

Determinación cuantitativa del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (APTT) IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Plasma citratado, un activador de contacto y fosfolípidos procoagulantes (tromboplastina parcial de origen animal) se mezclan e incuban a 37°C. El activador de contacto activa la vía intrínseca, incluyendo el kininógeno de alto peso molecular, la precalicreína, el Factor XI, y el Factor XII. Los fosfolípidos proporcionan una superficie para la interacción de los factores de la coagulación presentes en la muestra. Después de una incubación, una concentración adecuada de calcio es añadida, y se mide el tiempo transcurrido hasta la formación del coágulo. El calcio es imprescindible para la formación de un complejo para la activación de la cascada de coagulación (vía intrínseca) a partir del Factor XIa.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La prueba de tiempo de tromboplastina parcial activada (o APTT de las siglas en inglés) es uno de los más utilizados en los laboratorios de hemostasia. Este test se utiliza con diversos propósitos: screening preoperatorio, screening de deficiencias de factores de coagulación, screening de diversos inhibidores de factores de la coagulación (p.ej. anticoagulantes lúpicos), y para el control de la terapia anticoagulante con heparina.

El APTT determina la integridad de las vías intrínseca y común de la cascada de la coagulación. Representa el tiempo, en segundos, después de añadir a un plasma de paciente fosfolípidos, un activador de la vía intrínseca (sílica, celita, kaolina, ácido eláico, etc.) y calcio (para revertir el efecto del anticoagulante en el tubo de recogida).

El reactivo APTT se denomina "tromboplastina parcial" debido a que los fosfolípidos presentes no contienen factor tisular, como es el caso en el reactivo de tromboplastina para determinar el tiempo de protrombina (PT). Como consecuencia, deficiencias o presencia de inhibidores de factores de coagulación de las vías intrínsecas y común resultan en una prolongación del APTT.

REACTIVOS

R 1 Activador	Ácido eláico. Tampon y conservantes
R 2 Iniciador	Cloruro cálcico (CaCl ₂) 0,02M
Opcional	CONTROL NORMAL REACTIVA SEARCH CONTROL PATHOLOGIC REACTIVA SEARCH

PREPARACION

Los reactivos están listos para su uso.
R1: Una vez abierto es estable 1 mes a 2-8°C.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.
Después de un almacenamiento prolongado puede aparecer un sedimento amarillo.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada. No congelar el reactivo. Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Resultados en el Control de calidad fuera de los rangos establecidos.
- Variaciones de color.

MATERIAL ADICIONAL

- Coagulómetro o cronómetro y baño a 37°C ± 0,5°C.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Tomar precauciones considerando cada muestra como potencialmente infecciosa; identificar apropiadamente cada tubo de muestra respetando la privacidad del paciente; manteniendo una trazabilidad inequívoca con la hoja de pedido de análisis incluyendo información detallada del paciente.

Extraer sangre por venopunción hacia un tubo plástico o vidrio siliconizado estéril con vacío y anticoagulante, por ejemplo, citrato; eliminar muestras: coaguladas, tubos con demasiado/insuficiente volumen de muestra, observando estrictamente la proporción de sangre (9 partes) y solución de citrato sódico (0,11 mol/L; 1 parte).

PROCEDIMIENTO

El reactivo puede emplearse en técnica manual, mecánica, foto-óptica o con cualquier instrumento apto para detectar la formación del coágulo ^(NOTA 2). En caso de emplearse analizadores automáticos, seguir las instrucciones del analizador en cuestión.

TÉCNICA MANUAL

1. Calentar a 37°C los reactivos y la muestra.
2. Mezclar bien los reactivos sin agitarlos.
3. Pipetear en un tubo de ensayo limpio y seco:

Plasma citratado (μL)	100
R1 (μL)	100

4. Mezclar bien e incubar exactamente 5 min. a 37°C (tiempo de activación).
5. Pipetear:

R2 (μL)	100
---------	-----

6. Mezclar.
7. Poner en marcha el cronómetro o el controlador de tiempo del coagulómetro y medir el tiempo de formación del coágulo, a partir de la adición del R2 Iniciador.

CÁLCULOS

Los valores se pueden expresar en segundos o en tasa de APTT, dividiendo el resultado de la muestra (sec) por el tiempo de reacción del plasma Control (sec).

$$\text{Tasa de APTT} = \frac{\text{APTT del paciente en segundos}}{\text{APTT de plasma normal (pool 100\%) en segundos}}$$

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

CONTROL NORMAL REACTIVA SEARCH
CONTROL PATHOLOGIC REACTIVA SEARCH

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos o la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

Se ha realizado un estudio con 79 muestras de una población sana y como resultado se han establecido los valores de referencia siguientes:

APTT (segundos) 20 - 33 sec.

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Sensibilidad frente a la heparina:

Heparina conc. (U/mL)	APTT (segundos)
0,0	24,8
0,1	35,9
0,2	47,7
0,3	69,8
0,4	105,7
0,5	134,4

Sensibilidad frente a los factores de coagulación:

%	APTT(s)	%	APTT(s)	%	APTT(s)	%	APTT(s)
88	25,5	105	25,27	89	25,6	109	25,43
30	30,37	75	36,2	50	33,67	85	31,67
20	33,3	50	45	30	35,83	75	33,8
15	35,2	30	50,17			65	36,37
						30	40,4

Estos valores deben ser usados solo como referencia. Cada laboratorio debe establecer su propio índice de sensibilidad a los factores individuales.

INTERFERENCIAS

Se ha estudiado el efecto en el APTT utilizando las sustancias interferentes más comunes, añadiendo diferentes cantidades de dichas sustancias a muestras de plasma. Los resultados se compararon con muestras a las que se había añadido un volumen equivalente de solución salina. No existe interferencia hasta 200 mg/dL hemoglobina, hasta 500 mg/dL de lípidos y hasta 15 mg/dL de bilirrubina. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en su determinación.

NOTAS

1. El material de laboratorio usado debe estar libre de restos de detergente.
2. Seguir minuciosamente las instrucciones del fabricante del instrumento. Los resultados obtenidos deben ser validados por el laboratorio.

BIBLIOGRAFIA

1. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) H47: One-stage Prothrombin Time test and Activated partial Thromboplastin Time test; approved guideline.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) H21: Collection, transport and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular haemostasis assays; approved guideline.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP5-A: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; approved guideline.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
5. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

PRESENTACIÓN:

CONT. 3X4 ml / CACL2 3X4 ml CODIGO: RS29091