

# O uso do *pool* de plasma caseiro interfere no valor da RNI?

Primeira submissão em 05/12/11  
Última submissão em 23/02/12  
Aceito para publicação em 19/03/12  
Publicado em 20/08/12

*Does the use of in-house pooled plasma interfere in the INR value?*

Paulo Henrique da Silva<sup>1</sup>; Janaína Risczik Arruda Correa<sup>2</sup>; Railson Henneberg<sup>3</sup>; Aguinaldo José do Nascimento<sup>4</sup>

unitermos	resumo
Tempo de protrombina	<p><b>Introdução:</b> O tempo de protrombina (TP) é o teste de escolha para monitorar o nível de anticoagulação em pacientes que fazem uso de anticoagulantes orais. Nestes, atualmente, a anticoagulação é monitorada pelo valor da relação normalizada internacional (RNI). <b>Objetivo:</b> A finalidade deste trabalho foi determinar se um <i>pool</i> de plasma caseiro, com cinco (P5) e 20 (P20) amostras, pode ser usado como controle normal do TP e se o uso deste <i>pool</i> interfere no resultado da RNI. <b>Material e métodos:</b> Foram 32 dias de experimentos. Os dois <i>pools</i> de plasma caseiro foram analisados em relação a um controle normal de plasma comercial (PC). Para cada dia de experimento, fez-se o TP de P5, P20 e PC e também se determinou o valor de RNI para P5, P20 e PC em pacientes que fazem uso de anticoagulante oral. As ferramentas estatísticas utilizadas foram média (X), análise de variância e teste de Tukey. <b>Resultados:</b> A análise estatística demonstrou que os valores do TP e da RNI não são significativamente diferentes para PC, P5 e P20. <b>Conclusão:</b> O <i>pool</i> de plasma caseiro pode ser utilizado como controle normal do TP e o seu uso não interfere no valor da RNI.</p>
Relação normalizada internacional	
Anticoagulante oral	

## abstract

**Introduction:** The prothrombin time (PT) test is commonly used to monitor anticoagulant levels in patients undergoing oral anticoagulant therapy. Currently, anticoagulation levels have been assessed through the international normalized ratio (INR) value. **Objective:** The objective of this study was to determine if in-house preparations of pooled plasma, containing five (P5) and 20 (P20) samples, respectively, may be used as normal control of PT and to assess its interference in INR values. **Material and methods:** The experiment was performed in 32 days. Both pooled plasma preparations were analyzed in comparison with a commercial control (PC). PT was performed for PC, P5 and P20 daily and the INR value for PC, P5 and P20 was assessed in patients undergoing oral anticoagulant therapy. The applied statistical tools were mean value (X), analysis of variance and Tukey test. **Results:** There were no statistically significant differences in PT and INR for PC, P5 and P20. **Conclusion:** In-house pooled plasma (P5 and P20) may be applied as normal control of PT and it does not interfere in the INR value.

## key words

*Prothrombin time*  
*International normalized ratio*  
*Oral anticoagulants*

1. Doutor em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Federal do Paraná (UFPR); professor adjunto 3 do Departamento de Patologia Médica da UFPR.  
2. Especialista em Hematologia pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC); Farmacêutica bioquímica do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba (HUEC).  
3. Mestre em Análises Clínicas pela Universidade Estadual Paulista (UNESP) – campus Araraquara; professor assistente 3 da UFPR.  
4. PhD em Bioquímica; professor sênior do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPR.

## Introdução

O tempo de protrombina (TP) foi desenvolvido por Quick, em 1935<sup>(12)</sup>. É utilizado na clínica médica com três finalidades: (a) investigação de coagulopatias; (b) exame pré-operatório; (c) controle dos anticoagulantes orais. Tornou-se o teste de escolha para monitorar os anticoagulantes orais porque o TP inicia com ativação do fator VII<sub>6</sub>. O fator VII, para se tornar ativado, depende do ciclo da vitamina K, o qual é inibido pelos anticoagulantes orais<sup>(10)</sup>. Após a anticoagulação, com anticoagulantes orais, o aumento do TP se dá, principalmente, pela redução nos níveis do fator VII. A atividade desse fator fica reduzida após 6 horas do início da anticoagulação; a do fator X, após 40 horas; e a do fator II, após 60 horas<sup>(10)</sup>.

Um dos trabalhos mais relevantes para a anticoagulação oral foi o artigo publicado por Hull *et al.*, em 1982, que demonstra que a tromboplastina obtida de cérebro de coelho, muito utilizada na América do Norte, é menos sensível à redução de atividade dos fatores dependentes de vitamina K que a tromboplastina utilizada em alguns países europeus<sup>(6)</sup>. Esse problema foi resolvido com a adoção de um sistema em que tromboplastinas comerciais são comparadas com tromboplastina de padrão internacional; para a qual se convencionou um índice de sensibilidade igual a 1,07. Essa comparação permite o cálculo de um índice de sensibilidade para tromboplastina comercial, o qual foi chamado de índice de sensibilidade internacional (ISI). O sistema de calibração das tromboplastinas comerciais (obtenção do ISI) é realizado pela World Health Organization (WHO)<sup>(14)</sup>.

O ISI tem como finalidade padronizar a sensibilidade das tromboplastinas comerciais. A partir dele, é possível calcular a relação normatizada internacional (RNI), relação de tempos entre o TP do paciente e o TP do controle normal elevado ao valor do ISI. O monitoramento de indivíduos que utilizam anticoagulantes orais deve ser feito pela RNI<sup>(9, 11, 13)</sup>.

Henneberg *et al.*, publicaram um trabalho, em 2011, acerca da avaliação do *pool* de plasma caseiro (composto por cinco e 20 amostras), como controle normal para o tempo de tromboplastina parcial ativada (TTP), e validou o uso desse *pool* como controle normal<sup>(3)</sup>.

O objetivo deste trabalho foi utilizar o *pool* de plasma caseiro como controle normal do TP e avaliar se ele interfere no valor da RNI.

## Material e métodos

Foram coletadas amostras de 337 pacientes em uso de anticoagulante oral, com idade variando entre 30 e 60 anos. As amostras foram coletadas pelo sistema a vácuo, usando como anticoagulante o citrato de sódio a 0,106 M. As amostras foram centrifugadas imediatamente após a coleta e o TP processado no prazo máximo de 4 horas.

O *pool* de plasma caseiro foi realizado com cinco (P5) e 20 (P20) amostras, segundo a técnica descrita por Henneberg *et al.*<sup>(3)</sup>, e o *pool* de plasma comercial (PC) utilizado foi o da marca Siemens®.

O TP foi realizado por meio do sistema de coagulação da Dade-Behring BCS® (Behring Coagulation System), que utiliza sistema ótico para processamento coagulométrico das amostras. O fotômetro faz leituras das amostras nos comprimentos de onda de 340, 405 ou 570 nm. O reagente utilizado (tromboplastina cálcica) foi o Tromborel S da Siemens®. O ISI da tromboplastina cálcica variou de 0,99 a 1,02.

Para a comparação dos resultados obtidos, foram realizadas duas análises estatísticas: a primeira comparou os valores do TP para PC, P5 e P20; a segunda comparou o valor da RNI utilizando PC, P5 e P20. Os dados foram avaliados utilizando-se as ferramentas estatísticas, média (X), análise de variância e teste de Tukey.

## Resultados

A **Tabela** apresenta os valores do ISI e do TP com controle de PC, P5 e P20 para cada dia do experimento.

A **Figura 1** mostra a análise estatística dos valores do TP para o PC, o P20 e o P5. A análise da variância e o teste de Tukey indicaram que não existe diferença estatisticamente significativa entre PC, P20 e P5.

A **Figura 2** apresenta a análise estatística dos valores de RNI para PC, P20 e P5. A análise da variância e o teste de Tukey indicaram que não existe diferença estatisticamente significativa entre PC, P20 e P5.

## Discussão

O efeito anticoagulante dos antagonistas da vitamina K é monitorado pelo TP, o qual é sensível à diminuição da concentração dos fatores dependentes de vitamina K<sup>(8)</sup>. Um

**Tabela 1** Valores do ISI e do TP com o controle comercial, com pool de plasma P5 e P20.

Dia	ISI	TP (PC)	TP (P5)	TP (P20)
1	1,02	12,7	12,1	12
2	0,99	11,8	12	11,7
3	0,99	11,8	11,4	11,6
4	0,99	11,8	11,5	11,4
5	0,99	11,8	11,1	11
6	0,99	11,8	11,3	11,4
7	0,99	11,8	11,2	11,4
8	0,99	11,8	11	11
9	0,99	11,8	11,3	11,3
10	0,99	11,8	11,4	11,4
11	0,99	11,8	11,7	11,9
12	0,99	11,8	11,6	11,6
13	1,02	12,7	12,1	12
14	0,99	11,8	12	11,8
15	0,99	11,8	11,6	11,8
16	0,99	11,8	12,2	12,2
17	0,99	11,8	12,1	12,4
18	0,99	11,8	11,5	11,5
19	0,99	11,8	11,8	12
20	0,99	11,8	11,6	11,6
21	0,99	11,8	12,2	12,2
22	0,99	11,8	12,1	12,4
23	0,99	11,8	11,3	11,4
24	0,99	11,8	11,4	10,8
25	0,99	11,8	11,8	12,1
26	0,99	11,8	11,9	11,8
27	0,99	11,8	11,7	11,7
28	0,99	11,8	11,5	11,6
29	0,99	11,8	11,8	11,4
30	0,99	11,8	11,4	11,3
31	0,99	11,8	12,1	11,8
32	0,99	11,8	11,4	11,5

ISI: índice de sensibilidade internacional; TP: tempo de protrombina; PC: plasma comercial.

componente crítico do TP é a tromboplastina utilizada, pois variações na composição desta influenciam no resultado do teste. Quanto menor a atividade da tromboplastina, menor será a variação do TP, e doses maiores do anticoagulante oral serão usadas para se atingir a dose terapêutica, predispondo o paciente a um risco maior de sangramento<sup>(5)</sup>.

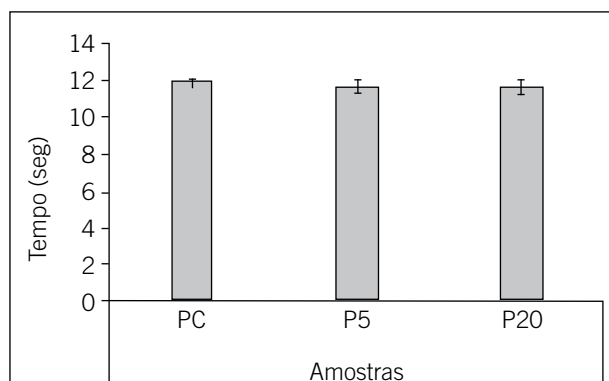


Figura 1 – PC: plasma comercial.

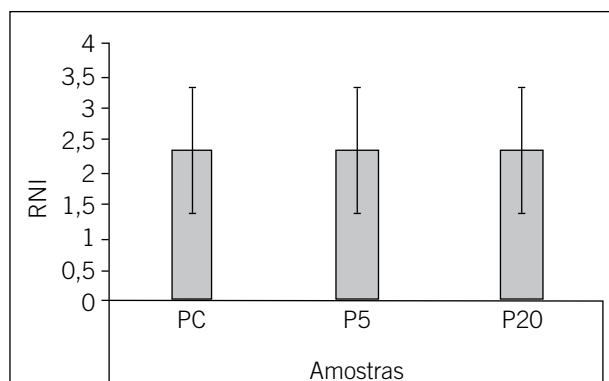


Figura 2 – RNI: relação normalizada internacional; PC: plasma comercial.

Os fabricantes de tromboplastina determinam a atividade de seu reativo pela obtenção do índice de ISI, que é usado como um fator de correção da atividade das tromboplastinas<sup>(6)</sup>. Estas, com alta atividade, tem ISI igual a 1. Na prática laboratorial, deve-se usá-las com ISI variando entre 1 a 1,4<sup>(5)</sup>. A partir do ISI, é possível calcular a RNI, que melhorou bastante a padronização dos resultados do TP e, atualmente, é o parâmetro utilizado para monitorar a terapia com anticoagulantes orais<sup>(7)</sup>. Desse modo, os valores de RNI obtidos em diferentes laboratórios podem ser comparados<sup>(8)</sup>. No início da terapia, a RNI deve ser determinada a cada dois a três dias, por até duas semanas, até que a dose terapêutica seja atingida<sup>(8)</sup>. Um valor de RNI abaixo de 1,7 coloca o paciente em estado de hipercoagulabilidade; valores acima de 4,5 aumentam o risco de sangramento. Esse fato mostra a importância do rigor técnico na obtenção da RNI<sup>(1)</sup>.

Mesmo com a adoção do RNI, ainda se tem dificuldades na padronização dos resultados. A precisão da RNI varia de acordo com a combinação reagente/instrumento e, além disso, cada laboratório deve estabelecer o valor do controle normal para o TP. O valor desse controle deve ser estabelecido utilizando as mesmas condições de coleta e técnica que foram usadas para a determinação do TP do paciente<sup>(12)</sup>.

Quando o laboratório prepara o *pool* de plasma caseiro, este será representativo da população que o laboratório atende<sup>(14)</sup> e é obtido a partir das mesmas condições de coleta e técnica do paciente que terá a RNI determinada. Nesse trabalho, fez-se a comparação estatística entre *pool* de PC e *pool* de plasma caseiro, com cinco e 20 amostras, e não houve diferença estatisticamente significativa. Isso demonstra que o *pool* de plasma caseiro, como descrito, pode ser utilizado na obtenção do controle normal para o TP e está de acordo com a literatura<sup>(2, 15)</sup>.

Outra pergunta que este trabalho procurou responder é se o uso do *pool* de plasma caseiro interfere no valor da RNI. Essa é uma questão crucial, visto que a janela terapêutica dos antagonistas da vitamina K é muito estreita. Ficou demonstrado que não há diferença estatística no valor da RNI, quando se compara o *pool* de plasma caseiro (com cinco e 20 amostras) com o PC.

O trabalho conclui que o *pool* de plasma caseiro (com cinco e 20 amostras) pode ser utilizado como controle normal do TP e, quando utilizado para o cálculo da RNI, não interfere no resultado.

## Referências

1. ALBERS, G. W.; DALEN, J. E.; LAUPACIS, A. Antithrombotic therapy in atrial fibrillation. *Chest*, v. 119, Suppl. 1, p. 194S-206S, 2001.
2. BARRANTES, A. B. El uso de reactivos estandarizados y el control de calidad en el método para el tiempo de protrombina. *Ver Costar Cien Med*, v. 3, p. 41-50, 1982.
3. HENNEBERG, R. et al. Avaliação do *pool* de plasma caseiro como controle normal para o tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa). *J Bras Patol Med Lab*, v. 47, p. 1, 2011.
4. HIRSH, J. Oral anticoagulant drugs. *N Engl J Med*, v. 324, n. 26, p. 1865-75, 1991.
5. HOFFMAN, R. et al. *Hematology: basic principles and practice*. 4. ed. Oxford: Elsevier, 2005.
6. HULL, R.; HIRSH, J.; JAY, R. Different intensities of anticoagulant therapy in the long term treatment of proximal-vein thrombosis. *N Engl J Med*, v. 307, p. 1676-81, 1982.
7. JOHNSTON, M.; HARRISON, L.; MOFFAT, K. Reliability of international normalized ratio for monitoring the induction phase of warfarin: comparison with the prothrombin time ratio. *J Lab Clin Med*, v. 128, p. 214, 1996.
8. KAUSHANSKY, K. et al. *Williams hematology*. 8. ed. Nova Iorque: McGraw Hill, 2011.
9. KAZAMA, M.; SUZUKI, S.; ABE, T. Evaluation of international normalized ratios by a controlled Field survey with 4 different thromboplastin reagents. *Thromb Haemost*, v. 64, p. 535-41, 1990.
10. LOSCALZO, J.; SCHAFER, A. I. *Thrombosis and hemorrhage*. 2. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994.
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards NCCCLS H28-P. *Proposed guidelines for the one-stage prothrombin time test (PT)*. Villanova: NCCLS, 1980.
12. QUICK, A. J.; STANLEY-BROWN, M.; BANCROFT, F. W. A study of the coagulation defect in hemophilia and in jaundice. *Am J Med Sci*, v. 190, p. 501-11, 1935.
13. RAY, M. J.; SMITH, I. R. The dependence of the International Sensitivity Index on the coagulometer used to perform the prothrombin time. *Thromb Haemost*, v. 63, p. 424-9, 1990.
14. SILVA, P. H.; HASHIMOTO, Y.; ALVES, H. B. *Hematologia laboratorial*. Rio de Janeiro: Revinter, 2009.
15. STIENE- MARTIN, E. A.; LOTSPEICH-STEININGER, C. A.; KOEPKE, J. A. *Clinical hematology: principles, procedures, correlations*. 2. ed. Philadelphia: Lippincott, 1998.

### Endereço para correspondência

Paulo Henrique da Silva  
Av. Lothário Meissner, 632  
Jardim Botânico  
CEP: 80210-170 - Curitiba-PR