



LA Confirm

Para la confirmación de anticoagulante lúpico

SIGNIFICACION CLINICA

El Anticoagulante Lúpico (LA) es un inhibidor adquirido (no específico) de la coagulación formado por un grupo heterogéneo de autoanticuerpos que interfieren en los tests de coagulación dependientes de fosfolípidos. Para su detección se emplean tests sensibles como el Tiempo de veneno de víbora de Russell diluido (dRVVT) o Tiempo de tromboplastina parcial activado (aPTT) sensible a LA.

El LA forma parte de los criterios de laboratorio que permiten el diagnóstico del síndrome antifosfolipídico (SAF). Sin embargo, su presencia puede detectarse en individuos asintomáticos o asociarse a otras situaciones clínicas.

FUNDAMENTOS DEL METODO

En el LA Screen, el veneno de víbora de Russell inicia la coagulación del plasma por activación directa del Factor X a Factor Xa en presencia de calcio y una baja concentración de fosfolípidos. En presencia de Anticoagulante Lúpico, se alargan los tiempos de coagulación.

Los tests de mezcla con plasma normal, permiten excluir la deficiencia de factores que también puede prolongar los tiempos de coagulación. Si los mismos continúan siendo prolongados, se sospecha de la presencia de Anticoagulante Lúpico u otros inhibidores, lo cual debe ser confirmado con LA Confirm.

En el LA Confirm la mayor concentración de fosfolípidos neutraliza los LA que puedan estar presentes en el plasma, con el consecuente acortamiento del Tiempo de coagulación, respecto al obtenido con LA Screen.

REACTIVOS PROVISTOS

Reactivo A: mezcla de veneno de víbora de Russell con cloruro de calcio y fosfolípidos en alta concentración. Liofilizado.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reconstituir el Reactivo A con el volumen de agua destilada indicado en el vial. Mezclar bien invirtiendo el vial para asegurar una completa resuspensión del material liofilizado. Incubar el reactivo disuelto a temperatura ambiente durante 30 minutos y rotar suavemente el vial antes del uso.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- LA Screen de Wiener lab.
- LA Control de Wiener lab.
- Coagulation Control N de Wiener lab.
- Pool de plasmas normales pobres en plaquetas

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

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 reactivo es estable en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Una vez reconstituido es estable:

Reactivo	37°C	TA (< 25°C)	2-10°C	-20°C
Reactivo A	8 horas	24 horas	48 horas	1 mes

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 y centrifugar durante 15 minutos a 2500 g. Para obtener plasma pobre en plaquetas transferir el plasma a un tubo de plástico limpio y centrifugar durante 15 minutos adicionales.

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: las muestras que contengan coágulos y/o hematocritos anormales deben desecharse. Las muestras ictericas, lipémicas o hemolizadas deben analizarse mediante técnicas manuales ya que algunos instrumentos fotométricos dan lecturas falsas.

No se observan interferencias por heparina hasta 1 UI/ml. 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 6 meses a -20°C.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Tubos de hemólisis.

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

PROCEDIMIENTO

Precalentar un exceso de Reactivo A a 37°C, a razón de 200 ul/ensayo.

En un tubo de hemólisis colocar:

Muestra o Control	200 ul
--------------------------	--------

Incubar durante 1 minuto a 37°C. Luego agregar:

Reactivo A (a 37°C)	200 ul
----------------------------	--------

Disparar simultáneamente un cronómetro. Agitar brevemente para homogeneizar el contenido, mantener en el baño unos 20 segundos. Luego sacar el tubo del baño, inclinar suavemente una vez por segundo y detener el cronómetro en el momento de la formación del coágulo. Pueden emplearse para la lectura de los resultados aparatos automáticos o semiautomáticos que detecten la formación de coágulos de fibrina, por métodos foto-ópticos o mecánicos.

Tomar nota del tiempo de coagulación.

Repetir para obtener valores duplicados y registrar el promedio como resultado.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Si el tiempo de coagulación con LA Screen se encuentra dentro del rango de referencia no es necesario realizar una prueba posterior para estudiar la presencia de LA.

Si el tiempo con LA Screen se encuentra por encima del rango normal, de debe continuar la investigación realizando un test de mezcla con pool de plasmas normales y un test confirmatorio empleando LA Confirm.

Según las recomendaciones de la ISTH (Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia) en su up-date 2009, los resultados se deben expresar como una proporción (ratio) normalizada, obtenida luego de dividir el resultado del paciente por el valor correspondiente a un pool normal:

$$\text{Ratio LA Screen} = \frac{\text{Tiempo (seg) LA Screen del paciente}}{\text{Tiempo (seg) LA Screen pool normal}}$$

Si el valor del Ratio LA Screen es superior a 1.20, debe sospecharse la presencia de LA.

En caso de tener que emplear el test confirmatorio LA Confirm, se debe proceder de la misma manera para normalizarlo:

$$\text{Ratio LA Confirm} = \frac{\text{Tiempo (seg) LA Confirm del paciente}}{\text{Tiempo (seg) LA Confirm pool normal}}$$

Luego calcular el Ratio LA normalizado del paciente, dividiendo entre si los ratios normalizados LA Screen y LA Confirm:

$$\text{Ratio LA normalizado} = \frac{\text{Ratio LA Screen}}{\text{Ratio LA Confirm}}$$

Ejemplo:

Tiempo de LA Screen paciente: 42,1 seg

Tiempo medio de LA Screen normal: 37,5 seg

Tiempo de LA Confirm paciente: 34,7 seg

Tiempo medio de LA Confirm normal: 34,0 seg

$$\text{Ratio LA Normalizado} = \frac{(42,1 / 37,5)}{(34,7 / 34,0)} = \frac{1,12}{1,02} = 1,1$$

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Si el Ratio LA Screen es superior a 1.20, se debe realizar una prueba mezclando en proporción 1+1 el plasma del paciente con un pool de plasmas normales pobre en plaquetas, para identificar un déficit de uno o más factores o un tratamiento con antagonistas de la vitamina K. Si no se evidencia corrección con el pool de plasmas normales, es posible confirmar la presencia de un inhibidor circulante. En cuyo caso, el Ratio LA normalizado mayor a 1.20 permite confirmar la naturaleza antifosfolipídica del inhibidor.

En el Síndrome antifosfolipídico, la persistencia del LA se debe confirmar en una segunda muestra extraída al paciente al menos 12 semanas después.

Para un adecuado procedimiento diagnóstico referirse a las guías elaboradas por los diferentes comités científicos (Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia en su up-date 2009, British Committee for Standards in Haematology publicada en 2012 y Clinical and Laboratory Standards Institute de 2014).

VALORES DE REFERENCIA

Para LA Screen: 31-44 segundos

Para LA Confirm: 30-38 segundos

Ratio LA normalizado = 0,8-1,2

Los valores de referencia pueden variar entre los laboratorios dependiendo de las técnicas y sistemas usados. Por esta razón, cada laboratorio debe establecer sus propios intervalos de referencia.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

LA Control y Coagulation Control N de Wiener lab.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Pueden obtenerse resultados erróneos para muestras con concentraciones de heparina > 1 U/mL, en pacientes que toman anticoagulantes orales y en CID.

Para que los resultados sean comparativos, los tests LA Screen y LA Confirm deben realizarse de manera simultánea y en la misma muestra.

Debe asegurarse la remoción completa de las plaquetas de los plasmas, mediante una adecuada centrifugación, ya que los fosfolípidos provenientes de las mismas interfieren en los tests. Dada la heterogeneidad del LA, es importante incluir dos test de screening de principios diferentes (dRVVT/aPTT).

PERFORMANCE

a) **Reproducibilidad:** se determinó con diferentes muestras (en series y día a día). Se obtuvieron los siguientes resultados:

Precisión intraensayo

Nivel	D.S.	C.V.
37,58 seg	0,33 seg	0,89%
71,74 seg	0,91 seg	1,27%

Precisión interensayo

Nivel	D.S.	C.V.
37,58 seg	0,59 seg	1,57%
71,74 seg	1,38 seg	1,93%

b) **Sensibilidad:** se encontraron 12 resultados positivos en 12 pacientes con datos clínicos de anticoagulante lúpicos.

c) **Especificidad:** se ensayaron muestras de pacientes normales, tratados con heparinas y con coumarina, encontrándose los siguientes resultados:

Muestras	Resultados > 1,2 (falsos positivos)
Normales	1,2% (1/79)
Plasmas con coumarina	0% (0/14)
Plasmas con heparina	5,5% (1/18)
Plasmas deficientes en factores VIII y IX	0% (0/6)

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Referirse a las adaptaciones específicas de cada analizador.

PRESENTACION

5 x 1 ml (Cód. 1705024)

BIBLIOGRAFIA



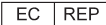


















- T. Exner, K. A. Rickard, H. Kronenberg: A Sensitive Test Demonstrating Lupus Anticoagulant and its Behavioural Patterns. Brit. J. Haem. 40 (1978); 143.
- E. Rosner, R. Pazner, A. Lusky, M. Modan, A. Many: Detection and Quantitative Evaluation of Lupus Circulating Anticoagulant Activity. Thrombos. Haemostas. 57 (1987); 144.
- D. A. Triplett: Screening for the Lupus Anticoagulant. Research in Clin. and Lab. 19 (1989); 379.
- Pengo V, Tripodi A, Reber G, et al; Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. J Thromb Haemost 2009;7(10):1737-1740.
- Keeling D, Mackie I, Moore GW, Greer IA, Greaves M; British Committee for Standards in Haematology. Guidelines


on the investigation and management of antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2012;157(1):47-58.

- Recent guidelines and recommendations for Laboratory Detection of Lupus Anticoagulants. Gary W. Moore, BSc, DBMS, CSci, FIBMS, CBiol, MSB, CerMHS. Semin. Throm. Hemost. 2014; 40:163-171.
- Guidelines on the Investigation and Management of antiphospholipid syndrome. David Keeling, Ian Mackie, Gary W. Moore, Ian A. Greer, Michael Greaves and British Committee for Standards in Haematology. British Journal of Haematology, 2012 157, 47-58.

Símbolos

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"		Elaborado por:
	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Nocivo
	Uso diagnóstico "in vitro"		Corrosivo / Cáustico
	Contenido suficiente para <n> ensayos		Irritante
	Fecha de caducidad		Consultar instrucciones de uso
	Límite de temperatura (conservar a)		Calibrador
	No congelar		Control
	Riesgo biológico		Control Positivo
	Volumen después de la reconstitución		Control Negativo
	Contenido		Número de catálogo
	Número de lote		

 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-1102-121

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina