

APTT	
Determinazione su plasma del tempo di Tromboplastina parziale attivata.	
REF	
MCLAPTT-120	IVD

### 1. RILEVANZA CLINICA

Il tempo di Tromboplastina Parziale Attivata (APTT) è un utile e valido metodo per lo screening dei pazienti con sindromi emorragiche, per la valutazione della terapia in atto in casi di disfunzioni pro-coagulanti e quale base per diversi procedure di saggio per la valutazione della funzionalità di diversi fattori della coagulazione. L'APTT è stato largamente utilizzato come test per il monitoraggio e regolazione nella terapia con eparina. La presenza di inibitori NON specifici come il Lupus-like anticoagulant (LAC), potrebbe aumentare l'APTT. L'APTT è anche sensibile alla diminuzione in concentrazione dei fattori di Fleicher e Fitzgerald I, II, V, VIII, IX, X, XI e XII.

### 2. PRINCIPIO

Il kit "APTT" misura il Tempo di Tromboplastina parziale attivata (APTT) cioè il tempo necessario alla formazione del coagulo quando si aggiunge al plasma un attivatore, omogeneo e standardizzato, e Calcio. E' inoltre largamente impiegato nel monitoraggio della terapia a base di eparina in quanto il prolungamento dell' APTT è direttamente proporzionale a quantità maggiore di eparina<sup>1,2</sup>. Il test non è sensibile al Fattore VII.

### 3. PREPARAZIONE E STABILITÀ DELLA SOLUZIONE DI LAVORO

#### Reagente:

#### R1) 1x6ml liquido e pronto all' uso

Cefalina, attivatore :

Acido ellagico 0,003 %; BES 1,06 %; Fenolo 0,30 %; Idrossido di potassio 0,30 %; Cloruro di potassio 0,10 %; Acido bórico 0,20 %; PVP -10 1,00 %; Trizina - HCl 0,008 %; Fosfolipidi da cervello di coniglio 0,007 %; Albumina bovina (BSA) 0,005 %; Acqua a volume

Il Reagente è stabile fino alla data di scadenza se conservato a 2 – 8° C.

#### R2) 1x6ml CaCl2 liquido e pronto all'uso.

(Non congelare)

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

Una prolungata conservazione del reagente potrebbe determinare la formazione di un sedimento giallo. In tal caso, prima dell' uso, agitare delicatamente. 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 del test.

### 4. PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

1. Evitare emolisi e contaminazioni. I campioni che presentano volumi inferiori al 90% devono essere scartati. (9 volumi di sangue ed 1 volume di Citrato trisodico 3,2%)

2. Centrifugare a 2500xg per 15 minuti

3. Prelevare il sovrantante ed eseguire il test entro 2 ore se il campione è conservato a 22 - 24°C. Per ulteriori dettagli circa la raccolta e la conservazione dei campioni vedere il documento NCCLS H21 – A3<sup>3</sup>.

### 5. PRECAUZIONI

Ogni qualvolta si manipolano agenti infettanti, reagenti chimici, reagenti di origine umana od animale, sangue o altri liquidi biologici, è consigliabile seguire le più comuni raccomandazioni e prendere tutte le necessarie precauzioni igieniche come l'utilizzazione di guanti monouso.

### 6. CONTROLLO DI QUALITÀ

Per il controllo di qualità utilizzare:

**Control Plasma I** 1 ml REF MCL-CONT I

**Control Plasma II** 1 ml REF MCL-CONT II

Nei laboratori con un forte carico di lavoro di PT e/o APTT, eseguire un controllo normale ed uno patologico almeno ogni 40 campioni.

**Ciascun laboratorio dovrebbe stabilire il proprio range di controllo che tenga conto delle possibili variazioni giornaliere delle performance di ciascun controllo**

### 7. MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

Normale strumentazione di laboratorio. Coagulometro con termostato per le cuvette. Micropipette automatiche. Cronometro.

### 8. PROCEDURA MANUALE

1. Dispensare 50 ul di Plasma citrato (sovrantante) in una delle provette in dotazione.

2. Aggiungere 50 ul di R1.

3. Miscelare e incubare per 3 – 5 minuti (tempo di attivazione).

4. Aggiungere 50 ul di R2 (Cloruro di calcio).

5. All' aggiunta del Cloruro di calcio far partire il cronometro e registrare il tempo per la formazione del coagulo.

### 9. VALORI DI RIFERIMENTO

**Ogni laboratorio deve determinare specifici valori di riferimento, sulla base della propria popolazione.** Di seguito i valori ottenuti sui campioni analizzati:

<b>Adulti:</b>	25 - 37 secondi
<b>Neonati (10 - 30 giorni):</b>	31 - 55 secondi
<b>Range terapeutico:</b>	50 - 80 secondi

Valori diminuiti di APTT sono stati riscontrati in casi di difficoltà nel raccogliere il campione o in casi di recenti traumi od interventi chirurgici.

### 10. Limitazioni della procedura.

L' analisi biochimica della coagulazione comprende una serie di reazioni influenzate da numerose condizioni preesistenti all' analisi stessa e, pertanto, per ottenere risultati riproducibili è necessario un costante controllo di tali variabili<sup>3</sup> come ad esempio:

•Il pH del plasma aumenta se esposto all' aria. Conservare, quindi, il plasma sempre in provette di plastica e di vetro siliconato ben chiuse

•Il prodotto è stato studiato per funzionare a 37° C 0,5° C. Assicurarsi che tutti gli elementi riscaldanti, pertanto, si trovino costantemente a tale temperatura

•Tutte le attrezzature di laboratorio devono risultare sempre perfettamente pulite e prive anche di sole tracce di detersivi

•Per un appropriato uso della strumentazione seguire sempre le raccomandazioni del produttore

### 11. INTERFERENZE

Ossalato di sodio, EDTA ed Eparina quali anticoagulanti.

La letteratura riporta che i contraccettivi orali, gli estrogeni, la gravidanza, i farmaci quali la cumarina, l'eparina, l'asparaginasi ed il nalossone influenzano i risultati dell'APTT<sup>4</sup>.

### 12. SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Il prodotto deve essere utilizzato solo in laboratori specializzati. Fare riferimento alle normative vigenti per una corretta procedura di smaltimento dei rifiuti.

**S56:** riporre il material e i flaconi in apposite contenitori per prodotti pericolosi o inquinanti..

**S57:** utilizzare contenitori appropriate per impedire inquinamento ambientale.

**S61:** evitare di disperdere nell'ambiente. Fare riferimento al data sheet relativo alla sicurezza.

### 13. Note

1. Non ritardare a mescolare il sangue con l' anticoagulante

2. Evitare la schiuma nei campioni

3. Campioni torbidi, itterici, lipemici od emolisati potrebbero dare luogo a risultati errati.

4. Utilizzare esclusivamente contenitori in vetro siliconato od in plastica

5. Il congelamento e lo scongelamento del plasma che contiene cellule residue possono danneggiarne le membrane compromettendo i risultati

6. Reazioni infiammatorie acute potrebbero ridurre il valore dell' APTT a causa dell' aumentata quantità di fibrinogeno

7. Campioni di plasma con ematocrito non compreso tra 20 e 55% potrebbero non rispondere correttamente al test. In tali casi è necessario modificare la concentrazione del citrato cambiando

il rapporto tra sangue ed anticoagulante

### 14. 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., 195 (1982)

3. NCCLS: Collection, transport and processing of blood specimens for coagulation testing and performance of coagulation assays. 3<sup>rd</sup> edition. Approved guideline. NCCLS Document H21- A3 Wayne, PA (1996)

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. Chnstensen 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. NCCLS: One - Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test; Approved Guideline. NCCLS Document H47-A, NCCLS Wayne PA (1996) 9 -13 Dati conservati nello schedario 510 (k)

### 17. SIMBOLI – 98/79/EC DIRECTIVE

	Attenzione! Leggere le istruzioni		Size – No. Of determination		Manufacturer
	For in vitro diagnostic use only		Scadenza		Do not reuse
	Store at –°C		Lot. #		REF Code #

 SELEO SRL  
I TRAVERSA BUGNANO SC – 81030 – ORTA DI ATELLA (CE)

