

Evaluación del coagulómetro ACL-TOP, versión 1.5

R. Castelltort, M. Tena, S. Martín, M^ªL. García Valcárcel, P. Bermejo, J.M^a Navarro

Resumen

Las nuevas demandas en los laboratorios de coagulación requieren equipos con unas características de velocidad y capacidad similar a los analizadores de bioquímica. El presente estudio ha evaluado un analizador de características similares a los modernos equipos de bioquímica. El ACL TOP (Instrumentation Laboratory) es un analizador con posibilidad de realizar análisis coagulométricos, cromogénicos e inmunológicos. Las determinaciones analizadas han sido: tiempo de protrombina (TP), tiempo de cefalina (aPTT) y antitrombina (AT), presentando unos excelentes resultados de precisión tanto intraserial como interserial. El estudio comparativo se realizó con nuestro coagulómetro de rutina STA (Roche Diagnostic) y no mostró diferencias significativas en ninguna de las pruebas evaluadas, además, el ACL TOP posee un sencillo sistema operativo.

Palabras clave: Evaluación; Coagulómetro; Análisis coagulación; Pruebas globales.

Summary. Evaluation of the coagulometer ACL-TOP, version 1.5

The new demands for the clotting laboratories, require analyser with higher speed and capacity similar to the analysers of biochemistry. In the present study, the performance of a coagulometer system was evaluated. The ACL TOP (Instrumentation Laboratory) is a fully automatic random access analyser for coagulometric, chromogenic and immunological assays. The tests performed were: prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (aPTT) and antithrombin (AT). That gives out excellent results of precision as much withinrun as betweenrun levels. The comparison study was performed by testing duplicate patient samples using the ACL TOP and the analyzer STA (Roche Diagnostics). The correlation observed between the ACL TOP and STA was satisfactory for all test assayed. Overall, the ACL TOP is easy to perform due to a convenient user software.

Key words: Evaluation; Coagulation analysis; ACL TOP.

1. INTRODUCCIÓN

Las nuevas demandas para los laboratorios de análisis de la coagulación exigen equipos con unas prestaciones de velocidad y capacidad a la medida de los analizadores de bioquímica. En el presente estudio, se ha evaluado el comportamiento de un coagulómetro multicanal, con unas características similares a un analizador de bioquímica, que permite realizar un gran número de determinaciones en el mismo día.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Instrumentación

El coagulómetro ACL-TOP (IL:Instrumentation Laboratory; Izasa), es un nuevo modelo de coagulómetro controlado por un ordenador con un sistema operativo Windows 2000 con una comunicación con el usuario de una forma interactiva. Posee una pantalla táctil de 17 pulgadas, que permite la validación automática de los resultados mediante unos criterios configurables, repetición automática de pruebas (configurable), control de cali-

dad por unidad de tiempo o bien por número de pruebas. Permite el uso de tubo primario o de cubetas, sin necesidad de adaptadores. Tiene una capacidad de 120 muestras en gradillas y la posibilidad de 60 posiciones de reactivos (36 reactivos y 24 posiciones adicionales de diluyentes, controles y calibradores). Tanto los ambientes de las muestras como de los reactivos están refrigerados.

El coagulómetro tiene la posibilidad de realizar pruebas turbidimétricas, colorimétricas e inmunoturbidimétricas. Tiene dos longitudes de onda de 670 nm y 405 nm, para realizar la lectura. Posee tres brazos (1 de muestras y 2 de reactivos) y una cinta transportadora que se encarga de trasladar las cubetas de la zona de muestras a la zona de reactivos y lectura. El brazo 2 es el encargado de introducir el primer reactivo, mientras que el brazo 3 introduce el reactivo de disparo. Cuando la lectura ha concluido, la cubeta es trasladada por la cinta al cajón de desechos.

2.2. Reactivos

Los reactivos utilizados han sido suministrados por IL Instrumentation Laboratory:

- Tiempo de protrombina: Recombiplastin, tromboplastina recombinante humana, lote n° 934137.
- Tiempo de cefalina: Synthasil, fosfolípido sintético, lote n° 532611.
- Antitrombina III: IL Test Antithrombin, lote n° 1236217.

- Controles: Normal Control, lote n° 130699, High Abnormal Control lote n° 1029697, Low Abnormal Control lote n° 733515.
- Calibradores: Hemosil Calibration Plasma, lote n° 1135118.

2.3. Procedimiento

El estudio se realizó entre los meses de mayo y junio del año 2004 siguiendo las recomendaciones de la NCCLS (1) y de la SEQC (2).

Estudio de la imprecisión

Se estudió la imprecisión intraserial e interserial utilizando controles comerciales (IL) a tres concentraciones diferentes. Las magnitudes estudiadas fueron el tiempo de protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA) y antitrombina III (ATIII).

Para el estudio de la imprecisión intraserial se procesaron una serie de veinte determinaciones de cada nivel de control para cada una de las técnicas estudiadas, y para el estudio de la imprecisión interserial se realizó una determinación de cada una de las magnitudes para cada concentración del control durante 20 días.

Estudio del error sistemático

Se realizaron estudios de linealidad, deriva, contaminación y comparación de métodos.

Linealidad

Se escogió la antitrombina III para realizar el estudio de la linealidad por ser un método cromogénico. Se emplearon una mezcla de especímenes con una elevada concentración de antitrombina III y otra mezcla de baja concentración de la misma. Mediante unas diluciones sucesivas se obtuvieron seis concentraciones y se realizaron determinaciones por triplicado de cada una de ellas durante tres días consecutivos.

Deriva

Se estudió la deriva durante cinco horas de trabajo, para cada hora y cada una de las técnicas empleadas (TP, APTT y ATIII). Se realizó durante tres días y se emplearon los tres niveles de material control.

Contaminación

El estudio de la contaminación entre los reactivos se ha realizado para la antitrombina III debido a la facilidad de contaminación respecto al tiempo de cefalina. Para ello, se procesó por triplicado una mezcla de plasmas para la antitrombina III (A1,A2,A3) seguido de la determinación del tiempo de cefalina, y a continuación se midió otra vez la mezcla para la antitrombina III (B1,B2,B3) durante tres días consecutivos. Se calculó el porcentaje de contaminación según fórmula matemática: porcentaje de contaminación = $(B1 - B3) / (A3 - B3)$ (5).

Se estudió el efecto contaminante de la heparina sobre una mezcla de muestras para el tiempo de protrombina (TP). Se procesó una mezcla de muestras dentro del intervalo de referencia para el TP y de muestras contaminadas con 1000 UI/mL de heparina sódica (heparina sódica Rovi 1%, Laboratorios Farmacéuticos Rovi S.A.) y posteriormente se repitió el TP para la primera mezcla de muestras. El estudio se realizó durante tres días consecutivos y se calculó el porcentaje de contaminación de una forma idéntica al anterior.

Estudio de comparación de procedimientos

Se compararon los resultados obtenidos en el coagulómetro ACL-TOP para el tiempo de protrombina, el tiempo de tromboplastina

parcial activada y la antitrombina III, con los obtenidos con el coagulómetro STA (Roche) utilizado en la rutina de nuestro laboratorio. Para ello, se han calculado los parámetros a y b de la recta de regresión por el método no paramétrico de Passing-Bablok, así como los intervalos de confianza para un riesgo $\alpha = 0,05$. (3)

Practicabilidad del analizador

Para el estudio de la practicabilidad se analizaron diversas prestaciones siguiendo las recomendaciones del comité científico de instrumentación (4): Organización del trabajo; velocidad de procesamiento; tratamiento de la información; versatilidad; controles de seguridad; formación del personal y mantenimiento del analizador.

2.4. Métodos estadísticos

Se utilizó el programa informático PETRESA de la SEQC/Menarini Diagnostics, para la evaluación de instrumentos.

3. RESULTADOS

3.1. Imprecisión

En la tabla I aparecen expresados los coeficientes de variación (CV) obtenidos para cada constituyente y para las tres concentraciones estudiadas: control bajo, normal y alto.

Tabla I. Valores de imprecisión intraserie e interserie

Intraserie				
		n	Media	CV %
TP seg.	Normal	20	11,8	0,7
	Low	20	29,1	0,7
	High	20	42,8	1,1
APTT seg.	Normal	20	30,8	1
	Low	20	50,6	0,7
	High	20	62,8	0,8
AT III %	Normal	20	122	1,6
	Low	20	28	4
	High	20	19,9	3,9

Interserie				
		n	Media	CV %
TP seg.	Normal	20	11,7	1,8
	Low	20	28,9	2,6
	High	20	41,8	2
APTT seg.	Normal	20	29,4	2,3
	Low	20	49,9	1,5
	High	20	61	1,8
AT III %	Normal	20	119	2,3
	Low	20	28,1	6,1
	High	20	19,6	5,9

TP: tiempo de protrombina

APTT: tiempo de tromboplastina parcial activada

ATIII: antitrombina III

C. V.: Coeficiente de Variación

La figura 1 muestra los resultados de la imprecisión intraserie para las técnicas estudiadas. Se observa que el CV intraserie para el TP y APTT en los tres niveles de concentración estudiados no supera un porcentaje del 1,5%; mientras que el CV para AIII se situa en el 4%.

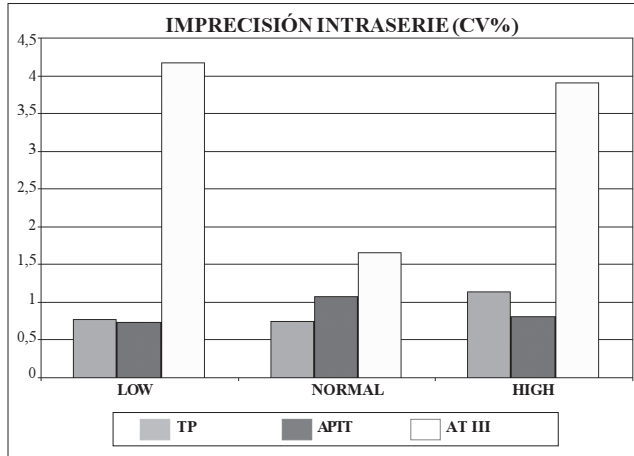


Figura 1. Imprecisión intraserie (CV%) del tiempo de protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial (APTT) y antitrombina III (ATIII) para el control High, Normal y Low.

En la figura 2 aparecen reflejados los resultados de la imprecisión interserie. Para el tiempo de cefalina y la antitrombina III, los coeficientes de variación oscilaron entre 1,6% para el control de nivel bajo del tiempo de cefalina y el 6,3% para el control de nivel bajo de la antitrombina III. Mientras que para el tiempo de protrombina estuvieron entre 1,8 y 2,6%.

La comparación del sistema fue realizada con el coagulómetro de rutina de nuestro laboratorio (STA, Roche Diagnostics). Los resultados se muestran en la tabla II, y en las figuras 3, 4 y 5. El

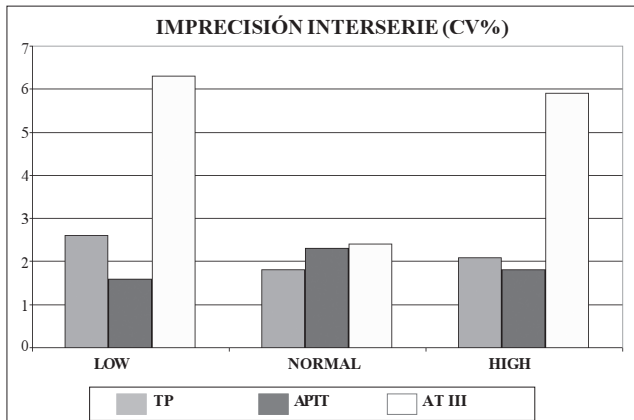


Figura 2. Imprecisión interserie (CV%) del tiempo de protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial (APTT) y antitrombina III (ATIII) para el control High, Normal y Low.

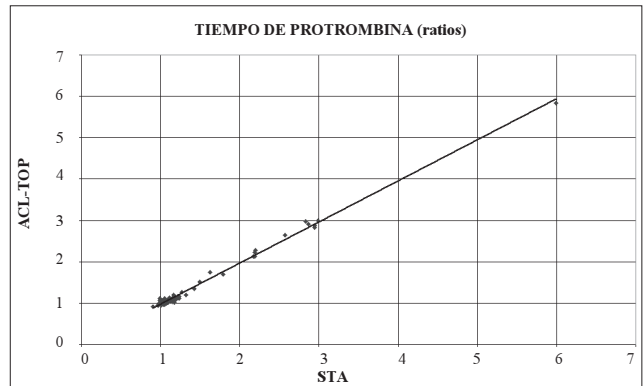


Figura 3. Regresión tiempo de protrombina STA versus ACL-TOP.

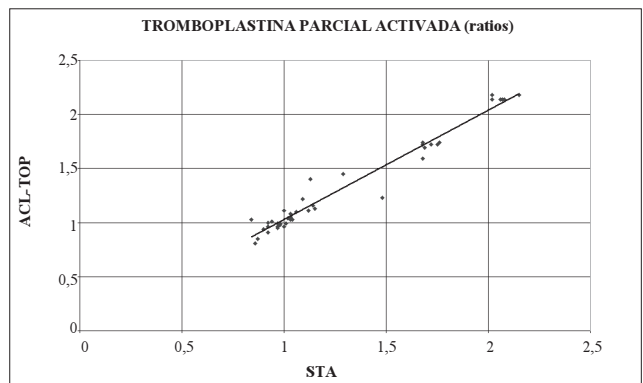


Figura 4. Regresión tiempo de tromboplastina parcial activada STA versus ACL-TOP

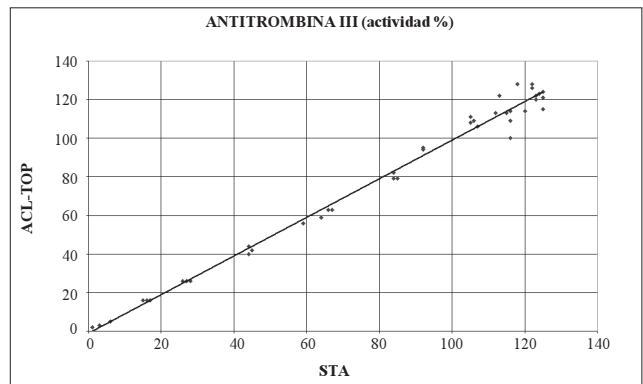


Figura 5. Regresión antitrombina III STA versus ACL-TOP.

Tabla II. Comparación de métodos. Regresión no paramétrica de Passing-Bablok.

Constituyente	N	Media STA	Media ACL	r	a	ic 95%	b	ic 95%
TP ratio	81	1,37	1,34	0,98	-0,066	(-0,03 – 0,561)	0,9789	(0,92 – 1,005)
APTT ratio	43	1,28	1,31	0,98	-0,0222	(-0,02 – 0,20)	1,037	(1,0 – 1,09)
AIII %	42	80,5	81,6	0,99	1,0	(-0,531 – 4,674)	1,0	(0,963 – 1,025)

N: nº de determinaciones; r: Coeficiente de correlación de Pearson; "a": ordenada en el origen; "b": pendiente; i.c.: intervalo de confianza. TP: tiempo de protrombina; APTT: tiempo de tromboplastina parcial activada; AIII: antitrombina III.

procedimiento estadístico utilizado fue el método de regresión no paramétrico de Passing y Bablok.

Linealidad

Se midió el intervalo de linealidad para la antitrombina III, que se mostró lineal entre las concentraciones de 2 y 120%. En este estudio no se probaron valores superiores (figura 6). Para el tiempo de protrombina, el tipo de curva que sigue no es lineal, siguiendo una recta al relacionar el inverso de la concentración con el tiempo (por ejemplo: $1/C = 0,155 \text{ tiempo} - 1,065$) y para el tiempo de tromboplastina parcial activada la medida es el de un tiempo de coagulación que no sigue ningún modelo de linealidad ni curva, por ser pruebas globales de despistaje.

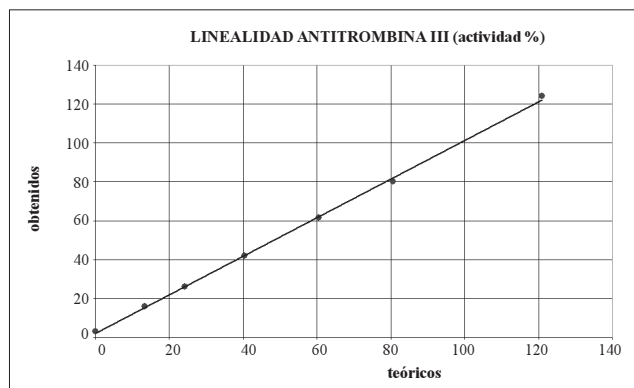


Figura 6. Linealidad antitrombina III.

Deriva

La deriva entre la media de los triplicados y cualquiera de los siguientes es inferior en todos los casos a dos veces la desviación estándar total, excepto en el control de nivel alto para el tiempo de protrombina (tabla III).

Contaminación

No se mostró contaminación significativa entre los reactivos de antitrombina y cefalina, que fue inferior a dos veces el coeficiente de variación intraserial para la técnica (el porcentaje de contaminación fue de 0,4%). Tampoco entre muestras, donde el porcentaje fue de cero.

Practicabilidad (4)

• **Organización del trabajo:** Una vez ha adquirido la temperatura de trabajo y se ha cargado el equipo de reactivos y muestras, el inicio del funcionamiento es automático.

En cuanto al procesado de las muestras, puede trabajar de diferentes maneras, por muestras o por series, puede realizar análisis urgentes, y utilizar tubo primario de diferentes medidas, copas, microcopas, sin indicárselo previamente, ya que el aparato detecta automáticamente el tipo de contenedor. La identificación de los reactivos se realiza por código de barras, así como la de muestras que también puede realizarse por teclado.

• **Velocidades:** El análisis de 50 tiempos de protrombina tarda 8 minutos. El de 50 tiempos de cefalina tarda 9 minutos, el de 50 tiempos de protrombina más 50 de cefalina tarda 24 minutos. Finalmente el tiempo que tarda en realizar 50 tiempos de protrombina más 50 tiempos de cefalina más 50 antitrombina III es de 44 minutos.

Tabla III. Deriva: valores medios de los triplicados

Deriva Intradía					
Tiempo de protrombina (TP en seg.)					
Hora	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª
Normal	11,7	11,6	11,6	11,4	11,5
Abnor. Low	29,7	28,8	28,9	28,7	28,5
Abnor. High	42,2	40,9	40,2	41,3	40,2
Tiempo de cefalina (APTT en seg.)					
Hora	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª
Normal	29,6	30,1	29,8	29,3	29,9
Abnor. Low	49,7	49,4	48,8	48,4	49
Abnor. High	60	60	59,7	59,1	59,7
Antitrombina III (%)					
Hora	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª
Normal	121	120	122	123	123
Abnor. Low	29	28	29	31	30
Abnor. High	18	18	18	19	20
Deriva Interdía					
Tiempo de protrombina (TP en seg.)					
Hora	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª
Normal	11,8	11,7	11,6	11,6	11,6
Abnor. Low	29,7	28,8	28,5	28,3	28,2
Abnor. High	42,5	41,4	40,8	40,8	40,6
Tiempo de cefalina (APTT en seg.)					
Hora	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª
Normal	29,6	29,7	29	29,1	29,4
Abnor. Low	50,1	49,8	48,9	48,8	48,8
Abnor. High	60,5	60,5	60,1	59,5	60,1
Antitrombina III (%)					
Hora	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª
Normal	122,6	120,6	123,6	124,5	124,6
Abnor. Low	28	27	29	30	30
Abnor. High	19	20	19	20	20

• **Tratamiento de la información:** La entrada de datos puede ser por teclado, o por conexión bidireccional, con identificación positiva de muestras. Tiene la posibilidad de ver los resultados por la pantalla aunque el análisis este incompleto, validar los resultados y añadir nuevas técnicas, y la capacidad del archivo es de 15.000 pacientes.

• **Versatilidad:** Es un sistema abierto, con la posibilidad de adaptar reactivos de otras marcas.

• **Controles de seguridad:** Existen señales de alarma para reactivos, muestras, controles, mecánicas y de mantenimiento.

• **Formación del personal:** En nuestro caso, el tiempo de aprendizaje para trabajar la rutina sin incidentes fue de tres días.

• **Mantenimiento:** Existe una señal de alarma que avisa diariamente al conectar el aparato de la necesidad de realizar un sencillo mantenimiento de las pipetas para trabajar.

4. DISCUSIÓN

Para todos los métodos de coagulación ensayados, hemos comparado los resultados obtenidos con los del coagulómetro de rutina

en el laboratorio, cada uno con sus respectivos reactivos. En todos los casos las regresiones fueron comparables entre los dos aparatos para el tiempo de cefalina y de protrombina, se encontró un error de tipo proporcional en la antitrombina III que se corrigió con mejoras en la calibración. Para las demás técnicas no se encontraron diferencias según la regresión de Passing y Bablok (3).

Como puntos de mejora diríamos :

1. Que la entrada de los valores de controles y calibradores deberían entrar al introducir los códigos de barras de los mismos.
2. No debería permitir el trabajar con los controles de calidad fuera de los límites establecidos.

Como conclusiones podemos indicar que el coagulómetro ACL-TOP, pertenece a la nueva familia de coagulómetros, con la filosofía de un analizador de bioquímica, que presenta excelentes resultados de precisión tanto intra como interserial, que utiliza tubo primario, acceso selectivo, identificación positiva por código de barras o bien por teclado, que diluye automáticamente las muestras, que posee diversos protocolos que se adaptan a las necesidades del usuario, que presenta una comunicación bidireccional, y que además posee un fácil manejo.

Agradecimientos

A la Dra. Carmen Perich Alsina por la revisión de este escrito.

BILBIOGRAFÍA

1. ECCLS Guidelines for the evaluation of analysers in clinical chemistry, 3rd draft; document vol. 3 nº 2 june 1986.
2. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Selección y evaluación de sistemas analíticos. Masanas Gráficas. Barcelona 1994.
3. Passing H, Bablok W. A new Biometrical Procedure for testing the equality measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, part I J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-20.
4. Comité Científico de Instrumentación. Criterios para la evaluación de la practicabilidad. Química Clínica 1993;12:102-5.
5. Aulesa C, Petit M, Sentís M, Ortega JJ. Primera evaluación del analizador de coagulación ACL-Futura. Sangre 1996;41:417-26.

Correspondencia

Ramón Castellort
CAP Bon Pastor Laboratorio
c/ Mollerusa s/n
08030 Barcelona