

# MINIVOLT Instruments S.r.l.

Via di Pietralata, 204/A 00158 ROMA Italy  
Tel.:+39-064182089 Fax: +39-064504275  
[WWW.minivolt.com](http://WWW.minivolt.com) Email: [info@minivolt.com](mailto:info@minivolt.com)

# TROMBOPLASTINA S

TEMPO DI PROTROMBINA SECONDO QUICK (PT)



REF. RPT104

TROMBOPLASTINA S

Confezione 10 x 4ml

## Confezione

Reagente	Quantità	Stato fisico
Reagente 1	10 flaconi da 4 ml	LIOFILO

## Principio

Il Kit "TROMBOPLASTINA S" misura il Tempo di Protrombina cioè il tempo di coagulazione del plasma dopo aver aggiunto il fattore tissutale(tromboplastina) ed il calcio.

La ricalcificazione del plasma, in presenza del fattore tissutale, attiva il Fattore Xa. Quest'ultimo, a sua volta, attiva la protrombina in trombina che converte il Fibrinogeno in un coagulo di fibrina insolubile.

Il Tempo di protrombina si usa come screening e come test quantitativo dei fattori del sistema estrinseco del processo coagulativo

Il test presenterà tempi allungati in pazienti con alterazioni, acquisite o congenite, che riducono l'attività del Fattore I (Fibrinogeno), del Fattore II (Protrombina) e dei Fattori V, VII e X.

Viene anche largamente impiegato nel monitoraggio della terapia anticoagulante orale<sup>1,2</sup>.

Gli anticoagulanti riducono l'attività della vitamina K che agisce sui fattori coagulativi: II, VII, IX, X nonché sulla Proteina C ed S determinando un allungamento del Tempo di Protrombina

## Composizione dei reagenti ed eventuale classificazione di pericolo

### Reagente

Tessuto cerebrale di coniglio	2,6 %
Glicina	2 %
Tricina	1,34 %
Solfato di sodio	0,7 %
Poliethylenglicole	0,7 %
Calcio cloruro	0,13 %
Brij - 35	0,05 %
Sodio Azide	0,013%

Il Reagente non contiene sostanze o preparati classificati pericolosi in base alla legislazione attualmente vigente.

## Conservazione e Stabilità del prodotto

### Conservare il kit a 2 - 8°C

Il reagente, se adoperato e conservato secondo buona prassi di laboratorio, è stabile fino alla scadenza riportata in etichetta.

## Preparazione e Stabilità della Soluzione di Lavoro

Reagente: liofilo

Con il Kit REF. N° RPT104 ricostituire il contenuto di un flacone di Reagente con 4 ml di Acqua distillata.

Miscelare delicatamente senza capovolgere od agitare con forza e lasciar riposare per 15 minuti a Temperatura ambiente.

Il Reagente, così ricostituito, è stabile 8 ore a 37°C o 7 giorni a 2 - 8°C. (**NON CONGELARE**),

**E' indispensabile che il reagente, al momento dell'uso, sia a Temperatura ambiente.**

## Campioni

Plasma fresco in Citrato trisodico al 3,2% (0,105 M)

## Raccolta dei campioni e loro conservazione

- Evitare emolisi e contaminazioni. I Campioni che presentano volumi inferiori al 90% devono essere scartati (9 volumi di sangue ed 1 volume di Citrato trisodico 3,2%)
- Centrifugare a 1500 x g per 15 minuti
- Prelevare il sovrannatante ed eseguire il test entro 2 ore se il campione è tra i 22 ed i 24° C.  
Se ciò non fosse possibile conservare il campione al massimo 2 settimane a - 20° C o 6 mesi a - 70° C

Nota: per ulteriori dettagli circa la raccolta e la conservazione dei campioni vedere il documento NCCLS H21 - A3<sup>3</sup>.

## Precauzioni

Ogni qualvolta si manipolano agenti infettanti, reagenti chimici, reagenti di origine umana od animale, sangue o altri liquidi biologici, è consigliabile seguire le più comuni raccomandazioni e prendere tutte le necessarie precauzioni igieniche come l'utilizzazione di guanti monouso.

## Smaltimento

Applicare le norme di cui al D. Leg.vo 22/97 e successive modificazioni (Rifiuti Speciali e Speciali Pericolosi con relativo codice CER)

## Esecuzione del Test

Dispensare il campione in una provetta di plastica od in vetro siliconato come riportato nello schema:

Campione	100 µl
Incubare circa 2 minuti a 37°C ed aggiungere	
Reagente (preriscaldato a 37° C)	200 µl

All'aggiunta del reagente far partire il cronometro e registrare il tempo per la formazione del coagulo

## Interpretazione dei risultati

I risultati possono essere espressi in tre modi diversi cioè come:

- PERCENTUALE (Fattore di Quick)
- RATIO
- INR (international Normalized Ratio)

### 1. PERCENTUALE

Preparare 5 diluizioni scalari di un pool di plasmi normali come da tabella:

Diluizione	Nessuna	1+1	1+2	1+3	1+7
Valore %	100%	50%	33%	25%	12,5%
Plasma	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
Soluzione Fisiologica	-	0,5 ml	1,0 ml	1,5 ml	3,5 ml

Di ogni diluizione determinare il tempo di coagulazione in doppio o triplo. Costruire una curva di taratura riportando le percentuali contro i rispettivi tempi

### 2. RATIO

$$\text{RATIO} = \frac{\text{Tempo di Protrombina (Campione in esame)}}{\text{Tempo di Protrombina (Pool di Plasmi normali)}}$$

### 3. INR

Per standardizzare il test, la World Health Organization (WHO) consiglia di esprimere i risultati come INR (International Normalized Ratio)<sup>7,8</sup>.

L' INR viene calcolato partendo dal valore della RATIO secondo la formula:

$$\text{INR} = \text{RATIO}^{\text{ISI}}$$

Ad esempio, con un ISI =1 ed un valore RATIO = 3,2, l' INR sarà:

$$\text{INR} = (3,2)^1 = 3,2$$

L' ISI (International Sensitivity Index) rappresenta la sensibilità della Tromboplastina / strumento in rapporto ai fattori della coagulazione.

I valori ISI vengono assegnati in base ad un materiale di riferimento primario. I reagenti particolarmente sensibili hanno un valore ISI basso.

Conformemente alle raccomandazioni dell' OMS, i valori INR superiori a 5,5 espongono il paziente a rischio di complicanze emorragiche.

I pazienti in terapia anticoagulante orale stabilizzata devono mantenere un INR compreso tra 2 e 3,5 a seconda delle indicazioni cliniche<sup>2</sup>.

Il valore ISI riportato sull' etichetta è specifico per ogni lotto di Reagente

## Valori attesi

In vari studi, eseguiti in più centri, il prodotto utilizzato su una popolazione di pazienti normali ha fornito i seguenti risultati<sup>10</sup>.

STRUMENTO UTILIZZATO	PT (MEDIA IN SEC.)	RANGE (± 2SD)	N
MLA™ Electra 1000 C™	13,2	11,4 - 15,0	40
MLA™ Electra 900 C™	13,7	12,4 - 15,0	20
IL ACL™ 300/3000	10,5	8,9 - 12,1	61
AMELUNG KC 10™	12,7	9,3 - 14,2	20
THROMBOSCREEN 400C	13,5	12,2 - 14,8	38
THROMBOSCREEN 200	13,5	12,0 - 15,1	60

Tutti i valori sopra dichiarati devono comunque essere considerati solo come linea guida.

Ciascun laboratorio deve stabilire il proprio intervallo di riferimento

## Prestazioni

### A. PRECISIONE

La precisione del test dipende da molti fattori come lo strumento, la tecnica ed il reagente utilizzato

La precisione della Tromboplastina S è stata accertata testando, con più strumenti, un plasma normale ed uno patologico.

I risultati sono riportati nella tabella che segue di seguito<sup>11</sup>:

Studi sulla Precisione nella serie (CV %), utilizzando 20 campioni:

CAMPIONE	MLA ELECTRA 1000 C	TROMBOSCREEN 400 C	TROMBOSCREEN 200	AMELUNG KC10
Normale	1,1%	1,9%	1,9%	2,9%
Patologico	2,8%	2,5%	2,3%	1,1%

### B. SENSIBILITA'

La verifica è stata effettuata diluendo un plasma normale combinato con plasmi carenti in modo da ottenere una concentrazione finale compresa tra 10 e 100% I tests sono stati eseguiti con strumento MLA - 1000 C<sup>12</sup>

TEMPO DI PROTOMBINA (sec.)				
% FATTORE	FATTORE II	FATTORE V	FATTORE VII	FATTORE X
100	11,6	11,6	11,8	11,7
50	11,6	13,2	12,6	12,8
40	11,7	13,9	12,8	13,3
30	12,3	14,9	13,5	14,1
20	12,8	15,9	13,9	14,8
10	14,1	18,3	15,2	17,0

### C. CORRELAZIONE TRA METODI

Il confronto tra questa Tromboplastina (y) ed altre due del commercio (x), eseguito con lo strumento Stago STA<sup>13</sup>, ha dato i seguenti risultati:

Con il primo prodotto

N = 49	Correlazione PT r = 0,98 y = 1,16 x + 1,3	Correlazione INR r = 0,98 y = 0,89 x + 0,05
--------	---	---

Con il secondo prodotto

N = 49	Correlazione PT r = 0,95 y = 1,01 x + 2,20	Correlazione INR r = 0,95 y = 0,82 x + 0,10
--------	--	---

### D. INTERFERENZE

- Ossalato di sodio, EDTA ed Eparina non sono utilizzabili come anticoagulanti
- Il PT può risultare allungato per sostanze quali contraccettivi orali, corticosteroidi, EDTA, asparaginasi, clofibrato, eritromicina, etanolo, tetraciclina ed anticoagulanti quali eparina e warfarin<sup>5</sup>
- Il PT può ridursi, viceversa, a causa di sostanze tra cui antistaminici, butabarbitale, caffeina, contraccettivi orali, fenobarbital e vitamina K<sup>5</sup>

## Controllo di Qualità Intralaboratorio

E' opportuno unitamente al campione eseguire anche un controllo normale ed uno patologico.

Entrambi i plasmi di controllo dovrebbero essere comunque utilizzati tutti i giorni sia prima di eseguire i tests sia dopo averli eseguiti od con ciascun gruppo di tests, al cambio del lotto del reagente ed in occasione di importanti regolazioni della strumentazione

**Control Plasma N REF. N° RCN101**  
**Control Plasma A REF. N° RCP101**

Nei laboratori con un forte carico di lavoro di PT e/o APTT, eseguire un controllo normale ed uno patologico almeno ogni 40 campioni

**Ciascun laboratorio dovrebbe stabilire il proprio range che tenga conto delle possibili variazioni giornaliere delle performance di ciascun controllo**

**AZIENDA CERTIFICATA EN ISO 9001:2000**

Rev. 001 Marzo 2009

## Limitazioni

L'analisi biochimica della coagulazione comprende una serie di reazioni che sono influenzate da numerose condizioni preesistenti all'analisi stessa e, pertanto, per ottenere risultati riproducibili è necessario un costante controllo di tali variabili<sup>3</sup> come ad esempio:

- Il pH del plasma aumenta se esposto all'aria. Conservare quindi il plasma sempre in provette di plastica o di vetro siliconato ben chiuse
- Il plasma mantenuto a 4 - 8° C può subire una attivazione fredda che si traduce in una significativa riduzione del valore del PT
- Il prodotto è stato studiato per funzionare a 37°C ± 0,5°C. Assicurarsi che tutti gli elementi riscaldanti, pertanto, si trovino costantemente a tale temperatura
- Tutte le attrezzature devono essere perfettamente pulite e prive anche di sole tracce di detergente
- per un appropriato uso della strumentazione seguire sempre le raccomandazioni del produttore








## Note

- Non ritardare a mescolare il sangue con l'anticoagulante
- Evitare la schiuma nei campioni
- Campioni torbidi, itterici, lipemici od emolisati potrebbero dare luogo a risultati errati.
- Utilizzare esclusivamente contenitori in vetro siliconato od in plastica
- Il congelamento e lo scongelamento del plasma che contiene cellule residue possono danneggiare le membrane compromettendo i risultati.
- Reazioni infiammatorie acute possono ridurre il valore del PT a causa della aumentata quantità di fibrinogeno
- Campioni di plasma con ematocrito non compreso tra 20 e 55% potrebbero non rispondere correttamente al test; in tali casi è necessario modificare la concentrazione del citrato cambiando il rapporto tra sangue ed anticoagulante
- Il prodotto può essere utilizzato con qualsiasi metodo: manuale, meccanico, foto - ottico, nefelometrico ecc.  
Per un corretto utilizzo con la strumentazione è indispensabile attenersi alle raccomandazioni della ditta produttrice dello strumento

## Bibliografia

- Errichetti A. M., Holden A., Ansell J.: Management of Oral Anticoagulant Therapy. Experience with an Anticoagulation Clinic. Arch Inter Med 144, 1966-1968 (1984)
- Hirsh J., Dalen J. E., Deykin D., Poller L.: Oral Anticoagulants: Mechanism of Action, Clinical Effectiveness and Optimal Therapeutic Range. Chest 102 (Suppl) 312s - 315s (1992)
- NCCLS: Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and General Performance of Coagulation Assays; Approved Guideline. NCCLS document H 21 - A3, NCCLS Wayne PA. (1998)
- Palmer R. N., Grainick H. R.: Inhibition of the Cold Activation of Factor VII and the Protrombin Time. Am. J. Clin. Path 81, 618 - 622 (1984)
- Young D. S., Thomas D. W., Friedman R. B. et al: Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests Clin. Chem. 18, 1041 (1972)
- NCCLS: One - Stage Protrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test; Approved Guideline. NCCLS document H 47 - A, NCCLS Wayne, PA. (1996)
- Dalen J. E., Hirsh J.: American College of Chest Physicians and the National Heart, Lung, and Blood Institute National Conference on Antithrombotic Therapy. Arch. Inter. Med. 146, 462 - 472 (1986)
- Palaereti G., Coccheri S., Poggi M. et al: Oral Anticoagulant Therapy Control; Evidence that the INR Expression Improves the interlaboratory Comparability of Results. The Bologna Oral Anticoagulant Control Exercise. Thromb Haemostasis 58: 905 - 910 (1987)
- I dati sulla stabilità sono conservati in DHF
- 10/13 Tutti i dati sono conservati nello schedario 510 (k)

## Simboli

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79/CE)
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Codice del lotto
	Utilizzare entro
	Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso
	Fabbricante