

# PREPARACIÓN DE UNA CURVA DE ACTIVIDAD DE LA PROTROMBINA

## **1. Introducción:**

Los resultados de una determinación del tiempo de protrombina (TP) pueden expresarse en forma de porcentaje de actividad (índice de Quick).

Para ello es necesario preparar, previamente, una curva de actividad de protrombina y, posteriormente, interpolar en la gráfica trazada el valor en segundos del TP determinado en el plasma problema.

## **2. Fundamento:**

Para construir una curva de actividad de la protrombina se prepara una batería de diluciones, a partir de un plasma control normal, y se mide el TP del plasma control normal no diluido y de cada una de las diluciones preparadas.

Tras ello, se asigna el 100% de actividad al número de segundos medidos en la determinación del TP del plasma control normal puro, y se calcula el % que, proporcionalmente, les corresponde a los valores de TP determinados en cada una de las diluciones de éste.

Con todos estos datos, se traza una curva de calibrado (curva de actividad de la protrombina), anotando, en el eje de ordenadas (el vertical), los valores, en segundos, del TP del plasma control no diluido y de cada una de sus diluciones, y, en el eje de Abscisas (el horizontal), el % de actividad asignado a cada uno de ellos.

## **3. Material:**

- 8 tubos de ensayo de plástico.
- Un rotulador de vidrio de punta fina.
- Una prepipeta de seguridad.
- Una pipeta graduada de vidrio de 1 ml de capacidad.
- Una pipeta automática capaz de dispensar 100 y 200  $\mu$ l.
- 7 puntas de pipeta automática
- 5 cubetas de coagulómetro.
- 5 trocitos de acero especiales para depositar en el interior de las cubetas.
- Un coagulómetro.
- Un baño de agua ajustable a 37 °C
- Un bolígrafo
- Regla
- Una hoja de papel milimetrado.
- Una gradilla.

## **4. Reactivos:**

- Solución salina al 0,85%
- Tromboplastina cálcica

- Un pool de plasmas normales o plasma control normal.

A partir del plasma control preparar:

Plasma control (en $\mu\text{l}$ )	200	200	200	200	200
Solución salina 0,85%	0	200	400	600	1800
Dilución	1/1	1/2	1/3	1/4	1/10
% Actividad	100	50	33	25	10

Los tubos han de ser rotulados con la cuantía de la dilución que contienen o con el % de actividad asignado a cada dilución.

### 5. Técnica:

- Homogeneizar la tromboplastina cálcica y las diluciones de plasma, sin agitarlas bruscamente.
- Depositar el volumen total de tromboplastina cálcica que se va a necesitar, en un tubo de ensayo de plástico, adecuadamente rotulado.
- Atemperar la tromboplastina cálcica a 37 °C (37 °C/5-15 minutos).
- Introducir un trocito de acero apropiado en 5 cubetas del coagulómetro.
- Rotular el extremo superior de una cubeta con el % de actividad de 100, el de otra con el de 50, el de otra con el de 33, el de otra con el de 25 y el de otra con el de 10.
- Verter 100  $\mu\text{l}$  de plasma puro y de cada una de sus diluciones en el interior de las cubetas rotuladas con el % de actividad que les corresponde.
- Incubar el plasma, contenido en cada cubeta, a 37 °C, entre 3 y 5 minutos. Para ello, pueden depositarse las cubetas en la placa calefactora del coagulómetro.
- Colocar, sucesivamente, cada una de las 5 cubetas en la celda de medida del coagulómetro y agregar 200  $\mu\text{l}$  de tromboplastina cálcica.
- Tomar la lectura de cada una de las determinaciones.

#### 1. Lectura de los resultados.

Lo más correcto es determinar 3 veces el TP del plasma control puro y de cada una de sus diluciones y dar, como resultado final, la cifra media calculada a partir de cada trío de valores.

Confeccionar la curva tal como vimos en el fundamento. Posteriormente, se señalan en la gráfica los puntos en que confluyen cada valor de TP con su % de actividad correspondiente. Y, finalmente, se dibuja la línea recta que mejor representa los puntos.