

APTT-EA liquid

(es) Español

REF	Contenido
C01130	- APTT-EA liquid (5x 8 mL)
C01130SV	- APTT-EA liquid (1x 8 mL)
C14130	- APTT-EA liquid (2x 5 mL) + Calcium Chloride, 0.020M (2x 5 mL)

Sólo para uso diagnóstico profesional in vitro.

USO PREVISTO

El APTT-EA es un líquido listo para usar, reactivo de cefaloplastina activado para la determinación de tiempo parcial de tromboplastina activado. Es una preparación fosfolípida derivada de cerebro de conejo con ácido elálgico como activador.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

Detener un sangrado depende de tapones de plaqueta primarios formados a lo largo de un coágulo estable de fibrina. La formación de este coágulo incluye la interacción secuencial de una serie de proteínas de plasma de manera altamente ordenada y compleja y la interacción de estas redes con plaquetas de sangre y materiales liberados de los tejidos.

El tiempo parcial de tromboplastina activado se prolonga por una deficiencia de factores de coagulación de la vía intrínseca del mecanismo de coagulación humana como factor XII, XI, IX, X, V, II y fibrinógeno. La determinación del APTT ayuda a estimar anormalidad en la mayoría de los factores de coagulación de la vía intrínseca, incluyendo deficiencia congénita de los factores VIII, IX, XI y XII, así como detectar anticoagulantes de lúpulo y también es un procedimiento sensible para generar curvas de respuesta de heparina para monitorear terapia de heparina.

PRINCIPIO DE PRUEBA

La cefaloplastina activa los factores de coagulación de la vía intrínseca de los mecanismos de coagulación en presencia de iones de calcio.

El APTT se prolonga por una deficiencia de uno o más de los factores de coagulación de la vía intrínseca y en la presencia de los inhibidores de coagulación como heparina y anticoagulantes de lúpulo.

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Componentes:

1. Reactivo de cefaloplastina fosfolípida derivado de cerebro de conejo
2. Ácido elálgico
3. Timersal al 0.01 %

MATERIAL REQUERIDO PERO NO PROPORCIONADO

- Cloruro de calcio, por ej.:

REF	Nombre	Contenido
C03101	0.020 M Cloruro de calcio	5 x 10 mL

- Plasmas de control, por ej.:

REF	Nombre	Contenido
T955100	Plasma de control de coagulación normal	10 x 1 mL
T955101	Plasma de control de coagulación anormal	10 x 1 mL

- Un coagulómetro mecánico o foto-óptico, semi automatizado o completamente automatizado

Para método manual:

- Tiempo adecuado
- Parafilm o equivalente
- Pipeta de precisión, 0.1 ml
- Baño de agua o bloque de calor a 37°C
- Tubos de ensayo de vidrio de 12 x 75 mm

PREPARACIÓN DE REACTIVO

El reactivo está listo para usarse.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Condiciones: Cierre inmediatamente después de usarse
Almacenamiento: a 2-8°C
Estabilidad: hasta la fecha de caducidad, una vez abierto min. 3 meses a 2-8°C si no está contaminado y se encuentra bien tapado cuando no está en uso

¡No congelar!

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Debido a variaciones inter e intra laboratorio, los usuarios deben establecer su propio rango de población normal, así como rango normal y anormal.
- Se recomienda que se lleven a cabo controles con actividad de factor conocido, simultáneamente con cada serie de prueba de forma rutinaria.
- La mezcla incorrecta de sangre y citrato de tri sodio, el precalentamiento de plasma y reactivo insuficiente, así como los reactivos, objetos de cristal, etc. contaminados son fuentes potenciales de errores.
- Las diluciones de heparina incorrectas también son fuentes potenciales de errores
- El plasma oxalato puede inducir tiempos de coagulación prolongados.
- El tiempo de coagulación de pacientes en terapia anticoagulante depende del tipo y dosis de anticoagulante y la diferencia de tiempo entre la muestra recolectada y la última dosis.
- Las anomalías del factor de coagulación VII y XIII y las plaquetas no se detectan por este método.
- Para equipo automatizado, se recomienda ampliamente que el equipo se maneje con apego estricto a la metodología de fabricación.
- En el monitoreo de heparina, el tiempo de recolección de muestra de sangre es importante, ya que la vida media in vivo promedio de la heparina es de

aproximadamente 1.5 horas. Cuando se administra vía intravenosa tiene un efecto anticoagulante inmediato, pero su eficacia disminuye rápidamente con el tiempo.

- Platelet factor IV, un factor neutralizador de heparina puede liberarse debido a agregación de plaquetas o daño. Con el objetivo de evitar este fenómeno in vitro, la muestra debe recolectarse con un mínimo de trauma.
- Se observa una disminución en el tiempo APTT en hombres en terapia de estrógenos y suministro oral de anticonceptivos en mujeres.
- La cristalería y las cubetas usadas en la prueba deben estar completamente limpias y libres de cualquier resto de ácidos/álcalis o detergentes.

RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

- No se requiere preparación especial del paciente previa a la recolección de muestra con técnicas autorizadas. Retire la sangre sin estasis venosa indebida y sin formación de espuma en una jeringa plástica ajustada con una aguja corta de 19 a 20 SQG. La venipuntura debe ser "limpia" y, si hay cualquier dificultad, tome una jeringa nueva, retirando la aguja de la jeringa.
- Inmediatamente mezcle 9 partes de sangre fresca recolectada con 1 parte de citrato de tri sodio (0.11mol/L, 3.2%).
- Centrifugue inmediatamente por 15 minutos a aproximadamente 1500 g.
- Transfiera el plasma a un tubo de ensayo limpio.
- El plasma debe probarse dentro de las tres horas posteriores a la recolección de sangre.
- Para la determinación de la heparina, debe usarse plasma de plaqueta deficiente, por lo tanto se requiere mayor tiempo de centrifugación.

Recolección de FNP

- Prepare un banco de plasma (FNP) de sangre fresca recolectada de, al menos cinco donadores sanos normales y procese como se menciona previamente. El plasma debe probarse dentro de las primeras tres horas de la recolección de sangre.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Método manual:

Antes de usarlo, el reactivo debe mezclarse bien con movimiento suave. No agite.

Aspire suficiente reactivo de la ampolla en un tubo completamente limpio y seco por requerimientos inmediatos de la prueba (Se prefieren tubos plásticos). Precaliente el reactivo y la muestra a 37°C.		
Pipeta en tubos de ensayo	Muestra	Plasma de referencia
Muestra (precalentada a 37°C)	100 µl	-
Plasma de referencia	-	100 µl
Reactivo APTT	100 µl	100 µl
Agite el tubo brevemente para mezclar el reactivo y el plasma; coloque el tubo a 37°C por 3 a 5 minutos. Luego agregue obligatoriamente:		
Cloruro de calcio (pre calentado a 37°C)	100 µl	100 µl
Inicie un cronómetro simultáneamente e incube por 20 segundos a 37°C. Después de la incubación, mueva suavemente hacia adelante y hacia atrás hasta que se forme un coágulo de gel. Detenga el reloj y registre el tiempo en segundos.		

Repita los pasos 4-6 para duplicar una prueba usando el mismo plasma de prueba.

Encuentre el promedio de los valores de prueba duplicados. Este es el tiempo parcial activado de tromboplastina (APTT del plasma del paciente).

DiaCheck C1, C2 y C4 usan el método de cuarto. Para el método de cuarto: use ¼ de cada volumen.

Para otros instrumentos, revise el manual del operador y a la hoja de aplicación específica del instrumento. La aplicación de Coalyser está disponible a solicitud.

Método de curva de calibración (Para determinación de concentración de heparina)

1. Heparina diluida (como se usa para tratamiento) con solución salina fisiológica a una concentración de U/ml.
2. Mezcle 0.2 ml de 10 U/ml de heparina diluida con 1.8 ml de plasma de referencia para lograr un estándar de heparina de concentración de 1 U/ml.
3. Diluya el estándar de heparina como se prepare antes (1 U/ml) con plasma de referencia como sigue:

Tubo de ensayo no.	Estándar de heparina (1 U/ ml) en ml	Plasma de referencia en ml	Concentración de heparina (U/ ml)
1	0.5	-	1
2	0.4	0.1	0.8
3	0.3	0.2	0.6
4	0.2	0.3	0.4
5	0.1	0.4	0.2
6	0.1	0.9	0.1
7	-	0.5	0.0

4. Extraiga con pipeta 0.1 ml de cada una de las siete diluciones de heparina y colóquela en tubos de ensayo limpios.
5. Agregue 0.1 ml de reactivo APTT-ea en cada tubo de ensayo.
6. Mezcle bien e incube cada tubo de ensayo a 37°C por exactamente 3 minutos antes de la prueba.
7. Agregue 0.1 ml de cloruro de calcio e inmediatamente mezcle bien (precalentado a 37°C) a cada tubo de ensayo de uno por uno e inicie simultáneamente el cronómetro.
8. Agite el tubo hacia adelante y hacia atrás y detenga el cronómetro en cuanto el primer filamento de fibrina sea visible e inicie la formación de gel/coágulo. Registre el tiempo en segundos.
9. Repita los pasos 4-8 para cada dilución para duplicar la prueba y encuentre el promedio de los valores de prueba duplicados.
10. Grafique la media de la determinación doble en "segundos", contra cada concentración de heparina usando un papel para gráfica APTT-ea.
11. Los tiempos de coagulación (APTT) de las muestras de prueba pueden interpolarse contra la concentración de heparina para determinar la concentración de heparina de la muestra en U/ml.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Cálculo

1. El resultado puede reportarse directamente en términos de determinación doble del APTT del tiempo de coagulación de plasma. Se sugiere que los resultados se

reporten a los médicos en conjunto con el rango normal.

2. Radio como sigue:

$$R \text{ (radio)} = \frac{\text{APTT del plasma del paciente (en segundos)}}{\text{APTT de FNP (en segundos)}}$$

3. Curva de calibración:

Se puede obtener la concentración de la heparina en la muestra de la prueba directamente de la curva de calibración del líquido APTT-EA interpolando el tiempo de coagulación del plasma de prueba contra la concentración de heparina en U/ml.

CONTROL DE CALIDAD Y CALIBRACIÓN

Para mantener resultados de prueba consistentes, se recomienda que los plasmas control se evalúen en intervalos regulares. Se recomienda el plasma control de coagulación normal Dialab y el plasma control de coagulación anormal para el líquido APTT-S. Las series de los rangos específicos de lote para Coalyser y DiaCheck pueden encontrarse en el IFU de los controles.

Para otros coagulómetros, cada laboratorio debe establecer un rango control para determinar la variación permitida en el desempeño cotidiano de la prueba, así como intervalos adecuados para analizar controles de acuerdo con una buena práctica de laboratorio.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

Precisión

Plasma normal (n=10)	Muestra 1			Muestra 2		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3
Media (seg)	27.99	27.5	27.8	26.08	26.54	26.4
SD	0.27	0.28	0.21	0.27	0.18	0.28
CV (%)	0.97	1.03	0.76	1.05	0.67	1.06
Plasma anormal (n=10)	Muestra 1					
	Lote 1	Lote 2	Lote 3			
Media (seg)	60.07	60.09	60.1			
SD	0.12	0.17	0.18			
CV (%)	0.19	0.28	0.30			

Sensibilidad de factor

Curva de calibración del factor VIII

Factor VIII [%]	Lote 1
	Tiempos medios de coagulación (seg)
100	45.2
50	54.5
25	60.4
12.5	67.4
6.25	74.1
3.1	81.3

Curva de calibración del factor IX

Factor IX [%]	Lote 1
	Tiempos medios de coagulación (seg)
100	49.2
50	57.5
25	63.7
12.5	70.1
6.25	76.3
3.1	85.5

Comparación de método

Plasmas normales	DIALAB Lote 1	DIALAB Lote 2	Actina Siemens Lote 1
Tiempos medios de coagulación (seg)	25.9	26.1	27.0
	28.1	28.7	28.9
	25.8	26.2	26.7
	28.5	28.7	28.0
	26.5	27.1	26.7
	27.4	26.9	27.1
Plasmas anormales	DIALAB Lote 1	DIALAB Lote 2	Actina Siemens Lote 1
Tiempos medios de coagulación (seg)	42.1	42.5	42.8
	39.5	40.1	39.5
	50.4	49.7	52.3
	45.7	46.1	47.5

TRAZABILIDAD

Ya que no hay un estándar internacional para APTT con el cual correlacionar, este punto no aplica.

VALORES ESPERADOS

Los valores esperados para individuos sanos pueden variar de laboratorio a laboratorio, dependiendo de las técnicas e instrumentación usadas. En un estudio de 96 individuos aparentemente sanos usando reactivo líquido APTT-EA en un instrumento opto mecánico, se obtuvo un rango de referencia de 22-37 segundos. Cada laboratorio debe establecer un rango de referencia para un reactivo con instrumento, la recolección de la muestra y las técnicas de prueba en ese laboratorio.

LIMITACIONES

- El producto está diseñado para desempeñarse como se describe en la etiqueta y empaque incluido. El fabricante se deslinda de cualquier garantía de uso y venta para cualquier otro propósito.

MANEJO DE DESECHOS

Favor de referirse a los requisitos legales locales.

LITERATURA

- Biggs, R. ed.: Human Blood Coagulation, Haemostasis and thrombosis, Blackwell, Scientific Publications Oxford, England, 1972.
- Hoffmann, J.J.M.L. and Neulendijk P. N.: Thrombos. Haemosta. (Stuttgart) 39, 640 (1978).
- CRC. Handbook Series in Clinical Laboratory, Science, Section 1: Haematology, Volume III, 1980. CRC Press, INC. Boca Raton, Florida.
- NCCLS guideline H21-A3, Vol.18, No.20.
- Journal Of Thrombosis and Haemostasis 10: 2338-2434, Original article: APTT reagent with ellagic acid as activator shows adequate lupus anticoagulant sensitivity in comparison to silica-based reagent

SÍMBOLOS USADOS

Símbolo

Cont.

Descripción

Contenido



2°C

