



APTT_{Test}

Para a determinação do Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada

SIGNIFICADO CLÍNICO

O tempo de tromboplastina parcial ativada (APTT) é uma prova sensível à deficiência de fatores pró-coagulantes do plasma, assim como à presença de certos inibidores da coagulação.

Serve para detectar anomalias na via intrínseca da coagulação, como os fatores necessários para a formação do ativador intrínseco da protrombina, ou seja, os fatores VIII, IX, XI e XII.

Também detecta deficiências severas dos fatores II, V, X e fibrinogênio, não sendo assim com os distúrbios plaquetários, as deficiências dos fatores VII e XIII nem distúrbios vasculares.

A rapidez, simplicidade e reprodutibilidade da prova a tornam muito adequada para o controle da terapêutica anticoagulante por heparina. Também permite a identificação rápida de hemofílicos em potencial, a fim de submetê-los a tratamentos preventivos pré-cirúrgicos e evitar problemas hemorrágicos.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

O ensaio se baseia na medida do tempo que um plasma descalcificado demora para coagular, quando colocado em banho-maria a 37°C e na presença de um excesso de cefalina, ativador e cálcio.

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: frascos contendo cefalina com terra de diatomeas como ativador particulado.

B. Reagente B: solução de cloreto de cálcio 0,025 mol/l.

REAGENTES NÃO FORNECIDOS

Água bidestilada ou deionizada.

INSTRUÇÕES DE USO

Reagente A, preparação:

- Abrir um frasco quebrando o lacre metálico e tirando lentamente a tampa de borracha para evitar a perda do material.
- Acrescentar o volume de água bidestilada ou deionizada, indicado na embalagem.
- Conferir que a temperatura da água utilizada não seja maior a 37°C.
- Tampar e agitar suavemente até obter uma suspensão homogênea. Voltar a homogeneizar cada vez que seja utilizado.

Reagente B: pronto para uso.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulamentação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Reagentes Fornecidos: estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem.

Reagente A: uma vez reconstituído é estável durante 14 dias sob refrigeração ou 30 dias congelado (-20°C).

O processo de congelado e descongelado pode ser realizado uma vez, neste caso, recomenda-se dividi-lo conforme às necessidades do trabalho.

AMOSTRA

Plasma

a) Coleta: obter sangue cuidadosamente (evitando estase ou trauma), e colocar num tubo com anticoagulante na proporção 9 + 1 exata (exemplo: 4,5 ml de sangue + 0,5 ml de Anticoagulante TP de Wiener lab.). Misturar suavemente. Centrifugar e separar o plasma antes de 30 minutos. É recomendável proceder a extração com seringas plásticas.

b) Aditivos: para obter o plasma deve-se utilizar o Anticoagulante TP de Wiener lab. ou citrato de sódio 130 mmol/l (3,8%) ou 109 mmol/l (3,2%).

c) Substâncias interferentes conhecidas:

- As contaminações, visíveis ou não, são causa de tempos falsamente prolongados.
- Não deve-se usar EDTA ou heparina para obtenção do plasma.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: o plasma deve ser mantido sob refrigeração (2-10°C) até o momento de efetuar a prova.

Este período não deve prolongar-se mais que 4 horas. Caso de não poder processar-se neste lapso de tempo, o plasma deve ser congelado a -20°C. Este procedimento, assim como o descongelamento, deve ser feito com rapidez (submersão em banho-maria a 37°C) anteriormente à determinação.

A amostra deve ser conservada em tubos plásticos até o momento de sua análise, para minimizar os efeitos de ativação por contato que podem ocorrer com os tubos de vidro.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Tubos de hemólise.
- Pipetas e micropipetas para medir os volumes indicados.

- Banho-maria a 37°C.
- Cronômetro.
- Fonte luminosa, para observação do coágulo.

PROCEDIMENTO

Pré-aquecer o Reagente B, antes de realizar a prova, em banho-maria a 37°C.

Em um tubo de hemólise, colocar:

Amostra (plasma desconhecido ou controle)	100 ul
--	--------

Reagente A (homogeneizado)	100 ul
-----------------------------------	--------

Misturar e incubar 3 minutos a 37°C. Adicionar a seguir:

Reagente B (a 37°C)	100 ul
----------------------------	--------

Disparar simultaneamente o cronômetro. Agitar brevemente para homogeneizar o conteúdo, manter no banho por cerca de 25 segundos. Retirar o tubo do banho, inclinar suavemente uma vez por segundo e deter o cronômetro no momento da formação do coágulo. Anotar o tempo de coagulação.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Os resultados podem ser expressos de modos distintos:

- 1) Como tempo de tromboplastina parcial ativada em segundos.
- 2) Como relação entre o tempo obtido com o desconhecido e o referente a um plasma controle.

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Plasma Control normal - patológico.

VALORES DE REFERÊNCIA

O intervalo de valores observados em indivíduos normais oscila entre 33-48 segundos.

Consideram-se fora do normal os valores que diferem em mais de 6 segundos de um plasma controle.

É recomendável que cada laboratório processe um plasma controle para cada lote de reagentes utilizado, e que correlacione os valores obtidos para os pacientes com o do plasma controle, fazendo constar estes resultados no informe.

CURVA DE CALIBRAÇÃO

Este método é útil como controle da resposta à heparina em pacientes tratados com aquele anticoagulante.

A técnica utilizada é a seguinte:

- 1) Preparar uma Solução de Trabalho de heparina em solução fisiológica, cuja concentração seja de 10 Unidades/ml. Deve-se utilizar a mesma heparina que se administra ao paciente.
- 2) Preparar diluições desta Solução de Trabalho utilizando-se um "pool" de plasmas frescos normais ou **Plasma Control normal** como diluente. Devem-se obter diluições de 0,8; 0,6; 0,4; 0,2 e 0,1 Unidades/ml.
- 3) Determinar o tempo de tromboplastina parcial para cada uma destas soluções, assim como para o "pool" de plasmas e plotar em papel semilogarítmico APTT x concentração de heparina.

O valor obtido para o paciente deve correlacionar-se com os valores do gráfico, para obter a concentração atual da heparina circulante.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas e Estabilidade e instruções de armazenamento em AMOSTRA.

O mecanismo de coagulação envolve uma série de reações enzimáticas que podem ser influenciadas por toda condição que afete os sistemas enzimáticos em geral, razão pela qual devem-se observar as mesmas precauções metodológicas. Deve-se ter em conta que variações na relação anticoagulante/amostra ou na concentração de citrato utilizada afetam os tempos de tromboplastina parcial ativada, pelo que se recomenda controlar a dose de anticoagulante utilizada a tomar a amostra.

DESEMPENHO

Reprodutibilidade: processando duplicatas das mesmas amostras no mesmo dia, obtiveram-se os seguintes dados:

Nível	D.P.	C.V.
45 seg	± 1,1 seg	2,5 %
62 seg	± 1,8 seg	3,0 %

APRESENTAÇÃO

Kits para 150 determinações (6 x 2,5 ml) (Cód. 1705002).

REFERÊNCIA

- Bell, W.N.; Alton, H.G. - Nature 174:880 (1954).
- Dacie, J.B.; Lewis, S.M. - Hematología Práctica - Ediciones Toray, 2a Edição (1970).
- Wintrobe, M.M. - Hematología Clínica, 3a Edição Inter-médica (1969).
- Bragos, I.; Rodriguez Pécora, S; Lorenzo, L; Capriotti, G.
- "Evaluación de un nuevo Reactivo de Tiempo Parcial de Tromboplastina Activada" - 53º Triduo Bioquímico Científico Anual - Bahía Blanca (1988).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

Símbolos

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Elaborado por:



Representante autorizado na Comunidade Europeia



Nocivo



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Corrosivo / Caústico



Conteúdo suficiente para <n> testes



Irritante



Data de validade



Consultar as instruções de uso



Limite de temperatura (conservar a)



Calibrador



Não congelar



Controle



Risco biológico



Controle Positivo



Volume após a reconstituição



Controle Negativo



Conteúdo



Número de lote



Número de catálogo



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina