



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
RESIDÊNCIA INTEGRADA MULTIPROFISSIONAL EM SAÚDE

Flávia Santos Laurentino Rosier

**Validação do valor de referência dos parâmetros de coagulação TAP e TTPa de  
um laboratório de análises clínicas de um hospital universitário**

FLORIANÓPOLIS

2021

Flávia Santos Laurentino Rosier

**Validação do valor de referência dos parâmetros de coagulação TAP e TTPa de um laboratório de análises clínicas de um hospital universitário**

Trabalho de conclusão apresentado, na forma de artigo, como requisito parcial para conclusão do Programa de Residência Integrada Multiprofissional em Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Flávia Martinello.

Co-orientadora: Ma. Francieli Joaquim Dassoler

FLORIANÓPOLIS

2021

## Resumo

**Introdução:** Para os exames de coagulação, é recomendada uma nova validação do intervalo de referência (IR) a cada mudança de reagente, instrumento, sistema de coleta ou anualmente.

**Objetivo:** Realizar a validação do valor de referência (VR) utilizado para os parâmetros de coagulação tempo de atividade da protrombina (TAP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) de um laboratório clínico (ULAC). **Método:** O estudo foi realizado conforme o documento C28-A3 do *Clinical and Laboratory Standards Institute*. O sangue total de 20 voluntários considerados saudáveis foi coletado por punção venosa em tubos contendo citrato de sódio. O plasma foi separado por centrifugação a 1500 g durante 15 minutos. Os testes de coagulação foram realizados no máximo 1 hora e meia após a punção venosa em equipamento Sysmex CS-2500. **Resultados:** Entre os 20 voluntários, apenas 1 apresentou resultado de TAP *outlier* para RNI (0,82). Todos apresentaram resultados dentro dos VR da ULAC para TAP e TTPa. Em outra análise, pode-se sugerir que o intervalo de referência (IR) da população local é de 9,9-12,7 e 23,7-30,5 segundos, para TAP e TTPa respectivamente, e de 0,86 a 1,14 para a razão normalizada internacional (RNI), os quais são semelhantes ao da literatura consultada. **Conclusão:** Os VR de 1,2 e 1,3, para o TAP e TTPa, expressos na forma de razão RNI e D/N, respectivamente, foram validados na população local. É necessário um estudo, com um número maior de voluntários, para estabelecimento do próprio IR para TAP e TTPa expresso em segundos.

**Palavras-chave:** Intervalo de Referência. Coagulação. Validação. Tempo de Atividade da Protrombina (TAP). Tempo de Tromboplastina Parcial ativada (TTPa).

## **Abstract**

**Introduction:** For coagulation tests, it is recommended that the clinical laboratory perform a new IR validation at every change in reagent, instrument, collection system or annually. **Objective:** Realize the validation of the reference value (RV) used for the coagulation parameters time of prothrombin activity (TP) and activated partial thromboplastin time (aPTT) from a clinical laboratory unit (CLU). **Method:** It was followed the methodology for VR validation defined by the Clinical and Laboratory Standards Institute document C28-A3. The whole blood of the volunteers, considered healthy by themselves, was collected by venipuncture into tubes containing sodium citrate. The plasma was separated by centrifugation at 1500 g for 15 minutes. The coagulation tests were carried out no later than 1.5 hours after venipuncture in Sysmex CS-2500 equipment. **Results:** Among the 20 volunteers, only 1 presented an outlier TP result (INR 0.82), which was excluded. All presented results were within the RV used by CLU for TP and aPTT. In another analysis, it can be suggested that the reference interval (RI) of the local population is 9.9-12.7 and 23.7-30.5 seconds, respectively, and from 0.86 to 1.14 for the international normalized ratio (INR), which are similar to the literature consulted. **Conclusion:** The RV of 1.2 and 1.3 for TP and aPTT, expressed as INR and D/N ratio, respectively, were validated in the local population. It is necessary a study with a larger number of volunteers for CLU to establish its own RI for TP and aPTT expressed in seconds.

**Keywords:** Reference Interval. Coagulation. Validation. Prothrombin Activity Time (TP). Activated Partial Thromboplastin Time (aPTT).

## Introdução

Os resultados de exames laboratoriais são interpretados por comparação com valores ou intervalos de referência obtidos de uma população cujo estado de saúde é conhecido (HAECKEL *et al.*, 2020). Os termos valor, intervalo ou faixa de normalidade estão em desuso, pois na área médica é difícil definir o que é normal (CASTELLONE, 2017; HAECKEL *et al.*, 2020). Os limites do intervalo de referência podem ser chamados de limites superior e inferior de referência e são, frequentemente, definidos com 90% de confiança, ou seja, 10% dos resultados encontrados na população saudável podem ser excluídos. Há problemas na tradução dos termos, e assim, também há controvérsias no uso dos termos valor, intervalo ou faixa de referência, contudo, a terminação faixa não é recomendada porque estatisticamente remete à diferença entre os limites superior e inferior de referência (HAECKEL *et al.*, 2020). Em português o termo intervalo de referência (IR) é definido como o intervalo entre e incluindo dois limites de referência, e valor de referência (VR) é preferível quando há apenas um limite, também chamado de limite de decisão clínica (do inglês *clinical cutoff*).

Os limites do IR são estimados estatisticamente como os percentis 2,5 e 97,5 da distribuição dos resultados do teste obtidos na população de referência. O VR normalmente é definido pelo percentil 95 (CASTELLONE, 2017; OZARDA, 2020).

A população de referência utilizada para estabelecer um IR é definida como o conjunto de indivíduos de referência, os quais, por sua vez, foram selecionados por atenderem a critérios específicos e que refletem a população atendida no laboratório. As informações acerca da condição de saúde do indivíduo de referência podem abranger uma variedade de exames físicos, clínicos, laboratoriais, contexto histórico, ambiental e social (OZARDA, 2016).

Os laboratórios clínicos podem utilizar IR obtidos por métodos diretos ou indiretos através de estudo da população local ou da validação dos dados informados pelos fabricantes de reagentes ou obtidos através da literatura. O método direto é determinado com base em uma população local de referência, em torno de 120 indivíduos, considerada saudável e é recomendado como padrão ouro pela *International Federation of Clinical Chemistry* (IFCC) (JONES *et al.*, 2019; OZARDA 2020).

O método indireto inclui mineração de dados, por meio de métodos estatísticos, com base na seleção de resultados gerados na rotina do laboratório ou de grupos considerados complexos, como neonatos, crianças ou idosos. Apesar da praticidade, o método indireto é discutível, pois há pouco ou nenhum controle sobre o perfil dos indivíduos incluídos e sobre as condições pré-analíticas que são relevantes nos testes de coagulação conforme explicado no

protocolo CLSI C28-A3 (CLSI, 2008a; CASTELLONE, 2017; JONES *et al.*, 2019; OZARDA 2020).

A validação de um IR é definida como um processo abreviado, com 20 a 40 indivíduos, de verificação de um IR obtido das informações do fabricante de reagentes ou da literatura, com o objetivo de assegurar que o uso é compatível com a população local (ANTONELLI, 2017; CASTELLONE, 2017). Com relação à frequência, para os exames de coagulação, é recomendado que o laboratório clínico realize uma nova verificação do IR a cada mudança de reagente, de número de lote, instrumento, sistema de coleta ou anualmente (CLSI, 2008b; ISO 15189, 2015; CASTELLONE, 2017; ZIERK *et al.*, 2019).

O tempo de protrombina (TAP) e o tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) são os exames mais solicitados para investigação de pacientes com coagulopatias congênitas ou adquiridas e para monitoramento do uso de anticoagulantes. Eles são definidos como o tempo, em segundos, necessário para coagular o plasma pobre em plaquetas após a adição de estímulo de coagulação, e podem, portanto, ser considerados testes de coagulação global, sensíveis a deficiências de muitos fatores de coagulação, o que limita encontrar na literatura estudos que demonstrem valores de referência em indivíduos saudáveis (TRIPODI *et al.*, 2016).

Neste contexto, o intuito deste estudo é verificar o VR utilizado para os parâmetros de coagulação do tempo de atividade da protrombina (TAP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas (ULAC) de um Hospital Universitário. Considerando a relevância do IR para a interpretação dos exames laboratoriais, analisaremos se os valores utilizados atualmente como VR para o TAP e TTPa representam a população local.

O setor de hematologia da ULAC realiza em média 9 mil exames por mês, sendo o TAP e o TTPa o segundo e o terceiro mais realizados respectivamente, de acordo com o relatório estatístico do período de 01 de janeiro a 31 de outubro de 2021 (BRASIL, 2021).

## **Metodologia**

O estudo foi realizado de 23 de setembro a 04 de novembro de 2021 na Unidade de Laboratório de Análises Clínicas (ULAC), em um Hospital Universitário (HU) no sul do Brasil que atende pacientes ambulatoriais e hospitalizados e que realiza 581 tipos de exames (BRASIL, 2021). A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da instituição sob CAAE: 11414919.6.00000121. Os participantes que concordaram em participar da pesquisa assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Apêndice A).

Um questionário (Apêndice B) foi aplicado em 30 indivíduos pela autora para avaliar a condição de saúde através da abordagem de amostragem *a priori*, onde os critérios de exclusão foram aplicados antes da coleta da amostra. Existe também a amostragem *a posteriori* onde os critérios de exclusão são aplicados após a amostragem. Ambos os métodos são conhecidos como amostragem direta, que é o método recomendado para a obtenção de informações sobre populações saudáveis (CASTELLONE *et al.*, 2017).

As questões norteadoras do questionário foram baseadas no protocolo da CLSI C28-A3 e no estudo de Castellone e colaboradores (2017). Foram realizadas ainda análise dos parâmetros laboratoriais glicemia, colesterol total e frações, triglicerídeos e hemograma, para permitir uma visualização geral da condição de saúde dos indivíduos. Todavia, a determinação de saúde de um candidato a indivíduo de referência pode abranger uma variedade de exames físicos, clínicos, laboratoriais, contexto histórico, ambiental e social (OZARDA, 2016).

A partir disto, foram incluídos voluntários considerados saudáveis pelas respostas obtidas pelo questionário e parâmetros laboratoriais. E foram excluídos indivíduos obesos, hipertensos, hepatopatas, doentes renais, tabagistas, em uso crônico (diário) de álcool, gestantes, lactantes, indivíduos em uso de anticoagulantes e antiinflamatórios não esteroidais (AINES), que tiveram ou estavam com COVID-19, os imunizados com a vacina Astrazeneca e mulheres em reposição hormonal.

Para a validação do VR do TAP e do TTPa foram recrutados 20 indivíduos (10 homens e 10 mulheres) com idade entre 20 e 65 anos. Os mesmos foram distribuídos uniformemente, 1 homem e 1 mulher, em faixas etárias a cada 5 anos, exceto na faixa de 20-25 anos que haviam 2 homens e 2 mulheres.

Durante todo o processo, as etapas pré-analíticas e analíticas foram apenas observadas pela autora sem nenhum tipo de interferência no procedimento natural de trabalho da ULAC. O sangue total foi coletado por meio de punção venosa realizada por flebotomistas da ULAC em tubos de 3,5 mL contendo citrato de sódio 3,2% (VACUETTE® Greiner Bio One). Para separação do plasma, as amostras em temperatura ambiente foram centrifugadas a 1500 g durante 15 minutos em centrífuga Eppendorf modelo 5702. Os testes de coagulação foram realizados no máximo 1 hora e 30 minutos após a punção venosa. O tempo entre a coleta e a centrifugação da amostra e a temperatura não foram monitorados a fim de avaliar se o VR é validado nas condições normais de processamento pela ULAC. Os valores de referência do TAP e TTPa utilizados na ULAC para a razão entre o tempo obtido com o plasma do voluntário e com o plasma normal, em segundos, é de 1,3 para TTPa e 1,2 para TAP.

A análise dos parâmetros de coagulação foi realizada no equipamento **CS-2500**, Sysmex Corporation - Japão, por método ótico, contínuo, sequencial baseado na alteração da luz emitida/transmitida pela amostra após adição do reagente de acordo com as instruções do fabricante.

O controle interno da qualidade de cada método é realizado pela análise a cada 12 horas de duas amostras controle: controle normal e patológico para TAP e TTPa, todos da mesma marca do reagente (Sysmex Systems), cujos resultados foram aceitos no período de estudo. A ULAC não realizou controle externo de qualidade neste período para os parâmetros de coagulação.

A análise estatística foi realizada utilizando-se as calculadoras on-line ControlFreak<sup>®</sup> para detectar *outliers* pelo método de Dixon, e Statskingdom para avaliar a distribuição dos dados e detectar *outliers* pelo método de Tukey.

Com um tamanho de amostragem de 20, é permitida a exclusão de 2 resultados (10%) *outliers* de TAP e 2 de TTPa. Caso haja mais de 2 *outliers*, 20 amostras adicionais devem ser testadas e se novamente houver mais de 2 *outliers* é necessário investigar outras fontes de erro, como reagentes, problemas no analisador ou variação biológica. Ou ainda, pode ser necessário realizar um estudo de VR completo (CASTELLONE, 2017).

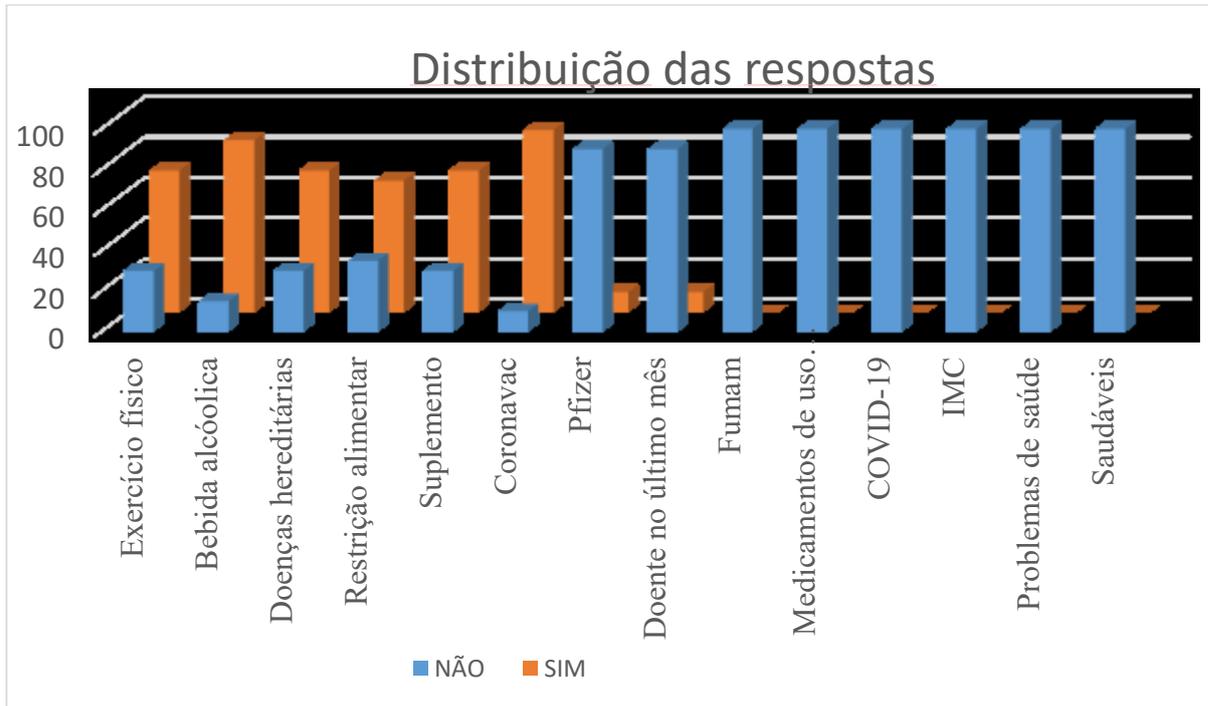
## **Resultados**

A análise das respostas dos questionários (Figura 1) indicou que 100% dos voluntários eram saudáveis, sem problemas de saúde conhecidos, não utilizavam tabaco e afirmaram não ter desenvolvido a COVID-19. De acordo com os dados informados, todos os voluntários apresentavam índice de massa corporal (IMC) entre 18,5 e 29,9 kg/m<sup>2</sup>, indicando ausência de obesidade (ABESO, 2016).

Sobre a realização de atividade física, 30% dos voluntários negaram praticar qualquer tipo de exercício, realizar suplementação alimentar e ter casos de doenças hereditárias na família. Por outro lado, 70% afirmaram praticar exercício físico em torno de 3 vezes por semana, sendo a caminhada o tipo mais citado; realizar suplementação vitamínica, em maior parte de vitaminas D e B12; e possuir casos de doenças hereditárias na família, sendo o diabetes e o câncer os principais.

A maioria (65%) dos participantes relatou apresentar algum tipo de restrição alimentar como glúten, leite e seus derivados e carnes em geral. A maioria (85%) dos voluntários afirmou consumir bebida alcoólica socialmente e 15% não faz uso deste tipo bebida. Por fim, 90% relatou que não esteve doente no último mês e 10% relatou episódios de enxaqueca no período.

Figura 1. Distribuição (%) das respostas dos 20 voluntários para o questionário de saúde.



Fonte: Elaborada pela autora.

Os resultados médios dos parâmetros laboratoriais utilizados para avaliação da condição de saúde dos voluntários estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados dos exames laboratoriais das condições de saúde dos 20 voluntários.

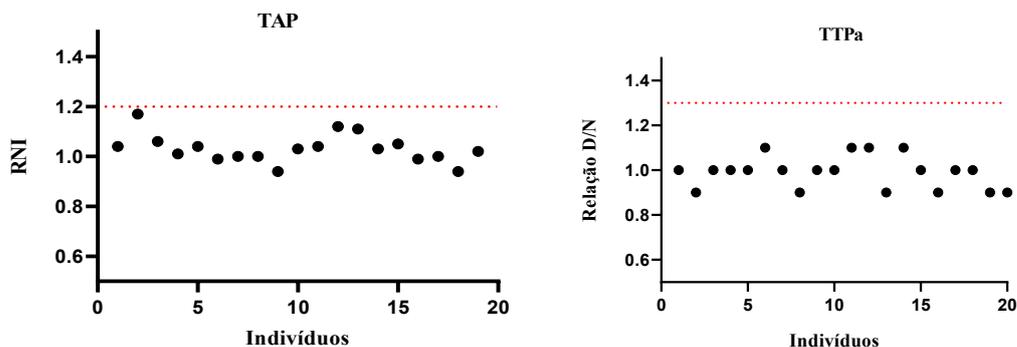
<i>Parâmetro</i>	<i>Valor ou Intervalo de Referência utilizado</i>	<i>Média±DP</i>
<i>Colesterol total mg/dL</i>	<190	195,4±40,9

<b>HDL mg/dL</b>	>40	58,5±16,7
<b>LDL mg/dL*</b>	<130	117,3±35,0
<b>NHDL mg/dL*</b>	<160	136,5±46,8
<b>Triglicérides mg/dL</b>	<175	102,1±136,9
<b>Glicemia mg/dL*</b>	<126	94,9±17,2
<b>Hemácia milhões/mm<sup>3</sup></b>	4,30-5,70 (M)	5,17±0,48
	3,90-5,00 (F)	4,44±0,33
<b>Hemoglobina g/dL</b>	13,2-18,0 (M)	15,28±0,81
	11,5-16,5 (F)	13,39±0,39
<b>Leucócitos /mm<sup>3</sup></b>	3.800 a 11.000	5831,5±1447,6
<b>Plaquetas /mm<sup>3</sup></b>	150.000 a 440.000	231550±49112,6

HDL: colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL: colesterol da lipoproteína de baixa densidade; NHDL: colesterol de lipoproteína de não alta densidade; M: masculino; F: feminino.  
Fonte: elaborada pela autora.

Entre os 20 voluntários, apenas um apresentou resultado *outlier* de TAP em RNI (0,82), o qual foi excluído, no entanto, todos apresentaram resultados dentro do VR utilizado pela ULAC para TAP e TTPa (Figura 2).

**Figura 2:** Distribuição dos resultados de TAP e TTPa dos 19 e 20 voluntários avaliados, respectivamente.



RNI: Relação normatizada internacional. D/N: desconhecido/normal. A linha tracejada em vermelho representa o VR utilizado pela ULAC.

Em outra análise, utilizando os 19 resultados obtidos para TAP e os 20 para TTPa, poderíamos sugerir que o IR da população atendida no HU é de 9,9-12,7 e de 23,7-30,5 segundos, respectivamente (Tabela 2). Para relação D/N o IR seria 0,86-1,14 e para RNI o IR seria de 0,88 a 1,12.

Tabela. 2: Intervalos de referência de TAP e TTPa encontrados com o estudo de apenas 20 indivíduos e descritos na literatura.

<i>Parâmetro</i>	<b>Intervalo de Referência</b>					
	<b>ULAC</b>	<b>ABIM</b>	<b>MAYO</b>	<b>RWT</b>	<b>ASCP</b>	<b>FQMMLD</b>
<b>TTPa (segundos)</b>	23,7-30,5	25-35	25-37	23-30	--	23-32
<b>D/N</b>	0,86-1,14	--	--	--	--	--
<b>TAP (segundos)</b>	9,9-12,7	11-13	9,4-12,5	10-13	10-13	9,9-12,4
<b>RNI</b>	0,88-1,12	--	0,9 – 1,1	--	--	--

RNI: Relação normatizada internacional. ABIM: *American Board International Medicine*; MAYO: *Mayo Clinic Laboratories*; RWT: *Pathology Services*; ASCP: *American Society for Clinical Pathology*; FQMMLD: *Foundation for Quality Monitoring and Medical Laboratory Diagnostics*.

## Discussão

As variáveis pré-analíticas são responsáveis por 50-70% dos erros nos resultados de exames de coagulação. Os principais fatores que influenciam nos resultados são tempo de garroteamento, ordem de coleta de tubos, proporção sangue/anticoagulante, tempo até a análise, condições de armazenamento e centrifugação (CASTELLONI et al., 2017). O estudo de Oliveira *et al.* (2021) encontrou que uma amostra centrifugada em um tempo abaixo de 15 minutos pode resultar em um plasma não separado completamente, mantendo elementos de células sanguíneas residuais, principalmente plaquetas, prejudicando os resultados. De acordo com este estudo a recomendação atual do *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI C28-A3) é a realização da centrifugação em 1500 g por 15 minutos, à temperatura ambiente (OLIVEIRA *et al.*, 2021). Por outro lado, segundo Baker *et al.* (2020) é possível constatar que um tempo de centrifugação de 5-10 minutos em 2000 g também é aceitável para uso na rotina laboratorial.

No cenário atual de pandemia da COVID-19, uma limitação relevante do presente estudo é que não foi possível garantir que os voluntários não tiveram COVID-19, pois muitos podem ter sido assintomáticos. Dentre os muitos aspectos da COVID-19, a infecção está associada ao risco aumentado de doença vascular com manifestações trombóticas frequentemente fatais, ainda que raras (ELALAMY *et al.*, 2021). Em relação à vacina, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2021), estudos constataram distúrbios raros de coagulação relacionados à vacina Astrazeneca. As variáveis pré-analíticas foram

minimizadas neste estudo pela padronização do processo e por seguir as recomendações internacionais.

Entre as variáveis analíticas, os reagentes utilizados nos exames de coagulação apresentam diferentes sensibilidades aos fatores de coagulação dependente da concentração e tipo de fosfolípidios e ativadores utilizados (CASTELLONI *et al.*, 2017). Neste contexto, os fabricantes de trombotoplastinas comerciais são encorajados a fornecer o Índice de Sensibilidade Internacional (ISI) por calibração em comparação com os padrões internacionais existentes para avaliar o TAP (TRIPODI *et al.*, 2016).

Há a recomendação de que o IR seja validado para a combinação instrumento-reagente de cada laboratório (CASTELLONI *et al.*, 2017), então instituições de renome internacional como o *Clinical & Laboratory Standards Institute*, a *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, a *Croatian Chamber of Medical Biochemists* e a *North American Specialized Coagulation Laboratory Association* não apresentam valores de referência para TAP e TTPa, apesar de apresentarem sugestão de valores críticos (LIPPI *et al.*, 2017). Além disso, alguns laboratórios e/ou referências utilizam um IR e não um VR para estes parâmetros expressos em segundos (Tabela 2).

Para validar um VR pré-estabelecido, neste estudo selecionamos o número mínimo recomendado pela literatura, de 20 voluntários (FLEGAR-MELTRIĆ *et al.*, 2016) e apenas um resultado foi caracterizado como *outlier*, apresentando um valor de TAP extremo (0,82), expresso como RNI. Contudo, Tripodi *et al.* (2016) relatam que valores extremos abaixo do valor de referência não indicam necessariamente que o indivíduo tenha um quadro de hipercoagulabilidade (TRIPODI *et al.*, 2016). Além disso, esse *outlier* foi do mesmo indivíduo que apresentou alteração nos resultados do perfil lipídico e também pode ter sido decorrente da variação analítica do método e ou da reposição de reagentes durante o estudo.

Devido aos critérios por vezes restritos, não é incomum que laboratórios estabeleçam um IR usando um número menor de indivíduos ou façam uso de outras fontes publicadas que podem não ser aplicadas à população testada. A dificuldade em considerar todas as diversidades biológicas, variabilidade pré-analítica e analítica podem levar a definições imprecisas de IR (JONES *et al.*, 2019).

De acordo com a avaliação dos resultados, os valores de referência utilizados na ULAC para TAP e TTPa, expressos em RNI e razão D/N respectivamente, estão adequados para o uso ao qual se propõe na população atendida. Os resultados da população estudada, considerada

saudável, permitem que a ULAC continue utilizando o valor de referência atual, considerando os atuais reagentes utilizados na rotina.

Em comparação com a literatura, fica evidenciada a necessidade da realização de um estudo para que a ULAC estabeleça o próprio IR para TAP e TTPa, expresso em segundos, pois o número de voluntários utilizados não é suficiente para estabelecer o próprio IR.

### Conclusão

A partir do estudo realizado, o VR para o TAP e TTPa, expressos na forma de razão RNI e D/N, respectivamente, foi validado na população local. Porém, sugere-se um estudo com um número maior de voluntários para que a ULAC produza seu próprio IR para TAP e TTPa.

### Referências

1. AMERICAN BOARD INTERNATIONAL MEDICINE. **ABIM Laboratory Test Reference Ranges**. 2021. Disponível em: <https://www.abim.org/Media/bfijryql/laboratory-reference-ranges.pdf>. Acesso em: 27 nov. 2021.
2. ANTONELLI, Giorgia *et al.* Verification or validation, that is the question. **Journal of Laboratory and Precision Medicine**. Padova, p. 58-58. 11 ago. 2017.
3. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICA (ABESO). **Diretrizes Brasileiras de Obesidade**. São Paulo: Roca, 2016. 188 p.
4. BAKER, Peter *et al.* Guidelines on the laboratory aspects of assays used in haemostasis and thrombosis. **British Society For Haematology**. Londres, p. 347-362. nov. 2020.
5. BRASIL. Cristiane Quadros Mademann. Hospital Universitário Professor Ernani de São Thiago (org.). **EXAMES CADASTRADOS NO SAH**. Disponível em: <https://www.gov.br/ebserh/pt-br/hospitais-universitarios/regiao-sul/hu-ufsc/aceso-a-informacao/pops>. Acesso em: 31 out. 2021.
6. CASTELLONE, Donna. Establishing reference intervals in the coagulation laboratory. **International Journal For Laboratory Hematology**. New York, p. 121-127. abr. 2017.
7. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Third

- Edition CLSI document C28-A3. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2008.
8. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (aPTT); Approved Guideline- Second Edition CLSI document H47-A2. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2008.
  9. DENESSEN, EJS *et al.* Determining the maximal storage time of centrifuged citrated samples for performing add-on routine coagulation tests. **Thrombosis research**. Holanda, p 54–62. ago. 2020.
  10. DIAGNÓSTICOS DE LABORATÓRIO DA SIEMENS HEALTHCARE. Hemostasis Reagents Portfolio: trusted hemostasis testing solutions that help you deliver consistent results and enhance patient outcomes. Trusted hemostasis testing solutions that help you deliver consistent results and enhance patient outcomes. Disponível em [https://cdn0.scrvt.com/39b415fb07de4d9656c7b516d8e2d907/1800000006176738/d4a49cfc2096/ld\\_ous\\_hemostasis\\_reagent\\_portfolio\\_brochure\\_03\\_2019-06176738\\_1800000006176738.pdf](https://cdn0.scrvt.com/39b415fb07de4d9656c7b516d8e2d907/1800000006176738/d4a49cfc2096/ld_ous_hemostasis_reagent_portfolio_brochure_03_2019-06176738_1800000006176738.pdf). Acesso em: 10 nov. 2021.
  11. ELALAMY, Ismail *et al.* SARS-CoV-2 Vaccine and Thrombosis: An Expert Consensus on Vaccine-Induced Immune Thrombotic Thrombocytopenia. **Thrombosis and Haemostasis**. Stuttgart, p. 982-991. maio 2021.
  12. FLEGAR-MEĀTRIĆ, Zlata *et al.* Standardization in laboratory medicine: Adoption of common reference intervals to the Croatian **World Journal Methodology**. Croatian, p. 93-100. mar. 2016.
  13. HAECKEL, Rainer *et al.* The difference between reference interval and reference range. **Journal of Laboratory Medicine**. Berlim, p. 173-173. maio. 2020.
  14. JONES, Graham *et al.* Indirect methods for reference interval determination – review and recommendations. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**. Alemanha, p. 20-29. abr. 2019.
  15. LIPPI, Giuseppe *et al.* Critical laboratory values in hemostasis: toward consensus. **Annals of Medicine**. Italia, p. 455-461. fev. 2017.
  16. MAYO CLINIC LABORATORIES. **Test Definition: PTSC Prothrombin Time (PT)**. Disponível em: <https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/602171>. Acesso em: 20 nov. 2021.

17. OLIVEIRA, Bianca da Rosa *et al.* **Influência do tempo de centrifugação em testes de coagulação: tempo de protrombina e tempo de tromboplastina parcial.** Disponível em: <http://www.rbac.org.br/artigos/influencia-do-tempo-de-centrifugacao-em-testes-de-coagulacao-tempo-de-protrombina-e-tempo-de-tromboplastina-parcial/>. Acesso em: 02 nov. 2021.
18. ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL PARA NORMALIZAÇÃO. **ISO 15189:** International Organization for Standardization. Medical laboratories – requirements for quality and competence. Londres: Organização Internacional Para Normalização, 2015.
19. OZARDA, Yesim. Reference intervals: current status, recent developments and future considerations. **Biochemia Medica.** p. 5-11. fev. 2016.
20. OZARDA, Yesim Ozardam. Establishing and using reference intervals. **Turkish Journal of Biochemistry.** p. 1-10. fev. 2020
21. RWT Pathology Services. **Intervalos de referência para parâmetros de hemograma completo obtidos na Fase II do Projeto de Harmonização de Patologia.** Disponível em: <https://www.royalwolverhampton.nhs.uk/services/service-directory-a-z/pathology-services/departments/haematology/haematology-normal-adult-reference-ranges/>. Acesso em: 22 nov. 2021.
22. SIEMENS HEALTHINEERS DIAGNÓSTICOS LTDA. **Sistema Sysmex CS-2500 Especificações técnicas:** supere os desafios com confiança nos testes de hemostasia: desenvolvido para aprimorar o gerenciamento de amostras, aumentar a eficiência e otimizar o fluxo de trabalho do laboratório. Supere os desafios com confiança nos testes de hemostasia: Desenvolvido para aprimorar o gerenciamento de amostras, aumentar a eficiência e otimizar o fluxo de trabalho do laboratório. Disponível em: [https://cdn0.scrvt.com/39b415fb07de4d9656c7b516d8e2d907/1800000006366889/aedfbc0b991f/Folder\\_CS\\_2500\\_\\_1800000006366889.pdf](https://cdn0.scrvt.com/39b415fb07de4d9656c7b516d8e2d907/1800000006366889/aedfbc0b991f/Folder_CS_2500__1800000006366889.pdf). Acesso em: 10 nov. 2021.
23. SIEMENS HEALTHINEERS DIAGNÓSTICOS LTDA. **Sistema Sysmex CS-2500.** Disponível em: [https://cdn0.scrvt.com/39b415fb07de4d9656c7b516d8e2d907/1800000006366889/aedfbc0b991f/Folder\\_CS\\_2500\\_\\_1800000006366889.pdf](https://cdn0.scrvt.com/39b415fb07de4d9656c7b516d8e2d907/1800000006366889/aedfbc0b991f/Folder_CS_2500__1800000006366889.pdf). Acesso em: 10 nov. 2021.
24. STEFFENELLO Durigon Giovana *et al.* Orientações de manejo perioperatório e no sangramento nos pacientes em uso de anticoagulantes orais diretos (AOD). **Revista de Medicina,** v. 97, n. 5, p. 476-485, dez 2018.

25. TRIPODI, Armando *et al.* How to report results of prothrombin and activated partial thromboplastin times. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**. Italia, p. 215-222. jan. 2016.
26. World Health Organization. **WHO statement on AstraZeneca COVID-19 vaccine safety signals**. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/17-03-2021-who-statement-on-astrazeneca-covid-19-vaccine-safety-signals>. Acesso em: 20 nov. 2021.
27. ZIERK, Jakob *et al.* Data mining of reference intervals for coagulation screening tests in adult patients. **Clinica Chimica Acta**. Alemanha, p. 108-114. dez. 2019.

## APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PROFESSOR POLYDORO ERNANI DE SÃO THIAGO  
RESIDÊNCIA INTEGRADA MULTIPROFISSIONAL EM SAÚDE

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa que consiste na validação do intervalo de referência dos parâmetros laboratoriais de coagulação tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa).

Esta pesquisa está sendo realizada pela residente do programa de residência multiprofissional em saúde da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Flávia Santos Laurentino Rosier, como trabalho de conclusão de residência sob orientação da Professora Flávia Martinello, do Departamento de Análises Clínicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina, e co-orientação da Farmacêutica-Bioquímica Franciele Joaquim Dassoler da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas (ULAC). Este estudo tem como objetivo realizar a validação do intervalo de referência de parâmetros laboratoriais marcadores da coagulação sanguínea do laboratório de hematologia da ULAC do HU/UFSC.

Por meio desse estudo de validação espera-se além de cumprir um requisito obrigatório pelas normas de acreditação, garantir a qualidade do serviço prestado pela ULAC, auxiliar a conduta médica, o diagnóstico fidedigno e conseqüentemente a segurança do paciente.

A participação no estudo consiste em responder um questionário de saúde e doar duas amostras do seu sangue para análises laboratoriais.

Os possíveis riscos à sua integridade física são apenas relacionados à coleta de sangue, como dor no local da punção e formação de hematoma. Além disso, você pode ter algum aborrecimento pelo tempo exigido para responder o questionário.

Se você aceitar, serão colhidas três amostras de sangue e você poderá sentir algum desconforto e em alguns casos pode ocorrer a formação de um hematoma no local da punção. Caso tenha alguma dúvida sobre os procedimentos ou sobre o projeto, você poderá entrar em contato com os pesquisadores a qualquer momento pelo telefone ou email abaixo. Sinta-se

absolutamente à vontade em não participar ou deixar de participar da pesquisa a qualquer momento, sem ter que apresentar qualquer justificativa. Se decidir deixar de participar da pesquisa você não terá qualquer prejuízo no atendimento médico-laboratorial.

Os pesquisadores serão os únicos a ter acesso aos dados e tomarão todas as providências necessárias para manter o sigilo, mas sempre existe a remota possibilidade da quebra do sigilo, mesmo que involuntário e não intencional, cujas consequências serão tratadas nos termos da lei. Caso tenha algum prejuízo material ou imaterial em decorrência da pesquisa poderá solicitar indenização, de acordo com a legislação vigente e amplamente consubstanciada.

Os resultados deste trabalho poderão ser apresentados em encontros ou revistas científicas, onde serão mostrados apenas os resultados obtidos como um todo, sem revelar seu nome, instituição ou qualquer informação relacionada a sua privacidade.

A legislação brasileira não permite que você tenha qualquer compensação financeira pela sua participação na pesquisa. Você não terá nenhuma despesa advinda de sua participação nesta pesquisa. No entanto, caso você tenha alguma despesa extraordinária decorrente da participação na pesquisa, será ressarcido. Em relação aos exames realizados, os resultados serão entregues a você. Duas vias deste documento estão sendo rubricadas e assinadas por você e pelo pesquisador responsável. Guarde cuidadosamente a sua via pois é um documento que traz importantes informações de contato e garante os seus direitos como participante. Os resultados desta pesquisa poderão ser apresentados em encontros ou revistas científicas, mas tratados como um todo, não de forma individual, sem revelar informações da sua privacidade.

O benefício em participar é que você receberá os resultados dos testes laboratoriais, se assim desejar. Além disso, estará contribuindo para a garantia da qualidade do serviço prestado pela ULAC, auxiliando na conduta médica para um diagnóstico fidedigno e conseqüentemente a segurança do paciente.

A qualquer momento você pode desistir da participação neste estudo e retirar o seu consentimento sem qualquer tipo de prejuízo.

Este termo de consentimento será preenchido e assinado em duas vias, sendo que uma cópia será do pesquisador responsável e a outra será fornecida a você. Guarde cuidadosamente a sua via, pois é um documento que traz importantes informações de contato e garante os seus direitos como participante da pesquisa.

A pesquisadora responsável compromete-se a conduzir a pesquisa de acordo com o que preconiza a Resolução 466/12 de 12/12/2012, que trata dos preceitos éticos e da proteção aos participantes da pesquisa.

O Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPSH) é um órgão colegiado interdisciplinar, deliberativo, consultivo e educativo, vinculado à Universidade Federal de Santa Catarina, mas independente na tomada de decisões, foi criado para defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos.

Sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Se tiver dúvida quanto aos seus direitos, contacte o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPSH-UFSC) no Prédio Reitoria II, localizado na Rua Desembargador Vitor Lima, nº 222, 4º andar, sala 401, Trindade, Florianópolis/SC, CEP 88.040-400, Contato: (48) 3721-6094, e-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br. O horário de atendimento é: segunda à sexta-feira, das 7h às 19h. Ou você poderá entrar em contato pelos telefones, e-mails e endereços que estão no fim da página.

Antecipadamente agradecemos a sua colaboração.

#### **DADOS DAS PESQUISADORAS RESPONSÁVEIS PELO PROJETO DE PESQUISA:**

##### **Orientadora:**

Nome completo: Flávia Martinello

Doc. de Identificação: RG 3550300

Endereço completo: Rua acelon Eduardo da Silva, 258, Córrego Grande ou  
Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Análises Clínicas.

Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima, s/nº

Trindade – Florianópolis – SC, CEP: 88040-900

Endereço de email: flavia.martinello@ufsc.br

Telefones: (48)37213477 ou (48)999380414

##### **Orientanda:**

Nome completo: Flávia Santos Laurentino Rosier

Doc. de Identificação: 44862

Endereço completo: Rua Gisela, 1462, Bela Vista.

Endereço de email: flaviaslaurentino@gmail.com

Telefones: (48)984020719

Eu, \_\_\_\_\_ (nome do participante),  
portador do RG nº: \_\_\_\_\_, li este documento (ou tive este documento  
lido para mim por uma pessoa de confiança) e obtive da pesquisadora todas as informações que  
julguei necessárias para me sentir esclarecido e optei por livre e espontânea vontade participar  
da pesquisa.

Florianópolis, ..... de ..... de 2021.

---

Assinatura do participante

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Flávia Martinello

---

Residente Flávia S. L. Rosier

**APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO DE INFORMAÇÕES SOBRE O ESTADO DE SAÚDE DOS VOLUNTÁRIOS.**

Li o documento (ou tive o documento lido para mim por uma pessoa de confiança) e optei por livre e espontânea vontade participar da pesquisa para validação dos intervalos de referência dos exames TAP, TTPa.	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim
Nome completo?		
Qual a sua altura?		
Qual o seu peso?		
Você tem algum problema crônico de saúde? (Pressão alta, problema de tireóide, doença no fígado ou outras?)	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim. Se sim, qual(is)?
Você se considera saudável?	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim
Você se exercita regularmente?	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim. Se sim, com qual frequência? (em dias por semana)
Quais modalidades de exercícios?		
Você usa alguma medicação continuamente?	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim. Se sim, qual(is)?
Você toma suplementos vitamínicos ou remédios à base de plantas?	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim. Se sim, qual(is)?
Você é fumante?	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim
Você costuma beber bebidas alcóolicas?	<input type="checkbox"/> Não costumo beber bebidas alcoólicas <input type="checkbox"/> Costumo beber diariamente <input type="checkbox"/> Costumo beber socialmente <input type="checkbox"/> Costumo beber uma vez por semana <input type="checkbox"/> Costumo beber apenas nos finais de semana	

Você faz alguma restrição de alimentos na sua dieta rotineiramente? (Vegetariano, vegano, celíaco, intolerante à lactose, alergia à proteína do leite, etc).	( ) Não	( ) Sim. Se sim, qual(is) alimentos?
Há algum distúrbio de saúde hereditário em sua família, como diabetes, doenças cardíacas, câncer ou outras?	( ) Não	( ) Sim. Se sim, qual(is)?
Você esteve doente no último mês?	( ) Não	( ) Sim. Se sim, escreva o que você apresentou.
Você teve COVID-19?	( ) Não	( ) Sim. Se sim, há quanto tempo?
Você já recebeu a vacina COVID-19?	( ) Não	( ) Sim. Se sim, qual?
Você gostaria de receber o resultado dos seus exames que serão realizados nesta pesquisa?	( ) Não	( ) Sim. Se sim, qual(is)?
Caso tenha alguma dúvida, por favor, descreva ao lado que uma das pesquisadoras irá entrar em contato com você.		

Fonte:

1. CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Third Edition CLSI document C28-A3. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2008.

2. CASTELLONE, Donna. Establishing reference intervals in the coagulation laboratory. **International Journal For Laboratory Hematology**. New York, p. 121-127. abr. 2017.