



TEMPO DE PROTROMBINA/ (PT/INR)

O teste i-STAT® PT/INR consiste numa determinação no sangue total do tempo de protombina utilizado para monitorizar a terapêutica oral com anticoagulante (Coumadin ou varfarina). O teste determina o tempo necessário para a activação completa do trajecto extrínseco da cascata de coagulação uma vez iniciada (activada) pela tromboplastina.

Num teste do tempo de protombina, a coagulação é iniciada misturando a amostra com tromboplastina tecidular. Em testes de tempo de protombina normais, a activação completa é indicada quando a trombina activada converte fibrinogénio em fibrina e são verificados mecanica ou opticamente coágulos de grande extensão ou localizados. O teste i-STAT PT/INR é semelhante, com a excepção do ponto final ser indicado pela conversão de um substrato da trombina que não o fibrinogénio. É utilizado um sensor electroquímico para detectar esta conversão.

O substrato de trombina adicionado é a H-D-fenilalanil-pipecolil-arginina-p-amino-p-metoxidifenilamina que possui a estrutura:



A trombina cliva a ligação amida na região terminal carboxilo do resíduo de arginina (representada pelos dois traços) porque a ligação se parece estruturalmente com a ligação amida da cadeia clivada pela trombina no fibrinogénio. O produto da reacção trombina-substrato é o tripéptido electroquimicamente inerte Fenilalanina - Pipecolina - Arginina e o composto electroactivo $\text{NH}_3^+ - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{NH} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{OCH}_3$. A formação do composto electroactivo é detectada amperometricamente e o tempo de detecção é medido.

O resultado do teste PT/INR é apresentado como uma Proporção normalizada internacional (INR) e, opcionalmente, em segundos. A INR é o método recomendado de apresentação de resultados para a monitorização da terapêutica oral com anticoagulante.¹ É determinada uma média normal do i-STAT prothrombin time (segundos) e ISI de acordo com as recomendações da WHO numa instituição acreditada pelo CAP. Os resultados de INR são calculados utilizando a seguinte equação:

$$\text{INR} = \frac{\left[\text{i-STAT prothrombin time (segundos) do Paciente} \right]^{\text{ISI}}}{\left[\text{Média Normal do i-STAT prothrombin time (segundos)} \right]}$$

As unidades opcionalmente apresentadas de segundos reflectem os tempos de PT plasmáticos. O tempo referido deriva do resultado de PT/INR e da equação apresentada em seguida, utilizando um ISI de 1,05 e uma Média Normal do tempo típico de PT no plasma de 12,0 segundos.

$$\text{INR} = \frac{\left[\text{Tempo de protombina no plasma (segundos) do Paciente} \right]^{\text{ISI}}}{\left[\text{Média Normal do tempo de protombina no plasma (segundos)} \right]}$$

Se os resultados parecerem inconsistentes com a avaliação clínica, a amostra do paciente deve ser novamente colhida e testada usando outro cartucho.

Indicações

O PT i-STAT, um teste do tempo da protrombina, é útil para a monitorização de doentes a quem está a ser administrada uma terapêutica anticoagulante por via oral, tal como a Coumadina ou a varfarina.

Conteúdo

Cada cartucho i-STAT PT/INR fornece uma câmara para recolha de amostras, sensores para detectar o ponto final da coagulação e os reagentes desidratados necessários para iniciar e permitir a coagulação. Os componentes de matriz inertes e reagentes estão aplicados numa secção do canal do sensor e incluem os ingredientes reactivos seguintes:

Ingrediente reactivo	Origem biológica	Quantidade mínima
Tromboplastina tecidual recombinante	Humana	0,18 mg
Heparinase I	<i>Flavobacterium heparinum</i>	0,018 IU
Substrato da trombina	Não aplicável	0,4 µg

Rastreabilidade metrológica

O teste do Tempo de protombina (PT/INR) do Sistema i-STAT mede a Proporção normalizada internacional (sem dimensão) demonstrando o intervalo de tempo relativo necessário para a activação completa, pela tromboplastina, da cascata de coagulação em sangue total capilar ou venoso para a monitorização *in vitro* da terapêutica oral com anticoagulante (Coumadin ou varfarina). Os valores de PT/INR atribuídos aos controlos da i-STAT estão relacionados com os procedimentos de medição de referência internacional da Organização Mundial de Saúde (OMS) e a Preparação de referência internacional recomendada pela OMS.² Os controlos do Sistema i-STAT são validados para serem utilizados apenas com o Sistema i-STAT e os valores atribuídos não podem ser comutáveis com outros métodos. Para mais informações relativamente à rastreabilidade metrológica contactar a Abbott Point of Care Inc.

Valores esperados

<u>Teste/Abreviatura</u>	<u>Unidade</u>	<u>Intervalo Clínico Verificado</u>
Tempo de Protrombina (PT/INR)	INR	0,9 - 6,0*

*As características de desempenho da medição de i-STAT PT/INR não foram estabelecidas para INRs acima de 6,0.

Características de desempenho

Os resultados de desempenho típico abaixo resumidos foram recolhidos em instituições de saúde por profissionais treinados na utilização do Sistema i-STAT e de métodos comparativos.

Imprecisão

Foram efetuados estudos iniciais para recolher dados de imprecisão para amostras de sangue total venoso e capilar. Os dados de imprecisão para amostras de sangue total venoso foram recolhidos em duplicado em dois locais clínicos. Os dados de imprecisão para amostras de sangue total capilar foram recolhidos em duplicado num único local clínico utilizando uma única vareta capilar. A tabela seguinte apresenta os dados resumidos.

Estatística	Local 1 (venoso)	Local 2 (venoso)	Local 3 (capilar)
n	181	102	33
Média (INR)	2,6	2,4	2,5
% CV	4,7%	4,0%	4,6%

Os dados de imprecisão apresentados de seguida para material de controlo de plasma liofilizado foram recolhidos durante estudos numa instalação da Abbott Point of Care e durante ensaios clínicos. O DP e a %CV são representativos do desempenho atual. Para obter dados sobre a média do controlo de plasma aplicável, consulte as folhas de atribuição de valores atuais.

Controlo de Plasma	Média	DP	% CV
Nível 1	1,1 (INR)	0,05	4,5%
Nível 2	2,5 (INR)	0,17	6,9%

Intervalo de Referência

Num estudo para determinar um intervalo de referência para PT/INR, foram colhidas amostras venosas em tubos de plástico de voluntários saudáveis e procede-se à análise do sangue total com um lote de cartuchos no Sistema i-STAT. As amostras capilares foram obtidas a partir dos mesmos voluntários utilizando Softclick Pro (conjunto de 3) e analisadas com o mesmo lote de cartuchos. Os intervalos de referência para INR nas amostras venosas e capilares foram determinados de acordo com a directriz CLSI Guideline C28-A2.³ Os dados estão resumidos na tabela seguinte:

Estatística	Sangue total venoso	Sangue total capilar
n	120	119
Média (INR)	1,0	1,0
DP	0,1	0,1
Intervalo de Referência (INR)	0,8 - 1,2	0,8 - 1,2

Devido ao grande número de variáveis que poderão afectar os resultados de PT/INR, cada laboratório deverá estabelecer o seu próprio intervalo de referência.

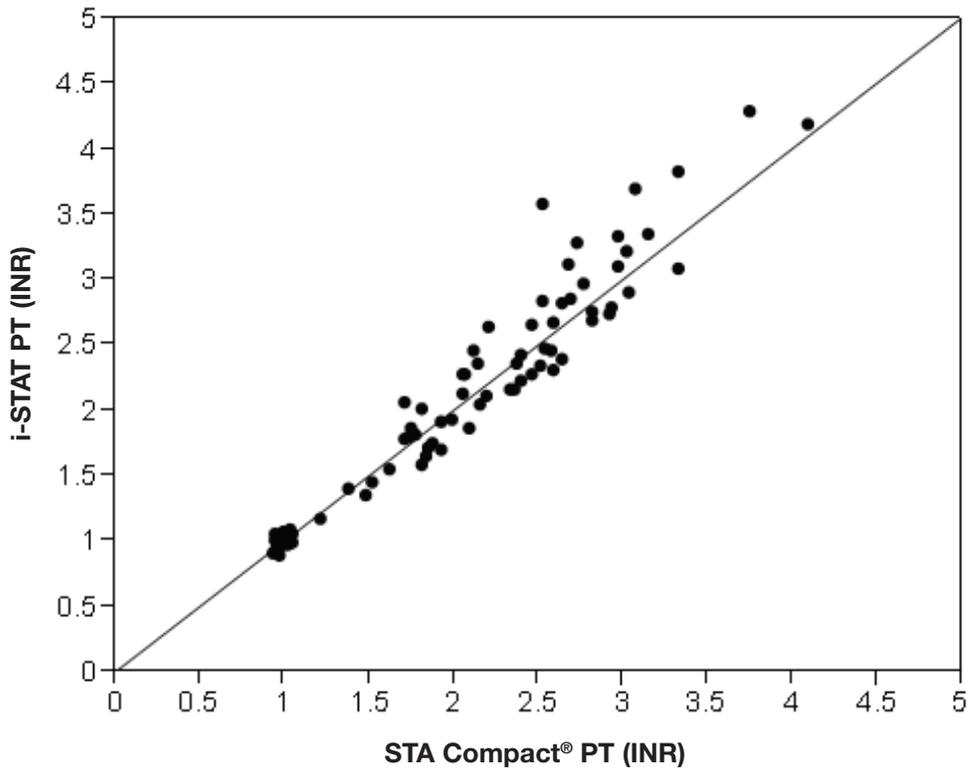
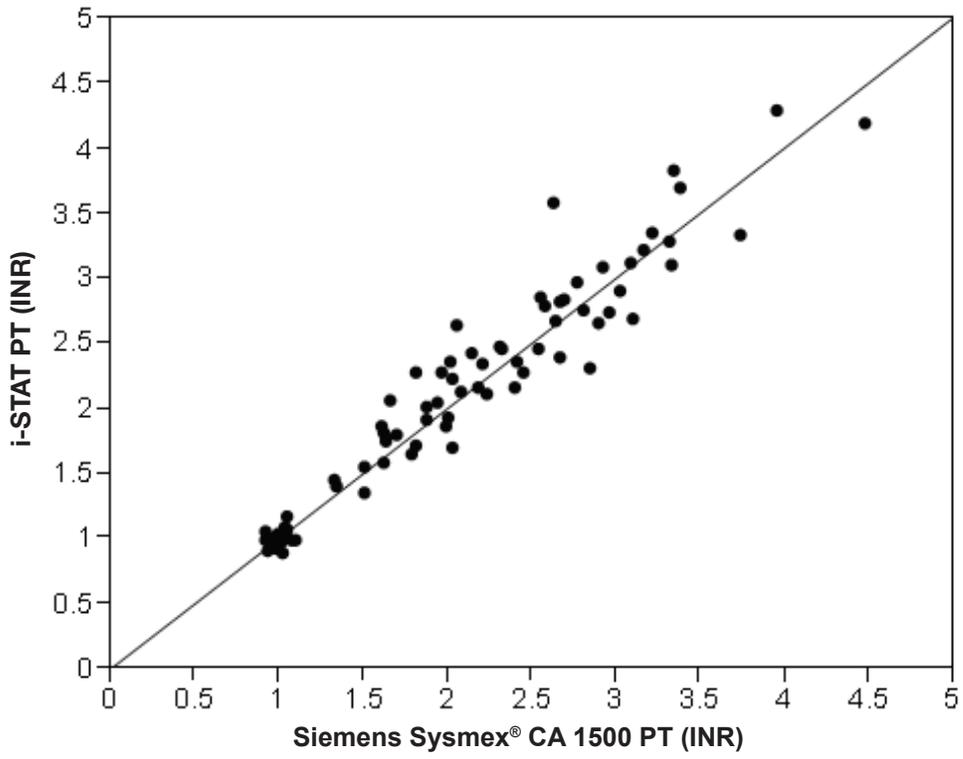
Comparação dos métodos

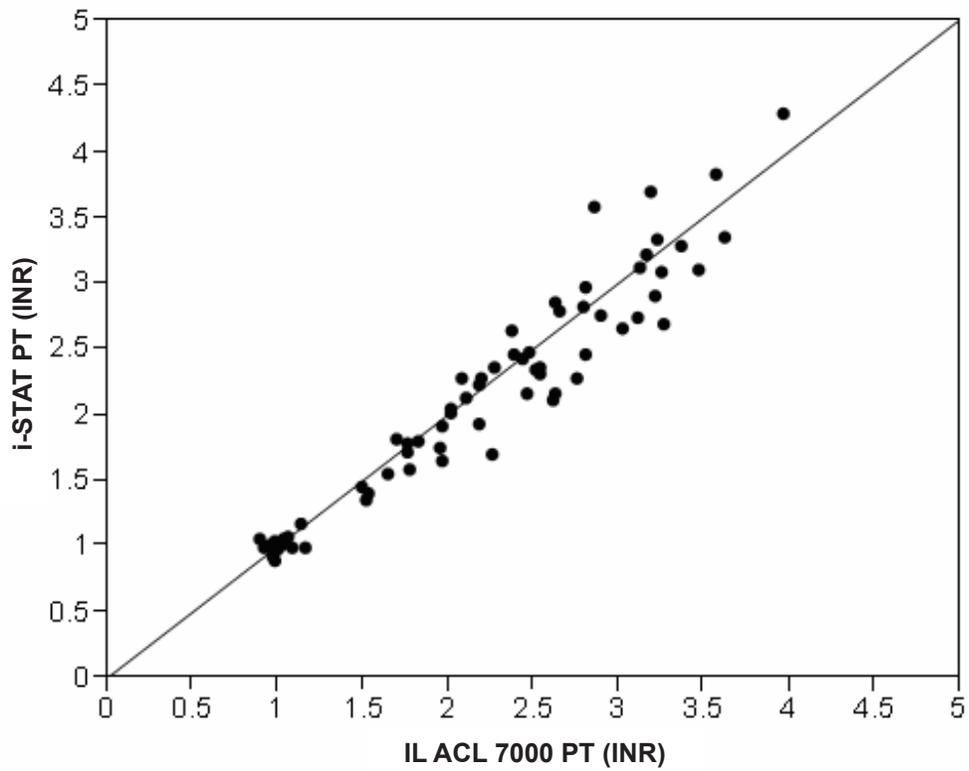
Os resultados de comparação dos métodos foram recolhidos no Hemostasis Reference Laboratory (Hamilton, Ontario, Canadá). As amostras de sangue venoso de pacientes externos submetidos a uma terapêutica oral de anticoagulação de rotina foram colhidas em tubos de plástico e analisadas em duplicado em vários lotes de cartuchos no Sistema i-STAT; o plasma dos tubos contendo um anticoagulante de citrato foi analisado em duplicado em instrumentos de comparação utilizando os reagentes Dade® Innovin®, STA Neoplastine® CI Plus e HemosIL® RecombiPlasTin 2G®.

Efectuou-se uma análise de regressão de Deming⁴ para a primeira réplica de cada amostra. Na tabela de comparação dos métodos seguinte, n é o número de amostras no conjunto de resultados, $S_{y.x}$ é o erro padrão da estimativa e r é o coeficiente de correlação.

As comparações dos métodos irão variar de local para local devido a diferenças no manuseamento das amostras, instrumentais e reagentes utilizados e outras variáveis específicas dos locais. Deverá ser realizado um estudo de correlação para estabelecer as diferenças entre a medição de i-STAT PT/INR e outros métodos utilizados.

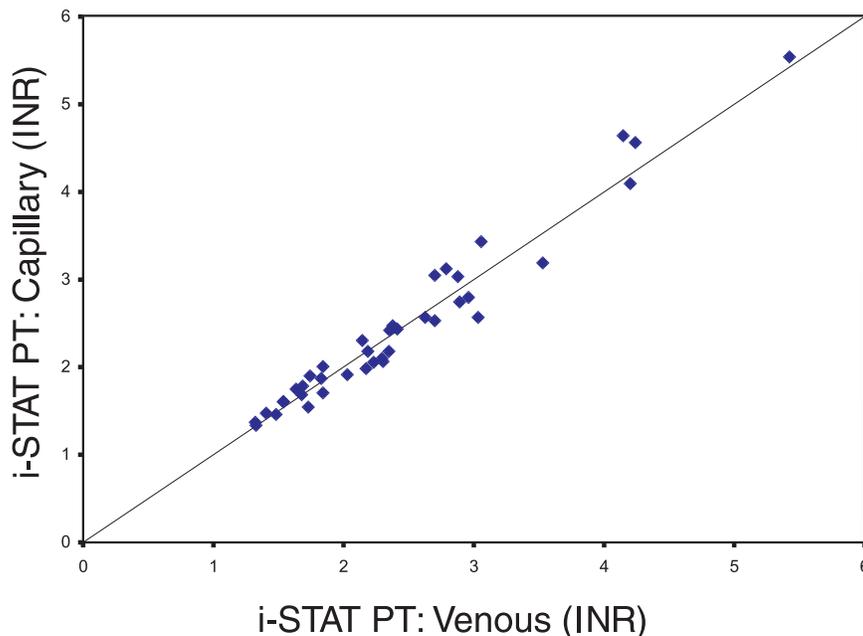
Estatística	i-STAT vs. Siemens Sysmex® CA-1500 e reagente Dade® Innovin®	i-STAT vs. STA Compact® e reagente Neoplastine® CI Plus	i-STAT vs. IL ACL 7000 e reagente HemosIL® RecombiPlasTin 2G®
n	78	78	69
Média (INR)	2,1	2,1	2,2
Intervalo (INR)	0,9 - 4,5	0,9 - 4,1	0,9 - 4,0
Sx (INR)	0,843	0,772	0,840
Declive	0,981	1,074	0,972
Intersecção (INR)	0,084	-0,100	0,003
r	0,963	0,964	0,962
Sy.x	0,233	0,229	0,233





Os dados apresentados em seguida referem-se à comparação dos dados de um local clínico de amostras capilares com os dados de amostras venosas analisadas no Sistema i-STAT.

Estadística	Capilar vs. Venoso
n	39
Média (INR)	2,4
Intervalo (INR)	1,3 - 5,4
Sx (INR)	0,960
Declive	1,049
Intersecção (INR)	-0,098
Sy.x	0,128
r	0,978



Factores que Afectam os Resultados

- A presença de heparina, citrato, oxalato ou EDTA adicionados exogenamente com dispositivos de recolha de sangue interferirá com os resultados do teste.
- Uma técnica incorrecta de recolha das amostras poderá comprometer os resultados. (Ver Colheita e Preparação dos Espécimes abaixo.)
- As seringas ou tubos de vidro poderão activar prematuramente a coagulação, resultando em tempos de coagulação acelerados e redução de INRs. As amostras venosas devem ser colhidas em seringas ou tubos de plástico.
- Os resultados de PT/INR poderão ser afectados pela administração frequente de fármacos.
- O Abbott Point of Care ainda não estabeleceu as características do teste i-STAT PT/INR em doentes que possuam anticorpos anticoagulantes lúpicos. Se for conhecida ou se suspeitar da presença de anticorpos anticoagulantes lúpicos, considerar proceder a um ensaio clínico laboratorial do tempo de protrombina utilizando um reagente comprovadamente insensível aos anticorpos anticoagulantes lúpicos ou um método laboratorial alternativo.

Limitações do Teste i-STAT PT/INR

- Durante a realização do teste, o analisador deve permanecer numa superfície plana, sem vibrações, com o visor voltado para cima. Os testes podem ser efectuados com o analisador portátil colocado no downloader/recharger
- O teste i-STAT PT/INR não é afetado por concentrações de fibrinogénio entre 70 e 541 mg/dL. A metodologia do teste eletrogénico i-STAT PT/INR não mede o coágulo físico e não depende da formação ou não de um coágulo físico de fibrina a partir do fibrinogénio. Como tal, o teste i-STAT PT/INR não irá refletir a extensão do tempo de coagulação associado com a diminuição do fibrinogénio (por ex. na coagulopatia de consumo), na coagulação intravascular disseminada ou na síndrome de desfibrinação.
- O teste i-STAT PT/INR não é afectado pelas concentrações de heparina não fraccionada até 1,0 U/mL.
- Demonstrou-se que hematócritos no intervalo de 25 – 54 % PCV não afectam os resultados.
- Descobriu-se que Cubicin® (daptomicina para injeção) causa um falso prolongamento do tempo de protrombina (PT) dependente da concentração, assim como uma elevação de INR quando se utiliza o teste i-STAT PT/INR. Nos pacientes tratados com este antibiótico, recomenda-se que seja utilizado um método alternativo para a avaliação de PT/INR.
- O teste i-STAT PT/INR pode apresentar um falso prolongamento do tempo de protrombina (PT) e uma elevação do INR em amostras contaminadas com gluconato de clorexidina.
- O teste i-STAT PT/INR não se destina à avaliação de deficiências em factores individuais.

Colheita e Preparação dos Espécimes

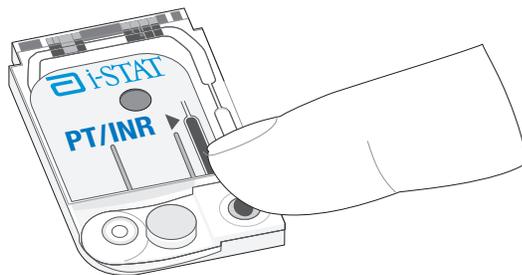
Atenção: O cartucho i-STAT PT/INR foi concebido para aceitar uma amostra entre 20 e 45 microlitros. Uma única gota de sangue dum picada no dedo ou formada na ponta de uma seringa situar-se-á normalmente dentro deste intervalo. Se for aplicado um volume superior no poço de amostra, ter cuidado quando se fechar o cartucho uma vez que o sangue em excesso poderá sair do cartucho.

O teste i-STAT PT/INR pode ser efectuado utilizando amostras de sangue capilar ou venoso.

Punções na pele

1. Retirar o cartucho da bolsa de papel de alumínio e colocá-lo numa superfície plana.
2. Preparar a lanceta e colocá-la de lado até ser necessária.
3. Limpar e preparar o dedo para a amostra utilizando uma solução aquosa de isopropanol a 70% (70% v/v).⁵ Deixar secar bem o dedo antes de colher a amostra. Não se recomenda a desinfecção do dedo com soluções contendo substâncias que não o isopropanol (p. ex. gluconato de clorexidina). Consultar a secção “Limitações do Teste i-STAT PT/INR” na respectiva folha de informação sobre cartuchos e testes.
4. Picar o lado inferior da ponta do dedo com a lanceta.
5. Espremer, com cuidado, o dedo até se formar uma gota de sangue suspensa e realizar o teste com a primeira amostra de sangue. *Evitar premir repetitivamente com força (“ordenha”), uma vez que pode causar hemólise ou contaminação do fluido da amostra.*
6. Aplicar uma gota de sangue no fundo do poço de amostra. Uma vez em contacto com o poço de amostra, o sangue será recolhido para o cartucho.
7. Aplicar a amostra até atingir a marca de enchimento indicada no cartucho.
8. Dobrar a tampa da amostra sobre o poço de amostras.
9. Premir a extremidade arredondada da tampa até esta encaixar no lugar.

Nota: De modo a simplificar ainda mais a aplicação da amostra no cartucho de teste, é possível aproximar o cartucho do dedo para uma aplicação mais fácil. Certificar-se de que o instrumento permanece numa superfície plana que não está sujeita a vibrações para realizar a análise.



Venipuncturas

- Devem utilizar-se técnicas de recolha resultantes de um bom fluxo sanguíneo.
- A amostra a analisar deve ser recolhida num **dispositivo de recolha de plástico** (uma seringa de plástico ou tubo evacuado de plástico).
- O dispositivo de recolha **não pode conter anticoagulantes** como a heparina, o EDTA, o oxalato ou citrato.
- O dispositivo de recolha **não pode conter activadores da coagulação ou separadores do soro**.
- A amostra deve ser imediatamente colocada no poço de amostras de um cartucho. Aplicar uma gota de sangue no fundo do poço de amostra. Uma vez em contacto com o poço de amostra, o sangue será recolhido para o cartucho.
- Se for necessária uma segunda medição, terá de se obter uma amostra fresca.

Nota: Alguns peritos recomendam a recolha e rejeição de uma amostra (venosa) de pelo menos 1,0 mL, antes da recolha da amostra para a análise de coagulação.⁶

Referências

1. Kirkwood TBL. Calibration of Reference Thromboplastins and Standardisation of the Prothrombin Time Ratio. *Thrombosis Haemostasis*, 49 (3) 238-244, 1983.
2. L. Poller, The Prothrombin Time (Synonymous with thromboplastin time or Quick test), World Health Organization, Geneva, WHO/LAB/98.3, 1998.
3. CLSI. How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Second Edition. CLSI document C28-A2 (ISBN 1-56238-406-6). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2000.
4. P.J. Cornbleet and N. Gochman, "Incorrect Least-Squares Regression Coefficients in Method Comparison Analysis," *Clinical Chemistry* 25:3, 432 (1979).
5. CLSI. Procedures and Devices for the Collection of Diagnostic Capillary Blood Specimens; Approved Standard—Sixth Edition. CLSI document H4-A6 [ISBN 1-56238-677-8]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2008.
6. Corriveau, Donna; Fritsma, George (ed.): Hemostasis and Thrombosis in the Clinical Laboratory. Ed, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, 1988, pp 70-71.

i-STAT é uma marca comercial registada do Grupo de Empresas Abbott em diversas jurisdições.

Dade Innovin e BCS RxL-Xpand são marcas comerciais registadas da Dade Behring Inc., Deerfield, IL.

STA Compact é uma marca comercial registada da Diagnostica Stago, Cedex, França.

STA Neoplastine é uma marca comercial registada da Diagnostica Stago, Cedex, França.

Sysmex é uma marca comercial registada da Sysmex Corporation.

ACL, HemosIL e RecombiPlasTin são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas de Instrumentation Laboratory Company.

Cubicin é uma marca comercial registada da Cubist Pharmaceuticals, Inc., Lexington, MA.



Abbott Point of Care Inc.
Abbott Park, IL 60064 • USA



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands



©2018 Abbott Point of Care Inc. All rights reserved. Printed in USA