

TTPA CLOT

MÉTODO

Formação de Coágulo

FINALIDADE

Reagentes para determinação manual ou automatizada do tempo de tromboplastina parcial ativada em plasma citratado (ativado pelo ácido eláxico). Somente para o uso diagnóstico *IN VITRO*.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

O teste consiste na determinação do tempo de coagulação do plasma citratado, após a adição do reagente que contém um ativador plasmático (ácido eláxico) e fosfolípedes.

Os fosfolípedes atuam como substitutos das plaquetas. Após incubação ocorre a ativação, sendo adicionado posteriormente o cloreto de cálcio (recalcificação). Nesta etapa ocorre a formação do coágulo, devendo ser cronometrada.

SIGNIFICADO CLÍNICO

O teste é usado na avaliação da via intrínseca da coagulação, monitoração da terapia com heparina e na detecção de deficiências no estágio 1 da coagulação (Fatores VIII, IX, XI, XII e Fator de Fletcher).

IDENTIFICAÇÃO DOS REAGENTES

Reagente TTPA CLOT: Composto de extrato de cérebro de coelho, ácido eláxico, tampão e conservante.

Reagente CLORETO DE CÁLCIO: Cloreto de Cálcio 0,025 mol/l e conservantes.

PREPARO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

O reagente TTPA CLOT 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 inverso suavemente antes do uso.

A validade do reagente é a impressa no rótulo 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, deverão obedecer as regras das boas práticas 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 leucocitária. 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 a -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.

Realizar pré-aquecimento de 0,1 mL do cloreto de cálcio (CaCl₂) 37°C em banho maria ou blocos térmicos.

Misturar 0,1 mL do reagente TTPA CLOT e adicionar 0,1 mL da amostra em um tubo.

Incubar a mistura plasma-reagente durante 3 minutos a 37°C.

Decorridos os 3 minutos, pipetar 0,1 mL do cloreto de cálcio (CaCl₂) pré-aquecido e disparar o cronômetro simultaneamente. Deixar o tubo no banho por 15 a 20 segundos, agitando vagarosamente.

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

Realizar a média dos resultados obtidos por duplicata.

CÁLCULOS E RESULTADOS

Calcular a média dos tempos de coagulação de cada teste / controles em duplicata. Liberar o resultado obtido em segundos.

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores normais se situam entre 28 - 43 segundos. Cada laboratório deve estabelecer os seus valores de referência, usando um pool de plasmas normais ou um plasma referência.

CURVA DE SENSIBILIDADE A HEPARINA

Este procedimento é útil para monitorar terapias com heparina.

Deve-se construir uma curva de sensibilidade a 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 / 04 / 06**. 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.

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	29,01	0,51	1,76%
2	30	59,49	0,88	1,47%

Reprodutividade

AMOSTRA	QUANTIDADE	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	COEFICIENTE VARIAÇÃO
1	30	32,72	1,04	3,18%
2	30	64,97	1,39	2,13%

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS

O kit TTPA CLOT 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: $A = 0.9632$

$B = 0.9174$

$r = 0.9817$

APRESENTAÇÃO

CÓDIGO	Nº DE TESTES	VOLUME CEFALINA	VOLUME CaCl ₂
625	150	6 x 2,5 ml	4 x 4 ml
650	300	6 x 5 ml	1 x 30 ml

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1- International Committee For . Standardization In Haematology And International Committee On Trombosis And Haemostasis . Amer. J. Clin. Path .

2- National Committee Fo Clinical Laboratory Standards : Collecion , Transport And Processing Of Blood Specimens For Coagulation Testing And Performance Of Coagulation Assays, 1991 . Nccls.

3- Banez ,el , D.a . , Koepek , : Laboratory Monitoring Of Heparin Thrapy. Effect Of Different Salts Of Heparin On Thé Activated Partial Thromboplastin Time, Amer J. Clinical Pathology

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

BIOS - DIAGNÓSTICA INDÚSTRIA E COMÉRCIO DE PRODUTOS BIOLÓGICOS LTDA - EPP.

CNPJ: 06.074.511/0001-34 / I.E.: 669.525.153.110

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

MS: 80252400004 - Responsável Técnico: Gilmar Chizzolini Junior - CRF/SP 45.891

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