

- NEOPLASTINE® CI PLUS
Determinación del Tiempo de Protrombina (TP)

- NEOPLASTINE® CI PLUS ⑤

- Contenido del kit:
- 6 viales de Reactivo 1 (STA® - Néoplastine® CI Plus ⑤)
- 6 viales de Reactivo 2 (Solvent)

(REF 00606)

- NEOPLASTINE® CI PLUS ⑩

- Contenido del kit:
- 12 viales de Reactivo 1 (STA® - Néoplastine® CI Plus ⑩)
- 12 viales de Reactivo 2 (Solvent)

(REF 00667)

Junio 2012

España 6

1/ UTILIZACIÓN DEL KIT

Los kits **STA® - Néoplastine® CI Plus** aportan reactivos para determinar el tiempo de protrombina (TP) en plasma mediante analizadores de la línea STA® adecuados para esos reactivos.

2/ SUMARIO

- El tiempo de protrombina es una prueba de determinación de la coagulación. Mide conjuntamente la actividad de los factores de coagulación II, V, VII, X y I.
- Un TP prolongado se observa en los siguientes estados clínicos:
 - deficiencias congénitas o adquiridas del factor II, V, VII o X o del fibrinógeno (1)
 - disfunciones hepáticas (cirrosis, hepatitis) (1)
 - tratamiento con antagonistas de la vitamina K (1)
 - hipovitaminosis K: deficiencia de la ingesta nutricional, trastornos de la absorción o del metabolismo de la vitamina K (enfermedad hemorrágica del recién nacido, colestasis, terapia con antibióticos) (5)
 - fibrinolisis (1)
 - CID (coagulación intravascular diseminada) (1).
- El TP es utilizado habitualmente para monitorear un tratamiento con antagonistas de la vitamina K (3) dada su sensibilidad a las variaciones de la concentración de los factores II, VII y X, dependientes de la vitamina K. Por lo tanto, la comparabilidad de los resultados de esta prueba es esencial para definir el rango terapéutico.

Es bien conocido que el valor del TP de un plasma puede variar de acuerdo con el origen del reactivo de la trombotrombina y con el instrumental utilizado para medirlo (4). Una solución para estandarizar los resultados, adoptada por la Organización Mundial de la Salud, consiste en un "sistema de estándares internacionales de referencia para las trombotrombinas que permitan definir en una escala internacional la intensidad del tratamiento anticoagulante" (4). En este sistema, la ratio del TP es convertida en la Ratio Internacional Normalizada (INR). El valor de la INR corresponde al valor de la relación entre el TP del paciente y el del TP estándar elevado a la potencia ISI (International Sensitivity Index - Índice de Sensibilidad Internacional) de la trombotrombina utilizada:

$$INR = \left(\frac{TP \text{ del paciente}}{TP \text{ normal media}} \right)^{ISI}$$

El valor ISI de una trombotrombina dada es determinado analizando plasma normal y plasma del paciente tratado con coumadina con esa trombotrombina y con la Preparación de Referencia Internacional para la trombotrombina. Los valores del TP obtenidos con las dos trombotrombinas son graficados en una hoja logarítmica, trazando la línea de regresión ortogonal. La pendiente de esa línea, multiplicada por el valor ISI de la trombotrombina de referencia, representa el valor ISI de la trombotrombina por estudiar (3).

Se recomienda el uso de esta INR para evaluar en los pacientes el tratamiento con un antagonista de la vitamina K (6, 8).

3/ PRINCIPIO DEL TEST

El principio del test consiste en utilizar la trombotrombina cálcica para medir el tiempo de coagulación del plasma de un paciente y compararlo con el de un estándar normal.

La prueba mide conjuntamente la actividad del factor de coagulación II (protrombina), del factor V (proacelerina), del factor VII (proconvertina), del factor X (factor de Stuart) y del factor I (fibrinógeno).

4/ COMPOSICIÓN DEL KIT

Dentro del envase se adjunta un inserto con código de barras. Este código de barras contiene la siguiente información: número de lote, referencia del kit, referencia del reactivo, fecha de caducidad, valores de calibración y valor ISI.

Si los resultados del TP se mencionan como porcentajes (%) de los valores normales, con este código de barras ya no es necesario utilizar un calibrador para calibrar el TP con analizadores de la línea de STA®, dado que el reactivo STA® - Néoplastine® CI Plus se encuentra precalibrado con este fin.

- **Reactivo 1:** STA® - Néoplastine® CI Plus, trombotrombina liofilizada preparada a partir de tejidos cerebrales frescos de conejo. El valor ISI de STA® - Néoplastine® CI Plus, determinado en relación con un estándar secundario de la RBT (rabbit brain thromboplastin - trombotrombina de cerebro de conejo) con instrumentos de la línea STA®, está indicado en el inserto con código de barras incluido en la caja. El reactivo STA® - Néoplastine® CI Plus contiene un inhibidor específico de la heparina. Cualquier prolongación del tiempo de protrombina estará relacionado, por lo tanto, con una deficiencia real de los factores II, V, VII, X y/o fibrinógeno (ver sección 11).
- **Reactivo 2:** solvente que contiene calcio, 5 ml por vial (REF 00606) ó 10 ml por vial (REF 00667).

El Reactivo 2 contiene sulfato de níquel. A la concentración a la que se presenta (< 0,1 %), este reactivo se clasifica como irritante.
 R43: Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.
 S37: Usense guantes adecuados.

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. Sólo para uso diagnóstico *in vitro*. Estos reactivos sólo deben ser utilizados por personal autorizado del laboratorio. Los residuos se eliminarán con arreglo a la reglamentación local vigente. Los estuches STA® - Néoplastine® CI Plus están indicados en 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 verificar 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 introducir las en los viales de reactivos. Además, descontaminarlas una vez por semana conforme al siguiente procedimiento:
 - isumergir 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 los exámenes de hemostasis.

- Obtención de sangre sobre solución de citrato trisódico 0,109 M: 1 vol. de citrato por 9 vol. de sangre.
- Centrifugación: 15 minutos a 2000-2500 g.
- Conservación del plasma: 8 horas a 20 ± 5 °C (7).
No conservar el plasma entre 2-8 °C (2).

7/ CONSERVACIÓN Y PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

- **Preparación**
 Transferir el contenido completo de un vial de Reactivo 2 (R2) en un vial de Reactivo 1 (R1) del mismo kit. Dejar reposar el reactivo reconstituido a temperatura ambiente (18-25 °C) durante 30 minutos. Agitar suavemente el vial con Reactivo 1 hasta obtener una suspensión homogénea. Introducir entonces una barra de agitación (REF 27425) dentro del vial, colocar un STA® - Reducer REF 00797 (STA® - Néoplastine® CI Plus ⑤) o REF 00801 (STA® - Néoplastine® CI Plus ⑩) e instalar la tapa perforada.
- **Conservación**
 Cuando se conservan a 2-8 °C, los reactivos en viales intactos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja.

Una vez reconstituido, el Reactivo 1 es estable:

- con la barra de agitación, STA® - Reducer y tapa plástica perforada instalados:
 - 48 horas en STA Compact® y STA-R®
 - 4 días en STA Satellite®
- en su vial con tapa original (retirar el STA® - Reducer): 8 días a 2-8 °C (REF 00606).

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 propia estabilidad conforme al uso que haga. La misma no debe exceder los valores indicados que han sido obtenidos en condiciones controladas. Cuando estén almacenados a 2-8 °C, atemperar los reactivos durante 30 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C).

8/ REACTIVOS Y MATERIAL AUXILIARES

- **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 línea STA® que puede utilizar estos reactivos.
- Barra de agitación (REF 27425).
- STA® - mini Reducer (REF 00797) o STA® - maxi Reducer (REF 00801).
- Equipamiento habitual en los laboratorios de análisis médicos.

9/ PROCEDIMIENTO

Remitirse a los capítulos correspondientes del "Manual del Operador", en particular los relacionados con la carga y el control de calidad.

9.1. Calibración

Los valores precalibrados del TP son idénticos para todos los viales de cada lote. Al utilizar por primera vez los parámetros de precalibración suministrados por el código de barras del inserto, verificar que las condiciones locales (p. ej., obtención de muestras) son tales que los resultados obtenidos con este sistema de reactivos precalibrados sean idénticos a los obtenidos con el procedimiento de calibración propio del laboratorio.

Para ingresar los datos de calibración en el analizador, leer el código de barras impreso en el inserto utilizando el lector de código de barras del instrumento. Los datos de calibración serán validados para el lote que se utiliza una vez que se hayan determinado los dos niveles de control del TP (ya sea con STA® - Coag Control [N] + [P] o con STA® - System Control [N] + [P]). La curva de calibración del TP puede ser examinada en la pantalla del analizador, en el menú "Calibración" (ver el "Manual del Operador").

9.2. Plasmas a testar

Los plasmas a testar se utilizan puros. Introducirlos en el instrumento (ver el "Manual del Operador" del aparato utilizado). Seleccionar el(los) test(s) a efectuar en los plasmas de pacientes.

9.3. Controles

Estos controles son necesarios para verificar la exactitud y la reproducibilidad de los resultados. Utilizar los estuches STA® - Coag Control [N] + [P] o con STA® - System Control [N] + [P]. Preparar los reactivos de control y leer la información contenida en el código de barras impreso en su respectivo inserto, transfiriéndola al instrumento. Los reactivos se utilizan sin diluir.

9.4. Análisis

Para la realización de la dosificación, seguir los protocolos descritos en los "Standardized Operating Procedures" del instrumento. La determinación del TP en el plasma por estudiar es realizada automáticamente por el analizador apenas se cargan las muestras.

10/ RESULTADOS

El valor del TP del plasma por analizar es visible, en la unidad seleccionada por el operador, en la pantalla "Test Panel/Test Status" (Panel de prueba/Estado de la prueba) del instrumento (ver el "Manual del Operador"). El resultado debe interpretarse en función del estado clínico y biológico del paciente.

Verificar que los valores obtenidos para los controles se encuentran dentro del rango establecido en los insertos que se incluyen en la caja de control. Si no es el caso, asegurarse del buen funcionamiento de todo el sistema: condiciones operativas, reactivos, plasmas a analizar, etc. Si es necesario, repetir las muestras.

11/ LIMITACIONES

- **Muestra**
 La más leve coagulación (microcoágulos) inducirá un acortamiento considerable de los tiempos medidos (activación autocatalítica de todos los factores), mientras que la coagulación más generalizada prolongará los tiempos para la formación de coágulos porque consumirá factores y fibrinógeno.

No mantener el plasma a 2-8 °C porque en este rango de temperatura el factor VII puede ser activado por el sistema caliceinico (2).

- **Anticoagulante**
 Mantener la ratio de volumen de 1:9 entre anticoagulante/muestra de sangre. Si hay cualquier variación importante en el hematocrito, modificar consecuentemente la cantidad de anticoagulante.
- **Heparinas**
 La prueba STA® - Néoplastine® CI Plus es insensible a niveles de heparina no fraccionada de hasta 1 UI/ml y niveles de heparina de bajo peso molecular de hasta 1,5 anti-Xa UI/ml.
- **Inhibidores de la trombina**
 Los inhibidores de la trombina (p. ej., hirudin, argatroban, etc.) presentes en la misma muestra por analizar pueden prolongar el tiempo de protrombina para esa muestra.

12/ VALORES NORMALES

Los valores normales varían entre un laboratorio y otro, dependiendo de los reactivos, los instrumentos y la técnica. De modo que cada laboratorio debe determinar sus propios valores esperados sobre la base de la técnica y los instrumentos que ha utilizado.

Si los resultados del TP se expresan en porcentaje de la actividad normal, los valores normales esperados deberán ser superiores a 70 % (5). Los valores por sobre 100 % no tienen significatividad patológica.

13/ TRATAMIENTO CON ANTAGONISTAS DE LA VITAMINA K

- Los antagonistas de la vitamina K deprimen los niveles plasmáticos de los factores II (protrombina), VII (proconvertina), X (factor de Stuart) e IX (factor antihemofílico B).
- Para evaluar un tratamiento con antagonistas de la vitamina K, remitirse a las recomendaciones actuales.

14/ CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

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

Muestra	Reproducibilidad intra-serie		Reproducibilidad inter-serie	
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
n	21	21	10	10
\bar{X} (s)	13,6	22,7	15,1	29,4
SD (s)	0,10	0,12	0,22	0,46
CV (%)	0,7	0,5	1,5	1,6

BIBLIOGRAFÍA

1. CAEN J., LARRIEU M.J., SAMAMA M.: "L'hémostasie. Méthodes d'exploration et diagnostic pratique". Paris: L'Expansion scientifique, 344-347, 1975.
2. GJONNAESS H., FAGERHOL M.K.: "Studies on coagulation and fibrinolysis in pregnancy". Acta Obstet. Gynecol. Scand., **54**, 363-367, 1975.
3. BEESER H.: "Critical evaluation of the so far experience using the WHO model of prothrombin time calibration and outlook for further development". Haemostasis, **18**, suppl. 2, 181-182, 1988.
4. VAN DEN BESSELAAR A.M.H.P.: "The significance of the international normalized ratio (INR) for oral anticoagulant therapy". JIFCC, **3**, 4, 146-153, 1991.
5. SAMPOL J., ARNOUX D., BOUTIERE B.: "Manuel d'hémostasie". Paris: Editions scientifiques et médicales Elsevier, 147-163, 1995.
6. BCSH: "Guidelines on oral anticoagulation: third edition". Br. J. Haematol., **101**, 374-387, 1998.
7. NEOFTISTOS D., OROPEZA M., TS'AO C-H.: "Stability of plasma for add-on PT and APTT tests". Am. J. Clin. Pathol., **109**, 6, 758-763, 1998.
8. SCHVED J.F., DE MOERLOOSE P., JUDE B., TOULON P.: "Utilisation des antivitamines K en pratique médicale courante". Sang Thromb. Vaiss., **12**, Recommandations du Groupe d'Etudes sur l'Hémostasie et la Thrombose (GEHT), 3rd edition, 26-39, 2000.