

ERBA TTPA ST

SIGNIFICADO CLÍNICO

O tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) é um ensaio sensível à deficiência de fatores pró-coagulantes do plasma, assim como à presença de certos inibidores da coagulação. 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 de coagulação, exceto o Fator VII.

FINALIDADE E FUNDAMENTO DO MÉTODO

Método para determinação manual, semiautomática ou automática do Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada em plasma citratado. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

Consiste na determinação do tempo de coagulação do plasma citratado, após a adição dos reagentes que contêm um Ativador Plasmático (ácido elárgico) 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 recalificação, desencadeando o mecanismo de coagulação da via intrínseca. Esta etapa deve ser cronometrada até a formação do coágulo.

REAGENTES FORNECIDOS

Reagente Número 1 – Cefalina Ativada: conservar entre 2 e 8 °C. Contém: fosfolípidos >0,001% obtido de extrato de cérebro de coelho, ativador, estabilizante e conservante.

- Fosfolípidos obtidos de extrato de cérebro de coelho que na presença de ativador e cálcio inicia a coagulação intrínseca. Concentrações entre 0,0015 e 0,0025% determinam a sensibilidade normal do reagente.
- Ativador: ácido elárgico <0,005%.
- Estabilizantes: albumina bovina <0,5%, lecitina de soja <0,5%, sacarose <4%, PVP K-30 <2,5%.
- Conservante: fenol <0,4%.

Reagente Número 2 – Solução de Cloreto de Cálcio: conservar entre 2 e 8 °C.

Contém: cloreto de cálcio <50 mmol/L e conservante.

- Cloreto de cálcio: <50 mM
- Conservante: izotiazolonas <0,4%

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Reagentes de uso dedicado aos equipamentos da linha de coagulação da família ECL (ECL 105, ECL 412 e ECL 760).

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO, ESTABILIDADE E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8°C. O transporte em temperaturas até 30 °C não deverá exceder 5 dias. Manter ao abrigo da luz. Não congelar.

PRECAUÇÕES

- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional. Os reagentes devem ser utilizados por profissionais da saúde devidamente treinados.
- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio.
- Evitar o aquecimento do reagente que não será utilizado. Reagente já aquecido não deverá ser retornado para o frasco original.
- É recomendado aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar a Ficha de Segurança do Produto.
- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
- É imprescindível que os equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos à manutenção periódicas.

AMOSTRAS

Material: Plasma citratado

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 por exemplo, 4,5 mL de sangue + 0,5 mL de anticoagulante), ou kits de citrato comerciais, conforme Instrução de Uso do fabricante, ou tubos à vácuo com citrato, disponíveis no mercado.

Coleta: o sangue deve ser obtido por punção venosa, evitando hemólise, garrateamento prolongado, formação de bolha e aspiração de líquido tissular. Quando avaliar somente o teste de coagulação, coletar sempre 2 tubos de citrato e descartar o primeiro.

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 realizado neste período, o plasma deverá ser congelado por no máximo 1 semana a -20 °C.

ESTABILIDADE PÓS ABERTO

Os reagentes da Erba TTPA ST são estáveis pós aberto por até 14 dias.

VALIDAÇÃO DO PROCEDIMENTO DE ENSAIO*

- Pré-aquecer o Reagente N° 2 a 37 °C. Este procedimento deve ser realizado apenas com o volume que será utilizado para execução dos testes. O reagente deve permanecer em aquecimento durante todo o procedimento.
- Separar os tubos de reação que serão utilizados para execução dos testes.
- Pipetar 100 µL da amostra / controle no respectivo tubo de reação e pré-aquecer a 37 °C por 2 minutos em banho-maria.
- Pipetar 100 µL do Reagente N° 1 no tubo da amostra / controle e incubar a 37 °C, de 2 a 3 minutos.
- Pipetar 100 µL do Reagente N° 2 (pré-aquecido a 37 °C) no tubo da amostra / controle, disparando simultaneamente o cronômetro.
- Deixar o tubo no banho-maria a 37 °C, agitando suavemente. Manter no banho por cerca de 20 segundos.
- Retirar o tubo do banho, inclinar suavemente uma vez por segundo e parar o cronômetro no momento da formação do coágulo. Anotar o tempo de coagulação.

*Os volumes descritos na metodologia acima correspondem ao procedimento manual de realização do teste. Em equipamentos semiautomáticos ou automáticos os volumes podem ser diferentes.

CÁLCULOS

Calcular a média dos tempos de coagulação de cada amostra / controle. Liberar o resultado em segundos.

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.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

A concentração de citrato pode interferir no tempo de coagulação pois, afeta diretamente a concentração de cálcio. Sendo assim, os valores de TTPA são maiores em tubos de 3,8% do que em tubos de 3,2%.⁴

Citrato na concentração de 3,8% irá liberar resultados maiores que 3,2%. Portanto, é necessário que haja padronização do laboratório para que a monitoração do diagnóstico do paciente seja realizada sempre com a mesma concentração de anticoagulante.

A concentração de citrato de sódio deverá ser ajustada em pacientes com valores de hematócrito acima de 55%. Em amostras com hematócrito elevado, a relação sangue/anticoagulante (9:1) não é mantida, podendo causar excesso de citrato para o volume de sangue presente no tubo. Para cálculo do volume de citrato, utilizar a fórmula descrita no item 4 do Manual de Diagnóstico Laboratorial das Coagulopatias Hereditárias e Plaquetopatias do Ministério da Saúde.⁵

VALORES DE REFERÊNCIA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

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	24 – 47
5 meses	24 – 46
Crianças a partir de 6 meses e adultos	24 - 38

Os resultados fornecidos pelos kits reagentes devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

INTERFERENTES

Foram realizados ensaios para a avaliação da interferência, para os possíveis interferentes: heparina, EDTA, oxalato de sódio, hemoglobina (hemólise), bilirrubina (icterícia) e triglicérides (lipemia). Foi observado que as substâncias avaliadas interferem diretamente na dosagem de TTPA usando os kits reagentes da Família Erba TTPA. Os resultados estão demonstrados abaixo.

Estudo de interferentes

Pool de plasma normal: 31,2				
Substância	Concentração 1	Resultado após acréscimo 1	Concentração 2	Resultado após acréscimo 2
Heparina	0,3 UI/mL	46,1	0,5 UI/mL	65,2
EDTA	1 mg/mL	42,3	2 mg/mL	55,3
Oxalato de cálcio	3 mg/mL	41,4	5 mg/mL	54,3
Hemoglobina	1,0 g/L	32	1,5 g/L	26,1
Bilirrubina	20 mg/dL	30,6	40 mg/dL	37,2
Triglicérides	300 mg/dL	28,8	600 mg/dL	*

*Erro no equipamento

DESEMPENHO DO PRODUTO COMPARAÇÃO DE MÉTODOS

Os reagentes da Família Erba TTPA foram comparados com outro método para dosagem de TTPA comercialmente disponível. Foram realizadas 25 análises e os resultados foram avaliados.

- A equação linear obtida para o kit reagente Erba TTPA ST foi $y = 0,9863x + 0,036$ e o coeficiente 0,9619.

Com estes resultados, pode-se concluir que os kits reagentes apresentam boa especificidade metodológica.

REPETIBILIDADE

A repetibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas, utilizando 2 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2
Média (seg)	30,450	38,420
Desvio Padrão (seg)	0,523	0,525
Coefficiente de Variação (%)	1,72%	1,37%

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 1 lote de cada produto, obtendo-se os seguintes resultados:

Média (s)	38,367
Desvio Padrão (s)	0,968
Coefficiente de Variação (%)	2,52%

SENSIBILIDADE

Os kits reagentes da Família Erba TTPA foram avaliados quanto à sensibilidade frente à deficiência de fatores de coagulação. Os resultados mostraram que os reagentes são sensíveis à deficiência dos fatores de coagulação VIII, IX, XI, XII e pré-calreína.

ESPECIFICIDADE

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

APRESENTAÇÃO

Os reagentes da Família Erba TTPA são montados nas seguintes apresentações:

Reagente	Apresentação	Reagente 1	Reagente 2	Ref.	Testes	Testes (automação)
ERBA TTPA ST	1	6 x 2,5 mL	4 x 4 mL	ETA 625	150	300
	2	6 x 5 mL	4 x 8 mL	ETA 65	300	600
	3	7 x 10 mL	7 x 10 mL	ETA 710	700	1400

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR:

A Biocontinental e a Erba Diagnostics Brazil garantem a qualidade do produto, desde que respeitadas todas as condições, e os cuidados de armazenamento e transporte, especificados na instrução de uso, até a data de validade indicada na embalagem.

Caso seja necessário obter mais informações ou orientações, o cliente deverá entrar em contato com a Erba Diagnostics Brazil

Assistência técnica e solicitação de Instrução de Uso no formato impresso:
Telefone: 0800 878 2391 | e-mail: contato@erba.com

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. International Committee for Standardization in Hematology Trombosis and Haemostasis. Amer. J. Clin. Path.
2. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Colection, 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. ADCOCK, D. M.; KRESSIN, D. C. Effect of 3.2% vs. 3.8% sodium citrate concentration on routine coagulation testing. AM. J. Clín. Pathol. 107(1):105-10, 1997.
5. Manual de Diagnóstico Laboratorial das Coagulopatias Hereditárias e Plaquetopatias, Ministério da Saúde, 2010; Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. Rendrik F. Franco. Simpósio: Hemostasia e trombose. Capítulo I. 34: 229-237, jul./dez. 2001.

Fabricante | Regularizado por: Continental Produtos Biologicos Ltda

Endereço: Rua Santana, 305, 13300-220 Itu - SP

www.biocontinental.com

E-mail: contact@biocontinental.com

CNPJ: 61.058.400/0001-42

Indústria Brasileira

Distribuidor: Erba Diagnostics Brazil, Produção e Distribuição de Produtos Médicos Eireli CNPJ: 32.190.515/0001-98

Endereço: Rua Chopin, 33, Mezanino 3 Sala 4, Chácaras Reunidas Santa Terezinha | CEP: 32.183-150 – Contagem / MG – Brasil

ANVISA 80132390008

Atenção usuário: verificar se a versão obtida da Instrução de Uso não impressa corresponde ao produto adquirido.

Versão: MAR/24