

Bioclin

TP ULTRASSENSÍVEL

REF

K207

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE
Teste para determinação do Tempo de Protrombina (TP) em amostras biológicas (plasma citratado), por meio do teste coagulométrico. 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), fosfolípides e cálcio. O fator VII é então ativado, formando o complexo FT-FVIIa que irá ativar os fatores IX e X. O fator Xa junto com o fator Va e cálcio transformam a protrombina (fator II) em trombina (fator IIa). A trombina atua sobre o fibrinogênio convertendo-o em fibrina. Este teste avalia os fatores das vias extrínseca e comum da coagulação (fatores II, V, VII, IX e X).

REAGENTE
Número 1 - Formador de Coágulo - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tromboplastina < 5% obtida de extrato de cérebro de coelho, solução tampão, ativador 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
5	6 x 5 mL
6	12 x 10 mL
7	12 x 15 mL
8	12 x 20 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS
Papel log-log, ponteiras e pipetas, tubos, coagulômetro ou cronômetro. Encontram-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 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*.
2- Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.
3- Manusear com cuidado os reagentes pois eles contém Azida Sódica, irritante para pele e mucosas.
4- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
5- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FDS (Ficha de Dados de Segurança) 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 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.
Interferentes: Hemólise e lipemia excessivas. Uso de plasmas 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.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO
A estabilidade do kit TP ULTRASSENSÍVEL instalado em equipamento com refrigeração é de até 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 plasmas controles.

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

- 1- Pré-aquecer o reagente N° 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 testes) e incubar a 37°C, de 2 a 3 minutos (em banho-maria ou blocos térmicos).
- 4- Adicionar 200 µL do reagente N° 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.
- 7- Calcular a média dos resultados obtidos pela duplicata.

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

CÁLCULOS E RESULTADOS
Os resultados do Tempo de Protrombina (TP) podem ser expressos como:
Tempo de quick: Em segundos.
Percentual de atividade: Relacionado a um pool de 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%).

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%

Determinar o Tempo de Protrombina para cada diluição em duplicata, calculando o valor médio dos resultados.
Em um papel log-log, plotar o gráfico colocando o valor de segundos no eixo “y” e o valor da porcentagem no eixo “x”. Este procedimento deverá ser repetido a cada lote.

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

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

Exemplo:
TP paciente: 14,5 s
TP normal (referência): 14 s
ISI: 1,00

$$RNI = (14,5 / 14)^{1,00} = 1,0$$

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 ULTRASSENSÍVEL é rastreável ao material de referência NIBSC RBT/05 (*International Standard for Thromboplastin - WHO International Standard*).

VALORES DE REFERÊNCIA
Os valores normais de tempo variam entre laboratórios, de acordo com o reagente, o equipamento e a metodologia validada. Portanto, é recomendado que cada laboratório estabeleça os seus valores de referência, de acordo com a sua população e com a técnica utilizada.
- Faixa indicativa do tempo de protrombina (*quick*) - 12 a 15 segundos. Ressalta-se que o valor de referência varia conforme o sistema de medição.
- Atividade (%) - 70 a 100%. Valores superiores a 100% não têm significado clínico.
- Os valores de **RNI** para o monitoramento dos anticoagulantes orais variam conforme patologia e indicação terapêutica e cada laboratório deverá estabelecer os seus próprios valores de referência.
Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

DESEMPENHO DO PRODUTO
EXATIDÃO

Comparação de Métodos e Especificidade Metodológica
O kit TP ULTRASSENSÍVEL foi comparado com outro método para avaliação de Tempo de Protombina comercialmente disponível. Foram realizadas 20 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi $Y = 0,9591X + 0,5508$ e o coeficiente de correlação igual a 0,9811. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

INTERFERENTES (ESPECIFICIDADE ANALÍTICA)

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. De acordo com a literatura científica, algumas substâncias são conhecidas como possíveis interferentes para a metodologia de coagulometria para dosagem do tempo de tromboplastina, que são causas de resultados falsamente elevados ou diminuídos. Hemólise e lipemia são interferentes que, em excesso, podem alterar os resultados de forma imprevisível. Além disso, o TP pode ser aumentado por substâncias como: anticoagulantes (Heparina e EDTA), varfarina, contraceptivos orais, etanol, tetraciclina e corticosteroides. Já a redução do TP pode ser observada em pacientes em uso de: Vitamina K, anti-histamínicos, cafeína e fenobarbital.

PRECISÃO

Repetibilidade

A repetibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Tempo (Seg)	12,50	38,35	14,59
Desvio Padrão	0,28	0,30	0,27
Coefficiente de Variação (%)	2,26	0,77	1,87

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 10 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)	12,48	38,33	14,50
Desvio Padrão	0,02	0,14	0,09
Coefficiente de Variação (%)	0,17	0,36	0,59

SENSIBILIDADE

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

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

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

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - Hirsh J , Deykin D, Poller L: Therapeutic Range For Oral Anticoagulant Therapy. Chest 89/12 (Suppl) 115-155, 1986.
- 2 - International Committee For Standardization In Haematology And International Committee On Trombosis And Haemostasis. Amer. J. Clin. Path . 88:779 1985.
- 3 - National Committee For Clinical Laboratory Standards: 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

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

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

Número de registro do kit TP ULTRASSENSÍVEL na ANVISA: 10269360313

Revisão: Abril/2024

SIMBOLOGIA UNIVERSAL



NÚMERO DE CATÁLOGO



NÚMERO DO LOTE



DATA DE FABRICAÇÃO



DATA DE VALIDADE
(último dia do mês)



LIMITE DE TEMPERATURA
(conservar a)



O CONTEÚDO É SUFICIENTE
PARA <N> TESTE



CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO



PRODUTO PARA
DIAGNÓSTICO IN VITRO



PROTEGER DA
LUZ E CALOR



NÃO REUTILIZE



CUIDADO



FABRICADO POR



CONTROLE



CONTROLE POSITIVO



CONTROLE NEGATIVO



RISCO BIOLÓGICO



INFLÁMVEL



CORROSIVO



TÓXICO



NÃO UTILIZAR SE A
EMBALAGEM ESTIVER
DANIFICADA



PRODUTO
ESTERELIZADO



PERIGO

TP ULTRASENSIBLE

REF K207

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Prueba para determinar el Tiempo de Protrombina (TP) en muestras biológicas (plasma citratado), mediante la prueba coagulométrica. Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Coagulometría

Consiste en medir el tiempo de coagulación del plasma tras la adición de una fuente de tromboplastina (factor III, factor tisular), fosfolípidos y calcio. Luego se activa el factor VIII, formando el complejo FT-FVIIIa que activará los factores IX y X. El factor Xa junto con el factor Va y el calcio transforman la protrombina (factor II) en trombina (factor IIa). La trombina actúa sobre el fibrinógeno convirtiéndolo en fibrina. Esta prueba evalúa los factores de las vías de coagulación extrínsecas y comunes (factores II, V, VII, IX y X).

REACTIVO

Número 1 - Formador de Coágulos - Conservar entre 2 y 8°C. Contiene: Tromboplastina < 5% obtenida de extracto de cerebro de conejo, solución tampón, activador y conservante.
Presentación lista para usar.

PRESENTACIÓN

Presentación	Reactivo 1
1	10 x 5 mL
2	20 x 2 mL
3	10 x 2 mL
4	20 x 5 mL
5	6 x 5 mL
6	12 x 10 mL
7	12 x 15 mL
8	12 x 20 mL

EQUIPOS OPERATIVOS Y CONSUMOS

Papel de registro, puntas y pipetas, tubos, coagulómetro o cronómetro. Se encuentran en el mercado especializado de artículos 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- Únicamente para uso diagnóstico *in vitro*.
- 2- Seguir estrictamente la metodología propuesta para obtener resultados exactos.
- 3- Manipule los reactivos con cuidado ya que contienen Azida Sódica, que es irritante para la piel y las mucosas.
- 4- Recomendamos aplicar normas de protección ambiental locales, estatales y federales para que los reactivos y material biológico sean dispuestos de acuerdo con la legislación vigente.
- 5- Para obtener información relacionada con la bioseguridad o en caso de accidentes con el producto, consulte la HDS (Hoja de Datos de Seguridad) disponible en el sitio web www.bioclin.com.br o mediante solicitud a través del SAC (Servicio de Asesoramiento al Cliente) de Quibasa.
- 6- No utilice el producto si el embalaje está dañado.

7- Es imprescindible que los instrumentos y equipos utilizados estén debidamente calibrados y sometidos a mantenimiento periódico.

MUESTRAS

Material: Plasma.
Anticoagulante: Utilizar Citrato de Sodio 3.8% (0.130 M) como anticoagulante, en una proporción de 9 partes de sangre por 1 parte de anticoagulante (por ejemplo: 4.5 mL de sangre + 0.5 mL de anticoagulante).

Recolección: La sangre debe obtenerse mediante venopunción, evitando hemólisis, torniquete prolongado, formación de ampollas y aspiración de líquido tisular.

Preparación: La sangre debe mezclarse con el anticoagulante inmediatamente después de su extracción. Centrifugar inmediatamente a 3000 rpm durante 15 minutos. Retire el plasma sin pipetear los glóbulos rojos ni la capa amarilla. Las muestras deben analizarse en menos de 3 horas. Si la prueba no puede realizarse dentro de este plazo, el plasma debe congelarse durante un máximo de 1 semana a -20°C.

Interferidores:

Hemólisis y lipemia excesivas. Uso de plasmas con Heparina y EDTA. El PT puede verse aumentado por sustancias como: Anticoagulantes Heparina y Warfarina, Anticonceptivos Orales, Etanol, Tetraciclina, Corticosteroides y EDTA. La reducción del PT se observa en pacientes que utilizan: vitamina K, antihistamínicos, cafeína y fenobarbital.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

La estabilidad del kit TP ULTRASENSIBLE instalado en equipos frigoríficos es de hasta 14 días. Esta estabilidad puede variar según la prueba, el equipo y las condiciones ambientales. Por lo que se sugiere monitorear el desempeño del producto mediante plasmas de control.

TÉCNICA

Bioclin recomienda, para utilizar el kit, utilizar como plasma de control los kits de Biocontrol Coagulación N y P.

- 1- Precalentar el reactivo n°1 (Formador de Coágulos) a 37°C durante 4 a 5 minutos (calentar sólo lo necesario para realizar la prueba).
- 2- Homogeneizar el reactivo antes de su uso.
- 3- En un tubo limpio, pipetear 100 µL del plasma a medir (controles o muestras prueba) e incubar a 37°C durante 2 a 3 minutos (en baño maría o bloques térmicos).
- 4- Añadir 200 µL de reactivo N°1 (Formador de Coágulos), previamente calentado, al tubo que contiene el plasma e iniciar el cronómetro.
- 5- Dejar el tubo al fuego agitándolo lentamente.
- 6- Retire el tubo antes del tiempo de coagulación esperado (aproximadamente 9 segundos), observe la formación del coágulo. Detenga inmediatamente el cronómetro cuando observe la formación de coágulos y registre el tiempo.
- 7- Calcular el promedio de los resultados obtenidos por el duplicado.

Nota: Una vez abierto, el Reactivo n.º 1 es estable durante 14 días entre 2 y 8 °C.

CÁLCULOS Y RESULTADOS

Los resultados del tiempo de protrombina (TP) se pueden expresar como:

Tiempo rápido: En segundos.

Porcentaje de actividad: Relacionado con un pool de plasma normal (considerado 100% de actividad), y para ello se debe trazar una curva de actividad, utilizando un pool de plasma normal recién recolectado y diluido con suero fisiológico (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%

Determinar el Tiempo de Protrombina para cada dilución por duplicado, calculando el valor medio de los resultados. En papel log-log, trace el gráfico colocando el valor de los segundos en el eje “y” y el valor porcentual en el eje “x”. Este procedimiento debe repetirse para cada lote.

RNI (Ratio Normalizado Internacional)

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

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

Ejemplo:

TP paciente: 14,5 s

TP normal (referencia): 14 s

ISI: 1,00

$$RNI = (14,5 / 14)^{1,00} = 1,0$$

CONTROL DE CALIDAD INTERNO

El Laboratorio Clínico debe contar con un programa de control de calidad interno, donde estén claramente establecidos los procedimientos, estándares, límites y tolerancia a variaciones. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, la cual debe ser monitoreada por los propios laboratorios. Para ello, se recomienda utilizar controles, que permitan evaluar la precisión y exactitud de las dosificaciones.

TRAZABILIDAD

El kit TP ULTRASENSIBLE es rastreable hasta el material de referencia NIBSC RBT/05 (*International Standard for Thromboplastin - WHO International Standard*).

VALORES DE REFERENCIA

Los valores de tiempo normal varían entre laboratorios, dependiendo del reactivo, equipo y metodología validada. Por ello, se recomienda que cada laboratorio establezca sus valores de referencia, según su población y la técnica utilizada.

- **Rango indicativo del tiempo de protrombina (rápido):** 12 a 15 segundos. Cabe señalar que el valor de referencia varía según el sistema de medición.
- **Actividad (%)** - 70 a 100%. Valores superiores al 100% no tienen importancia clínica.

- Los valores de **RNI** para el seguimiento de los anticoagulantes orales varían según la patología y la indicación terapéutica y cada laboratorio debe establecer sus propios valores de referencia. 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.

RENDIMIENTO DEL PRODUCTO EXACTITUD
Comparación de métodos y especificidad metodológica
El kit TP ULTRASENSIBLE se comparó con otro método disponible comercialmente para evaluar el tiempo de protombina. Se realizaron 20 análisis y se evaluaron los resultados. La ecuación lineal obtenida fue $Y = 0,9591X + 0,5508$ y el coeficiente de correlación fue 0,9811. Con estos resultados se puede concluir que el kit presenta buena especificidad metodológica.

Interferencias (especificidad analítica)
La especificidad del kit está garantizada por la adición de una fuente exclusiva de tromboplastina, un activador específico del factor VII, que elimina la posibilidad de activación directa de otros factores en la cascada de la coagulación. Según la literatura científica, algunas sustancias son conocidas como posibles interferencias en la metodología de coagulometría para medir el tiempo de tromboplastina, lo que provoca resultados falsamente elevados o disminuidos. La hemólisis y la lipemia son factores interferenciales que, en exceso, pueden alterar los resultados de forma impredecible. Además, el TP puede verse aumentado por sustancias como: anticoagulantes (heparina y EDTA), warfarina, anticonceptivos orales, etanol, tetraciclina y corticosteroides. La reducción del TP se puede observar en pacientes que utilizan: vitamina K, antihistamínicos, cafeína y fenobarbital.

PRECISIÓN
Repetibilidad
La repetibilidad se calculó a partir de 10 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con diferentes concentraciones, obteniendo los siguientes resultados:

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Tiempo (Seg)	12,50	38,35	14,59
Desvio Patrón	0,28	0,30	0,27
Coefficiente de Variación (%)	2,26	0,77	1,87

Reproducibilidad
La reproducibilidad se calculó a partir de 10 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con diferentes concentraciones, obteniendo los siguientes resultados:

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Tiempo (Seg)	12,48	38,33	14,50
Desvio Patrón	0,02	0,14	0,09
Coefficiente de Variación (%)	0,17	0,36	0,59

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

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

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.

GARANTÍA DE CALIDAD
Antes de ser despachados al consumo, todos los reactivos de **Bioclin** son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos está garantizada hasta la fecha de vencimiento mencionada en el empaque de presentación, siempre y cuando 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.: (31) 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

SERVICIO AL CLIENTE
Servicio de Asesoramiento al Cliente
Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro del kit TP ULTRASENSIBLE en la ANVISA: 10269360313

Revisión: Abril/2024

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NUMERO DE CATALOGO		FABRICADO POR
	NUMERO DE LOTE		CONTROLAR
	FECHA DE FABRICACIÓN		CONTROL POSITIVO
	FECHA DE VALIDEZ (último día del mes)		CONTROL NEGATIVO
	LÍMITE DE TEMPERATURA (tienda)		RIESGO BIOLÓGICO
	EL CONTENIDO ES SUFICIENTE PARA <N> PRUEBA		INFLAMABLE
	VER INSTRUCCIONES DE USO		CORROSIVO
	PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DE LUZ Y CALOR		NO UTILICE SI EL EMBALAJE ESTÁ DAÑADA
	NO REUTILIZA		PRODUCTO ESTERILIZADO
	PRECAUCIÓN		PELIGRO

PT ULTRASENSITIVE

REF K207

INSTRUCTIONS FOR USE

FUNCTION

Test to determine the Prothrombin Time (PT) in biological samples (citrated plasma), using the coagulometric test. Only for *in vitro* diagnostic use.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Coagulometry

It consists of measuring the plasma clotting time after the addition of a source of thromboplastin (factor III, tissue factor), phospholipids and calcium. Factor VII is then activated, forming the FT-FVIIa complex that will activate factors IX and X. Factor Xa together with factor Va and calcium transform prothrombin (factor II) into thrombin (factor IIa). Thrombin acts on fibrinogen, converting it into fibrin. This test evaluates the factors of the extrinsic and common coagulation pathways (factors II, V, VII, IX and X).

REAGENT

Number 1 - Clot Former - Store between 2 and 8°C. Contains: Thromboplastin < 5% obtained from rabbit brain extract, buffer solution, activator and preservative.
Ready-to-use presentation.

PRESENTATION

Presentation	Reagent 1
1	10 x 5 mL
2	20 x 2 mL
3	10 x 2 mL
4	20 x 5 mL
5	6 x 5 mL
6	12 x 10 mL
7	12 x 15 mL
8	12 x 20 mL

OPERATIONAL EQUIPMENT AND CONSUMPTIONS

Log-log paper, tips and pipettes, tubes, coagulometer or stopwatch. They are found in the specialized market for articles for Clinical Analysis Laboratories.

STORAGE AND TRANSPORT 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 CARES

- 1- For *in vitro* diagnostic use only.**
- Strictly follow the proposed methodology to obtain exact results.
- Handle the reagents with care as they contain Sodium Azide, which irritates the skin and mucous membranes.
- We recommend applying local, state and federal environmental protection standards so that reagents and biological material are disposed of in accordance with current legislation.
- To obtain information related to biosafety or in the event of accidents with the product, consult the SDS (Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or through a request through the SAC (Service Customer Advisory) from Quibasa.
- Do not use the product if the packaging is damaged.

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

SAMPLES

Material: Plasma

Anticoagulant: Use 3.8% Sodium Citrate (0.130 M) as an anticoagulant, in a proportion of 9 parts of blood to 1 part of anticoagulant (for example: 4.5 mL of blood + 0.5 mL of anticoagulant).

Collection: Blood must be obtained by venipuncture, avoiding hemolysis, prolonged tourniquet, blister formation and aspiration of tissue fluid.

Preparation: The blood must be mixed with the anticoagulant immediately after collection. Centrifuge immediately at 3000 rpm for 15 minutes. Remove plasma without pipetting red cells or the yellow layer. Samples must be tested in less than 3 hours. If the test cannot be performed within this period, the plasma must be frozen for a maximum of 1 week at -20°C.

Interferers:

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

PROCESS DESCRIPTION

The stability of the PT ULTRASENSITIVE kit installed in refrigerated equipment is up to 14 days. This stability may vary according to test, equipment and environmental conditions. Therefore, it is suggested to monitor the product's performance using control plasmas.

TECHNIQUE

Bioclin recommends, to use the kit, use the Biocontrol Coagulation N and P Bioclin's kits as control plasma.

- 1- Preheat reagent No. 1 (Clot Former) to 37°C for 4 to 5 minutes (heat only as much as necessary to carry out the test).
- 2- Homogenize the reagent before use.
- 3- In a clean tube, pipette 100 µL of the plasma to be measured (controls or test samples) and incubate at 37°C for 2 to 3 minutes (in a water bath or thermal blocks).
- 4- Add 200 µL of reagent No. 1 (Clot Former), previously heated, to the tube containing the plasma and start the timer.
- 5- Leave the tube in the heat, shaking it slowly.
- 6- Remove the tube before the expected clotting time (approximately 9 seconds), observe the clot formation. Immediately stop the timer when you observe clot formation and record the time.
- 7- Calculate the average of the results obtained by the duplicate.

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

CALCULATIONS AND RESULTS

Prothrombin Time (PT) results can be expressed as:

Quick time: In seconds.

Percentage of activity: Related to a pool of normal plasma (considered 100% activity), and for this an activity curve must be drawn, using a pool of normal plasma recently collected and diluted with physiological saline (0.9%).

Curve

Dilutions	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
Physiological solution (mL)	---	0.2	0.4	0.6	1.4	1.8
Activity	100%	50%	33%	25%	12.5%	10%

Determine the Prothrombin Time for each dilution in duplicate, calculating the average value of the results.
On log-log paper, plot the graph by placing the seconds value on the "y" axis and the percentage value on the "x" axis. This procedure must be repeated for each batch.

INR (International Normalized Ratio)

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

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

Example:
Patient PT: 14.5 s
Normal PT (reference): 14 s
ISI: 1.00

$$INR = (14.5 / 14)^{1.00} = 1.0$$

INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control program, where procedures, standards, limits and tolerance for variations are clearly established. It is important to highlight that all measurement systems present a characteristic analytical variability, which must be monitored by the laboratories themselves. To this end, it is recommended to use controls, which allow evaluating the precision and dosage accuracy.

TRACEABILITY

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

REFERENCE VALUES

Normal time values vary between laboratories, depending on the reagent, equipment and validated methodology. Therefore, it is recommended that each laboratory establish its reference values, according to its population and the technique used.

- **Indicative range of prothrombin time (quick)** - 12 to 15 seconds. It should be noted that the reference value varies depending on the measurement system.
 - **Activity (%)** - 70 to 100%. Values greater than 100% have no clinical significance.
 - **INR** values for monitoring oral anticoagulants vary according to pathology and therapeutic indication and each laboratory must establish its own reference values.
- The results provided by this kit must be interpreted by the responsible medical professional, and are not the only criteria for determining the patient's diagnosis and/or treatment.

PRODUCT PERFORMANCE

ACCURACY

Comparison of Methods and Methodological Specificity

The PT ULTRASENSITIVE kit was compared with another commercially available method for evaluating Prothombine Time. 20 analyzes were performed and the results were evaluated. The linear equation obtained was $Y = 0.9591X + 0.5508$ and the correlation coefficient was 0.9811. With these results, it can be concluded that the kit presents good methodological specificity.

Interferences (Analytical Specificity)

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

According to the scientific literature, some substances are known as possible interferers for the coagulometry methodology for measuring thromboplastin time, which are causes of falsely elevated or decreased results.

Hemolysis and lipemia are interfering factors that, in excess, can alter the results in an unpredictable way.

Furthermore, PT can be increased by substances such as: anticoagulants (Heparin and EDTA), warfarin, oral contraceptives, ethanol, tetracycline and corticosteroids.

The reduction in PT can be observed in patients using: Vitamin K, antihistamines, caffeine and phenobarbital.

PRECISION

Repeatability

The repeatability was calculated from 10 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Time (Sec)	12.50	38.35	14.59
Standard Deviation	0.28	0.30	0.27
Coefficient of variation (%)	2.26	0.77	1.87

Reproducibility

Reproducibility was calculated from 10 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Time (Sec)	12.48	38.33	14.50
Standard Deviation	0.02	0.14	0.09
Coefficient of variation (%)	0.17	0.36	0.59

SENSITIVITY

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

DIAGNOSTIC MEANING

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

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- 1 - Hirsh J , Deykin D, Poller L: Therapeutic Range For Oral Anticoagulant Therapy. 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.

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Quality Control Department. The quality of the reagents is guaranteed until the expiration date mentioned on the presentation packaging, as long as they are stored and transported under appropriate conditions.



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 - Made in Brazil

CUSTOMER SERVICE

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

Registration number of the PT ULTRASENSITIVE kit at ANVISA: 10269360313

Revision: April/2024

UNIVERSAL SYMBOLOGY

	CATALOG NUMBER		MADE BY
	LOT NUMBER		CONTROL
	MANUFACTURING DATE		POSITIVE CONTROL
	VALIDITY DATE (last day of the month)		NEGATIVE CONTROL
	TEMPERATURE LIMIT (store)		BIOLOGICAL RISK
	CONTENT IS SUFFICIENT FOR <N> TEST		FLAMMABLE
	SEE INSTRUCTIONS FOR USE		CORROSIVE
	IN VITRO DIAGNOSTIC PRODUCT		TOXIC
	KEEP AWAY FROM SUNLIGHT		DO NOT USE IF PACKAGE IS DAMAGED
	DO NOT REUSE		PRODUCT STERILIZED
	CAUTION		DANGER