, en ningún caso, por las pérdidas o daños incidentales o consecuentes.

All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.



Pacific Hemostasis APTT-XL

I. Uso previsto

Il reagente Pacific Hemostasis APTT-XL può essere utilizzato per eseguire il test del tempo della tromboplastina 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 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.^{1,2} 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.³

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'emolisi e la contaminazione da parte dei liquidi tissutali. Non utilizzare i campioni in 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-A3.³

- Non ritardare la miscelazione del sangue con l'anticoagulante.
- Evitare la formazione di schiuma nei campioni.
- Utilizzare esclusivamente contenitori di vetro al borosilicato siliconati oppure in plastica.
- I campioni torbidi, itterici, 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 ai 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 anormali 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:

- Preriscaldare il Calcio Cloruro (0,02 M) a 37 °C.
- Aggiungere 0,1 mL di plasma da testare nella cuvetta e preriscaldare a 37 °C.
- Aggiungere 0,1 mL di APTT-XL al plasma da testare. Miscelare.
- 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.
- 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 anormale 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 ad almeno un controllo anormale. 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.³

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 eparina non sono adatti come anticoagulanti.
- È riportato in letteratura che i contraccettivi orali, gli estrogeni, la gravidanza, i farmaci tipo cumarina, l'eparina, l'asparaginaso ed il nalossone influenzano i risultati dell'APTT.⁴

IX. Valori attesi

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

	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.⁹ Stabilire un nuovo NRR ad ogni cambio di reagente, strumentazione, tecniche di raccolta del sangue o di anticoagulante.

X. Caratteristiche delle prestazioni

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-XL:¹⁰

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.^{1,2,5}

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 %.^{6,7} APTT-XL è stato esaminato su plasma mediamente o gravemente carente ottenendo i seguenti risultati:¹¹

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-XL al fattore VIII è stata determinata nel modo seguente:¹²

% 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

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

INFORMAZIONI PER GLI ORDINI		
N. cat.	Descrizione	Contenuto
100402	APTT-XL	10 x 4 mL
100403	APTT-XL	10 x 10 mL
100304	CaCl ₂ (0,02 M)	10 x 10 mL

GARANZIA LIMITATA FISHER DIAGNOSTICS

Fisher Diagnostics (FD) garantisce all'acquirente esclusivamente che i prodotti FD avranno prestazioni conformi a quanto descritto nell'etichetta e nella documentazione del prodotto. L'acquirente è tenuto ad accertare l'idoneità dei prodotti FD alle applicazioni specifiche. In caso di un prodotto non conforme o difettoso, l'unico obbligo di FD è rappresentato, a sua discrezione, dalla sostituzione oppure dal rimborso del prezzo di acquisto. FD RIFIUTA QUALSIASI ALTRA GARANZIA, ESPRESSA O IMPLICITA, INCLUSE LE GARANZIE DI COMMERCIALITÀ ED IDONEITÀ A QUALSIASI SCOPO PARTICOLARE. Né la FD né le sue affiliate saranno in alcun caso ritenute responsabili di perdite o danni incidentali o indiretti.

All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

ITALIANO

Symbols Key	
	Manufacturer Hersteller Fabricant Fabricante Fabbricante
IVD	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device Medizinprodukt für die <i>in-vitro</i> -Diagnostik Matériel médical pour utilisation diagnostique <i>in vitro</i> Dispositivo médico para diagnóstico <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 Temperaturschranken Limite de température Limite 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
	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 Europäischen Gemeinschaft Représentant agréé pour La Communauté européenne Representante autorizado en la Comunidad Europea Rappresentante autorizzato nella Comunità europea



EC REP

WMDE
Bergerweg 18
6085 AT Horn
The Netherlands



Fisher Diagnostics
a division of Fisher Scientific Company, LLC
a part of Thermo Fisher Scientific Inc.
Middletown, VA 22645-1905 USA
Phone: (800) 528-0494
(540) 869-3200
Fax: (540) 869-8132

JL840800(R0)

Thermo
SCIENTIFIC