

TPCLOT

MÉTODO

Formação de Coágulo

FINALIDADE

Reagente para determinação manual ou automatizada do tempo de protrombina (TP) em plasma citratado. Somente para o uso diagnóstico *IN VITRO*.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

O teste consiste na medida do tempo de coagulação do plasma após a adição de uma fonte de fator tissular (tromboplastina) e cálcio. Este processo ativará o fator x, resultando na formação do coágulo de fibrina.

SIGNIFICADO CLÍNICO

O reagente é usado para avaliar o tempo de protrombina. O aumento desse se deve a deficiências congênicas ou adquiridas dos fatores da via extrínseca da coagulação (fatores I, II, V, VII, X). Este é um teste sensível para avaliar a redução dos fatores da Vitamina K dependentes (II, VII, IX, X), sendo o teste indicado no controle de paciente em uso de anticoagulantes orais.

IDENTIFICAÇÃO DOS REAGENTES

O reagente TPCLOT é composto de extrato de cérebro de coelho, cloreto de cálcio, tampão e conservante.

PREPARO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

O reagente TPCLOT se apresenta pronto para o uso. Deverá ser conservado a temperatura de 2 a 8 °C. Não congelar. O frasco depois de aberto é estável por 30 dias quando armazenado entre 2 e 8 °C.

Homogeneizar obrigatoriamente o reagente por inversão suavemente antes do uso.

A validade do reagente é a impressa no rotulo da caixa. Evitar o aquecimento do reagente que não for utilizado.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Ponteiras e Pipetas
- Tubos
- Coagulômetro ou Cronômetro

PRECAUÇÕES

O kit é somente para o uso diagnóstico *IN VITRO*. Recomenda-se cuidados no manuseio das amostras e reagentes, seguindo as regras de biossegurança. Usar equipamentos de proteção individual (EPI), durante o manuseio. O descarte do material usado, bem como a lavagem, deverá obedecer as regras das boas praticas de laboratório clínico (BPLC). Armazenar o kit de 2 a 8 °C. Não congelar.

AMOSTRA

Material: Plasma

Anticoagulante: Utilizar como anticoagulante o citrato de sódio 3,8% (0,130 M) ou 3,2% (0,109M), 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 e garroteamento prolongado.

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 ou edta.

PROCEDIMENTO

O procedimento descrito abaixo destina-se a técnica manual, podendo ser utilizado equipamentos automáticos e semi-automáticos. Recomenda-se seguir o procedimento abaixo.

Utilizar tubos de vidro limpos.

Realizar os testes e controles em duplicata.

Incubar 0,1 mL em um tubo aquecido com plasma / controles a 37 °C em banho maria ou blocos térmicos por 3 minutos.

Pre aquecer a 37 °C o reagente TPCLOT ao mesmo tempo da amostra (3 minutos) a quantidade de 0,2 mL. Pipetar 0,1 mL do plasma / controle ao tubo contendo o reagente de TPCLOT, disparando simultaneamente o cronometro.

Deixar o tubo no banho, agitando vagarosamente.

Retirar o tubo antes do tempo de coagulação previsto marcando o tempo da formação do coágulo.

Realizar a media dos resultados obtidos por 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	1:5	1:8
ATIVIDADE	100%	50%	33%	25%	12,5%	10%
SOL. FISIOLÓGICA	-	0,2ml	0,4ml	0,6ml	1,4ml	1,8ml
POOL	0,2ml	0,2ml	0,2ml	0,2ml	0,2ml	0,2ml

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 devera ser repetido a cada lote.

RNI (relação normatizada internacional):

Para se obter o RNI deveremos relacionar a razão (tempo de protrombina do paciente dividido pelo tempo do plasma normal) com o ISI (índice de sensibilidade internacional), o qual é fornecido com o kit.

Exemplo:

$$Rn1 = \left(\frac{TP \text{ PACIENTE}}{TP \text{ NORMAL}} \right) ISI$$

TP REFERÊNCIA - 12s
TP PACIENTE - 13,2 S
ISI - 1,25
RNI = $(13,2 / 12)^{1,25}$
RNI = 1,13

VALORES DE REFERÊNCIA

Tempo de protrombina (quick) - a faixa de 10 a 14 segundos pode ser esperada.

Atividade (c/o) - 70 a 100 %

RNI - de 2,0 a 3,5 (para paciente em terapia com 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 normatizar a variação dos resultados entre os laboratórios. Os valores de ISI são determinados através de comparação com um material de referência de tromboplastina primária.

CONTROLE DE QUALIDADE

Todos os reagentes são avaliados pelo departamento de controle de qualidade, usando plasmas controles rastreados reconhecidos internacionalmente.

Todos os laboratórios deverão usar plasmas controles freqüentemente em suas rotinas.

CARACTERÍSTICAS E DESEMPENHO DO PRODUTO

Repetibilidade

AMOSTRA	QUANTIDADE	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	COEFICIENTE VARIAÇÃO
1	30	12,13	0,17	1,47%
2	30	27,05	0,19	0,72%

Reprodutividade

AMOSTRA	QUANTIDADE	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	COEFICIENTE VARIAÇÃO
1	30	12,12	0,18	1,51%
2	30	27,05	0,19	0,73%

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS

O kit TPCLOT foi comparado a um teste de outra marca comercial (referência). Foram testados 80 pacientes em um equipamento foto-ótico (coagulômetro). A linha de regressão dos tempos de coagulação foram avaliadas e o coeficiente de correção foi estabelecido a partir da análise da regressão linear. Os resultados foram:

Equação: $Y = AX + B$ Onde: $A = 1.0002$
 $B = 2.0067$
 $r = 0.9813$

APRESENTAÇÃO

CÓDIGO	Nº DE TESTES	VOLUME
102	100	10 x 2ml
105	250	10 x 5ml
612	360	5 x 12ml

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 Fo Clinical Laboratory Standards : Colecion , Transport And Processing Of Blood Specimens For Coagulation Testing And Performance Of Coagulation Assays, 1991 . Necls.
- 4- Douketis Jd, Lane A, Milne J, Ginsberg Js.Thombosis Research , 1998 ; 92 : 11.17

GARANTIA DO PRODUTO

A empresa BIOS DIAGNÓSTICA garante a substituição de todos os kits que apresentarem problemas decorrentes de fabricação, desde que o cliente siga corretamente as instruções de uso, e utilize materiais em boas condições técnicas.

APOIO AO CLIENTE

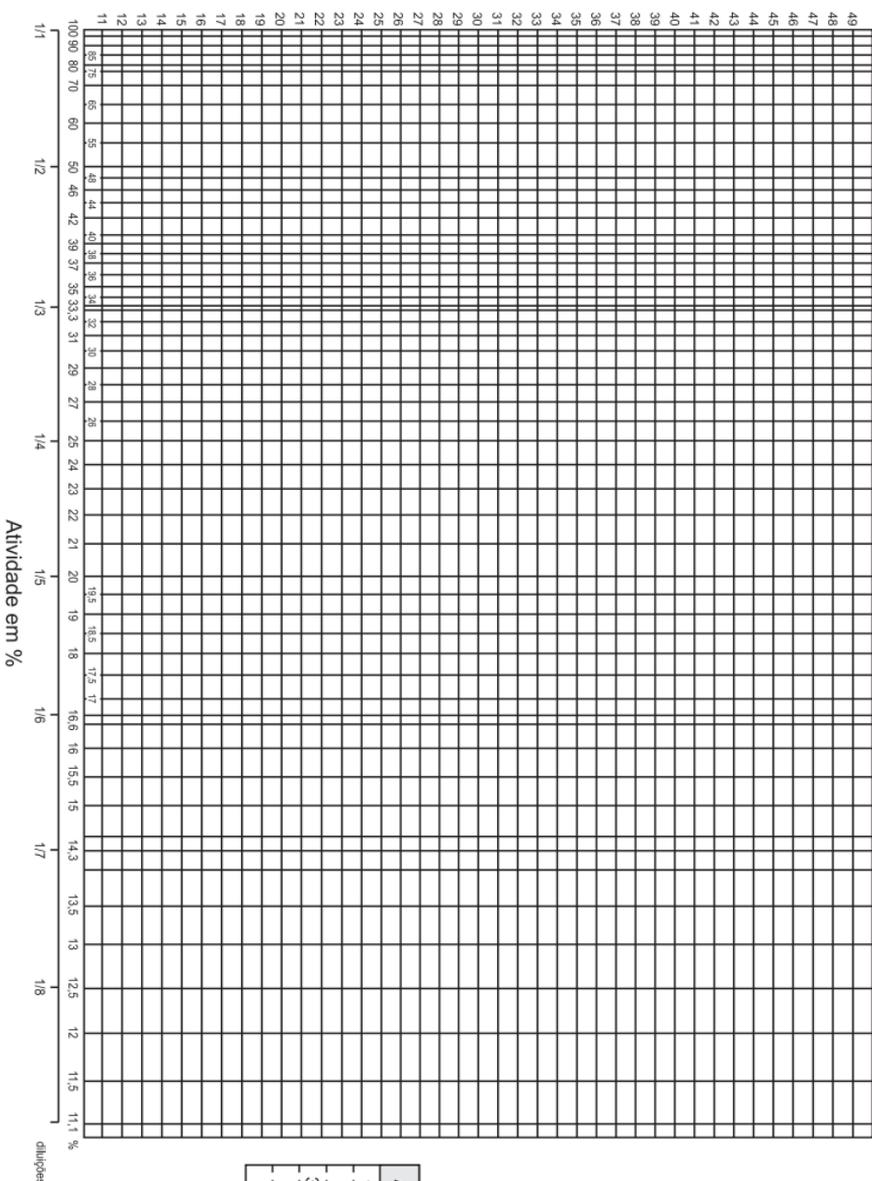
Importado e Distribuído no Brasil por:
BIOS - DIAGNÓSTICA INDÚSTRIA E COMÉRCIO DE PRODUTOS BIOLÓGICOS LTDA - EPP.
 CNPJ: 06.074.511/0001-34 / I.E.: 669.153.110

Rua Leão Brasil, 243 - Vila Fiori
 CEP: 18075-083 - Sorocaba - SP
 Tel.:(15) 3233-3800

MS: 80252400002
Responsável Técnico: Gilmar Chizzolini Junior - CRF/SP 45.891

sac@clot.com.br
 www@clot.com.br

Tempo em segundos



TP CLOT
Tempo de Protrombina
CURVA DE CALIBRAÇÃO

ATIV.	DIL.	TEMPO
100%	1/1	12
50%	1/2	13
33,3%	1/3	14
25%	1/4	15
20%	1/5	16

Tempo do paciente: 18,0s
 Tempo do controle: 12,0s
 ISI = 1,20

Para obter R: $R = \frac{\text{tempo paciente (18s)}}{\text{tempo controle (12s)}}$
R = 1,50
INR = R^{ISI}
INR = 1,50^{1,20}
INR = 1,63

Tabela para cálculo do INR

Exemplo para determinação da INR:

Tabela de conversão da Relação do tempo do paciente / tempo do controle= R em RNI																						
R/ISI	1,10	1,11	1,12	1,13	1,14	1,15	1,16	1,17	1,18	1,19	1,20	1,21	1,22	1,23	1,24	1,25	1,26	1,27	1,28	1,29	1,30	
1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
1,05	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,07
1,10	1,11	1,11	1,11	1,11	1,11	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12	1,13	1,13	1,13	1,13	1,13	1,13	1,13	1,13
1,15	1,17	1,17	1,17	1,17	1,17	1,18	1,18	1,18	1,18	1,18	1,18	1,19	1,19	1,19	1,19	1,19	1,19	1,19	1,19	1,20	1,20	1,20
1,20	1,22	1,22	1,23	1,23	1,23	1,23	1,24	1,24	1,24	1,24	1,24	1,25	1,25	1,25	1,25	1,26	1,26	1,26	1,26	1,27	1,27	1,27
1,25	1,28	1,28	1,29	1,29	1,29	1,30	1,30	1,30	1,30	1,31	1,31	1,31	1,32	1,32	1,32	1,32	1,33	1,33	1,33	1,33	1,34	1,34
1,30	1,33	1,34	1,34	1,35	1,35	1,36	1,36	1,36	1,37	1,37	1,37	1,38	1,38	1,38	1,38	1,39	1,39	1,40	1,40	1,40	1,41	1,41
1,35	1,39	1,40	1,40	1,41	1,41	1,42	1,42	1,43	1,43	1,44	1,44	1,45	1,45	1,45	1,46	1,46	1,46	1,47	1,47	1,47	1,48	1,48
1,40	1,45	1,45	1,46	1,46	1,47	1,47	1,48	1,48	1,49	1,49	1,50	1,50	1,51	1,51	1,52	1,52	1,53	1,53	1,54	1,54	1,55	1,55
1,45	1,50	1,51	1,52	1,52	1,53	1,53	1,54	1,54	1,55	1,56	1,56	1,57	1,57	1,58	1,59	1,59	1,60	1,60	1,61	1,61	1,62	1,62
1,50	1,56	1,57	1,57	1,58	1,59	1,59	1,60	1,61	1,61	1,62	1,63	1,63	1,64	1,65	1,65	1,66	1,67	1,67	1,68	1,68	1,69	1,69
1,55	1,62	1,63	1,63	1,64	1,65	1,66	1,66	1,67	1,68	1,68	1,69	1,70	1,71	1,71	1,72	1,73	1,74	1,74	1,75	1,76	1,77	1,77
1,60	1,68	1,68	1,69	1,70	1,71	1,72	1,72	1,73	1,74	1,75	1,76	1,77	1,77	1,78	1,79	1,80	1,81	1,82	1,83	1,83	1,84	1,84
1,65	1,73	1,74	1,75	1,76	1,77	1,78	1,79	1,80	1,81	1,82	1,83	1,84	1,85	1,86	1,87	1,88	1,89	1,90	1,91	1,92	1,93	1,94
1,70	1,79	1,80	1,81	1,82	1,83	1,84	1,85	1,86	1,87	1,88	1,89	1,90	1,91	1,92	1,93	1,94	1,95	1,96	1,97	1,98	1,99	1,99
1,75	1,85	1,86	1,87	1,88	1,89	1,90	1,91	1,92	1,94	1,95	1,96	1,97	1,98	1,99	2,00	2,01	2,02	2,04	2,05	2,07	2,08	2,10
1,80	1,91	1,92	1,93	1,94	1,95	1,97	1,98	1,99	2,00	2,01	2,02	2,04	2,05	2,06	2,07	2,08	2,10	2,11	2,12	2,13	2,15	2,16
1,85	1,97	1,98	1,99	2,00	2,02	2,03	2,04	2,05	2,07	2,08	2,09	2,11	2,12	2,13	2,14	2,16	2,17	2,18	2,20	2,21	2,22	2,24
1,90	2,03	2,04	2,05	2,07	2,08	2,09	2,11	2,12	2,13	2,15	2,16	2,17	2,19	2,20	2,22	2,23	2,25	2,26	2,27	2,29	2,30	2,33
1,95	2,08	2,10	2,11	2,13	2,14	2,16	2,17	2,18	2,20	2,21	2,23	2,24	2,26	2,27	2,29	2,30	2,32	2,34	2,35	2,37	2,38	2,41
2,00	2,14	2,16	2,17	2,19	2,20	2,22	2,23	2,25	2,27	2,28	2,30	2,31	2,33	2,35	2,36	2,38	2,39	2,41	2,43	2,45	2,46	2,48
2,05	2,20	2,22	2,23	2,25	2,27	2,28	2,30	2,32	2,33	2,35	2,37	2,38	2,40	2,42	2,44	2,45	2,47	2,49	2,51	2,52	2,54	2,54
2,10	2,26	2,28	2,30	2,31	2,33	2,35	2,36	2,38	2,40	2,42	2,44	2,45	2,47	2,49	2,51	2,53	2,55	2,57	2,58	2,60	2,62	2,62
2,15	2,32	2,34	2,36	2,37	2,39	2,41	2,43	2,45	2,47	2,49	2,51	2,52	2,54	2,56	2,58	2,60	2,62	2,64	2,66	2,68	2,70	2,71
2,20	2,38	2,40	2,42	2,44	2,46	2,48	2,50	2,52	2,54	2,56	2,58	2,60	2,62	2,64	2,66	2,68	2,70	2,72	2,74	2,77	2,79	2,79
2,25	2,44	2,46	2,48	2,50	2,52	2,54	2,56	2,58	2,60	2,62	2,65	2,67	2,69	2,71	2,73	2,76	2,78	2,80	2,82	2,85	2,87	2,87
2,30	2,50	2,52	2,54	2,56	2,58	2,61	2,63	2,65	2,67	2,69	2,72	2,74	2,76	2,79	2,81	2,83	2,86	2,88	2,90	2,93	2,95	2,95
2,35	2,56	2,58	2,60	2,63	2,65	2,67	2,69	2,72	2,74	2,76	2,79	2,81	2,84	2,86	2,88	2,91	2,93	2,96	2,99	3,01	3,04	3,04
2,40	2,62	2,64	2,67	2,69	2,71	2,74	2,76	2,79	2,81	2,83	2,86	2,88	2,91	2,94	2,96	2,99	3,01	3,04	3,07	3,09	3,12	3,12
2,45	2,68	2,70	2,73	2,75	2,78	2,80	2,83	2,85	2,88	2,90	2,93	2,96	2,98	3,01	3,04	3,07	3,09	3,12	3,15	3,18	3,21	3,21
2,50	2,74	2,77	2,79	2,82	2,84	2,87	2,89	2,92	2,95	2,98	3,00	3,03	3,06	3,09	3,11	3,14	3,17	3,20	3,23	3,26	3,29	3,29
2,55	2,80	2,83	2,85	2,88	2,91	2,93	2,96	2,99	3,02	3,05	3,08	3,10	3,13	3,16	3,19	3,22	3,25	3,28	3,31	3,35	3,38	3,38
2,60	2,86	2,89	2,92	2,94	2,97	3,00	3,03	3,06	3,09	3,12	3,15	3,18	3,21	3,24	3,27	3,30	3,33	3,37	3,40	3,43	3,46	3,46
2,65	2,92	2,95	2,98	3,01	3,04	3,07	3,10	3,13	3,16	3,19	3,22	3,25	3,28	3,32	3,35	3,38	3,41	3,45	3,48	3,52	3,55	3,55
2,70	2,98	3,01	3,04	3,07	3,10	3,13	3,17	3,20	3,23	3,26	3,29	3,33	3,36	3,39	3,43	3,46	3,50	3,53	3,57	3,60	3,64	3,64
2,75	3,04	3,07	3,10	3,14	3,17	3,20	3,23	3,27	3,30	3,33	3,37	3,40	3,44	3,47	3,51	3,54	3,58	3,61	3,65	3,69	3,73	3,73
2,80	3,10	3,14	3,17	3,20	3,23	3,27	3,30	3,34	3,37	3,41	3,44	3,48	3,51	3,55	3,58	3,62	3,66	3,70	3,74	3,77	3,81	3,81
2,85	3,16	3,20	3,23	3,27	3,30	3,33	3,37	3,41	3,44	3,48	3,51	3,55	3,59	3,63	3,66	3,70	3,74	3,78	3,82	3,86	3,90	3,90
2,90	3,23	3,26	3,30	3,33	3,37	3,40	3,44	3,48	3,51	3,55	3,59	3,63	3,67	3,70	3,74	3,78	3,82	3,87	3,91	3,95	3,99	3,99
2,95	3,29	3,32	3,36	3,40	3,43	3,47	3,51	3,55	3,58	3,62	3,66	3,70	3,74	3,78	3,82	3,87	3,91	3,95	3,99	4,04	4,08	4,08
3,00	3,35	3,39	3,42	3,46	3,50	3,54	3,58	3,62	3,66	3,70	3,74	3,78	3,82	3,86	3,91	3,95	3,99	4,04	4,08	4,13	4,17	4,17