

**Aplicación**

Para la detección de Anticoagulantes Lúpicos en plasma humano citratado en los Sistemas de Coagulación IL con el uso del test de screening (SCT Screen) y el test de confirmación (SCT Confirm), ambos reactivos son sensibles a anticoagulos dependientes de fosfolípidos.

**Principio**

Se conoce con el nombre de Anticoagulante Lúptico (AL) a un grupo heterogéneo de anticuerpos que van dirigidos contra fosfolípidos de carga negativa o contra complejos formados entre fosfolípidos y proteínas (por ejemplo, beta-2-glicoproteína 1 o factores de la coagulación como la Protrombina). Estos anticoagulantes interfieren con las pruebas de coagulación en las que participan los fosfolípidos tales como el Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TPPA), el Test de Veneno de Víbora de Russell Diluido (TVVRD) y otras (KCT y SCT). Pacientes con AL tienen un mayor riesgo de sufrir manifestaciones trombóticas y abortos de repetición.<sup>1,4</sup>

SCT Screen y SCT Confirm son reactivos desarrollados para simplificar y estandarizar la detección del AL en evaluaciones clínicas.<sup>5,7</sup> SCT Screen tiene una concentración baja en fosfolípidos por lo que el reactivo es altamente sensible a la presencia del AL alargando el tiempo de coagulación en presencia de éste. Una alta concentración de fosfolípidos en el SCT Confirm neutraliza el AL y acorta los tiempos de coagulación.

Silica Clotting Time, en presencia de calcio, activa directamente la vía intrínseca de la coagulación. SCT Screen y SCT Confirm no son alterados por deficiencias en el Factor VII o inhibidores. No existe interferencia por niveles de heparina hasta 0,4 U/mL ya que es neutralizada por Polibrene. El uso de la ratio del Screen y del Confirm permite a SCT ser insensible a la warfarina presente en las muestras tratadas con la misma.<sup>8</sup> Como conclusión, SCT Screen y SCT Confirm son técnicas más específicas que el TPPA o el TP diluido para la detección del AL.<sup>9</sup>

**Composición**

El kit Silica Clotting Time consta de:

- Sc** SCT Screen (Ref. 0020004821): 3 x 5 mL viales de una preparación líquida que contiene sílica coloidal, tampón con conservante.
- Cf** SCT Confirm (Ref. 0020004822): 3 x 5 mL viales de una preparación líquida que contiene sílica coloidal, fosfolípidos sintéticos, tampón con conservante.
- Ca** SCT CaCl<sub>2</sub> (Ref. 0020004823): 3 x 10 mL viales de cloruro cálcico (0,025 mol/L) con Polibrene y conservante.

**PRECAUCIÓN:**

Indicaciones de Peligro: **Ninguna**  
Frases de Riesgo: **Ninguna**  
Frases de Seguridad: **Ninguna**  
El cloruro cálcico contiene azida sódica que puede reaccionar con tuberías metálicas dando lugar a azidas explosivas. Tomar las precauciones adecuadas para su deshecho. Este reactivo es para diagnóstico *in vitro*.

**Preparación**

**SCT Confirm:** Agitar la dispersión de Sílica vigorosamente durante aproximadamente 15 segundos o en un agitador tipo vortex durante 5 segundos antes de su uso. En usos posteriores y después del mezclado inicial solamente se requiere mezclar por inversión del vial 3-4 veces.

**SCT Screen:** Añadir 50 µL del reactivo SCT Confirm mezclado a un vial de reactivo SCT Screen. Agitar la dispersión de Sílica vigorosamente durante aproximadamente 15 segundos o en un agitador tipo vortex durante 5 segundos antes de su uso. En usos posteriores y después del mezclado inicial solamente se requiere mezclar por inversión del vial 3-4 veces.

**SCT CaCl<sub>2</sub>:** Mezclar el vial por inversión antes de usar.

**Conservación y estabilidad de los reactivos**

Los reactivos que no hayan sido abiertos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el vial si se mantienen a 2-8°C.

**SCT Screen y Confirm:** El reactivo abierto es estable 20 días a 2-8°C en el vial original o 5 días a 15°C en los sistemas de Coagulación de IL. No requiere agitación. No congelar.

**SCT CaCl<sub>2</sub>:** El reactivo abierto es estable 20 días a 2-8°C en el vial original.

Para obtener una estabilidad óptima de los reactivos, sugerimos que acabado el trabajo, conserve los reactivos en su vial original almacenado en nevera entre 2 y 8°C.

**Métodos de ensayo**

Seguir las instrucciones de la técnica de acuerdo al Manual del Operador de los Instrumentos IL o bien al Manual de Aplicaciones.

**Recolección, preparación y manipulación de las muestras**

Recoger nueve partes de sangre recién extraída por punción venosa y una parte de anticoagulante citrato trisódico. Para la recolección, manejo y conservación del plasma seguir las recomendaciones del documento H21-A5 de la CLSI.<sup>10</sup> La congelación de los plasmas puede liberar fosfolípidos procedentes de las plaquetas los cuales pueden acortar los tiempos de coagulación del SCT Screen. Se aconseja una doble centrifugación o una filtración con filtros de 0,2 micrones para eliminar las plaquetas antes de congelar.

**Bibliography / Literatur / Bibliographie / Bibliografie / Bibliografía / Bibliografia / Literatur / Literaturförteckning**

1. Love PE, Santoro SA. Antiphospholipid Antibodies: Anti Cardiolipin and the Lupus Anticoagulant in Systemic Lupus Erythematosus (SLE) and in Non-SLE Disorders. Ann. Int. Med. 1990; 112: 682-698.
2. Eimer T, Triplett DA, Taberner D, Machin SJ. Guidelines for Testing and Revised Criteria for Lupus Anticoagulants. Thromb. Haemostas. 1991; 65: 320-322.
3. Rauch J, Tannebaum M and Janoff AS. Distinguishing Plasma Lupus Antifactor Antibodies using Hexagonal Phase II Phospholipids. Thromb. Haemostas. 1989; 62: 892-896.
4. Feinstein DL. Lupus Anticoagulant, Thrombosis and Fetal Loss. N. Eng. J. Med. 1985; 313: 1248-1350.
5. Chantarangkul V, Tipod A, Arbini A, Mannucci PM. Silica clotting time (SCT) as a screening and confirmatory test for detection of the lupus anticoagulants. Thromb. Res. 1992; 67:355-65.
6. Chantarangkul V, Tipod A, Clerici M, Bressi C, Mannucci PM. Laboratory Diagnosis of Lupus Anticoagulants: Effect of Residual Platelets in Plasma, Assessed by Stactol LA and Silica Clotting Time. Thromb. Haemost. 2002; 87:854-6.

**Reactivos adicionales y plasmas de control**

Los siguientes reactivos no se suministran con el kit y deberán pedirse por separado.

	Américas y Pacific Rim Ref.	Europa Ref.
Control Normal	0020003120 / 0020003110	0020003110
Control AL Positivo	0020012500	0020012500
Control AL Negativo	0020012600	0020012600

**Control de Calidad**

Se recomienda el uso de control normal y de control Lupus para realizar un completo programa de Control de Calidad.<sup>11</sup> Cada laboratorio debe establecer su propia media y desviación estándar; asimismo establecer un programa de Control de Calidad para monitorizar los resultados de su laboratorio. Los controles deben ser usados como mínimo una vez dentro del turno de 8 horas, de acuerdo a la normativa de Buenas Prácticas en el Laboratorio. Referirse al Manual del Operador para información adicional. Consultar la publicación de Westgard y col. para una identificación y resolución de situaciones anormales del Control de Calidad.<sup>12</sup>

**Resultados**

Para calcular las Ratios del SCT Screen y del SCT Confirm se aconseja el método siguiente:

1. Para cada instrumento y para cada lote específico de SCT Screen SCT Confirm se debe determinar el Rango de Normalidad según documento C28-A3, Vol. 28, No. 3 del CLSI.<sup>13</sup>
2. Calcular la Media de cada Rango de Normalidad en segundos.
3. La Media de cada Rango de Normalidad se usará como denominador común para el cálculo de las Ratios.

**SCT Screen**

1. El resultado en segundos de cada paciente se divide por la Media del Rango de Normalidad del SCT Screen.  

$$\text{Ratio SCT Screen} = \frac{\text{Resultado del paciente (segundos)}}{\text{Media del Rango de Normalidad (segundos)}}$$

**SCT Confirm**

1. El resultado en segundos de cada paciente se divide por la Media del Rango de Normalidad del SCT Confirm.  

$$\text{Ratio SCT Confirm} = \frac{\text{Resultado del paciente (segundos)}}{\text{Media del Rango de Normalidad (segundos)}}$$
2. La Ratio del SCT Screen se divide por la Ratio del SCT Confirm para obtener la Ratio Normalizada de SCT.  

$$\text{Ratio Normalizada SCT} = \frac{\text{Ratio del SCT Screen}}{\text{Ratio del SCT Confirm}}$$

**Interpretación**

1. El resultado final se expresa como Ratio Normalizada del SCT:

**Sistema**

Familia ACL TOP <sup>®</sup>	Ratio > 1,16	Presencia de AL
ACL Futura/ACL Advance	Ratio > 1,24	Presencia de AL
ACL ELITE/ELITE PRO/8/9/10000	Ratio > 1,20	Presencia de AL

2. Si la ratio es <1,16 (ACL TOP), <1,24 (ACL Futura/ACL Advance) o <1,20 (ACL ELITE/ELITE PRO/8/9/10000) y los tiempos de coagulación de SCT Screen y SCT Confirm están prolongados, se aconseja realizar estudios de mezcla para investigar deficiencias de factores o presencia de inhibidores. Si el test de mezcla está todavía prolongado indica la presencia en el plasma de algún otro inhibidor diferente al AL.

**Limitaciones/Inferencias**

Concentraciones de Bilirrubina hasta 30 mg/dL, Tricloroédidos hasta 500 mg/dL y Heparina hasta 0,4 U/mL no alteran los resultados del SCT Screen y del SCT Confirm en los sistemas ACL Futura/ACL Advance y ACL ELITE/ELITE PRO/8/9/10000. No analizar muestras hemolizadas.

Concentraciones de bilirrubina hasta 30 mg/dL, triglicéridos hasta 850 mg/dL, Heparina UF hasta 0,5 U/mL y Heparina LMW hasta 1,0 U/mL no alteran los resultados del SCT Screen/SCT Confirm en el Familia ACL TOP. No analizar muestras hemolizadas.

Los ensayos para el estudio de AL basados en distintas metodologías pueden tener diferentes sensibilidades a algunos subgrupos de AL. Por ello, al menos dos pruebas de screening, basadas en diferente metodología, deberían realizarse antes de excluir la presencia de AL.<sup>13</sup>

**Valores esperados**

Se realizó un estudio del rango de normalidad utilizando los kits SCT Screen y SCT Confirm en los Sistemas de Coagulación de IL.

Sistema	N	Rango (unidades)
Familia ACL TOP	118	0,84 - 1,16 (Ratio Normalizada de SCT)
ACL Futura/ACL Advance	120	0,70 - 1,24 (Ratio Normalizada de SCT)
ACL ELITE/ELITE PRO/8/9/10000	124	0,75 - 1,20 (Ratio Normalizada de SCT)

Los rangos fueron calculados siguiendo las recomendaciones del documento C28-A3 de la CLSI.<sup>13</sup> Estos resultados fueron obtenidos usando el mismo lote de reactivos. Debido a las variables que pueden afectar los tiempos de coagulación, cada laboratorio debe verificar su propio rango de normalidad.

7. Tipod A, Chantarangkul V, Clerici M, Mannucci PM. Laboratory Diagnosis of Lupus Anticoagulants for Patients on Oral Anticoagulant Treatment. Performance of Diluted Russell Viper Venom Test and Silica Clotting Time in Comparison with Stactol LA. Thromb. Haemost. 2002; 86:583-586.
8. Tipod A, Chantarangkul V, Clerici M, Negri B, Gallì M, Mannucci PM. Laboratory control of oral anticoagulant treatment by the INR system in patients with the antiphospholipid syndrome and lupus anticoagulant. Results of a collaborative study involving nine commercial reagents. Brit. J. Haematol. 2001; 115:672-8.
9. Thilagaranjan P, Pengo V, Shapiro SS. The use of the Dilute Russell's Viper Venom Time for the Diagnosis of Lupus Anticoagulants. Blood Coag. Fibrinol. 1990; 1: 259-266.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline - Fifth Edition, CLSI Document H21-A5; Vol. 28 No. 5
11. Zucker S, Cathey MH, West B. Preparation of Quality Control Specimen for Coagulation. Am. J. Pathol. 1970; 53: 924-927.

**Características técnicas**

La precisión intraserie y total (serie a serie y día a día) fue realizada en diferentes series y utilizando muestras normales y anormales.

Familia ACL TOP	Media Ratio Normalizada de SCT	CV % (Intraserie)	CV % (Total)
Muestra normal	1,1	3,1	4,3
Control AL Bajo	1,8	3,6	4,7
Control AL Alto	2,2	3,4	5,4
ACL Futura/ACL Advance	Media Ratio Normalizada de SCT	CV % (Intraserie)	CV % (Total)
Muestra normal	1,05	2,47	2,95
Control AL Bajo	1,90	4,05	6,00
Control AL Alto	2,77	5,24	5,60
ACL ELITE/ELITE PRO/8/9/10000	Media Ratio Normalizada de SCT	CV % (Intraserie)	CV % (Total)
Muestra normal	1,08	2,22	2,69
Control AL Bajo	2,25	2,49	3,47
Control AL Alto	3,16	4,27	5,25

**Correlación:**

En un estudio realizado, se analizaron 210 muestras de plasma citratado (120 normales y 90 patológicas), comparando el Kit de Silica Clotting Time con otros tests TVVRD comerciales, se obtuvieron los siguientes resultados en un ACL Advance. Las muestras fueron proporcionadas por un proveedor conocido el cual utiliza kits de ELISA comerciales para clasificar las muestras con lupus. En otro estudio de correlación realizado con el kit Silica Clotting Time en un ACL 10000 y en un ACL Advance (196 muestras de plasma citratado; 124 normales / 72 patológicas) y se obtuvieron los resultados siguientes:

Unidad	sistema	pendiente	intersección	r	Método de Referencia
Ratio Normalizada de SCT	Familia ACL TOP en ACL Advance	1,123	-0,092	0,988	SCT Screen/Confirm
Ratio Normalizada de SCT	ACL Futura/ACL Advance en ACL Advance	1,099	-0,086	0,874	LAC Screen/Confirm
Ratio Normalizada de SCT	ACL ELITE/ELITE PRO/8/9/10000	1,24	-0,22	0,965	SCT Screen/Confirm en ACL Advance

La diferencia de la pendiente entre el ACL ELITE/ELITE PRO 8/9/10000 y el ACL Futura/Advance se atribuye a las ratios de diferentes instrumentos.

**Muestras**

Muestras	ACL Futura/ACL Advance
AL (ACA, APA, ABR3GP1)	100% (30/30)
Muestras Normales	1% (1/120)
Deficiencia de Factores	6% (1/16)
Heparina (UFH y LMWH)	7% (1/14)
Warfarina	5% (1/20)
CID	0% (0/10)

En un estudio clínico de 206 muestras de plasma citratado (121 normales/85 patológicas), comparando el Kit de Silica Clotting Time (cut-off > 1,24) con un test TVVRD comercial (cut-off ≥ 1,20) en un ACL Futura, se determinó una Sensibilidad relativa del 92,4% (96% I.C. = 82,1-97,0) y una Especificidad relativa del 100% (96% I.C. = 97,6-100,0).

Todas las muestras con Anticoagulante Lúptico analizadas (n=48) como parte de este estudio, dieron ratios de SCT normalizados > 1,24.

La precisión y los datos de correlación se han obtenido usando lotes específicos de reactivos y de controles.

12. Westgard JO and Barry PL. Cost-Effective Quality Control: Managing the Quality and Productivity of Analytical Process. AACCP Press 1986.
13. Brandt JT, Triplett DA, Aving B, Schamer I. Criteria for the Diagnosis of Lupus Anticoagulants: An Update. Thromb. Haemostas. 1995; 74 (4): 1185-90.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline, Document C28-A3; Vol. 28 No. 3.

The Instrumentation Laboratory logo, Hemosil, ACL, ACL Futura, ACL ELITE and ACL TOP are trademarks of Instrumentation Laboratory Company and/or one of its subsidiaries or parent companies, and may be registered in the United States Patent and Trademark Office and in other jurisdictions.