

APTT-XL

I. POUŽITIE

APTT-XL (Pacific Hemostasis®) je diagnostikum určené na použitie v teste aktivovaný parciálny tromboplastínový čas (APTT) a stanovenie faktorov, založenom na APTT, s kyselinou elagovou ako aktivátorom.

II. SÚHRN A PRINCÍP

APTT test je vhodný ako skriningový nástroj a ako kvantitatívny test na stanovenie koagulačných faktorov tzv. vnútornej cesty koagulačného systému. Je to jednoduchý a univerzálny test, ktorý je citlivý k deficitu všetkých plazmatických koagulačných faktorov s výnimkou faktoru VII. Používa sa však hlavne k detekcii deficitu vo faktoroch VIII, IX, XI, XII a prekalkreínu.

APTT sa tiež často používa k monitorovaniu heparínovej liečby, pretože predĺženie APTT je priamo úmerné množstvu heparínu.^{1,2} APTT test sa vykonáva tak, že k testovanej vzorke sa pridá diagnostika obsahujúca plazmatický aktivátor a fosfolipidy. Táto zmes sa inkubuje po dobu 3 minút pri 37°C na dosiahnutie optimálnej aktivácie. Pridá sa chlorid vápenatý a zmeria sa čas zrážania.

III. DIAGNOSTIKUM

Pre diagnostické použitie *in vitro*.

Zloženie: 0,003% kyselina elagová; 0,005% BSA; 0,30% fenol; 2,6% pufor, soli a stabilizátory. Neotvorené fľaštičky skladujte pri teplote +2 až +8°C. **Nezamrazujte.** Po otvorení sú fľaštičky stabilné 30 dní, pokiaľ sú skladované pri teplote +2 až +8°C.⁹

Pri dlhodobom skladovaní sa môže vytvoriť žltý sediment. Pred použitím jemne zamiešajte. Chybné výsledky, hodnoty kontroly kvality ležiace mimo stanovené rozmedzie alebo zmena farby výrobku môžu indikovať jeho poškodenie. Zlé vykonanie testu však môže byť spôsobené aj inými faktormi v testovacom systéme.

IV. ODBER VZORIEK

Pre koagulačné vyšetrenie je doporučené používať 3,2% (0,105 M) citrát sodný. Vyhnite sa hemolýze a kontaminácii tkanivovou tekutinou.

Vzorky, ktoré majú menej než 90% požadovaného odberového objemu, by mali byť vyradené. Krv centrifugujte 15 minút pri 1500 g. Pokiaľ vzorky uchováate pri +22°C až +24°C, vyšetrite ich do 2 hodín od odberu. Viacej podrobností o odbere a skladovaní vzoriek je uvedené v dokumente NCCLS H21-A3.³

- Neoneskorujte zmiešanie krvi s antikoagulačným roztokom.
- Zamedzte peneniu vzoriek.
- Používajte iba plastové alebo silikónované nádoby z borosilikátového skla.
- Zakalené, ikterické, lipemické alebo hemolyzované vzorky môžu spôsobovať chybné výsledky.
- Mrazenie a rozmrazovanie plazmy, ktorá obsahuje zvyšné bunky, poškodzuje bunčné membrány, čo môže ovplyvniť výsledky testu.
- Ku skráteniu výsledkov APTT môže dojsť pri akútnom zápale, a to vďaka zvýšenej hladine fibrinogénu.
- Vzorky s hodnotou hematokritu mimo rozpätia 20 - 55% môžu byť neprimerane antikoagulované, a preto by sa mali upraviť.

V. POSTUP

Dodaný materiál: Diagnostika APTT-XL, tekutá, 10 x 10 ml alebo 10 x 4 ml.

Ďalšie požadované prostriedky:

Roztok chloridu vápenatého (0,02 M), Pacific Hemostasis.

Stopky

Presná pipeta: 0,1 ml

Normálne a abnormálne kontroly ako napr. Coagulation Control Plasmas, Level 1, 2 a 3 (Pacific Hemostasis).

APTT-XL je vhodné na použitie s manuálnym, mechanickým, fotooptickým alebo iným typom koagulačnej detekcie. Dodržujte doporučená výrobcu pre správne zaobchádzanie s prístrojom.

Pri manuálnom vyšetrení:

A. Predhrejte chlorid vápenatý (0,02 M) na 37°C.

B. Do testovacej kvety aplikujte 0,1 ml testovanej plazmy a zahrejte na 37°C.

C. K plazme pridajte 0,1 ml APTT-XL. Zamiešajte.

D. Inkubujte zmes plazmy a diagnostika pri 37°C po dobu 3 – 5 minút (aktivačný čas). Pre dosiahnutie konzistentných výsledkov testujte všetky vzorky plazmy pri rovnakom aktivačnom čase.

E. Rázne pridajte 0,1 ml predhriateho chloridu vápenatého a zmerajte čas zrážania.

VI. KONTROLA KVALITY

Súčasne so vzorkami by mali byť testované tiež normálne a abnormálne plazmy, ako napr. Pacific Hemostasis Coagulation Control Level 1, 2 a 3. Level 1 je lyofilizovaná normálna plazma. Level 2 a 3 nahrádzajú mierne resp. viacej deficientné plazmy. Normálne a aspoň jedna abnormálna kontrola by mali byť zmerané na začiatku každého testovacieho dňa a najmenej raz pri každom posune alebo s každou skupinou vyšetrení. Kontroly by mali byť testované tiež pri každej zmene diagnostiky alebo nastavení prístroja. V laboratóriách s veľkým počtom vykonaných PT a APTT vyšetrení testujte normálne a abnormálne kontroly najmenej po každých 40 vzorkách.⁸ Každé laboratórium by si malo stanoviť kontrolné rozmedzie, reprezentujúce prípustnú medzidennú variabilitu testu pre každú kontrolu.

VII. VÝSLEDKY

Koagulačné časy pre každú vzorku plazmy zaznamenajte s presnosťou na 0,1 sekundy. Pre porovnanie je možné uvádzať tiež normálne referenčné rozpätie. Nevyjadrujte pacientove hodnoty v pomere ku koagulačnému času komerčne vyrábanej kontrolnej plazmy. Kontrolné plazmy sú určené iba k overeniu kvality testovacieho systému.

VIII. OBMEDZENIA

Biochemický mechanizmus koagulácie zahrnuje sériu reakcií, ktoré sú ovplyvnené mnohými preanalytickými podmienkami. K dosiahnutiu reprodukovateľných výsledkov musia byť tieto variabilné faktory kontrolované.³

Technika vyšetrení

- Pokiaľ je plazma vystavená otvorenej atmosfére, dochádza k zvýšeniu pH. Vzorky skladujte uzavreté.
- APTT-XL bol optimalizovaný na teplotu $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Kontrolujte často teplotu všetkých zahrievaných elementov.
- Všetko laboratórne náčinie musí byť čisté a nesmie obsahovať stopy detergentu.
- Vždy dodržujte pokyny výrobcu prístrojov pre ich správnu údržbu.

Ovplyvňujúce látky

- Oxalát sodný, EDTA a heparín nie sú vhodnými antikoagulanciami.
- Výsledky APTT môžu byť ovplyvnené napr. orálnou antikoncepciou, estrogénmi, tehotenstvom, liečivami na báze kumarínu, heparínu, asparaginázou a naxolonom.

IX. OČAKÁVANÉ HODNOTY

Pri testovaní APTT-XL na normálnu populáciu boli získané tieto výsledky:¹⁰

	priemer	Rozmedzie ± 2 S.D.
Mechanický	29,9	24,0 – 35,2
Foto-optický	29,8	24,2 – 36,3

Tieto hodnoty by mali byť použité len ako vodítko. Každé laboratórium by si malo stanoviť normálne referenčné rozmedzie (NRR) s použitím prístrojov, metódy odberu krvných vzoriek a testovacích techník používaných v tomto laboratóriu. NRR by malo byť znovu stanovené alebo aspoň otvorené pri zmene šarže diagnostika.³ Nové NRR by malo byť stanovené pri akejkolvek zmene diagnostik, prístrojového vybavenia, techniky odberu krvi alebo antikoagulačného roztoku.

X. VLASTNOSTI

Citlivosť k heparínu:

Antikoagulačný účinok heparínu závisí na mnohých faktoroch, vrátane hladiny antitrombínu III, aktivácie doštičiek a následného uvoľnenia doštičkového faktora 4 pri príprave vzorky, prítomnosti iných liečiv *in vivo*, rýchlosti metabolizmu heparínu, spôsobu podania heparínu a oneskoreného spracovania vzoriek. Vedomé si týchto variabilných faktorov, môže si každé laboratórium určiť relatívnu citlivosť daného diagnostika k heparínu pomocou pridania známeho množstva heparínu k normálnej zmiešanej plazme a stanovení APTT. Napríklad, na foto-optickom prístroji s jednou šaržou diagnostiky APTT-XL boli získané nasledujúce výsledky:¹¹

Konc. heparínu (jedn./ml)	APTT (sekundy)
0,0	28,8
0,1	38,3
0,2	50,1
0,3	63,1
0,4	80,9
0,5	98,0

Každé laboratórium by si malo pripraviť svoju vlastnú krivku citlivosti s použitím rovnakého zdroja heparínu, ktorý je použitý pri liečbe v danej inštitúcii. Odchýlky môžu byť výsledkom rozdielnych typov heparínu, pôvodu tkaniva a typu soli.^{1,2,5}

Citlivosť k faktorom:

APTT-diagnostika s adekvátnou citlivosťou by mala vykazovať predĺženie koagulačného času u vzoriek, ktoré majú menej než 30 – 40 % aktivity faktoru.^{6,7} APTT-XL bolo testované na mierne a silne deficitných plazmách s nasledujúcimi výsledkami:¹²

faktor	% aktivity	APTT (sekundy)
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
Prekalikreín	<1%	69,5

Citlivosť APTT-XL k faktoru VIII bola navyše určená nasledovne:¹³

% faktoru VIII	APTT (sekundy)
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

Tieto hodnoty by mali byť použité len ako vodítko. Každé laboratórium by si malo stanoviť citlivosť k jednotlivým faktorom s použitím prístrojov, diagnostík a techník používaných v tomto laboratóriu.

XI. Literatúra

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*. 3rd edition. Approved guideline. NCCLS Document H21-A3. Wayne, PA, 1998.
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.










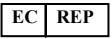

6. Wujastyk, J., Triplett, D.A.: Selecting Instrumentation and Reagents for the Coagulation Laboratory. *Pathologist* 37:398, 1983.
7. Christensen, R.L., Triplett, D.A.: Factor Assay (VIII and IX) Results in the College of American Pathologists Survey Program (1980-1982). *Amer J Clin Path* 80 (Suppl): 633, 1983.
8. 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. Data dostupná v souboru 510(K).

OMBEDZENIE ZÁRUKY FISHER DIAGNOSTICS®

Fisher Diagnostics (FD) zaručuje, že produkty firmy FD budú fungovať tak, ako je popísané na štítkoch a v dokumentoch priložených k produktu. V prípade špecifických aplikácií musí sám zákazník rozhodnúť o vhodnosti produktov FD. FD sa zaväzuje, že na základe svojej voľby buď vymení nevyhovujúci alebo poškodený produkt, alebo vráti nákupnú cenu.

FD NEUZNÁVA ŽIADNE INÉ ZÁRUKY, VYSLOVENÉ ALEBO MLČKY PREDPOKLADANÉ, VRÁTANE ZÁRUK OBCHODOVATEĽNOSTI A SPÔSOBILOSTI PRE ŠPECIÁLNE ÚČELY. FD ani jej pobočky nebudú v žiadnom prípade zodpovedať za náhodné alebo nepriame straty alebo poškodenia.

Pacific Hemostasis® je registrovaná ochranná známka spoločnosti Fisher Scientific Company L.L.C.
Fisher Diagnostics® je registrovaná ochranná známka spoločnosti Fisher Scientific Company L.L.C.

Symbols Key	Symboly	Symbols Key	Symboly
	Výroba		<i>In vitro</i> diagnostický zdravotnícky prostriedok
	Číslo šarže		Spotrebujte do
	Označenie CE		Obmedzenie teploty
	Katalógové číslo		Pozrite sa do návodu na použitie
	Dátum balenia		Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve
	Upozornenie, pozrite sa do sprievodného listu		

Dovozca:



EXBIO Olomouc s.r.o.
Ovesná 14
779 00 Olomouc



MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL
UK



Fisher Diagnostics®
8365 Valley Pike
Middletown, VA 22645-0307, USA
1-(800)-528-0494 jen USA