STA® - C.K. PREST® ⑤

Determinación del tiempo parcial de tromboplastina activada con caolín (APTT)

- Contenido del kit:
  – 6 viales de Reactivo 1 (STA® - C.K. Prest® ⑤)
  – 6 viales de Reactivo 2 (Activator)

(REF 00597) CE

Abril 2011 *Español 6*

1/ UTILIZACIÓN DEL KIT

El kit **STA® - C.K. Prest® ⑤** contiene reactivos para la determinación del tiempo parcial de tromboplastina activada con caolín (APTT), conforme a Langdell R.D. *et al.* (1) y a Larrieu M.J., Weilland C. (3) a través de analizadores de la línea STA® compatibles con estos reactivos.

2/ SUMARIO

- El tiempo parcial de tromboplastina activada es una prueba general de coagulación para detectar los factores de coagulación XII, XI, IX, VIII, X, V, II y fibrinógeno.
- Se observa un APTT prolongado en las siguientes situaciones (8):
  – Deficiencias congénitas
    ◊ Si el tiempo de protrombina (PT) es normal, pueden ser deficientes los siguientes factores:
    - factor VIII (STA® - Deficient VIII, REF 00725)
    - factor IX (STA® - Deficient IX, REF 00724)
    - factor XI (STA® - Deficient XI, REF 00723)
    - factor XII (STA® - Deficient XII, REF 00722).

    ◊ Si todos estos factores son normales, debe estudiarse una posible deficiencia en el quininógeno HMW (factor de Fitzgerald).
  – Deficiencias adquiridas y condiciones anormales
    ◊ Enfermedades hepáticas
    ◊ Coagulopatía de consumo
    ◊ Fibrinólisis
    ◊ Anticoagulantes circulantes (tipo LA o anticoagulantes circulantes contra un factor)
    ◊ Durante una terapia con heparina o con antagonistas de la vitamina K
    ◊ Tratamientos con inhibidores de la trombina (ej., hirudina, argatroban, etc.).

3/ PRINCIPIO DEL TEST

El APTT implica la recalcificación de plasma en presencia de una cantidad estandarizada de cefalina (sustituto de las plaquetas) y de caolín (activador del factor XII).
El APTT explora los factores de coagulación XII, XI, IX, VIII, X, V, II y I, exceptuando las plaquetas.

4/ COMPOSICIÓN DEL KIT

Cada estuche de STA® - C.K. Prest® ⑤ contiene una hoja con código de barras. Este código de barras contiene las siguientes informaciónes: número de lote, referencia del kit, referencia del reactivo y fecha de caducidad.

- **Reactivo 1**: cefalina (sustituto de plaquetas), preparada a partir de tejidos de cerebro de conejo, de acuerdo con Bell y Alton (2), liofilizados.
- **Reactivo 2**: vial de 5 ml, suspensión tamponada de caolín (5 mg de caolín por ml).

El Reactivo 2 contiene azida sódica (< 1 g/l) como conservante.
Es preciso eliminar con precaución los reactivos que contienen azida sódica. Si estas soluciones se vierten en el desagüe del lavabo, enjuagar con abundante agua para evitar la formación de azidas metálicas que, si están concentradas, pueden provocar explosiones.

Algunos reactivos de este kit contienen productos de origen humano y/o animal. Cuando se ha utilizado plasma humano en la preparación de estos reactivos, se excluye previamente la presencia del antígeno HBs, de los anticuerpos anti-HCV, anti-HIV 1 y anti-HIV 2 con los correspondientes análisis. Sin embargo, ningún test puede garantizar de manera absoluta la ausencia de agentes infecciosos. Por eso, estos reactivos de origen biológico han de ser manipulados con las precauciones habituales, ya que se trata de productos potencialmente infecciosos.

5/ PRECAUCIONES

- El estuche intacto se debe conservar a 2-8 °C. Estos reactivos se destinan exclusivamente a un uso *in vitro* y deben ser manipulados por personal autorizado del laboratorio. Los residuos se eliminarán con arreglo a la reglamentación local vigente.
  El kit STA® - C.K. Prest® ⑤ esta diseñado para los aparatos de la línea STA® que pueden utilizar estos reactivos. Antes de cualquier utilización, leer con atención el "Manual del Operador" del instrumento utilizado. Tener cuidado en el manejo de estos reactivos y las muestras.
- La barra de agitación utilizada en el vial de reactivo no debe jamás ser fuente de contaminación. Para asegurar que las barras de agitación están libres de contaminación, enjuagarlas con agua destilada y secarlas cuidadosamente para eliminar todos los restos de humedad antes de introducirlas en los viales de reactivos. Además, descontaminarlas una vez por semana conforme al siguiente procedimiento:
  – sumergir las barras en un vial de STA® - Desorb U (REF 00975) y dejarlas remojar durante 5 minutos con agitación magnética constante;
  – utilizar pinzas para transferir las barras desde el vial de STA® - Desorb U hasta un vial de agua destilada, y dejarlas remojando otros 5 minutos con agitación magnética constante; repetir este procedimiento de enjuague en otro vial con agua destilada;
  – por último, retirar las barras de agitación del vial con agua destilada y secarlas cuidadosamente para retirar todo resto de humedad.

6/ OBTENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

La obtención de la muestra debe ajustarse a las recomendaciones para las pruebas de la hemostasia.

- Obtención de sangre en solución de citrato trisódico 0,109 M: 1 vol. de citrato por 9 vol. de sangre. Utilizar tubos de extracción de plástico o de vidrio siliconado.
  Cuando se monitorea una terapia con heparina. Utilizar de preferencia tubos CTAD, tubos de obtención de muestras especialmente diseñados para evitar la inactivación de la heparina (6).
- Centrifugar las muestras de sangre durante 15 minutos a 2000-2500 g. Recoger el plasma en tubos de plástico.
- El plasma se mantiene estable durante 4 horas a 20 ± 5 °C (10). Si el paciente está sometido a terapia con heparina, el plasma se mantendrá estable durante 2 horas a 20 ± 5 °C si se ha recogido con un anticoagulante citratado y durante 4 horas a 20 ± 5 °C si se ha recogido en tubos CTAD.

7/ CONSERVACIÓN Y PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

- **Preparación**
  Agitar bien un vial de Reactivo 2 (R2) y transferir todo su contenido a un vial de Reactivo 1 del mismo kit. Dejar reposar el Reactivo 1 reconstituido a temperatura ambiente (18-25 °C) durante 30 minutos. Revolver suavemente el vial de Reactivo 1 hasta obtener una suspensión homogénea. Introducir en el vial una barra de agitación (REF 26674) y colocar la tapa de plástico perforada. Colocar a continuación el reactivo en el instrumento y después de 20 minutos adicionales que permitan su estabilización/mezcla, el reactivo se encuentra listo para el empleo.
- **Conservación**
  Conservados a 2-8 °C en su estado original, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el estuche.
  Una vez reconstituido, el Reactivo es estable:
  – con la barra de agitación, STA® - Reducer y tapa plástica perforada instalados:
    - 24 horas en STA-R®
    - 48 horas en STA Compact®
  – en su vial con tapa original: 7 días a 2-8 °C.

  No se debe congelar.

NB: Considerando las numerosas condiciones de almacenaje (parcialmente en el sistema, parcialmente a 2-8 °C), cada laboratorio debería establecer la propria estabilidad conforme al uso que haga. La misma no debe exceder los valores indicados que han sido obtenidos en condiciones controladas.
Cuandos estén almacenados a 2-8 °C, atemperar los reactivos durante 30 minutos a tempetura ambiente (18-25 °C).

8/ REACTIVOS Y MATERIALES AUXILIARES

- **STA® - $CaCl_2$ 0.025 M** (REF 00367).
- **STA® - Coag Control N + P** (REF 00679) o **STA® - System Control N + P** (REF 00678): plasmas de control, niveles normales y anormales.
- Aparato de la linea STA® que puede utilizar estos reactivos.
- Barra de agitación (REF 26674).
- Equipamiento habitual en los laboratorios de análisis clínicos.

9/ PROCEDIMIENTO

Comparar el APTT del paciente con el control del APTT de referencia utilizado en el laboratorio.

9.1. Plasmas a analizar
Los plasmas a testar han se testar sin diluir. Introducirlos en el instrumento (ver el "Manual del Operador" del instrumento utilizado). Seleccionar el(los) test(s) a efectuar en los plasmas de pacientes.

9.2. Controles
Estos controles son necesarios para verificar la exactitud y la reproducibilidad de los resultados. Utilizar los estuches STA® - Coag Control N + P o STA® - System Control N + P. Preparar los controles y transferir la información contenida en el código de barras impreso en su respectivo inserto, al instrumento. Estos controles se utilizan han de estar sin diluir.

9.3. Dosificación
Para la realización de la dosificación, seguir los protocolos descritos en los "Standardized Operating Procedures" del instrumento.

La determinación del APTT en el plasma por valorar se procesa automáticamente por el analizador tan pronto se cargan las muestras.

10/ RESULTADOS

El nivel de APTT de las muestras analizadas aparece en tiempo real, en la unidad seleccionada por el operador, en la pantalla del aparato (ver el "Manual del Operador"). El resultado debe interpretarse en función del estado clínico y biológico del paciente.

Comprobar que los resultados obtenidos para los controles se sitúan en los intervalos indicados en las hojas induidas en el kit, es preciso asegurarse del buen funcionamiente de todo el sistema: condiciones de ensayo, reactivos, plasmas en los que se efectúa el test, etc. Si es necesario, repetir las muestras.

11/ LIMITACIONES

- En general el STA® - C.K. Prest® es insensible a las deficiencias precalicreínicas. Se ha mencionado en la literatura que los pacientes homocigotos con deficiencia precalicreínica no manifiestan ningún episodio hemorrágico particular (9).
- Cuando se monitorea una terapia con heparina, cualquier liberación del factor 4 plaquetario (PF4), un potente inhibidor de la heparina, representa una fuente importante de error.
  – No recoger sangre en vidrio porque puede provocar dicha liberación, recoger la sangre en plástico, vidrio siliconizado o tubos CTAD
  – Realizar la centrifugación en la hora que sigue a la obtención de la muestra si la sangre se recoge en anticoagulante citratado convencional y en las 4 horas que siguen si la sangre se recoge en tubos CTAD.

12/ VALORES NORMALES

Los valores normales pueden variar de acuerdo a las condiciones locales. Es necesario por lo tanto que cada laboratorio establezca sus propios rangos normales y los valores de control aceptables para su población local particular de pacientes. En general, los valores son considerados normales si se encuentran dentro del rango siguiente: media ± 2 desviaciones estándar (X ± 2 SD) (5).
Por ejemplo: se examinaron con el STA® - C.K. Prest® 357 plasmas humanos normales utilizando el analizador STA®. El tiempo medio observado fue de 29,6 segundos, con una desviación estándar de 2,4 segundos.

Se observa un APTT estadísticamente prolongado en recién nacidos (7). *En cambio,* se observan tiempos más breves en la población de edad avanzada (4).

13/ CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Se han realizado estudios de reproducibilidad intra- e inter-series con diferentes muestras en el STA®. Los resultados obtenidos con el estuche STA® - C.K. Prest® se indican en la siguiente tabla:

	Reproducibilidad Intra-serie		Reproducibilidad Inter-serie	
Muestra	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
n	21	21	10	10
$\bar{X}$ (s)	31,6	45,9	32,2	67,0
DS (s)	0,19	0,34	1,13	1,74
CV (%)	0,6	0,7	3,5	2,6

BIBLIOGRAFÍA

1. LANGDELL R.D., WAGNER R.H., BRINKHOUS K.M.: "Effect of antihemophilic factor on one-stage clotting tests". J. Lab. Clin. Med., **41**, 637-647, 1953.
2. BELL W.N., ALTON H.G.: "A brain extract as a substitute for platelet suspensions in the thromboplastin generation test". Nature, **174**, 880-881, 1954.
3. LARRIEU M.J., WEILLAND C.: "Utilisation de la "céphaline" dans les tests de coagulation". Nouv. Rev. Fr. Hématol., **12**, 2, 199-210, 1957.
4. CAWKWELL R.D.: "Patient's age and the activated partial thromboplastin time test". Thromb. Haemostasis, **39**, 780-781, 1978.
5. LEVIN HILLMAN C.R., LUSHER J.M.: "Determining the sensitivity of coagulation screening reagents: a simplified method". Lab. Med., **13**, 3, 162-165, 1982.
6. CONTANT G., GOUAULT-HEILMANN M., MARTINOLI J.L.: "Heparin inactivation during blood storage: its prevention by blood collection in citric acid, theophylline, adenosine, dipyridamole - C.T.A.D. mixture". Thromb. Res., **31**, 365-374, 1983.
7. ANDREW M., PAES B., MILNER R., JOHNSTON M., MITCHELL L., TOLLEFSEN D.M., POWERS P.: "Development of the human coagulation system in the full-term infant". Blood, **70**, 1, 165-172, 1987.
8. SAMAMA M., CONARD J., HORELLOU M.H., LECOMPTE T.: "Physiologie et exploration de l'hémostase". Paris: Doin, 152-153, 1990.
9. BORG J.Y.: "Déficits constitutionnels en facteur de la coagulation en dehors de l'hémophilie" in "Manuel d'hémostase", J. Sampol, D. Arnoux, B. Boutière, Paris: Elsevier, 359-377, 1995.
10. "Etude des différents paramètres intervenant dans les variables préanalytiques (revue de la littérature)". Sang Thromb. Vaiss., **10**, 5-18, 1998.

Los cambios significativos son indicados por las líneas punteadas en el margen.

DIAGNOSTICA STAGO S.A.S.
9 rue des Frères Chausson
92600 Asnières sur Seine (France)
+33 (0)1 46 88 20 20
webmaster@stago.com

Las informaciones y/o las imágenes contenidas en este documento están protegidas por copyright y otros derechos de propiedad intelectual, © 2011, Diagnostica Stago, todos derechos reservados. Los logotipos y/o los nombres de los productos de Diagnostica Stago son marcas registradas.