



APTT_{Test} elláxico

Reactivos para la determinación del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada

SIGNIFICACION CLINICA

El tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT) es una prueba sensible a la deficiencia de factores procoagulantes del plasma así como a la presencia de ciertos inhibidores de la coagulación. Sirve para detectar anomalías en la vía intrínseca de la coagulación, como son los factores necesarios para la formación del activador intrínseco de la protrombina, o sea los factores VIII, IX, XI y XII. También detecta deficiencias severas de los factores II, V, X y fibrinógeno, no siendo así con los trastornos plaquetarios, las deficiencias de los factores VII y XIII ni los problemas vasculares. La rapidez, sencillez y reproducibilidad de la prueba la hacen muy adecuada para el control de la terapéutica anticoagulante por heparina. También permite la identificación rápida de hemofílicos en potencia, a fin de poder someterlos a tratamientos preventivos prequirúrgicos y evitar problemas hemorrágicos.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El ensayo se basa en la medida del tiempo que tarda en coagular un plasma descalcificado, colocado en un baño a 37°C y en presencia de un exceso de cefalina, activador y calcio.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: viales conteniendo cefalina bovina con ácido elláxico como activador soluble.

B. Reactivo B: solución de cloruro de calcio estable 0,025 mol/l.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A: listo para usar. Homogeneizar antes de usar.

Reactivo B: listo para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Los Reactivos Provistos son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

MUESTRA

Plasma

a) Recolección: obtener sangre cuidadosamente (evitando

estasis o trauma) y colocar en un tubo con anticoagulante en proporción 9 + 1 exacta (ejemplo: 4,5 ml de sangre + 0,5 ml de Anticoagulante TP de Wiener lab.). Mezclar suavemente. Centrifugar y separar el plasma antes de los 30 minutos. Es recomendable efectuar la extracción con jeringas plásticas.

b) Aditivos: para obtener el plasma debe emplearse Anticoagulante TP de Wiener lab. o citrato de sodio 130 mmol/l (3,8%) o 109 mmol/l (3,2%).

c) Sustancias interferentes conocidas:

- Las contaminaciones, visibles o no, son causa de tiempos falsamente prolongados.

- No debe emplearse EDTA o heparina para obtener plasma.

- Hemólisis visibles dificultan la medición foto-óptica de los resultados.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: el plasma debe mantenerse en refrigerador (2-10°C) hasta el momento de efectuar la prueba. Este período no debe prolongarse más de 4 horas. En caso de no poder procesarse en este lapso, el plasma debe congelarse a -20°C. Este procedimiento, al igual que el descongelado, debe realizarse con rapidez (sumergiendo en baño a 37°C) previo a la determinación.

La muestra debe conservarse hasta el momento de su análisis en tubos plásticos para minimizar los efectos de activación por contacto que pueden ocurrir con los tubos de vidrio.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Tubos de hemólisis.

- Pipetas y micropipetas para medir los volúmenes indicados.

- Baño de agua a 37°C.

- Cronómetro.

- Fuente luminosa, para la observación del coágulo.

PROCEDIMIENTO

Precalentar el Reactivo B antes de realizar la prueba en baño de agua a 37°C.

En un tubo de hemólisis colocar:

Muestra (plasma desconocido o control)	100 ul
---	--------

Reactivo A	100 ul
-------------------	--------

Mezclar e incubar 3 minutos a 37°C, luego agregar:

Reactivo B (a 37°C)	100 ul
----------------------------	--------

Disparar simultáneamente un cronómetro. Agitar breve-

mente para homogeneizar el contenido, mantener en el baño unos 25 segundos. Luego sacar el tubo del baño, inclinar suavemente una vez por segundo y detener el cronómetro en el momento de la formación del coágulo. Pueden emplearse para la lectura de los resultados aparatos automáticos o semiautomáticos que detecten la formación de coágulos de fibrina, por métodos foto-ópticos o mecánicos.
Tomar nota del tiempo de coagulación.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Los resultados pueden expresarse de distinta forma:

- 1) como tiempo de tromboplastina parcial activada en segundos;
- 2) como relación entre el tiempo obtenido con el desconocido y el de un plasma control.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Plasma Control normal - patológico de Wiener lab.

VALORES DE REFERENCIA

El intervalo de valores de referencia observados en individuos normales, empleando la técnica manual mencionada, oscila entre 24-35 segundos.

Se consideran fuera de lo normal valores que difieran en más de 6 segundos de un pool de plasmas normales.

Es recomendable que cada laboratorio procese un pool de plasmas normales con cada lote de reactivos empleado y que correlacione los valores obtenidos para los pacientes con el de dicho plasma, haciendo constar estos resultados en el informe.

Cada laboratorio debe establecer sus propios valores de referencia a partir de las técnicas e instrumental empleado, ya que los valores de APTT de individuos sanos varían en función del laboratorio, dependiendo de la técnica empleada.

CURVA DE CALIBRACION

Este método es útil como control de la respuesta a la heparina en pacientes tratados con este anticoagulante.

La técnica empleada es la siguiente:

Preparar una Solución de Trabajo de heparina en solución fisiológica cuya concentración sea 10 unidades/ml. Debe emplearse la misma heparina que se suministra al paciente. Preparar diluciones de esta Solución de Trabajo utilizando un pool de plasmas frescos normales o **Plasma Control normal** como diluyente. Se deberán obtener diluciones de 0,8; 0,6; 0,4; 0,2 y 0,1 unidades/ml.

Determinar el tiempo de tromboplastina parcial para cada una de estas soluciones así como para el pool de plasmas y graficar en papel semilogarítmico APTT vs. concentración de heparina.

El valor obtenido para el paciente debe correlacionarse con los valores de la gráfica para obtener la concentración actual de heparina circulante.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas y Estabilidad e ins-

trucciones de almacenamiento en MUESTRA.

El mecanismo de la coagulación involucra una serie de reacciones enzimáticas que pueden ser influenciadas por toda condición que afecte a los sistemas enzimáticos en general, razón por la cual se deben observar las mismas precauciones metodológicas.

Debe tenerse en cuenta que variaciones en la relación anti-coagulante/muestra o en la concentración de citrato utilizada afectan los tiempos de tromboplastina parcial activada, por lo que se recomienda controlar la dosis de anticoagulante empleada al tomar la muestra.

PERFORMANCE

Reproducibilidad: los estudios de precisión se realizaron siguiendo una modificación del protocolo EP5-A del NCCLS (National Committee on Clinical Laboratory Standards). Se obtuvieron los siguientes resultados:

Precisión intraensayo

Muestra	Nivel	D.S.	C.V.
Plasma Control normal	34,1 seg	± 0,49 seg	1,44%
Plasma Control patológico	87,9 seg	± 0,49 seg	0,56%
Pool de plasmas normales	29,3 seg	± 0,35 seg	1,18%

Precisión total

Muestra	Nivel	D.S.	C.V.
Plasma Control normal	34,1 seg	± 1,00 seg	2,93%
Plasma Control patológico	87,9 seg	± 3,66 seg	4,16%
Pool de plasmas normales	29,3 seg	± 0,51 seg	1,75%

PRESENTACION

- 150 determinaciones (6 x 2,5 ml). (Cód 1705004).

BIBLIOGRAFIA

- Bell, W.N.; Alton, H.G. - Nature 174:880 (1954).
- Dacie, J.B.; Lewis, S.M. - Hematología Práctica - Ediciones Toray, 2ª Edición (1970).
- Wintrobe, M.M. - Hematología Clínica, 3ª. Edición Inter-médica (1969).
- Bragos, I.; Rodríguez Pécora, S.; Lorenzo, L.; Capriotti, G. - 53º Triduo Bioquímico Científico Anual, Bahía Blanca. (1988).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4ª ed., 2001.



APTT_{Test} elláxico

Reagente para a determinação do Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada

SIGNIFICADO CLÍNICO

O tempo de tromboplastina parcial ativada (APTT) é uma prova sensível à deficiência de fatores pró-coagulantes do plasma, assim como à presença de certos inibidores da coagulação. Serve para detectar anomalias na via intrínseca da coagulação, como os fatores necessários para a formação do ativador intrínseco da protrombina, ou seja, os fatores VIII, IX, XI e XII. Também detecta deficiências severas dos fatores II, V, X e fibrinogênio, não sendo assim com os distúrbios plaquetários, deficiências dos fatores VII e XIII, nem problemas vasculares.

A rapidez, simplicidade e reprodutibilidade da prova a tornam muito adequada para o controle da terapêutica anticoagulante por heparina. Também permite a identificação rápida de hemofílicos em potencial, a fim de submetê-los a tratamentos preventivos pré-cirúrgicos e evitar problemas hemorrágicos.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

O ensaio se baseia na medida do tempo que um plasma descalcificado demora para coagular, quando colocado em banho-maria a 37°C e na presença de um excesso de cefalina, ativador e cálcio.

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: frascos contendo cefalina com ácido elláxico como ativador particulado.

B. Reagente B: solução de cloreto de cálcio estável 0,025 mmol/l.

INSTRUÇÕES DE USO

Reagente A: pronto para uso. Homogeneizar antes de usar.
Reagente B: pronto para uso.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro". Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas. Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Os Reagentes Fornecidos são estáveis sob refrigeração até a data de vencimento indicada na embalagem. Não congelar.

AMOSTRA

Plasma

a) Coleta: obter sangue cuidadosamente (evitando estase ou trauma), e colocar num tubo com anticoagulante na porção 9 + 1 exata (exemplo: 4,5 ml de sangue + 0,5 ml de

Anticoagulante TP de Wiener lab.). Misturar suavemente. Centrifugar e separar o plasma antes de 30 minutos. É recomendável proceder à extração com seringas plásticas.

b) Aditivos: para obter o plasma deve-se empregar o Anticoagulante TP de Wiener lab. ou citrato de sódio 130 mmol/l (3,8%) ou 109 mmol/l (3,2%).

c) Substâncias interferentes conhecidas:

- As contaminações, visíveis ou não, são causa de tempos falsamente prolongados.
- Não deve-se utilizar EDTA ou heparina para obter o plasma.
- Hemólises visíveis dificultam a medição foto-óptica dos resultados.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: o plasma deve ser mantido sob refrigeração (2-10°C) até o momento de efetuar a prova. Este período não deve prolongar-se mais que 4 horas. Caso de não poder processar-se neste lapso de tempo, o plasma deve ser congelado a -20°C. Este procedimento, assim como o descongelamento, deve ser feito com rapidez (submersão em banho-maria a 37°C) anteriormente à determinação.

A amostra deve ser conservada em tubos plásticos até o momento de sua análise, para minimizar os efeitos de ativação por contato que podem ocorrer com os tubos de vidro.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Tubos de hemólise.
- Pipetas e micropipetas para medir os volumes indicados.
- Banho-maria a 37°C.
- Cronômetro.
- Fonte luminosa, para observação do coágulo.

PROCEDIMENTO

Pré-aquecer o Reagente B, antes de realizar a prova, em banho-maria a 37°C.

Em um tubo de hemólise, colocar:

Amostra (plasma desconhecido ou controle)	100 ul
--	--------

Reagente A	100 ul
-------------------	--------

Misturar e incubar 3 minutos a 37°C, logo adicionar:

Reagente B (a 37°C)	100 ul
----------------------------	--------

Disparar simultaneamente o cronômetro. Agitar brevemente para homogeneizar o conteúdo, manter no banho

por cerca de 25 segundos. Retirar o tubo do banho, inclinar suavemente uma vez por segundo e deter o cronômetro no momento da formação do coágulo. Podem ser utilizados para a leitura dos resultados aparelhos automáticos ou semi-automáticos que detectem a formação de coágulos de fibrina, por métodos foto-ópticos ou mecânicos.

Anotar o tempo de coagulação.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Os resultados podem ser expressos de modos distintos:

- 1) como tempo de tromboplastina parcial ativada em segundos;
- 2) como relação entre o tempo obtido com o desconhecido e aquele referente a um plasma controle.

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Plasma Control normal - patológico da Wiener lab.

VALORES DE REFERÊNCIA

O intervalo de valores de referência observados em indivíduos normais, utilizando a técnica manual mencionada, oscila entre 24-35 segundos.

Consideram-se fora do normal os valores que diferem mais de 6 segundos de um pool de plasmas normais.

É recomendável que cada laboratório processe um pool de plasmas normais para cada lote de reagentes empregado, e que correlacione os valores obtidos para os pacientes com o do plasma controle, fazendo constar estes resultados no informe.

Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores de referência a partir das técnicas e instrumental empregado, já que os valores de APTT de indivíduos sadios variam segundo o laboratório e dependendo da técnica utilizada.

CURVA DE CALIBRAÇÃO

Este método é útil como controle da resposta à heparina em pacientes tratados com aquele anticoagulante.

A técnica empregada é a seguinte:

Preparar uma Solução de Trabalho de heparina em solução fisiológica, cuja concentração seja de 10 unidades/ml. Deve-se empregar a mesma heparina que se administra ao paciente.

Preparar diluições desta Solução de Trabalho utilizando-se um pool de plasmas frescos normais o **Plasma Control normal** como diluente. Devem-se obter diluições de 0,8; 0,6; 0,4; 0,2 e 0,1 unidades/ml.

Determinar o tempo de tromboplastina parcial para cada uma destas soluções, assim como para o pool de plasmas e plotar em papel semilogarítmico APTT x concentração de heparina. O valor obtido para o paciente deve correlacionar-se com os valores do gráfico, para obter a concentração atual da heparina circulante.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas e Estabilidade e instruções de armazenamento em AMOSTRA.

O mecanismo de coagulação envolve uma série de reações enzimáticas que podem ser influenciadas por toda condição que afete os sistemas enzimáticos em geral, razão pela qual devem-se observar as mesmas precauções metodológicas. Deve-se ter em conta que variações na relação anticoagulante/amostra ou na concentração de citrato utilizada afetam os tempos de tromboplastina parcial ativada, pelo que se recomenda controlar a dose de anticoagulante empregada ao tomar a amostra.

DESEMPENHO

a) Reprodutibilidade: os estudos de precisão foram realizados através de uma modificação do protocolo EP5-A do NCCLS (National Committee on Clinical Laboratory Standards). Obtiveram-se os seguintes resultados:

Precisão intra-ensayo

Amostra	Nível	D.P.	C.V.
Plasma Control normal	34,1 seg	± 0,49 seg	1,44%
Plasma Control patológico	87,9 seg	± 0,49 seg	0,56%
Pool de plasmas normais	29,3 seg	± 0,35 seg	1,18%

Precisão total

Amostra	Nível	D.P.	C.V.
Plasma Control normal	34,1 seg	± 1,00 seg	2,93%
Plasma Control patológico	87,9 seg	± 3,66 seg	4,16%
Pool de plasmas normais	29,3 seg	± 0,51 seg	1,75%

APRESENTAÇÃO

- 150 determinações (6 x 2,5 ml). (Cód. 1705004).

REFERÊNCIA

- Bell, W.N.; Alton, H.G. - Nature 174:880 (1954).
- Dacie, J.B.; Lewis, S.M. - Hematología Práctica - Ediciones Toray, 2ª Edição (1970).
- Wintrobe, M.M. - Hematología Clínica, 3ª Edição Intermédica (1969).
- Bragos, I.; Rodriguez Pécora, S; Lorenzo, L; Capriotti, G. - 53º Triduo Bioquímico Científico Anual, Bahía Blanca (1988).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4ª ed., 2001.



APTT_{Test} ellágico

Reagents for the determination of Activated Partial
Thromboplastin Time

SUMMARY

The Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) is a test sensitive to the deficiency of the plasma coagulation promoting factors, as well as to the presence of certain coagulation inhibitors.

It detects disorders in the coagulation intrinsic pathway, such as the necessary factors for the formation of the intrinsic prothrombin activator - i.e. factors VIII, IX, XI and XII.

It also detects serious deficiencies in the factors II, V, X, and fibrinogen, but not the platelet disorders, the deficiencies in the factors VII and XIII nor vascular problems. The test's speed, simplicity and reproducibility make it adequate for monitoring heparin anticoagulant therapy. It also allows the quick identification of potential hemophiliacs so that they can be subjected to pre-surgical preventive treatment to avoid bleeding problems.

PRINCIPLE

The assay is based on measuring the coagulation time of a decalcified plasma placed on a water bath at 37°C and in the presence of an excess of cephalin, activator and calcium.

PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: vials containing cephalin with ellagic acid as a soluble activator.

B. Reagent B: 0.025 mol/l stable calcium chloride solution.

INSTRUCTIONS FOR USE

Reagent A: ready to use. Homogenize before use.

Reagent B: ready to use.

WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents are stable in refrigerator (2-10°C) until the expiration date shown on the box. Do not freeze.

SAMPLE

Plasma

a) Collection: obtain blood carefully (avoiding stasis or trauma) and place into a tube with anticoagulant in an exact 9+1 proportion (e.g.: 4.5 ml blood + 0.5 ml Wiener lab.'s **Anticoagulante TP**). Mix gently. Centrifuge and separate

the plasma before 30 minutes. It is recommended to use plastic syringes for extraction.

b) Additives: use Wiener lab.'s **Anticoagulante TP** or 130 mmol/l (3,8%) or 109 mmol/l (3,2%) sodium citrate to obtain plasma.

c) Known interfering substances:

- Contaminations whether visible or not lead to falsely prolonged times.

- Do not use EDTA or heparin to obtain plasma.

- Visible hemolysis makes difficult the photo-optic measurement of the results.

See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

d) Stability and storage instructions: the plasma should be kept in the refrigerator (2-10°C) until the test is performed. This period should not be extended for more than 4 hours. If the assay cannot be performed within this period, freeze the plasma at -20°C. It should be quickly frozen and thawed (immersing the sample tube in a 37°C water bath) just before testing.

Kept the sample in plastic tubes until assayed to minimize the contact activation that may occur with glass tubes.

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Hemolysis tubes

- Pipettes and micropipettes for measuring the stated volumes

- Water bath at 37°C

- Stopwatch

- Light source, for clot observation

PROCEDURE

Warm the Reagent B in water bath at 37°C before performing the test. In a hemolysis tube place:

Sample (unknown plasma or control)	100 ul
---	--------

Reagent A	100 ul
------------------	--------

Mix and incubate 3 minutes at 37°C. Then add:

Reagent B (at 37°C)	100 ul
----------------------------	--------

Start stopwatch simultaneously. Shake briefly to homogenize content and keep in water bath for 25 seconds. Then remove the tube from the water bath, tilt gently once every second and stop the stopwatch when a clot is formed. Automatic or semi-automatic instruments, capable of detecting fibrin clot formation by photo-optic or mechanic methods, can be used to read the results.

Record the coagulation time.

INTERPRETATION OF RESULTS

The results may be expressed as:

- 1) The Activated Partial Thromboplastin Time in seconds
- 2) The ratio between the time obtained with the unknown and the time obtained with a control plasma

QUALITY CONTROL METHOD

Wiener lab.'s Plasma Control normal - patológico.

REFERENCE VALUES

The reference value range observed in normal individuals, with the mentioned manual technique, vary between 24-35 seconds.

Values which differ in more than 6 seconds with a normal control plasma are not considered within the normal range. It is recommended that each laboratory processes a pool of normal plasma with each lot of reagents used and to correlate the patients' values with that of the control plasma, recording the results in the report.

Each laboratory should establish its own reference values based on the techniques and devices used, as the APTT values of healthy individuals vary with each laboratory depending on the technique used.

CALIBRATION CURVE

This method is useful to control the patients' response to heparin when treated with this anticoagulant.

The technique used is the following:

Prepare heparin Working Solution in saline solution with a concentration of 10 units/ml. Use the same heparin administered to the patient. Prepare dilutions of this Working Solution using a pool of fresh normal plasmas or Wiener lab.'s Plasma Control normal as diluent. Dilutions of 0.8; 0.6; 0.4; 0.2 and 0.1 units/ml, should be obtained.

Determine the partial thromboplastin time for each of these solutions as well as for the plasma pool. Plot APTT vs. Heparin concentration on semilog graph paper. The value obtained for the patient should be correlated with the values on the graph to obtain current concentration of circulating heparin.

PROCEDURE LIMITATIONS

See Known interfering substances and Stability and storage instructions under SAMPLE.

The coagulation process involves a series of enzymatic reactions, which might be influenced by any condition affecting enzymatic systems in general, that is why methodological cautions should be taken.

Consider that variations in the ratio anticoagulant/sample or in the citrate concentration used, affect activated partial thromboplastin times, thus, it is recommended to check the anticoagulant dose used for sample collection.

PERFORMANCE

Reproducibility: precision studies were performed following a modification of the guidelines contained in NCCLS (National Committee on Clinical Laboratory Standards) EP5-A document. These results were obtained:

Within Run

Sample	Mean	S.D.	C.V.
Plasma Control normal	34.1 sec	± 0.49 sec	1.44%
Plasma Control patológico	87.9 sec	± 0.49 sec	0.56%
Normal plasma pool	29.3 sec	± 0.35 sec	1.18%

Total Run

Sample	Mean	S.D.	C.V.
Plasma Control normal	34.1 sec	± 1.00 sec	2.93%
Plasma Control patológico	87.9 sec	± 3.66 sec	4.16%
Normal plasma pool	29.3 sec	± 0.51 sec	1.75%

WIENER LAB PROVIDES

- 150 tests (6 x 2.5 ml) (Cat. N° 1705004).

REFERENCES

- Bell, W.N.; Alton, H.G. - Nature 174:880 (1954).
- Dacie, J.B.; Lewis, S.M. - Hematología Práctica - Ediciones Toray, 2ª Edición (1970).
- Wintrobe, M.M. - Hematología Clínica, 3a. Edición Inter-médica (1969).
- Bragos, I.; Rodríguez Pécora, S.; Lorenzo, L.; Capriotti, G. - 53° Triduo Bioquímico Científico Anual, Bahía Blanca. (1988).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 3rd ed., 1990.



APTT_{Test} ellágico

Odczynniki do oznaczania czasu kaolinowo-kefalinowego

Nr kat. 1705004

WSTĘP

Czas kaolinowo-kefalinowy (Activated Partial Thromboplastin Time - APTT) jest czułym badaniem niedoborów osoczowych czynników krzepnięcia, jak również obecności niektórych inhibitorów krzepnięcia.

Wykrywa zaburzenia w podstawowym procesie krzepnięcia tj. niezbędne czynniki do tworzenia się aktywatorów protrombiny np. czynnika VIII, IX, XI oraz XII.

Wykrywa również poważne zaburzenia w czynnikach II, V, X, oraz I (fibrynogenie). Jednak nie obejmuje zaburzeń czynników płytkowych, niedoborów czynnika VII oraz XIII a także zaburzeń naczyniowych.

Szybkość testu, proste wykonanie i powtarzalność czynią go odpowiednim dla monitorowania terapii przeciwkrzepliwiej heparyną. Pozwala również na szybką identyfikację potencjalnych hemofilików aby mogli zostać poddani leczeniu przed zabiegiem chirurgicznym w celu zapobiegnięcia krwotokom.

ZASADA DZIAŁANIA

Badanie jest oparte na pomiarze czasu krzepnięcia odwapnionego osocza umieszczonego w łaźni wodnej o temp. 37°C i w obecności nadmiaru kefaliny, aktywatora i wapnia.

DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: fiołki zawierające kefalinę z kwasem elagowym jako rozpuszczalny aktywator.

B. Odczynnik B: 0,025 mol/l roztwór stabilnego chlorku wapnia.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Odczynnik A: gotowy do użycia. Homogenizować przed użyciem.

Odczynnik B: gotowy do użycia.

OSTRZEŻENIA

Odczynniki wyłącznie do użycia in vitro.

Stosuj odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych.

Odczynniki i materiał badan powinni być odrzucone zgodnie z lokalnymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczone odczynniki stabilne w lodówce w temp. 2-10°C do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Nie zamrażać.

MATERIAŁ BADANY

Osocze

a) Pobranie: pobrać krew ostrożnie (unikając zastoi u

wszelkich urazów) a następnie umieścić w probówce z antykoagulantem dokładnie w proporcji 9 do 1 (np. 4,5 ml krwi + 0,5 ml Anticoagulante TP Wiener lab.). Łagodnie zamieszać. Odwirować i oddzielić osocze do 30 min. Zaleca się zastosowanie plastikowych strzykawek do odciągnięcia.

b) Substancje dodatkowe: zastosuj Anticoagulante TP Wiener lab. lub 130 mmol/l (3,8%) lub 109 mmol/l (3,2%) cytrynianu sodu do otrzymania osocza.

c) Znane interakcje:

- Widoczne i niewidoczne zanieczyszczenia prowadzą do wydłużonych czasów.

- Nie stosować EDTA i heparyny do otrzymania osocza.

- Widoczna hemoliza utrudnia pomiar fotooptyczny.

Sprawdź źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie

d) Trwałość i instrukcja przechowywania: osocze powinno być przechowywane w lodówce w temp. 2-10°C do chwili wykonania testu.

Ten czas nie powinien przekraczać 4 godzin. Jeżeli badanie nie może być przeprowadzone w tym czasie należy zamrozić osocze w temp. -20°C. Powinno być szybko zamrożone i rozmrożone (poprzez zanurzenie w łaźni wodnej o temp. 37°C) tuż przed wykonaniem testu.

Trzymać próbkę w plastikowych probówkach aż do badania aby zminimalizować kontaktową aktywację, która może mieć miejsce w probówkach szklanych.

WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczane)

- probówki do hemolizy,

- pipety i mikropipety do pomiaru objętości,

- łaźnia wodna o temp. 37°C,

- stoper,

- źródło światła do obserwacji skrzepu.

PROCEDURA

Ogrzać Odczynnik B w łaźni wodnej o temp. 37°C przed wykonaniem badania. W probówce do hemolizy umieścić:

Materiał (nieznana surowica lub kontrolka)	100 uł
---	--------

Odczynnik A	100 uł
--------------------	--------

Wymieszać i inkubować przez 3 min. przy temp. 37°C. Następnie dodać:

Odczynnik B (o temp. 37°C)	100 uł
-----------------------------------	--------

Równocześnie włączyć stoper. Krótko wstrząsnąć celem

homogenizacji zawartości i pozostawić w łaźni wodnej na 25 sek. Następnie usunąć próbkę z łaźni wodnej, przechylić raz co sekundę i zatrzymać stoper gdy skrzep utworzy się. Do odczytu można wykorzystać automaty lub półautomaty wykrywające wykrzepianie fibryny metodami fotooptycznymi lub mechanicznymi.
Zanotować czas krzepnięcia.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

Wyniki mogą zostać wyrażone jako:

- 1) Czas kaolinowo-kefalinowy (Activated Partial Thromboplastin Time - APTT) w sekundach.
- 2) Stosunek pomiędzy czasem otrzymanym w badaniu do czasu krzepnięcia surowicy wzorcowej.

METODA KONTROLI JAKOŚCI

Wiener lab.'s Plasma Control normal - patologiczno - Osoczowa próba kontrolna prawidłowa - patologiczna.

WARTOŚCI REFERENCYJNE

Zakres wartości referencyjnych został oparty o badania nad zdrową populacją, przy zastosowaniu techniki ręcznej i wynosi między 24 a 35 sek.

Wartości, które różnią się więcej niż 6 sekund z osoczem wzorcowym nie mogą zostać uznane za prawidłowe.

Zaleca się aby każde laboratorium procesował własną pulę prawidłowego osocza z każdą używaną serią odczynników aby następnie porównać wartości wyników badanych pacjentów z otrzymaną pulą i odnotować te wyniki w raporcie. Każde laboratorium powinno oznaczyć własne wartości referencyjne oparte o techniki oraz zastosowane urządzenia i odczynniki, ponieważ wartości APTT zdrowych osób różnią się w każdym laboratorium w zależności od zastosowanych technik.

KRZYWA KALIBRACJI

Ta metoda jest użyteczna dla kontroli odpowiedzi pacjentów na heparynę w trakcie leczenia tym antykoagulantem.

Wykonujemy ją w następujący sposób:

Przygotować Roboczy Roztwór Heparyny w roztworze soli fizjologicznej o stężeniu 10 j/ml. Zastosować ten sam rodzaj heparyny jaka była podana pacjentowi. Przygotować roztwory w/w Roboczego Roztworu Heparyny używając do rozcieńczenia świeżego osocza z banku lub Wiener lab.'s Plasma Control. Niezbędne rozcieńczenia to 0,8; 0,6; 0,4; 0,2 oraz 0,1 j./ml.

Określić czas tromboplastyny dla każdego z roztworów, jak również dla osocza wzorcowego z banku osocza. Nanieść na wykres wartości APTT względem Heparyny na papierze logarytmicznym. Wartość otrzymana od pacjenta powinna korelować z wartościami na wykresie aby otrzymać obecne stężenie heparyny w krążeniu.

OGRANICZENIA PROCEDURY

Patrzyć znane interakcje z innymi substancjami w rozdziale MATERIAŁ.

Proces krzepnięcia związany jest z licznymi procesami enzymatycznymi i wszelkie zmiany dotyczące ogólnie układów

enzymatycznych mogą mieć szczególne znaczenie. Stąd uważnie należy podejść do założeń metodologicznych testu. Zaleca się sprawdzenie dawki antykoagulantu zastosowanego do pobrania próbki ze względu na wpływ stosunku antykoagulantu lub stężenia cytrynianu do pobranego materiału na APTT.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

Powtarzalność: badania nad dokładnością zostały wykonane zgodnie z zaleceniami zawartymi w dokumencie EP5-A-NCCLS (National Committee on Clinical Laboratory Standards).

Dokładność w trakcie badania

	średnia	S.D	C.V.
Osoczowa kontrolka prawidłowa	34,1 sek.	± 0,49 sek.	1,44%
Osoczowa kontrolka patologiczna	87,9 sek.	± 0,49 sek.	0,56%
Bank osocza prawidłowego	29,3 sek.	± 0,35 sek.	1,18%

Dokładność całkowita

	średnia	S.D.	C.V.
Osoczowa kontrolka prawidłowa	34,1 sek.	± 1,00 sek.	2,93%
Osoczowa kontrolka patologiczna	87,9 sek.	± 3,66 sek.	4,16%
Bank osocza prawidłowego	29,3 sek.	± 0,51 sek.	1,75%

WIENER LAB DOSTARCZA


Zestawy do 150 testów (6 x 2,5 ml) (Nr kat. 1705004).


ŹRÓDŁA

- Bell, W.N.; Alton, H.G. - Nature 174:880 (1954).
- Dacie, J.B.; Lewis, S.M. - Hematología Práctica - Ediciones Toray, 2^o Edición (1970).
- Wintrobe, M.M. - Hematología Clínica, 3a. Edición Inter-médica (1969).
- Bragos, I.; Rodríguez Pécora, S.; Lorenzo, L.; Capriotti, G. - 53^o Triduo Bioquímico Científico Anual, Bahía Blanca. (1988).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.


SÍMBOLOS // SÍMBOLOS // SYMBOLS // OZNACZENIA

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits. // Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.


 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro" // Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro" // This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices // Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea // Representante autorizado na Comunidade Europeia // Authorized representative in the European Community // Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Uso diagnóstico "in vitro" // Uso médico-diagnóstico "in vitro" // "In vitro" diagnostic medical device // Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos // Conteúdo suficiente para <n> testes // Contains sufficient for <n> tests // Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Fecha de caducidad // Data de validade // Use by // Użyć przed


 Límite de temperatura (conservar a) // Limite de temperatura (conservar a) // Temperature limitation (store at) // Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 No congelar // Não congelar // Do not freeze // Nie zamrażać

 Riesgo biológico // Risco biológico // Biological risks // Ryzyko biologiczne

 Volumen después de la reconstitución // Volume após a reconstituição // Volume after reconstitution // Objętość po rozpuszczeniu

 Contenido // Conteúdo // Contents // Zawartość

 Número de lote // Número de lote // Batch code // numer serii


 Elaborado por // Elaborado por // Manufactured by // Wytwórca

 Nocivo // Nocivo // Harmful // Substancja szkodliwa

 Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic // Substancja żrąca

 Irritante // Irritante // Irritant // Substancja drażniąca


 Consultar instrucciones de uso // Consultar as instruções de uso // Consult instructions for use // Przed użyciem zapoznać się z instrukcją


 Calibrador // Calibrador // Calibrator // Kalibrator

 Control // Controle // Control // Próba kontrolna

 Control Positivo // Controle Positivo // Positive Control // Próba kontrolna dodatnia

 Control Negativo // Controle Negativo // Negative Control // Próba kontrolna ujemna

 Número de catálogo // Número de catálogo // Catalog number // Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. N°: 1225/95



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina