

Determinación cuantitativa del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (APTT) IVD

Conservar a 2-8 °C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Plasma citratado, un activador de contacto y fosfolípidos procoagulantes (tromboplastina parcial de origen animal) se mezclan e incuban a 37 °C. El activador de contacto activa la vía intrínseca, incluyendo el kininógeno de alto peso molecular, la precalicreína, el Factor XI, y el Factor XII. Los fosfolípidos proporcionan una superficie para la interacción de los factores de la coagulación presentes en la muestra. Después de una incubación, una concentración adecuada de calcio es añadida, y se mide el tiempo transcurrido hasta la formación del coágulo. El calcio es imprescindible para la formación de un complejo para la activación de la cascada de coagulación (vía intrínseca) a partir del Factor XIa.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La prueba de tiempo de tromboplastina parcial activada (o APTT de las siglas en inglés) es uno de los más utilizados en los laboratorios de hemostasia. Este test se utiliza con diversos propósitos: screening preoperatorio, screening de deficiencias de factores de coagulación, screening de diversos inhibidores de factores de la coagulación (p.ej. anticoagulantes lúpicos), y para el control de la terapia anticoagulante con heparina.

El APTT determina la integridad de las vías intrínseca y común de la cascada de la coagulación. Representa el tiempo, en segundos, después de añadir a un plasma de paciente fosfolípidos, un activador de la vía intrínseca (sílica, celita, kaolina, ácido elálgico, etc.) y calcio (para revertir el efecto del anticoagulante en el tubo de recogida).

El reactivo APTT se denomina "tromboplastina parcial" debido a que los fosfolípidos presentes no contienen factor tisular, como es el caso en el reactivo de tromboplastina para determinar el tiempo de protrombina (PT). Como consecuencia, deficiencias o presencia de inhibidores de factores de coagulación de las vías intrínsecas y común resultan en una prolongación del APTT.

REACTIVOS

R 1 Activador	Ácido elálgico. Tampón y conservantes.	
R 2 Iniciador	Cloruro cálcico (CaCl ₂)	0,02M
Opcional	CONTROL NORMAL	REF: 1709104
	CONTROL PATHOLOGIC	REF: 1709106

PREPARACIÓN

Los reactivos están listos para su uso.

R1 y R2: Una vez abiertos son estables 1 mes a 2-8 °C.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8 °C y se evita su contaminación.

Después de un almacenamiento prolongado puede aparecer un sedimento amarillo.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada. No congelar el reactivo.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Resultados en el Control de calidad fuera de los rangos establecidos.
- Variaciones de color.

MATERIAL ADICIONAL

- Coagulómetro o cronómetro y baño a 37 °C ± 0,5 °C.
- Equipamiento habitual de laboratorio ^(Nota 1).

MUESTRAS

Tomar precauciones considerando cada muestra como potencialmente infecciosa; identificar apropiadamente cada tubo de muestra respetando la privacidad del paciente; mantener una trazabilidad inequívoca con la hoja de pedido de análisis incluyendo información detallada del paciente. Extraer sangre por venopunción hacia un tubo plástico o vidrio siliconizado estéril con vacío y anticoagulante, por ejemplo, citrato; eliminar muestras: coaguladas, tubos con demasiado/insuficiente volumen de muestra, observando estrictamente la proporción de sangre (9 partes) y solución de citrato sódico (0,11 mol/L; 1 parte).

PROCEDIMIENTO

El reactivo puede emplearse en técnica manual, mecánica, foto-óptica o con cualquier instrumento apto para detectar la formación del coágulo ^(Nota 2). En caso de emplearse analizadores automáticos, seguir las instrucciones del analizador en cuestión.

TÉCNICA MANUAL

1. Calentar a 37 °C los reactivos y la muestra.
2. Mezclar bien los reactivos sin agitarlos.
3. Pipetear en un tubo de ensayo limpio y seco:

Plasma citratado (μL)	100
R1 (μL)	100

4. Mezclar bien e incubar exactamente 5 min. a 37 °C (tiempo de activación).

5. Pipetear:

R2 (μL)	100
---------	-----

6. Mezclar.

7. Poner en marcha el cronómetro o el controlador de tiempo del coagulómetro y medir el tiempo de formación del coágulo, a partir de la adición del R2 Iniciador.

CÁLCULOS

Los valores se pueden expresar en segundos o en tasa de APTT, dividiendo el resultado de la muestra (sec) por el tiempo de reacción del plasma Control (sec).

$$\text{Tasa de APTT} = \frac{\text{APTT del paciente en segundos}}{\text{APTT de plasma normal (pool 100\%) en segundos}}$$

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

CONTROL NORMAL REF: 1709104

CONTROL PATHOLOGIC REF: 1709106

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos o la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

Se ha realizado un estudio con 79 muestras de una población sana y como resultado se han establecido los valores de referencia siguientes:

APTT (segundos) 20 - 33 sec.

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO
Sensibilidad frente a la heparina:

Heparina conc. (U/mL)	APTT (segundos)
0,0	24,8
0,1	35,9
0,2	47,7
0,3	69,8
0,4	105,7
0,5	134,4

Sensibilidad frente a los factores de coagulación:

FVIII		FIX		FXI		FXII	
%	APTT (s)	%	APTT (s)	%	APTT (s)	%	APTT (s)
88	25,5	105	25,27	89	25,6	109	25,43
30	30,37	75	36,2	50	33,67	85	31,67
20	33,3	50	45	30	38,83	75	33,8
15	35,2	30	50,17			65	36,37
						30	40,4

Estos valores deben ser usados solo como referencia. Cada laboratorio debe establecer su propio índice de sensibilidad a los factores individuales.

INTERFERENCIAS

Se ha estudiado el efecto en el APTT con el reactivo Spinreact utilizando las sustancias interferentes más comunes, añadiendo diferentes cantidades de dichas sustancias a muestras de plasma. Los resultados se compararon con muestras a las que se había añadido un volumen equivalente de solución salina. No existe interferencia hasta 200 mg/dL hemoglobina, hasta 500 mg/dL de lípidos y hasta 15 mg/dL de bilirrubina. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en su determinación^{4,5}.

NOTAS

1. El material de laboratorio usado debe estar libre de restos de detergente.
2. Seguir minuciosamente las instrucciones del fabricante del instrumento. Los resultados obtenidos deben ser validados por el laboratorio.

BIBLIOGRAFIA

1. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) H47: One-stage Prothrombin Time test and Activated partial Thromboplastin Time test; approved guideline.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) H21: Collection, transport and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular haemostasis assays: approved guideline.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP5-A: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; approved guideline.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
5. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

PRESENTACIÓN

Ref: 1709201	Cont.	R1: 5 x 4 mL
		R2: 5 x 4 mL

Quantitative determination of Activated Partial Thromboplastin Test (APTT) IVD

Store at 2-8 °C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Citrated plasma, a contact activator, and procoagulant phospholipids (partial thromboplastin of animal origin) are mixed and incubated at 37 °C. The contact agent activates the contact system, including high molecular weight kininogen, prekallikrein, Factor XI, and Factor XII. The phospholipid provides a surface for interaction of coagulation factors. After incubation, an appropriate concentration of calcium ions is added, and time to clot formation is measured. Calcium ions are required to assemble the complex for activation of the intrinsic coagulation cascade subsequent to Factor XIa.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Activated partial thromboplastin time (APTT) test is one of the most common coagulation tests used in any coagulation laboratory. This test is used for diverse purposes of preoperative screening, screening for coagulation factor deficiency, screening for various types of coagulation inhibitors (e.g. lupus anticoagulants) and for controlling heparin therapy.

The APTT is a measure of the integrity of the intrinsic and final common pathways of the coagulation cascade. The APTT represents the time, in seconds, for patient plasma to clot after the addition of phospholipid, an intrinsic pathway activator (such as silica, celite, kaolin, ellagic acid), and calcium (to reverse the anticoagulant effect of the oxalate-citrate in the collection tube).

APTT reagent is called partial thromboplastin because tissue factor is not present in conjunction with the phospholipid as it is in the PT reagent. Thus, deficiencies or inhibitors of clotting factors within the intrinsic and final common pathways result in prolongation of the APTT.

REAGENTS

R 1 Activator	Ellagic acid. Buffers and preservatives.	
R 2 Starter	Calcium chloride (CaCl ₂)	0,02M
Optional	CONTROL NORMAL	REF: 1709104
	CONTROL PATHOLOGIC	REF: 1709106

PREPARATION

All the reagents are ready to use.

R1 and R2: Once opened, they are stable for 1 month at 2-8 °C.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8 °C and contaminations prevented during their use.

A yellow sediment may form after prolonged storage.

Do not use reagents over the expiration date. Do not freeze.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Quality control values outside established ranges.
- Product colour variations.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Coagulometer or stopwatch and bath at 37 °C ± 0.5 °C.
- General laboratory equipment^(Note 1).

SAMPLES

Handle blood samples as potentially infectious. Label sample tubes correctly, respecting the patient's privacy, with unequivocal tracking to the test request form including full patient information. It is recommended that blood specimens be collected by venipuncture using a blood collection system that collects the specimen directly into glass or plastic evacuated tube containing sodium citrate as anticoagulant. Discard clotted samples and tubes that have been over or under filled: it is important that 9 parts of blood are mixed with 1 part of sodium citrate solution (0.11 mol/L).

PROCEDURE

The reagent can be used by manual method, mechanical, photo-optical or other means of clot detection^(Note 2). In case to be used in automatic analyzer's, follow the analyzer's instructions.

MANUAL METHOD

1. Incubate at 37 °C the reagents and the sample.
2. Mix thoroughly the reagents.
3. Pipette into a clean and dry tube:

Citrated plasma (μL)	100
R1 (μL)	100

4. Mix and incubate exactly for 5 min. at 37 °C (activation time).

5. Pipette:

R2 (μL)	100
---------	-----

6. Mix thoroughly.

7. On addition of R2 start stopwatch or timer on the coagulation analyzer and determine the coagulation time.

CALCULATIONS

It is possible to report the results as seconds or as APTT ratio, dividing the results of the sample (sec) by the results of plasma Control (sec).

$$APTT \text{ ratio} = \frac{APTT \text{ of the patient in seconds}}{APTT \text{ of normal plasma (pool 100\%) in seconds}}$$

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures:

CONTROL NORMAL REF: 1709104
 CONTROL PATHOLOGIC REF: 1709106

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES

A study has been run with 79 samples of healthy people, and as a result the following reference values have been established:

APTT (in seconds) 20 - 33 sec.

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS
Heparin Sensitivity:

Heparin conc. (units/mL)	APTT (seconds)
0,0	24,8
0,1	35,9
0,2	47,7
0,3	69,8
0,4	105,7
0,5	134,4

Factor sensitivity :

FVIII		FIX		FXI		FXII	
%	APTT (s)	%	APTT (s)	%	APTT (s)	%	APTT (s)
88	25,5	105	25,27	89	25,6	109	25,43
30	30,37	75	36,2	50	33,67	85	31,67
20	33,3	50	45	30	38,83	75	33,8
15	35,2	30	50,17			65	36,37
						30	40,4

These values should only be used as guidelines. Each laboratory should establish his own sensitivity to individual factors.

INTERFERENCES

The effect of the most common interfering substances on the APTT results with Spinreact's reagent was tested by spiking different amounts of such substances into plasma samples. The results were compared against samples spiked with an equivalent volume of saline solution. There is no interference up to 200 mg/dL of hemoglobin, up to 500 mg/dL of lipids and up to 15 mg/dL of bilirubin.

A list of drugs and other interfering substances with the determination has been reported^{4,5}.

NOTES

1. All labware must be clean and free of trace amounts of detergents.
2. Always follow instrument manufacturer's instructions; the results must be validated by the test laboratory.

BIBLIOGRAPHY

1. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) H47: One-stage Prothrombin Time test and Activated partial Thromboplastin Time test; approved guideline.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) H21: Collection, transport and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular haemostasis assays; approved guideline.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP5-A: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; approved guideline.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
5. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

PACKAGING

Ref: 1709201 Cont. R1: 5 x 4 mL
 R2: 5 x 4 mL

Détermination quantitative du Temps de Thromboplastine Partielle Activée (APTT) IVD

Conserver à 2-8 °C.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Plasma citraté, un activateur de contact et des phospholipides procoagulants (thromboplastine partielle d'origine animale) sont mélangés et incubés à 37 °C. L'activateur de contact active la voie intrinsèque, notamment le kininogène de haut poids moléculaire, la prékallitréine, le facteur XI et le facteur XII. Les phospholipides fournissent une surface pour l'interaction des facteurs de coagulation présents dans l'échantillon. Après une incubation, une concentration adéquate de calcium est ajoutée et le temps écoulé jusqu'à la formation du caillot est mesuré. Le calcium est indispensable à la formation d'un complexe pour l'activation de la cascade de coagulation (voie intrinsèque) du facteur XIa.

SIGNIFICATION CLINIQUE

Le test de temps de thromboplastine partielle activée (ou APTT des sigles en anglais) est l'un des plus utilisés dans les laboratoires d'hémostase. Ce test est utilisé à diverses fins : screening préopératoire, screening des déficits en facteurs de coagulation, screening de divers inhibiteurs des facteurs de coagulation (p. ex., lupus anticoagulants), et pour le contrôle de la thérapie anticoagulante à l'héparine.

L'APTT détermine l'intégrité des voies intrinsèque et commune de la cascade de la coagulation. Il représente le temps, en secondes, après l'ajout à un plasma de patient de phospholipides, un activateur de voie intrinsèque (silice, cérite, kaolin, acide ellagique, etc.) et de calcium (pour inverser l'effet de l'anticoagulant dans le tube de prélèvement).

Le réactif APTT est dénommé « thromboplastine partielle », car les phospholipides présents ne contiennent pas de facteur tissulaire, comme c'est le cas dans le réactif de thromboplastine pour déterminer le temps de prothrombine (PT). Par conséquent, les déficits ou la présence d'inhibiteurs de facteurs de coagulation des voies intrinsèque et commune entraînent une prolongation de l'APTT.

RÉACTIFS

R 1 Activateur	Acide ellagique. Tampon et conservateurs.	
R 2 Initiateur	Clorure de calcium (CaCl ₂)	0,02M
En option	CONTROL NORMAL	RÉF: 1709104
	CONTROL PATHOLOGIC	RÉF: 1709106

PRÉPARATION

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

R1 et R2 : Une fois ouverts, ils sont stables pendant 1 mois entre 2 et 8 °C.

CONSERVATION ET STABILITÉ

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette du flacon, lorsque les flacons sont maintenus bien fermés à 2-8 °C et en évitant leur contamination.

Après un stockage prolongé, un sédiment jaune peut apparaître.

Ne pas utiliser les réactifs en-dehors de la date indiquée. Ne pas congeler le réactif.

Indicateurs de détérioration des réactifs :

- Présence de particules et turbidité.
- Résultats du contrôle qualité en-dehors des plages établies.
- Variations de couleur.

MATÉRIEL ADDITIONNEL

- Coagulomètre ou chronomètre et bain à 37 °C ± 0,5 °C.
- Équipement habituel de laboratoire (Remarque 1).

ÉCHANTILLONS

Prendre des précautions en considérant chaque échantillon comme potentiellement infectueux ; identifier de manière appropriée chaque tube d'échantillon respectant la vie privée du patient ; maintenir une traçabilité sans équivoque avec la feuille de demande d'analyse comprenant des informations détaillées du patient. Prélever du sang par ponction veineuse dans un tube en plastique ou en verre siliconé stérile avec vide et anticoagulant, par exemple du citrate ; éliminer les échantillons : coagulés, tubes avec un volume d'échantillon excessif/insuffisant, en respectant strictement la proportion de sang (9 parts) et de solution de citrate de sodium (0,11 mol/l ; 1 part).

PROCÉDURE

Le réactif peut être employé dans une technique manuelle, mécanique, photo-optique ou avec tout instrument capable de détecter la formation du caillot (Remarque 2). En cas d'utilisation d'analyseurs automatiques, suivre les instructions de l'analyseur en question.

TECHNIQUE MANUELLE

1. Chauffer à 37 °C les réactifs et l'échantillon.
2. Bien mélanger les réactifs sans les agiter.
3. Pipeter dans un tube à essai propre et sec :

Plasma citraté (μL)	100
R1 (μL)	100

4. Bien mélanger et incubé exactement 5 min à 37 °C (temps d'activation).

5. Pipeter :

R2 (μL)	100
---------	-----

6. Mélanger.

7. Mettre en marche le chronomètre ou le contrôleur de temps du coagulomètre et mesurer le temps de formation du caillot, à partir de l'ajout de R2 Initiateur.

CALCULS

Les valeurs peuvent être exprimées en secondes ou en taux d'APTT, en divisant le résultat de l'échantillon (s) par le temps de réaction du plasma Control (s).

$$\text{Taux de APTT} = \frac{\text{APTT du patient en secondes}}{\text{APTT du plasma normal (pool 100\%) en secondes}}$$

CONTRÔLE QUALITÉ

Il convient d'analyser avec les échantillons des sérums de contrôle évalués :

CONTROL NORMAL RÉF : 1709104

CONTROL PATHOLOGIC RÉF : 1709106

Si les valeurs obtenues sont en-dehors de la plage de tolérance, l'instrument, les réactifs ou la technique devront être vérifiés.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle qualité et établir des corrections en cas de non-conformité en termes de tolérances des contrôles.

VALEURS DE RÉFÉRENCE

Une étude a été réalisée avec 79 échantillons d'une population en bonne santé et a conduit à la définition des valeurs de référence suivantes :

APTT (secondes) 20 - 33 s.

Ces valeurs sont données à titre d'information. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

Sensibilité face à l'héparine :

Héparine conc. (U/mL)	APTT (secondes)
0,0	24,8
0,1	35,9
0,2	47,7
0,3	69,8
0,4	105,7
0,5	134,4

Sensibilité face à l'héparine :

FVIII		FIX		FXI		FXII	
%	APTT (s)	%	APTT (s)	%	APTT (s)	%	APTT (s)
88	25,5	105	25,27	89	25,6	109	25,43
30	30,37	75	36,2	50	33,67	85	31,67
20	33,3	50	45	30	38,83	75	33,8
15	35,2	30	50,17			65	36,37
						30	40,4

Ces valeurs doivent être utilisées uniquement comme référence. Chaque laboratoire doit établir son propre indice de sensibilité aux facteurs individuels.

INTERFÉRENCES

L'effet sur l'APTT a été étudié avec le réactif Spinreact en utilisant les substances interférentes les plus courantes, en ajoutant différentes quantités de ces substances à des échantillons de plasma. Les résultats ont été comparés à des échantillons auxquels un volume équivalent de solution saline avait été ajouté. Il n'existe pas d'interférence jusqu'à 200 mg/dl d'hémoglobine, jusqu'à 500 mg/dl de lipides et jusqu'à 15 mg/dl de bilirubine.

Plusieurs drogues et autres substances ont été décrites comme interférant dans sa détermination^{4,5}.

REMARQUES

1. Le matériel de laboratoire utilisé doit être exempt de restes de détergent.
2. Suivre minutieusement les instructions du fabricant de l'instrument. Les résultats obtenus doivent être validés par le laboratoire.

BIBLIOGRAPHIE

1. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) H47: One-stage Prothrombin Time test and Activated partial Thromboplastin Time test; approved guideline.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) H21: Collection, transport and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular haemostasis assays: approved guideline.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP5-A: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; approved guideline.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
5. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

PRÉSENTATION

Réf: 1709201

Cont.

R1: 5 x 4 mL

R2: 5 x 4 mL

Determinação quantitativa do Tempo Parcial de Tromboplastina Ativada (APTT) IVD

Conservar a 2-8 °C

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Plasma citratado, um ativador de contacto e fosfolípidos pró-coagulantes (tromboplastina parcial de origem animal) são misturados e incubados a 37 °C. O ativador de contacto ativa a via intrínseca, incluindo o cininogénio de alto peso molecular, a pré-caliceína, o Fator XI e o Fator XII. Os fosfolípidos proporcionam uma superfície para a interação dos fatores de coagulação presentes na amostra. Após uma incubação, é adicionada uma concentração adequada de cálcio e mede-se o tempo decorrido até à formação do coágulo. O cálcio é imprescindível para a formação de um complexo para a ativação da cascata da coagulação (via intrínseca) a partir do Fator XIa.

SIGNIFICADO CLÍNICO

O teste do tempo de tromboplastina parcial ativada (ou APTT nas suas siglas em inglês) é um dos mais utilizados nos laboratórios de hemostologia. Este teste é utilizado com vários propósitos: screening pré-operatório, screening de deficiências de fatores de coagulação, screening de diversos inibidores dos fatores de coagulação (p.ex. anticoagulantes lúpicos) e para controlo da terapia anticoagulante com heparina.

O APTT determina a integridade das vias intrínseca e comum da cascata da coagulação. Representa o tempo, em segundos, depois de adicionar ao plasma de um doente, fosfolípidos, um ativador da via intrínseca (sílica, celite, kaolina, ácido elágico, etc.) e cálcio (para reverter o efeito do anticoagulante no tubo de recolha).

O reagente APTT denomina-se "tromboplastina parcial" devido ao fato de os fosfolípidos presentes não conterem fator tissular, como é o caso no reagente de tromboplastina para determinar o tempo de protrombina (PT). Como consequência, deficiências ou a presença de inibidores dos fatores de coagulação das vias intrínsecas e comum resultam num prolongamento do APTT.

REAGENTES

R 1 Ativador	Ácido elágico. Tampão e conservantes.	
R 2 Iniciador	Cloreto de cálcio (CaCl ₂)	0,02M
Opcional	CONTROL NORMAL	REF: 1709104
	CONTROL PATHOLOGIC	REF: 1709106

PREPARAÇÃO

Os reagentes estão prontos a ser utilizados.

R1 e R2: Depois de abertos, são estáveis durante 1 mês a 2-8 °C.

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até ao prazo de validade indicado na etiqueta, quando os frascos são mantidos bem fechados, a uma temperatura entre 2-8 °C e se evita a sua contaminação.

Após um armazenamento prolongado, pode aparecer um sedimento amarelo. Não utilizar reagentes que tenham ultrapassado o prazo indicado. Não congelar o reagente.

Indicadores de degradação dos reagentes:

- Presença de partículas e turvação.
- Resultados no Controlo de qualidade fora dos intervalos estabelecidos.
- Variações de cor.

MATERIAL ADICIONAL

- Coagulómetro ou cronómetro e banho a 37 °C ± 0,5 °C.
- Equipamento habitual de laboratório ^(Nota 1).

AMOSTRAS

Tomar precauções considerando cada amostra como potencialmente infecciosa; identificar apropriadamente cada tubo de amostra respeitando a privacidade do doente; mantendo uma rastreabilidade inequívoca com a folha de pedido de análise incluindo informação detalhada do doente. Extrair sangue por unção venosa para um de tubo plástico o de vidro siliconado estéril com vácuo e anticoagulante, por exemplo, citrato; eliminar as amostras: coaguladas, tubos com demasiado/insuficiente volume de amostra, observando estritamente a proporção de sangue (9 partes) e de solução de citrato de sódio (0,11 mol/L; 1 parte).

PROCEDIMENTO

O reagente pode ser utilizado por técnica manual, mecânica, foto-ótica ou com qualquer instrumento apto para detetar a formação do coágulo ^(Nota 2). No caso de se utilizarem analisadores automáticos, siga as instruções do analisador em questão.

TÉCNICA MANUAL

1. Aquecer os reagentes e a amostra a 37 °C.
2. Misturar bem os reagentes sem agitar.
3. Pipetar para um tubo de ensaio limpo e seco:

Plasma citratado (µL)	100
R1 (µL)	100

4. Misturar e incubar durante exatamente 5 min. a 37 °C (tempo de ativação).

5. Pipetar:

R2 (µL)	100
---------	-----

6. Misturar.

7. Colocar o cronómetro ou o controlador de tempo do coagulómetro em funcionamento e medir o tempo até à formação do coágulo, após a adição do R2 Iniciador.

CÁLCULOS

Os valores podem ser expressos em segundos ou em taxa de APTT, dividindo o resultado da amostra (seg.) pelo tempo de reação do plasma Controlo (seg.).

$$\text{Taxa de APTT} = \frac{\text{APTT do doente em segundos}}{\text{APTT de plasma normal (pool 100\%) em segundos}}$$

CONTROLO DE QUALIDADE

É conveniente analisar juntamente com as amostras de soro de controlo avaliados:

CONTROL NORMAL REF: 1709104

CONTROL PATHOLOGIC REF: 1709106

Se os valores determinados se encontrarem fora do intervalo de tolerância, devem rever-se os instrumentos, os reagentes ou a técnica.

Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer procedimentos de correção no caso de os controlos não cumprirem as tolerâncias.

VALORES DE REFERÊNCIA

Realizou-se um estudo com 79 amostras de uma população saudável e, como resultado, foram estabelecidos os seguintes valores de referência:

APTT (segundos) 20 - 33 seg..

Estes valores são orientativos. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CARACTERÍSTICAS DO METODO
Sensibilidade à héparina:

Héparina conc. (U/mL)	APTT (segundos)
0,0	24,8
0,1	35,9
0,2	47,7
0,3	69,8
0,4	105,7
0,5	134,4

Sensibilidade aos fatores de coagulação:

FVIII		FIX		FXI		FXII	
%	APTT (s)	%	APTT (s)	%	APTT (s)	%	APTT (s)
88	25,5	105	25,27	89	25,6	109	25,43
30	30,37	75	36,2	50	33,67	85	31,67
20	33,3	50	45	30	38,83	75	33,8
15	35,2	30	50,17			65	36,37
						30	40,4

Estes valores apenas devem ser utilizados como referência. Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio índice de sensibilidade aos fatores individuais.

INTERFERÊNCIAS

Estudou-se o efeito no APTT com o reagente da Spinreact utilizando as substâncias interferentes mais comuns, adicionando diferentes quantidades das referidas substâncias a amostras de plasma. Os resultados foram comparados com amostras às quais se tinha adicionado um volume equivalente de solução salina. Não foram observadas interferências da hemoglobina até 200 mg/dl, de lípidos até 500 mg/dl e de bilirrubina até 15 mg/dl.

Foram descritos vários medicamentos e outras substâncias que interferem na sua determinação ^{4,5}.

NOTAS

1. O material de laboratório utilizado deve estar livre de resíduos de detergente.
2. Seguir minuciosamente as instruções do fabricante do instrumento. Os resultados obtidos devem ser validados pelo laboratório.

BIBLIOGRAFIA

1. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) H47: One-stage Prothrombin Time test and Activated partial Thromboplastin Time test; approved guideline.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) H21: Collection, transport and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular haemostasis assays: approved guideline.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP5-A: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; approved guideline.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
5. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

APRESENTAÇÃO

Réf: 1709201	Cont.	R1: 5 x 4 mL
		R2: 5 x 4 mL