



LABORATORIO DE HEMOSTASIA Y TROMBOSIS

(IL-001)

Antes de extraer y derivar cualquier muestra al Laboratorio de Trombosis y Hemostasia, lea muy atentamente el siguiente documento, que le entregará las indicaciones para obtener una muestra que cumpla con los requerimientos pre-analíticos necesarios para pruebas de coagulación, inmunología o función plaquetaria.

General:

TENER EN CUENTA SIEMPRE:

Idealmente, las pruebas de coagulación deben realizarse sin efecto de terapia anticoagulante.

Si el paciente ha comenzado tratamiento y el médico decide suspenderlo antes de efectuar el test, se sugiere considerar:

1 semana para tratamiento con antagonistas de Vitamina K

24 horas para heparina no fraccionada

48 horas para heparina de bajo peso molecular

3 días para inhibidores directo (DOACs)

1.- La muestra de sangre tomada para pruebas de coagulación, debe ser proveniente de una punción limpia, sin trauma y de primera intención.

Si la muestra ha sido obtenida de forma complicada, es preferible intentar con otro sitio de punción ya que muy probablemente dicha muestra tendrá activación de la coagulación, no siempre visible.

Se DEBE respetar la relación sangre/anticoagulante

2.- Evitar obtener muestras de vías que están con anticoagulantes (catéteres, o vías con mariposas instaladas para otros procedimientos). Es bastante difícil remover toda traza de heparina, y eso se traducirá en alteración en los tiempos de coagulación.

3.- Si el tiempo de traslado hacia nuestro laboratorio no excede el tiempo de estabilidad de la muestra, estipulado en el SINFEX de nuestra página web, **debe ser enviada como sangre completa.**

4. Si este tiempo es más prolongado, o por cualquier otra razón la muestra debe centrifugarse, entonces deber ser hecho según se indica en este documento. (plasma doble centrifugado, congelado y enviado **EN HIELO SECO**).

5.- Las muestras para coagulación **NO SE REFRIGERAN.**

6.- No procesar, ni alícuotar en contenedor de vidrio. Esta disposición es por bioseguridad y porque el vidrio activa los factores de la coagulación.

7.- No es recomendable congelar alícuotas en un recipiente con agua, ya que cuando llegan al laboratorio, no se puede separar una alícuota de otra, por venir congeladas en bloque.



INSTRUCTIVO PARA OBTENCION DE MUESTRAS DE PLASMA POBRE EN PLAQUETAS (PPP)

- 1.- La muestra extraída debe ser centrifugada a 1500g, durante 10 min, y a temperatura ambiente.(en centrifuga de sobremesa equivale aprox a 3500rpm)
- 2.- Terminada esta centrifugación, tomar cuidadosamente los 2/3 superiores del plasma de cada tubo y trasvasar a tubos eppendorf o tubos plásticos corriente y proceder a centrifugar por segunda vez. Si Ud. está usando tubos eppendorf, esta segunda centrifugación debe ser durante 5 minutos a 11000g. Si no dispone de este tipo de tubos y solo tiene tubo plástico corriente, centrifugue durante 10 minutos a 1500g.
- 3.- Terminada la segunda centrifugación, tomar cuidadosamente el PPP sobrenadante de cada tubo teniendo la precaución de no tocar el fondo (no pipetear la totalidad del plasma para asegurar no contaminar con plaquetas). **Juntar y mezclar el PPP del paciente en un solo tubo para conseguir una muestra homogénea.**
- 4.- Distribuir el plasma en alícuotas muy claramente identificadas con el nombre del paciente (incluir si se trata de muestra con algún tratamiento específico como por ejemplo pre y post DDAVP) y congelar al menos a -20°C, hasta el momento del envío al Laboratorio de Hemostasia.
(Arriba se especifica el volumen y cantidad de alícuotas, según técnica solicitada).
- 5.- El envío de plasmas **DEBE** ser hecho en una caja con hielo seco, en cantidad suficiente para asegurar que las muestras se mantengan congeladas hasta el minuto de la recepción en el laboratorio. **No se recibirán muestras de plasmas sin congelar, refrigerados o parcialmente congelados por no cumplir con condiciones de estabilidad.**

NOTA: Las muestras de plasma **NO SE DEBEN FILTRAR** con el fin de eliminar plaquetas. La filtración también retira del plasma proteínas y factores de la coagulación que inutilizan la muestra.

Es muy importante que la muestra sea enviada en alícuotas y NO en un solo tubo, ya que una vez descongelada no permite realización de técnicas diferidas en el tiempo, ni tampoco que se pueda repetir alguna determinación dudosa.



TÉCNICAS QUE REQUIEREN USO DE PPP DOBLE CENTRIFUGADO

CANTIDAD DE ALÍCUOTAS POR TÉCNICA

1.	Estudio de Trombofilia	(3 alícuotas 500 ul c/u)
2.	Anticoagulante Lúpico	(2 alícuotas 500ul c/u)
3.	Antitrombina III funcional	(2 alícuotas 300 ul c/u)
4.	Antitrombina III Antigénica	(2 alícuotas 200 ul c/u)
5.	Proteína C funcional	(2 alícuotas 300ul c/u)
6.	Proteína C antigénica	(2 alícuotas 200 ul c/u)
7.	Proteína S libre	(2 alícuotas 300 ul c/u)
8.	Proteína S Total	(2 alícuotas 200 ul c/u)
9.	Resistencia a la Proteína C Activada	(2 alícuotas 500 ul c/u)
10.	Factores de la coagulación y/o sus inhibidores (set completo) (Fibrinógeno, FII, FV lábil, FVII, FVIII, FIX, FX, FXI, FXII, FXIII)	(3 alícuotas 600 c/u)

Para dosificación de factores, lo mínimo a enviar son dos alícuotas de plasma, aunque la solicitud sea sólo para un factor de coagulación. (2 alícuotas 300 ul cada alícuota)

11.	Actividad anti Xa	(2 alícuotas 300 ul c/u)
12.	Estudio Factor von Willebrand (antígenos y funcionales)	(4 alícuotas 500 ul c/u)
13.	RIPA plasmático	(6 alícuotas 500 ul c/u)
14.	TP/TTPA/TT (coagulograma)	(2 alícuotas 300 ul(c/u)
15.	Metaloproteinasa del FvW	(2 alícuotas 200 ul c/u)
16.	FVIII cromogénico	(2 alícuotas 300 ul c/u)
17.	Estudio multímeros	(2 alícuotas 200 ul c/u))
18.	Generación de Trombina en Plasma pobre en plaquetas (PPP)	(2 alícuotas 500 ul c/u)

INDICACIONES PARA MUESTRAS DE SUERO

Técnicas que requieren uso de suero:

- 1.- Anticuerpos Antiplaquetarios y prueba de compatibilidad plaquetaria
- 2.-Anticuerpos antiplaquetarios dependientes de Heparina
- 3.-Anticuerpos dependientes de droga

El paciente no requiere ayuno, y la muestra solicitada es tomada en tubo tapa roja (sin anticoagulante)

Si no se puede enviar el tubo inmediatamente al laboratorio, luego de producida la coagulación se debe centrifugar 10 minutos a 1500g y separar el suero en 2 alícuotas de 200 ul cada una, claramente identificadas con el nombre del paciente.

Mantenga las alícuotas refrigeradas (4°C) hasta que se envíen al laboratorio.

Idealmente, hacer el traslado con unidades refrigerantes. En caso de haber congelado, evite que se descongelen en el traslado.



MUESTRAS QUE NO DEBEN SER CENTRIFUGADAS

Las siguientes técnicas son procesadas del tubo primario (**sin centrifugación**). Enviar como **sangre total**.

Técnicas:

- 1.- Agregación Plaquetaria**
- 2.- Secreción Plaquetaria**
- 3.- IgG unida a plaquetas (PalgG)**
- 4.- Serotonina intraplaquetaria**
- 5.- RIPA plaquetario**
- 6.- Estudio mutación Protrombina**
- 7.- Estudio mutación FV Leiden**
- 8.- Estudio mutación MTHFR (C677T)**
- 9.- Tipificación de antígenos plaquetarios**
- 10.- Generación de Trombina en Plasma rico en plaquetas (PRP)**
- 11.- Tiempo de lisis del coagulo en PRP**

Cualquier consulta por favor contactarse directamente con nuestro laboratorio, al 223543776.
(TM Patricia Hidalgo, coordinadora Laboratorio Hemostasia)

La dirección de recepción de muestras externas es la Unidad de Convenios Marcoleta 350, primer piso. Supervisora: Marisol Madariaga (mmadariaga@med.puc.cl) 56-223548267