



Soluplastin

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

SIGNIFICACION CLINICA

El fenómeno de la coagulación puede desencadenarse por una "vía extrínseca" (lesión tisular) o por una "vía intrínseca" (contacto de la sangre con epitelios distintos del vascular normal).

La determinación del Tiempo de Protrombina o Tiempo de Quick es una prueba global para evaluar la coagulación extrínseca, siendo sensible a: factor II o protrombina, factor V o proacelerina, factor VII o proconvertina y factor X o Stuart-Prower.

Por lo tanto la determinación se aplica a:

- estudios de rutina en los análisis prequirúrgicos;
- detección de alteraciones en los niveles de uno o más factores involucrados en la vía extrínseca;
- control de la terapéutica con anticoagulantes orales.

FUNDAMENTOS DEL METODO

Este ensayo se basa en la medida del tiempo que tarda en coagular un plasma descalcificado, colocado a 37°C y en presencia de un exceso de tromboplastina tisular y calcio. El método no detecta deficiencias de factores de la vía intrínseca (VIII, IX, XI y XII).

REACTIVO PROVISTO

A. Reactivo A: viales conteniendo tromboplastina de cerebro de conejo, cloruro de calcio para una concentración final de 0,0125 mol/l y cloruro de sodio para una concentración final de 0,1 mol/l.

REACTIVO NO PROVISTO

Agua bidestilada o desionizada.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

- Abrir un 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 envase. Verificar que la temperatura del agua empleada no sea mayor de 37°C.
- Tapar y agitar suavemente hasta obtener una suspensión homogénea. Volver a homogeneizar cada vez que se emplee.

PRECAUCIONES

El reactivo es para uso diagnóstico "in vitro".

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: en refrigerador (2-10°C), es estable 5 días a partir del momento de su reconstitución.

MUESTRA

Plasma

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). Si se emplea **Anticoagulante TP** de Wiener lab., se requerirán 7 gotas para 4,5 ml de sangre). Mezclar suavemente. Centrifugar y separar el plasma antes de los 30 minutos.

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

c) Sustancias interferentes conocidas:

- las contaminaciones, visibles o no, son causa de tiempos falsamente prolongados;
- la presencia de heparina o EDTA invalida los resultados;
- hemólisis visibles dificultan la medición foto-óptica 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 en el refrigerador (2-10°C) hasta el momento de efectuar el ensayo. En caso de no procesarse dentro de las 4 horas contadas desde la obtención, la muestra se debe congelar (a -20°C); de tal forma, puede conservarse durante un mes. Este último procedimiento debe ser realizado con rapidez, al igual que el descongelamiento (sumergiendo en baño a 37°C) previo a la determinación.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Tubos de hemólisis.
- Pipetas y micropipetas para medir los volúmenes indicados.
- Baño de agua a 37°C.
- Cronómetro.
- Fuente luminosa para la observación del coágulo.

PROCEDIMIENTO

- 1- Colocar el plasma (desconocido o control) en baño de agua a 37°C durante 2-3 minutos (no más de 10 minutos).
- 2- En un tubo de hemólisis, colocar 0,2 ml de Reactivo

A reconstituido y preincubar a 37°C durante 2-3 minutos (no más de 10 minutos).

3- Pipetear 100 ul del plasma preincubado y agregar rápidamente al tubo conteniendo 0,2 ml de Reactivo A, disparando simultáneamente el cronómetro.

4- Mantener el tubo dentro del baño y cerca de una fuente de luz. Previo al tiempo estimado de coagulación, sacar el tubo del baño, inclinar suavemente una o dos veces por segundo y detener el cronómetro en el momento de la aparición del coágulo.

5- Calcular el tiempo promedio de coagulación de la determinación por duplicado para cada plasma (desconocido o control). Si la diferencia entre los replicados de una misma muestra es mayor del 5%, se aconseja repetir el procedimiento desechando los valores anteriores.

En caso de emplear un instrumento de medición, deben seguirse las instrucciones del fabricante del mismo.

- Porcentaje de Actividad Protrombínica: 70 - 100%

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos o valores de referencia. Para pacientes bajo tratamiento con antivitaminas K se ha establecido un rango terapéutico que se puede expresar como:

- Porcentaje de Actividad Protrombínica: 25 - 35%

- R.I.N.: 2,4 - 2,5

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Otras causas de resultados erróneos son:

- Extracción defectuosa de sangre venosa.

- Las variaciones en la relación anticoagulante/muestra o en la concentración de citrato utilizada afectan los Tiempos de Quick por lo que se recomienda controlar la dosis de anticoagulante empleada al tomar la muestra.

- La preincubación en el 2º paso del PROCEDIMIENTO no debe exceder los 10 minutos indicados como límite máximo. Por otra parte, es conveniente que el reactivo reconstituido se retire del refrigerador inmediatamente antes de iniciar la prueba y vuelva a guardarse al finalizarla, ya que la exposición por varias horas a temperatura ambiente en forma reiterada, deteriora el reactivo produciendo el alargamiento de los tiempos de protrombina.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: los estudios de precisión se realizaron siguiendo el protocolo EP5-A del NCCLS (National Committee on Clinical Laboratory Standards), obteniéndose los siguientes resultados:

Precisión intraensayo

Muestra	Nivel	D.S.	C.V.
Plasma Control normal	12,5 seg	± 0,13 seg	1,03%
Plasma Control patológico	31,7 seg	± 0,44 seg	1,39%
Pool de plasmas normales	11,2 seg	± 0,14 seg	1,28%
Pool de plasmas patológicos	15,4 seg	± 0,19 seg	1,25%

Precisión total

Muestra	Nivel	D.S.	C.V.
Plasma Control normal	12,5 seg	± 0,37 seg	2,94%
Plasma Control patológico	31,7 seg	± 1,01 seg	3,19%
Pool de plasmas normales	11,2 seg	± 0,33 seg	2,99%
Pool de plasmas patológicos	15,4 seg	± 0,36 seg	2,35%

b) Correlación: se determinó el valor de R.I.N. en 103 muestras con **Soluplastin** de Wiener lab. y un kit comercial basado en el mismo principio, obteniéndose el siguiente coeficiente de correlación:

$r = 0,9886$; pendiente $b = 0,9367$; intersección $a = 0,1236$

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

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Los resultados pueden expresarse de distintas formas:

1- Tiempo de Protrombina o Tiempo de Quick en segundos.

2- Porcentaje de Actividad Protrombínica respecto de un plasma normal (100% de actividad): para ello se debe trazar la curva de actividad protrombínica de un pool de plasmas fresas normales.

Curva de calibración

En tubos de hemólisis, preparar 5 diluciones (cada una por duplicado) de un pool de por lo menos 3 plasmas normales o **Plasma Control normal**, según:

Diluciones	1:1	1:2	1:3	1:4	1:8
Porcentaje de Actividad (%)	100	50	33,3	25	12,5
Pool plasmas normales (ml)	0,5	0,3	0,3	0,2	0,2
Solución fisiológica (ml)	-	0,3	0,6	0,6	1,4

Determinar el Tiempo de Protrombina para cada dilución, empleando el PROCEDIMIENTO descripto. En un papel milimetrado, graficar los resultados en un sistema de coordenadas. Colocar los Tiempos de Protrombina en segundos sobre el eje de las ordenadas y los Porcentajes de Actividad Protrombínica en el eje de las abscisas.

Cada laboratorio debe trazar su propia curva de calibración, correspondiente al lote de reactivos en uso. Repetir con cada nuevo lote de reactivos.

3- Razón Internacional Normalizada (R.I.N.)

Para su cálculo, deberá emplearse la tabla de valores adjunta al equipo.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Plasma Control normal - patológico de Wiener lab.

VALORES DE REFERENCIA

El rango de valores obtenidos en pacientes normales oscila entre:


- Tiempo de Protrombina o Tiempo de Quick: 10 - 14 seg

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. Téc. 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.

SIMBOLOS

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 / Caústico

 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. Tec.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Disp. N°: 1589/89 - 255/99

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina