

APTT-EA liquid

Diagnostic reagent for quantitative partial Thromboplastin Time (APTT) determination in human plasma on coagulation instruments (ellagic acid activated)

REF	Cont.	Product	Description
C01130	5x 8 mL	APTT-EA liquid	
C01130SV	1x 8 mL	APTT-EA liquid	yellowish turbid liquid
C14130	2x 5 mL + 2x 5 mL	APTT-EA liquid 0.020 M CaCl ₂	clear colourless liquid

Additionally offered:

C03101	5x 10 mL	0.020 M Calcium Chloride
T955100	10x 1 mL	Normal Coagulation Control Plasma
T955101	10x 1 mL	Abnormal Coagulation Control Plasma

For professional in vitro diagnostic use only.

GENERAL INFORMATION

Method:	Clotting Assay
Temperature:	37°C
Sample:	Sodium Citrate Plasma

Number of tests:		
C01130	5x 80 Tests 5x 160 Tests 5x 320 Tests	Manual Method Micro Method (DiaCheck CP4) Quarter Method (DiaCheck C1, C2, C4)
C01130SV	80 Tests 160 Tests 320 Tests	Manual Method Micro Method (DiaCheck CP4) Quarter Method (DiaCheck C1, C2, C4)
C14130	100 Tests 200 Tests 400 Tests	Manual Method Micro Method (DiaCheck CP4) Quarter Method (DiaCheck C1, C2, C4)

REAGENT COMPOSITION

- Components:
- Phospholipid cephaloplastin reagent derived from rabbit brain
 - Ellagic acid

REAGENT PREPARATION

The reagent is ready to use

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Calcium Chloride (0.020 M, REF: C03101)
- A mechanical or photo-optical Coagulation system, either manual, semi-automated or fully automated.
- Suitable timer.
- Parafilm or equivalent.
- Precision pipette, 0.1 mL
- Control Plasmas.

REAGENT STABILITY AND STORAGE

Conditions:	close immediately after use
Storage:	at 2-8°C
Stability:	up to the expiration date, once opened 3 months at 2-8° C, 1 week at 18-25° C and 2 days at 37° C

Avoid prolonged heating! Do not freeze!

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

- Obtain venous blood by clean venipuncture.
- Immediately mix 9 parts of freshly collected blood with 1 part tri-sodium citrate (0.11 mol/L, 3.2%).
- Centrifuge immediately for 15 minutes at approximately 1500 g (3000 rpm).
- Transfer the plasma into a clean test tube. It should be ensured that the plasma is free from platelets (PPP)
- Plasma has to be tested preferably immediately. If the specimen are held at 22 – 24°C then they may be tested within 2 hours and if the specimen is held at 2 – 4°C then it may be tested within 3 hours.

MANUAL TEST PROCEDURE

Bring reagents and sample to 37°C

Aspirate from reagent vial enough reagent for immediate testing requirements in a thoroughly clean and dry test tube. (Plastic tubes are preferred) Pre-warm reagent at 37°C

Pipette into test tubes	Sample	Reference Plasma
Sample (prewarmed at 37°C)	100 µl	-
Reference Plasma	-	100 µl
APTT Reagent	100 µl	100 µl

Shake tube briefly to mix the reagent and plasma; place the tube at 37°C for 3 to 5 minutes. Then forcibly add:

Calcium Chloride (pre-warmed at 37°C)	100 µl	100 µl
---------------------------------------	--------	--------

Simultaneously start a stopwatch and incubate for 20 seconds at 37°C. Following incubation, gently tilt back and forth until a gel clot forms. Stop the watch and record time in seconds.

For micro method: Use ½ of each volume
For quarter method: Use ¼ of each volume

Great care must be taken to minimize variations which may occur by seemingly insignificant factors:

Calibration Curve Method (For determination of heparin concentration)

- Dilute heparin (as used for treatment) with physiological saline to a concentration of 10 U/mL.
- Mix 0.2 ml of 10 U/ mL diluted heparin with 1.8 mL of Reference Plasma to give a heparin standard of 1 U/mL concentration.
- Dilute the heparin standard as prepared above (1 U/mL) with Reference Plasma as follows:

Test tube no.	Heparin Std (1 U/ mL) in mL	Reference Plasma in mL	Heparin conc. (U/ mL)
1	0.5	-	1
2	0.4	0.1	0.8
3	0.3	0.2	0.6
4	0.2	0.3	0.4
5	0.1	0.4	0.2
6	0.1	0.9	0.1
7	-	0.5	0.0

CALCULATION

$$R = \frac{\text{APTT of patient plasma (in seconds)}}{\text{APTT of Reference Plasma (in seconds)}}$$

+ Alternatively a patient plasma pool from at least 20 normal healthy individuals can be used.

Calibration Curve:

Heparin Concentration in the test sample can be directly obtained from the calibration curve by interpolating the test plasma clotting time against the heparin concentration in U/mL.

REFERENCE RANGE*

22 – 34 seconds (at 3 minutes activation time)

* It is recommended that each laboratory establish its own normal range.

TEST PRINCIPLE

Cephaloplastin activates the coagulation factors of the intrinsic pathway of the coagulation mechanism in the presence of calcium ions. APTT is prolonged by a deficiency of one or more of the clotting factors of the intrinsic pathway and in the presence of coagulation inhibitors like heparin

QUALITY CONTROL

All control plasmas with APTT values determined by this method can be used.

We recommend:

REF	Cont.	
T955100	10x 1 mL	Normal Coagulation Control Plasma
T955101	10x 1 mL	Abnormal Coagulation Control Plasma

CALIBRATION

For the assay with Calibration Curve Method Heparin as used for Treatment is required.

All reference plasmas with APTT values determined by this method can be used. We recommend:

REF	Cont.	
T955105	10x 1 mL	Normal Coag. Reference Plasma

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- Due to inter and intra laboratory variations users must establish their own normal population range as well as normal and abnormal range.
- It is recommended that controls with known factor activity should be run simultaneously with each test series routinely.
- Incorrect mixture of blood and tri-sodium citrate, insufficient pre-warming of plasma and reagent, contaminated reagents, glassware etc. are potential source of errors.
- Incorrect dilutions of heparin are also a potential source of errors.
- Oxalated plasma may induce prolonged clotting times
- Clotting time of patients on anticoagulant therapy depend upon the type and dosage of anticoagulant and also the time lag between the specimen collected and the last dose.
- Abnormalities of coagulation factor VII, factor XIII and platelets are not detected by this method.
- For automated equipment it is strongly recommended that the equipment manufactures methodology is strictly adhered to.
- In heparin monitoring time of collection of blood sample is important since the in-vivo half-life of heparin is approximately 1.5 hours. When it is administered intravenously it has an immediate anti-coagulant effect but its efficacy decreases rapidly with time.
- Platelet factor IV, a heparin-neutralizing factor can be released due to platelet aggregation or damage. In order to prevent this phenomenon in vitro the specimen should be collected with a minimum of trauma.
- Decrease in APTT time is observed in males under estrogen therapy and oral contraceptive administration in females.
- Glassware and cuvettes used in the test must be scrupulously clean and free from even traces of acids/alkalis or detergents.

WASTE MANAGEMENT

Please refer to local legal requirements.

REFERENCES

- Biggs, R. ed.: Human Blood Coagulation, Haemostasis and thrombosis, Blackwell, Scientific Publications Oxford, England, 1972.
- Hoffmann, J.J.M.L. and Neulendijk P. N.: Thrombos. Haemosta. (Stuttgart) 39, 640 (1978).
- CRC. Handbook Series in Clinical Laboratory, Science, Section 1: Haematology, Volume III, 1980. CRC Press, INC. Boca Raton, Florida.



APTT-EA liquid

Diagnostisches Reagenz für die quantitative In-vitro- Bestimmung von APTT (mit Ellagsäure aktiviert) in Humanplasma mit Koagulationsgeräten.

REF	Cont.	Produkt:	Beschreibung
C01130	5x 8 mL	APTT-EA liquid	
C01130SV	1x 8 mL	APTT-EA liquid	gelblich-trübe Flüssigkeit
C14130	2x 5 mL	APTT-EA liquid	
	+ 2x 5 mL	0,020 CaCl ₂	klare, farblose Flüssigkeit
Zusätzlich erhältlich:			
C03101	5x 10 mL	0,020 M Calcium Chloride	
T955100	10x 1 mL	Normal Coagulation Control Plasma	
T955101	10x 1 mL	Abnormal Coagulation Control Plasma	

Nur für den professionellen Gebrauch.

ALLGEMEINE INFORMATION

Methode:	Gerinnungsassay	
Temperatur:	37°C	
Probe:	Natriumzitratplasma	
Anzahl der Tests:		
C01130	5x 80 Tests 5x 160 Tests 5x 320 Tests	Manuelle Methode Mikro-Methode (DiaCheck CP4) Quarter-Methode (DiaCheck C1, C2, C4)
C01130SV	80 Tests 160 Tests 320 Tests	Manuelle Methode Mikro-Methode (DiaCheck CP4) Quarter-Methode (DiaCheck C1, C2, C4)
C14130	100 Tests 200 Tests 400 Tests	Manuelle Methode Mikro-Methode (DiaCheck CP4) Quarter-Methode (DiaCheck C1, C2, C4)

REAGENZIENZUSAMMENSETZUNG

- Bestandteile:
- Phospholipid-Cephaloplastin Reagent (Ursprung: Kaninchenhirn)
 - Ellagsäure

REAGENZENVORBEREITUNG

Dieses Reagenz ist flüssig und gebrauchsfertig.

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE REAGENZIEN

- Calciumchlorid (0,020M, REF C03101)
- Ein mechanisches oder photo-optisches Koagulationssystem, das entweder manuell zu bedienen ist oder halb-oder vollautomatisch funktioniert.
- Stoppuhr bzw. Timer
- Parafilm oder Ähnliches
- Präzisions-Pipette: 100µl
- Kontrollplasmen.

REAGENZSTABILITÄT UND -LAGERUNG

Lagerbedingungen: nach Gebrauch sofort wieder verschließen!
 bei 2-8°C
Lagertemperatur: bis zum Ablaufdatum; nach dem ersten Öffnen für 3 Monate bei 2-8° C, für 1 Woche bei 18-25° C oder für 2 Tage bei 37° C stabil.
Stabilität:

Hitze vermeiden! Nicht einfrieren!

PROBENNAHME UND -VORBEREITUNG

- Venöses Blut durch Venenpunktion gewinnen.
- Sofort 9 Teile frisch abgenommenes Blut mit 1 Teil gepufferter Tri-Natriumzitratlösung (0.11mol/l, 3,2%) gut mischen.
- Die Probe sofort bei ca. 1500g (3000 rpm) für 15 Minuten zentrifugieren.
- Das Plasma wird in ein sauberes Proberöhrchen transferiert. Es sollte sichergestellt werden, dass das Plasma plättchenfrei vorliegt.
- Plasma sollte falls möglich sofort getestet werden. Andernfalls, falls bei 22 – 24°C gelagert, muss die Testung innerhalb von 2 Stunden durchgeführt werden. Bei einer Lagerung bei 2 – 4° muss die Testung innerhalb von 3 Stunden erfolgen.

MANUELLE TESTDURCHFÜHRUNG

Reagenz und Probe auf 37°C bringen

Vom Reagenzfläschchen ausreichend Reagenz für die durchzuführenden Tests in ein sauberes und trockenes Teströhrchen überführen (wenn möglich Plastikröhrchen verwenden). Reagenz auf 37°C vorwärmen.

In Küvette pipettieren	Probe	Referenzplasma
Probe (auf 37°C vorgewärmt)	100 µL	-
Referenzplasma	-	100 µL
APTT-Reagenz	100 µL	100 µL

Röhrchen vorsichtig kurz schütteln, um eine gute Durchmischung von Plasma und Reagenz zu erreichen. Röhrchen 3 – 5 Minuten bei 37°C inkubieren. Dann rasch zugeben:

Calcium Chlorid (auf 37°C vorgewärmt)	100 µL	100 µL
Gleichzeitig die Zeitnehmung betätigen und bei 37°C 20 Sekunden lang inkubieren. Danach vorsichtig etwas vor und zurück kippen, bis sich ein Gerinnsel gebildet hat. Zeitnehmung beenden und die Zeit in Sekunden notieren.		

Micro-Methode: ½ jedes Volumens verwenden
 Quarter-Methode: ¼ jedes Volumens verwenden

Auch scheinbar unwichtige Faktoren können Variationen verursachen, daher ist bei der Durchführung besondere Vorsicht geboten.

Kalibrationskurve

(Methode zur Bestimmung der Heparinkonzentration.

- Heparin (wie zur Therapie verwendet) mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnen (Zielkonzentration: 10 U/mL).
- 0,2ml dieser Lösung (10 U/mL) mit 1,8mL Referenzplasma mischen, wodurch eine Konzentration von 1 U/mL erhalten wird.
- Diese Lösung (1 U/mL) wird nun mit Referenzplasma gemäß folgender Tabelle verdünnt:

Teströhrchen Nr.	Heparin Std (1 U/mL) in mL	Referenz-Plasma in mL	Heparin konz. (U/mL)
1	0,5	-	1
2	0,4	0,1	0,8
3	0,3	0,2	0,6
4	0,2	0,3	0,4
5	0,1	0,4	0,2
6	0,1	0,9	0,1
7	-	0,5	0,0

$$R = \frac{\text{APTT Patientenplasma (in Sekunden)}}{\text{APTT Referenzplasma (in Sekunden)}}$$

*Alternativ kann auch ein Patientenplasmapool von 20 gesunden Individuen herangezogen werden.

Kalibrationskurve:

Die Heparinkonzentration in der Probe kann direkt von der Kalibrationskurve abgelesen werden, indem die Gerinnungszeit der Probe gegen die Heparinkonzentration in U/mL interpoliert wird.

REFERENZBEREICH*

22 – 34 Sekunden (bei 3 Minuten Aktivierungszeit)
 * Es wird empfohlen, dass jedes Labor mit eigenen Normalwerten arbeitet.

TESTPRINZIP

Cephaloplastin aktiviert die Koagulationsfaktoren der intrinsischen Koagulationskaskade, sofern Ca-Ionen vorhanden sind. APTT ist bei Mangel an intrinsischen Koagulationsfaktoren sowie bei Anwesenheit von Inhibitoren wie Heparin verlängert.

QUALITÄTSKONTROLLE

Alle Kontrollplasmen, mit bekanntem APTT-Wert können verwendet werden. Wir empfehlen:

REF	Cont.	
T955100	10x 1 mL	Normal Coagulation Control Plasma
T955101	10x 1 mL	Abnormal Coagulation Control Plasma

KALIBRIERUNG

Für die Kalibrationskurvenmethode ist Heparin (wie für die Behandlung verwendet) erforderlich. Alle Referenzplasmen mit bekanntem APTT-Wert können verwendet werden. Wir empfehlen:

REF	Cont.	
T955105	10x 1 mL	Normal Coag. Reference Plasma

HINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Es wird empfohlen, dass jedes Labor eigene Normalwerte und Abnormalwerte ausarbeitet.
- Es wird empfohlen, dass Kontrollen mit bekannter Faktoraktivität parallel mit jeder Testserie routinemäßig getestet werden.
- Ein nicht korrektes Mischungsverhältnis von Blut und Tri-Natriumzitrat, mangelhaftes Vorwärmen von Plasma und Reagenz, kontaminiertes Reagenz, kontaminierte Glaswaren usw. zählen zu potentiellen Fehlerquellen.
- Eine nicht richtig durchgeführte Heparin-Verdünnungsreihe stellt eine weitere potentielle Fehlerquelle dar.
- In Oxalatplasma kann die Gerinnungszeit verlängert sein.
- Die Gerinnungszeiten von Patienten, die mit oralen Antikoagulantien behandelt werden, schwanken je nach Dosierung und Typ der Antikoagulantientherapie sowie der Zeitspanne, die zwischen der letzten Einnahme und der Blutabnahme liegt.
- Störungen der Koagulationsfaktoren VII und XIII sowie der Thrombozyten werden mit diesem Test nicht erfasst.
- Falls automatische Geräte verwendet werden, bitte unbedingt den Anweisungen des Herstellers Folge leisten.
- Wenn ein Heparin-Monitoring durchgeführt wird, ist auf den Zeitpunkt der Blutabnahme zu achten, da in-Vivo die Halbwertszeit von Heparin ca. 1,5 Stunden beträgt. Falls intravenös verabreicht, hat Heparin eine sofortige antikoagulante Wirkung, die aber rasch wieder nachlässt.
- Plättchen-Faktor IV, ein heparinneutralisierender Faktor, kann durch Aggregation oder Schädigung von Thrombozyten freigesetzt werden. Um dieses Phänomen in-Vitro zu vermeiden, sollte die Probe möglichst traumafrei gewonnen werden.
- Eine verkürzte APTT wurde bei Männern, die mit Östrogen behandelt wurden, sowie Frauen, die orale Kontrazeptiva einnehmen, beobachtet.
- Glaswaren und Küvetten, die für diesen Test verwendet werden, müssen absolut sauber sein und dürfen nicht einmal Spuren von Säuren, Laugen und Detergenzien enthalten.

ABFALLBESEITIGUNG

Bitte beachten Sie die lokalen Vorschriften und Gesetze.

LITERATUR

- Biggs, R. ed.: Human Blood Coagulation, Haemostasis and thrombosis, Blackwell, Scientific Publications Oxford, England, 1972.
- Hoffmann, J.J.M.L.. and Neulendijk P. N.: Thrombos. Haemosta. (Stuttgart) 39, 640 (1978).
- CRC. Handbook Series in Clinical Laboratory, Science, Section 1: Haematology, Volume III, 1980. CRC Press, INC. Boca Raton, Florida.

