

HEMOSTAT aPTT-EL

MÉTODO:

Formação de Coágulo.

FINALIDADE:

Reagentes para determinação quantitativa manual ou automática do Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (utilizando ácido eláico como ativador) em plasma citratado. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO:

O Tempo de Tromboplastina Ativado é realizado pela adição do reagente aPTT que contém um ativador de plasma e fosfolípedes para testar a amostra; o fosfolípedes serve como um substituto das plaquetas. A mistura é incubada para ativação, e depois recalcificada com cloreto de cálcio e a formação do coágulo é cronometrada. O reagente de aPTT pode também ser usado para a realização de testes quantitativos de fatores.

SIGNIFICADO CLÍNICO:

O Tempo de Tromboplastina Parcial é um teste simples e versátil, sensível para deficiências de todos os fatores de coagulação do plasma exceto o fator VII. Entretanto, é utilizado principalmente para detectar deficiências dos Fatores de Coagulação XII, XI, X, IX, VIII, V, II, I e Precalcireína.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:

Conservar entre 2 a 8°C.

Reagentes:

RGT1 - Reagente aPTT-EL

Extrato cloroformizado de cérebro de coelho (cefalina) < 1,0%, ácido eláico 0,0037%, tampões e azida sódica < 0,01%.

RGT2 - CaCl₂

Cloreto de cálcio 0,02 mol/L. Azida sódica 0,1%.

PREPARO DOS REAGENTES:

Os reagentes são prontos para o uso.

ESTABILIDADE:

- Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados entre 2 e 8°C. Não congelar. O frasco depois de aberto é estável por 14 dias quando armazenado entre 2 e 8°C.
- Misturar gentilmente antes do uso.

TRANSPORTE:

O transporte do kit deve ser feito pela rota mais direta, evitando-se a chegada durante finais de semana ou feriados. O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 7 dias e seja mantido entre 20...25°C.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:

- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente. O reagente RGT2 contém azida sódica como conservante. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa.
- Como não se pode assegurar que amostras biológicas e plasmas controle não transmitem infecções, recomenda-se manuseá-las de acordo com as instruções de biossegurança.
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

AMOSTRA:

Coleta da Amostra: Usar somente frascos plásticos ou siliconizados com citrato de sódio tamponado (3,2%) como anticoagulante (oxalato de sódio, EDTA e heparina não devem ser usados). O uso de citrato de sódio de alta concentração (3,8%; 129 mmol/L) não é recomendado. Obter sangue venoso por venipuntura limpa. Misturar imediatamente 9 partes de sangue com uma parte de anticoagulante. Evitar formação de espuma.

Processamento da amostra: Centrifugar por 15 minutos em 1500 g. Remover o plasma usando pipeta de plástico e armazenar em tubo plástico. Cobrir as amostras para prevenir a mudança de pH, efeito este que pode afetar os resultados dos testes. Amostras turvas, ictericas, lipêmicas ou hemolisadas podem gerar resultados errados. Amostras mantidas entre 22 e 24°C devem ser testadas em 2 horas. Para períodos mais longos, o plasma deve ser congelado a -20°C por 2 semanas ou a -70°C por 6 meses. Descongelar a amostra rapidamente a 37°C, misturar gentilmente e testar imediatamente. Não congelar novamente^{1,3}.

O transporte da amostra biológica, quando necessário, deve ser feito pela rota mais direta e evitando sua chegada nos finais de semana e feriados no local de destino. A amostra biológica deve ser acondicionada em recipiente hermeticamente fechado, em seguida embalada de forma a mantê-la em temperatura recomendada (-20°C) desde o remetente até a entrega ao destinatário. Esta amostra deve ser identificada com o símbolo de amostra biológica.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Ponteiras;
- Pipetas;
- Tubos;
- Coagulômetro;
- Cronômetro.

PROCEDIMENTO DO TESTE:

Testar as amostras e controles em duplicata. Pré-aquecer o RGT2 a 37°C.

	Método Manual	HumaClot Júnior, HumaClot Duo ^{plus}
Pipetar em um tubo pré-aquecido		
Plasma/Controle	100 µL	50 µL
Adicionar RGT1 homogeneizar antes do uso	100 µL	50 µL
Homogeneizar suavemente e incubar por 3 min. a 37°C		
Adicionar no tubo pré-aquecido o RGT2	100 µL	50 µL
Disparar o cronômetro após adição do RGT2. Registrar o tempo gasto para a formação do coágulo.		

RESULTADO:

Calcular a média do tempo das duplicatas da determinação de aPTT para cada plasma e reportar os resultados para 0,1 segundo mais próximo.

VALORES DE REFERÊNCIA:

Cada laboratório deve estabelecer seu próprio valor de referência utilizando instrumentos, métodos de coleta e técnicas comumente usadas em laboratório. A faixa normal deve ser estabelecida novamente com qualquer mudança de instrumentação, técnica da coleta de sangue, anticoagulante e verificada até quando ocorrer troca dos lotes dos reagentes³.

Os seguintes dados foram obtidos com um lote específico de HEMOSTAT aPTT-EL utilizando plasma fresco normal.

	Média (segundos)	90% Valores de Referências (segundos)	
		5º percentil	95º percentil
51 amostras Humaclot Pro	28,3	21,5	32,65
25 amostras Humaclot Duo ^{plus}	24,7	22,0	27,9

LIMITAÇÕES:

Contraceptivos orais, estrogênio, gravidez, drogas cumarínicas, heparina, asparaginase e naloxona foram descritos como interferentes no teste de aPTT².

SENSIBILIDADE À HEPARINA:

O aPTT é normalmente usado para monitorar a terapia de heparina desde que o prolongamento do aPTT é diretamente proporcional ao aumento da quantidade de heparina.

Na presença de nível adequado de Antitrombina III a sensibilidade relativa de um reagente aPTT para a heparina pode ser determinada pelo estabelecimento de uma curva de sensibilidade de heparina. Isto é feito pela adição de quantidades conhecidas de heparina a um pool normal de plasma e pela realização de aPTT.

Exemplo: resultados obtidos no instrumento foto ótico.

Heparina (IU/mL)	HemoStat aPTT-EL (segundos)
0,25	32,5
0,50	37,8
0,625	42,8
0,83	55,3
1,25	104

Cada laboratório deve realizar sua própria curva de resposta utilizando a mesma fonte de heparina usada para as terapias^{1,2,5}.

SENSIBILIDADE FATORES:

Níveis usualmente de 40% dos fatores VIII, IX, XI e XII são suficientes para produzir resultados normais de aPTT. Se em um desses fatores for menor que aproximadamente 40%, o aPTT é prolongado.

HemoStat aPTT-EL foi rigorosamente avaliado usando plasmas deficientes em fator VII e obteve os seguintes resultados:

Plasma deficiente em Fator VIII						
Atividade	85%	60%	51%	43%	34%	26%
Segundos	23	24,5	25	25,6	26,7	27,9

CONTROLE DE QUALIDADE:

Uma rotina de controle de qualidade é indispensável em testes de coagulação. HemoStat Control Plasma Normal e Anormal devem ser testados em conjunto com os plasmas dos pacientes para a verificação da performance do sistema. CPN é um plasma normal, enquanto CPA é ajustado para imitar plasmas moderadamente deficientes.

	N	REPETIBILIDADE			REPRODUTIBILIDADE		
		Média (seg.)	DP (seg.)	CV (%)	Média (seg.)	DP (seg.)	CV (%)
Amostra 1	10	26,8	0,08	0,3	26,7	0,19	0,7
Amostra 2	10	66,6	0,6	0,9	65,6	0,79	1,2

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS:

O teste HemoStat aPTT-EL foi comparado contra um teste aPTT-EL comercialmente disponível. 188 amostras de pacientes foram testadas com ambos os métodos no coagulômetro de rotina. Os tempos de coagulação foram avaliados pelo método de Passing e Bablok. O coeficiente de correlação foi estabelecido a partir da análise de regressão linear. Os resultados podem ser sumarizados como a seguir. Equação: Y = A*X + B, com A = 1,032, B = -1,172, r = 0,968.

AUTOMAÇÃO:

O aPTT-EL pode ser usado em sistemas de coagulação de leitura mecânica ou ótica. Seguir as instruções do fabricante do aparelho.

APRESENTAÇÃO DO KIT:

Nº CAT	REAGENTE	VOLUME	Nº TESTES	
			Método Manual	HumaClot Júnior, HumaClot Duo ^{plus}
33002	RGT1 RGT2	6 x 4 mL 1 x 30 mL	240	480
33002-P	RGT1 RGT2	2 x 4 mL 1 x 10 mL	80	160

BIBLIOGRAFIA:

- 1- CLSI H21-A5, Wayne PA (2008)
- 2- CLSI H47-A2, Wayne PA (2008)
- 3- Clinical and Laboratory Standards Institute, NCCLS guideline H3-A5 (2003)
- 4- Thomas, L, Clinical Laboratory Diagnostics, TH-Books (1998)
- 5- CLSI C28-A2, Wayne PA (2000)

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:
 Telefone: **08005919186** E-mail: invitroms@invitro.com.br
 N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

Produzido e Distribuído por In Vitro Diagnóstica Ltda
 Rua Cromita, 278, Distrito Industrial – Itabira/MG. CEP: 35903-053
 Telefone: 31-3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br
 Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463
 Reg. M.S. 10303460307 Classe de Risco: III

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO

O conteúdo é suficiente para <n> testes



Data limite de utilização



Limite de temperatura (conservar a)



Número do Catálogo



Tóxico



Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro



Data de Fabricação