



Factor II

Deficient Plasma

Para la determinación coagulométrica en una etapa del factor II

SIGNIFICACION CLINICA

La protrombina o factor II (FII) es el precursor de la serino-proteasa trombina, enzima clave de la coagulación. Se sintetiza en el hígado como propéptido formando parte de los factores Vitamina K dependientes.

La deficiencia en factor II puede ser hereditaria o adquirida. Las deficiencias hereditarias se heredan en forma autosómica recesiva y pueden ser de dos tipos: hipoprotrombinemia o disprotrombinemia. El déficit adquirido puede ser debido a la presencia de inhibidores específicos o estar asociado al déficit de otros factores como en el caso de tratamiento con antagonistas de Vitamina K, hipovitaminosis K, daño hepático, coagulación intravascular diseminada, etc.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La determinación cuantitativa del FII consiste en medir el tiempo de coagulación de una muestra diluida que contiene el factor a determinar, utilizando un plasma deficiente que aporta el resto de los factores en niveles adecuados excepto el FII, en presencia de tromboplastina cálcica (Tiempo de Protrombina en una etapa). El tiempo de coagulación obtenido es inversamente proporcional a la actividad del FII presente en la muestra.

Este método puede usarse con cualquier instrumento capaz de realizar pruebas de valoraciones de factores basadas en el Tiempo de Protrombina.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: plasma humano liofilizado deficiente en factor II obtenido por inmunoadsorción, con una actividad de coagulación < 1% de FII.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Disolver el Reactivo A en el volumen de agua destilada indicado en el rótulo. Dejar reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente y luego, homogeneizar la solución por agitación suave antes de su uso.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Agua destilada
- Imidazole Buffer de Wiener lab.
- Soluplastin de Wiener lab. u otros reactivos de TP.
- Coagulation Control N y Coagulation Control P de Wiener lab.
- Coagulation Calibrator de Wiener lab.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".
El Factor II Deficient Plasma ha sido preparado a partir de

material no reactivo para HBsAg, HCV y HIV. Sin embargo, al igual que las muestras de sangre, debe manejarse como si se tratara de material infectivo.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

El Factor II Deficient Plasma es estable en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Una vez reconstituido el reactivo es estable 2 horas a temperatura ambiente (< 25°C) o 1 mes congelado (-20°C). Evitar los congelamientos y descongelamientos reiterados. El reactivo congelado deberá descongelarse durante al menos 10 minutos a 37°C y homogeneizarse antes de usar.

MUESTRA

Plasma citratado

a) Recolección: obtener sangre cuidadosamente (evitando estasis o trauma) y colocar en un tubo con anticoagulante en proporción 9 + 1 exacta (ejemplo: 4,5 ml de sangre + 0,5 ml de anticoagulante). Mezclar suavemente. Centrifugar durante 15 minutos y separar el plasma antes de los 30 minutos. Es recomendable efectuar la extracción con jeringas plásticas.

b) Aditivos: para obtener el plasma debe emplearse Anticoagulante TP de Wiener lab. o citrato de sodio 130 mmol/l (3,8%) o 109 mmol/l (3,2%).

c) Sustancias interferentes conocidas:

- No debe emplearse EDTA o heparina para obtener plasma.
- Las contaminaciones, visibles o no, son causa de tiempos falsamente prolongados.
- Hemólisis y lipemias visibles dificultan la medición fotométrica de los resultados.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: el plasma debe mantenerse a temperatura ambiente hasta el momento de efectuar la prueba. Este período no debe prolongarse más de 4 horas. En caso de no poder procesarse en este lapso, el plasma puede congelarse hasta 2 semanas a -20°C. En este caso la muestra debe ser congelada inmediatamente y deberá ser descongelada rápidamente a 37°C, no prolongando más de 10 minutos este período.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Tubos de hemólisis.

- Pipetas o micropipetas para medir los volúmenes indicados.
- Cronómetro.
- Baño de agua a 37°C.
- Coagulómetro semiautomático o automático.

PROCEDIMIENTO

I- CURVA DE CALIBRACION

1- Realizar una dilución 1/5 del Coagulation Calibrator de Wiener lab en Imidazole Buffer (1 parte de Calibrador + 4 partes de Imidazole Buffer) y a partir del mismo preparar una serie de diluciones geométricas en Imidazole Buffer (1:1 a 1:32). La proporción 1:1 corresponde a la dilución 1/5 del calibrador por lo tanto las diluciones serán: 1/5; 1/10, 1/20, 1/40, 1/80 y 1/160. El Calibrador diluido 1:10 representa el 100% del valor asignado al FII en la tabla de valores del calibrador.

2- Precalentar el reactivo de TP (Soluplastin de Wiener lab) a 37°C.

3- En un tubo de hemólisis colocar:

Reactivo A	100 µl
Diluciones del Calibrador	100 µl

4- Mezclar e incubar durante 1 minuto a 37°C

5- Disparar el cronómetro con el agregado de 200 µl del Reactivo TP precalentado y registrar el tiempo de formación del coágulo.

6- Calcular el tiempo promedio de coagulación para cada dilución, por duplicado.

7- Graficar la curva de calibración representando los tiempos de coagulación en función de la actividad del FII, sobre papel log-log. Unir a través de una recta la mayoría de los puntos representados. La recta final debe contener por lo menos 3 puntos consecutivos.

La actividad de FII en cada dilución de la curva se determina multiplicando el %FII del Coagulation Calibrator por el factor de dilución. Ejemplo para un valor asignado de 98% al Coagulation Calibrator:

Dilución del Coagulation Calibrator (prediluido 1/5)	Dilución Final	Cálculo de FII (%)	Factor II (%)
1:1	1:5	98 x 2	196
1:2	1:10	98 x 1	98
1:4	1:20	98 x 0.5	49
1:8	1:40	98 x 0.25	24.5
1:16	1:80	98 x 0.125	12.3
1:32	1:160	98 x 0.063	6.1

II- MUESTRAS DE PACIENTES

1- Preparar diluciones 1:10 de los plasmas de pacientes en Imidazole Buffer (1 parte de muestra + 9 partes de

Imidazole Buffer).

2- Precalentar el reactivo de TP (Soluplastin de Wiener lab) a 37°C.

3- En un tubo de hemólisis colocar:

Reactivo A	100 µl
Muestra diluida	100 µl

4- Mezclar e incubar durante 1 minuto a 37°C

5- Disparar el cronómetro con el agregado de 200 µl del Reactivo TP precalentado y registrar el tiempo de formación del coágulo.

6- Repetir la determinación y promediar el resultado para cada muestra.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Los valores de las muestras de plasma diluidas 1:10 se interpolan en la curva de calibración.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Si la actividad del FII obtenido por interpolación directa de la curva de calibración es menor al punto más bajo de la curva, es conveniente repetir la determinación de la muestra con una dilución menor (1:5), multiplicando el resultado por 0.5. Si la actividad del FII obtenido por interpolación directa de la curva de calibración es mayor al punto más alto de la curva, es conveniente repetir la determinación de la muestra con una dilución mayor (1:20), multiplicando el resultado por 2.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Coagulation Control N y Coagulation Control P de Wiener lab. El control deberá procesarse de la misma manera que las muestras.

VALORES DE REFERENCIA

70-120%

Cada laboratorio debe establecer sus propios valores de referencia a partir de las técnicas e instrumental empleado.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas y Estabilidad e instrucciones de almacenamiento en MUESTRA.

Conservar las muestras de plasma a temperatura ambiente para evitar la activación por baja temperatura.

Se recomienda respetar el tiempo de incubación de las muestras con el Reactivo A.

La manipulación incorrecta de las muestras puede ocasionar la activación parcial de los factores de coagulación lo que ocasionaría un resultado erróneo en la determinación.

El anticoagulante lúpico puede afectar la determinación de la actividad del factor.

Se requiere una nueva calibración para cada lote de reactivos y para cada instrumento utilizado.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: se determinó con diferentes mues-

tras (en series y día a día). Se obtuvieron los siguientes resultados:

Precisión intra-ensayo:

Nivel	D.S.	C.V.
26,8 seg	0,738 seg	2,76%
28,0 seg	0,680 seg	2,43%
25,8 seg	0,249 seg	0,96%

Precisión inter-ensayo:

Nivel	D.S.	C.V.
34,8 seg	0,153 seg	0,44%
33,8 seg	0,862 seg	2,55%
36,0 seg	1,041 seg	2,89%

b) Rango de medición: 6-150%

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Referirse a las adaptaciones específicas de cada analizador.

PRESENTACION


5 x 1 ml (Cód. 1705014).

BIBLIOGRAFIA


- Goldenfarb MD (1971) Reproducibility in Coagulation Assays, AJCP, 55:561-564.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th ed. CLSI: H21-A5.
- Triplett DA, (1981) New Methods in Coagulation, Crit Rev Clin Lab Sci. 1981;15 (1):25-84.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed. 2001.


SIMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.


 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"


 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Uso diagnóstico "in vitro"


 Contenido suficiente para <n> ensayos


 Fecha de caducidad


 Límite de temperatura (conservar a)

 No congelar

 Riesgo biológico

 Volumen después de la reconstitución

 Contenido


 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Cáustico


 Irritante


 Consultar instrucciones de uso


 Calibrador

 Control

 Control Positivo

 Control Negativo

 Número de catálogo

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
 Riobamba 2944
 2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
 Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
 Bioquímica
 Producto Autorizado A.N.M.A.T.
 PM-1102-111

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina