

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 Fosfolípidos 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 8°C. Contém: Extrato de cérebro de coelho 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, ponteiros e pipetas, tubos, coagulômetro ou cronômetro, Biocontrol Coagulação N e P Bioclin. Encontrem-se 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 entre 15 e 30°C, não deverá exceder a 72 (setenta e duas) horas. 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 contêm 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

TÉCNICA

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

- 1- Pré-aquecer o reagente Nº 1 (Formador de Coágulo) a 37°C de 4 a 5 minutos (Aquecer somente o necessário para a realização do teste).**
- 2- Homogeneizar o reagente antes do uso.**
- 3- Em um tubo limpo pipetar 100 µL do plasma a ser medido (Controles ou Amostras) e incubar a 37°C, de 2 a 3 minutos (em banho-maria ou blocos térmicos).**
- 4- Adicionar 200 µL do reagente Nº 1 (Formador de Coágulo), previamente aquecido, ao tubo contendo o plasma e disparar o cronômetro.**
- 5- Deixar o tubo no aquecimento agitando-o vagarosamente.**
- 6- Retirar o tubo antes do tempo de coagulação previsto (aproximadamente 9 segundos), observar a formação do coágulo. Parar imediatamente o cronômetro ao se observar a formação do coágulo e registrar o tempo.**

Nota: Após aberto, o reagente Nº 1 é estável por 14 dias entre 2 a 8°C.

CÁLCULOS E RESULTADOS

Os resultados do Tempo de Protrombina podem ser expressos como:

Tempo de quick: Em segundos.

Percentual de atividade: Relacionado a um plasma normal (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)

Para se obter RNI deve-se relacionar a razão do Tempo de Protrombina do paciente pelo Tempo de Plasma normal com o ISI (Índice de Sensibilidade Internacional), como mostrado abaixo. O valor de ISI é enviado com o kit.

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

TP paciente: 13,5 seg
TP normal (referência): 12 seg
ISI: 1,20

Exemplo:

$RNI = (13,5 / 12)^{1,20} = 1,15$

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

Tempo de protrombina (quick) - 10 a 14 segundos.

Atividade (%) - 70 a 100 %

RNI - 1,0 a 1,08 em pessoas sadias

- 2,0 a 3,5 em pacientes que fazem uso de anticoagulantes orais.

Cada laboratório deverá estabelecer os seus valores de referência, sendo que os resultados variam em relação ao reagente utilizado. Os resultados deverão ser expressos em RNI para normalizar a variação dos resultados entre os laboratórios.

Os valores de ISI são determinados através de comparação com um material de referência de tromboplastina primária. Quanto mais baixo o ISI, mais sensível o reagente.

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

CONTROLE DE QUALIDADE

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 (Seg)	12,65	24,77	17,40
Desvio Padrão	0,49	0,75	0,51
Coefficiente 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 (Seg)	12,57	24,77	17,45
Desvio Padrão	0,19	0,08	0,05
Coefficiente de Variação (%)	1,51	0,31	0,29

Sensibilidade

A sensibilidade analítica do kit é dada pelo valor do Índice de Sensibilidade Internacional (ISI) e varia de 1,0 a 1,2.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

O teste avalia o Tempo de Protrombina, o aumento deste tempo deve-se a deficiências congêntitas ou adquiridas dos fatores I, II, V, VII e X. Sendo assim, o teste de escolha para avaliação da redução dos fatores vitamina K dependente, e indicado no controle de pacientes em uso de anticoagulantes orais, doença hemorrágica do recém-nascido, insuficiência hepática, coagulação intravascular, distúrbios da ingestão e absorção de vitamina K. Avalia tanto a via extrínseca como a via comum da coagulação.

NÚMERO DE TESTES

- Apresentação 1 - 250 testes
- Apresentação 2 - 200 testes
- Apresentação 3 - 100 testes
- Apresentação 4 - 500 testes

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 Bioclín 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 - Fax: (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

EC

REP

OBELIS S.A.

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

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: Outubro/2018

SIMBOLOGIA UNIVERSAL



NÚMERO DE CATÁLOGO



FABRICADO POR



NÚMERO DO LOTE



CONTROLE



DATA DE FABRICAÇÃO



CONTROLE POSITIVO



DATA DE VALIDADE
(último dia do mês)



CONTROLE NEGATIVO



LIMITE DE TEMPERATURA
(conservar a)



RISCO BIOLÓGICO



O CONTEÚDO É SUFICIENTE
PARA <N> TESTES



INFLÂMABEL



CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO



CORROSIVO



PRODUTO PARA
DIAGNÓSTICO IN VITRO



TÓXICO



REPRESENTANTE
EUROPEU AUTORIZADO



MARCA CE



PROTEGER DA
LUZ E CALOR



NÃO UTILIZAR SE A
EMBALAGEM ESTIVER
DANIFICADA

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 Fosfolípidos 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 actúa sobre el Fibrinogenio transformándolo en Fibrina. Este test evalúa los factores del Complejo Protrombínico (factores II, V, VII y X).

REACTIVO

Número 1 – Formador de Coágulo - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Extracto de cerebro de conejo 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. Se encuentran en el mercado especializado de artículos para Laboratorios de Análisis Clínicos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento deberá ser de 2 a 8°C. El transporte, a temperaturas entre 15 y 30°C, no deberá exceder a 72 (setenta y dos) horas. Mantener al abrigo de la luz y evitar humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.**
- Seguir con rigor la metodología propuesta para la obtención de resultados exactos.
- Manejar con cuidado los reactivos pues ellos contienen Azida Sódica, irritante para la piel y mucosas.
- 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.
- 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.
- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.
- 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 inmediatamente 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

TÉCNICA

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

- Precalentar el reactivo N° 1 (Formador de Coágulo) a 37°C de 4 a 5 minutos (Calentar sólo lo necesario para realizar la prueba).
- Homogeneizar el reactivo antes del uso.
- En un tubo limpio pipetear 100 µL del plasma a medir (Controles o Muestras) e incubar a 37°C, de 2 a 3 minutos (en baño de maría o bloques térmicos).
- Añadir 200 µL del reactivo N° 1 (Formador de Coágulo), previamente calentado, al tubo que contiene el plasma y disparar el cronómetro.
- Dejar el tubo en el calentamiento agitándolo lentamente.
- Retirar el tubo antes del tiempo de coagulación previsto (aproximadamente 9 segundos), observar la formación del coágulo. Parar inmediatamente el cronómetro al observar la formación del coágulo y registrar el tiempo.

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 pueden ser expresados como:
Tiempo de quick: En segundos.
Porcentaje de actividad: Relacionado a un plasma normal (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

Diluciones	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)

Para obtenerse RNI se debe relacionar la razón del Tiempo de Protrombina del paciente por el Tiempo de Plasma normal con el ISI (Índice de Sensibilidad Internacional), como mostrado abajo. El valor de ISI es enviado con el kit.

RNI = (TP paciente / TP normal)^{ISI}
TP paciente: 13,5 seg
TP normal (referencia): 12 seg
ISI: 1,20

Ejemplo:
RNI = (13,5 / 12)^{1.20} = 1,15

INTERFERENTES

Hemólisis y lipemia excesivas. Uso de plasma con Heparina y EDTA.
El TP puede ser aumentado por sustancias como: Anti-Coagulantes Heparina y Varfarina, Contraceptivos Orales, Etanol, Te-traciclina, Corticosteroides 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

Tiempo de protrombina (quick) - 10 a 14 segundos.

Actividad (%) - 70 a 100 %
RNI - 1,0 a 1,08 en personas sanas
- 2,0 a 3,5 en pacientes que hacen uso de anticoagulantes orales.

Cada laboratorio deberá establecer sus valores de referencia, teniendo en cuenta que los resultados varían en relación al reactivo utilizado. Los resultados deberán ser expresados en RNI para regular la variación de los resultados entre los laboratorios. Los valores de ISI son determinados a través de comparación con un material de referencia de tromboplastina primaria. Cuanto más bajo el ISI, más sensible el reactivo.
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
CONTROL DE CALIDAD

Exactitud
COMPARACIÓN DE MÉTODOS Y ESPECIFICIDAD METODOLÓGICA
El kit TP Bioclin fue comparado con otro método para evaluación de Tiempo de Protrombina comercialmente disponible. Fueron realizados 07 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación lineal 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.



SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

REF

NÚMERO DEL CATÁLOGO

LOT

NÚMERO DE LOTE



FECHA DE FABRICACIÓN



ESTABLE HASTA
(último día del mês)



TEMPERATURA LIMITE
(conservar a)



CONTENIDO SUFICIENTE
PARA <N> TESTES



CONSULTAR INSTRUCCIONES
DE USO

IVD

DISPOSITIVO DE
DIAGNÓSTICO IN VITRO

EC

REP

EUROPEA REPRESENTANTE
AUTORIZADO



PROTEGER DEL
LUZ Y CALOR



ELABORADO POR

CONTROL

CONTROL

CONTROL +

CONTROL POSITIVO

CONTROL -

CONTROL NEGATIVO



RIESGO BIOLÓGICO



INFLAMABLE



CORROSIVO



TÓXICO

CE

MARCADO CE



NO UTILICE SI EL
EMBALAJE ESTA
DAÑADA

PT BIOCLIN

REF K089

USAGE INSTRUCTIONS



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 8°C. Contains: Rabbit brain extract 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. Can be found in stores specialized in articles for Laboratories of Clinical Analysis.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature should be 2 to 8°C. Transportation, at temperatures between 15 and 30°C, should not exceed 72 (seventy-two) hours. 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

TECHNIQUE

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

- 1- Preheat the Reagent N° 1 (Clot Former) at 37°C for 4 to 5 minutes (Heat only what is necessary for the test).
- 2- Homogenize the reagent before use.
- 3- In a clean tube, pipet 100 µL of the plasma to be measured (Controls or Samples) and incubate at 37 ° C for 2 to 3 minutes (in a water bath or thermal blocks).
- 4- Add 200 µL of reagent N° 1 (Clot Former), previously heat, to the tube containing the plasma and trigger the timer.
- 5- Leave the tube on the heating wand slowly.
- 6- Remove the tube before the expected coagulation time (approximately 9 seconds), observe the formation of the clot. Immediately stop the timer by observing the formation of the clot and recording the time.

Note: After opened, reagent N° 1 is stable for 14 days at 2 to 8°C.

CALCULATIONS AND RESULTS

The results of Prothrombin Time may be expressed as:

Quick Time: In seconds.

Percentage of activity: Related to a normal plasma (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)

To obtain INR must be related to the prothrombin time ratio the patient by the time of normal plasma with the ISI (Sensitivity Index International), as shown below. The value of ISI is sent with the kit.

INR = (PT patient / PT normal) ^{ISI}

Patient PT: 13,5 sec

Normal PT (reference): 12 sec

ISI: 1,20

Example:

INR = (13,5 / 12) ^{1,20} = 1,15

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

Prothrombin time (quick) - 10 to 14 seconds

Activity (%) - 70 to 100%

INR - 1,0 to 1,08 in healthy people

- 2,0 to 3,5 in patients taking oral anticoagulants

Each laboratory should establish its reference values, and the results vary with respect to the reagent used. The results should be expressed in INR to normalize the variation of results between laboratories.

ISI values are determined by comparison with a reference material for thromboplastin primary. As low as the ISI is, the more sensitive is the reagent.

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
QUALITY CONTROL

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.

