

PTT-EA REACTIVO

Uso:

El reactivo de PTT-EA es un ensayo diagnóstico in vitro diseñado para su uso en la determinación de ensayos de tiempo de tromboplastina parcial activado (PTT) y factor de coagulación que se basan en un PTT modificado.

Resumen:

Se utiliza el tiempo de tromboplastina parcial activado (PTT) como prueba general para la detección de anomalías en la coagulación en la vía intrínseca. El PTT es sensible a deficiencias o anomalías de los factores VIII, IX, XI, XII, X y II, precalicreína, alto peso molecular cininógeno (HMWK) y fibrinógeno. El PTT también es sensible a los inhibidores de la coagulación sanguínea como el inhibidor del lupus y productos de degradación de fibrina / fibrinógeno (1). El PTT es el método más utilizado para la monitorización de la terapia intravenosa de anticoagulación con heparina (2, 3).

Principio:

La capacidad de la sangre para formar un coágulo de fibrina a través de la vía hemostática intrínseca requiere factores de coagulación I, II, V, VIII, IX, X, XI y XII, lípidos plaquetarios y calcio (4).

El ensayo se realiza mediante la adición de una suspensión de cefalina de conejo con un activador de superficie (1). El PTT ha demostrado ser una medición simple y altamente confiable del mecanismo intrínseco de la coagulación (5).

Reactivo:

El reactivo de PTT-EA es una preparación de cefalina cerebral de conejo y activador de ácido eláxico con tampón, estabilizantes y conservantes. El reactivo está listo para usar.

Precauciones:

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

Almacenamiento y Estabilidad:

El reactivo de PTT-EA es estable hasta la fecha de vencimiento que se muestra en la etiqueta cuando se almacena en el envase original de 2 a 8 ° C.

Recogida y Preparación de las Muestras:

El plasma de prueba debe prepararse a partir de sangre entera citratada, sin heparina, EDTA ni oxalato.

1. Extracción de sangre mediante el método de jeringa: Extraer sangre venosa en una jeringa de plástico o silicona.

Transfiera inmediatamente 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. Recolección de sangre usando un tubo de recolección de vacío: Extraiga sangre venosa en un tubo de vacío que contenga solución 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 que la sangre coagule. A menos que las muestras se procesen inmediatamente, transfiera el plasma a un tubo de plástico. Plasma claramente hemolizado o que contiene > 10.000 plaquetas por mililitro cúbico o glóbulos rojos no es adecuado para prueba de coagulación.

4. Almacenamiento del Plasma: Las muestras de plasma deben ser transferido a un tubo de plástico lo antes posible y almacenado refrigerado (2 a 8 ° C). Deben analizarse las muestras de plasma en 4 horas y no debe incubarse a 37 ° C durante más de 5 minutos para evitar la pérdida de los factores V y VII.

Materiales Suministrados:

Reactivo de PTT-EA.

Materiales Necesarios pero no Suministrados:

1. Cloruro de calcio 0,02 M.
2. Control de coagulación nivel 1 (Normal).
3. Control de coagulación nivel 2 (Anormal bajo).
4. Control de coagulación nivel 3 (Anormal alto).

Procedimiento:

Este procedimiento es manual o para equipos semi automatizado de coagulación. Consulte el manual de su instrumento para instrucciones específicas del instrumento más detalladas.

1. Incube previamente el cloruro de calcio 0.02M a 37 ° C durante al menos 10 minutos.
2. Pipetee 100 µL de plasma de prueba o control en una cubeta de prueba. Incubar a 37 ° C durante 1 a 2 minutos.
3. Agregue 100 µL del reactivo PTT a la cubeta que contiene el plasma. Mantener la suspensión del reactivo mediante agitación magnética o mezclar por inversión inmediatamente antes de su uso.
4. Incubar la mezcla a 37 ° C durante 3 minutos.

5. Agregue rápidamente 100 µL del Cloruro de calcio 0.02M preincubado y simultáneamente comenzar el temporizador.

6. Registre el tiempo de coagulación en segundos.

Control de Calidad:

La confiabilidad de los resultados de las pruebas debe monitorearse dentro de cada ensayo usando los controles. Cada laboratorio debe establecer un rango de control para determinar la variación permisible en el rendimiento diario de cada control plasma.

Cálculos de Resultados:

Para obtener los mejores resultados, se recomiendan muestras duplicadas.

Los resultados de PTT deben informarse como tiempo de coagulación en segundos. Calcule el tiempo medio de coagulación del duplicado, muestras y controles. Diferencias entre duplicado, los resultados deben ser inferiores al 5%. Repita la prueba si necesario.

Limitaciones:

Para evitar resultados discrepantes, asegúrese de que la sangre y la proporción de anticoagulantes es de 9: 1. Las muestras muy lipémicas o hemolizadas pueden producir valores de PTT erróneos (6).

Retraso en la prueba, dificultad en la recolección de muestras o venopunción por encima del sitio de un bloqueo de heparina puede resultar en resultados de PTT falsamente prolongados (7). El PTT también puede ser influenciado por ciertos fármacos y medicamentos (8). Los resultados de PTT pueden variar con la terapia de anticoagulación dependiendo según el tipo y la dosis de anticoagulante, la ruta de administración y el momento de administración de la última dosis.

Valores Esperados:

Los resultados de PTT están influenciados por el método de coagulación, detección y puede variar de un laboratorio a otro. En general, una prueba de PTT dará un tiempo de coagulación normal en plasma en el rango de 24 a 39 segundos. Los rangos terapéuticos para monitorear la terapia de anticoagulación oral varían de un laboratorio a otro, por lo que es esencial que cada laboratorio establezca sus rangos de PTT relevantes para su respectiva población de pacientes.

Resultados anormales obtenidos con un plasma de un paciente que no está en terapia de anticoagulante puede indicar un factor de deficiencia o la presencia de un inhibidor. El resultado puede también deberse a los efectos de ciertas drogas y medicamentos. Procedimientos adicionales como la prueba PT y estudios de mezcla con plasma deficiente en factor son generalmente requeridos.

Características y Precisión:

Precisión: la precisión entre corrida se evaluó utilizando y controles plasmáticos anormales, en manual (Fibron-1), semiautomatizado (MLA™ Electra 900C) y totalmente automatizado (Laboratorio de instrumentación ACL-100). Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Muestra	Fibron- 1	Electra 900C	ACL-100
Control Nivel 1 Normal	3.3 %	2.0 %	1.2 %
Control Nivel 2 Anormal bajo	1.3 %	2.2 %	0.6 %
Control Nivel 3 Anormal alto	4.2 %	2.3 %	0.8 %

Correlación: Se realizaron estudios de correlación contra otro reactivo de PTT en el MLA™ Electra 900C y el Laboratorio de instrumentación Coagulómetros ACL 100. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Equipo	Coefficiente de Regresión	Pendiente	Intercepción
Electra 900C	0.938	0.727	6.96
ACL-100	0.930	0.952	3.76

Factor de sensibilidad: Los tiempos de PTT obtenidos con el reactivo de PTT se evaluó el factor deficiente de plasma utilizando el MLA™ Electra 900C. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Porcentaje	PTT – Tiempos de Coagulación (en segundos)			
	Factor VIII	Factor IX	Factor XI	Factor XII
100%	25.4	25.7	25.8	25.9
60%	28.2	27.8	28.6	29.6
50%	28.7	28.3	30.2	31.5
40%	29.6	30.7	32	33.2
30%	33.5	31.1	34.3	35.1
20%	35	32.9	36.5	38.7
10%	41.4	36.7	42.4	45.7

Estos valores deben usarse solo como guías. Cada laboratorio debe establecer la sensibilidad del factor utilizando sus instrumentos, reactivos y técnicas.

Sensibilidad a la Heparina: la acción anticoagulante de la heparina depende de muchos factores. Cada laboratorio debe determinar la sensibilidad relativa a la heparina agregando cantidades conocidas de heparina no fraccionada a plasma normal combinado y

determinar la elevación en el tiempo de coagulación utilizando el reactivo PTT. Los siguientes resultados fueron obtenidos utilizando el MLA™ Electra 900C y el reactivo PTT.

Concentración de Heparina (unidades / mL)	PTT – Tiempo de Coagulación (en segundos)
0.0	23.0
0.1	28.0
0.2	38.1
0.3	59.0
0.4	76.1
0.5	99.4

Referencias:

1. Human Blood Coagulation, Hemostasis and Thrombosis, 3rd ed. R Biggs, CR Rizza, Editors, Blackwell Scientific Publications, London (1984)
2. Cole E, Hall ER, Wu KK, Principles of Antithrombotic Therapy. In Wu KK, Thromboembolic Disorders, PSG Publishing Co. Inc., Littleton, p 91 (1984)
3. Triplett DA, Heparin: Clinical use and Laboratory Monitoring. In Triplett DA, Laboratory Evaluation of Coagulation, American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago p 272 (1982)
4. Hougie C, The Biochemistry of Blood Coagulation, In Laboratory Evaluation of Coagulation, American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago p 2 (1982)
5. Owen CA, Bowie EJW, Thomson JH, The Diagnosis of Bleeding Disorders, Little Brown and Company, Boston p 110 (1975)
6. Harker LA, Hemostasis Manual, FA Davis Co, Philadelphia p 62 (1974)
7. Triplett DA, Harms CS, Procedures for the Coagulation Laboratory, American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, p 7 (1981)
8. Young DS, Pestaner LC, Gibberman V, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, Clin Chem 21; 1D (1975)

