

Bioclin

TTPA BIOCLIN

K090

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Método para determinação manual ou automática do tempo de tromboplastina parcial ativada em plasma citratado. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Coagulometria.

Consiste na determinação do tempo de coagulação do plasma citratado, após a adição dos reagentes que contêm um ativador plasmático (ácido elágico) e fosfolípidos, que irão atuar como substitutos das plaquetas. Inicialmente o plasma é incubado com o ativador de contato, à 37°C por 3 minutos. Em seguida, adiciona-se o formador de coágulo (cloreto de cálcio) para a recalcificação, desencadeando o mecanismo de coagulação da via intrínseca.

Nesta etapa ocorre a formação do coágulo, devendo ser cronometrada.

REAGENTES

Apresentam-se prontos para o uso – conservar entre 2 e 8°C. Não congelar.

Número 1 – Ativador de contato - Cefalina Ativada - Contém extrato de cérebro de coelho, ácido elágico, e conservante.

Misturar por inversão antes de usar.

Número 2 – Formador de coágulo - Solução de Cloreto de Cálcio – Cloreto de cálcio (CaCl₂) 25 mmol/L e conservante.

APRESENTAÇÃO

| Apresentação | Reagente 1 | Reagente 2 |
|--------------|-------------|------------|
| 1 | 6 x 2,5 mL | 4 x 4 mL |
| 2 | 6 x 5 mL | 8 x 4 mL |
| 3 | 12 x 2,5 mL | 8 x 4 mL |
| 4 | 12 x 5 mL | 16 x 4 mL |

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Coagulômetro, banho-maria 37°C, relógio ou cronômetro, pipetas, tubos de ensaio. 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 obtenção de resultados exatos;
- 3 - O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio;
- 4 - O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança, de acordo com a legislação vigente.
- 5 - O reagente nº 1 contém azida sódica, irritante para pele e mucosas. Manusear com cuidado.
- 6 - Evitar o aquecimento do reagente que não será utilizado.

AMOSTRAS

Material: Plasma

Anticoagulante: Utilizar como anticoagulante o kit Citrato Bioclin A 001, conforme instruções de uso do mesmo, ou 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 e 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:

Amostras ictericas, lipêmicas ou hemolisadas

Uso de plasmas contendo heparina, EDTA ou oxalato de sódio.

Condições e substâncias que podem alterar o TTPa: contraceptivos orais, estrógeno, gravidez, drogas cumarínicas, heparina, asparaginase, ácido acetilsalicílico, metronidazol, digitálicos e tetraciclina.

TÉCNICA

Realizar os testes e controles em duplicata.

- 1 - Realizar pré-aquecimento de 100 µL das amostras/controles a 37°C, 2 minutos em banho-maria.
- 2 - Pipetar 100 µL do Reagente N° 1 e incubar à 37°C, de 2 a 3 minutos.
- 3 - Pipetar 100 µL do Reagente N° 2 (pré-aquecido - 37°C), disparando simultaneamente o cronômetro.
- 4 - Deixar o tubo no banho, agitando suavemente.
- 5 - Retirar o tubo antes do tempo de coagulação previsto, marcando o tempo de formação do coágulo.
- 6 - Realizar a média dos resultados obtidos por duplicata.

CÁLCULOS

Calcular a média dos tempos de coagulação de cada teste/controles em duplicata.

Liberar o resultado em segundos.

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

O intervalo deve ser usado apenas como orientação. Recomenda-se que cada Laboratório estabeleça, na população atendida, seus próprios intervalos de referência, usando um pool de plasmas normais ou um plasma de referência.

| Idade | Intervalo (segundos) |
|--|----------------------|
| 2 meses | 26 – 47 |
| 5 meses | 26 – 46 |
| Crianças a partir de 6 meses e adultos | 27 – 38 |

CURVA DE SENSIBILIDADE À HEPARINA

Este procedimento é útil para monitorar terapias com heparina.

Deve-se construir uma curva de sensibilidade à heparina adicionando quantidades conhecidas de heparina a uma mistura de plasmas normais (pool).

Como sugestão pode-se usar os seguintes valores de heparina:

0,0 / 0,1 / 0,2 / 0,4 / 0,6

Determinar as dosagens dos tempos das diluições, plotando em um gráfico os tempos e as concentrações.

Cada laboratório deverá estabelecer a sua própria curva de calibração.

DESEMPENHO DO PRODUTO

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA

O Kit TTPA Bioclin foi comparado com outro kit comercialmente disponível para determinação do Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada. Foram realizadas 07 análises e os resultados foram avaliados. O coeficiente de regressão linear: $y = 1,0094x - 1,5788$ e o coeficiente de correlação = 0,9974. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Sensibilidade

O kit foi avaliado quanto à sensibilidade frente à deficiência de fatores de coagulação e obtiveram-se os seguintes resultados:

| Fator | VIII | | IX | | XI | | XII | | Pré-calic. |
|------------------|------|------|------|------|-------|------|------|------|------------|
| % Ativ. | < 1 | 20 | < 1 | 20 | < 1 | 20 | < 1 | 20 | < 1 |
| Result. e m seg. | 82,3 | 44,7 | 83,7 | 41,0 | 134,3 | 47,6 | <200 | 36,1 | 69,4 |

Especificidade

A especificidade do kit é garantida pela adição de uma única fonte de ativação dos fatores de coagulação, o ácido elágico.

Repetibilidade

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

| | Amostra 1 | Amostra 2 | Amostra 3 |
|-------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Tempo (s) | 32,15 | 64,90 | 44,55 |
| Desvio Padrão (s) | 1,14 | 0,97 | 0,94 |
| Coefic. de Variação (%) | 3,54 | 1,49 | 2,12 |

Reprodutibilidade

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

| | Amostra 1 | Amostra 2 | Amostra 3 |
|-------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Tempo (s) | 32,67 | 64,32 | 44,65 |
| Desvio Padrão (s) | 0,48 | 0,93 | 0,22 |
| Coefic. de Variação (%) | 1,47 | 1,44 | 0,49 |

SIGNIFICADO CLÍNICO

O Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (TTPA) é um teste que monitora tanto a via intrínseca quanto a via comum da coagulação, sendo útil na monitoração da terapia com heparina e para verificar a deficiência de todos os fatores da coagulação, exceto fator VII. É muito empregado na detecção de deficiências no estágio 1 da coagulação, fatores VIII, IX, XI, XII e fator de Fletcher.

NÚMERO DE TESTES

| Apresentação | Reagente 1 | Reagente 2 | Nº de testes |
|--------------|-------------|------------|--------------|
| 1 | 6 x 2,5 mL | 4 x 4 mL | 150 |
| 2 | 6 x 5 mL | 8 x 4 mL | 300 |
| 3 | 12 x 2,5 mL | 8 x 4 mL | 300 |
| 4 | 12 x 5 mL | 16 x 4 mL | 600 |

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - International Committee For Standardization in Hematology Trombosis and Haemostasis. Amer. J. Clin. Path.
- 2 - National Committee For Clinical Laboratory Standards: Collection, Transport And Processing Of Blood Specimens For Coagulation Test And Performance Of Coagulation Assays. Approved Guideline Fourth Edition. NCCLS document H12-A4, 2003
- 3 - Banez,el , D.a., Koepek, Laboratory Monitoring Of Heparin Therapy. Effect Of Different Salts of Heparin On The Activated Partial Thromboplastin Time. Amer. J. Clin. Path.
- 4 - 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 Assessoria ao Cliente Tel.: 0800 0315454.
e-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit TTPA Bioclin na ANVISA: 10269360152

Revisão: Novembro /2010