Bioclin

TTPA BIOCLIN

REF K090

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

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

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Coagulometria

Consiste na determinação do tempo de coagulação do plasma citratado, após a adição dos reagentes que contém um Ativador Plasmático (Ácido Elágico) e Fosfolípides, 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 recalcificação, desencadeando o mecanismo de coagulação da via intrínseca. Esta etapa deve ser cronometrada até a formação do coágulo.

REAGENTES

Número 1 - Ativador de Contato (Cefalina Ativada) - Conservar entre 2 e 8ºC. Contém: Extrato de cérebro de coelho, Ácido Elágico e conservante.
Número 2 - Formador de Coágulo (Solução de Cloreto de Cálcio) - Conservar entre 2 e 8ºC. Contém: Cloreto de Cálcio e conservante.
Apresentação pronta para uso.

APRESENTAÇÃO

Apresentação	Reagente 1	Reagente 2
1	6 x 2,5 mL	4 x 4 mL
2	6 x 5 mL	8 x 4 mL
3	12 x 2,5 mL	8 x 4 mL
4	12 x 5 mL	16 x 4 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Coagulômetro, banho-maria 37ºC, relógio ou cronômetro, pipetas, tubos de ensaio, Biocontrol Coagulação N e Biocontrol Coagulação P. 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 8°C. 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*.
2- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
3- O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio.
4- O reagente Nº 1 contém Azida Sódica, irritante para pele e mucosas. Manusear com cuidado.
5- Evitar o aquecimento do reagente que não será utilizado. Reagente já aquecido não deverá ser retornado para o frasco original.
6- 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.
7- 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.
8- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
9- É imprescindível que os equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos à manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Material: Plasma
Anticoagulante: Utilizar como anticoagulante o kit Citrato Bioclin conforme instruções de uso do mesmo, ou Citrato de Sódio 3,8% (0,130 M) ou 3,2% (0,109 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. 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 feito neste período o plasma deverá ser congelado por no máximo 1 semana à - 20°C.

TÉCNICA

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

1- Pré-aquecer o reagente o Reagente Nº 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.
2- Separar os tubos de reação que serão utilizados para execução dos testes.
3- Pipetar 100 µL da Amostra/Controle no respectivo tubo de reação e pré-aquecer a 37ºC por 2 minutos em banho-maria.
4- Pipetar 100 µL do Reagente Nº 1 no tubo da Amostra/Controle e incubar à 37ºC, de 2 a 3 minutos.
5- Pipetar 100 µL do Reagente Nº 2 (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 20 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.

CÁLCULOS

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

CURVA DE SENSIBILIDADE À HEPARINA

Este procedimento é util 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 em 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]

INTERFERENTES

Amostras ictéricas, lipêmicas ou hemolisadas.
Uso de plasmas contendo Heparina, EDTA ou Oxalato de Sódio. Condições e substâncias que podem alterar o TTPA: Contraceptivos orais, Estrógeno, gravidez, drogas Cumarínicas, Heparina, Asparginase, Ácido Acetilsalicílico, Metronidazol, Digitálicos e Tetraciclina.

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.

VALORES DE REFERÊNCIA

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	26 - 47
5 meses	26 - 46
Crianças a partir de 6 meses e adultos	27 - 38

Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

DESEMPENHO DO PRODUTO

EXATIDÃO

Comparação de Métodos e Especificidade Metodológica

O kit TTPA Bioclin foi comparado com outro kit comercialmente disponível para determinação do Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada. Foram realizadas 07 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi Y = 1,0094X - 1,5788 e o coeficiente de correlação 0,9974. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

PRECISÃO

Repetibilidade

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

Repetibilidade	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Tempo (s)	32,15	64,90	44,55
Desvio Padrão (s)	1,14	0,97	0,94
Coeficiente de Variação (%)	3,54	1,49	2,12

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:

Reprodutibilidade	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Tempo (s)	32,67	64,32	44,65
Desvio Padrão (s)	0,48	0,93	0,22
Coeficiente de Variação (%)	1,47	1,44	0,49

SENSIBILIDADE
O kit foi avaliado quanto à sensibilidade frente à deficiência de fatores de coagulação e obtiveram-se os seguintes resultados:

Fator	VIII		IX		XI		XII		Pré-calicr.
% Ativ.	< 1	20	< 1	20	< 1	20	< 1	20	< 1
Result. em seg.	82,3	44,7	83,7	41,0	134,3	47,6	< 200	36,1	69,4

ESPECIFICIDADE
A especificidade do kit é garantida pela adição de uma única fonte de ativação dos fatores de coagulação, o Ácido Elágico.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO
O Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (TTPA) 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 da coagulação, exceto fator VII. É muito empregado na detecção de deficiências no estágio 1 da coagulação, fatores VIII, IX, XI, XII e fator de Fletcher.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS
1- International Committee For Standardization in Hematology Trombosis and Haemostasis. Amer. J. Clin. Path.
2- National Committee For Clinical Laboratory Standards: Collecion, 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.
6- 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 TTPA Bioclin na ANVISA: 10269360152

Revisão: Agosto/2023

SIMBOLOGIA UNIVERSAL



Bioclin

TTPA BIOCLIN

REF K090

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Método para determinación manual o automática del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada en muestras biologicas de plasma citratado. Solamente para uso diagnóstico *in vitro.*

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Coagulometria

Consiste en la determinación del tiempo de coagulación del plasma citratado, luego de la adición de los reactivos que contienen un Activador Plasmático (Ácido Elágico) y Fosfolípides, que actuarán como sustitutos de las plaquetas. Inicialmente el plasma es incubado con el Activador de Contacto, a 37°C por 3 minutos. En seguida, se adiciona el Formador de Coágulo (Cloruro de Cálcio) para la recalcificación, desencadenando el mecanismo de coagulación de la via intrínseca. Esta etapa debe ser cronometrada hasta la formación del coágulo.

REACTIVOS

Número 1 - Activador de Contacto (Cefalina ativada) - Almacenar entre 2 y 8ºC. Contiene: Extracto de cerebro de conejo, Ácido Elágico y conservante.
Número 2 - Formador de Coagulo (Solución de Cloruro de Cálcio) - Almacenar entre 2 y 8ºC. Contiene: Cloruro de Calcio y conservante.
Presentación pronta para uso.

PRESENTACIÓN

Presentación	Reactivo 1	Reactivo 2
1	6 x 2,5 mL	4 x 4 mL
2	6 x 5 mL	8 x 4 mL
3	12 x 2,5 mL	8 x 4 mL
4	12 x 5 mL	16 x 4 mL

EQUIPAMIENTOS E INSUMOS OPERACIONALES

Coagulómetro, baño maría 37ºC, reloj o cronómetro, pipetas, tubos de ensayo, Biocontrol Coagulación N y Biocontrol Coagulación P. Estos itens se encuentran en el mercado especializado en articulos para Laboratorios de Análisis Clínicos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento debe ser de 2 a 8°C. El transporte, a temperaturas de hasta 30°C, no debe exceder los 5 días. Mantener alejado de la luz y evitar la humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro*.
2- Seguir con rigor la metodología propuesta para obtención de resultados exactos.
3- El nivel de agua en baño maría debe ser superior al nivel de los reactivos en los tubos de ensayo.
4- El reactivo Nº 1 contiene Azida Sódica, irritante para la piel y mucosas. Manosear con cuidado.
5- Evitar el calentamiento del reactivo que no será utilizado. El reactivo ya calentado no debe ser devuelto al frasco original.
6- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.
7- 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.
8- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.
9- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Material: Plasma
Anticoagulante: Utilizar como anticoagulante o kit Citrato Bioclin conforme instrucciones de uso del mismo, o Citrato de Sódio 3,8% (0,130 M) o 3,2% (0,109 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 obtenida por punción venosa, evitando hemólisis, garroteamiento prolongado, formación de bolla y aspiración de líquido tisular. Cuando se evalúa solamente la prueba de coagulación, recoger siempre 2 tubos de citrato y descartar el primero.
Preparación: El sangre deberá ser mezclado con el anticoagulante luego de la colecta.
Centrifugar inmediatamente a 3000 rpm, durante 15 minutos.
Remover el plasma sin pipetar células rojas y la camada amarilla.
Las muestras deberán ser testadas en menos de 3 horas. Si el test no pudiera ser hecho en este período el plasma deberá ser congelado por máximo 1 semana a -20°C.

TÉCNICA

La Bioclin recomienda, para uso del kit, utilizar como suero control los kits Biocontrol Coagulación N y Biocontrol Coagulación P Bioclin.
1- Precalentar el Reactivo Nº 2 a 37ºC. Este procedimiento debe realizarse solo con el volumen que se utilizará para realizar las pruebas. El reactivo debe permanecer caliente durante todo el procedimiento.
2- Separe los tubos de reacción que se usarán para realizar las pruebas.
3- Pipetee 100 µL de la Muestra/Control en el tubo de reacción respectivo y precaliente a 37ºC durante 2 minutos en un baño de agua.
4- Pipetee 100 µL de Reactivo Nº 1 en el tubo de Muestra/Control e incube a 37ºC, durante 2 a 3 minutos.
5- Pipetee 100 µL de Reactivo Nº 2 (precalentado a 37ºC) en el tubo de Muestra/Control, disparando simultáneamente el temporizador.
6- Deje el tubo en el baño de agua a 37ºC, agitando suavemente. Mantener en el baño durante unos 20 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.

CÁLCULOS

Calcular el promedio de los tiempos de coagulación de cada muestras/controles.
Liberar el resultado en segundos.

CURVA DE SENSIBILIDAD A LA HEPARINA

Este procedimiento es útil para monitorar terapias con Heparina.
Se debe construir una curva de sensibilidad a la Heparina adicionando cantidades conocidas de Heparina a una mezcla de plasmas normales (pool).
Como sugestión se puede usar los siguientes valores de Heparina:

0,0 / 0,1 / 0,2 / 0,4 / 0,6

Determinar las dosificaciones de los tiempos de las diluciones, ploteando en un gráfico los tiempos y las concentraciones.
Cada laboratorio deberá establecer su propia curva de calibración.

LIMITACIONES DEL PROCESO

La concentración de citrato puede interferir en el tiempo de coagulación pues afecta directamente la concentración de calcio. Por lo tanto, los valores de TTPA son mayores en tubos del 3,8% que en tubos del 3,2%.[4]
Citrato en la concentración del 3,8% liberará resultados mayores que en el 3,2%. Por lo tanto, es necesario que haya estandarización del laboratorio para que la monitorización del diagnóstico del paciente sea realizada siempre con la misma concentración de anticoagulante.
La concentración de citrato de sodio debe ajustarse en pacientes con valores de hematocrito superior al 55%. En muestras con hematocrito elevado, la relación sangre/anticoagulante (9:1) no se mantiene, pudiendo causar exceso de citrato al volumen de sangre presente en el tubo. Para el cálculo del volumen de citrato, utilizar la fórmula descrita en el ítem 4 del Manual de Diagnóstico Laboratorio de las Coagulopatías Hereditarias y Plaqueopatías del Ministerio de Salud.[5]

INTERFERENTES

Muestras ictéricas, lipémicas o hemolizadas.
Uso de plasmas conteniendo Heparina, EDTA o Oxalato de Sódio. Condiciones y substancias que pueden alterar el TTPA: Contraceptivos orales, Estrógeno, embarazo, drogas Cumarínicas, Heparina, Asparginasis, Ácido Acetilsalicílico, Metronidazol, Digitálicos y Tetraciclina.

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.

VALORES DE REFERENCIA

El intervalo debe ser usado apenas como orientación. Se recomienda que cada laboratorio establezca, en la población atendida, sus propios intervalos de referencia, usando un pool de plasmas normales o un plasma de referencia.

Edad	Intervalo (segundos)
2 meses	26 – 47
5 meses	26 – 46
Niños a partir de 6 meses y adultos	27 – 38

Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profisional 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 TTPA Bioclin fue comparado con otro kit comercialmente disponible para determinación del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada. Fueron realizados 07 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación linear obtenida fue Y = 1,0094X - 1,5788 y el coeficiente de correlación 0,9974. Con estos resultados, se puede concluir que el kit presenta buena especificidad metodológica.

PRECISIÓN

Repetibilidad

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

Repetibilidad	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Tiempo (s)	32,15	64,90	44,55
Desvío Patrón (s)	1,14	0,97	0,94
Coefic. de Variación (%)	3,54	1,49	2,12

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:

Reproductibilidad	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Tiempo (s)	32,67	64,32	44,65
Desvío Patrón (s)	0,48	0,93	0,22
Coefic. de Variación (%)	1,47	1,44	0,49

SENSIBILIDAD
El kit fue evaluado cuanto a la sensibilidad frente a la deficiencia de factores de coagulación y se obtuvieron los siguientes resultados:

Factor	VIII		IX		XI		XII		Pre-calicr.
% Activ.	< 1	20	< 1	20	< 1	20	< 1	20	< 1
Result. en seg.	82,3	44,7	83,7	41,0	134,3	47,6	< 200	36,1	69,4

ESPECIFICIDAD
La especificidad del kit es garantizada por la adición de una única fuente de activación de los factores de coagulación, el Ácido Elágico.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO
El Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado (TTPA) es un test que monitora tanto la via extrínseca cuanto la via común de la coagulación, siendo útil en la monitoración de la terapia con Heparina y para verificar la deficiencia de todos los factores de la coagulación, excepto factor VII. Es muy empleado en la detección de deficiencias en el estágio 1 de la coagulación, factores VIII, IX, XI, XII y factor de Fletcher.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS
1- International Committee For Standardization in Hematology Trombosis and Haemostasis. Amer. J. Clin. Path.
2- National Committee For Clinical Laboratory Standards: Collecion, 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.
6- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTÍA DE CALIDAD
Antes de ser liberado para el consumo, todos los reactivos **Bioclin** son testados por el Departamiento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validad mencionada en la caja de presentación, desde que sean almacenados y transportados en 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 031 5454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro del kit TTPA Bioclin en la Anvisa: 10269360152

Revisión: Agosto/2023

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL



Bioclin

APTT BIOCLIN

REF K090

INSTRUCTIONS FOR USE

FUNCTION

Method for measuring manual or automatic time of Activated Partial Thromboplastin Time in biological samples of citrated plasma. For *in vitro* diagnostics use only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Coagulometry

Consist on the determination of time of citrated plasma after adding reagents that contain a Plasmatic Activator (Ellagic Acid) and Phospholipids, that will act as substitutes to platelets. Initially plasma is incubated with the Contact Activator, at 37ºC for 3 minutes. Following, add the Clot Forming (Calcium Chlorite) for recalcification, triggering the intrinsic coagulation mechanism. This step should be timed until the formation of the clot.

REAGENTS

Number 1 - Contact Activator (Activated Cephalin) - Store between 2 and 8ºC. Contains: Rabbit brain extract, Ellagic Acid and preservative.

Number 2 - Clot Former (Calcium Chlorite Solution) - Store between 2 and 8ºC. Contains: Calcium Chloride and preservative.

Presentation ready for use.

PRESENTATION

Presentation	Reagent 1	Reagent 2
1	6 x 2.5 mL	4 x 4 mL
2	6 x 5 mL	8 x 4 mL
3	12 x 2.5 mL	8 x 4 mL
4	12 x 5 mL	16 x 4 mL

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Coagulometer, water bath at 37ºC, watch or stopwatch, pipettes, test tubes, Biocontrol N Coagulation and Biocontrol P Coagulation. These itens are found at markets specialized on Laboratories of Clinical Analysis.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature should be 2 to 8°C. Transport, at temperatures up to 30°C, should not exceed 5 days. Keep away from light and avoid moisture. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

1- For *in vitro* diagnostic use only.

2- Strictly follow the methodology proposed to obtain exact results.

3- The level of water in water bath must be superior to the level of reagents in test tubes.

4-.Reagent Nº 1 contains Sodium Azide, irritant to skin and mucous, handle with care.

5- Avoid the warming of reagent that will not be used. Already heated reagent should not be returned to the original bottle.

6- 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.

7- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Material Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Customer Advisory Service) of Quibasa.

8- Do not use the product in case of damaged packaging.

9- It is essential that the instruments and equipmants used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES

Material: Plasma

Anticoagulant: Use as coagulant the Bioclin Citrate kit, according to instructions of usage, or Sodium Citrate 3.8% (0.130 M) or 3.2% (0.109 M), proportionally in 9 parts of Blood to 1 of Anticoagulant (for example: 4.5 mL of Blood + 0.5 mL of Anticoagulant).

Collection: Blood must be obtained through veinpuncture, avoiding hemolysis, prolonged tourniquet, bubble formation and tissue liquid aspiration. When evaluating only the coagulation test, always collect 2 tubes of citrate and discard the first one

Preparation: Blood should be mixed with anticoagulant right after collection. Centrifuge immediately at 3000 rpm, during 15 minutes.

Remove plasma without pipetting red cells and the yellow layer.

Samples must be tested in less than 3 hours. If tests can not be made during this period plasma should be frozen for at maximum 1 week at -20ºC.

TECHNIQUE

Bioclin recommends, for use of the kit, to use the Biocontrol N Coagulation and Biocontrol P Coagulation kits as the control serum.

1- Preheat the Reagent Nº 2 to 37ºC. 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.

2- Separate the reaction tubes that will be used to perform the tests.

3- Pipette 100 µL of the Sample/Control into the respective reaction tube and preheat to 37ºC for 2 minutes in a water bath.

4- Pipette 100 µL of Reagent Nº 1 into the Sample/Control tube and incubate at 37ºC, for 2 to 3 minutes.

5- Pipette 100 µL of Reagent Nº 2 (preheated to 37ºC) in the Sample/Control tube, simultaneously triggering the timer.

6- Leave the tube in the water bath at 37ºC, shaking gently. Keep in the bath for about 20 seconds.

7- Remove the tube from the bath, gently tilt it once a second and stop the timer at the time of the clot formation. Note the clotting time.

CALCULATIONS

Calculate the average between coagulation time of each samples/controls. Release all results in seconds.

CURVE OF SENSIBILITY TO HEPARIN

This procedure is useful to monitor therapies with Heparin.

A curve of sensibility to Heparin must be built adding the quantity of Heparin known to a mixture of normal plasmas (pool).

As a suggestion the following values of Heparin can be used:

0.0 / 0.1 / 0.2 / 0.4 / 0.6

Determine the dilution time dosages, plotting in a graphic the times and concentrations.

Each laboratory must establish its own calibration curve.

PROCEDURE LIMITATIONS

The concentration of citrate may interfere with coagulation time because it directly affects the concentration of calcium. Thus, APTT values are higher in tubes of 3.8% than in tubes of 3.2%.[4]

Citrate at 3.8% concentration will release results higher than 3.2%. Therefore, it is necessary that the laboratory standardize so that the monitoring of the patient's diagnosis is always performed with the same anticoagulant concentration.

The concentration of sodium citrate should be adjusted in patients with hematocrit values above 55%. In samples with high hematocrit, the blood/anticoagulant ratio (9: 1) is not maintained and may cause excess citrate to the volume of blood present in the tube. To calculate the citrate volume, use the formula described in item 4 of the Laboratory Diagnostic Manual for Hereditary Coagulopathies and Plaquetopathies of the Ministry of Health.[5]

INTERFERENCES

Icteric, lipemic or hemolyzed samples.

Usage of plasma containing Heparin, EDTA or Sodium Oxalate.

Conditions and substances that may alter TTPA: Oral contraceptives, Estrogen, pregnancy, drugs Coumarin, Heparin, Asparginase, Acetylsalicylic Acid, Metronidazole, Digitalis and Tetracycline.

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.

REFERENCE VALUES

Interval should be used only as guidance. It is recommended that each laboratory establish, in population served, its own reference range, using a pool of normal plasmas or reference plasmas.

Age	Interval (seconds)
2 months	26 – 47
5 months	26 – 46
Children older than 6 months and Adults	27 - 38

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 Methodological Specificity

APTT Bioclin kit was compared with other method commercially available for dosage of Activated Partial Thromboplastin Time. 07 analyzes were performed and the results were evaluated. The linear equation obtained was Y = 1.0094X - 1.5788 and the correlation coefficient 0.9974. With these results, we can conclude that the kit shows good methodological specificity.

PRECISION

Repeatability

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

Repeatibility	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Time (s)	32.15	64.90	44.55
Standard Deviation (s)	1.14	0.97	0.94
Coefficient of Variation (%)	3.54	1.49	2.12

Reproductibility

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

Reproductibility	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Time (s)	32.67	64.32	44.65
Standard Deviation (s)	0.48	0.93	0.22
Coefficient of Variation (%)	1.47	1.44	0.49

SENSITIVITY

The kit has been evaluated for its sensitivity to the factors of deficiency in coagulation and obtained the following results:

Factor	VIII		IX		XI		XII		Pre-kallikr.
% Activ.	< 1	20	< 1	20	< 1	20	< 1	20	< 1
Result. in sec.	82.3	44.7	83.7	41.0	134.3	47.6	< 200	36.1	69.4

SPECIFICITY

The specificity of the kit is guaranteed by the addition of one single activation source of coagulant factors, Ellagic Acid.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

The Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) is a test that monitors both the intrinsic pathway and a common pathway of coagulation and is useful in monitoring of Heparin therapy and to verify the deficiency all coagulation factors except factor VII. Are widely used in deficiencies identified in stage 1 of the coagulation factors VIII, IX, XI, XII, Fletcher factor.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1- International Committee For Standardization in Hematology Trombosis and Haemostasis. Amer. J. Clin. Path.

2- National Committee For Clinical Laboratory Standards: Collecion, 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.

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

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 registration number for APTT Bioclin kit: 10269360152

Review: August/2023

UNIVERSAL SYMBOLOGY

