

## KONTACT®

### I. Intended Use

Pacific Hemostasis® KONTACT reagent is intended for use in performing the activated partial thromboplastin time (APTT) test, and for APTT-based factor assays using a particulate activator.

### II. Summary and Principles

The APTT is useful as a screening tool, and as a quantitative test for the intrinsic coagulation factors. It is a simple and versatile test which is sensitive to deficiencies of all plasma clotting factors except Factor VII. However, it is mainly used to detect deficiencies in Factors VIII, IX, XI, XII, and Prekallikrein.

The APTT is also commonly used to monitor heparin therapy since APTT prolongation is directly proportional to increasing amounts of heparin.<sup>1,2</sup>

The APTT test is performed by adding reagent containing a plasma activator and phospholipid to the test specimen. This mixture is incubated for 5 minutes at 37°C for optimum activation. Calcium chloride is added and clot formation is timed.

### III. Reagent

For *in vitro* diagnostic use.

**Composition:** 1.2% rabbit brain phospholipid, 0.03% magnesium aluminum silica, 0.4% phenol, 0.8% buffers, salt and stabilizers

Store unopened vials at 2–8°C. **Do not freeze.** Opened vials are stable for 30 days when stored at 2–8°C. <sup>4</sup> The activator particles will settle on prolonged storage. Shake vigorously before opening to ensure adequate resuspension. Provide some mechanism such as a magnetic stirrer to maintain adequate suspension during use. Erratic values, quality control values outside established ranges, or product color variations could indicate deterioration. However, poor performance could also be due to other factors within the test system.

### IV. Specimen Collection

3.2% (0.109M) trisodium citrate anticoagulant is recommended for coagulation assays. Avoid hemolysis and contamination by tissue fluids. Samples that have less than 90% of the expected fill volume should be rejected. Centrifuge blood for 15 minutes at 1500 x g. Test within 2 hours if samples are held at 22–24°C. For more details on specimen collection and storage, see NCCLS Document H21-A4.<sup>3</sup>

- Do not delay mixing the blood with anticoagulant.
- Avoid foaming the specimen.
- Use only plastic or siliconized borosilicate glass containers.
- Turbid, icteric, lipemic, or hemolyzed specimens may generate erroneous results.
- Freezing and thawing plasma that contains residual cells will generate damaged cell membranes that can affect results.
- Acute inflammatory reactions can shorten APTT results because of elevated fibrinogen.
- Plasma samples with hematocrits outside the range of 20–55% may be improperly anticoagulated and should be adjusted appropriately.

### V. Test Procedure

**Materials Provided:** KONTACT Reagent, liquid, 10 x 10 mL, or 10 x 4 mL.

**Materials Required, But Not Provided:**

Pacific Hemostasis Calcium Chloride solution (0.025M)

Stopwatch or timer

Precision pipetter: 0.1 mL

Normal and abnormal controls such as Pacific Hemostasis Coagulation Control Plasmas, Level 1, 2, and 3.

KONTACT is suitable for use with manual, mechanical, photo-optical, or other means of clot detection. Follow manufacturer's recommendations for proper use of instrumentation. For manual assays:

- Prewarm Calcium Chloride (0.025M) to 37°C.
- Add 0.1 mL test plasma to cuvette and prewarm to 37°C.
- Add 0.1 mL KONTACT to the test plasma. Mix.
- Incubate the plasma-reagent mixture at 37°C for 5 minutes (activation time).
- Forcibly add 0.1 mL prewarmed Calcium Chloride and time clot formation.

### VI. Quality Control

Normal and abnormal plasmas such as Pacific Hemostasis Coagulation Control Level 1, 2, and 3 should be tested in conjunction with patient plasmas. Level 1 is a normal plasma, and Levels 2 and 3 are adjusted to mimic moderately and severely deficient plasmas, respectively. A normal control and at least one abnormal control should be run at the initiation of testing each day and at least once each shift, or with each group of assays. Controls should also be tested with each reagent change or major instrument adjustment. Each laboratory should establish a control range to represent the allowable variation in day to day performance for each control.

### VII. Results

Report clotting times for each plasma to the nearest 0.1 second. A Normal Reference Range can also be reported for comparison. Do not report patient values relative to commercial control plasma clotting times. Controls are intended only for quality assurance of the test system.

### VIII. Limitations

The biochemistry of coagulation involves a series of reactions that are influenced by many pre-test conditions. These variables must be controlled to obtain reproducible results.<sup>3</sup>

#### Technique

- Plasma pH will increase if exposed to air. Store samples stoppered.
- KONTACT was designed to work at 37°C ± 0.5°C. Frequently check the temperature of all heating elements.
- All labware must be clean and free of trace amounts of detergents.
- Always follow instrument manufacturer's instructions for proper maintenance.

#### Interfering Substances

- Sodium oxalate, EDTA, and heparin are not suitable anticoagulants.
- Oral contraceptives, estrogen, pregnancy, coumarin type drugs, heparin, asparaginase, and naloxone have been reported to influence APTT results.<sup>4</sup>

### IX. Expected Values

When KONTACT was evaluated on a normal population, the following results were obtained: <sup>5</sup>

	mean	± 2SD range
<b>Mechanical</b>	30.3	26.1 - 34.5
<b>Photo-optical</b>	33.3	28.5 - 38.1

These values should only be used as a guideline. Each laboratory should establish a Normal Reference Range (NRR) using instrumentation, blood collection methods, and testing techniques used in that laboratory. The NRR should be reestablished or at least verified when changing lot numbers of the same reagent.<sup>4</sup> A new NRR should be established with any change in reagents, instrumentation, blood collection techniques, or anticoagulant.

### X. Performance Characteristics

#### Heparin Sensitivity:

The anticoagulant action of heparin depends on many factors, including an adequate level of Antithrombin-III, platelet activation and subsequent Platelet Factor-4 release during specimen preparation, *in vivo* presence of other medications, rate of heparin metabolism, mode of heparin administration, and delayed specimen handling. While recognizing these variables, the laboratory can determine the relative sensitivity of a given reagent to heparin by adding known amounts of heparin to pooled normal plasma and performing an APTT.

ENGLISH

For example, the following results were obtained on a photo-optical instrument with one lot of KONTACT reagent:<sup>10</sup>

Heparin conc. (units/mL)	APTT (seconds)
0.0	31.9
0.05	35.0
0.1	39.9
0.2	53.2
0.3	68.5
0.4	85.3
0.5	106.5

Each laboratory should establish its own heparin sensitivity curve using the same heparin source used for therapy in that institution. Variations can result from different brands of heparin, tissue origin, and salt forms.<sup>12,5</sup>

**Warning: DO NOT USE with Instrumentation Laboratory line of ACL™ COAGULATION ANALYZERS on HEPARINIZED patient samples.**

#### Factor Sensitivity:

An APTT reagent with adequate sensitivity should demonstrate a prolonged clotting time in samples having ≤ 30-40% factor activity.<sup>6,7</sup> KONTACT was evaluated on mildly and severely deficient plasmas with the following results: <sup>11</sup>

Factor	% activity	APTT (seconds)
VIII	<1%	150
VIII	20%	50.7
IX	<1%	>150
IX	20%	39.6
XI	<1%	88.7
XI	20%	44.5
XII	<1%	>150
XII	20%	43.2
Prekallikrein	<1%	55.9

Furthermore, the sensitivity of KONTACT to Factor VIII has been determined as follows: <sup>12</sup>

% Factor VIII	APTT (seconds)
100%	34.3
70%	37.8
50%	40.9
40%	43.4
30%	46.2
20%	50.7
10%	57.0
5%	63.6
1%	85.2
<1%	>150

These values should only be used as guidelines. Each laboratory should establish sensitivity to individual factors using instruments, reagents, and techniques used in their laboratory.

ORDERING INFORMATION			
	<b>Cat. No.</b>	<b>Description</b>	<b>Contents</b>
	100312	KONTACT	10 x 10 mL
	100308	KONTACT	10 x 4 mL
	100314	CaCl <sub>2</sub> (0.025M)	10 x 10 mL
	100309	CaCl <sub>2</sub> (0.025M)	10 x 4 mL

#### FISHER DIAGNOSTICS® LIMITED WARRANTY

Fisher Diagnostics (FD) warrants to the purchaser only that FD products will perform as described on their labeling and product literature. Purchaser must determine the suitability of FD products for their specific applications. FD's sole obligation will be, at its option, to either replace a non-conforming or defective product, or return the purchase price. FD DISCLAIMS ALL OTHER WARRANTIES, EXPRESSED OR IMPLIED, INCLUDING THE WARRANTIES OF MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR ANY PARTICULAR PURPOSE. Neither FD nor its affiliates shall, in any event, be liable for incidental or consequential loss or damage.

Pacific Hemostasis® is a registered trademark of Fisher Scientific Company L.L.C.

Fisher Diagnostics® is a registered trademark of Fisher Scientific Company L.L.C.

### XI. References

- 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.
- 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.
- NCCLS: *Collection, transport, and processing of blood specimens for coagulation testing and performance of coagulation assays*. 4th edition. Approved guideline. NCCLS Document H21-A4. Wayne, PA, 2003.
- Young, D.S., Thomas, D.W., Friedman, R.B., et al: Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests. *Clin Chem* 18:1041, 1972.
- 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.
- Wujastyk, J., Triplett, D.A.: Selecting Instrumentation and Reagents for the Coagulation Laboratory. *Pathologist* 37:398, 1983.
- 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.
- 2-12. Data found in 510(K) file.

## KONTACT®

### I. Verwendungszweck

Pacific Hemostasis® KONTACT Reagent wird eingesetzt zur Durchführung des APTT-Tests (Aktivierte partielle Thromboplastinzeit) und für auf APTT-basierte Faktor-Assays unter Verwendung eines bestimmte Aktivators.

### II. Zusammenfassung und Prinzipien

Der APTT-Test eignet sich als Screening-Tool und als quantitativer Test für die intrinsischen Koagulationsfaktoren. Es ist ein sehr einfacher und vielseitiger Test, der auf Mängel aller Plasmagerinnungsfaktoren außer auf Faktor VII reagiert. Er wird jedoch hauptsächlich verwendet, um Mängel bei den Faktoren VIII, IX, XI, XII und dem Präkallikrein zu erkennen.

Der APTT-Test wird häufig zur Monitorisierung der Heparintherapie verwendet, da die APTT-Verlängerung direkt proportional zur zunehmenden Heparinmenge ist.<sup>1,2</sup>

Der APTT-Test wird durchgeführt, indem dem der Probe ein Reagenz hinzugefügt wird, das einen Plasmaaktivator und Phospholipid enthält. Diese Mischung wird 5 Minuten lang bei 37 °C für eine optimale Aktivierung inkubiert. Kalziumchlorid wird hinzugefügt und anschließend wird die zur Gerinnung erforderliche Zeit erfasst.

### III. Reagenz

Für die Verwendung in der *In-Vitro*-Diagnostik.

**Zusammensetzung:** 1,2 % Kaninchenhirn, 0,03 % Magnesium-Aluminium-Silikat, 0,4 % Phenol, 0,8 % Puffer, Salze und Stabilisatoren

Ungeöffnete Flaschen bei 2–8 °C lagern. **Nicht einfrieren.** Geöffnete Flaschen sollten bei einer Lagertemperatur von 2–8 °C innerhalb von 30 Tagen verwendet werden. <sup>4</sup>

Bei längerer Lagerung senken sich die Aktivatorpartikel ab. Vor dem Öffnen kräftig schütteln, um eine adäquate Resuspension sicherzustellen. Hierzu eine Vorrichtung verwenden, z. B. einen Magnetrüttler, um eine angemessene Aufhängung zu gewährleisten. Fehlerhafte Werte, Qualitätskontrollwerte außerhalb der festgelegten Bereiche oder Abweichungen in der Farbe des Produkts können auf eine Verschlechterung des Produkts hinweisen. Eine mangelhafte Qualität kann jedoch auch durch andere Faktoren innerhalb des Testsystem begründet sein.

### IV. Probenvorbereitung

Für Koagulationsbestimmungen werden 3,2 % (0,109 M) des Thrombininhibitors Trinitriumcitrat empfohlen. Hämolyse und Kontamination durch Gewebeflüssigkeiten vermeiden. Proben mit weniger als 90 % des erwarteten Füllvolumens sollten abgelehnt werden. Blut für 15 Minuten bei 1500 x g zentrifugieren. Innerhalb von zwei Stunden Testen, wenn die Proben bei 22–24 °C gehalten werden. Weitere Informationen zur Entnahme und Lagerung von Proben finden Sie im NCCLS-Dokument H21-A4.<sup>3</sup>

- Das Mischen des Blutes mit dem Thrombininhibitor sollte sofort erfolgen.
- Eine Schaumbildung ist zu vermeiden.
- Nur Behälter aus Kunststoff oder silikonisiertem Borosilikatglas verwenden.
- Trübe, ikterische, lipämische oder hämolyisierte Proben können fehlerhafte Ergebnisse verursachen.
- Das Einfrieren und Auftauen von Residualzellen enthaltendem Plasma verursacht eine Beschädigung der Zellmembranen, die sich auf die Ergebnisse auswirken kann.
- Akute entzündliche Reaktionen können die APTT-Ergebnisse aufgrund von erhöhtem Fibrinogen beeinträchtigen.
- Plasmaproben mit Hämatokritwerten außerhalb eines Bereichs von 20–55 % wurden wahrscheinlich nicht ordnungsgemäß antikoaguliert und sollten entsprechend angepasst werden.

### V. Testverfahren

**Im Lieferumfang enthaltene Materialien:** KONTACT Reagent, flüssig, 10 x 10 mL oder 10 x 4 mL

**Nicht im Lieferumfang enthaltene aber erforderliche Materialien:**

Pacific Hemostasis Calcium Chloride solution (0,025 M)

Stopuhr oder Zeitnehmer

Präzisionspipette: 0,1 mL

Normale und abnormale Kontrollen, z. B. Pacific Hemostasis Coagulation Control Plasmas, Level 1, 2 und 3.

KONTACT eignet sich für die manuelle, mechanische, photo-optische oder andere Erkennungsmethoden von Gerinnungsvorgängen. Für eine ordnungsgemäße Verwendung der Instrumente sind die Anweisungen des Herstellers zu beachten. Manuelle Versuche:

- Calcium Chloride (0,025 M) auf 37 °C vorwärmen.
- 0,1 mL Testplasma zur Küvette hinzufügen und auf 37 °C vorwärmen.
- 0,1 mL KONTACT zum Testplasma hinzufügen. Mischen.
- Die Plasma-Reagenz-Mischung 5 Minuten lang bei 37 °C inkubieren (Aktivierungszeit).
- 0,1 mL vorgewärmtes Calcium Chloride hinzufügen und mit einer Stopuhr messen, wann der Gerinnungsvorgang beginnt.

### VI. Qualitätskontrolle

Normale und abnormale Plasmen, z. B. Pacific Hemostasis Coagulation Control Level 1, 2 und 3, sollten zusammen mit Patientenplasmen getestet werden. Level 1 ist ein normales Plasma und Level 2 und 3 sind angepasst, um moderat bzw. schwer defizientes Plasma zu imitieren. Bei der Testinitilierung sollte eine normale und mindestens eine abnormale Kontrolle jeden Tag und mindestens einmal pro Schicht oder mit jeder Versuchsreihe ausgeführt werden. Die Kontrollen sollten auch bei jedem Reagenzwechsel oder einer umfassenden Instrumentenanpassung ausgeführt werden. Jedes Laboratorium sollte einen Kontrollbereich festlegen, der die zulässigen Abweichungen der täglichen Ausführung für alle Kontrollen darlegt.

### VII. Ergebnisse

Zeichnen Sie die Gerinnungszeit für jedes Plasma bis auf 0,1 Sekunden genau auf. Zum Vergleich kann auch ein normaler Referenzbereich herangezogen werden. Zu Gerinnungszeiten von kommerziellen Kontrollplasmen relative Gerinnungszeiten werden nicht dokumentiert. Die Kontrollen dienen nur der Qualitätskontrolle des Testsystems.

### VIII. Grenzen des Verfahrens

Die Biochemie der Koagulation umfasst eine Reihe von Reaktionen, die durch viele Prätest-Bedingungen beeinflusst werden. Um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, müssen diese Variablen kontrolliert werden.<sup>3</sup>

#### Technische Hinweise

- Wenn die Proben Luft ausgesetzt werden, erhöht sich der Plasma-pH-Wert. Proben daher verschlossen lagern.
- KONTACT wurde für den Einsatz bei 37 °C ± 0,5 °C entwickelt. Die Temperatur aller Heizelemente muss daher regelmäßig geprüft werden.
- Alle Instrumente müssen gereinigt und frei von Reinigungsmittelrückständen sein.
- Für eine ordnungsgemäße Wartung sind die Anweisungen des Herstellers zu beachten.

#### Störende Substanzen

- Natriumoxalat, EDTA und Heparin sind keine geeigneten Thrombininhibitoren.
- Orale Kontrazeptiva, Östrogene, Schwangerschaft, Kumarinderivate, Heparin, Asparaginase und Naloxon wirken sich auf APTT-Ergebnisse aus.<sup>4</sup>

### IX. Erwartete Werte

Eine Auswertung von KONTACT in einer normalen Population ergab die folgenden Ergebnisse: <sup>5</sup>

	Mittelwert	± 2 SD-Bereich
<b>Mechanisch</b>	30,3	26,1 – 34,5
<b>Photo-optisch</b>	33,3	28,5 – 38,1

Diese Werte sollten nur als Richtlinie verwendet werden. Jedes Labor sollte einen normalen Referenzbereich (NRR) festlegen, der die in diesem Labor verwendete Instrumentierung, die Blutentnahmeverfahren und Versuchsmethoden berücksichtigt. Der NRR sollte neu festgelegt oder zumindest überprüft werden, wenn die Chargenummern innerhalb desselben Reagenz geändert werden.<sup>3</sup> Bei einem Wechsel des Reagenz, der Instrumentierung, der Blutentnahmeverfahren oder des Thrombininhibitors sollte ein neuer NRR festgelegt werden.

### X. Leistungsmerkmale

#### Heparinempfindlichkeit:

Die thrombininhibitorische Aktivität von Heparin ist von vielen Faktoren abhängig, einschließlich einer ausreichendem Menge an Antithrombin-III, der Thrombozytenaktivierung und der anschließenden Freisetzung des Thrombozytenfaktors 4 während der Probenvorbereitung, weiterer *in-vivo*-Medikationen, des Heparin-Klärfaktors, der Methode der Heparin-Verabreichung und einer verzögerten Probenverarbeitung. Unter Berücksichtigung dieser Variablen kann das Laboratorium die relative Heparinempfindlichkeit eines gegebenen Reagenz ermitteln, indem bekannte Mengen an Heparin zu gepooltem normalen Plasma hinzugefügt werden und eine APTT durchgeführt wird. Die folgenden Ergebnisse wurden auf einem photo-optischen Instrument mit einer Charge des KONTACT Reagenz erzielt:<sup>10</sup>

Heparinkonzentration (Einheit/ml)	APTT (Sekunden)
0.0	31.9
0.05	35.0
0.1	39.9
0.2	53.2
0.3	68.5
0.4	85.3
0.5	106.5

Jedes Laboratorium sollte mit Hilfe der "in-house" für die Therapie verwendeten Heparinkonzentration seine eigene Heparinempfindlichkeitskurve erstellen. Abweichungen können auf unterschiedliche Heparinderivate, Gewebeursprung und Salzformen beruhen.<sup>12,5</sup>

**Warning: NICHT mit der Labormessgerät-Reihe von ACL™ COAGULATION ANALYZERS bei HEPARINISIERTEN Patientenproben verwenden.**

#### Faktorempfindlichkeit:

Ein APTT-Reagenz mit einer angemessenen Empfindlichkeit sollte in Proben mit einer Faktoraktivität von ≤ 30–40 % eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.<sup>6,7</sup> KONTACT wurde bei moderat und schwer defizienten Plasmen mit den folgenden Ergebnissen beurteilt: <sup>11</sup>

Faktor	% Aktivität	APTT (Sekunden)
VIII	<1 <span> </span> %	150
VIII	20 <span> </span> %	50,7
IX	<1 <span> </span> %	>150
IX	20 <span> </span> %	39,6
XI	<1 <span> </span> %	88,7
XI	20 <span> </span> %	44,5
XII	<1 <span> </span> %	>150
XII	20 <span> </span> %	43,2
Prekallikrein	<1 <span> </span> %	55,9

Desweiteren wurde die Empfindlichkeit von KONTACT gegenüber Faktor VIII folgendermaßen ermittelt: <sup>12</sup>

% Faktor VIII	APTT (Sekunden)
100 <span> </span> %	34,3
70 <span> </span> %	37,8
50 <span> </span> %	40,9
40 <span> </span> %	43,4
30 <span> </span> %	46,2
20 <span> </span> %	50,7
10 <span> </span> %	57,0
5 <span> </span> %	63,6
1 <span> </span> %	85,2
<1 <span> </span> %	>150

Diese Werte sollten nur als Richtlinie verwendet werden. Jedes Laboratorium sollte die Empfindlichkeit gegenüber einzelnen Faktoren unter Berücksichtigung der in diesem Laboratorium verwendeten Instrumentierung, der Blutentnahmeverfahren und der Versuchsmethoden festlegen.

BESTELLINFORMATIONEN			
	<b>Kat.- Nr.</b>	<b>Beschreibung</b>	<b>Inhalt</b>
	100312	KONTACT	10 x 10 mL
	100308	KONTACT	10 x 4 mL
	100314	CaCl <sub>2</sub> (0,025 M)	10 x 10 mL
	100309	CaCl <sub>2</sub> (0,025 M)	10 x 4 mL

#### FISHER DIAGNOSTICS® GEWÄHRLEISTUNGS-AUSSCHLUSS

Fisher Diagnostics (FD) garantiert dem Käufer nur, dass die FD-Produkte die Angaben auf den Etiketten und in der entsprechenden Produktdokumentation erfüllen. Der Käufer muss die spezifische Anwendungstauglichkeit der FD-Produkte selbst ermitteln. FD verpflichtet sich nach eigenem Ermessen ein fehlerhaftes oder unbrauchbares Produkt zu ersetzen oder die Anschaffungskosten zu ersetzen. FD SCHLIESST ALLE ANDEREN GEWÄHRLEISTUNGEN, AUSDRÜCKLICH ODER STILLSCHWEIGEND, EINSCHLIESSLICH DER GEWÄHRLEISTUNGEN DER MARKTGÄNGIGKEIT UND TAUGLICHKEIT FÜR BESTIMMTE ZWECKE AUS. Desweiteren sind weder FD noch ihre Vertreter in keinem haftbar für beläufig entstandene oder Folgeschäden bzw. -verluste.

Pacific Hemostasis® ist eine eingetragene Marke der Fisher Scientific Company L.L.C. Fisher Diagnostics® ist eine eingetragene Marke der Fisher Scientific Company L.L.C.

### XI. Referenzen

- Brandt, J.T, Triplett, D.A.: Laboratory Monitoring of Heparin. Effect of Reagents and Instruments in the Activated Partial Thromboplastin Time. <

# Pacific Hemostasis

840150  
Rév. 09/06

## KONTACT®

#### I. Utilisation prévue

Pacific Hemostasis® KONTACT Reagent est destiné à être utilisé dans le cadre du test TCA (Temps de Céphaline Activée), ainsi que lors des tests de facteur basés sur le TCA et utilisant un activateur de particule.

#### II. Résumé et principes de base

Le test TCA sert d'outil de dépistage, et comme dosage quantitatif des facteurs de coagulation intrinsèques. Il s'agit d'un test simple et polyvalent qui détecte les déficits en facteurs de coagulation plasmatique, exception faite du facteur VII. Cependant, on l'utilise principalement pour détecter les déficits en facteurs VIII, IX, XI, XII, et en prékallïcraïne.

Le test TCA est également souvent utilisé dans le suivi de l'héparinisation car l'allongement du temps TCA est directement proportionnel à l'augmentation de la quantité d'héparine.<sup>1,2</sup>

Le test TCA est réalisé en ajoutant un réactif contenant un activateur de plasma et un phospholipide à l'échantillon à analyser. Ce mélange est mis à incuber pendant 5 minutes à 37 °C pour une activation optimale. On ajoute du chlorure de calcium et la formation de caillot est chronométrée.

#### III. Réactif

Pour utilisation diagnostique *in vitro*.

**Composition** : 1,2 % de phospholipides de cerveau de lapin, 0,03 % de silicate de magnésium et d'aluminium, 0,4 % de phénol, 0,8 % de tampons, des sels et des stabilisateurs

Stocker les flacons non ouverts entre 2 et 8 °C. **Ne pas congeler**. Les flacons ouverts sont stables pendant 30 jours lorsqu'ils sont stockés entre 2 et 8 °C.<sup>4</sup>

Un stockage prolongé peut entraîner la sédimentation des particules de l'activateur. Secouer vigoureusement avant ouverture afin de permettre une bonne remise en suspension. Prévoir un mécanisme, de type agitateur magnétique, pour conserver une suspension adaptée au cours de l'utilisation. Des valeurs aberrantes, des données de contrôle de qualité en dehors des normes admises ou un changement de couleur du produit peuvent indiquer une détérioration. Cependant, d'autres facteurs relatifs au système de test peuvent être à l'origine de résultats médiocres.

#### IV. Prélèvement d'échantillon

Il est recommandé d'ajouter 3.2 % (0,109 M) de citrate trisodique comme anticoagulant lors des tests de coagulation. Éviter l'hémolyse et la contamination par des liquides tissulaires. Les échantillons qui atteignent moins de 90 % du volume de remplissage escompté doivent être éliminés. Centrifuger le sang pendant 15 minutes à 1500 x g. Effectuer le test dans les 2 heures si les échantillons sont conservés entre 22 et 24 °C Pour plus de détails sur le prélèvement d'échantillon et le stockage, consulter le Document H21-A4 de la NCCLS.<sup>3</sup>

- Mélanger sans délai le sang et les anticoagulants.
- Éviter la formation de mousse dans l'échantillon.
- N'utiliser que des récipients en plastique ou en verre au borosilicate siliconé.
- Les échantillons troubles, icteriques, lipémiques ou hémolysés peuvent donner des résultats erronés.
- Les échantillons de plasma congelés ou en cours de décongélation qui contiennent des cellules résiduelles produiront des membranes cellulaires abimées qui peuvent altérer les résultats.
- Des réactions inflammatoires aiguës peuvent raccourcir les temps TCA en raison d'un taux élevé de fibrinogène.
- Les échantillons de plasma affichant des taux d'hématocrite inférieurs à 20 % et supérieurs à 55 % sont susceptibles d'être mal traités par anticoagulant, et doivent être corrigés en conséquence.

#### V. Procédure de test

**Matériel fourni** : KONTACT Reagent liquide, 10 x 10 mL ou 10 x 4 mL

**Matériel nécessaire mais non fourni** :

Pacific Hemostasis Calcium Chloride solution (0,025 M)

Chronomètre ou minuterie

Pipette de précision : 0,1 mL

Contrôles normaux et anormaux, tels le Pacific Hemostasis Coagulation Control Plasmas, Level 1, 2 et 3.

KONTACT peut être utilisé avec des instruments à détection de caillots, qu'ils soient manuels, mécaniques, à cellule photoélectrique, ou de tout autre type. Suivre les recommandations du fabricant pour utiliser correctement les instruments. Pour les dosages manuels :

- Préchauffer le Calcium Chloride (0,025 M) à 37 °C.
- Ajouter 0,1 mL de plasma à analyser dans la cuvette et préchauffer à 37 °C.
- Ajouter 0,1 mL de KONTACT au plasma à analyser. Mélanger.
- Mettre à incuber le mélange réactif-plasma à 37 °C pendant 5 minutes (temps d'activation).
- Ajouter 0,1 mL de Calcium Chloride préchauffé et chronométrer la formation des caillots.

#### VI. Contrôle qualité

Les contrôles normaux et anormaux, tels que les plasmas de Pacific Hemostasis Coagulation Control, Level 1, 2 et 3 doivent être analysés en association avec les échantillons de plasma des patients. Le Level 1 correspond à un plasma normal, et les Levels 2 et 3 sont ajustés pour reproduire des échantillons de plasma respectivement moyennement et fortement déficients. Un contrôle normal et au moins un contrôle anormal doivent être effectués quotidiennement en début d'analyse, et au moins une fois lors de chaque utilisation, ou avec chaque série d'analyses. Les contrôles doivent également être testés avec chaque nouveau réactif, ou après chaque réglage important des instruments. Chaque laboratoire doit élaborer un intervalle de contrôle afin de représenter les variations constatées dans les résultats au jour le jour, pour chaque contrôle.

#### VII. Résultats

Noter les temps de coagulation de chaque échantillon de plasma, arrondis au dixième de seconde le plus proche. À titre de comparaison, un intervalle de référence normal peut également être défini. Ne pas comparer les valeurs des patients aux temps de coagulation de contrôle de plasma fournis. Les contrôles ne sont destinés qu'à l'assurance qualité du système de test.

#### VIII. Limites

La biochimie de la coagulation implique une série de réactions influencées par diverses conditions préalables au test. Ces variables doivent être contrôlées afin d'obtenir des résultats reproductibles.<sup>3</sup>

##### Technique

- Au contact de l'air, le pH du plasma augmente. Stocker les échantillons rebouchés.
- KONTACT a été conçu pour être utilisé à 37 °C ± 0,5 °C. Vérifier fréquemment la température de tous les éléments chauffants.
- Tout le matériel de laboratoire doit être propre et exempt de toute trace de détergent.
- Respecter scrupuleusement les indications du fabricant en matière d'entretien.

##### Substances interférentes

- L'oxalate de sodium, l'EDTA et l'héparine ne sont pas des anticoagulants appropriés.
- Les contraceptifs oraux, les oestrogènes, la gossesse, les médicaments de type coumarine, l'héparine, l'asparaginase et la naloxone sont susceptibles d'affecter les résultats du test TCA.<sup>4</sup>

#### IX. Valeurs escomptées

Lors de l'évaluation de KONTACT sur une population normale, on obtient les résultats suivants :<sup>4</sup>

	moj.	intervalle <b>± 2 ET</b>
<b>mécanique</b>	30,3	26,1 – 34,5
<b>Photoélectrique</b>	33,3	28,5 – 38,1

Ces valeurs ne sont données qu'à titre indicatif. Chaque laboratoire doit élaborer un intervalle de référence normal (IRN), en utilisant les instruments, les méthodes de prélèvement sanguin et les techniques de test qui lui sont propres. L'INR doit être mis à jour, ou du moins vérifié, en cas de changement du numéro de lot d'un même réactif.<sup>2</sup> Tout changement de réactif, d'instruments, de technique de prélèvement sanguin ou d'anticoagulants implique l'élaboration d'un nouvel INR.

#### X. Caractéristiques des performances

**Sensibilité à l'héparine** :

L'effet anticoagulant de l'héparine dépend de plusieurs facteurs, notamment : un niveau approprié d'antithrombine-III, l'activation plaquettaire et la libération consécutive du facteur plaquettaire 4 lors de la préparation de l'échantillon, la présence *in vivo* d'autres médicaments, le taux de métabolisme de l'héparine, le mode d'administration de l'héparine et un retard dans la manipulation de l'échantillon. Parallèlement à ces variables, le laboratoire peut mesurer la sensibilité relative d'un réactif donné à l'héparine en ajoutant des quantités d'héparine connues à des pools d'échantillons de plasma normal et en effectuant un test TCA. Ainsi, les résultats suivants ont été obtenus sur un instrument à cellule photoélectrique avec un lot de réactif KONTACT :<sup>10</sup>

Conc. d'héparine (unités/mL)	TCA (secondes)
0,0	31,9
0,05	35,0
0,1	39,9
0,2	53,2
0,3	68,5
0,4	85,3
0,5	106,5

Chaque laboratoire doit élaborer sa propre courbe de sensibilité à l'héparine en utilisant la même source d'héparine que celle employée par cette institution pour le traitement. Les résultats peuvent varier en fonction des marques d'héparine, de l'origine des tissus et des formes salines.<sup>1,2,5</sup>

**Attention : NE PAS UTILISER avec la gamme ACL™ COAGULATION ANALYZERS d'Instrumentation Laboratory sur des échantillons de patients HÉPARINISÉS.**

**Sensibilité au facteur :**

Un réactif TCA ayant la sensibilité appropriée doit indiquer un temps de coagulation prolongé pour les échantillons disposant d'une activité de facteur comprise entre <30 et 40 %.<sup>6,7</sup> KONTACT a été évalué sur des échantillons de plasma légèrement et fortement déficients avec les résultats suivants :<sup>11</sup>

Facteur	% d'activité	TCA (secondes)
VIII	<1 <span> </span> %	150
VIII	20 <span> </span> %	50,7
IX	<1 <span> </span> %	>150
IX	20 <span> </span> %	39,6
XI	<1 <span> </span> %	88,7
XI	20 <span> </span> %	44,5
XII	<1 <span> </span> %	>150
XII	20 <span> </span> %	43,2
Prékallikrein	<1 <span> </span> %	55,9

En outre, la sensibilité de KONTACT au facteur VIII a été mesurée comme indiqué ci-dessous :<sup>12</sup>

% Facteur VIII	TCA (secondes)
100 <span> </span> %	34,3
70 <span> </span> %	37,8
50 <span> </span> %	40,9
40 <span> </span> %	43,4
30 <span> </span> %	46,2
20 <span> </span> %	50,7
10 <span> </span> %	57,0
5 <span> </span> %	63,6
1 <span> </span> %	85,2
<1%	>150

Ces valeurs ne sont données qu'à titre indicatif . Chaque laboratoire doit déterminer la sensibilité à chaque facteur en employant les instruments, les réactifs et les techniques qui lui sont propres.

	POUR COMMANDER		
	Réf. Cat.	Description	Contenu
	100312	KONTACT	10 x 10 mL
	100308	KONTACT	10 x 4 mL
	100314	CaCl <sub>2</sub> (0,025M)	10 x 10 mL
	100309	CaCl <sub>2</sub> (0,025 M)	10 x 4 mL

##### GARANTIE LIMITÉE DE FISHER DIAGNOSTICS®

Fisher Diagnostics (FD) garantit à l'acquéreur le bon fonctionnement des produits FD, tel que décrit sur l'étiquette et dans les modes d'emploi. Il revient à l'acquéreur de décider si les produits FD sont adaptés à ses besoins spécifiques. La seule obligation de FD consiste soit à remplacer un produit non conforme ou défectueux, soit à rembourser le prix d'achat, à sa discrétion. FD DÉCLINE TOUTE RESPONSABILITÉ QUANT AUX AUTRES GARANTIES, EXPLICITES OU IMPLICITES, Y COMPRIS LES GARANTIES DE COMMERCIALITÉ, ET L'ADEQUATION DU PRODUIT À TOUTE AUTRE UTILISATION. FD, ni aucune de ses filiales, ne peut en aucun cas être tenue pour responsable d'un incident entraînant une perte ou un dommage quelconque.

Pacific Hemostasis® est une marque déposée de Fisher Scientific Company L.L.C. Fisher Diagnostics® est une marque déposée de Fisher Scientific Company L.L.C.

#### XI. Références

- 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.
- 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.
- NCCLS: *Collection, transport, and processing of blood specimens for coagulation testing and performance of coagulation assays*. 4th edition. Approved guideline. NCCLS Document H21-A4. Wayne, PA, 2003.
- Young, D.S., Thomas, D.W, Friedman, R.B., et al: Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests. *Clin Chem* 18:1041, 1972.
- 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.
- Wujastyk, J., Triplett, D.A.: Selecting Instrumentation and Reagents for the Coagulation Laboratory. *Pathologist* 37:398, 1983.
- 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.

8-12. Données figurant dans le dossier 510(K).

##### EC REP

MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL
Royaume-Uni



**Fisher Diagnostics®**  
8365 Valley Pike  
Middletown, VA 22645-0307,  
États-Unis  
1-(800)-528-0494 États-Unis  
uniquement

# Pacific Hemostasis

840150  
Rev. 09/06

## KONTACT®

#### I. Uso previsto

Pacific Hemostasis® KONTACT Reagent se utiliza para las pruebas de tiempo de tromboplastina parcial activada y para la valoración de factores basados en TTPA con un activador de partículas.

#### II. Resumen y fundamento

El TTPA es útil como prueba discriminativa y como prueba cuantitativa para determinar los factores intrínsecos de la coagulación. Se trata de una prueba sencilla y versátil que es sensible a las deficiencias de todos los factores de coagulación del plasma, con la excepción del Factor VII. Sin embargo, se utiliza principalmente para detectar deficiencias en los factores VIII, IX, XI, XII, y Precalcicreina.

TTPA también se utiliza para monitorizar tratamientos con heparina dado que la prolongación de TTPA es directamente proporcional al aumento de la heparina<sup>1,2</sup>.

Para realizar la prueba de TTPA se añade a la muestra un reactivo que contiene un activador plasmático y fotoópticos. La mezcla se incuba durante 5 minutos a 37 °C para obtener una activación óptima. Se añade cloruro cálcico y se cronometra la formación del coagulo.

#### III. Reactivo

Para uso diagnóstico *in vitro*.

**Composición** : 1,2 % de fosfolipidos de cerebro de conejo, sílica de aluminio y de magnesio al 0,03 %, fenol al 0,4 %, soluciones tampón al 0,8 %, sales y estabilizantes.

Conservar los frascos sin abrir a 2–8 °C. **No congelar**. Los viales abiertos permanecen estables durante 30 días cuando se conservan a 2–8 °C.

Las partículas de activación se depositarán en el fondo en caso de una conservación prolongada. Agitar vigorosamente antes de abrir para garantizar una resuspensión adecuada. Utilizar un dispositivo, como un agitador magnético, para mantener una suspensión adecuada durante el uso. Valores erróneos, valores de control de calidad fuera de los intervalos establecidos, o variaciones del color producto pueden indicar deterioro del mismo. Sin embargo, un funcionamiento deficiente del producto también puede deberse a otros factores de la prueba.

#### IV. Recogida de muestras

Para las pruebas de coagulación se recomienda utilizar como anticoagulante, citrato trisódico al 3,2% (0,109M). Evitar la hemólisis y la contaminación por los fluidos tisulares. Rechazar las muestras con volumen de llenado inferior al 90 % del volumen esperado. Centrifugar la sangre durante 15 minutos a 1500 x g. Realizar la prueba antes de las 2 horas si las muestras han sido conservadas a 22–24 °C. Para más información sobre la recogida y conservación de las muestras, consultar el documento H21-A4 del NCCLS<sup>3</sup>.

- No retrasar la mezcla de la sangre con el anticoagulante.
- Evitar la formación de espuma en la muestra.
- Utilizar únicamente recipientes de plástico o de vidrio borosilicato siliconado.
- Muestras turbias, ictericas, lipémicas o hemolizadas pueden generar resultados erróneos.
- La congelación y posterior descongelación de plasma con células residuales puede romper las membranas de las células, afectando adversamente a los resultados.
- Las reacciones inflamatorias agudas pueden acortar los resultados deTTPA debido a la elevada tasa de fibrinógeno.
- Las muestras de plasma con hematocitos fuera del intervalo de 20–55% pueden no resultar correctamente anticoaguladas y el anticoagulante debe ser ajustado adecuadamente.

#### V. Procedimiento de la prueba

**Material suministrado**: KONTACT Reagent, líquido, 10 x 10 mL o 10 x 4 mL

**Material necesario pero no suministrado**: Pacific Hemostasis Calcium Chloride solution (0,025 M)

Cronómetro

Pipeta de precisión: 0,1 mL

Contrôles normales y anormales tales como Pacific Hemostasis Coagulation Control Plasmas, Levels 1, 2 y 3.

KONTACT puede utilizarse con métodos de detección de coágulos, manuales, mecánicos, fotoópticos y otros. Sigla las instrucciones del fabricante sobre el uso correcto del instrumento. Para ensayos manuales:

- Precalentar el Calcium Chloride (0,025 M) a 37 °C.
- Poner 0,1 mL de plasma de prueba en la cubeta y precalentar a 37 °C.
- Añadir fuertemente 0,1 mL de KONTACT al plasma de prueba. Mezclar.
- Incubar la mezcla de plasma y reactivo a 37 °C durante 5 minutos (tiempo de activación).
- Añadir con fuerza 0,1 mL de Calcium Chloride precalentado y cronometrar la formación del coágulo.

#### VI. Control de calidad

Los plasmas normales y anormales tales como los plasmas de Pacific Hemostasis Coagulation Control, Level 1, 2 y 3 deben ser analizados junto con el plasma del paciente. El Level 1 es un plasma normal mientras que los Levels 2 y 3 han sido ajustados para simular plasmas moderadamente y seriamente deficientes, respectivamente. Debe analizarse un control normal y al menos un control anormal cada día al inicio de las pruebas, y al menos una vez en cada turno, o con cada grupo de ensayos. Asimismo, los controles deben ser analizados con cada cambio de reactivo o cada vez que se haga un ajuste importartle del instrumento. Cada laboratorio debe establecer un intervalo de control que representa la variación diaria permisible para cada control.

#### VII. Resultados

Informar de los tiempos de coagulación para cada plasma a la décima de segundo más próxima. También puede informar de un intervalo de referencia normal para comparación. No informar de los valores de los paciente relacionados con los tiempos de coagulación del plasma de control comercial. Dichos controles sólo se utilizan como garantía de calidad del sistema de prueba.

#### VIII. Limitaciones

El proceso bioquímico de la coagulación implica una serie de reacciones que están influenciadas por múltiples condiciones previas a la prueba. Es necesario controlar estas variables si se desea obtener resultados reproductibles<sup>5</sup>.

##### Técnica

- El pH del plasma subirá si éste queda expuesto al aire. Guardar las muestras en frascos tapados.
- KONTACT está diseñado para funcionar a una temperatura de 37 °C ± 0,5 °C. Compruebe frecuentemente la temperatura de todos los elementos calefactores.
- Todos el material del laboratorio debe estar limpio y exento de restos de detergentes.
- Siga cuidadosamente las instrucciones del fabricante sobre el mantenimiento correcto del instrumento.

##### Substancias interferentes

- Oxalato de sodio, EDTA y heparina no son anticoagulantes adecuados.
- Es sabido que los contraceptivos por vía oral, los estrógenos, el embarazo, fármacos derivados de cumarina, la heparina, asparaginasa, y naloxona afectan a los resultados de TTPA<sup>4</sup>.

#### IX. Valores previstos

La valoración de KONTACT en una población normal dio los siguientes resultados<sup>5</sup>:

	media	intervalo <b>±2DE</b>
<b>Detec. mecánica</b>	30,3	26,1 – 34,5
<b>Detec. fotoóptica</b>	33,3	28,5 – 38,1

Estos valores sólo deben servir de guía. Cada laboratorio debe establecer su propio intervalo normal de referencia, empleando los instrumentos, métodos de recogida de sangre y las técnicas de análisis utilizados habitualmente. El intervalo normal de referencia debe restablecerse, o al menos comprobarse, cada vez que se cambie de número de lote del mismo reactivo<sup>6</sup>, y un nuevo intervalo normal de referencia debe establecerse cada vez que se cambie el reactivo, el instrumento, las técnicas de recogida de sangre, o el anticoagulante.

#### X. Características de funcionamiento

**Sensibilidad a la heparina**:

La acción anticoagulante de la heparina depende de varios factores, tales como un nivel adecuado de Antitrombina-III, la activación de plaquetas y la subsiguiente liberación del Factor 4 plaquetar durante la preparación de las muestras, la presencia *in vivo* de otros fármacos, la tasa de metabolismo de la heparina, el modo de administración de la heparina, y el retraso en la manipulación de las muestras. Aun cuando se reconozcan estas variables, el laboratorio puede determinar la sensibilidad relativa de un determinado reactivo a la heparina, añadiendo cantidades conocidas de heparina a una mezcla de plasmas normales y luego realizando una prueba de TTPA.

Por ejemplo, los siguientes resultados se obtuvieron en un instrumento fotoóptico con un lote de reactivo KONTACT<sup>10</sup>:

Conc. de heparina (unid/mL)	TTPA (segundos)
0,0	31,9
0,05	35,0
0,1	39,9
0,2	53,2
0,3	68,5
0,4	85,3
0,5	106,5

Cada laboratorio debe establecer su propia curva de sensibilidad a la heparina, empleando la misma clase de heparina que utiliza el centro en sus tratamientos. Pueden producirse variaciones debido a las diferencias entre las marcas de heparina, el origen del tejido, y la formación de sales<sup>1,2,5</sup>.

**Advertencia: NO UTILIZAR con ACL™ COAGULATION de Instrumentation Laboratory y con muestras de paciente HEPARINIZADAS.**

**Sensibilidad a los factores**:

Un reactivo de TTPA con una sensibilidad adecuada debe demostrar un tiempo de coagulación prolongado con muestras que tienen una actividad ≤ 30–40 % de un factor<sup>6,7</sup>. KONTACT fue evaluado en plasmas con deficiencia leve y grave, obteniéndose los siguientes resultados<sup>11</sup>:

Factor	% actividad	TTPA (segundos)
VIII	<1 <span> </span> %	150
VIII	20 <span> </span> %	50,7
IX	<1%	>150
IX	20 <span> </span> %	39,6
XI	<1 <span> </span> %	88,7
XI	20 <span> </span> %	44,5
XII	<1 <span> </span> %	>150
XII	20 <span> </span> %	43,2
Precalcicreina	<1 <span> </span> %	55,9

Además, la sensibilidad de KONTACT frente al factor VIII ha sido determinada de la siguiente forma:<sup>12</sup>

% Factor VIII	TTAP (segundos)
100 <span> </span> %	34,3
70 <span> </span> %	37,8
50 <span> </span> %	40,9
40 <span> </span> %	43,4
30 <span> </span> %	46,2
20 <span> </span> %	50,7
10 <span> </span> %	57,0
5 <span> </span> %	63,6
1 <span> </span> %	85,2
<1 <span> </span> %	>150

Estos valores sólo deben servir de guía. Cada laboratorio debe establecer su propio índice de sensibilidad a los factores individuales, empleando los instrumentos, reactivos y técnicas de análisis utilizados habitualmente.

	Información para pedidos		
	Nº de ref.	Descripción	



# Pacific Hemostasis

840150  
Rev. 09/06

## KONTACT®

### I. Uso previsto

Il Pacific Hemostasis® KONTACT Reagent può essere utilizzato per eseguire il test del tempo della tromboplastina parziale attivata (APTT) e per le analisi basate su APTT utilizzando un attivatore particellare.

### II. Riepilogo e principi del test

L'APTT è utile come strumento di screening e come test quantitativo per i fattori di coagulazione intrinseci. È un test semplice e versatile sensibile ai deficit di tutti i fattori plasmatici di coagulazione ad eccezione del Fattore VII. È frequentemente utilizzato per rilevare i deficit dei fattori VIII, IX, XI, XII e precalcireina. Il test APTT viene, inoltre, utilizzato per monitorare la terapia a base di eparina dal momento che il prolungamento dell'APTT è direttamente proporzionale a quantità di eparina maggiori.<sup>1,2</sup> Il test APTT viene eseguito aggiungendo al campione da controllare un reagente contenente un attivatore plasmatico e un fosfolipide. Questa miscela viene incubata per 5 minuti a 37 °C per un'attivazione ottimale. Viene quindi aggiunto cloruro di calcio e viene valutato il tempo necessario alla formazione di coaguli.

### III. Reagente

Per diagnostica *in vitro*.

**Composizione:** 1,2 % fosfolipide cerebrale di coniglio, 0,03 % silice alluminio magnesio, 0,4 % fenolo, 0,4 % stabilizzatori.

Conservare le fiale chiuse a 2–8 °C. **Non congelare.** Le fiale aperte si mantengono stabili per 30 giorni se conservate a 2–8 °C.<sup>8</sup>

Le particelle dell'attivatore si stabilizzano in caso di conservazione prolungata. Agitare bene prima di aprire per assicurare un'adeguata risospensione. Per mantenere una sospensione adeguata durante l'utilizzo predisporre qualche meccanismo come ad es. un agitatore magnetico. Valori errati, valori del controllo della qualità oltre i limiti stabiliti oppure alterazioni del colore del prodotto potrebbero indicarne un deterioramento. In ogni caso, prestazioni scadenti potrebbero essere dovute ad altri fattori legati al sistema di test.

### IV. Raccolta dei campioni

Per il test sulla coagulazione si raccomanda l'uso dell'anticoagulante al citrato trisodico al 3,2 % (0,109 M). Evitare l'emolisi e la contaminazione da parte dei liquidi tissutali. Non utilizzare i campioni con un volume di riempimento previsto inferiore al 90 %. Centrifugare il sangue per 15 minuti a 1500 x g. Nel caso in cui i campioni siano mantenuti a una temperatura di 22–24 °C, eseguire immediatamente l'analisi. Per maggiori informazioni sulla raccolta e sulla conservazione dei campioni vedere il documento NCCLS H21-A4.<sup>3</sup>

- Non ritardare la miscelazione del sangue con l'anticoagulante.
- Evitare la formazione di schiuma nei campioni.
- Utilizzare esclusivamente contenitori di vetro al borosilicato siliconati oppure in plastica.
- I campioni torbidi, itterici, lipidici oppure emolizzati potrebbero dare luogo a risultati errati.
- Il congelamento e lo scongelamento del plasma contenente cellule residue può danneggiare le membrane delle cellule compromettendo i risultati.
- Reazioni infiammatorie acute possono ridurre il valore dell'APTT a causa dell'aumentata quantità di fibrinogeno.
- Campioni di plasma con ematocrito non compreso tra 20–55 % potrebbero non rispondere correttamente ai test di coagulazione e dovranno essere opportunamente corretti.

### V. Procedura del test

**Materiali in dotazione:** KONTACT Reagent liquido, 10 x 10 mL oppure 10 x 4 mL

**Materiali necessari, ma non in dotazione:**

Pacific Hemostasis Calcium Chloride solution (0,025 M)

Cronometro o timer

Pipettatrice di precisione: 0,1 mL

Controlli normali ed anormali quali campioni di Pacific Hemostasis Coagulation Control Plasmas,

Level 1, 2 e 3

KONTACT è indicato per il rilevamento dei coaguli manuale, meccanico, foto-ottico oppure di altro tipo. Per un corretto utilizzo della strumentazione attenersi alle raccomandazioni della ditta produttrice. Per le analisi manuali:

- Preiscaldare il Calcium Chloride (0,025 M) a 37 °C.
- Aggiungere 0,1 mL di plasma per test nella cuvetta e preriscaldare a 37 °C.
- Aggiungere 0,1 mL di KONTACT al plasma per test. Miscelare.
- Incubare la miscela reagente-plasma a 37 °C per 5 minuti (tempo di attivazione).
- Aggiungere quindi 0,1 mL di Calcium Chloride preriscaldato e cronometrare il tempo di formazione dei coaguli.

### VI. Controllo della qualità

Insieme al campione di plasma del paziente testare sempre anche i campioni di plasma normale ed anormale quali i campioni di Pacific Hemostasis Coagulation Control, Level 1, 2 e 3. Il Level 1 rappresenta un campione di plasma normale ed i Levels 2 e 3 vengono corretti per simulare, rispettivamente, plasma con deficit moderati e gravi. Prima di iniziare i test ogni giorno ed almeno una volta ad ogni cambio di turno oppure con ciascun gruppo di test, procedere ad un controllo normale ed ad almeno un controllo anormale. È necessario, inoltre, procedere ad un test dei controlli ad ogni cambio del reagente oppure in occasione di importanti regolazioni della strumentazione. Ciascun laboratorio è tenuto a stabilire un range di controllo che rappresenti la variazione ammessa nelle prestazioni giornaliere per ciascun controllo.

### VII. Risultati

Arrotondare i tempi di coagulazione relativi a ciascun campione di plasma allo 0,1 secondi più vicino. È possibile, inoltre, indicare un range di riferimento normale (NRR, Normal Reference Range) per effettuare la comparazione. Non annotare i valori del paziente relativi a tempi di coagulazione del plasma di controllo commerciali. I controlli servono esclusivamente a garantire la qualità del sistema di analisi.

### VIII. Limitazioni

L'analisi biochimica della coagulazione comprende una serie di reazioni influenzate da numerose condizioni preesistenti all'analisi. Per ottenere risultati riproducibili è necessario controllare tali variabili.<sup>9</sup>

#### Tecnica

- Il pH del plasma aumenta se esposto all'aria. Conservare i campioni tappati.
- KONTACT è stato studiato per essere utilizzato a 37 °C ± 0,5 °C. Verificare di frequente la temperatura di tutti gli elementi riscaldanti.
- Tutte le attrezzature di laboratorio devono risultare pulite e prive di tracce di detergenti.
- Per una corretta manutenzione attenersi sempre alle istruzioni fornite dalla ditta produttrice della strumentazione.

#### Sostanze interferenti

- Ossalato di sodio, EDTA ed eparina non sono adatti come anticoagulanti.
- È riportato in letteratura che i contraccettivi orali, gli estrogeni, la gravidanza, i farmaci tipo cumarina, l'eparina, l'asparaginasi ed il nalossone influenzano i risultati dell'APTT.<sup>4</sup>

### IX. Valori attesi

Dall'analisi di KONTACT su una popolazione normale, sono emersi i seguenti risultati:<sup>9</sup>

	<b>valore medio</b>	<b>range ±2SD</b>
<b>Meccanico</b>	30,3	26,1 – 34,5
<b>Foto-ottico</b>	33,3	28,5 – 38,1

Questi valori vanno considerati esclusivamente come linee guida. Ciascun laboratorio deve stabilire un range di riferimento normale (NRR) utilizzando la strumentazione, i metodi di raccolta del sangue e le tecniche di analisi utilizzati in tale laboratorio. Il NRR deve essere nuovamente stabilito o verificato almeno ad ogni cambio del numero di lotto dello stesso reagente.<sup>5</sup> Stabilire un nuovo NRR ad ogni cambio di reagente, strumentazione, tecniche di raccolta del sangue o di anticoagulante.

### X. Caratteristiche delle prestazioni

#### Sensibilità all'eparina

L'azione anticoagulante dell'eparina dipende da numerosi fattori tra cui un adeguato livello di antitrombina-III, l'attivazione piastrinica e il conseguente rilascio del fattore 4 piastrinico durante la preparazione dei campioni, la presenza *in vivo* di altri farmaci, la velocità del metabolismo dell'eparina, il modo di somministrazione dell'eparina e il trattamento ritardato dei campioni. Controllando tali variabili, il laboratorio è in grado di determinare la sensibilità relativa di un determinato reagente rispetto all'eparina aggiungendo un quantitativo noto di eparina ad un campione di plasma normale combinato ed eseguendo un APTT. Ad esempio, i seguenti risultati sono stati ottenuti con uno strumento foto-ottico con un unico lotto del reagente KONTACT:<sup>10</sup>

<b>Concentraz. eparina (unità/mL)</b>	<b>APTT (secondi)</b>
0,0	31,9
0,05	35,0
0,1	39,9
0,2	53,2
0,3	68,5
0,4	85,3
0,5	106,5

Ciascun laboratorio deve determinare la propria curva di sensibilità all'eparina utilizzando la stessa fonte di eparina utilizzata in loco per la terapia. Le variazioni possono essere dovute a diversità nelle marche di eparina, nell'origine del tessuto e alle diverse forme di sale.<sup>12,5</sup>

**Avvertenza: con la linea di ACL™ COAGULATION ANALYZERS della Instrumentation Laboratory NON UTILIZZARE campioni di pazienti EPARINIZZATI.**

#### Sensibilità al fattore

Un reagente APTT con adeguata sensibilità deve presentare un tempo di coagulazione prolungato in campioni con attività pari al ≤ 30–40 %.<sup>6,7</sup> KONTACT è stato valutato su campioni di plasma con carenze moderate o gravi ottenendo i seguenti risultati:<sup>11</sup>

<b>Fattore</b>	<b>% attività</b>	<b>APTT (secondi)</b>
VIII	<1 <span> </span> %	150
VIII	20 <span> </span> %	50,7
IX	<1 <span> </span> %	>150
IX	20 <span> </span> %	39,6
XI	<1 <span> </span> %	88,7
XI	20 <span> </span> %	44,5
XII	<1 <span> </span> %	>150
XII	20 <span> </span> %	43,2
Prekallikrein	<1 <span> </span> %	55,9

La sensibilità, inoltre, di KONTACT al fattore VIII è stata determinata nel modo seguente:<sup>12</sup>

<b>% Fattore VIII</b>	<b>APTT (secondi)</b>
100 <span> </span> %	34,3
70 <span> </span> %	37,8
50 <span> </span> %	40,9
40 <span> </span> %	43,4
30 <span> </span> %	46,2
20 <span> </span> %	50,7
10 <span> </span> %	57,0
5 <span> </span> %	63,6
1 <span> </span> %	85,2
<1 <span> </span> %	>150

Questi valori devono essere considerati solo come riferimento. Ciascun laboratorio deve stabilire la sensibilità a singoli fattori utilizzando la strumentazione, i reagenti e le tecniche utilizzati in loco.

<b>INFORMAZIONI PER GLI ORDINI</b>		
<b>N. cat.</b>	<b>Descrizione</b>	<b>Contenuto</b>
100312	KONTACT	10 x 10 mL
100308	KONTACT	10 x 4 mL
100314	CaCl <sub>2</sub> (0,025 M)	10 x 10 mL
100309	CaCl <sub>2</sub> (0,025 M)	10 x 4 mL

#### **GARANZIA LIMITATA FISHER DIAGNOSTICS®**

Fisher Diagnostics (FD) garantisce all'acquirente esclusivamente che i prodotti FD avranno prestazioni conformi a quanto descritto nell'etichetta e nella documentazione del prodotto. L'acquirente è tenuto ad accertare l'idoneità dei prodotti FD alle applicazioni specifiche. In caso di un prodotto non conforme o difettoso, l'unico obbligo di FD è rappresentato, a sua discrezione, dalla sostituzione oppure dal rimborso del prezzo di acquisto. FD RIFIUTA QUALSIASI ALTRA GARANZIA, ESPRESSA O IMPLICITA, INCLUSE LE GARANZIE DI COMMERCIALIBILITÀ ED IDONEITÀ A QUALSIASI SCOPO PARTICOLARE. Né la FD né le sue affiliate saranno in alcun caso ritenute responsabili di perdite o danni incidentali o indiretti.

Pacific Hemostasis® è un marchio registrato di Fisher Scientific Company L.L.C.

Fisher Diagnostics® è un marchio registrato di Fisher Scientific Company L.L.C.

### XI. Bibliografia

- 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.
- 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.
- NCCLS: *Collection, transport, and processing of blood specimens for coagulation testing and performance of coagulation assays*. 4th edition. Approved guideline. NCCLS Document H21-A4. Wayne, PA, 2003.
- Young, D.S., Thomas, D.W., Friedman, R.B., et al: Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests. *Clin Chem* 18:1041, 1972.
- 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.
- Wujastyk, J., Triplett, D.A.: Selecting Instrumentation and Reagents for the Coagulation Laboratory. *Pathologist* 37:398, 1983.
- 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.
- Informazioni ottenute dal file 510(k).

ITALIANO



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



**Fisher Diagnostics®**  
8365 Valley Pike  
Middletown, VA 22645-0307,  
Stati Uniti  
1-(800)-528-0494 solo per gli USA

<b>Symbols Key</b>	
	Manufacturer Hersteller Fabricant Fabricante Fabbricante
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device Medizinprodukt für die <i>in-vitro</i> -Diagnostik Matériel médical pour utilisation diagnostique <i>in vitro</i> Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i> Dispositivo medico per diagnosi <i>in vitro</i>
	Lot Number Chargenummer Numéro de lot Número de lote Numero di lotto
	Use By Verfallsdatum Utiliser jusque Fecha de caducidad Da utilizzare entro
	Temperature Limitation Temperaturreinschränkungen Limite de température Limite de temperatura Limiti di temperatura
	CE Mark CE-Markierung Marquage CE Marca CE Marchio CE
	Catalogue Number Katalognummer Référence catalogue Número de catálogo Numero di catalogo
	Consult Instructions for Use Bedienungsanleitung lesen Consulter le manuel d'utilisation Consultar las instrucciones de uso Consultare le istruzioni per l'uso
	Pack Date Verpackungsdatum Date d'emballage Fecha del envase Data di confezionamento
	Authorized Representative in the European Community Autorisierte Vertretung in der Europäischen Gemeinschaft Représentant agréé pour La Communauté européen Representante autorizado en la Comunidad Europea Rappresentante autorizzato nella Comunità europea