

Efeito da congelação e armazenamento de amostras de plasma na estabilidade de ensaios de coagulação- Tempo de Protrombina (PT) e Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (APTT)

Botelho MC, Magalhães MC, Miranda A, Bourbon M, Vicente AM

INSA – Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Unidade Laboratorial Integrada, Departamento da Promoção da Saúde e Doenças Não Transmissíveis, Centro de Saúde Pública Dr. Gonçalves Ferreira, Porto

Objectivo: Analisar o efeito da congelação e armazenamento a -20°C na análise do PT e do APTT.

Introdução: A CLSI (antes NCCLS) recomenda para esta análise que a temperatura deve ser constante durante o armazenamento das amostras. O armazenamento do plasma pode ser à temperatura ambiente até 4 horas para o APTT e 24 horas para o PT. Após este período as amostras devem ser congeladas.

Material e Métodos: O método utilizado foi o coagulométrico (Fig.1A e B). Foram analisadas 8 amostras consecutivas de indivíduos com valores normais de PT e APTT. Todas as amostras foram colhidas em tubos contendo anticoagulante de citrato de sódio, centrifugadas após a colheita e divididas em duas alíquotas para avaliar os parâmetros de coagulação. As primeiras alíquotas foram analisadas 1-2 horas após a colheita. As segundas alíquotas foram congeladas, a -20°C e analisadas ao fim de 24 horas. Todas as amostras foram analisadas em triplicado.



Fig. 1A e B: Coagulómetro Sysmex CA 540.

Resultados

O tempo de protrombina aumenta em amostras congeladas

Amostras	PT seg (plasmas frescos)	PT seg (plasmas congelados a -20°C)
1	11,3	12,3
2	11,6	12,5
3	11,7	13,5
4	11,6	12,3
5	10,3	10,4
6	10,6	11,2
7	11,5	12,5
8	11,1	12,2
Média	11,2	12,1125
DP	0,48	0,87097
Var	0,26	0,86696

PT (segundos)		Condições experimentais	
		Plasmas frescos	Plasmas congelados (-20°C)
Média	DP	11,2 0,48	12,1 0,87
$p < 0,05$			

O tempo de APTT é fortemente afetado pela congelação

Amostras	APTT seg (plasmas frescos)	APTT seg (plasmas congelados a -20°C)
1	28	31,5
2	24,8	29,2
3	27,1	35,6
4	24,5	29
5	26	29,9
6	24,3	27,8
7	25	29,6
8	27	31,3
Média	25,8375	30,4875
DP	1,302821457	2,237430167
Var	1,939821429	5,72125

APTT (segundos)		Condições experimentais	
		Plasmas frescos	Plasmas congelados (-20°C)
Média	DP	25,8 1,30	30,49 2,23
$p < 0,001$			

Conclusão

Os presentes resultados demonstram que a análise de PT e APTT deve ser efetuada exclusivamente em amostras de plasma fresco.

Referências

- Alesci S, Borggrefe M, Dempfle CE. Effect of freezing method and storage at -20 degrees C and -70 degrees C on prothrombin time, aPTT and plasma fibrinogen levels. *Thromb Res.* 2009;124:121-126.
- Adcock DM, Kressin DC, Marlar RA. The effect of time and temperature variables on routine coagulation tests. *Blood Coag Fibrin.* 1998;9:463-470.
- CLSI. Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; Approved guideline-fifth edition. CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- Lippi G, Funk DM, Favaloro EJ. Pre-analytical Variables in Coagulation Testing Associated With Diagnostic Errors in Hemostasis. *Labmedicine.* 2012;43:1-10.