

## APTT reagenswissel

Vanaf 01/07/2023 is er een wijziging van de APTT methode (Cephascreen > PTT-Automate; ten gevolge van een discontinuering van reagensproductie door de firma Stago).

De reagenswissel heeft een ingrijpende verandering. Onze validatiestudie toont een toename van 15% op de gemiddelde stollingstijd. Dit werd eerder door de firma gecommuniceerd en wordt in literatuur bevestigd (1-3). De APTT referentie waarde wijzigt van [ $<33.6$  sec] naar [ $<40.7$  sec]. Dit kan vermoedelijk worden verklaard door het type activator: silica versus ellaginezuur (2,3).

De APTT ratio\* vertoont geen discrepantie en kan aldus gewoon verder worden gebruikt voor het monitoren van patiënten onder (ongefractioneerde) heparine. (\*De APTT ratio wordt berekend door de patiënt-APTT waarde te delen door de *mean normal patient time* (JYZ ~ 33.4 sec). Deze ratio wordt vaak gebruikt bij het monitoren van heparine therapie, met een ideale range van [1.5-2.5] (4).)

### Verder ter info

- (1) Er is een interactie beschreven tussen CRP en APTT. Stollingstijden worden namelijk in functie van de CRP concentratie, verlengd. (CRP kent een affiniteit voor fosfolipiden, aanwezig in het reagens, en zorgt voor een concentratie- en conformatie-afhankelijke interferentie.) Het nieuwe APTT reagens, PTT-A vertoont verlengde stollingstijden vanaf  $\pm 100.0$  mg/L (tussen 150-170% voor respectievelijk 100-200 mg/L (5)).

Table 1 Results of the CTs of NPP spiked with increasing CRP concentrations.

Reagent	CRP, mg/L						
	0.0 <sup>a</sup> (1.0) <sup>b</sup>	25.0 (38.4) <sup>b</sup>	50.0 (78.7) <sup>b</sup>	100.0 (165.2) <sup>b</sup>	150.0 (251.7) <sup>b</sup>	175.0 (302.2) <sup>b</sup>	200.0 (323.2) <sup>b</sup>
PTT-A	1.0	1.1	1.1	1.5	1.6	1.7	1.6
C.K. Prest	1.0	1.0	1.1	1.5	1.7	1.7	1.6
Cephascreen	1.0	1.1	1.3	1.9	2.1	2.2	2.0
Actin	1.0	1.0	1.1	1.4	1.6	1.7	1.9
Actin FS	1.0	1.1	1.1	1.6	1.8	1.9	1.9
Actin FSL	1.0	1.0	1.1	1.2	1.4	1.4	1.5
Pathromtin SL	1.0	1.0	1.1	1.5	1.6	1.6	1.6
SynthASil	1.0	1.0	1.0	1.2	1.4	1.3	1.3
APTT-SP	1.0	1.0	1.0	1.6	1.7	1.6	1.7
PTT-LA	1.0	1.1	1.2	1.4	1.5	1.5	1.6
Staclot LA (PTT-LS)							
With excess HPE <sup>c</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.1	1.1
With buffer	1.0	1.2	1.3	1.4	1.5	1.5	1.5
Thrombin time	1.0	1.0	1.0	1.1	1.1	1.1	-

<sup>a</sup>The sample with 0 concentration was prepared by adding an equal volume of the native elution fluid to the NPP. Addition of a small volume of solution (<10% of total volume) was allowed without influence on CT by dilution effect. <sup>b</sup>Final CRP concentration measured in the spiked NPP through a particle enhanced immunoturbidimetric assay (CRPLX; Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). <sup>c</sup>Test principle of Staclot-LA – a LAC-sensitive aPTT reagent (PTT-LS) is used, and aPTT is performed twice, with addition of buffer (neutral) and with addition of excess of HPE. The experiments were performed with two different lots and all measurements were performed in duplicate. Only data for one lot of reagent are shown. The results are expressed as normalized ratios: CT of NPP spiked with CRP divided by the CT of the NPP without added CRP.

Afbeelding: Resultaten interferentie CRP en APTT stollingstijden. Gekopieerd uit Devreese et al (5).

- (2) Commercieel verkrijgbare APTT-reagentia vertonen wat betreft hun samenstelling verschillen in gevoeligheid voor factordeficiënties, (on)gefractioneerde heparine en lupus anticoagulans. (3,6-7).

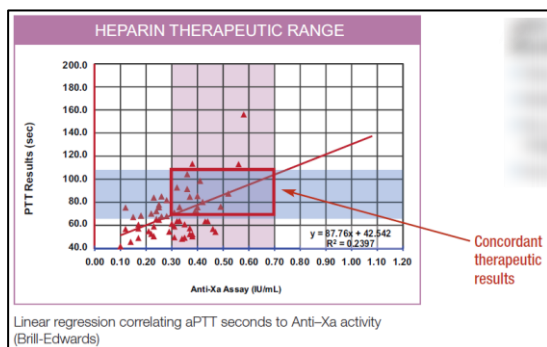
Hieronder een overzicht die het huidige Cephascreeen met de nieuwe PTT-A vergelijkt; er zijn geen grote verschillen merkbaar.

		PTT-A <sup>®</sup>	Cephascreeen <sup>®</sup>	Actin FS <sup>®</sup>
Reference ranges (n = 41) (seconds) mean ± 2SD		26.8 - 39.3	24.2 - 31.9*	23.8 - 32*
Mean		33	28	27.9
Sensitivity to factor deficiency (threshold of factor at which APTT is above the cut-off)	Factor VIII deficiency (%)	40	40	60
	Factor IX deficiency (%)	25	35	50
	Factor XI deficiency (%)	20	50	60
	Factor XII deficiency (%)	40	30	30
Lupus anticoagulant	Sensitivity (%)	40	40	15
	Specificity (%)	100	95	95
	Positive predictive value (%)	100	89	75
	Negative predictive value (%)	62	61	53

\*: statistical difference with PTT-A (p < 0.0001) using repeated measured ANOVA. No statistical difference between Cephascreeen and Actin FS.

Afbeelding: Resultaten nieuw reagens PTT-A (Stago). Gekopieerd uit Rozen et al (3).

- (3) De impact van in vitro interferentie door gehemolyseerde stalen op de APTT is beschreven, specifiek voor het nieuwe PTT-A reagens (8). Men rapporteert vals normale APTT's met kortere stollingstijden (>10% reductie, in een range van <0.5 – 2.1 g/L vrij plasma hemoglobine), ten gevolge van een vermoedelijke toename van fosfolipiden membranen afkomstig van hemolytische erythrocyten, alsook van een rechtstreekse impact op de trombocyt activatie. Effecten van icterie en lipemie waren niet klinisch significant.
- (4) De relatie tussen APTT en anti-Xa in het kader van UFH monitoring werd in de literatuur uitvoerig bestudeerd (9-14). Een APTT therapeutische range, die correspondeert met een ideale UFH concentratie van 0.3-0.7 IU/mL, bepaald met behulp van de anti-factor Xa bepaling, zou per individueel laboratorium moeten worden gedefinieerd (9). In het laboratorium van het Jan Ypermanziekenhuis is deze bepaling echter schaars aangevraagd.



Afbeelding: Therapeutische heparine range obv APTT en Anti-Xa. Gekopieerd uit Sta-Liquid anti-Xa Brochure (10).

Verschillende bronnen (9-13) werden daarom nagezien om een representatieve reagens-specifieke, APTT-ratio range mee te kunnen geven die correleert met een therapeutisch anti-factor Xa range.

Coene et al beschrijft een *between-method, between-batch* en *between-laboratory* variatie tussen aPTT en anti-Xa assays die het standaardiseren van een therapeutische range voor UFH moeilijk maakt. Er wordt een slechte correlatie bekomen ( $R^2 = 0.1156$ ). Dit wordt in andere bronnen bevestigd (14). Het is aldus aangewezen om laboratoriumafhankelijk de UFH te doseren en klinisch op te volgen (13). De geactiveerde coagulatie tijd (ACT) kan in sommige gevallen een bijkomende hulp zijn, al kent deze ook assay-gerelateerde problematiek (14). De anti-Xa assay wordt aanbevolen als de meeste correcte, maar kent een matige correlatie met de klassieke coagulatie testen zoals APTT (14). Richtlijnen omtrent extracorporele *life support* raadt ook de informatieve viscoelastische testen (TEG en ROTEM) aan te gebruiken (15). Een combinatie van bovenstaande testen kan worden gebruikt om therapeutische heparine concentraties te bekomen.

**Table 3. Suggested monitoring in UFH-treated patients (stable conditions)**

Once daily	Twice daily	Thrice daily
Fibrinogen	Haemoglobin	aPTT combined with:
MA-TEG/MCF-ROTEM	Platelet count	ACT or
Lysis index		R-time TEG/CT-ROTEM
D-dimer		
AT%		

ACT = activated clotting time; aPTT = activated partial thromboplastin time; AT = antithrombin; MA-TEG = maximum amplitude thromboelastography; MCF-ROTEM: maximal clot firmness rotational thromboelastometry, R-time TEG: time to start amplification of clotting in thromboelastography, CT-ROTEM: clotting time in rotational thromboelastometry.

Afbeelding: Aangewezen monitoring van UFH-therapie. Gekopieerd uit Mulder et al (14).

Gouin-Thibaut et al beschrijft (volgens ons) als enige, in een multicentrische Franse studie, een aPTT-ratio range van 2.6-6.2 voor het PTT-A reagens. Ons huidig Cephascreen reagens behaalt in hun studie een APTT-ratio range van 1.6-3.0, wat enigszins overeenkomt met onze huidige referentierange (9).

**Table 1**  
Correlation curve parameters, results of Bland Altman agreement analysis (difference between Automated APTT® ratio and APTT ratio with the reagent tested against the average of the two ratio values for each sample). Bias ± 1.96 SD; ratio average difference ± 1.96 standard deviation of the difference. APTT ratios corresponding to the therapeutic anti-Xa range are also indicated.

Reagent	Correlation curve		Bland Altman		aPTT ratios corresponding to 0.3-0.7 anti-Xa IU/ml.	APTT value denominator for calculation of APTT ratios (s)
	R	slope	mean bias	+/- 1.96 SD		
Synthafax	0.85	2.7	0.59	-1.3/2.5	1.6-2.6	25
CK Prest	0.83	3.6	0.57	-0.6/2.1	1.6-3.0	32
Cephascreen	0.79	4.2	0.29	-0.8/1.4	1.8-3.5	32
Synthasil	0.85	5.2	0.15	-0.8/1.1	1.9-4.0	32
Automated	0.83	6.5	-	-	2.1-4.7	36
<b>APTT</b>						
APTT SP	0.85	6.6	0.05	0.4/-0.3	2.0-4.6	36
APTT HS	0.87	7	-0.05	-0.5/0.4	2.1-4.9	36
Cephen	0.78	8.5	-0.27	-2.1/1.6	2.1-5.5	29
Actin FSL	0.79	9	-0.22	-2.1/1.6	2.2-5.8	32
<b>PTTA</b>	<b>0.82</b>	<b>9.2</b>	<b>-0.60</b>	<b>-2.1/0.9</b>	<b>2.6-6.2</b>	<b>36</b>
APTT S	0.79	9.3	-0.31	-2.5/1.9	2.3-6.0	34
Actin FS	0.79	10.1	-0.31	-2.5/1.9	2.2-6.3	31
Actin	0.64	10.7	-0.29	-4.7/4.1	2.3-6.6	26
Cephen LS	0.78	12.3	-0.66	-4.3/3.0	2.6-7.5	34
Pathromtin	0.76	21	-1.99	-10.2/6.2	3.6-12	32

Afbeelding: APTT en anti-Xa. Gekopieerd uit Gouin-Thibaut et al (9).

De anti-Xa bepaling is de gouden standaard als directe heparine meting en zou volgens de fabrikant (Diagnostica Stago) volgende voordelen vertonen: minder interferentie, een snellere bepaling van de therapeutische doelen, een langere tijd in het therapeutisch venster, en minder dosisveranderingen en labotesten (10). Whitman-Purves et al bevestigen in hun studie deze bevindingen omtrent anti-Xa en halen de verbeterde tijdsintervallen (> 8u sneller) tot therapeutische anticoagulatie aan, weliswaar met minder dosisaanpassingen, maar zonder impact op bloedingsneiging (11). Trucco en collega's konden dit in een pediatrie patiëntenpopulatie niet bevestigen en rapporteerden geen significant tijdsverschil om tot therapeutische maatregelen te komen, maar wel dat bloedingsincidentie tevens niet verschilde (12).

**Table 4. Primary Results for aPTT Controls Versus Anti-Xa Cohort.<sup>a</sup>**

Study Endpoints	aPTT	Anti-Xa	P Value
Time to therapeutic range (hours)	24 (2.5-118.8)	16 (0.8-69.3)	< .01
Total time on heparin (hours)	66.5 (14.5-370)	61.5 (13-427)	.84
Number of tests performed	7 (1-34)	6 (2-36)	.53
Number of tests performed per 24 hours on heparin	2.7 (1.3-6.6)	2.7 (1-5.5)	.81
Number of adjustments required	4 (0-24)	3 (0-16)	.06
Number of adjustments required per 24 hours on heparin	1.5 (0-5.3)	1.2 (0-3.7)	.01
Length of stay (days)	6.5 (1.6-37.9)	7.5 (1-43)	.46
VTE	1 (1)	1 (1)	1.00
Bleeding	4 (4)	12 (11.9)	.07
Mortality	4 (4)	0 (0)	.06

Abbreviation: aPTT, activated partial thromboplastin time; VTE, venous thromboembolism.  
<sup>a</sup>Data reported as medians (range).

Afbeelding: Resultaten van APTT versus anti-Xa cohortes. Gekopieerd uit Whitman-Purves et al (11).

## Bronnen

1. Stago BNL. APTT reagens studie: Maxima Medisch centrum en ZNA Middelheim. Diagnostica Stago, Asnières, France.
2. Stroobants AK et al. Gevoeligheid van verschillende APTT-reagentia. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk. 2008.
3. Rozen L et al. Evaluation of three APTT reagents in a routine laboratory: toward a compromise. Clin Lab. 2013.
4. CLSI. H47-A3 One-stage prothrombin time (PT) test and activated partial thromboplastin time (APTT) test; approved guideline – 3rd edition.
5. Devreese KMJ et al. Interference of C-reactive protein with clotting times. Clin Chem Lab Med. 2015.
6. Lawrie AS et al. Determination of APTT factor sensitivity – the misleading guideline. International journal of laboratory hematology. 2013.
7. Dumoulin EN et al. Investigation of sensitivity for coagulation factor deficiency in APTT and PT: how to perform it? Clin Chem Lab Med. 2016.
8. Effects of haemolysis, icterus and lipaemia on coagulation tests as performed on Stago STA-compact-max analyser. International journal of laboratory hematology. 2016.
9. Gouin-Thibaut et al. Monitoring unfractionated heparin with APTT: A French collaborative study comparing sensitivity to heparin of 15 APTT reagents. Thrombosis Research. 2012.
10. Sta-Liquid anti-Xa Brochure. Diagnostica Stago France.
11. Whitman-Purves E et al. Performance of anti-factor Xa versus activated partial thromboplastin time for heparin monitoring using multiple nomograms. Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis. 2018.
12. Trucco M et al. Retrospective cohort study comparing activated partial thromboplastin time versus anti-factor Xa activity nomograms for therapeutic unfractionated heparin monitoring in pediatrics. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2015.
13. Coene KLM et al. Protocolled redefinition of the therapeutic range for unfractionated heparin: lost in translation. Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis. 2018.
14. Mulder MMG et al. ECMO and anticoagulation: a comprehensive review. Netherlands Journal of Critical Care. 2017.
15. ELSO anticoagulation guideline 2014.