

**INSTRUCTIVO DE EXTRACCION Y DERIVACION DE MUESTRAS
ESTUDIO DE ADAMTS13 y COMPLEMENTO**

Léase el siguiente instructivo para la obtención de muestras que sean representativas de la patología que presenta el paciente, y que brinde información certera sobre su diagnóstico y seguimiento.

CONSIDERACIONES IMPORTANTES PARA LA EXTRACCION Y EL PROCESAMIENTO

- ❖ Las muestras deben ser extraídas **antes de iniciar tratamiento** inmunosupresor y/o transfusional.
- ❖ **Para el análisis del sistema de complemento deben procesarse y almacenarse en frío**, ya que puede existir activación *in vitro* de las proteínas involucradas en la vía cuando las muestras son mantenidas y procesadas a temperatura ambiente.
- ❖ Debe **respetarse el tiempo** entre la extracción de la muestra y el envío.
- ❖ Considerar que **para varias determinaciones pueden utilizarse la misma muestra** (teniendo en cuenta escaso volumen de muestra).
- ❖ Considerar que para algunas determinaciones, **pueden optar por un procesamiento específico** (teniendo en cuenta su infraestructura y equipamiento disponible, ver tabla más abajo y pagina 2).

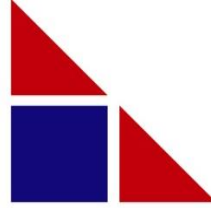
DATOS IMPORTANTES PARA LA DERIVACION

- ❖ Efectuar consulta previa por trámites administrativos al Departamento de Hemostasia y Trombosis:
Tel: **+54 911 4803-9475/4809-1051/4809-1081**. Email: **trombosis@hematologia.anm.edu.ar**
- ❖ **NO ENVIAR MUESTRAS SIN HABER CONTACTADO EL DEPARTAMENTO DE HEMOSTASIA Y TROMBOSIS.**
- ❖ Las extracciones de sangre pueden ser derivadas sin ser previamente fraccionadas, únicamente si pueden ser enviadas el mismo día de su extracción y dentro de las 24h, sin cortar la cadena de frío (4°C), para ser procesadas directamente en nuestro departamento.
- ❖ Las muestras se reciben de **Lunes a Viernes, de 8 a 13 hs.**

DETERMINACIONES

Ensayos	Muestra	Anticoagulante	Vol. mínimo (adultos)	Procesar	Derivar
❖ Actividad ADAMTS13 ❖ Inhibidores de ADAMTS13	Plasma	Citrato	0,5 ml	TA	-20°C (alícuota)
❖ Multímeros VWF	Plasma	EDTA	0,5 ml	TA	-20°C (alícuota)
❖ C5b-9 ❖ C3Nef / PDC	Plasma	EDTA	0,5 ml	4°C	4°C (sangre entera) o -20°C (alícuota)
❖ CD46	Sangre entera	EDTA	1 ml	NA	TA (en posición vertical)
❖ Anti-CFH	Plasma / Suero	EDTA o Citrato / NA	0,5 ml	TA o 4°C	TA o 4°C (sangre entera) o -20°C (alícuota)
❖ CH50 ❖ NAVAC	Suero	NA	0,5 ml	TA o 4°C	4°C o -20°C (alícuota)
❖ BM ADAMTS13 ❖ BM CFH, CFI, CD46, C3, CFB, THBD ❖ MLPA CFH-CFHRs	Sangre entera	EDTA	1 ml	NA	TA

ml: mililitros, TA: temperatura ambiente, NA: no aplica, BM: biología molecular



INSTRUCTIVO DE EXTRACCION Y DERIVACION DE MUESTRAS ESTUDIO DE ADAMTS13 y COMPLEMENTO

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

- ❖ Las muestras obtenidas con anticoagulantes deben mantener una proporción 1:9; es decir, 1 vol. de anticoagulante y 9 vol. de sangre; mezclar por inversión. Controlar que no estén coaguladas.
- ❖ Seguir los pasos de centrifugación para cada tipo de muestra (ver más abajo). El rotulo deberá contemplar el anticoagulante utilizado, la fecha de extracción y nombre del paciente.

PLASMA – CITRATO 3,2% o 3,8% - Actividad e Inhibidores ADAMTS13 / Anti-FH

- 1- Centrifugar a 1500g (3500-4000 rpm), 15-20 minutos a temperatura ambiente.
- 2- Trasvasar el plasma a un nuevo tubo de plástico y centrifugarlo a las mismas condiciones mencionadas en el paso 1-
- 3- Trasvasar a nuevo tubo de plástico, rotular y congelar la muestra a -20°C hasta su derivación.

PLASMA – EDTA – Multímeros VWF / C3Nef / PDC / Anti-FH

- 1- Centrifugar a 1500g (3500-4000 rpm), 15-20 minutos a temperatura ambiente para la determinación de multímeros o a 4°C para la determinación de C3Nef y PDC.
- 2- Trasvasar el plasma a un nuevo tubo de plástico y centrifugarlo a las mismas condiciones mencionadas en el paso 1-
- 3- Trasvasar a nuevo tubo de plástico, rotular y congelar la muestra a -20°C hasta su derivación.

PLASMA – EDTA – C5b-9 / C3Nef / PDC / Anti-FH

- 1- Conservar rápidamente la sangre entera –sin centrifugar– a 4°C y mantenerla en frío hasta 24hs máximo. Derivar la muestra refrigerada dentro de las 24hs sin cortar la cadena de frío.
- 2- En caso de que el tiempo de derivación fuese mayor a 24hs: si disponen de una centrifuga refrigerada, deberán centrifugar la muestra a 4°C, a 1000g durante 10 minutos, trasvasar el plasma a nuevo tubo de plástico y volver a centrifugar a 4°C a 12.000g durante 4 minutos.
- 3- Trasvasar a nuevo tubo de plástico, rotular y congelar la muestra a -20°C hasta su derivación.

SUERO – CH50 / NAVAC / Anti-FH

- 1- Dejar reposar la sangre al menos 30 minutos a temperatura ambiente después de la extracción.
- 2- Centrifugar a 1500g (3500-4000 rpm) durante 15-20 minutos a 4°C de preferencia o a temperatura ambiente.
- 3- Trasvasar a nuevo tubo de plástico, rotular y congelar la muestra a -20°C o -80°C hasta su derivación.

SANGRE ENTERA – EDTA – CD46 / BIOLOGIA MOLECULAR

- 1- Para la determinación de CD46: mantener la sangre entera a temperatura ambiente y derivar la muestra dentro de las 24hs. **NO congelar** la muestra de sangre entera.
- 2- Para el estudio de BM: mantener la sangre entera a 4°C hasta la derivación. **NO congelar** la muestra de sangre entera.

DERIVACION DE LAS MUESTRAS

- ❖ Rotular los tubos con nombre completo, fecha de extracción y tipo de muestra (citrato, EDTA, suero).
- ❖ Enviar las muestras congeladas sin cortar la cadena de frío (usar hielo seco).
- ❖ Enviar las muestras de sangre entera (EDTA) para determinación de C5b-9 dentro de las 24hs de la extracción sin cortar la cadena de frío (4°C). Asegurarse que los tubos de sangre entera no estén en contacto directo con el frío/hielo para evitar la hemólisis.
- ❖ Enviar las muestras de sangre entera (EDTA) para BIOLOGIA MOLECULAR y para la determinación de CD46 a temperatura ambiente, los tubos en posición vertical para evitar la hemólisis.
- ❖ Informar a nuestro departamento las condiciones de procesamiento y de conservación de la muestra utilizadas (temperatura de centrifugación, conservada a 4°C o -20°C, otro dato relevante).