



Soluplastin

Tromboplastina cálcica para la determinación del
Tiempo de Protrombina en una etapa

SIGNIFICACION CLINICA

El tiempo de protrombina o Tiempo de Quick es el test de screening de mayor importancia clínica en la evaluación de desórdenes de la vía extrínseca de la coagulación. Su sensibilidad a alteraciones cuali y cuantitativas de factores de la vía extrínseca y común, le permite ser empleado en:

- Detección de deficiencias simples o combinadas de factores, por alteraciones hereditarias o adquiridas (hepatopatías, deficiencia de vitamina K, etc.).
- Estudios prequirúrgicos.
- Determinación específica de la actividad de factores: II, V, VII y X.
- Monitoreo de terapia con anticoagulantes orales, por su sensibilidad a factores vitamina K dependientes (II, VII y X).

FUNDAMENTOS DEL METODO

El método se basa en la medición del tiempo de formación del coágulo de fibrina, al agregar una tromboplastina cálcica a un plasma citratado.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: liofilizado de tromboplastina de cerebro de conejo con una concentración final de 10 mM de cloruro de calcio.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Agua bidestilada o desionizada.
- Solución fisiológica.
- **Coagulation Calibrator** de Wiener lab.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

- Abrir el vial quitando el precinto metálico y retirando lentamente el tapón de goma para evitar pérdidas del material.
- Agregar el volumen de agua bidestilada o desionizada indicado en el rótulo. Tapar, dejar reposar 30 minutos a temperatura ambiente y luego homogeneizar la solución por agitación suave antes de su uso.
- Volver a homogeneizar cada vez que se emplee.

PRECAUCIONES

El reactivo es para uso diagnóstico "in vitro".
Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.
Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.
Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE

ALMACENAMIENTO

Reactivo A: estable en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Reactivo A reconstituido: una vez reconstituido el reactivo es estable 5 días en refrigerador (2-10°C). No congelar.

MUESTRA

Plasma citratado

a) Recolección: obtener sangre cuidadosamente (evitando estasis o trauma) y colocar en un tubo con anticoagulante en proporción 9 + 1 exacta (ejemplo: 4,5 ml de sangre + 0,5 ml de anticoagulante). Mezclar suavemente. Centrifugar durante 15 minutos a 2500g y separar el plasma antes de los 30 minutos. Es recomendable efectuar la extracción con jeringas plásticas.

b) Aditivos: para obtener el plasma se debe emplear **Anti-coagulante TP** de Wiener lab. o citrato de sodio 130 mmol/l (3,8%) o 109 mmol/l (3,2%).

c) Sustancias interferentes conocidas:

- No debe emplearse EDTA o heparina para obtener plasma.
- Las contaminaciones, visibles o no, son causa de tiempos falsamente prolongados.
- Hemólisis y lipemias visibles dificultan la medición fotométrica de los resultados.

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

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: el plasma debe mantenerse a temperatura ambiente hasta el momento de efectuar el ensayo (no conservar a 2-10°C) Este período no debe prolongarse más de 4 horas. En caso de no procesarse en este lapso, el plasma puede congelarse hasta 2 semanas a -20°C. En este caso la muestra debe ser congelada inmediatamente y deberá ser descongelada rápidamente a 37°C, no prolongando más de 10 minutos este período.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Tubos de Khan o hemólisis.
- Pipetas y micropipetas para medir los volúmenes indicados.
- Baño de agua a 37 ± 1°C o coagulómetro semiautomático o automático.
- Cronómetro.

PROCEDIMIENTO

- 1- Precalentar el Reactivo A a 37°C (no más de 20 minutos)

2- En un tubo precalentado a 37°C, colocar 100 µl de muestra.

Incubar 1 minuto en baño de agua a 37°C.

3- Disparar el cronómetro con el agregado de 200 µl del Reactivo A precalentado. Previo al tiempo estimado de coagulación, sacar el tubo del baño, deslizando suavemente el contenido líquido desde el fondo hasta la mitad del tubo y detener el cronómetro en el momento de aparición del coágulo.

4- Registrar el tiempo de formación del coágulo.

5- Repetir la determinación y promediar el resultado para cada muestra. Si la diferencia entre los replicados es mayor a 5%, se aconseja repetir el procedimiento.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Los resultados pueden expresarse de distintas formas:

1- **Tiempo de Protrombina (TP)** en segundos.

2- **Porcentaje de Actividad Protrombínica (%TP)**

Preparar una curva de calibración para cada lote de reactivo a partir de un plasma calibrador (**Coagulation Calibrator** de Wiener lab.) o de un pool de plasmas frescos (por lo menos 20 plasmas de individuos sanos con TP entre 90-110%) empleando solución fisiológica como diluyente:

Curva de Porcentaje de Actividad Protrombínica

Tubo N°	SF (ml)	Calibrador (ml)	Actividad (%)	Actividad (%)
1	-	1,0	100*	A x 1
2	0,3	0,7	70	A x 0,70
3	0,5	0,5	50	A x 0,50
4	0,7	0,3	30	A x 0,30
5	0,8	0,2	20	A x 0,20
6	0,9	0,1	10	A x 0,10

La preparación de las diluciones debe realizarse inmediatamente antes de realizar la curva.

Determinar el TP de cada dilución por duplicado y graficar en papel milimetrado las medias de TP en función de % de actividad o en papel log-log para linealizar la curva de calibración.

*Cuando se utiliza el kit **Coagulation Calibrator** se considera como 100% el valor de actividad dada en el inserto de dicho kit (A) y para el resto de las diluciones se multiplica dicho valor por el factor de dilución realizada.

La curva de calibración debe realizarse cada vez que se cambia de lote de reactivo o cuando el control de calidad lo indique.

Para un coagulómetro semiautomático, procesar las diluciones de la curva e ingresar las medias de TP obtenidas en la metodología de calibración del TP del instrumento. Con la calibración cargada en el instrumento, los TP (seg) de cada muestra serán interpolados automáticamente por el software

del instrumento, obteniendo en cada caso la actividad protrombínica correspondiente.

En el caso de un coagulómetro automático, las diluciones son realizadas por el instrumento y a partir de la curva de calibración obtenida, las muestras ensayadas son informadas directamente con su % de actividad protrombínica.

3- Según la World Health Organization (WHO), los resultados de TP (segundos) de pacientes bajo tratamiento con anticoagulantes orales en fase estable, deben ser expresados en INR o RIN (Razón Internacional Normalizada) para independizarse del sistema de medición (reactivo/Instrumento) utilizado, a través de la siguiente fórmula:

$RIN: (TP \text{ paciente} / MNPT)^{ISI}$

donde:

TP paciente: media del Tiempo de Protrombina del paciente en segundos.

MNPT: media geométrica del TP de la población normal adulta. Se calcula para cada lote de reactivo con al menos 20 muestras de plasmas frescos de individuos adultos sanos. ISI: índice de sensibilidad Internacional. Es obtenido para cada sistema de medición: reactivo/instrumento, a través de las recomendaciones de la WHO.

Para un coagulómetro semiautomático y automático, ingresar en la metodología los valores de ISI y MNPT del sistema específico: reactivo/instrumento. De esta manera, las muestras ensayadas serán informadas directamente con su RIN correspondiente.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Plasma Control normal - patológico de Wiener lab.

Coagulation Control N - Coagulation Control P de Wiener lab. Los controles son procesados de la misma manera que las muestras.

VALORES DE REFERENCIA

70 - 120%

10 -14 segundos (rango orientativo - depende del sistema de medición)

En general se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia, dentro de su población de pacientes.

Los rangos terapéuticos de RIN pueden variar según las indicaciones de la terapia con anticoagulantes orales.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Toda modificación en la extracción, relación sangre/anticoagulante, procesamiento y conservación de la muestra ocasionará un resultado erróneo en la determinación.

Las muestras hemolizadas y/o coaguladas deben ser descartadas. Conservar las muestras de plasma a temperatura ambiente para evitar la activación por baja temperatura. Ver MUESTRA.

La presencia de anticoagulante lúpico o inhibidores de la trombina pueden afectar la determinación alterando los resultados.

La preincubación del reactivo a 37°C, no debe exceder los

20 minutos. Por otra parte, es conveniente que el reactivo reconstituido permanezca en la heladera cuando no se usa, no permaneciendo a temperatura ambiente por largos períodos. Se requiere una nueva calibración para cada lote de reactivos e instrumento utilizado.

PERFORMANCE

a) Imprecisión: evaluada a través del protocolo EP5A del CLSI procesando: controles y muestras de pacientes.

Precisión intraensayo

Muestra	Nivel	D.S.	C.V.
Plasma Control normal	12,5 seg	± 0,1 seg	1,0%
Plasma Control patológico	31,7 seg	± 0,4 seg	1,4%
Pool de plasmas normales	11,2 seg	± 0,1 seg	1,3%
Pool de plasmas patológicos	15,4 seg	± 0,2 seg	1,3%

Precisión total

Muestra	Nivel	D.S.	C.V.
Plasma Control normal	12,5 seg	± 0,4 seg	2,9%
Plasma Control patológico	31,7 seg	± 1,0 seg	3,2%
Pool de plasmas normales	11,2 seg	± 0,3 seg	3,0%
Pool de plasmas patológicos	15,4 seg	± 0,4 seg	2,4%

b) Correlación: se compararon los resultados de RIN de 105 pacientes sanos y en fase estable de tratamiento con anticoagulantes orales, obtenidos con **Soluplastin** y un kit comercial de similar principio, obteniéndose los siguientes parámetros de correlación:

$$y = 0,9562x + 0,1087 \quad (R^2 = 0,9825)$$

PRESENTACION

- Kit para 100 determinaciones (10 x 2 ml) (Cód. 1705001).
- Kit para 200 determinaciones (10 x 4 ml) (Cód. 1705005).
- Kit para 320 determinaciones (8 x 8 ml) (Cód. 1705003).

BIBLIOGRAFIA

- Quick, A.J. - "Fisiología y Patología de la Hemostasis" - Ed. El Ateneo, Buenos Aires (1952).
- Araldi, H.T., et al. - "Primer Reactivo Nacional Argentino de Referencia de Tromboplastina de Cerebro Humano" - Acta Bioquím. Clín. Latinoam. XVI/1:131 (1982).
- Comité de Expertos de la O.M.S. en Patrones Biológicos - Inf. N° 28: Normalización de la Vigilancia del Tratamiento Anticoagulante (oral) - Serv. Inf. Tec. N° 610:49-56 (1977).
- Comité de Expertos de la O.M.S. en Patrones Biológicos - Inf. N° 31: Requerimientos para Tromboplastinas y Plasmas usados en la terapia anticoagulante oral - Serv. Inf. Tec. N° 658:202-223 (1981).
- Suñer Casadevall, F. - "Nuevas Normas Internacionales para la Expresión del Tiempo de Quick" - Análisis Clínicos X/40:240-245 (1985).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests". AACC Press, 4th ed., 2001.

SÍMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo

Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-148



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina