

# PT-HS REACTIVO

## Uso:

El reactivo de PT-HS es un ensayo diagnóstico in vitro destinado a ser usado en la determinación del tiempo de protrombina (PT) de una etapa y ensayos que se basan en un tiempo de protrombina modificado.

## Resumen:

El tiempo de protrombina es el método de elección para el monitoreo la terapia de anticoagulación oral (1) y es una de prueba de selección fundamental para los trastornos hemorrágicos adquiridos o hereditarios. Durante la terapia oral anticoagulación, se reduce la actividad de los factores de coagulación dependientes de vitamina K(II,VII,IX,X, Proteína C y Proteína S) y aumenta el tiempo de (PT). La prueba se utiliza para la determinación cuantitativa de los factores de coagulación sanguínea en las vías de coagulación extrínseca (VII) y común (II, V y X) 2,3.

## Principio:

La capacidad de la sangre para formar un coágulo de fibrina a través de la vía hemostática extrínseca requiere tromboplastina, calcio, factores I, II, V, VII y X (4,5). El reactivo PT-HS proporciona una fuente de tromboplastina tisular y calcio que activan específicamente el factor VII en la vía de coagulación extrínseca. Los factores implicados en la vía de la coagulación intrínseca son evitados (6). Por lo tanto, las deficiencias de los factores de la vía intrínseca (VIII, IX y XII) no se detectan mediante la prueba PT.

## Reactivo:

El reactivo de PT-HS es una preparación liofilizada de tromboplastina de cerebro de conejo, cloruro de calcio, buffer y de azida sódica al 0,05% como conservante. El Índice de sensibilidad internacional (ISI), el número de lote y la fecha de caducidad del reactivo se muestran en la etiqueta del vial.

## Precauciones:

Evite el contacto con la piel, ojos y ropa. No ingerir

## Preparación del Reactivo:

1. Reconstituya el contenido del vial con el volumen de agua purificada especificado.
2. Vuelva a colocar la tapa y mezcle bien el contenido del vial. Deje reposar no menos de 15 minutos antes de usar para asegurar una hidratación completa del contenido.

## Almacenamiento y Estabilidad:

El reactivo PT-HS reconstituido es estable durante 5 días cuando se almacena en el envase original entre 2 y 8 ° C.

## Recogida y Preparación de Muestras:

El plasma debe prepararse a partir de sangre total citrada sin heparina, EDTA ni oxalato.

**1. Extracción de sangre mediante el método de jeringa:** Extraer de sangre en una jeringa de plástico o silicona. Inmediatamente transferir 9,0 ml de sangre a un tubo que contenga 1,0 ml de solución de citrato de sodio al 3,2% o 3,8%.

**2. Extracción de sangre mediante tubo de extracción de sangre con vacío:** Extraiga sangre venosa en un tubo de vacío comercial que contenga una solución de citrato de sodio al 3,2% o al 3,8%. Asegurarse que se haya obtenido una extracción completa ya que la proporción de 9 parte de sangre a 1 parte de citrato es crítica. No se debe utilizar tubo heparinizado o una línea de transferencia. Generalmente se recomienda que se use la segunda o tercera extracción para pruebas de coagulación.

**3. Preparación del Plasma:** mezclar bien por inversión y centrifugar a 2500 x g durante 15 minutos poco después de la extracción de sangre. A menos que las muestras se procesen inmediatamente, transfiera el plasma a un tubo de plástico. El plasma que está claramente hemolizado o contiene > 10,000 plaquetas por mililitro cúbico o glóbulos rojos no es adecuado para pruebas de coagulación. Las muestras de plasma se deben probar en dos horas si están a temperatura ambiente.

**4. Almacenamiento de Plasma:** para obtener más detalles sobre la recolección de muestras, manipulación y almacenamiento, consulte el CLSI estándar: Recolección, Transporte y Procesamiento de Muestras de Sangre para Pruebas de Ensayos de Coagulación Basados en Plasma y Ensayos de Hemostasia Molecular; Guía Aprobada – Quinta Edición. Documento CLSI H21-A5 (Vol. 28, No. 5), Wayne, PA, 2008.

## Procedimiento:

Este procedimiento pertenece al sistema de coagulación manual o semi automatizado. Consulte el manual de su instrumento para instrucciones específicas más detalladas.

1. Pre-incube previamente el reactivo PT-HS reconstituido a 37 ° C durante al menos 10 minutos. Mantener la suspensión del reactivo mediante agitación magnética o mezclar por inversión inmediatamente antes de su uso.
2. Pipetee 100 µL de plasma de ensayo o control en una cubeta de prueba.
3. Incubar a 37 ° C durante 1 minuto.

4. Añadir rápidamente 200 µL del reactivo PT-HS preincubado reactivo, iniciando simultáneamente el temporizador.

5. Registre el tiempo de coagulación en segundos.

## Control de Calidad:

La confiabilidad de los resultados de la prueba debe monitorearse dentro de cada ejecución utilizando plasmas de controles normales y anormales, como los controles. Cada laboratorio debe establecer un rango de control para determinar la variación permisible en el desempeño diario de cada plasma de control.

## Cálculos de Resultados:

Calcule el tiempo medio de coagulación de muestras y controles duplicados. Las diferencias entre los resultados duplicados deben ser inferiores al 5%. Repita la prueba si es necesario.

El resultado de PT se puede informar como segundos para formar un coágulo, la relación entre el tiempo de coagulación del paciente y el tiempo medio de coagulación normal, el porcentaje de actividad o la relación internacional normalizada (INR). Se recomienda el INR para su uso con pacientes sometidos a terapia anticoagulante.

## Razón Normalizada Internacional:

El Comité Internacional de Estandarización en Hematología y el Comité Internacional de Trombosis y Hemostasia han acordado recomendaciones para el informe de los resultados del tiempo de protrombina como un índice internacional normalizado (INR). El INR se basa en el Índice de sensibilidad internacional (ISI) de los reactivos de tromboplastina (7-9).

A los reactivos de PT se les asigna un valor ISI mediante calibración frente a una preparación de referencia internacional (IRP 67/40) con un ISI asignado de 1,0. El valor ISI de cada lote de reactivo de PT aparece en la etiqueta del vial.

El INR se calcula utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{INR} = (\text{PT del paciente} / \text{PT normal medio})^{\text{ISI}}$$

ISI = Índice de sensibilidad internacional específico del lote para el sistema de reactivo / instrumento

PT normal medio = promedio específico del lote del rango normal, según lo determinado por cada laboratorio para el sistema de reactivos / instrumentos. Por lo general, se basa en el TP medio más o menos 2 a 3 desviaciones estándar utilizando 20 o más individuos.

## Limitaciones:

Para evitar resultados falsos, asegúrese de que la proporción de sangre a anticoagulante sea de 9: 1. Los

tiempos de coagulación del PT pueden prolongarse con sustancias que incluyen corticosteroides, EDTA, anticonceptivos orales, asparaginasa, clofibrato, eritromicina, etanol, tetraciclina y anticoagulantes como heparina y Coumadin. El PT puede acortarse con sustancias que incluyen antihistamínicos, butabarbital, cafeína, anticonceptivos orales, fenobarbital y vitamina K (10).

#### Valores Esperados:

Los resultados del PT están influenciados por el método de detección de coágulos y pueden variar de un laboratorio a otro. En general, las pruebas de PT realizadas con plasmas normales darán tiempos de coagulación en el rango de 10 a 16 segundos. Sin embargo, cada laboratorio debe establecer un rango normal utilizando individuos representativos de su población de pacientes. Debe establecerse un nuevo rango normal con cualquier cambio de instrumentación, técnicas de extracción de sangre o anticoagulante. Se debe restablecer o verificar un rango de PT normal medio al cambiar lotes del mismo reactivo (11).

Los rangos terapéuticos para monitorear la terapia de anticoagulación oral variarán de un laboratorio a otro. Por lo tanto, es esencial que cada laboratorio establezca rangos de PT relevantes para su respectiva población de pacientes.

Los resultados anormales obtenidos con un plasma de un paciente que no recibe terapia anticoagulante pueden indicar una deficiencia de factor o la presencia de un inhibidor. El resultado también puede deberse a los efectos de ciertos fármacos y medicamentos (12). Por lo general, se requieren procedimientos adicionales como un TTPA y estudios de mezcla con plasma deficiente en factor.

#### Características y Precisión:

Precisión: La precisión intra-análisis se evaluó usando Control nivel 1 (Normal), Control nivel 2 (Anormal bajo) y Control nivel 3 (Anormal alto), en un instrumento óptico y mecánico. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Entre Corridas Resultados de Muestras	MLA™ Electra 900C (Óptica)	Fibrómetro (Mecánico)
Control Nivel 1 Normal	1.00 %	1.07 %
Control Nivel 2 Anormal Bajo	0.31 %	1.48 %
Control Nivel 3 Anormal Alto	0.36 %	1.08 %

Correlación: Se realizaron estudios de correlación con el reactivo PT-HS de un competidor en el coagulómetro MLA™ Electra 900C. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Coefficiente de Regresión	Pendiente	Intercepción
0.91	1.01	0.01

#### Referencias:

1. Deykin, D, Anticoagulant therapy. In: Colman, R.W., Hirsh, J, Marder, V., Salzman, EW (Eds.); Hemostasis and Thrombosis, JB Lippincott, Philadelphia, 1982, p1000
2. Errichette AM, Holden A, Ansell J; Management of Oral Anticoagulant Therapy: experience with an Anticoagulation Clinic, Arch. Inter. Medicine 144; p1966 (1984)
3. Hirsh J, Dalen JE, Deykin D., Polter L; Oral Anticoagulants: Mechanisms of Action, Clinical Effectiveness and Optimal Therapeutic Range, Chest 102 (suppl):312S, (1992)
4. Miale JB; Laboratory Medicine-Hematology, 4th edition, CV Mosbe, St Louis, (1972)
5. Furie B, Furie BC; Molecular and Cellular Biology of Blood Coagulation, N Eng J Medicine 326;p800 (1992)
6. Hougie C; The Biochemistry of Blood Coagulation; In Triplett DA, Laboratory Evaluation of Coagulation, American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, p2 (1982)
7. WHO Expert Committee on Biological Standardization, 33 Report. Technical Report Series 687, WHO, Geneva (1983)
8. Kirkwood T; Calibration of Reference Thromboplastins and Standardization of the Prothrombin Time Ratio, Thromb Haemostasis 49; p238 (1983)
9. International Committee for Standardization in Haematology and International Committee on Thrombosis and Haemostasis. Amer J Clin Path 88; p779 (1985)
10. Young DS, Thomas DW, Friedman RB, et al.; Effect of Drugs in Clinical Tests, Clin Chem 18; p1041 (1972)
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards: One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test, NCCLS Document H47-A (1996)
12. Laposala M, Connor A, Hicks D, Phillips D: The Clinical Hemostasis handbook, Year Book Medical Publishers Inc. (1989)

#### Índice de Sensibilidad Internacional (ISI):

Valor de ISI objetivo: 0,90 a 1,50 (valor real en el vial)

