



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 Fosfolípeidos 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 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, ponteiros 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 8°C. O transporte, em temperaturas até 30°C, 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 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

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 N e P Coagulação Bioclin.

- 1-** Homogeneizar o Reagente N°1 antes do uso.
- 2-** Pré-aquecer o Reagente N° 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 37°C de 2 a 3 minutos em banho-maria ou bloco térmico.
- 5-** Pipetar 200 µL do Reagente N° 1 no tubo da Amostra/Controle (pré-aquecido a 37°C) 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 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 paciente / TP 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 normatizar 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	24,85	17,45
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	17,40
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: Colleccion, 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

 **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: Junho/2020

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		INFLÂMAVEL
	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		CORROSIVO
	PRODUTO PARA DIAGNOSTICO 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: Coagulometría

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 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 ítems se encuentran en el mercado especializado en artículos para Laboratorios de Análisis Clínicos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

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

CAUDADOS 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

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 N y P Coagulación Bioclin.

- Homogeneizar el Reactivo N°1 antes de usar.
- 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.
- Separe los tubos de reacción que se utilizarán para realizar las pruebas.
- Pipetee 100 µL de la Muestra/Control en el tubo de reacción respectivo e incube a 37°C durante 2 a 3 minutos en un baño de agua o un bloque térmico.
- Pipetee 200 µL de Reactivo N°1 en el tubo de Muestra/ Control (precalentado a 37°C) en el tubo de Muestra/Control, iniciando simultáneamente el temporizador.
- Deje el tubo en el baño de agua a 37°C, agitando suavemente. Mantener en el baño durante unos 09 segundos.
- 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 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-tracidina, 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 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 (Seg)	12,65	24,85	17,45
Desvio Patrón	0,49	0,75	0,51
Coefficiente 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 (Seg)	12,57	24,77	17,40
Desvio Patrón	0,19	0,08	0,05
Coefficiente de Variación (%)	1,51	0,31	0,29

Sensibilidad
La sensibilidad analítica del kit es dada por el valor del Índice de Sensibilidad Internacional (ISI) y varia de 1,0 a 1,2.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO
El test evalua el Tiempo de Protombina, el aumento de este tiempo se debe a deficiencias congénitas o adquiridas de los factores I, II, V, VII y X. Siendo así, el test escogido para evaluación de la reducción de los factores vitamina K dependiente, e indicado en el control de pacientes en uso de anticoagulantes orales, dolencias hemorrágicas del recién nacido, insuficiencia hepática, coagulación intravascular, distúrbios da ingestión y absorción de vitamina K. Evalua tanto la via extrínseca como la via común de la coagulación.

NÚMERO DE PRUEBAS
Presentación 1 - 250 Pruebas
Presentación 2 - 200 Pruebas
Presentación 3 - 100 Pruebas
Presentación 4 - 500 Pruebas

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: Colleccion, 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 Brasileira

 **OBELIS S.A.**
Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

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: Junio/2020

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NÚMERO DEL CATÁLOGO		ELABORADO POR
	NÚMERO DE LOTE		CONTROL
	FECHA DE FABRICACIÓN		CONTROL POSITIVO
	ESTABLE HASTA (último día del mês)		CONTROL NEGATIVO
	TEMPERATURA LIMITE (conservar a)		RIESGO BIOLÓGICO
	CONTENIDO SUFICIENTE PARA <N> TESTES		INFLAMABLE
	CONSULTAR INTRUCCIONES DE USO		CORROSIVO
	DISPOSITIVO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	EUROPEA REPRESENTANTE AUTORIZADO		MARCADO CE
	PROTEGER DEL LUZ Y CALOR		NO UTILICE SI EL EMBALAJE ESTA DAÑADA

Bioclin

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 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 8°C and the transport temperature shall be up to 30°C, 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 N and P Coagulation 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 37°C 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 37°C) 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 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
METHODODOLOGY
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.

Accuracy
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 (sec)	12.65	24.85	17.45
Standard Deviation (%)	0.49	0.75	0.51
Coefficient of Variation (%)	3.87	3.00	2.93

REPRODUCIBILITY
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 (sec)	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 value of Sensitivity Index International (ISI) and ranges from 1.0 to 1.2.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE
The test measures the Prothrombin Time, this increased time is due to congenital or acquired deficiencies of factors I, II, V, VII and X. Being thus, the test of choice for assessing the reduction of the factors vitamin K dependent, and indicated in the control patients using oral anticoagulants, hemorrhagic disease of the newborn, hepatic failure, intravascular coagulation, disordered eating and absorption of vitamin K. Evaluates both the extrinsic pathway as the common pathway of coagulation.

NUMBER OF TESTS
Presentation 1 - 250 tests
Presentation 2 - 200 tests
Presentation 3 - 100 tests
Presentation 4 - 500 tests

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: Colleccion, 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

 **OBELIS S.A.**
Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

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

ANVISA resgistration for PT Bioclin kit: 10269360151

Review: June/2020

UNIVERSAL SYMBOLOGY

 CATALOG NUMBER	 MANUFACTURED BY
 BATCH CODE	 CONTROL
 DATE OF MANUFACTURE	 POSITIVE CONTROL
 USED BY (last day of month)	 NEGATIVE CONTROL
 TEMPERATURE LIMITATION (store at)	 BIOLOGICAL RISK
 CONTAINS SUFFICIENT FOR <N> TESTS	 INFLAMMABLE
 CONSULT INSTRUCTIONS FOR USE	 CORROSIVE
 IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE	 POISON
 EUROPEAN AUTHORIZED REPRESENTATIVE	 CE MARK
 KEEP AWAY FROM SUNLIGHT	 DO NOT USE IF PACKAGE IS DAMAGED