



O frasco, depois de aberto, é estável por 14 dias se for armazenado entre 2-8°C.

B – Cloreto de Cálcio – 0.020M

Especialmente formulado para o teste de coagulação. Armazenar o frasco fechado entre 2° a 8°C. Após abrir o frasco, a solução de cloreto de cálcio é estável por 30 dias (2° a 8°C).

IV. COLETA DA AMOSTRA

A. Anticoagulante

Deve ser utilizado o citrato de sódio 3,2% (0,109M) ou 3,8% (0,129M) para os ensaios de coagulação. A proporção de 9 volumes de sangue para 1 volume de citrato é apropriada para a maioria das amostras, porém, para o paciente ocasional que apresentar um hematócrito inferior a 20% ou superior a 55%, esta proporção deve ser ajustada para validar os resultados. A fórmula (10) a seguir pode ser utilizada para calcular a quantidade de anticoagulante necessária para um volume sanguíneo e hematócrito específicos:

$$0,00185 \times \text{sangue (ml)} \times (100 - \text{hct}) = \text{anticoagulante (ml)}$$

B. Coleta da Amostra

As amostras de sangue podem ser coletadas por punção venosa ou de um cateter. A punção venosa não deve ser traumática para impedir a hemólise e a contaminação por fluidos de tecido. Se o sangue for retirado através de um cateter, a linha deve ser lavada com salina e os primeiro 5 ml de sangue não devem ser utilizados para os ensaios de coagulação. As amostras que apresentarem menos de 90% do volume de enchimento esperado no tubo de coleta devem ser rejeitadas (5).

C. Processo da Amostra

O sangue deve ser suavemente misturado com o anticoagulante logo após a coleta e transportado o quanto antes para o laboratório. Centrifugar durante 10-15 minutos com a força mínima necessária para obter um plasma pobre em plaqueta (PPP). O excesso de plaquetas no plasma pode provocar níveis falsamente elevados de alguns fatores, inclusive do fibrinogênio (Fator I). Remover o plasma e cobrir as amostras para não ocorrer alterações no pH que podem afetar os resultados do teste. As amostras mantidas em temperaturas de 22-24°C devem ser analisadas dentro de duas horas ou dentro de 4 horas se deixadas a 2-4°C. Para períodos mais longos, as amostras podem ser congeladas a -20°C por 2 semanas ou a -70°C por 6 meses. Descongelar as amostras rapidamente a 37°C e analisar imediatamente (5, 10).

V. LIMITAÇÕES /PRECAUÇÕES

A bioquímica da coagulação envolve uma série de reações enzimáticas em cascata que são influenciadas por muitas condições prévias. Estas variáveis devem ser controladas para que os resultados sejam reprodutíveis (5).

A. Coleta da Amostra

Garantir que a anticoagulação foi alcançada e que a amostra está isenta de contaminação. Por exemplo:

- Não demorar para misturar o sangue com o anticoagulante.
- Evitar que a amostra se espume.

- A amostra deve entrar em contato somente com vidro de borossilicato silicizado ou com plástico; é necessário uma superfície não-umectante.
- As amostras altamente hemolisadas, lipêmicas, turvas ou ictericas podem dar erros nos resultados de TTPA.
- O congelamento e o descongelamento de um plasma com células residuais darão origem a membranas celulares danificadas que podem afetar seriamente os resultados do teste de TTPA.
- O TTPA pode ser reduzido em resposta a uma reação inflamatória aguda onde é comum a elevação do Fator I circulante (fibrinogênio).
- As amostras de plasma com valores de hematócrito fora da faixa de 20-55% devem ser ajustados de acordo, para evitar uma anticoagulação imprópria.

B. Técnica Laboratorial

Recomenda-se cuidado e atenção para os seguintes detalhes:

- A exposição do plasma ao ar, por um tempo excessivo, eleva seu pH (devido a liberação de CO²) para fora da faixa ideal do teste; armazenar as amostras de plasmas tampadas.
- A maioria dos testes de coagulação é realizada a 37°C + 0,5°C. Verificar a temperatura de todos os aparelhos diariamente.
- Todas as cubetas/vidrarias devem estar limpas e sem traços de detergentes ou de solução de limpeza.
- Seguir cuidadosamente as instruções do fabricante quanto à instalação, operação e manutenção de todos os equipamentos utilizados.

C. Substâncias Interferentes

- Oxalato de sódio, EDTA e heparina são inadequados como anticoagulantes.
- As seguintes substâncias ou condições foram citadas por influenciar o teste de TTPA (6): anticoncepcionais orais, estrógeno, gravidez, medicamentos cumarínicos, heparina, asparaginase e naloxona.

VI. PROCEDIMENTO

A. Materiais Fornecidos

Produto	Nome dos Componentes	Quantidade	Nº de determinações	
TTPA Reagente - XL	TTPA Reagente - XL	10 x 10ml	1000 determinações	
	Sol. de Cloreto de Cálcio	10 x 10ml		
	TTPA Reagente - XL	05 x 10ml	500 determinações	
	Sol. de Cloreto de Cálcio	05 x 10ml		
	Sol. de Cloreto de Cálcio 0.020M	TTPA Reagente - XL	02 x 10ml	200 determinações
		Sol. de Cloreto de Cálcio	02 x 10ml	
TTPA Reagente - XL		01 x 10ml	100 determinações	
Sol. de Cloreto de Cálcio		01 x 10ml		
TTPA Reagente - XL	TTPA Reagente - XL	10 x 2ml	200 determinações	
	Sol. de Cloreto de Cálcio	10 x 2ml		

B. Materiais adicionais necessários (Não Fornecidos)

Mecânico, foto-óptico ou outros meios para detectar a coagulação. Para a instalação, calibração e manutenção do aparelho, seguir corretamente as instruções do fabricante.

- Cronômetro ou outro relógio compatível.
- Parafilme ou equivalente.
- Pipetador de precisão: 0,1 ml.
- Pipetas de transferência de plástico.
- Tubos de ensaio de plástico, 12 x 75 mm, com tampa.
- Plasmas Controle Níveis 1, 2 e 3 Inlab Hemostasis para garantia da qualidade do método de ensaio.
- Banho-maria

C. Realização do Teste

1. Pré-aquecer o Cloreto de Cálcio 0,02M a 37°C.
2. Adicionar 0,1 ml do plasma teste na cubeta de

I. FINALIDADE

O reagente TTPA REAGENTE – XL é indicado para uso em análise do Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPA) e para os ensaios de fatores com base em TTPA.

II. RESUMO E PRINCÍPIO

O Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPA) é um teste simples e versátil, sensível para as deficiências de todos os fatores da coagulação do plasma, com exceção do fator VII. Ele é principalmente utilizado para determinar as deficiências na Fase I do mecanismo da coagulação, denominadas de Fatores VIII, IX, XI, XII e pré-caliceína (Fator Fletcher).

Em 1926, Mills observou que a cefalina crua coagulava o plasma normal mais rápido do que o plasma hemofílico. Langdell (1) e colaboradores estudaram minuciosamente o efeito da cefalina crua (2) no plasma hemofílico e idealizaram o teste do Tempo de Tromboplastina Parcial (TTP) em 1953. Um extrato de cefalina, que não coagulasse o plasma hemofílico tão rapidamente quanto o normal, foi denominado de tromboplastina “parcial”, em contrapartida a tromboplastina “total” que coagula o plasma normal e hemofílico ao mesmo tempo.

O teste do Tempo de Tromboplastina Parcial foi posteriormente modificado (3, 4) pela adição de um ativador para otimizar a ativação de contato e minimizar a influência de outras superfícies. Este teste passou a ser o Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPA).

O teste do TTPA é realizado pela adição do reagente TTPA que contém um ativador de plasma e fosfolípideo como um substituto de plaquetas, na amostra teste. A mistura é incubada durante 3 minutos a 37°C para atingir uma ativação ótima. Depois, a mistura incubada é recalificada com uma solução de cloreto de cálcio e o tempo de formação do coágulo é determinado.

Geralmente, os níveis de aproximadamente 40% do normal dos Fatores VIII, IX, XI e XII são suficientes para produzir resultados normais de TTPA. Inversamente, quando quaisquer destes fatores forem inferiores a aproximadamente 40%, o TTPA geralmente será prolongado. A heparina, na presença de um nível suficiente de Antitrombina III, também resultará num TTPA prolongado (V. Item IX). O reagente de TTPA também é utilizado para realizar os Ensaio dos Fatores. Estes procedimentos são utilizados para a determinação quantitativa dos fatores da coagulação.

III. REAGENTES

Para uso diagnóstico in vitro.

A – TTPA Reagente-XL

O fosfolípideo da tromboplastina parcial no TTPA -XL é derivado de cérebro de coelho extraído por clorofórmio, proporcionando um substituto de plaqueta. O ativador, ácido elágico solúvel, fornece uma superfície de carga altamente negativa para otimizar a ativação de contato dos fatores de coagulação. São adicionados tampões e conservantes.

Um sedimento amarelo pode se formar após o armazenamento por um período prolongado. Misturar suavemente por inversão antes do uso para assegurar uma ressuspensão adequada do ativador. Estocar entre 2-8°C. Não congelar.

ensaio e pré-aquecer a 37°C.

- Misturar 0,1 ml de APTT-XL por inversão e adicionar 0,1 ml do reagente ao plasma teste.
- Incubar a mistura plasma-reagente durante 3 minutos a 37°C (TEMPO DE ATIVAÇÃO).
- Decorridos os 3 minutos, adicionar 0,1 ml do Cloreto de Cálcio 0,02M pré-aquecido e disparar o cronômetro.
- Anotar o tempo de coagulação.
- Os resultados são expressos como Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada, em segundos (Ver Item VI).

VII. RESULTADOS

Calcular a média dos tempos de coagulação da duplicata dos testes do TTPA para cada plasma teste e anotar o mais próximo de 0,1 segundo. A média de um Valor de Referência Normal pode ser apresentada por comparação (V. Item VIII abaixo). Os valores dos pacientes não devem ser expressos em relação aos tempos de coagulação do plasma controle comercial, já que os plasmas controles são indicados somente para garantir a qualidade de precisão, a limites diferentes, da faixa de análise do TTPA.

VIII. VALORES ESPERADOS

A. Faixa Normal de Referência

Cada laboratório deve estabelecer a sua própria Faixa de Normalidade de indivíduos que representem a população que está sendo analisada. Em geral se utiliza 20 ou mais indivíduos para se determinar uma faixa com base na média de TTPA + 2 desvio padrão. A seleção dos indivíduos é feita da seguinte maneira:

- Número aproximadamente igual de homens e mulheres com idade entre 18-45 anos.
- Exclusão dos indivíduos sob medicação como terapia hormonal, antibióticos, anticoncepcionais orais, medicação de pressão sanguínea, etc.
- Doadores sem fazer esforço físico antes da coleta sanguínea.
- Coleta de sangue em jejum ou uma refeição com pouca caloria e leve para obter amostras límpidas e desejáveis.

A avaliação do TTPA REAGENTE -XL na população citada, usando aparelhos de coagulação mecânico ou foto-óptico, mostrou os seguintes resultados para as amostras coletadas em citrato 3,8% tamponado:

Média Faixa de 2 (seg.)

Desvio Padrão

Mecânico 29,8 23,4-36,2

Foto-óptico 30,7 26,1-36,3

Utilizar estes valores somente como um direcionamento. Cada laboratório deve estabelecer a sua própria Faixa Normal de Referência utilizando aparelhagem, métodos de coleta de sangue e técnicas de ensaio geralmente utilizadas naquele laboratório.

Devem ser estabelecidos novos valores normais com qualquer alteração que houver nos reagentes, aparelhagem, técnicas de coleta sanguínea ou no anticoagulante.

Além disso, uma Faixa de Normalidade deve ser reestabelecida, ou pelo menos verificada, quando mudar o número de lote do mesmo reagente (5).

B. Controle de Qualidade

O Plasma Controle de Coagulação ThromboScreen

Níveis 1, 2 e 3 deve ser analisado em conjunto com o plasma do paciente. O Nível 1 é um Plasma Normal, enquanto que os Níveis 2 e 3 são ajustados para simularem plasmas moderada e severamente deficientes de fator, respectivamente.

Uma Faixa de Controle deve ser estabelecida pelo próprio laboratório para representar a variação permitida no desempenho diário para cada nível de Controle.

Recomenda-se a análise de um Controle Normal (Nível 1) e pelo menos um Controle Anormal (Nível 2 ou 3) a cada expediente ou a cada 20 amostras de pacientes.

OBSERVAÇÃO: Os controles são indicados para garantir a qualidade da precisão do sistema do teste e assegurar que as variáveis como a técnica, os reagentes do teste, os diluentes, a aparelhagem, as pipetas e os controladores de temperatura estão sob controle. Não confundir com uma Faixa Normal de Referência estabelecida sobre uma população saudável, normal, na qual os valores do paciente podem ser comparados.

IX. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

A. Sensibilidade à Heparina

O TTPA normalmente é utilizado para monitorar a heparinoterapia uma vez que o aumento do TTPA é diretamente proporcional as quantidades crescentes de heparina (7, 8). A ação da heparina como um anticoagulante depende de muitos fatores, entre eles, um nível suficiente de Antitrombina III. Outras variáveis a serem consideradas são: ativação de plaqueta com consequente liberação do Fator 4 da Plaqueta durante o preparo da amostra, a administração de outros medicamentos, a proporção da heparina metabólica, a via de administração da heparina e o manuseio demorado da amostra.

Enquanto reconhecer estas variáveis, o laboratório pode determinar a sensibilidade relativa de um determinado reagente de TTPA à heparina, estabelecendo uma curva de sensibilidade. Isto é feito adicionando-se quantidades conhecidas de heparina em um pool de plasmanormal e analisando um TTPA. Por exemplo:

Concentração de Heparina (unidade/ml)	TTPA (segundos)
0.0	29.9
0.05	32.8
0.1	38.5
0.2	50.2
0.3	65.2
0.4	82.4
0.5	105.7
0.6	127.9

Cada laboratório deve determinar sua própria curva de sensibilidade à heparina utilizando a mesma origem da heparina utilizada na terapia naquela instituição. As variações podem aparecer em diferentes marcas de heparina, origem de tecido e formas de sais (7, 8, 9).

B. Sensibilidade ao Fator

Como o teste de APTT é sensível a deficiências dos fatores da via intrínseca da coagulação, ele é útil tanto para um teste de triagem como para a determinação quantitativa dos Fatores VIII, IX, XI, XII e fator pré-caliceína. Um reagente de APTT com sensibilidade suficiente demonstrará um APTT prolongado em pacientes que tenham a atividade do fator igual ou inferior a 30-40% (11, 12).

O APTT-XL foi avaliado com plasmas médio e severamente deficientes, com os seguintes resultados:

FATORES DE COAGULAÇÃO	% DE FATOR DE ATIVIDADE	TTPA (segundos)
VIII	< 1%	82
VIII	20%	44.8
IX	<1%	83.5
IX	20%	40.9
XI	< 1%	134.2
XI	20%	47.8
XII	<1%	200
XII	20%	36.2
Pré-caliceína	<1%	69.5

Além disso, a sensibilidade do APTT-XL ao Fator VIII foi determinada como segue:

% FATOR VIII	TTPA (segundos)
100%	32.5
70%	34.0
50%	36.9
40%	38.9
30%	40.8
20%	44.4
10%	50.6
5%	56.1
1%	68.1
<1%	83.6

Estes valores devem ser utilizados somente como direcionamento. Cada laboratório deve estabelecer a sensibilidade aos fatores individuais utilizando as técnicas estabelecidas em seu laboratório.

X. GARANTIA

Alamar Tecno Científica Ltda obedecendo o que estabelece o código de defesa do Consumidor e portanto para que o produto apresente o seu melhor desempenho estabelece que:

- O usuário leia e siga rigorosamente o procedimento técnico;
- Os materiais estejam armazenados em condições solicitados;
- Os acessórios solicitados estejam de acordo com o solicitado.

Antes de ser liberado para venda cada lote é testado e aprovado, sendo uma amostra retido para referência futura e controle de qualidade. Portanto havendo a necessidade de alguma informação sobre o lote em questão, o Controle de Qualidade estará à disposição. E quaisquer problemas que venham ocorrer por falha da empresa, serão solucionados sem ônus para o cliente.

XI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Langdell, R.D., Wagner, R.H., Brinkhous, K.M.: Effect of Anti-hemophilic Factor on One-Stage Clotting Tests. J. Lab. Clin. Med. 41: 637, 1953.
- Bell, W.N., Alton, H.G.: A Brain Extract as a Substitute for Platelet Suspensions in the Thromboplastin Generation Test. Nature 174: 880, 1954.
- Proctor, R.R., Rappaport, S.I.: The Partial Thromboplastin Time with Kaolin. Am J Clin Path 36: 212, 1961.
- Ratnoff, O.D., Crum, S.D.: Activation of Hageman Factor by Solution of Ellagic Acid. J Lab Clin Med 63: 359, 1964.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays, 1991, NCCLS Document H21-A2.
- Young, D.S., Thomas, D.W., Friedman, R.B., et al.: Effect of Drugs on Clinical Laboratory Test. Clin Chem 18: 1041, 1972.
- Brandt, J.T., Triplett, D.A.: Laboratory Monitoring of Heparin. Effect of Reagents and Instruments on the Activated Partial Thromboplastin Time. Amer J Clin Path 76: 530, 1981.
- Thomson, J.M.: The Control of Heparin Therapy by the Activated Partial Thromboplastin Time. Sensitivity of Various Thromboplastins to Heparin. Standardization of Coagulation Assays: An Overview. Edited by D.A. Triplett. College of American Pathologists, Skokie, Ill. 1982, pp 195.
- Banez, E.I., Triplett, D.A., Koepke, J.: Laboratory Monitoring of Heparin Therapy. The Effect of Different Salts of Heparin on the Activated Partial Thromboplastin Time, Am J Clin Path 74: 569, 1980.
- Musgrave, K.A., Bick, R.L.: Quality Assurance in the Hemostasis Laboratory. In Bick, R.L., et al., editors: Hematology, Clinical and Laboratory Practice. Vol. Two. St. Louis, Mo. 1993. Mosby. pp 1309-1315.
- Wujastyk, J., Triplett, D.A.: Selecting Instrumentation and Reagents for the Coagulation Laboratory. Pathologist 37: 398, 1983.
- Christensen, R.L., Triplett, D.A., Factor Assay (VIII and IX) Results in the College of American Pathologists Survey Program (1980-1982). Am J Clin Path 80 (Suppl): 633, 1983.



Alamar Tecno Científica Ltda.

Inlab Confiança

Rua Emir Macedo Nogueira, 179 – J. Potinari – Diadema – S. Paulo

Sac: (11) 5564-9500

ANVISA: 80049120095

Ed. 06/2025