

STA

REPTILASE®

Determinación del tiempo de Reptilase®

(REF 00614)

Septiembre 2011

• Kit de 6 viales de 2 ml

CE

1/ UTILIZACIÓN DEL KIT

El estuche STA® - Reptilase® proporciona reactivo para la determinación del tiempo de Reptilase® empleando los aparatos de la línea STA® que pueden utilizar este reactivo.

2/ SUMARIO

- El tiempo Reptilase® proporciona un medio para detectar la presencia de productos de degradación de la fibrina/fibrinógeno (PDF), incluso durante el tratamiento anticoagulante (2). Por eso, permite vigilar la aparición y desaparición de los PDF durante el tratamiento con heparina en la coagulación intravascular diseminada (CID) (3), en la circulación extracorpórea (2) y en las trombosis (1).
- El tiempo Reptilase® no se modifica con la heparina (UFH y LMWH) ni con la hirudina (4).
La prolongación del tiempo de Reptilase® indica (6):
 - una anomalía de fibrinógeno
 - ◊ cualitativa: disfibrinogenemia
 - ◊ cuantitativa: hipofibrinogenemia severa o afibrinogenemia congénita adquirida hipofibrinogenemia (CID, fibrinolisis, enfermedades del hígado)
 - La presencia de antitrombinas anormales:
 - ◊ Productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (PDF)
 - ◊ que aparece durante mielomas...
- En el cuadro siguiente se resumen de forma comparativa los tiempos de trombina y Reptilase® (1, 3, 4, 5):

Causa	Tiempo de trombina	Tiempo de Reptilase®
Disfibrinogenemia	generalmente prolongado	generalmente prolongado
Afibrinogenemia	prolongado	prolongado
Heparina	prolongado	normale
Hirudina	prolongado	normale
Antitrombina de origen inmune*	prolongado	normale
Antitrombina de mielomas	prolongado	prolongado
PDF	prolongado	prolongado

* En casos en que la trombina que se usa sea del mismo origen que la trombina que desencadenó la respuesta inmune.

3/ PRINCIPIO DEL TEST

Reptilase® convierte el fibrinógeno en fibrina liberando el fibrinopéptido A (FPA) a partir de la cadena Aα, mientras que la cadena Bβ permanece intacta (4). En presencia de una cantidad predeterminada de Reptilase®, un plasma normal coagulará consistentemente en un tiempo finito. A diferencia de la trombina, Reptilase® no se ve afectada por la heparina ni por la hirudina (4). Por consiguiente, se puede usar en lugar de la trombina para analizar la formación de fibrina en muestras heparinizadas de plasma (1).

4/ COMPOSICIÓN DEL KIT

Cada estuche de STA® - Reptilase® contiene una hoja con código de barras. Este código de barras contiene las siguientes informaciones: número de lote, referencia del kit, referencia del reactivo, fecha de caducidad.

El reactivo STA® - Reptilase® contiene una enzima "thrombin-like" extraída del veneno de Bothrops atrox (1). Cada vial contiene aprox. 20 BU (unidad de batroxobina) de Reptilase® liofilizado.

Este reactivo contiene productos de origen humano y/o animal. Cuando se ha utilizado plasma humano en la preparación de este reactivo, 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, este reactivo de origen biológico ha de ser manipulado con las precauciones habituales, ya que se trata de un producto potencialmente infecciosos.

5/ PRECAUCIONES

El estuche intacto se debe conservar a 2-8 °C. Este reactivo se destina exclusivamente a un uso *in vitro* y debe ser manipulado por personal autorizado del laboratorio. Los residuos se eliminarán con arreglo a la reglamentación local vigente.
El estuche STA® - Reptilase® esta diseñado especialmente para los aparatos de la línea STA® que pueden utilizar este reactivo. 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.

6/ OBTENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

- Obtención de sangre en solución de citrato trisódico 0,109 M: 1 vol. de citrato por 9 vol. de sangre.
- Centrifugación: 15 minutos a 2 500 g.
- Conservación del plasma: 8 horas a 20 ± 5 °C.

7/ PREPARACIÓN Y CONSERVACIÓN DEL REACTIVO

- Preparación**
Reconstituir cada vial con 2 ml de agua destilada. Dejar que la solución se establezca durante 30 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C). Luego, agitar suavemente antes de su uso.
- Conservación**
Liofilizado: a 2-8 °C, hasta la fecha de caducidad indicada en el estuche. Reconstituido: 48 horas en STA Compact® y STA-R®.

8/ REACTIVOS Y MATERIALES AUXILIARES

- STA® - Owren-Koller (REF 00360).
- STA® - System Control [N] (REF 00678).
- Instrumento de la línea STA® que puede utilizar este reactivo.
- Equipamiento habitual en los laboratorios de análisis clínicos.

9/ PROCEDIMIENTO

- Plasmas a analizar**
Los plasmas a testar han de estar sin diluir. Introducirlos en el instrumento (ver el "Manual del Operador" del instrumento utilizado). Seleccionar el(los) test(s) a efectuar en los plasma de pacientes.
- Control**
Los controles son necesarios para verificar la exactitud y la reproducibilidad de los resultados. Utilizarse el estuche STA® - System Control [N]. Preparar este reactivo de control y transferir la información contenida en el código de barras impreso en su respectivo inserto al instrumento. Este control se utiliza han de estar sin diluir.
- Determinación del tiempo de Reptilase®**
Para la determinación del tiempo de Reptilase®, seguir los protocolos descritos en los "Standardized Operating Procedures" del instrumento.
La determinación del tiempo de Reptilase® en el plasma por valorar se procesa automáticamente por el analizador tan pronto se cargan las muestras.

10/ RESULTADOS

El tiempo de Reptilase® (segundos) de las muestras analizadas aparece en tiempo real en la pantalla del aparato (ver el "Manual del Operador"). El resultado debe interpretarse en función del estado clínico y biológico del paciente.
Si el aparato señala que el resultado obtenido para el control se sitúa fuera del intervalo de valores indicado en la hoja incluida en el control, es preciso asegurarse del buen funcionamiento 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

No analice muestras que se encuentren parcialmente coaguladas (micro-coágulos).

12/ VALORES NORMALES

< 20 segundos.
Por ejemplo, se analizaron 160 plasmas humana normales con el instrumento STA®. El tiempo medio observado fue de 16,8 segundos con una desviación estándar de 1,69 segundos (el tiempo de coagulación observado en 97,5 % de los casos fue menor o igual a 19,9 segundos).

13/ CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Se han realizado estudios de reproducibilidad, intra e inter-series a partir de muestras normales y anormales en STA®. Los resultados obtenidos en están indicados en las tablas siguientes:

	Reproducibilidad intra-serie		Reproducibilidad inter-serie	
Muestra	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
n	21	21	10	10
$\bar{X}$ (s)	18,6	23,3	18,5	53,3
SD (s)	0,20	0,23	0,34	1,19
CV (%)	1,1	1,0	1,9	2,2

14/ VARIANTES

Los capítulos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 11 y 12 precedentes, son también válidos para la determinación del tiempo de Reptilase® con el método semiautomático o al baño maría.

- Preparación y conservación del reactivo**
La preparación del reactivo STA® - Reptilase® es idéntica a la indicada en el capítulo 7 del presente folleto.
Tras la reconstitución, el reactivo STA® - Reptilase® es estable:
8 horas a 37 °C } en su vial original o tubos de plástico.
5 días a 2-8 °C }
- Reactivos y materiales auxiliares**
 - STA® - Owren-Koller (REF 00360).
 - System Control [N] (REF 00617).
 - Baño maría a 37 °C o instrumento como el ST art®.
 - Equipamiento habitual en los laboratorios de análisis clínicos (cronómetro...).
- Plasmas a analizar y control**
Los plasmas a testar y el control han de estar sin diluir.
- Determinación del tiempo de Reptilase®**
Antes de su uso, precalentar el reactivo STA® - Reptilase® reconstituido en un tubo de plástico o en su vial original en un baño de agua a 37 °C durante unos minutos.

In una provetta da emolisi di vetro a 37 °C:	
• Plasma sin diluir (paciente o control)	100 µl
• STA® - Owren-Koller	100 µl
• Mezclar y incubar a 37 °C durante	2 min.
• Poniendo en marcha un cronómetro, añadir el reactivo STA® - Reptilase® preincubado a 37 °C	200 µl
Mezclar. Anotar el tiempo de coagulación (segundos).	

- Resultados**
Anotar el tiempo de coagulación (segundos) de las plasmas a analizar y del control. El resultado debe interpretarse en función del estado clínico y biológico del paciente.
Comprobar que el resultado obtenido para el control se sitúa en el intervalo indicado en la hoja incluida en el kit. Si el resultado se sitúa fuera del intervalo de valores, es preciso asegurarse del buen funcionamiento de todo el sistema: condiciones de ensayo, reactivos, plasmas en los que se efectúa el test, etc. Si es necesario, repetir las muestras.

- Características del método**
Se han realizado estudios de reproducibilidad intra e inter-series, a partir de diferentes muestras. Los resultados obtenidos en ST art® están indicados en las tablas siguientes:

	Reproducibilidad intra-serie		Reproducibilidad inter-serie	
Muestra	Muestra a	Muestra b	Muestra c	Muestra d
n	21	21	10	10
$\bar{X}$ (s)	18,0	23,4	16,5	22,7
SD (s)	0,26	0,28	0,60	0,64
CV (%)	1,5	1,2	3,6	2,8

BIBLIOGRAFÍA

- SORIA J., SORIA C., YVER J., SAMAMA M.: "Temps de reptilase - Etude de la polymérisation de la fibrine en présence de reptilase". Coagulation, **2**, 2, 173-175, 1969.
- BRITTEN A.F.H., CARD R.T., MIELKE Jr C.H.: "Reptilase time - Useful monitor of progress in disseminated intravascular coagulation" in "XIIIth Int. Congr. Haematol.", Munich, août 2-8, 1970.
- DONATI M.B., VERMYLEN J., VERSTRAETE M.: "Fibrinogen degradation in vivo: effect on the Reptilase time and on the thrombin time". Scand. J. Haematol., **13**, Suppl., 259, 1971.
- LATALLO Z.S., TEISSEYRE E.: "Evaluation of Reptilase R and thrombin clotting time in the presence of fibrinogen degradation products and heparin". Scand. J. Haematol., **13**, Suppl., 261-266, 1971.
- LANE D.A., SCULLY M.F., THOMAS D.P., KAKKAR V.V., WOOLF I.L., WILLIAMS R.: "Acquired dysfibrinogenemia in acute and chronic liver disease". Br. J. Haematol., **35**, 301-308, 1977.
- SAMAMA M., CONARD J., HORELLOU M.H., LECOMTE T.: "Physiologie et exploration de l'hémostasie". Paris: Doit, 155-156, 1990.

DIAGNOSTICA STAGO S.A.S.

8 rue des Frères Chausson

92600 Asnières sur Seine (France)

+33 (0)1 46 88 20 20

webmaster@stago.com

Stago

Les informations y/o les images contenues 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.

Español