

# Bioclin

## TP BIOCLIN

K089

### INSTRUÇÕES DE USO

#### FINALIDADE

Método para a determinação manual ou automatizada do tempo de protrombina em plasma citratado. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

#### PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Coagulometria

Consiste na medida do tempo de coagulação do plasma após a adição de uma fonte de tromboplastina ( fator III , fator tissular) e cálcio. O fator VII é então ativado, formando um complexo (Complexo FT-FVIIa) que irá ativar os fatores IX e X.O fator Xa junto com os fosfolípidos do fator tissular, fator Va e cálcio formam o complexo ativador de protrombina que transforma a protrombina(fator II) em trombina ( fator IIa). A trombina atua sobre o fibrinogênio transformando-o em fibrina.

Este teste avalia os fatores do complexo protrombínico ( fatores II, V, VII e X).

Enfim, o TP é o tempo necessário para formação de coágulo, após a mistura de fator tissular, tromboplastina e cálcio.

#### REAGENTE

**Número 1 – Formador de Coágulo** – conservar entre 2 e 8°C. Contém Extrato de cérebro de coelho 2,6 %, cloreto de cálcio 23 mmol/L, tampão tricrina 75 mmol/L e azida sódica 0,05%.

**Apresentação pronta para uso.** Conservar entre 2 e 8°C.

#### APRESENTAÇÃO

Apresentação	Reagente 1
1	10 x 2 mL
2	20 x 2 mL
3	10 x 5 mL
4	20 X 5 mL

#### EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Papel LOG-LOG, ponteiras e pipetas, tubos, coagulômetro ou cronômetro. Encontram-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

#### CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8°C. O transporte, em temperaturas entre 15 e 30°C, não deverá exceder a 72 (setenta e duas) horas. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade.

#### CUIDADOS ESPECIAIS

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*;
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos;
- 3 - O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança de acordo com a legislação vigente.
- 4 - Manusear com cuidado os reagentes pois eles contêm Azida sódica, irritante para pele e mucosas.

#### AMOSTRAS

**Material:** Plasma

**Anticoagulante:** Utilizar como anticoagulante o citrato de sódio 3,8% (0,130 M) , na proporção de 9 partes de sangue para 1 de anticoagulante (como exemplo: 4,5 ml de sangue + 0,5 ml de anticoagulante).

**Coleta:** O sangue deve ser obtido por punção venosa , evitando hemólise, garroteamento prolongado, formação de bolha e aspiração de líquido tissular.

**Preparação:** O sangue deverá ser misturado com o anticoagulante logo após a coleta.

Centrifugar imediatamente a 3000 rpm , durante 15 minutos .

Remover o plasma sem pipetar células vermelhas ou a camada amarela. As amostras deverão ser testadas em menos de 3 horas . Se o teste não puder ser feito neste período o plasma deverá ser congelado por no máximo 1 semana à -20 °C.

#### Interferentes:

- Hemólise e lipemia excessivas. Uso de plasmas com heparina e EDTA.
- O TP pode ser aumentado por substâncias como: anticoagulantes heparina e varfarina, contraceptivos orais, etanol, tetraciclina, corticosteróides e EDTA.
- A redução do TP é observada em pacientes em uso de: vitamina K, anti-histamínicos, cafeína e fenobarbital.

#### TÉCNICA

É necessário que os testes sejam realizados em duplicata, assim como os controles.

- 1 - Pré-aquecer as amostras e controles a 37°C, de 2 a 3 minutos (em banho-maria ou blocos térmicos).
- 2 - Homogeneizar o reagente TP Bioclin antes do uso.
- 3 - Em um tubo limpo colocar 200µL o reagente TP Bioclin e incubá-lo a 37°C de 4 a 5 minutos.
- 4 - Pipetar 100 µL da amostra para o tudo contendo reagente e disparar o cronômetro.
- 5 - Deixar o tubo no aquecimento agitando-o vagarosamente.
- 6 - Retirar o tubo antes do tempo de coagulação previsto, e registrar o tempo da formação do coágulo.
- 7 - Calcular a média dos resultados obtidos pela duplicata.

#### CÁLCULOS E RESULTADOS

Os resultados do tempo de protrombina podem ser expressos como:

**Tempo de quick:** Em segundos.

**Percentual de atividade:** Relacionado a um plasma normal (considerado 100% de atividade) , sendo que para isto deve-se traçar uma curva de atividade , utilizando um pool de plasmas normais recém colhidos e diluídos com salina fisiológica (0,9%).

#### Curva

DILUIÇÕES	1:1	1:2	1:3	1:4	1:8	1:10
POOL (mL)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
SOL. FISIOLÓGICA (mL)	---	0,2	0,4	0,6	1,4	1,8
ATIVIDADE	100%	50%	33%	25%	12,5%	10%

Determinar o Tempo de Protrombina para cada diluição em duplicata , calculando o valor médio dos resultados.

Em um papel log-log , plotar o gráfico colocando o valor de segundos no eixo y e o valor da porcentagem no eixo x.

Este procedimento deverá ser repetido a cada lote .

#### RNI ( relação normalizada internacional) :

Para se obter RNI deve-se relacionar a razão do tempo de protrombina do paciente pelo tempo de plasma normal com o ISI (Índice de Sensibilidade Internacional), como mostrado abaixo.

O valor de ISI é enviado com o kit.

$$RNI = ( TP_{paciente} / TP_{normal} )^{ISI}$$

TP Paciente: 13,5 seg

TP normal (referência): 12 seg

ISI: 1,20

Exemplo:

$$RNI = (13,5/12)^{1,20} = 1,15$$

## CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens. Deve ser de 5% o erro máximo permitido em relação aos valores pré-estabelecidos para os controles.

## VALORES DE REFERÊNCIA

Tempo de protrombina (quick) – 10 a 14 segundos.

Atividade (%) – 70 a 100 %

RNI – 1,0 a 1,08 em pessoas sadias

- 2,0 a 3,5 em pacientes que fazem uso de anticoagulantes orais.

Cada laboratório deverá estabelecer os seus valores de referência, sendo que os resultados variam em relação ao reagente utilizado. Os resultados deverão ser expressos em RNI para normalizar a variação dos resultados entre os laboratórios.

Os valores de ISI são determinados através de comparação com um material de referência de tromboplastina primária.

Quanto mais baixo o ISI ,mais sensível o reagente.

## DESEMPENHO DO PRODUTO

### COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA

O Kit TP Bioclin foi comparado com outro método para avaliação de tempo de protrombina comercialmente disponível. Foram realizadas 07 análises e os resultados foram avaliados. O coeficiente de regressão linear:  $y = 1,0804x - 1,2695$  e o coeficiente de correlação = 0,9954. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

### Sensibilidade Analítica

A sensibilidade do kit é dada pelo valor do índice de Sensibilidade Internacional (ISI) e varia de 1,0 a 1,2.

### Especificidade

A especificidade do kit é garantida pela adição de uma fonte exclusiva de tromboplastina, ativador específico de fator VII, o que elimina a possibilidade de ativação direta de outros fatores da cascata de coagulação.

### Precisão

#### Repetibilidade

Foram realizadas 20 avaliações sucessivas com três amostras, obtendo-se os seguintes resultados:

Teste	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Atividade (%)	12,65	24,85	17,45
Desvio Padrão (%)	0,49	0,75	0,51
Coefic. de Variação (%)	3,87	3,00	2,93

### Reprodutibilidade

Foram realizadas 20 avaliações durante 3 dias consecutivos com três amostras, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Atividade (%)	12,57	24,77	17,40
Desvio Padrão (%)	0,19	0,08	0,05
Coefic. de Variação (%)	1,51	0,31	0,29

## SIGNIFICADO CLÍNICO

O teste avalia o tempo de protrombina, o aumento deste tempo deve-se a deficiências congênitas ou adquiridas dos fatores I, II, V, VII e X. Sendo assim, o teste de escolha para avaliação da redução dos fatores vitamina K dependente, e indicado no controle de pacientes em uso de anticoagulantes orais, doença hemorrágica do recém-nascido, insuficiência hepática.coagulação intravascular, distúrbios da ingestão e absorção de vitamina K. Avalia tanto a via extrínseca como a via comum da coagulação.

## NÚMERO DE TESTES

Apresentação	Reagente	Nº de testes
1	10 x 2 mL	100
2	20 x 2 mL	200
3	10 x 5 mL	250
4	20 X 5 mL	500

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - Hirsh J , Deykin D, Poller L: Therapeutic Range For Oral Anticoagulant Therapy. Chest 89/12 ( Suppl) 115-155, 1986.
- 2 - International Committee For . Standardization In Haematology And International Committee On Trombosis And Haemostasis . Amer. J. Clin. Path . 88:779 1985.
- 3 - National Committee For Clinical Laboratory Standards : Colleccion , Transport And Processing Of Blood Specimens For Coagulation Testing And Performance Of Coagulation Assays, 1991 . Nccls.
- 4 - Douketis Jd, Lane A , Milne J , Ginsberg Js. Trombosis Research , 1998 ; 92 : 11-17
- 5 - QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

## GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes Bioclin são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

## DADOS DO FABRICANTE

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca

CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil

Tel.: ( 31 ) 3439.5454 - Fax ( 31 ) 3439.5455

e-mail bioclin@bioclin.com.br

CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

## ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Atendimento ao Cliente Tel.: 0800 315454.

e-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA: 10269360151

Revisão: Novembro/2008