



Para la determinación del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada

SIGNIFICACION CLINICA

El tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT), es una prueba sensible a la deficiencia de factores procoagulantes del plasma así como a la presencia de ciertos inhibidores de la coagulación.

Sirve para detectar anomalías en la vía intrínseca de la coagulación, como son los factores necesarios para la formación del activador intrínseco de la protrombina, o sea los factores VIII, IX, XI y XII.

También detecta deficiencias severas de los factores II, V, X y fibrinógeno, no siendo así con los trastornos plaquetarios, las deficiencias de los factores VII y XIII ni los problemas vasculares. La rapidez, sencillez y reproducibilidad de la prueba la hacen muy adecuada para el control de la terapéutica anticoagulante por heparina. También permite la identificación rápida de hemofílicos en potencia, a fin de poder someterlos a tratamientos preventivos quirúrgicos y evitar problemas hemorrágicos.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El ensayo se basa en la medida del tiempo que tarda en coagular un plasma descalcificado, colocado en un baño a 37°C y en presencia de un exceso de cefalina, activador y calcio.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: viales conteniendo cefalina con tierra de diatomeas como activador particulado.

B. Reactivo B: solución de cloruro de calcio 0,025 mol/l.

REACTIVOS NO PROVISTOS

Agua bidestilada o desionizada.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A, preparación:

- 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 a 37°C.
- Tapar y agitar suavemente hasta obtener una suspensión homogénea. Volver a homogeneizar cada vez que se emplee.

Reactivo B: listo para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son 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

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Reactivo A: una vez reconstituido es estable durante 14 días en refrigerador o 30 días congelado (-20°C).

El congelado y descongelado sólo puede realizarse una vez. Por esto se recomienda dividirlo en porciones, de acuerdo a las necesidades de trabajo.

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 TP de Wiener lab.). Mezclar suavemente. Centrifugar y separar el plasma antes de los 30 minutos. Es recomendable efectuar la extracción con jeringas plásticas.

b) Aditivos: para obtener el plasma debe emplearse 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.

- No debe emplearse EDTA o heparina para obtener plasma. 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 refrigerador (2-10°C) hasta el momento de efectuar la prueba.

Este período no debe prolongarse más de 4 horas. En caso de no poder procesarse en este lapso, el plasma debe congelarse a -20°C. Este procedimiento al igual que el descongelado debe realizarse con rapidez (sumergiendo en baño a 37°C) previo a la determinación.

La muestra debe conservarse hasta el momento de su análisis en tubos plásticos para minimizar los efectos de activación por contacto que pueden ocurrir con los tubos de vidrio.

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

Precalentar el Reactivo B antes de realizar la prueba en baño de agua a 37°C.

En un tubo de hemólisis colocar:

Muestra (plasma desconocido o control)	100 ul
--	--------

Reactivo A (homogeneizado)	100 ul
----------------------------	--------

Mezclar e incubar 3 minutos a 37°C, luego agregar:

Reactivo B (a 37°C)	100 ul
---------------------	--------

Disparar simultáneamente un cronómetro. Agitar brevemente para homogeneizar el contenido, mantener en el baño unos 25 segundos. Luego sacar el tubo del baño, inclinar suavemente una vez por segundo y detener el cronómetro en el momento de la formación del coágulo. Tomar nota del tiempo de coagulación.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Los resultados pueden expresarse de distinta forma:

- 1) Como tiempo de tromboplastina parcial activada en segundos.
- 2) Como relación entre el tiempo obtenido con el desconocido y el de un plasma control.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Plasma Control normal - patológico de Wiener lab.

VALORES DE REFERENCIA

El intervalo de valores observados en individuos normales oscila entre 33-48 segundos.

Se considera fuera de lo normal valores que difieran en más de 6 segundos de un plasma control.

Es recomendable que cada laboratorio procese un plasma control con cada lote de reactivos empleado y que correlacione los valores obtenidos para los pacientes con el de dicho plasma, haciendo constar estos resultados en el informe.

CURVA DE CALIBRACION

Este método es útil como control de la respuesta a la heparina en pacientes tratados con este anticoagulante.

La técnica empleada es la siguiente:

- 1) Preparar una Solución de Trabajo de heparina en solución fisiológica cuya concentración sea 10 Unidades/ml. Debe emplearse la misma heparina que se suministra al paciente.
- 2) Preparar diluciones de esta Solución de Trabajo utilizando un pool de plasmas frescos normales o Plasma Control normal como diluyente. Se deberán obtener diluciones de 0,8; 0,6; 0,4; 0,2; y 0,1 Unidades/ml.
- 3) Determinar el tiempo de tromboplastina parcial para cada una de estas soluciones así como para el pool de plasmas y graficar en papel semilogarítmico APTT vs. concentración de heparina.

El valor obtenido para el paciente debe correlacionarse con los valores de la gráfica, para obtener la concentración actual de heparina circulante.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas y Estabilidad e instrucciones de almacenamiento en MUESTRA.

El mecanismo de la coagulación involucra una serie de reacciones enzimáticas que pueden ser influenciadas por toda condición que afecte a los sistemas enzimáticos en general, razón por la cual se deben observar las mismas precauciones metodológicas.

Debe tenerse en cuenta que variaciones en la relación anticoagulante/muestra o en la concentración de citrato utilizada afectan los tiempos de tromboplastina parcial activada, por lo que se recomienda controlar la dosis de anticoagulante empleada al tomar la muestra.

PERFORMANCE

Reproducibilidad: procesando replicados de las mismas muestras en un mismo día se obtuvieron los siguientes resultados:

Nivel	D.S.	C.V.
45 seg	± 1,1 seg	2,5 %
62 seg	± 1,8 seg	3,0 %

PRESENTACION






















Equipo para 150 determinaciones (6 x 2,5 ml) (Cód. 1705002).


BIBLIOGRAFIA

- Bell, W.N.; Alton, H.G. - Nature 174:880 (1954).
- Dacie, J.B.; Lewis, S.M. - Hematología Práctica - Ediciones Toray, 2º Edición (1970).
- Wintrobe, M.M. - Hematología Clínica 3ª Edición Intermédica (1969).
- Bragos, I; Rodríguez Pécora, S; Lorenzo, L; Capriotti, G. - "Evaluación de un nuevo Reactivo de Tiempo Parcial de Tromboplastina Activada" - 53º Triduo Bioquímico Científico Anual; Bahía Blanca (1988).
- 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"		Elaborado por:
	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Nocivo
	Uso diagnóstico "in vitro"		Corrosivo / Caústico
	Contenido suficiente para <n> ensayos		Irritante
	Fecha de caducidad		Consultar instrucciones de uso
	Límite de temperatura (conservar a)		Calibrador
	No congelar		Control
	Riesgo biológico		Control Positivo
	Volumen después de la reconstitución		Control Negativo
	Contenido		Número de catálogo
	Número de lote		

 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.
Cert. Nº: 1611/89-5184/98



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina