



I. Indicazioni d'Uso

Il Test dell' aPTT viene impiegato nella determinazione in vitro del tempo di tromboplastina parziale attivata (APTT), come procedura per la valutazione globale della via intrinseca (1), per il monitoraggio eparinico nella terapia anticoagulante (2-4) e per l'uso in altre metodiche di coagulazione, nelle quali si rende necessario il reagente aPTT.

II. Riepilogo e Principio

Nel test APTT viene utilizzato un attivatore di contatto per stimolare la generazione del fattore XIa fornendo una superficie per l'interazione di fattore XI, ad alto peso molecolare chininogeno, callicreina e Fattore XIIIa (1).

L'attivazione di contatto avviene a 37°C per un determinato periodo di tempo. Successivamente viene aggiunto Calcio Cloruro per innescare ulteriori reazioni che porteranno alla formazione di un coagulo di fibrina. I fosfolipidi formano complessi che attivano il fattore X e la protrombina.

Il reagente APTT del kit **contiene fosfolipidi e silice** per garantire una elevata consistenza e stabilità(5).

Il reagente APTT non è specificamente sensibile al Lupus Anticoagulante (6-7), producendo così risultati più affidabili rispetto a reagenti più sensibili agli inibitori del Lupus, che occasionalmente si trovano tra i plasmi umani.

Si potranno osservare tempi di coagulazione prolungati nelle seguenti situazioni: carenza di Fattore XII, XI, X, IX; VIII; V, II o fibrinogeno, nelle malattie del fegato, carenza di vitamina K, presenza di eparina, Lupus Anticoagulante o altri inibitori, che influenzano la via intrinseca (8).

Un APTT accorciato può essere correlato ad un aumentato di rischio di trombosi venosa (9).

III. Il Reagente

Per uso diagnostico *in vitro*.

Conservazione

Conservare i flaconi chiusi a 2 - 8 °C. Il reagente, se impiegato e conservato secondo buona prassi di laboratorio, è stabile fino alla scadenza riportata in etichetta.

Contenuto del Kit

HD10.641/A	aPTT 5x4 ml contenente silicato colloidale con fosfolipidi (attivatore), tampone, stabilizzatore e conservanti.
HD10.641/B	CaCl₂ 5x4 ml soluzione di cloruro di calcio 0.025M pronta all'uso con conservanti.

Preparazione

Agitare delicatamente il reagente aPTT per garantire l'omogeneità del reagente.

Il reagente, una volta aperto il flacone, è stabile 30 giorni se conservato a 2 - 8° C (NON CONGELARE).

E' indispensabile che il reagente, al momento dell'uso, sia a temperatura ambiente.

Avvertenza: Questo prodotto contiene sodio azide come conservante. Lo smaltimento di questi reagenti nelle tubature deve essere effettuato insieme ad abbondanti quantità di acqua, per evitare la formazione di azidi metallici che, se a contatto con tubature di piombo in alte concentrazioni, potrebbero essere potenzialmente esplosive.

Stabilità

La scadenza indicata sul flacone è relativa al limite di validità del flacone sigillato. La stabilità del flacone tappato dopo l'apertura è di otto ore a 37°C e di 30 giorni a 2-8°C.

Eventuali segni di deterioramento sono rivelabili dai risultati del controllo qualità al di fuori dell'intervallo previsto di laboratorio. Conservare a 2-8°C quando il prodotto non è in uso. Non congelare.

IV. Raccolta dei campioni e preparazione

Prelievo

Non occorre una particolare preparazione del paziente e non è necessario che sia a digiuno. Si consiglia plasma adizionato con citrato di sodio al 3,2% (0,109 M). Per ottenere risultati accurati, utilizzare nove parti di sangue con una parte di anticoagulante. I risultati di campioni plasmatici emolizzati, itterici o lipemici devono essere interpretati con attenzione. Centrifugare i campioni per 15 minuti a 1500 x g.

Si raccomanda che la raccolta e la conservazione dei campioni effettuati conformemente alla linea guida CLSI H21-A5 (10).

In caso di plasma povero (conta piastrinica <10.000 / ml). A meno che i campioni siano testati immediatamente, trasferire il plasma in una provetta di plastica subito dopo la centrifugazione.

Conservazione

I campioni di plasma possono essere conservati a temperatura ambiente (18-26 °C) o refrigerati (2-8 °C) per un massimo di 4 ore; congelati a -20 °C per un massimo di 2 settimane o a -70 °C per un massimo di 6 mesi.

I campioni devono essere scongelati rapidamente e testati immediatamente, entro 2 ore dopo una conservazione a 2-8 °C.

Dovrebbe essere evitato il contatto del campione con il vetro.

V. Procedura

Avvertenze e Precauzioni

- Non pipettare con la bocca alcun materiale. Non fumare, mangiare o bere nelle aree in cui si trattano campioni o reagenti del kit.
- Utilizzare guanti monouso e trattare tutti i campioni utilizzati per il test come potenzialmente infetti. Consultare immediatamente un medico in caso di ingestione di materiali ematici o di loro contatto con ferite aperte, lesioni o soluzioni di continuo della pelle.
- Qualora si sia versato del liquido, pulire immediatamente con una soluzione 1:10 di ipoclorito di sodio al 5% (candeggina). Eliminare il materiale di pulizia con un metodo adatto.
- Trattamento degli emoderivati prima dell'eliminazione
 - Mettere in autoclave per 60 minuti a 121°C.
 - Incenerire i materiali monouso.
 - Miscelare i rifiuti liquidi con una soluzione al 5% di ipoclorito di sodio, in modo che la concentrazione finale contenga circa lo 1% di ipoclorito di sodio. Lasciare riposare la soluzione per 30 minuti prima di eliminarla.

Materiali necessari ma non forniti

- Cronometro o timer
- Pipetta di precisione 0,1 ml
- Plasma di controllo

aPTT è utilizzabile con sistemi di rilevamento del coagulo manuali, meccanici fotometrici e nefelometrici. Seguire le istruzioni del costruttore della propria strumentazione.

Procedura Manuale

- Preriscaldare a 37° un volume sufficiente di cloruro di calcio.
- Contrassegnare una provetta per ciascun campione (paziente e di controllo) da saggiare. (Si consiglia di eseguire i campioni in doppio)
- Pipettare 0,1 ml di campione paziente o di controllo nella relativa provetta, incubare da 1 a 2 minuti.
- Successivamente pipettare 0,1 ml di **aPTT** in ciascuna provetta
- Incubare ciascun campione paziente o controllo a 37°C per cinque minuti
- Dopo l'attivazione, pipettare immediatamente 0,1 ml di cloruro di calcio preriscaldato in ciascuna provetta ed iniziare contemporaneamente a cronometrare il tempo di coagulo
- Registrare il tempo, in secondi, di coagulo incipiente.

Precauzioni e note procedurali

- È importante che le provette in vetro (o plastica) utilizzate siano pulite. La superficie del contenitore e l'area della superficie possono influire sull'attivazione dei campioni. Si raccomanda di adottare tecniche costanti per tutte le procedure di coagulazione. Si consiglia di eseguire determinazioni in duplicato.
- La procedura riportata per il test rapido del tempo di protrombina è adatta per i metodi manuali. Le determinazioni automatizzate devono essere eseguite in conformità alle istruzioni specifiche allegate allo strumento utilizzato.
- Si consiglia l'uso di plasma di controllo (HaemoDiagnostics Level 1, 2) per il monitoraggio dei test di coagulazione.

VI. Controllo di Qualità

Si consiglia l'uso di plasma di controllo (HaemoDiagnostics Level 1, 2) per monitorare i test di coagulazione, in accordo alle procedure di controllo di qualità stabilite dal laboratorio. CLSI raccomanda che i controlli siano analizzati all'inizio del test, almeno una volta per turno, oppure contestualmente a ciascuna analisi. Nei laboratori che trattano volumi elevati, i controlli devono essere analizzati almeno ogni 40 campioni.³

Se i valori del controllo non rientrano nel range di riferimento, non comunicare i risultati al paziente. Determinare quale parte dello strumento/reagente/sistema di controllo che non abbia funzionato in modo appropriato e risolvere il problema. Dopo aver attuato e documentato tutte le correzioni in base alla buona pratica di laboratorio,

Simbologia utilizzata



Scadenza Lotto



Numero di Lotto



Codice Prodotto



Conservare a 2 - 8 °C



Solo per uso *in vitro*



Consultare le istruzioni

IFU 10.641 Rev 1.0 Apr. 2016



Produttore

P.R.I.S.M.A. srl

Via Cavour 42
I-20865 Usmate Velate MB
info@prismaonline.it
www.prismaonline.it
☎ +39 039 6076708



ri-analizzare i controlli. Se i valori ottenuti rientrano nel range, è possibile analizzare i campioni del paziente e comunicarne i risultati.

A causa delle numerose variabili (ad esempio i diversi produttori di eparina) che possono influenzare i fattori della coagulazione, ciascun laboratorio deve determinare la sensibilità all'eparina saggiando pool di plasmi normali addizionati con quantità note di eparina non frazionata.

VII. Risultati

Tempo di protrombina parziale attivata

Il tempo di formazione del coagulo ottenuto viene riportato in secondi con l'indicazione del range di normalità.

Ogni laboratorio dovrà stabilire il proprio range di normalità sulla specifica strumentazione utilizzato.

Rapporto del tempo di protrombina parziale attivata

Il rapporto di tempo di protrombina (Ratio) viene calcolato dividendo il tempo di tromboplastina parziale attivata del paziente per il APTT medio dell'intervallo di riferimento del laboratorio.

VIII. Interpretazione dei risultati

Mentre **aPTT** è adatto per la maggior parte dei metodi manuali o automatici di verifica del tempo di coagulo, metodi diversi possono comportare risultati lievemente diversi.

Si consiglia la massima cautela in fase di confronto dei risultati di metodi diversi.

IX. Risultati Previsti

I tempi di coagulazione dipendono da numerosi fattori quali la temperatura, la qualità dell'acqua, il pH, la forza ionica, il metodo di saggio impiegato, l'anticoagulante, la raccolta e la conservazione dei campioni e la popolazione di soggetti a cui il paziente appartiene. Per questa ragione ciascun laboratorio deve stabilire gli intervalli normali specifici per il saggio. Valori anormali ottenuti da campioni di pazienti non in terapia anticoagulante possono indicare carenza di fattori o la presenza di inibitori. Risultati anormali possono essere anche causati dall'assunzione di farmaci.

X. Performance

Precisione

TYPICAL PERFORMANCE (ACL 9000)		
	CV% (within run)	CV% (between runs)
Normal control	1,0	1,5
Abnormal control	1,0	1,5

Sensibilità ai Fattori della Coagulazione

aPTT è sensibile a deficienze della via intrinseca della cascata coagulativa. La sensibilità a deficit dei singoli fattori è stata determinata analizzando diluizioni di un pool di plasma con plasmi carenti dei singoli fattori così da ottenere concentrazioni finali dei fattori variabili tra 10 e 100%

Factor Sensitivity:			
Factor (%)	APTT-Clotting Time (in seconds)		
	Normal range 26,7-34,9 sec.		
	F VIII	F IX	FXI
<1	85,7	70,9	92,4
10	45,9	44,4	50,7
40	34,2	33,9	34,4
100	28,8	28,8	28,8

Tutti i test sono stati eseguiti mantenendo 5 minuti di incubazione su ACL300R. Il range di normalità mostrato corrisponde a una media +/- 2 SD.

I valori riportati sono puramente indicativi. Ciascun laboratorio deve stabilire le proprie curve di sensibilità ai fattori utilizzando la propria strumentazione e procedure.

Sensibilità all'eparina

Concentrazione Eparina (unità / mL)	Tempo APTT (secondi)
0.0	29.9
0.2	70
0.4	174

I risultati sono stati ottenuti utilizzando PNP addizionati di eparina non frazionata. Tutti i test sono stati eseguiti con 5 minuti di incubazione su ACL300R.

XI. Riferimenti

1. Proctor RR, Rapaport SI. The partial thromboplastin time with kaolin. A simple screening test for first stage plasma clotting factor deficiencies. *Am J Clin Pathol* 36, 212-219 (1961).
2. Triplett DA, Harms CS, Koepke JA. The effect of heparin on the activated partial thromboplastin time. *Am J Clin Pathol* 70, 556-569 (1978).
3. Barrowcliffe TW, Gray E. Studies of phospholipid reagents used in coagulation. II: Factors influencing their sensitivity to heparin. *Thromb Haemost* 46, 634-637 (1981).
4. Van den Besselaar AMHP, Neuteboom J, Bertina RM. Effect of synthetic phospholipids on the response of the activated partial thromboplastin time to heparin. *Blood Coag Fibrinol* 4, 895-903 (1993).
5. Stevenson KJ, Easton AC, Thomson JM, Poller L. The reliability of activated partial thromboplastin time methods and the relationship to lipid composition and ultrastructure. *Thromb Haemost* 55, 250-258 (1986).
6. Brandt JT, Triplett DA, Rock WA et al. Effect of lupus anticoagulants on the activated partial thromboplastin time. *Arch Pathol Lab Med* 115, 109-114 (1991).
7. Denis-Magdelaine A, Flahault A, Verdy E. Sensitivity of sixteen APTT reagents for the presence of lupus anticoagulants. *Haemostasis* 25, 98-105 (1995).
8. Hathaway WE, Assmus SL, Montgomery RR, Dubansky AS. Activated partial thromboplastin time and minor coagulopathies. *Am J Clin Pathol* 71, 22-25 (1979).
9. Tripodi A, Chantarangkui V, Martinelli I, Bucciarelli P, Mannucci PM. A shortened activated partial thromboplastin time is associated with the risk of venous thromboembolism. *Blood* 104, 3631-3634 (2004).
10. CLSI. Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for testing Plasma-Based Coagulation Assays, 5th Ed., *CLSI document H21-A5; Vol. 28 No. 5.*

XII. Informazioni per l'ordine

Codice	Denominazione	Quantità
HD10.641	aPTT with CaCl₂	5+5 x 4 mL
HD14.101	Normal Coagulation Control Level 1	10 x 1 mL
HD15.101	Abnormal Coagulation Control Level 2	10 x 1 mL

Simbologia utilizzata



Scadenza Lotto



Numero di Lotto



Codice Prodotto



Conservare a 2 -8 °C



Solo per uso in vitro



Consultare le istruzioni

IFU 10.641 Rev 1.0 Apr. 2016



Produttore

P.R.I.S.M.A. srl

Via Cavour 42
I-20865 Usmate Velate MB
info@prismaonline.it
www.prismaonline.it
☎ +39 039 6076708