Bioclin

TP BIOCLIN

REF K089

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE
Método para a determinação manual ou automatizada do Tempo de Protrombina em plasma citratado. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO
Metodologia: Coagulometria
Consiste na medida do Tempo de Coagulação do plasma após a adição de uma fonte de Tromboplastina (fator III, fator tissular) e Cálcio. O fator VII é então ativado, formando um complexo (Complexo FT-FVIIa) que irá ativar os fatores IX e X. O fator Xa junto com os Fosfolípideos do fator tissular, fator Va e Cálcio formam o complexo ativador de Protrombina que transforma a Protrombina (fator II) em Trombina (fator IIa). A Trombina atua sobre o Fibrinogênio transformando-o em Fibrina. Este teste avalia os fatores do Complexo Protrombínico (fatores II, V, VII e X).

REAGENTE
Número 1 - Formador de Coágulo - Conservar entre 2 e 8ºC. Contém: Extrato de cérebro de coelho 2,6%, Cloreto de Cálcio, tampão e conservante.
Apresentação pronta para uso.

APRESENTAÇÃO

Apresentação	Reagente 1
1	10 x 5 mL
2	20 x 2 mL
3	10 x 2 mL
4	20 x 5 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS
Papel log-log, ponteiras e pipetas, tubos, coagulômetro ou cronômetro, Biocontrol Coagulação N e P Bioclin. Estes itens são encontrados no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE
A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8ºC. O transporte, em temperaturas até 30ºC, não deverá exceder 5 dias. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS
1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.
2- Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.
3- Manusear com cuidado os reagentes pois eles contém Azida Sódica, irritante para pele e mucosas.
4- Recomendamos 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.
5- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.
6- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
7- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS
Material: Plasma
Anticoagulante: Utilizar como anticoagulante o kit Citrato Bioclin A001 conforme instruções de uso do mesmo, ou Citrato de Sódio 3,8% (0,130 M) , 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, garroteamento prolongado, formação de bolha e aspiração de líquido tissular.
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.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO
A estabilidade de calibração do kit TP Bioclin instalado em equipamento com refrigeração é de pelo menos 14 dias. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do teste, do equipamento e do ambiente. Portanto, sugere-se acompanhar o desempenho do produto utilizando soros controles.

TÉCNICA
A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol Coagulação N e P Bioclin.

1- Homogeneizar o Reagente N°1 antes do uso.
2- Pré-aquecer o Reagente Nº 1 a 37°C de 4 a 5 minutos. 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.
3- Separar os tubos de reação que serão utilizados para execução dos testes.
4- Pipetar 100 µL da Amostra/Controle no respectivo tubo de reação e incubar a 37ºC de 2 a 3 minutos em banho-maria ou bloco térmico.
5- Pipetar 200 µL do Reagente Nº 1 no tubo da Amostra/Controle (pré-aquecido a 37ºC) no tubo da Amostra/Controle, disparando simultaneamente o cronômetro.
6- Deixar o tubo no banho-maria a 37°C, agitando suavemente. Manter no banho por cerca de 09 segundos.
7- 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.

Nota: Após aberto, o reagente N° 1 é estável por 14 dias entre 2 a 8°C.

CÁLCULOS E RESULTADOS
Os resultados do Tempo de Protrombina (TP) podem ser expressos como:
Tempo de quick: Em segundos.
Percentual de atividade: Relacionado a um pool de plasmas normais (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	1:8	1:10
Pool (mL)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Solução Fisiológica (mL)	---	0,2	0,4	0,6	1,4	1,8
Atividade	100%	50%	33%	25%	12,5%	10%

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 deverá ser repetido a cada lote.

RNI (Razão Normalizada Internacional)
O RNI é calculado por meio da razão entre o TP do paciente e o TP do pool normal, elevada a uma potência , denominada Índice de Sensibilidade Internacional (ISI). O valor de ISI é informado em cada kit.

$RNI = (TP\ paciente / TP\ pool\ normal)^{ISI}$

Exemplo:
TP paciente: 14,5 s
TP pool nornal: 14,0 s
ISI: 1,17
$RNI = (14,5 / 14,0)^{1,17} = 1,04$

INTERFERENTES
Hemólise e lipemia excessivas. Uso de plasma com Heparina e EDTA.
O TP pode ser aumentado por substâncias como: Anti-Coagulantes Heparina e Varfarina, Contraceptivos Orais, Etanol, Tetraciclina, Corticosteróides e EDTA.
A redução do TP é observada em pacientes em uso de: Vitamina K, Anti-Histamínicos, Cafeína e Fenobarbital.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE
O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

RASTREABILIDADE
O kit TP Bioclin é rastreável ao material de referência NIBSC RBT/05 (International Standard for Thromboplastin - WHO International Standard).

VALORES DE REFERÊNCIA
Os valores normais de tempo variam entre laboratórios, de acordo com o reagente, o equipamento e a metodologia validada. Portanto, é recomendado que cada laboratório estabeleça os seus valores de referência, de acordo com a sua população e com a técnica utilizada.
- Faixa indicativa do tempo de protrombina (quick) - 10 a 14 segundos. Ressalta-se que o valor de referência varia conforme o sistema de medição.
- Atividade (%) - 70 a 100 %. Valores superiores a 100% não têm significado clínico.
- Os valores de **RNI** para o monitoramento dos anticoagulantes orais variam conforme patologia e indicação terapêutica e cada laboratório deverá estabelecer os seus próprios valores de referência.
Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

DESEMPENHO DO PRODUTO
EXATIDÃO
Comparação de Métodos e Especificidade Metodológica
O kit TP Bioclin foi comparado com outro método para avaliação de Tempo de Protombina comercialmente disponível. Foram realizadas 07 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi Y = 1,0804X - 1,2695 e o coeficiente de correlação igual a 0,9954. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

ESPECIFICIDADE

A especificidade do kit é garantida pela adição de uma fonte exclusiva de tromboplastina, ativador específico de fator VII, o que elimina a possibilidade de ativação direta de outros fatores da cascata de coagulação.

PRECISÃO

Repetibilidade

A repetibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Tempo (s)	12,65	24,85	17,45
Desvio Padrão	0,49	0,75	0,51
Coeficiente de Variação (%)	3,87	3,00	2,93

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Tempo (s)	12,57	24,77	17,40
Desvio Padrão	0,19	0,08	0,05
Coeficiente de Variação (%)	1,51	0,31	0,29

SENSIBILIDADE

A sensibilidade analítica do kit é dada pelo valor do Índice de Sensibilidade Internacional (ISI).

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

O teste avalia alterações relacionadas às deficiências congênitas e adquiridas de fatores das vias extrínseca e comum da coagulação, e pode estar alterado, nas deficiências congêntias isoladas dos fatores VII, X, V, II ou I, doenças que acometem o fígado, deficiência de vitamina K, coagulação intravascular disseminada, doenças hemorrágicas e uso de anticoagulantes orais.

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

4 - Douketis Jd, Lane A , Milne J , Ginsberg Js. Trombosis Research , 1998 ; 92 : 11-17.

5 - QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR
Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit TP Bioclin na ANVISA: 10269360151

Revisão: Dezembro/2023

SIMBOLOGIA UNIVERSAL



Bioclin

TP BIOCLIN

REF K089

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD
Método para la determinación manual o automatizada del Tiempo de Protrombina en plasma citratado. Solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN
Metodología: Coagulometria
Consiste en la medida del Tiempo de Coagulación del plasma luego de la adición de una fuente de Tromboplastina (factor III, factor tisular) y Calcio. El factor VII es entonces activado, formando un complejo (Complejo FT-FVIIa) que ativará los factores IX y X. El factor Xa junto con los Fosfolípideos del factor tisular, factor Va y Calcio forman el complejo activador de Protrombina que transforma la Protrombina (factor II) en Trombina (factor IIa). La Trombina actua sobre el Fibrinogenio transformándolo en Fibrina. Este test evalua los factores del Complejo Protrombínico (factores II, V, VII y X).

REACTIVO
Número 1 – Formador de Coágulo - Almacenar entre 2 y 8ºC. Contiene: Extracto de cerebro de conejo 2,6%, Cloruro de Calcio, tampón y conservante.
Presentación pronta para uso.

PRESENTACIÓN

Presentación	Reactivo 1
1	10 x 5 mL
2	20 x 2 mL
3	10 x 2 mL
4	20 x 5 mL

EQUIPOS E INSUMOS OPERACIONALES
Papel log-log, punteras y pipetas, tubos, coagulómetro o cronómetro, Biocontrol Coagulación N y P Bioclin. Estos itens se encuentran en el mercado especializado en articulos para Laboratorios de Análisis Clínicos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE
La temperatura de almacenamiento deberá ser de 2 a 8ºC. El transporte, en temperaturas hasta 30ºC, no deberá exceder 5 días. Mantener al abrigo de la luz y evitar la humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES
1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.
2- Seguir con rigor la metodología propuesta para la obtención de resultados exactos.
3- Manejar con cuidado los reactivos pues ellos contienen Azida Sódica, irritante para la piel y mucosas.
4- Se recomienda la aplicación de las leyes locales, estatales y federales de protección ambiental para que el desecho de reactivos y materiales biológicos se haga de acuerdo a la legislación vigente.
5- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.
6- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.
7- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS
Material: Plasma
Anticoagulante: Utilizar como anticoagulante el kit Citrato Bioclin A001 conforme instrucciones de uso del mismo, o Citrato de Sodio 3,8% (0,130 M), en la proporción de 9 partes de sangre para 1 de anticoagulante (como ejemplo: 4,5 mL de sangre + 0,5 mL de anticoagulante).
Colecta: La sangre debe ser obtenido por punción venosa, evitando hemólisis, garroteamiento prolongado, formación de bolla y aspiración de líquido tisular.
Preparación: La sangre deberá ser mezclada con el anticoagulante luego de la colecta. Centrifugar imediatamente a 3000 rpm, durante 15 minutos. Remover el plasma sin pipetear células rojas o la camada amarilla. Las muestras deberán ser testadas en menos de 3 horas. Si el test no puede ser hecho en este período el plasma deberá ser congelado por 1 semana máximo a -20°C.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO
La estabilidad de calibración del kit de TP Bioclin instalado en equipos refrigerados es de al menos 14 días. Esta estabilidad puede variar según las condiciones de la prueba, el equipo y el entorno. Por lo tanto, se sugiere seguir el rendimiento del producto utilizando sueros de control.

TÉCNICA
La Bioclin recomienda, para uso del kit, utilizar como suero control los kits Biocontrol Coagulación N y P Bioclin.

1- Homogeneizar el Reactivo N°1 antes de usar.
2- Precalentar el Reactivo N°1 a 37°C durante 4 a 5 minutos. Este procedimiento debe realizarse solo con el volumen que se utilizará para realizar las pruebas. El reactivo debe permanecer caliente durante todo el procedimiento.
3- Separe los tubos de reacción que se utilizarán para realizar las pruebas.
4- Pipetee 100 µL de la Muestra/Control en el tubo de reacción respectivo e incube a 37ºC durante 2 a 3 minutos en un baño de agua o un bloque térmico.
5- Pipetee 200 µL de Reactivo N°1 en el tubo de Muestra/ Control (precalentado a 37ºC) en el tubo de Muestra/Control, iniciando simultáneamente el temporizador.
6- Deje el tubo en el baño de agua a 37°C, agitando suavemente. Mantener en el baño durante unos 09 segundos.
7- Retire el tubo del baño, incline suavemente una vez por segundo y pare el temporizador en el momento de la formación del coágulo. Tenga en cuenta el tiempo de coagulación.

Nota: Después de abierto, el reactivo N° 1 es estable durante 14 días entre 2 a 8°C.

CÁLCULOS Y RESULTADOS
Los resultados del Tiempo de Protrombina (TP) pueden ser expresados como:
Tiempo de quick: En segundos.
Porcentaje de actividad: Relacionado a un pool de plasmas normales (considerado 100% de actividad), para esto se debe trazar una curva de actividad, utilizando un pool de plasmas normales recién cogidos y diluidos con salina fisiológica (0,9%).

Curva

Diluiciones	1:1	1:2	1:3	1:4	1:8	1:10
Pool (mL)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Solución Fisiológica (mL)	---	0,2	0,4	0,6	1,4	1,8
Actividad	100%	50%	33%	25%	12,5%	10%

En un papel log-log, plotear el gráfico colocando el valor de segundos en el eje “y”, el valor de porcentaje en el eje “x”.
Este procedimiento deberá ser repetido en cada lote.

RNI (Razón Normalizada Internacional)
El RNI se calcula utilizando la relación entre el TP del paciente y el TP del grupo normal, elevado a una potencia, llamada Índice Internacional de Sensibilidad (ISI). El valor ISI se indica en cada kit.

$RNI = (TP\ paciente / TP\ pool\ normal)^{ISI}$

Ejemplo:
TP del paciente: 14,5 s
TP pool normal: 14,0 s
ISI: 1,17
$RNI = (14,5 / 14,0)^{1,17} = 1,04$

INTERFERENTES
Hemólisis y lipemia excesivas. Uso de plasma con Heparina y EDTA.
El TP puede ser aumentado por substancias como: Anti-Coagulantes Heparina y Varfarina, Contraceptivos Orales, Etanol, Te-traciclina, Corticosteróides y EDTA.
La reducción del TP es observada en pacientes en uso de: Vitamina K, Anti-Histamínicos, Cafeína y Fenobarbital.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD
El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

TRAZABILIDAD
El kit TP Bioclin es trazable al material de referencia NIBSC RBT/05 (International Standard for Thromboplastin - WHO International Standard).

VALORES DE REFERENCIA
Los valores de tiempo normal varían entre laboratorios, dependiendo del reactivo, equipo y metodología validada. Por ello, se recomienda que cada laboratorio establezca sus valores de referencia, según su población y la técnica utilizada.
- Intervalo indicativo del tiempo de protrombina (rápido): 10 a 14 segundos. Cabe señalar que el valor de referencia varía según el sistema de medición.
- Actividad (%) - 70 a 100%. Valores superiores al 100% no tienen importancia clínica.
- Los valores de **RNI** para el seguimiento de los anticoagulantes orales varían según la patología y la indicación terapéutica y cada laboratorio debe establecer sus propios valores de referencia.
Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, no siendo el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO
EXACTITUD
Comparación de Metodos y Especificidad Metodológica
El kit TP Bioclin fue comparado con otro método para evaluación de Tiempo de Protombina comercialmente disponible. Fueron realizados 07 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación linear obtenida fue Y = 1,0804X - 1,2695 y el coeficiente de correlación 0,9954. Con estos resultados, se puede concluir que el kit presenta buena especificidad metodológica.

ESPECIFICIDAD
La especificidad del kit es garantizada por la adición de una fuente exclusiva de tromboplastina, activador específico del factor VII, el que elimina la posibilidad de activación directa de otros factores de la cascada de coagulación.

PRECISIÓN
Repetibilidad
La repetibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Tiempo (s)	12,65	24,85	17,45
Desvío Patrón	0,49	0,75	0,51
Coeficiente de Variación (%)	3,87	3,00	2,93

Reproductibilidad
La reproductibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Tiempo (s)	12,57	24,77	17,40
Desvío Patrón	0,19	0,08	0,05
Coeficiente de Variación (%)	1,51	0,31	0,29

SENSIBILIDAD
La sensibilidad analítica del kit viene dada por el valor del Índice de Sensibilidad Internacional (ISI).

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO
La prueba evalúa cambios relacionados con deficiencias congénitas y adquiridas de factores de las vías extrínsecas y comunes de la coagulación, pudiendo estar alterado en deficiencias congénitas aisladas de los factores VII, X, V, II o I, enfermedades que afecten al hígado, deficiencia de vitamina K, coagulación intravascular diseminada, enfermedades hemorrágicas y uso de anticoagulantes orales.

REFERENCIAS 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 For Clinical Laboratory Standards: Collecion, Transport And Processing Of Blood Specimens For Coagulation Testing And Performance Of Coagulation Assays, 1991. Nccls.
4 - Douketis Jd, Lane A, Milne J, Ginsberg Js. Trombosis Research, 1998; 92: 11-17.
5 - QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTÍA DE CALIDAD
Antes de ser liberados para el consumo, todos los reactivos **Bioclin** son probados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de valides mencionada en el embalaje de presentación, desde que sean almacenados y transportados en las condiciones adecuadas.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 – Santa Branca
CEP 31565-130 – Belo Horizonte – MG – Brasil
Tel.: +55 31 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileña

ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR
Servicio de Asesoría al Cliente
Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de Registro del kit TP Bioclin en la ANVISA: 10269360151

Revisión: Diciembre/2023

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL



PT BIOCLIN

REF K089

INSTRUCTIONS FOR USE

FUNCTION

Method for determination of manual or automated of Prothrombin Time in citrated plasma. For *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Coagulometry

Consists of measuring the Clotting Time of plasma after addition a source of Thromboplastin (factor III, tissue factor) and Calcium. The factor VII is then activated to form a complex (complex FT-FVIIa) that will activate factors IX and factor Xa XO with Phospholipids factor tissue, Calcium and factor Va form the Prothrombin activator complex which transforms Prothrombin (factor II) into Thrombin (factor IIa). Thrombin acts on Fibrinogen, transforming it into Fibrin. This test assesses the factors of Prothrombin Complex (factors II, V, VII and X).

REAGENT

Number 1 - Clot Former - Store between 2 and 8ºC. Contains: Rabbit brain extract 2.6%, Calcium Chloride, buffer and preservative.
Presentation ready for use.

PRESENTATION

Presentation	Reagent 1
1	10 x 5 mL
2	20 x 2 mL
3	10 x 2 mL
4	20 x 5 mL

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Log-log paper, pipette and tips, tubes, coagulometer or stopwatch, Biocontrol N and P Coagulation Bioclin. These itens are found at markets specialized on Laboratories of Clinical Analysis.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature is between 2 and 8ºC and the transport temperature shall be up to 30ºC, not exceeding 5 days. Protect from light and avoid moisture. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

1- For professional *in vitro* diagnostic use only.
2- Follow strictly the proposed methodology to obtain results accurate.
3- Handle with care reagents because they contain Sodium Azide, irritating to skin and mucous membranes.
4- We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.
5- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Safety Data Sheet Safety of Chemicals) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Advisory Service Customer) of Quibasa.
6- Do not use the product in case of damaged packaging.
7- It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES

Material: Plasma
Anticoagulant: Use the kit as anticoagulant Citrate Bioclin A001 as written in usage instructions of the same, or 3.8% Sodium Citrate (0.130 M) at a ratio of 9 parts blood to 1 part anticoagulant (Example: 4.5 mL blood + 0.5 mL of anticoagulant).
Collection: Blood should be obtained by venipuncture, avoiding hemolysis, prolonged tourniquet, blistering and aspiration tissue fluid.
Preparation: Blood should be mixed with the anticoagulant soon after collection. Centrifuge immediately at 3000 rpm for 15 minutes. Remove the plasma without cellular pipette red or yellow layer. The samples should be tested in less than three hours. If the test can not be done in this period the plasma should be frozen for at maximum 1 week at -20°C.

PROCESS DESCRIPTION

The calibration stability of the PT Bioclin kit installed on refrigerated equipment is at least 14 days. This stability may vary depending on the conditions of the test, equipment and environment. Therefore, it is suggested to follow the product performance using control serum.

TECHNIQUE

Bioclin recommends, as control serum, Biocontrol Coagulation N and P Bioclin kits.

1- Homogenize Reagent N°1 before use.
2- Preheat Reagent N°1 to 37°C for 4 to 5 minutes. This procedure should be performed only with the volume that will be used to perform the tests. The reagent must remain warm for the entire procedure.
3- Separate the reaction tubes that will be used to perform the tests.
4- Pipette 100 µL of the Sample/Control into the respective reaction tube and incubate at 37ºC for 2 to 3 minutes in a water bath or thermal block.
5- Pipette 200 µL of Reagent N°1 into the Sample/Control tube (preheated to 37ºC) in the Sample/Control tube, simultaneously starting the timer.
6- Leave the tube in the water bath at 37°C, shaking gently. Keep in the bath for about 09 seconds.
7- Remove the tube from the bath, gently tilt once per second and stop the timer at the time of the clot formation. Note the clotting time.

Note: After opened, reagent Nº 1 is stable for 14 days at 2 to 8°C.

CALCULATIONS AND RESULTS

The results of Prothrombin Time (PT) may be expressed as:
Quick Time: In seconds.
Percentage of activity: Related to a pool of normal plasmas (considered 100% activity), and for this you must draw a curve activity, using a normal plasma pool and freshly harvested and diluted with saline (0.9%).

Curve

Dilution	1:1	1:2	1:3	1:4	1:8	1:10
Pool (mL)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Physiologic Solution (mL)	---	0.2	0.4	0.6	1.4	1.8
Activity	100%	50%	33%	25%	12.5%	10%

In a log-log paper, plot the graph by putting the seconds value on the “y” axis and the percentage value on the “x” axis.
This procedure should be repeated on every batch.

INR (International Normalized Ratio)

The INR is calculated using the ratio between the patient’s PT and the PT of the normal pool, raised to a power, called the International Sensitivity Index (ISI). The ISI value is stated in each kit.

$$INR = (\text{patient PT} / \text{normal pool PT})^{ISI}$$

Example:
Patient PT: 14.5 s
Normal pool PT: 14.0 s
ISI: 1.17
$INR = (14.5 / 14.0)^{1.17} = 1.04$

INTERFERENCES

Excessive hemolysis and lipemia. Use of plasma with Heparin and EDTA. The PT can be increased by substances such as Anticoagulants Heparin and Warfarin, Oral Contraceptives, Ethanol, Tetracycline, Corticosteroids and EDTA.
The reduction of PT is observed in patients taking: Vitamin K, Anti-Histamines, Caffeine and Phenobarbital.

INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control, where all procedures, rules, limits and tolerance to variations be clearly established. It is important to mention that all measurement systems present a analytical variety, and it must be monitor by the laboratory. Therefore, it is recommendable the use of controls, allowing the precision and accuracy of the dosages.

TRACEABILITY

The PT Bioclin kit is traceable to the reference material NIBSC RBT/05 (International Standard for Thromboplastin - WHO International Standard).

REFERENCE VALUES

Normal time values vary between laboratories, depending on the reagent, equipment and validated methodology. Therefore, it is recommended that each laboratory establish its reference values, according to its population and the technique used.
- **Indicative range of prothrombin time (quick) -** 10 to 14 seconds. It should be noted that the reference value varies depending on the measurement system.
- **Activity (%) -** 70 to 100%. Values greater than 100% have no clinical significance.
- **INR** values for monitoring oral anticoagulants vary according to pathology and therapeutic indication and each laboratory must establish its own reference values.
The results provided by this kit must be interpreted by the medical professional responsible, not being the only criterion for the determination of diagnosis and/or treatment of the patient.

PRODUCT PERFORMANCE

ACCURACY

Comparison of Methods and Specificity Methodology
PT Bioclin kit was compared with another method for evaluating Prothrombin Time commercially available.
Were performed 07 analysis and the results were evaluated. The obtained linear equation was Y = 1.0804X - 1.2695 and correlation coefficient 0.9954. With these results, we can conclude that the kit shows good methodological specificity.

SPECIFICITY
The specificity of the kit is provided by the addition of an exclusive source thromboplastin, specific activator of factor VII, which eliminates the possibility of direct activation of the cascade of other factors coagulation.

PRECISION
Repeatability
The repeatability was calculated from 20 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Time (s)	12.65	24.85	17.45
Standard Deviation (%)	0.49	0.75	0.51
Coefficient of Variation (%)	3.87	3.00	2.93

Reproductibility
The reproducibility was calculated from 20 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Time (s)	12.57	24.77	17.40
Standard Deviation (%)	0.19	0.08	0.05
Coefficient of Variation (%)	1.51	0.31	0.29

SENSITIVITY
The analytical sensitivity of the kit is given by the International Sensitivity Index (ISI) value.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE
The test evaluates changes related to congenital and acquired deficiencies of factors of the extrinsic and common coagulation pathways, and may be altered in isolated congenital deficiencies of factors VII, X, V, II or I, diseases that affect the liver, vitamin deficiency K, disseminated intravascular coagulation, hemorrhagic diseases and use of oral anticoagulants.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1 - Hirsh J, Deykin D, Poller L: Therapeutic Range For Oral Anticoagulant Therapy. 89/12 Chest (Suppl) 115-155, 1986.
2 - International Committee For Standardization In Haematology International Committee On Thrombosis And Haemostasis. Amer. J. Clin. Path. 88:779 1985.
3 - National Committee For Clinical Laboratory Standards: Collecion, Transport And Processing Of Blood Coagulation Specimens For Testing And Performance Of Coagulation Assays, 1991. NCCLS.
4 - Douketis JD, Lane A, Milne J, Ginsberg JS. Thrombosis Research, 1998, 92: 11-17.
5 - Quibasa: Data from the Department of Research and Development.

QUALITY ASSURANCE
Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Department of Quality Control. The quality of reagents is assured until expiration date stated on the presentation packaging, when stored and transported under appropriate conditions.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Phone: +55 31 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service
Phone: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA resgistration for PT Bioclin kit: 10269360151

Review: December/2023

UNIVERSAL SYMBOLOGY

