







## 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 precallieina.

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.<sup>1,2</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>1</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'emolisi e la contaminazione da parte dei liquidi tissutali. 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 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 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

Pipettrice 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.<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 detersigenti.
- 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'asparaginasì ed il nalossone influenzano i risultati dell'APTT.<sup>4</sup>

### IX. Valori attesi

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

	<b>valore medio</b>	<b>range ± 2SD</b>
<b>Meccanico</b>	29,9	24,0 – 35,2
<b>Foto-ottico</b>	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>3</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'eparina

L'azione anticoagulante dell'eparina dipende da numerosi fattori tra cui un adeguato livello di antitrombina-III, l'attivazione piastriatica e il conseguente rilascio del fattore 4 piastriatico 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:<sup>10</sup>

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.<sup>1,2,5</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 mediamente o gravemente carente ottenendo i seguenti risultati:<sup>11</sup>

Fattore	% attività	APTT (secondi)
VIII	<1 <span> </span> %	82,0
VIII	20 <span> </span> %	44,8
IX	<1 <span> </span> %	83,5
IX	20 <span> </span> %	40,9
XI	<1 <span> </span> %	134,2
XI	20 <span> </span> %	47,8
XII	<1 <span> </span> %	>200
XII	20 <span> </span> %	36,2
Prekallikrein	<1 <span> </span> %	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 <span> </span> %	32,5
70 <span> </span> %	34,0
50 <span> </span> %	36,9
40 <span> </span> %	38,9
30 <span> </span> %	40,8
20 <span> </span> %	44,4
10 <span> </span> %	50,6
5 <span> </span> %	56,1
1 <span> </span> %	68,1
<1 <span> </span> %	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 <sub>2</sub> (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
<b>IVD</b>	<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>
<b>LOT</b>	Lot Number Chargennummer Numéro de lot Número de lote Numero di lotto
	Use By Verfallsdatum Utiliser jusque Fecha de caducidad Da utilizzare entro
	Temperature Limitation Temperaturschränkungen Limite de température Limite de temperatura Limiti di temperatura
	CE Mark CE-Markierung Marquage CE Marca CE Marchio CE
<b>REF</b>	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
<b>EC REP</b>	Authorized Representative in the European Community Autorisierte Vertretung in der Europäische Gemeinschaft Représentant agréé pour La Communauté européen 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