

HEMOSTAT THROMBOPLASTIN-SI

MÉTODO

Formação de Coágulo.

FINALIDADE

Reagentes para determinação manual ou automatizada do Tempo de Protrombina (Quick PT) em plasma citratado.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO

O Tempo de protrombina mede o tempo de coagulação do plasma depois de se adicionar uma fonte de fator tissular (tromboplastina) e cálcio. A recalcificação do plasma na presença de fator tissular gera o Fator Xa ativado, com a consequente formação de trombina e posteriormente um coágulo de fibrina insolúvel.

SIGNIFICADO CLÍNICO

HemoStat Thromboplastin-SI (PT-SI) é um reagente com alta sensibilidade (ISI 1,0 – 1,3) que é usado para realizar Tempo de Protrombina (TP). O prolongamento do PT indica doença congênita ou adquirida que afeta os fatores de coagulação I, II, V, VII e X. O PT tem sido largamente aceito como um meio de monitorar pacientes em terapia oral de anticoagulantes, devido à redução na atividade dos fatores de coagulação vitamina K dependentes (II, VII, IX, X, Proteína C e Proteína S). O HemoStat Thromboplastin SI pode ser usado para testar fatores de coagulação do caminho extrínseco ou do caminho comum da coagulação.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:

Conservar entre 2 a 8°C.

RGT – Thromboplastin SI, liofilizado

Extrato de cérebro de coelho >10%
Azida Sódica <0,01%

BUF – Tampão

Cloreto de Cálcio e Azida Sódica 0,01%

PREPARO DO REAGENTE

Reconstituir 1 frasco de **RGT** com todo o conteúdo de 1 frasco de **BUF**. Homogeneizar suavemente o frasco e deixar em repouso durante 30 minutos à temperatura ambiente. Gire o frasco cuidadosamente, horizontalmente algumas vezes (5-10) antes do uso, mas não agite.

Nota: Em caso de dúvida, usar uma pipeta para transferir o tampão para o frasco de reagente para reconstituição proporcionará melhor controle sobre o volume transferido.

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados entre 2 a 8°C. Não os utilize após esta data. O **RGT** reconstituído é estável por 12 dias entre 2 e 8°C, por 5 dias entre 15 e 19°C, por 24 horas entre 20 e 25°C e 8 horas a 37°C. Recomenda-se armazenar a 2 a 8°C quando não estiver sendo utilizado. Não congelar o **RGT** reconstituído.

TRANSPORTE

O transporte do kit deve ser feito pela rota mais direta evitando-se as chegadas nos finais de semana e feriados no local de destino. O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 7 dias e em uma temperatura entre 20...25°C.

PRECAUÇÕES

- Usar roupas de proteção e luvas descartáveis e manusear os reagentes de acordo com as Boas Práticas de Laboratório.
- Como não se pode assegurar que amostras biológicas e plasmas controle não transmitam infecções, recomenda-se manuseá-las de acordo com as instruções de biossegurança. Todo material contaminado com amostras dos pacientes deve ser inativado por autoclavagem (60 min. a 121°C) ou por imersão em solução de hipoclorito de sódio a 5% por no mínimo 60 minutos.
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugere-se utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- Cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente. Não aspirar e evitar contato do reagente com a pele e mucosas. Caso aconteça, lavar cuidadosamente com água em abundância.
- 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

Anticoagulante: Citrato de sódio 3,2% (0,109M) na proporção de 9 partes de sangue para 1 parte de citrato. Utilizar tubos plásticos ou de vidro silicizado. O uso de citrato de sódio de alta concentração (3,8%; 129 mmol/L) não é recomendado.

Coleta: a amostra de sangue deve ser obtida por punção venosa. Evitar formação de espuma.

Processamento da amostra: O sangue deve ser misturado gentilmente com o anticoagulante logo após a coleta. Centrifugar a amostra por 15 minutos a 1500 x g para obter um plasma livre ou pobre em plaquetas. Remover o plasma usando uma pipeta plástica e armazenar em tubo plástico. Cobrir as amostras para prevenir a mudança de pH, o que pode alterar os resultados.

Amostras mantidas a 18 e 25°C devem ser testadas em até 24 horas. Plasma mantido entre 2 e 8°C pode ser ativado pelo frio, resultando em significativa diminuição do PT. Para períodos mais longos, o plasma deve ser congelado a -20°C por até 2 semanas ou a -70°C por até 12 meses. Descongelar rapidamente a 37°C, homogeneizar gentilmente e testar imediatamente. Não congelar novamente.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Papel log-log;
- Ponteiros;
- Pipetas;

- Coagulômetro ou cronômetro.

PROCEDIMENTO:

O kit pode ser utilizado manualmente ou em analisadores automatizados. Testar as amostras e controle em duplicata. Pré-aquecer o RGT à 37°C.

Esquema de pipetagem

	Manual HumaClot Junior HumaClot Duo ^{plus}
Pipetar em tubos pré aquecidos.	
Amostra/Controle	100 µl
Incubar por 3 minutos a 37°C.	
Adicionar RGT pré-aquecido	200 µl
Iniiciar cronômetro com a adição do reagente. Registrar o tempo necessário para formação de coágulo.	

RESULTADO:

O resultado pode ser expresso em segundos, % do normal (Quick) ou RNI (Relação Normalizada Internacional).

Segundos: Calcular a média do tempo da determinação de PT das duplicatas para cada plasma e registrar para o mais próximo de 0,1s.

Cada laboratório deve estabelecer seus valores normais em segundos (plasma de doadores saudáveis. Se isso não for possível, HemoStat Control Plasma Normal pode ser utilizado). Dividir o tempo de coagulação do paciente (segundos) pelo valor normal (segundos).

Relação Protrombina (PR): Para obter a relação de protrombina, o tempo de reação da amostra é dividido pelo tempo de reação do pool de plasma normal.

$$PR = \frac{PT_{paciente} \text{ (seg.)}}{PT_{plasma \text{ normal pool}} \text{ (seg.)}}$$

% do normal (Quick): Para reportar os resultados em % do normal é necessária uma curva de calibração. Preparar uma curva de calibração usando um pool de plasma normal preparado a partir de doadores aparentemente "saudáveis", com o tempo de protrombina declarado como 100%. Gerar uma curva de calibração com a diluição de um pool de plasma normal com cloreto de sódio (0,154 mol/L): (consulte o esquema da tabela para diluição).

Esquema para diluição:

Pool de plasma	Não dil.	1 + 1	1 + 3	1 + 7
% do normal	100%	50%	25%	12,5%

INR: A interdependência do tempo de protrombina da tromboplastina e instrumento utilizado pode ser corrigida através da determinação da "International Normalized Ratio (INR). Para este efeito, a razão de protrombina pode ser convertida em valores comparáveis internacionalmente por meio do "International Sensitivity Index (ISI)".

$$INR = PR^{ISI}$$

O valor de ISI para HemoStat Thromboplastin-SI é indicado em tabela de valores atribuídos específica do lote.

FAIXA NORMAL

Para plasma normal, a faixa de TP = 10-14 segundos pode ser esperada. O tempo de coagulação dependerá do valor do RNI estabelecido para cada lote (ver tabela fornecida com o kit).

Cada laboratório deve estabelecer sua própria faixa normal, utilizando seus próprios instrumentos, métodos de coleta e técnicas de teste. A faixa normal deve ser restabelecida em caso de qualquer alteração nos instrumentos, técnicas de coleta de sangue, anticoagulante, e deve ser pelo menos verificada ao começar a utilizar outro lote de reagente.

LIMITAÇÕES

O TP pode ser prolongado por substâncias incluindo corticosteróides, EDTA, contraceptivos orais, asparaginase, clofibrate, eritromicina, etanol, tetraciclina e anticoagulantes, como heparina e varfarina. O TP pode ser diminuído por substâncias que incluem anti-histaminas, butabrabitaís, cafeína, contraceptivos orais, fenobarbital e vitamina K.

REPETIBILIDADE E REPRODUTIBILIDADE

A repetibilidade do HemoStat Thromboplastin foi calculada a partir de 40 determinações onde 3 plasmas controle comercialmente disponíveis foram utilizados como amostras. A reprodutibilidade foi calculada dos resultados de duplicatas realizadas em 14 dias consecutivos, usando plasma controle como amostra. Os testes foram realizados em coagulômetros de rotina.

	Repetibilidade			Reprodutibilidade		
	Média (seg.)	DP (seg.)	Média CV (%)	Média (seg.)	DP (seg.)	Média CV (%)
Plasma controle nível 1	12,9	0,10	0,8	11,3	0,10	1,2
Plasma controle nível 2	30,0	0,92	3,1	31,7	0,60	2,0
Plasma controle nível 3	60,6	1,30	2,2	59,2	1,30	2,2

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS

O HemoStat Thromboplastin foi comparado contra um kit para teste de tempo de protrombina. 112 amostras de pacientes foram testadas pelos dois kits em coagulômetros de rotina. A regressão linear do tempo de formação de coágulo foi avaliada pelo método de Passing e Bablok. O coeficiente de correlação foi estabelecido de uma análise de regressão linear. Os resultados podem ser resumidos, com a equação: Y = A*X + B, com A = 0,963, B = -0,435, r = 0,912

INFLUÊNCIA DE DEFICIÊNCIA DE FATORES

A influência de deficiências de fatores do HemoStat Thromboplastin - SI (Quick) foi avaliada e comparada a outros testes PT comercialmente disponível. Ambos os testes foram realizados no mesmo coagulômetro. As deficiências dos fatores foram graduadas em estágio I, II e III, respectivamente. A atividade recuperada foi expressa em % do normal.

Os resultados demonstraram claramente que o teste HemoStat Thromboplastin-SI mostrou igualdade ou melhor sensibilidade para certos fatores de deficiência que um teste PT comercial.

AUTOMAÇÃO

O teste pode ser realizado totalmente automatizado no HumaClot Pro. Seguir as instruções do fabricante do equipamento.

CONTROLE DE QUALIDADE

Controle de qualidade de rotina é indispensável em testes de coagulação. Hemostat Control Plasma Normal (CPN) e Abnormal (CPA) devem ser rodados em conjunto com plasmas de pacientes. CPN é um plasma normal, enquanto CPA é ajustado para imitar plasmas moderadamente deficientes.

MONITORAMENTO LABORATORIAL DE TERAPIA COM ANTICOAGULANTES ORAIS:

Para maximizar os efeitos terapêuticos desejados e minimizar sangramentos, a OMS recomendou um procedimento para padronizar teste e tratamento. Este procedimento é baseado na Relação Normalizada Internacional (RNI). O RNI é calculado usando-se a relação entre o PT do paciente e a média do PT de um plasma com valor de referência normal de acordo com a seguinte relação matemática:

$$RNI = (PT_{paciente}/PT_{poolnormal})^{ISI}$$

O Índice Internacional de Sensibilidade (ISI) é a medida da sensibilidade entre tromboplastina/instrumento para fatores de coagulação. Os valores de ISI são determinados por comparação à um material de referência de tromboplastina primária. Reagentes com alta sensibilidade possuem valores de ISI baixos. Os valores de ISI para cada lote de Hemostat Thromboplastin são encontrados na tabela fornecida com cada kit.

É aconselhável que pacientes em terapia estabilizada com anticoagulante oral tenham seu RNI mantido entre 2,0 e 3,5 dependendo da indicação clínica. Valores acima de 5,0 colocam o paciente em risco desnecessário de complicações hemorrágicas.

APRESENTAÇÃO DO KIT:

Cat. Nº	Reagente	Volume	Nº Teste	
			Manual HumaClot Junior HumaClot Duo ^{plus}	HumaClot Junior HumaClot Duo ^{plus}
31002-6	RGT BUF	6 x 2 mL 6 x 2 mL	60	120
31002-10	RGT BUF	10 x 2 mL 10 x 2 mL	100	200
31003-6	RGT BUF	6 x 10 mL 6 x 10 mL	300	600

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:

Telefax (31) 3067-6400 e-mail: invitroms@invitro.com.br

N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

BIBLIOGRAFIA:

1. Errichetti A. M. *et al.*, Arch. Intern. Med. 144, 1966-68 (1984)
2. Hirsh J. *et al.*, Chest 102 (Suppl.), 312S-326S (1992)
3. CLSI, H21-A5, Wayne PA (2008)
4. Clinical and Laboratory Standards Institute, NCCLS guideline H3-A5 (2003)
5. CLSI, H47-A2, Wayne PA (2008)
6. Dalen J. E. *et al.*, Arch. Intern. Med. 146, 462-472 (1986)
7. Palaereti G. *et al.*, Thromb Haemostasis 58, 905-910(1987)
8. CLSI, H54-A, Wayne PA (2005)

Produzido e Distribuído por In Vitro Diagnóstica Ltda
Rua Cromita, 278, Distrito Industrial – Itabira/MG. CEP: 35903-053
Telefone: 31-3067-6400 – Fax: 31-3067-6401
e-mail: invitroms@invitro.com.br
Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463
REG. MS: 10303460386 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



Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro



Data de Fabricação