

MRX APTT Liquid Reagent. Gaminio Nr. MRX930 / MRX931

PASKIRTIS

Aktyvinto dalinio tromboplastino laiko (APTT) nustatymas *in vitro*, atliekamas kaip vidinio krešėjimo mechanizmo bendrojo vertinimo procedūra¹, gydymo antikoagulantu heparinu stebėjimas²⁻⁴ ir naudojamas kituose koaguliacijos metoduose, jeigu reikia APTT reagento.

IN VITRO DIAGNOSTINIAMI NAUDOJIMUI METODO PAGRINDAI IR PRINCIPAS

Atliekant APTT tyrimą naudojamas kontaktinis aktyvatorius, kuris stimuliuoja XIa faktoriaus generavimą, pateikdamas paviršų FXI, didelės molekulinės masės kininogeno, kalikreino ir XIIIa faktoriaus sąveikai.¹

Kontaktinis aktyvinimas atliekamas 37 °C temperatūroje, nustatytą laiko tarpą. Tada pridėdama tolesnes reakcijas iššaukiančio kalcio chlorido ir išmatuojamas fibrino krešuliui susidaryti reikalingas laikas. Kad susidarytų X faktorių ir protrombiną aktyvinančių kompleksų, reikia fosfolipidų.

Rinkinyje pateikiama APTT reagente yra fosfolipidų ir silicio dioksido, kad gaminys būtų ypač pastovus ir stabilus.⁵

APTT reagentas neįtraukia vilkligės antikoagulantų.⁶⁻⁷ Naudojant vilkligės antikoagulantui neįtrauktus reagentus gaunami patikimesni faktorių tyrimo rezultatai nei naudojant reagentus, įtraukius vilkligės antikoagulantų. Tiriamojame plazmoje rečiau būna vilkligės inhibitorių.

Krešėjimo laikas gali būti ilgesnis šiais atvejais: XII, XI, X, IX, VIII, V, II faktorių arba fibrinogeno trūkumas, kepenų ligos, vitamino K trūkumas, heparino buvimas, vilkligės antikoagulantų arba kitų inhibitorių, paveikiantys vidinį krešėjimo mechanizmą.⁸ Panašu, kad sutrumpėjęs APTT koreliuoja su padidėjusia venų trombozės rizika.⁹

GAMINIO APRAŠAS

MRX930 sudėtis:

- APTT reagentas: 5 x 5 ml buteliukai su koloidiniu silikatu ir fosfolipidais, buferiu ir konservantais;
- kalcio chloridas: 5 x 5 ml buteliukai su 0,025 mol/l kalcio chloridu ir konservantais.

MRX931 sudėtis:

- APTT reagentas: 5 x 10 ml buteliukai su koloidiniu silikatu ir fosfolipidais, buferiu ir konservantais;
- kalcio chloridas: 5 x 10 ml buteliukai su 0,025 mol/l kalcio chloridu ir konservantais.

ATSARGUMO PRIEMONĖS

Kad neaugtų bakterijų, gaminyje yra natrio azido (< 0,1 %). Nepilti į kanalizaciją. Saugoti, kad nepatektų ant odos arba į akis.

Daugiau informacijos žr. medžiagos saugos duomenų lapą.

PARUOŠIMAS

- APTT reagentas: prieš naudojant išmaišyti.
- Kalcio chloridas: reagentas paruoštas naudoti.

LAIKYMO SĄLYGOS IR STABILUMAS

2–8 °C temperatūroje laikomi neatidaryti reagentai stabilūs iki galiojimo laiko pabaigos, nurodytos etiketėje.

APTT reagentas: 2–8 °C temperatūroje originaliame buteliuke laikomas atidarytas reagentas stabilus 30 dienų.

Kalcio chloridas: 2–25 °C temperatūroje originaliame buteliuke laikomas atidarytas reagentas stabilus 30 dienų.

MĖGINIŲ ĖMIMAS IR LAIKYMAS

Rekomenduojama mėginius imti ir laikyti pagal CLSI rekomendaciją H21-A5.¹⁰

Vėninis kraujas surenkamas į 3,2 % arba 3,8 % natrio citrato tirpalą tokiu santykiu:

9 dalys kraujo ir 1 dalis antikoagulianto (santykis 1:10). Šis santykis labai svarbus. Jeigu naudojami komerciniai vakuuminiai mėgintuvėliai, juos reikia visiškai pripildyti. Imant mėginius reikėtų saugotis traumos arba stazės. Kraujui negalima imti per heparino jungtį arba kitą heparinizuotą liniją. Mėginiai su krešuliais atmetami.

15 minučių centrifuguokite 1500g greičiu arba tiek laiko ir tokiu greičiu, kad gautumėte plazmą su mažai trombocitų (trombocitų kiekis < 10 000/μl). Jeigu mėginių neketinate tuojau pat apdoroti, baigę centrifuguoti plazmą nedelsdami perpilkite į plastikinį mėgintuvėlį. Plazmos mėginius galima laikyti: kambario temperatūroje (18–26 °C) – ne ilgiau kaip 4 valandas; šaldytuve (2–8 °C) – ne ilgiau kaip 4 valandas; užšaldytus –20 °C temperatūroje – ne ilgiau kaip 2 savaites, –70 °C temperatūroje – ne ilgiau kaip 6 mėnesius. Užšaldytus mėginius reikia greitai atitirpinti, išmaišyti ir iširti nedelsiant arba ne vėliau kaip po 2 valandų, laikant 2–8 °C temperatūroje. Neturi būti jokio sąlyčio su stiklu.

PROCEDŪRA

Ši procedūra atliekama naudojant rankinę arba pusiau automatinę koaguliacijos sistemą. Išsamesnių, konkrečių prietaisų skirtų nurodymų žr. prietaiso instrukcijose.

1. Mažiausiai 10 minučių iš anksto inkubuokite kalcio chloridą 37 °C temperatūroje.
2. Pipete į testo kiuvetę įlašinkite 100 μl mėginio. 1–2 minutes inkubuokite 37 °C temperatūroje.
3. Į kiuvetę su plazma įlašinkite 100 μl APTT reagento. Mišinį 5 minutes inkubuokite 37 °C temperatūroje.
4. Įlašinkite 100 μl kalcio chlorido (37 °C) ir tuo pačiu metu įjunkite laikmatį.
5. Užregistruokite krešėjimo trukmę sekundėmis.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Kad analitinės kokybės kontrolė būtų patikima, „MediRox“ rekomenduoja naudoti normalią kontrolinę plazmą (GHI 162, GHI163, GHI164) ir nenormalią kontrolinę

plazmą (GHI 167B, GHI169, GHI170), o kokybės kontrolės procedūras atlikti geria laboratorinę praktiką atitinkančiu dažniu.

RIBOJIMAI IR TRUKDŽIAI

Jeigu iki tyrimo praeina per daug laiko arba imant mėginius patiriama sunkumų, gali būti nustatomas klaidingai per ilgas APTT. Dėl šios priežasties svarbu griežtai kontroliuoti plazmos ruošimą ir tvarkymą. Jeigu koaguliacijos faktoriai netyčia iš anksto suaktyvinami, APTT gali sutrumpėti.

Koaguliacijos faktorių trūkumo poveikis APTT gali būti kompensuojamas kitų koaguliacijos faktorių išankstiniu aktyvinimu ir padidinta koncentracija.

APTT rezultatams gali turėti įtakos kai kurie vaistai.

APTT rezultatams neturi hemoglobino koncentracija iki 10 mg/ml ir bilirubino koncentracija iki 0,50 mg/ml.

NUMATOMOS REIKŠMĖS

APTT rezultatams turi įtakos krešulio aptikimo metodas, todėl įvairiose laboratorijose rezultatai gali būti skirtingi.

Rekomenduojama kiekvienai laboratorijai nusistatyti konkretaus naudojamo prietaiso savą normalų diapazoną.

TIPINĖS ANALITINĖS CHARAKTERISTIKOS (ACL 9000)

	CV% (testo)	CV% (tarp testų)
Normali kontrolinė medžiaga	1,0	1,5
Nenormali kontrolinė medžiaga	1,0	1,5

Jautris faktoriams

Faktorius (%)	APTT – krešėjimo trukmė (sekundėmis) Normalus diapazonas 26,7–34,9 sek.		
	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

Jautris faktoriams nustatytas, įvairius kiekius sutelktinės normalios plazmos (SNP, 100 % faktorių koncentracijos) sumaišius su plazma, kuriai būdingas vidinis atskirų faktorių trūkumas, taip gaunant 10 % ir 40 % faktorių koncentracijas. Lenteleje taip pat nurodyti rezultatai, gauti tiriant vien SNP ir plazmą su nepakankamu faktorių kiekiu. Visi testai atlikti, 5 minutes iš anksto inkubavus ACL300R. Nurodytas normalus diapazonas yra vidurkis ± 2SD.

Šios reikšmės turi būti naudojamos tik kaip rekomendacijos. Kiekviena laboratorija turi nustatyti jautrų faktoriams, naudodama savus prietaisus ir metodikas.

Jautris heparinui

Heparinas V/ml	APTT krešėjimo trukmė sekundėmis
0	29,9
0,2	70,0
0,4	174

Rezultatai gauti tiriant SNP, į kurią pridėta nefrakcionuoto heparino. Visi testai atlikti, 5 minutes iš anksto inkubavus ACL300R.

Dėl įvairių kintamųjų (pavyzdžiui, skirtingų heparino šaltinių), dėl kurių gali pakisti krešėjimo trukmė, kiekviena laboratorija turi nusistatyti savo heparino gydymą diapazoną.

LITERATŪRA

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, Chantarangkul 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. HUR