

Aplicación

Test para la determinación cuantitativa del Tiempo de Trombina en plasma humano citratado en los Sistemas de Coagulación de IL.

Principio

El Tiempo de trombina es utilizado:

- para la valoración de la coagulación intravascular diseminada (CID)
- para la monitorización de la terapia anticoagulante con heparina y terapia trombolítica
- para el estudio de la presencia de productos de degradación de Fibrina/Fibrinógeno (PDF), anomalías del Fibrinógeno cualitativas y cuantitativas adquiridas o de origen genético y fibrinólisis aumentada.^{1,2}

El Fibrinógeno del plasma del paciente se transforma en Fibrina después de añadirle trombina bovina purificada midiéndose el tiempo requerido para la formación del coágulo.

Composición

El kit Thrombin Time consta de:

B Buffer (Cat. No. 0009758521): 1 x 9 mL vial de solución concentrada que contiene cloruro cálcico (0,5 Mo/L), tampón y conservante.

T Bovine thrombin (Cat. No. 0009758520): 4 x 2, 5 o 8 mL viales de Trombina bovina liofilizada (15 UNIH/vial) con albúmina bovina y tampón.

PRECAUCIÓN:

Bovine Thrombin:

Clase de peligro: ninguno

Indicaciones de peligro: ninguno

Consejos de prudencia: ninguno

Bovine Thrombin contiene material bovino. Todos los animals donantes provinieron de rebaños libres de BSE. El ganado fue sometido a una inspección de salud ante y post-mortem por un veterinario, y aparentemente estaba libre de material infeccioso y contagioso. Sin embargo, el material debería tratarse como potencialmente infeccioso.

Buffer:

Clase de peligro: Acústico crónico 3, H412

Indicaciones de peligro: H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Consejos de prudencia: P273: Evitar su liberación al medio ambiente. P501: Eliminar el contenido o el recipiente conforme a la legislación local/ regional/ nacional/ internacional.

Contiene azida sódica, que puede formar azidas explosivas en cañerías metálicas. Aplique unos procedimientos de desecho apropiados.

Todos los productos derivados de animales deberán manejarse como potencialmente infecciosos.

Este reactivo es para diagnóstico *in vitro*.

Preparación

Buffer: Diluir la cantidad necesaria de tampón concentrado 1:5 (1+4) con agua destilada tipo CLR según CLSI.³ Mezclar antes de su uso.

Bovine thrombin: Según sea el origen de la muestra y la aplicación analítica, disolver el contenido de cada vial con:

	Tampón Diluido	Concentración Trombina
Prueba de Screening	5,0 mL	3,0 UNIH/mL
	8,0 mL	1,9 UNIH/mL
Terapia heparina	2,0 mL	7,5 UNIH/mL

Cerrar el vial y homogeneizar suavemente. Asegurarse de la completa disolución del producto. Mantener el reactivo entre 15 y 25°C durante 30 minutos. Mezclar por inversión del vial antes de su uso. No agitar.

Conservación y estabilidad de los reactivos

Antes de ser reconstituidos el reactivo es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el vial, si se mantienen entre 2-8°C.

Tampón Diluido - Estabilidad después de su preparación: 1 mes a 15-25°C.

Trombina bovina - Estabilidad después de la reconstitución: 15 días a 2 y 8°C en el vial original, 8 horas a 15°C en los ACL Centrifugos, 8 horas a 15-25°C en los ACL 8000/9000/10000 o 24 horas a 15°C en los sistemas ACL Futura/ACL Advance y Familia ACL TOP®.

No requiere agitación.

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

Método de Ensayo

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

NOTA: Para evitar una posible efecto de contaminación por arrastre, el test Tiempo de Trombina debe ser procesado como Test Simple y posteriormente realizarse un ciclo de limpieza de las agujas en los ACL Centrifugos.

Recolección y Preparación 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 CLSI.⁴

Reactivos adicionales y plasmas de control

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

	América y Pacific Rim Nº Cat.	Europa Nº Cat.
Plasma de Calibración	0020003700	0020003700
Plasma Control Normal	0020003120/0020003110	0020003110
Control Anormal Bajo	0020003220/0020003210	0020003210
Agente de Limpieza	0009831700	0009831700

Control de Calidad

Se recomienda el uso de los controles de plasma normales y anormales de IL para realizar un completo programa de Control de Calidad.⁵ Tanto el Plasma Control Normal, como el Plasma Control Anormal Bajo, están diseñados específicamente para este programa. 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.⁶

Resultados

Los resultados del paciente se expresan en segundos y ratio. Referirse al Manual del Operador para información adicional.

Limitaciones/Interferencias

Los resultados del Tiempo de Trombina pueden ser alterados por varios fármacos de administración común y sucesivos análisis deben ser realizados para determinar la causa de los resultados anormales no esperados.

No existe interferencia en los sistemas ACL Futura/ACL Advance hasta los valores siguientes:

Preparación del reactivo	Hemoglobina	Triglicéridos	Bilirrubina
5 mL	500 mg/dL	1000 mg/dL	20 mg/dL
8 mL	500 mg/dL	500 mg/dL	20 mg/dL
2 mL	* 1000 mg/dL	10 mg/dL	

No existe interferencia en el Familia ACL TOP hasta los valores siguientes:

Preparación del reactivo	Hemoglobina	Triglicéridos	Bilirrubina
5 mL	500 mg/dL	*	24 mg/dL
8 mL	500 mg/dL	*	13 mg/dL
2 mL	*	*	7 mg/dL

* Este ensayo no puede llevarse a cabo si existe hemólisis y/o lipemia de la muestra.

Valores esperados

Se ha realizado un estudio del rango de normalidad utilizando el kit TT.

Ensayo Sistema N Rango (unidades)

5 mL	Familia ACL	43	11,0 - 17,8 (segundos)
	ACL Futura/ACL Advance	43	11,8 - 17,6 (segundos)
	Familia ACL TOP	120	10,3 - 16,6 (segundos)
8 mL	Familia ACL	43	16,0 - 26,1 (segundos)
	ACL Futura/ACL Advance	43	17,2 - 26,7 (segundos)
	Familia ACL TOP	119	15,8 - 24,9 (segundos)
2 mL	ACL Familia	43	4,9 - 6,9 (segundos)
	ACL Futura/ACL Advance	43	5,1 - 6,5 (segundos)
	Familia ACL TOP	120	4,8 - 7,2 (segundos)

Los rangos fueron calculados siguiendo las recomendaciones de la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC).⁷ Los resultados fueron obtenidos usando un mismo lote de reactivo. Debido a las variables que pueden afectar los tiempos de coagulación, cada laboratorio debe verificar su propio rango de normalidad.

Características técnicas

Precisión:

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

ACL Futura/ACL Advance	Media TT 2 mL (segundos)	CV % (Intraserie)	CV % (Total)
Control Normal	6,6	1,9	3,1
Control Anormal Bajo	9,7	2,3	3,9
Familia ACL TOP	Media TT 2 mL (segundos)	CV % (Intraserie)	CV % (Total)
Control Normal	7,0	2,3	3,8
Familia ACL	Media TT 5 mL (segundos)	CV % (Intraserie)	CV % (Total)
Control Normal	13,0	1,54	3,17
Control Anormal Bajo	20,3	2,71	3,75
ACL Futura/ACL Advance	Media TT 5 mL (segundos)	CV % (Intraserie)	CV % (Total)
Control Normal	16,4	2,1	3,7
Control Anormal Bajo	20,4	5,7	6,3
Familia ACL TOP	Media TT 5 mL (segundos)	CV % (Intraserie)	CV % (Total)
Control Normal	15,5	1,2	2,9
Control Anormal Bajo	19,2	1,8	3,0
Familia ACL	Media TT 8 mL (segundos)	CV % (Intraserie)	CV % (Total)
Control Normal	19,3	2,60	3,79
ACL Futura/ACL Advance	Media TT 8 mL (segundos)	CV % (Intraserie)	CV % (Total)
Control Normal	25,1	2,4	3,1
Control Anormal Bajo	30,1	6,0	6,2
Familia ACL TOP	Media TT 8 mL (segundos)	CV % (Intraserie)	CV % (Total)
Control Normal	23,5	1,4	4,3
Control Anormal Bajo	28,6	1,6	4,7

Correlación:

Ensayo	sistema	Pendiente	Intersección	r	Método de Referencia
TT (5 mL)	Familia ACL	0,972	0,514	0,989	Reactivo TT en ACL
TT (8 mL)	Familia ACL	0,981	0,128	0,975	Reactivo TT en ACL
TT (5 mL)	ACL Futura/ ACL Advance	0,968	1,22	0,930	HemosIL TT en ACL
TT (8 mL)	ACL Futura/ ACL Advance	0,891	3,79	0,860	HemosIL TT en ACL
TT (2 mL)	Familia ACL TOP	1,029	0,035	0,987	HemosIL TT en ACL Advance
TT (5 mL)	Familia ACL TOP	0,904	0,80	0,983	HemosIL TT en ACL Advance
TT (8 mL)	Familia ACL TOP	1,015	-1,34	0,980	HemosIL TT en ACL Advance

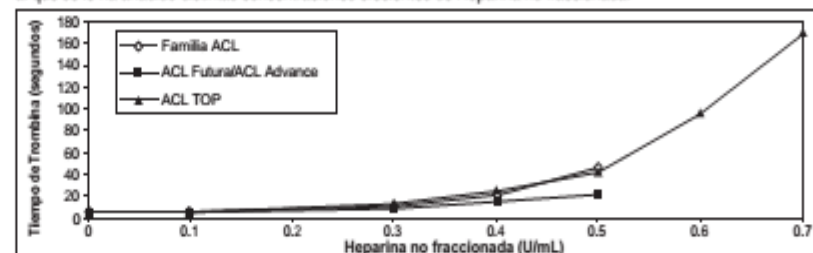
Estos resultados de precisión y correlación se obtuvieron utilizando lotes específicos de reactivos y controles.

Terapia con Heparina

Rango terapéutico: 0,2 - 0,4 U/mL

Ejemplo de la curva Dosis Heparina - Respuesta

La curva mostrada es solo un ejemplo obtenido utilizando un lote de reactivo TT con un pool de plasmas normales al que se le ha añadido distintas concentraciones crecientes de Heparina no fraccionada.



Debido a las variables que pueden afectar los tiempos de coagulación (por ejemplo el uso de diferentes tipos de heparinas), cada laboratorio debe establecer su propio rango terapéutico.

Para más información sobre el rango terapéutico y duración del tratamiento, referirse a las normativas locales.