TEMPOS DE PROTROMBINA E TROMBOPLASTINA PARCIAL ATIVADA EM TUBOS DE CITRATO COM DIFERENTES VOLUMES SANGUÍNEOS

Isadora Kummer Moreira [1]

Renata Wolff Roese [2]

Mirela Noro [3]

Diogo Ferreira Bicca [4]

Resumo:

Com o objetivo de avaliar a influência do volume de sangue em tubos de citrato sobre o tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial (TTPA) ativada, coletaram-se 10,5 mL de sangue de quatro cães hígidos. As amostras foram depositadas em tubos comerciais para 4,5 mL conforme os seguintes volumes: 4,5 mL (controle), 3,0 mL, 2,0 mL, 1,0 mL em tubos de citrato de sódio a 3,2%. Os valores de TP e TTPA foram determinados manualmente mediante kits comerciais. O tempo de protrombina foi maior nas amostras com 1 mL de sangue quando comparadas com os volumes de 2 mL, 3 mL e 4,5 mL. Também, observou-se que as amostras com 2 mL de sangue apresentaram tempos maiores de TP quando comparadas com amostras de 4,5 mL. Entretanto, as amostras de 3 mL apresentaram valores iguais aquelas com 4,5 mL ($P>0,05$). Ressalta-se que somente as amostras de 4,5 mL e 3 mL apresentaram valores médios dentro da referência estabelecida pelo kit bioquímico. Os resultados de TP indicaram que amostras com menos de 3 mL de sangue apresentam tempos aumentados, invalidando seu uso diagnóstico. O aumento do TP estaria associado a uma efeito de diluição do plasma citratado pela alta proporção de anticoagulante nas amostras de 2 mL (60% de anticoagulante) e 1 mL (80% de anticoagulante). Diferentemente do observado com o TP, o volume de sangue depositado dentro do tubo de citrato não afetou o TTPA, a pesar de observar-se uma tendência nos valores de TTPA serem maiores nos tubos com 1,0 mL quando comparados com o de 3 mL de sangue. As médias dos resultados de TTPA de todos os tubos encontraram-se dentro dos valores recomendados pelo kit. Observou-se uma correlação inversamente proporcional entre os volumes de sangue depositado no tubo de citrato com o tempo de protrombina assim como com o tempo de tromboplastina parcial ativada. Estes dados indicam que menores volumes de sangue depositados em tubos de citrato podem afetar os resultados devido ao efeito de diluição.

Palavras-chave: Hemostasia; Coagulação; Patologia Clínica

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

TEMPOS DE PROTROMBINA E TROMBOPLASTINA PARCIAL ATIVADA EM TUBOS DE CITRATO COM DIFERENTES VOLUMES SANGUÍNEOS

[1] Aluno de graduação. isadorakummermoreira@gmail.com. Autor principal

[2] Estudante de Graduação em Medicina Veterinária. renata.wolffr@gmail.com. Co-autor

[3] Docente. mirelanoro@unipampa.edu.br. Orientador

[4] Biólogo, Mestrando em Bioquímica. . diogofbicca@gmail.com. Co-orientador

TEMPOS DE PROTROMBINA E TROMBOPLASTINA PARCIAL ATIVADA EM TUBOS DE CITRATO COM DIFERENTES VOLUMES SANGUÍNEOS

INTRODUÇÃO

Os exames clínicos laboratoriais são feitos a partir de uma amostra biológica e compreende três fases distintas: pré-analítica, analítica e pós-analítica (LIPPI et al,. 2008). A fase pré-analítica inicia-se desde a obtenção de informações do paciente, coleta, identificação, transporte e recebimento da amostra biológica, ou seja, é a etapa que antecede a análise da amostra (BRASIL, 2005; MOTTA, 2009). Segundo REASON (2000), é esta fase sensível a erros, pois depende da tomada de decisões e conhecimento humano para obtenção da amostra. A fase analítica e pós analítica consiste na análise e entrega dos resultados, respectivamente. Cada etapa pode conter erros que afetam a confiabilidade dos resultados gerados (PLEBANI, 2007).

Entre os parâmetros utilizados para a triagem pré-cirúrgica estão os testes de hemostasia, processo fisiológico que tem como finalidade a manutenção e integridade do fluxo sanguíneo bem como o controle da hemorragia (BAKER, 2007). Entre estes testes pode-se avaliar a hemostasia secundária *in vitro* mediante a ativação da cascata de coagulação que mede o tempo de formação do coágulo (TSENG et al., 2001).

Entre os testes de triagem para avaliar a cascata de coagulação estão à mensuração do tempo de protrombina (TP) e o tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) (MEDEIROS, 2001). O TP detecta desvios na via extrínseca (fator VII) e comum (fatores X,V,II e I) tendo valores prolongados em alguns casos de intoxicação, doenças hepáticas, deficiências específicas entre outros. O TTPA é usado para monitorar anormalidade na via intrínseca (fatores XII, XI, IX e VIII) e comum, utilizado como exame de rotina no diagnóstico de doenças e hemofilias (BAKER, 2007; BAUER, 2009).

A avaliação laboratorial da hemostasia é importante para o diagnóstico e tratamento das coagulopatias, no entanto, quando analisadas de forma imprecisa e inexata podem comprometer o diagnóstico e a conduta terapêutica, representando um risco para o paciente, devido a falsos diagnósticos, particularmente para aqueles que estão em condições clínicas mais graves (WAHLS, 2007; PLEBANI, 2009).

A este respeito tanto TP quanto TTPA requerem para sua mensuração o uso do citrato de sódio como anticoagulante. Diferentemente dos outros tipos de anticoagulantes os tubos comerciais de citrato contêm um alto volume de anticoagulante (0,5 mL em tubos de 5

mL), o que poderia gerar erros pré-analíticos devido a um efeito de diluição do plasma quando o volume de sangue depositado nestes tubos for inferior ao recomendado pelo fabricante. Por isso, objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do volume de sangue coletado em tubos de citrato para 4,5 mL sobre os tempos de protrombina e tromboplastina parcial ativada em caninos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coletou-se 10,5 mL sangue de quatro cães hígidos, sem raça definida, mediante venopunção jugular. O sangue foi depositado em tubos comerciais de citrato de sódio a 3,2% (4,5 mL) nos seguintes volumes: 4,5 mL (controle, 90% sangue vs 10%citrato); 3,0 mL (60% sangue vs 40% citrato) ; 2 mL (40% sangue vs 60% citrato) e 1 mL de sangue (20% sangue vs 80% citrato). Em até 2 horas após a coleta as amostras foram centrifugadas (x 800g) para obtenção do plasma citratado que foi acondicionado em microtubos eppendorf para análise imediata. Nas amostras de plasma determinou-se mediante kits comerciais o TP (Bioclin), TTPA (Biotécnica), manualmente usando banho térmico a 37ºC, e cronômetro digital.

Os resultados obtidos foram tabulados de forma pareada de cada animal. Calculou-se média e desvio padrão, e as diferenças entre volumes de amostras foram calculadas mediante o teste T de Student pareado, considerando significativos quando $P<0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que o tempo de protrombina foi maior nas amostras com 1 mL de sangue quando comparadas com os volumes de 2 mL (3,9 segundos), 3 mL (5,29 segundos) e 4,5 mL (6,29 segundos) ($P<0,05$, Tabela 1). Também, observou-se que as amostras com 2 mL de sangue apresentaram tempos maiores de TP quando comparadas com amostras de 4,5 mL (2,4 segundos, $P<0,05$, Tabela 1). Entretanto as amostras de 3 mL apresentaram valores iguais aquelas com 4,5 mL ($P>0,05$). Ressalta-se que somente as amostras de 4,5 mL e 3 mL apresentaram valores médios dentro do considerado normal pelo kit bioquímico (<12 segundos). Porém maiores que os sugeridos por LOPES et al. (2004) (4,07 – 9,67 segundos e por MISCHKE et al. (2003) (6,5 – 8,5 segundos).

Os resultados de TP indicam que amostras com menos de 3 mL de sangue apresentam tempos aumentados, invalidando seu uso diagnóstico. O aumento do TP estaria associado a uma efeito de diluição do plasma citratado pela alta proporção de anticoagulante nas amostras de 2 mL (60% de anticoagulante) e 1 mL (80% de anticoagulante).

Tabela 1. Valores médios (± desvio padrão) dos tempos de protrombina (TP) e tromboplastina parcial ativada (TTPA) em diferentes volumes de amostras de sangue adicionados em tubos de citrato para 4,5 mL.

Volume	TP (segundos)	TTPA (segundos)
4,5 mL	10,53 ± 0,72	16,36 ± 4,06
3,0 mL	11,53 ± 1,65	15,75 ± 2,27
2,0 mL	12,92 ± 0,99	18,12 ± 0,62
1,0 mL	16,82 ± 2,06	27,65 ± 9,84
Valor de P		
1 mL x 2 mL	0,034	0,177
1 mL x 3 mL	0,006	0,089
1 mL x 4,5 mL	0,004	0,212
2 mL x 3 mL	0,101	0,131
2 mL x 4,5 mL	0,016	0,556
3 mL x 4,5 mL	0,208	0,869

Diferentemente do observado com o TP, o volume de sangue depositado dentro do tubo de citrato não afetou o TTPA, a pesar de observar-se uma tendência nos valores de TTPA serem maiores nos tubos com 1,0 mL quando comparados com o de 3 mL de sangue ($P<0,1$, Tabela 1). As médias dos resultados de TTPA de todos os tubos encontraram-se dentro dos valores recomendados pelo kit (<28 segundos), porém o tubo com 1 mL apresentou tempo superior ao sugerido por LOPES et al. (2004) (11,9 – 18,3 segundos), e todos os tubos, incluindo o controle com 4,5 mL apresentaram valores superiores aos indicados por EVANS & FLYN (1992) (7,74 – 9,26 segundos).

Por outro lado, observou-se uma correlação inversamente proporcional entre o volume de sangue depositado no tubo de citrato com o tempo de protrombina assim como com o tempo de tromboplastina parcial ativada (Figura 1 a e b, respectivamente). Estes dados indicam que menores volumes de sangue depositados em tubos de citrato podem afetar os resultados devido ao efeito de diluição.

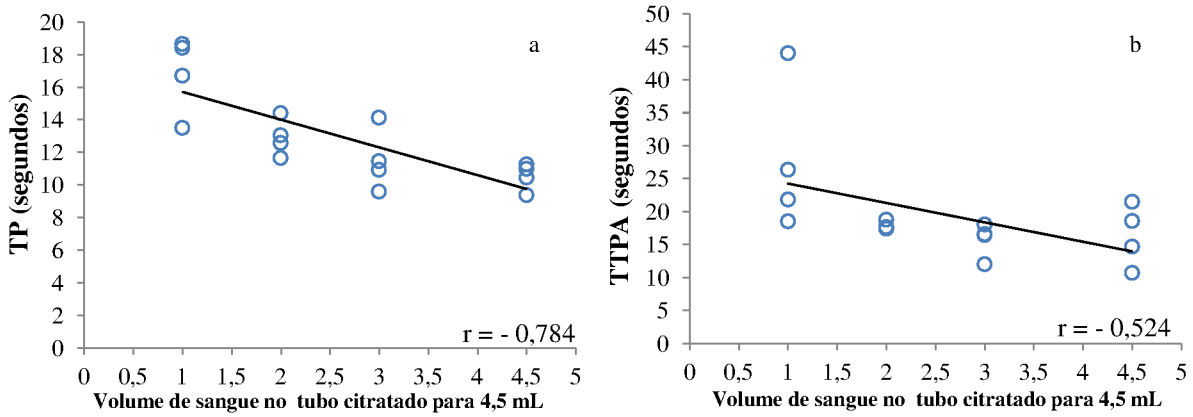

Figura 1. Correlação entre os tempos de protrombina (a) e tromboplastina parcial ativada (b) de acordo com o volume de sangue adicionado nos tubos de citrato para 4,5 mL de sangue.

CONCLUSÃO

Em base aos resultados conclui-se que tubos de citrato com baixo volume de sangue afetam os resultados do coagulograma, especialmente o tempo de protrombina, o que pode ocasionar erros de diagnóstico e conduta terapêutica.

REFERÊNCIAS

BAKER D.C. **Diagnóstico dos distúrbios hemostáticos.** In: Thrall M.A. (Ed). Hematologia e bioquímica clínica veterinária. São Paulo: Roca, pp.170-187. 2007.

BAUER N., Eralp O. & Moritz A. **Reference intervals and method optimization for variables reflecting hypocoagulatory and hypercoagulatory states in dogs using the STA**. Compact automated an-alyzer. J Vet Diagn Invest 2009;21:803–814.

BRASIL.Ministério da Saúde. **Resolução RDC no302, de 13 de Outubro de 2005.** Diário Oficial da União de 14 de outubro de 2005. Disponível em: http://www.mte.gov.br /legislacao/ Portarias/2005/p_20051111_485.pdf, 2005.

EVANS, G.O.; FLYNN, R.M. **Activated partial thromboplastin time mensurements in citrated canine plasma.** J Comp Path, v.106, p.79-82, 1992.

LIPPI, G.; FOSTINI, R.; GUIDI, G. C. **Quality improvement in laboratory medicine: extra-analytical issues.** Clin Lab Med, v. 28, p. 285-94, 2008.

LOPES S.A., Emanuelli M.P., Schmidt C., Raiser A.G., Mazzanti A. & Alves A.S. 2005. **Valores de referência do tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) em cães.** Ciência Rural. 35(2): 381-384

MEDEIROS L.P.M. & BLANCO B.S. 2009**. Tempo de protrombina e de tromboplastina parcial ativada em caprinos criados extensivamente no Estado do Rio Grande do Norte.** Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal. 10: 231-235.

MISCHKE, R. et al. **Sensitivity of different prothrombin time assays to factor VII deficiency in canine plasma.** Veterinary Journal, v.166, p.79-85, 2003.

MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica para o laboratório**. 5. ed., Rio de Janeiro: Medbook, 2009.

PLEBANI M. **Exploring the iceberg of errors in laboratory medicine.** Clin Chim Acta. 2009b; 404:1623.

PLEBANI, M. **Errors in laboratory medicine and patient safety: the road ahead.** Clin Chem Lab Med, v. 45, p. 700-7, 2007.

REASON, J. **Human error: models and management.** BMJ, v. 320, p. 768-70, 2000.

TSENG, L.W. et al. **Evaluation of a point-of-care coagulation analyzer for measurement of prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and activated clotting time in dogs.** Am J Vet Res, v.62, n.9, p.1455-1460, 2001.

WAHLS TL, CRAM PM. **The frequency of missed test results and associated treatment delays in a highly computerized health system.** BMC Fam Pract. 2007;8:32-9.