

**INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA  
ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE**

**CURVAS DE REAÇÃO EM COAGULÓMETROS DE DETEÇÃO ÓTICA:  
CONSTRUÇÃO DE MANUAL DE UTILIZAÇÃO E INTERPRETAÇÃO**

Anabela Pereira Gomes

**ORIENTADORAS:**

Doutora Edna Soraia Ribeiro - Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa

Dr.<sup>a</sup> Maria Cristina Lopes - Unidade Local de Saúde de São José, EPE

Mestrado em Tecnologias Clínico - Laboratoriais

Lisboa, 2024



**INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA  
ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE**

**CURVAS DE REAÇÃO EM COAGULÓMETROS DE DETEÇÃO  
ÓTICA: CONSTRUÇÃO DE MANUAL DE UTILIZAÇÃO E INTERPRETAÇÃO**

Anabela Pereira Gomes

**ORIENTADORAS:**

Doutora Edna Soraia Ribeiro - Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa

Dr.<sup>a</sup> Maria Cristina Lopes - Unidade Local de Saúde de São José, EPE

**JÚRI:**

Presidente de Júri: Professora Doutora Carina Alexandra Fernandes Ladeira - Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa

Arguente: Especialista Lylliane de Jesus Menezes Luz - Hospital de São Francisco Xavier – Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental

Mestrado em Tecnologias Clínicas - Laboratoriais

(esta versão incluiu as críticas e sugestões feitas pelo júri)

Lisboa, 2024



*Conhecimento não é aquilo que se sabe, mas o que faz com aquilo que se sabe.*

*Aldous Huxley*



## AGRADECIMENTOS

---

Quero expressar a minha sincera gratidão a todos, que de forma direta ou indireta, contribuíram para que a elaboração e conclusão deste trabalho fosse possível.

Aos Orientadores deste trabalho, Professora Doutora Edna Ribeiro e Dr.<sup>a</sup> Cristina Lopes, pela disponibilidade, paciência e incentivo.

Agradecer à Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa (ESTeSL) pela oportunidade de aprendizagem que proporcionou. E aos seus Professores que contribuíram para a minha formação académica, e incentivaram a procurar mais conhecimento e a aplica-lo melhor.

Ao Centro Hospitalar Universitário de Lisboa Central (CHULC), atual Unidade Local de Saúde S. José (ULS S José), por aprovar a recolha dos dados necessários para realização deste trabalho.

Ao Responsável da Patologia Clínica, Dr. Carlos Flores; e à Técnica Coordenadora, Ana Canas, pelo apoio concedido.

Aos Patologistas Clínicos do Core - Hematologia do Serviço de Patologia Clínica (SPC) do Polo Hospitalar de S. José (HSJ), especialmente à Dr.<sup>a</sup> Margarida Guimarães, pela colaboração e incentivo.

Aos colegas de trabalho pelo apoio e cobertura das minhas ausências. De forma especial à Lina Diogo, Joana Rodrigues, Marta Leitão e Filipa Silva.

À minha família, sempre presente.

A automação chegou á área do diagnóstico laboratorial de hemostase de forma mais contida, comparativamente a outras áreas do laboratório clínico, como Química Clínica(1).

Em 1997 surgiram equipamentos de detecção ótica, que permitiam avaliar curvas de coagulação do Tempo de Tromboplastina Parcial ativada (TTPa), para além do tempo de coagulação.

Este tipo de avaliação foi ampliado a outros testes de hemostase, (coagulimétrica ou outra). Hoje dispomos da Avaliação das Curvas Reação em coagulómetros óticos, por transmitância ou absorvância, que se tornou imprescindível sobretudo em resultados indeterminados (ou failed).

No entanto esta ferramenta tem suscitado muitas dúvidas e dificuldades de aplicação por parte de Técnicos e Análises clínicas (TACSP) e Patologistas Clínicos, em contexto de Urgência e Rotina, no SPC, da ULS S. José.

O presente trabalho pretende contribuir para a resolução das referidas dificuldades, com base na evidência, dando resposta á seguinte questão: Quais os critérios adequados para utilizar e interpretar as curvas de reação em coagulómetros de detecção ótica?

O objetivo deste trabalho é: Construir um manual de utilização e interpretação de Curvas de Reação, para testes de coagulação mais frequentes em coagulómetros de detecção ótica – Tempo de Protrombina (TP), TTPa, Fibrinogénio Clauss (Fib-C) e D-Dímero (DD).

É um estudo descritivo, que decorreu na ULS S. José, SPC, área do Core- Hematologia, do HSJ.

Foram verificadas as curvas de resultados dos testes de triagem em hemóstase (TP, TTPa, Fib-C e DD), em particular os indeterminados para avaliação da respetiva curva de reação, em 30000 amostras.

De 1% (691 testes) em 30000 amostras, de resultados indeterminados, de acordo com a causa destacam-se dois Padrões: Qualidade de amostra e Alterações da coagulação por patologia ou terapêutica.

A construção de um manual de utilização e interpretação de Curvas de reação é possível, organizado por capítulos. Iniciado com apresentação das características das curvas, capítulos por testes a preencher com os exemplos e no final com casos raros.

O manual é uma ferramenta útil a todos os profissionais que validam testes de hemostase. Pois contribui para decisões de diagnóstico e terapêutica sustentadas na evidência, em situações de urgência ou emergência.

### **Palavras Chave**

Curvas de reação, Tempo de Protrombina, Tempo de Tromboplastina ativada, Fibrinogênio e DD.

Automation has arrived in the area of laboratory diagnosis of hemostasis in a more contained way, compared to other areas of the clinical laboratory, such as Clinical Chemistry(1).

In 1997, optical detection equipment appeared, which allowed the evaluation of coagulation curves of the activated Partial Thromboplastin Time (aPTT), in addition to the coagulation time.

This type of evaluation has been extended to other tests of hemostasis (coagulimetric or other). And today we have the Evaluation of Reaction Curves in optical coagulometers, by transmittance or absorbance, which has become essential especially in indeterminate (or failed) results.

However, this tool has raised many doubts and difficulties in application by Clinical Technicians and Analyses and Clinical Pathologists, and in the context of Urgency and Routine, in the Clinical Pathology (SPC) service of the S. José Local Health Unit.

The present work aims to contribute to the resolution of these difficulties, based on the evidence, by answering the following question: What are the appropriate criteria to use and interpret the reaction curves in optical detection coagulometers?

The objective of this work is: To build a manual for the use and interpretation of Reaction Curves, for the most frequent coagulation tests in optical detection coagulometers – TP, aPTT, Fib-C and DD.

It is a descriptive study, which took place at the ULS S. José, SPC, area of the Core-Hematology, of the hospital of S. José

The reaction curves of the screening tests in hemostasis (PT, aPTT, Fib-C and DD) were verified, in particular the indeterminate ones to evaluate the respective reaction curve, in 30000 samples.

From 1% (691 tests) in 30000 samples, with indeterminate results, according to the cause, two Standards stand out: Sample quality and Coagulation alterations by pathology or therapy.

The construction of a manual for the use and interpretation of Reaction Curves is possible, organized by chapters. It begins with a presentation of the characteristics of the curves, chapters by tests to be filled in with examples and at the end with rare cases. However, a reaction curve can be unique and unrepeatable, like a fingerprint of an indeterminate result.

The manual is a useful tool for all professionals who validate hemostasis tests. Because it contributes to evidence-based diagnostic and therapeutic decisions, in urgent or emergency situations.

**Keywords**

Reaction Curves, Prothrombin Time, Activated Thromboplastin Time, Fibrinogen and DD.

1	Introdução.....	1
2	Contextualização Teórica .....	3
2.1	Hemostase .....	3
2.1.1	Hemostase Primária .....	4
2.1.2	Hemostase Secundária .....	4
2.1.3	Hemostase com base em Superfícies Celulares.....	7
2.1.4	Inibidores da Coagulação (naturais) .....	9
2.1.5	Inibidores da Coagulação (Terapêuticos) .....	9
2.2	Fibrinólise .....	10
2.2.1	Formação de Plasmina.....	10
2.2.2	Degradação da Fibrina .....	11
2.3	Avaliação Laboratorial da Coagulação.....	11
2.3.1	Testes de Coagulação- Triagem ou 1ª Linha .....	12
2.4	Automatização em Coagulação .....	16
2.4.1	Metodologias em Testes coagulimétricos de Hemóstase .....	16
2.4.2	Neflometria .....	18
2.4.3	Turbidimetria.....	18
2.4.4	Imunoensaio.....	18
2.5	Curvas de reação em coagulômetros de detecção ótica .....	19
2.5.1	Curvas de Avaliação da Transmitância.....	19
2.5.2	Curvas de Avaliação de Absorvância .....	20
2.5.3	Utilidade das curvas de reação.....	24
2.5.4	Fatores que afetam as curvas de reação.....	24
2.5.5	Aplicações da avaliação das Curvas de Reação .....	24
2.6	ACL TOP® 750 CTS.....	25
3	Objetivos.....	27
3.1	Questão de investigação .....	27
3.2	Objetivo Geral.....	27
3.3	Objetivos Específicos .....	27
	- Definir as bases e algoritmos de interpretação das Curvas de Reação .....	27
	- Conhecer os padrões mais frequentes de curvas de reação .....	27
	- Enumerar o tipo de Curvas de Reação encontradas e respetiva interpretação..	27
4	Metodologia .....	28

4.1	Tipo de estudo.....	28
4.2	Local de estudo .....	28
4.3	Amostragem .....	28
4.4	Recolha de dados.....	28
4.5	Procedimentos.....	28
4.5.1	Fase Pré-analítica .....	28
4.5.2	Fase Analítica.....	29
4.5.3	Validação e interpretação das Curvas de Reação em resultados indeterminados .....	29
4.5.4	Classificação de Padrões de Curvas de Reação .....	30
4.5.5	Construção de manual de utilização e interpretação de curvas de reação 31	
4.6	Tratamento estatístico .....	31
4.7	Considerações éticas e legais .....	31
5	Resultados.....	33
5.1	Caraterização da Amostra .....	33
5.2	Resultados Indeterminados .....	34
5.3	Curvas de Reação em testes regulares.....	34
5.4	Curvas de Reação em resultados indeterminados.....	38
5.5	Erros presentes em resultados indeterminados .....	38
5.6	Avaliação Qualitativa de Erros.....	40
5.6.1	Distribuição de erros em resultados com Curva de Reação.....	40
5.6.2	Distribuição de erros em resultados indeterminado sem curvas de reação 40	
5.6.3	Distribuição de erros em resultados indeterminados com curva de reação incompleta .....	41
5.6.4	Distribuição de erros em resultados coagulimétricos indeterminados, com curva de reação ausente e incompleta .....	42
5.6.5	Resultados sem curva de reação.....	43
5.6.6	Resultados indeterminados com curva de reação incompleta .....	46
5.6.7	Resultados Indeterminados com curva de reação .....	50
5.7	Ações desenvolvidas na Avaliação de Curvas de Reação.....	54
5.7.1	Ações automáticas .....	54
5.7.2	Ações operacionais .....	54
5.8	Padrões Encontrados .....	54
6	Discussão e Conclusões.....	56
6.1	Discussão.....	56
6.2	6.2 Conclusões.....	58
7	Limitações do Estudo e Perspetivas Futuras .....	59

8	Referências Bibliográficas .....	60
9	Anexos .....	66
	.....	68
10	Apêndices .....	69



TABELA 2-1 - RESUMO DAS 4 FASES DA COAGULAÇÃO: TEORIA DA COAGULAÇÃO BASEADA NAS SUPERFÍCIES CELULARES.....	7
TABELA 2-2 - INIBIDORES TERAPÊUTICOS DA COAGULAÇÃO .....	10
TABELA 2-3 - TESTES DE HEMOSTASE E COAGULAÇÃO. ADAPTADO: LIPPI, ET. AL,2018(13).....	12
TABELA 4-1 - CLASSIFICAÇÃO DE PADRÕES DE CURVAS DE REAÇÃO EM RESULTADOS INDETERMINADOS (EM FUNÇÃO DA CAUSA) .....	31
TABELA 5-1- ERROS ENCONTRADOS EM CURVAS DE REAÇÃO DE RESULTADOS INDETERMINADOS.....	39



FIGURA 2.1 EQUILÍBRIO DA HEMOSTASE.....	3
FIGURA 2.2 HEMOSTASE PRIMÁRIA.....	4
FIGURA 2.3 - HEMOSTASE SECUNDÁRIA.....	5
FIGURA 2.4 CASCATA DA COAGULAÇÃO .....	6
FIGURA 2.5 MODELO DA TEORIA DA COAGULAÇÃO BASEADO SUPERFÍCIES CELULARES .....	8
FIGURA 2.6 FIBRINÓLISE .....	11
FIGURA 2.7 EVOLUÇÃO DO LABORATÓRIO DE HEMOSTASE E COAGULAÇÃO.....	17
FIGURA 2.8 NEFELOMETRIA E TURBIDIMETRIA.....	18
FIGURA 2.9 CURVA DE REAÇÃO DE TRANSMITÂNCIA.....	20
FIGURA 2.10 COAGULÓMETROS DE DETEÇÃO ÓTICA- FAMÍLIA ACL TOP® SÉRIE 50.....	21
FIGURA 2.11 CURVA DE REAÇÃO.....	21
FIGURA 2.12 CURVA PADRÃO DO TP.....	22
FIGURA 2.13 CURVA PADRÃO DO TTPA .....	22
FIGURA 2.14 CURVA PADRÃO DO FIB-C .....	23
FIGURA 2.15 CURVA PADRÃO DO DD .....	24
FIGURA 5.1 TTPA REGULAR NORMAL.....	35
FIGURA 5.2 – TP REGULAR NORMAL .....	35
FIGURA 5.3 – TP REGULAR PROLONGADO.....	36
FIGURA 5.4 – FIBRINOGENIO REGULAR NORMAL .....	36
FIGURA 5.5 – FIBRINOGENIO REGULAR ALTO.....	37
FIGURA 5.6 – DD REGULAR NORMAL.....	37
FIGURA 5.7- RESULTADO INDETERMINADO POR ERRO DE ASPIRAÇÃO .....	43
FIGURA 5.8 -DETEÇÃO INESPERADA DE LÍQUIDO.....	44
FIGURA 5.9 – RESULTADO INDETERMINADO POR VOLUME DE AMOSTRA INSUFICIENTE .....	44
FIGURA 5.10 – RESULTADO INDETERMINADO POR VOLUME INSUFICIENTE DE REAGENTE.....	45
FIGURA 5.11 – RESULTADO INDETERMINADO POR VOLUME INADEQUADO DE AMOSTRA.....	45
FIGURA 5.12 – TP INDETERMINADO COM O PRIMEIRO PONTO FORA DAS ESPECIFICAÇÕES DA CURVA.....	46
FIGURA 5.13 – CURVA DE REAÇÃO INCOMPLETA POR DADOS BRUTOS INVÁLIDOS.....	46
FIGURA 5.14 – ERRO 5057 EM TP INDETERMINADO COM CURVA DE REAÇÃO INCOMPLETA.....	47
FIGURA 5.15 – RESULTADO INDETERMINADO COM CURVA INCOMPLETA .....	47
FIGURA 5.16 – RESULTADO INDETERMINADO DE FIB- C SEM CURVA DE COAGULAÇÃO E CURVA DE REAÇÃO INCOMPLETA.....	48
FIGURA 5.17 – CURVA INCOMPLETA COM Nº DE PICOS ELEVADO.....	48
FIGURA 5.18 – RESULTADO INDETERMINADO DE TTPA POR DELTA MUITO BAIXO, SEM ALTERAÇÕES DAS ABSORVÂNCIAS.....	49
FIGURA 5.19 RESULTADO INDETERMINADO DE TP COM DELTA MUITO BAIXO, POR OBSTRUÇÃO DA ASPIRAÇÃO.....	49
FIGURA 5.20 – RESULTADO INDETERMINADO DE DD, POR DECLIVE DA PENDENTE INICIAL DA CURVA DE REAÇÃO FORA DO LIMITE.....	50

FIGURA 5.21 – RESULTADO INDETERMINADO DE TTPA POR FALTA DA 2ª DERIVADA NA CURVA DE REAÇÃO .....	50
FIGURA 5.22 – TP COM CURVA DE REAÇÃO IRREGULAR, POR 1ª DERIVADA FORA DA LINHA DE BASE. ....	51
FIGURA 5.23 – TP INDETERMINADO; PRESUMIVELMENTE NORMAL COM DELTA MUITO BAIXO .....	51
FIGURA 5.24 – TTPA INDETERMINADO, APARENTEMENTE PROLONGADO E DELTA MUITO BAIXO .....	52
FIGURA 5.25 – TTPA INDETERMINADO, POSSIVELMENTE, SEM PICO DA 1ª DERIVADA. ....	52
FIGURA 5.26 – RESULTADO INDETERMINADO DE FIB- C, POR INTERFERÊNCIA DA BILIRRUBINA .....	53
FIGURA 5.27 – RESULTADO INDETERMINADO DE FIB-C, POR OBSTRUÇÃO DA ASPIRAÇÃO. ....	53

GRÁFICO 5.1 - TESTES DE TRIAGEM REALIZADOS EM 30000 AMOSTRAS .....	33
GRÁFICO 5.2 - DISTRIBUIÇÃO DE TESTES EFETUADOS.....	33
GRÁFICO 5.3 - DISTRIBUIÇÃO DE TESTES INDETERMINADOS .....	34
GRÁFICO 5.4 – DISTRIBUIÇÃO DE ERROS EM FUNÇÃO DA CURVA DE REAÇÃO .....	38
GRÁFICO 5.5 – DISTRIBUIÇÃO DE ERROS .....	39
GRÁFICO 5.6 ERROS ENCONTRADOS EM RESULTADOS INDETERMINADOS COM CURVA DE REAÇÃO .....	40
GRÁFICO 5.7 - ERROS EM RESULTADOS INDETERMINADOS.....	41
GRÁFICO 5.8 DISTRIBUIÇÃO ERROS EM CURVAS DE REAÇÃO INCOMPLETA .....	41
GRÁFICO 5.9 PADRÃO DO ERRO 5060 EM CURVAS DE REAÇÃO .....	42
GRÁFICO 5.10 PADRÃO DE ERRO 5760/5860.....	43
GRÁFICO 5.11 DISTRIBUIÇÃO DE AÇÕES OPERACIONAIS, PÓS AVALIAÇÃO DE CURVA DE REAÇÃO.....	54
GRÁFICO 5.12 PADRÕES ESPECÍFICOS DE CURVAS DE REAÇÃO, EM FUNÇÃO DA CAUSA.....	55
GRÁFICO 5.13 RESUMO DA AVALIAÇÃO DAS CURVAS DE REAÇÃO .....	55

**AC** – Anticorpo

**Ag** – Antigénio

**Ca 2+** - Cálcio

**CID** – Coagulação Intravascular Disseminada

**CHULC** – Centro Hospitalar Universitário de Lisboa Central

**CWA** - Forma de onda do coágulo

**DD** – D-Dímero

**ESTESL** - Escola Superior de Tecnologias da Saúde

**F (I, II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII)** – Fator (I, II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII)

**FIB-C** – Fibrinogénio Clauss

**FT** – Fator Tecidual

**FvW** – Fator von Willebrand

**HSJ** – Hospital de S. José

**INR** – Razão Normalizada Internacional

**ISI** - Índice de Sensibilidade Internacional

**PDF** - Produtos de Degradação da Fibrina

**SPC** – Serviço de Patologia Clínica

**TACSP** – Técnicos de Análises Clínicas e Saúde Pública

**TEV** – Tromboembolismo Venoso

**TP** – Tempo de Protrombina

**tPA** – Ativador tecidual do Plasminogénio

**TTPa** – Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada

**ULS S José** – Unidade Local de Saúde de S. José

**uPA** - Uroquinase



A Coagulação é um fenómeno que envolve a transformação do sangue líquido em gel sólido, o coágulo(3), e já era do conhecimento de Hipócrates, Platão, Celso e Galeno. No entanto, sem atribuição de qualquer valor fisiológico ou patológico.

O mistério que envolve a Coagulação moveu muitos, ao longo dos anos, a tentar decifrar o que julgavam ser um “truque de magia”(4).

Em 1628 o pai da fisiologia, William Harvey, descreve a circulação sanguínea(5).

No início do século XX (1905), Paul Morawitz, enuncia o primeiro Modelo Clássico de Coagulação com duas fases (Geração de Trombina e Coagulação do Fibrinogénio) envolvendo 4 Fatores (Fibrinogénio, Protrombina, Tromboquinase e Cálcio)(4).

No último século o desenvolvimento científico foi extraordinário(6). Com consequências na inovação tecnológica, conhecimentos de novas doenças, diagnóstico e terapêutica. Com reflexo na aquisição de mais e melhor conhecimento sobre os intervenientes na coagulação (fatores da coagulação, década 1940 a 1950), a sua organização (Modelo da cascata da coagulação, 1964 e Modelo celular, 2003), testes de avaliação dos distúrbios da coagulação (TP, 1935 e TTPa, 1953), semi-automatização (década de 1980) e automatização total (década de 90)(5).

O avanço no diagnóstico laboratorial de distúrbios da coagulação tem sido mais contido do que em outras áreas do laboratório clínico, como Química Clínica, sobretudo a nível da automação(1).

Em vez de se equiparem com novas tecnologias, a inovação em coagulómetros automatizados foi feita através da obtenção de mais dados nos mesmos analisadores(7).

Os Coagulómetros automatizados de alto rendimento(7) estão equipados com três tipos de metodologias e podem efetuar determinações cromogénicas (como o FVIII Cromogénico em Hemofílicos com profilaxia com Emicizumab), determinações imunoturbidimétricas (como os novos testes funcionais de Fator Von Willebrand) ou determinações coagulimétricas permitindo a análise das Curvas de Coagulação (análise da forma da onda da Curva de Coagulação) e derivação de novos parâmetros para além dos tempos de coagulação.

O uso e interpretação das curvas de coagulação e de ensaios imunoturbidimétricos (curvas de reação), sobretudo em testes com resultados indeterminados (ou *failed*), tem levantado muitas dúvidas e dificultado a sua aplicabilidade. Esta dificuldade tem sido

relatada pelos Técnicos de Análises Clínicas e Patologistas Clínicos em contexto de Urgência ou Rotina (no SPC do ULS S. José).

Este trabalho incide sobre análise das curvas de reação, em testes de coagulação mais frequentes (de triagem ou 1.<sup>a</sup> Linha) em coagulómetros de deteção ótica – TP, TTPa, Fib-C e DD. Visa recolher dados que permitam a construção de ferramenta de consulta, manual, que facilite a avaliação das Curvas de Reação de forma simples, rápida e sustentada pela evidência, permitindo a obtenção mais célere de resultados e a tomada de decisões mais adequadas. Em suma, contribuir para melhor prestação de cuidados ao doente.

## 2 CONTEXTUALIZAÇÃO TEÓRICA

O sangue é o suporte de células (Eritrócitos, Leucócitos e Plaquetas), nutrientes, hormonas e resíduos a excretar. Este valioso líquido biológico que assegura necessidades básicas do nosso corpo e contribui para a sua manutenção saudável. Sobretudo o transporte contínuo de oxigénio a todas as células(8).

Hipócrates e Aristóteles, entre outros sábios, já tinham a noção que o sangue que saía do corpo rapidamente coagulava(9).

A circulação sanguínea é efetuada sob pressão vascular. E caso exista uma lesão e haja possibilidade de fuga de sangue, este deve ser convertido num gel (coágulo) para tapar a rotura e reduzir a perda(10).

### 2.1 Hemostase

Hemostase, de Hemo=sangue e Stasis=paragem(11), é um sistema biológico complexo, responsável pela manutenção da circulação sanguínea através dos vasos sanguíneos intatos. Resulta do equilíbrio (figura 2.1) entre o processo procoagulante e a inativação da coagulação, evitando os extremos - hemorragia e trombose(12).

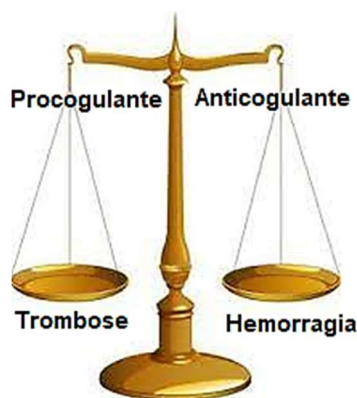


Figura 2.1 Equilíbrio da Hemostase.  
Imagem Adaptada – Lippi., et al, 2018

As primeiras informações sobre Hemostase foram recolhidas e registadas em tratado médico, há mais de mil anos, por Abu Al-Qasim Al-Zahrawi, primeiro Cirurgião medieval islâmico, considerado pai da Cirurgia(14).

A Coagulação Sanguínea, definida por interrupção da perda de sangue de um vaso lesionado, é parte integral do mecanismo fisiológico Hemostase, que participa na defesa do nosso organismo(14,15).

A regulação da Hemostase envolve 5 componentes: Vasos sanguíneos, Plaquetas, Fatores da Coagulação e seus inibidores, e Sistema fibrinolítico(16).

Segundo o novo modelo o mecanismo da Hemostase desenvolve-se em 2 fases: Hemostase Primária e Secundária(12,17).

### 2.1.1 Hemostase Primária

Fase em que ocorre a interação Plaqueta-Vaso(17), que envolve a Vasoconstrição e Formação do Tampão Plaquetário “temporário”(18).

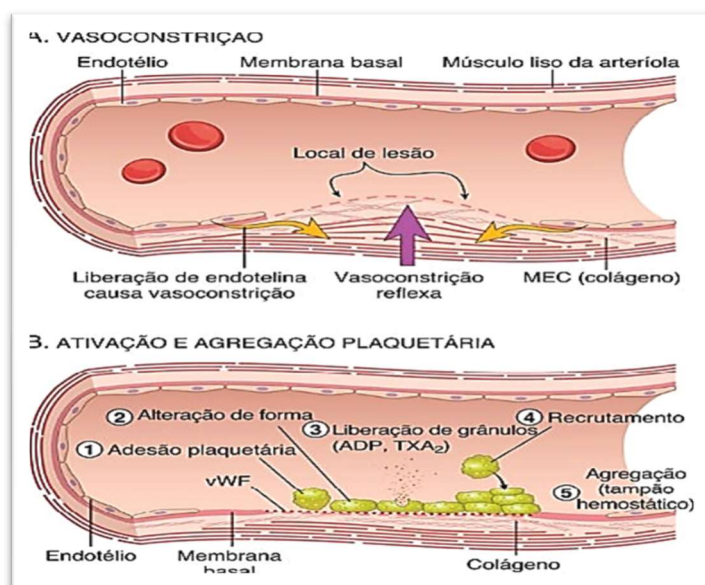


Figura 2.2 Hemostase Primária -Vasoconstrição, estimulação (ativação) e agregação plaquetária

Adaptado: <https://studymaps.com.br/hemostasia/>

As Plaquetas são ativadas após dano vascular e aderem rapidamente á parede do vaso, induzindo a Vasoconstrição(19), cuja finalidade é redução de perda de sangue(20).

O Tampão Plaquetário, formado em consequência da interação com os constituintes da matriz subendotelial, envolve os seguintes passos: localização, estimulação e agregação(21).

### 2.1.2 Hemostase Secundária

Fase em que participam os fatores da Coagulação, células danificadas e superfícies plaquetárias, local onde a Cascata da Coagulação se desenvolve(13).

O Modelo de Cascata da Coagulação foi proposto por Mac Farlane, em 1964. E definiu a cascata como conjunto de reações enzimáticas sucessivas que termina na formação do coágulo, por transformação do Fibrinogénio em Fibrina(11).

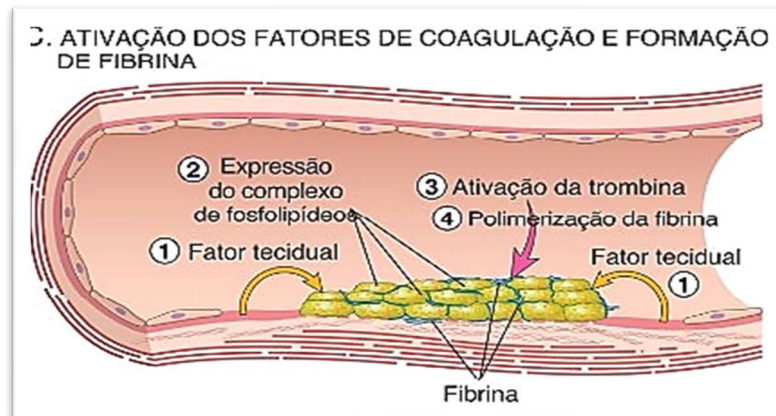


Figura 2.3 - Hemostase Secundária – Transformação do fibrinogênio em fibrina

Adaptado: <https://studymaps.com.br/hemostasia/>

Este modelo propõe duas vias independentes (Intrínseca e Extrínseca) e uma Via comum(22).

A Via Extrínseca, requer ativador externo ao sangue (nos tecidos extravasculares) – a exposição plasmática ao Fator Tecidual (FT), conhecido por Tromboplastina Tecidual, Fator III (FIII) da coagulação ou CD142(10,22).

Esta via inicia-se com a formação de um complexo entre FT e Fator VII (FVII), na presença de cálcio ( $Ca^{2+}$ ). O FVII por ativação proteolítica passa a FVIIa. E conseqüentemente o referido complexo ativa o Fator X (FXa)(11).

Na Via Intrínseca, a ativação da coagulação depende de fatores presentes no sangue e é desencadeada *in vitro* por ativadores artificiais (como o Caulino, Sílica micronizada ou ácido elágico)(10,22).

A Via Intrínseca tem início na interação entre fatores de contato (Fator XII (FXII), Fator IX (FIX), Précalicreína, Quininogênio de Alto Peso Molecular) e as estruturas vasculares subendoteliais (Colagênio e membrana basal). Envolve as etapas seguintes(11):

- Ativação do FXII por contato ou proteólise

- Contato, com superfícies de carga negativa. *In vivo* (Colagênio, complexo antígeno (Ag), anticorpo (Ac));
- Proteólise, em que enzimas como a Calicreína, Tripsina e Plasmina clivam o FXII e originam fragmentos de FXIIa;

- Ativação do FXI proteólise pelo FXIIa, em contato com superfícies de carga negativa.

- Ativação do FX por Via Intrínseca:

- Parte da ativação do FIX (FIXa) pela ação do FXIa em presença do Ca<sup>2+</sup>.
- O FIXa, por sua vez forma complexo com fosfolípidos plaquetários, Ca<sup>2+</sup> e FVIII promove a transformação do FX em FXa.

Por último, a Via Comum contempla a ativação do FX em FXa, a conversão de Protrombina em Trombina e a transformação do Fibrinogênio em Fibrina, originando o coágulo de fibrina do rolhão ou tampão hemostático.

A Trombina acumula a função de ativar o Fator XIII (que efetua a estabiliza a Fibrina do Coágulo)(23).

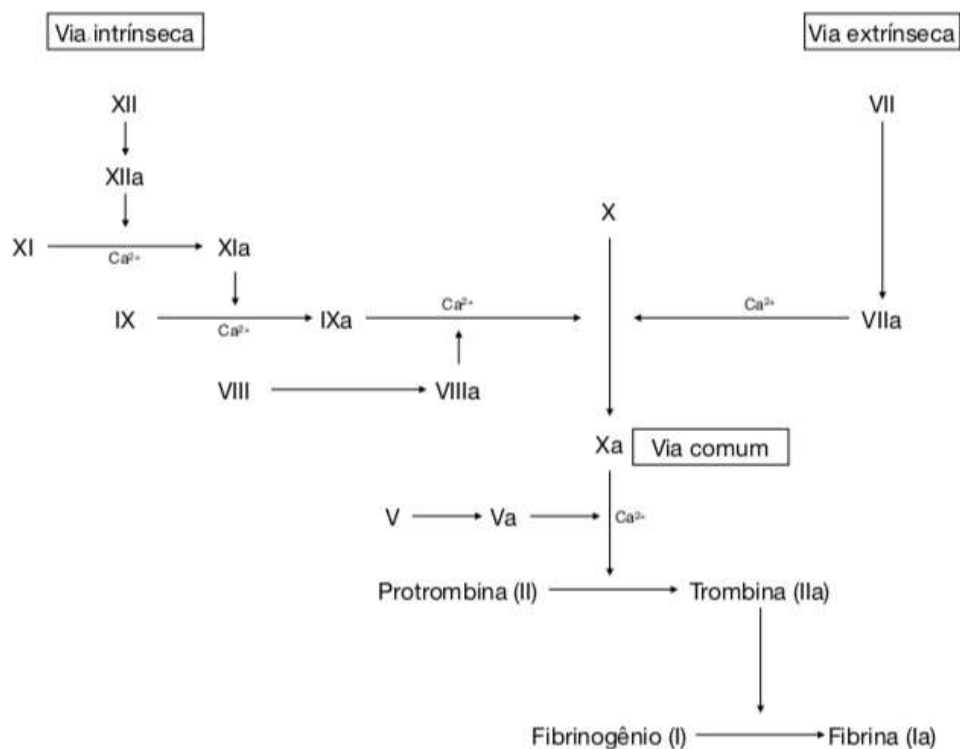


Figura 2.4 Cascata da Coagulação Adaptado: <https://www.medway.com.br/conteudos/cascata-de-coagulacao-o-que-importa-para-a-pratica-medica/>

O modelo clássico da cascata da coagulação tem sido posto de parte por não refletir totalmente a Hemostase *in vivo*. No entanto, é útil na prática clínica para a interpretação de resultados anormais de TP e de TTPa(22).

### 2.1.3 Hemostase com base em Superfícies Celulares

Avanços no conhecimento dos mecanismos da Hemostase, através de observações clínicas e experimentais, levaram a idealizar um novo modelo de Cascata da Coagulação, mais real, baseado nas superfícies celulares(24).

Ausência de hemorragia em doentes com Deficiências do FXII, Pré- calicreína, e Quininogénio de Alto Peso Molecular, apesar de apresentarem prolongamento do Tempo de Tromboplastina Parcial ativada (TTPa);

E situação contrária, com Hemorragia grave na Hemofilia B, por déficit de FIX;

Falta de compensação da ativação do FX pela Via Extrínseca, quando a Via Intrínseca é incapaz por déficit do FVIII, (Hemofilia A) ou de FIX (Hemofilia B).

A coagulação funciona de forma mais eficiente em superfícies celulares, do que em solução. Porque, quando ativada, faz mais sentido que se desenvolva no local da lesão vascular, onde o coágulo hemostático sela o vaso para impedir a hemorragia e não possa invadir os tecidos adjacentes ou perturbar o fluxo sanguíneo (25).

De acordo com este modelo de Superfícies Celulares a Hemostase desenvolve-se em etapas distintas, e ao mesmo tempo simultâneas, de acordo com o resumo da tabela 2-1: Amplificação, Propagação e Finalização.

Tabela 2-1 - Resumo das 4 fases da coagulação: Teoria da Coagulação baseada nas Superfícies Celulares

Etapas do Processo da Hemostase	
Iniciação	Endotélio vascular e células sanguíneas circulantes são perturbados; Interação do FVIIa do plasma com FT.
Ampliação	Trombina ativa plaquetas, cofatores V e VIII, e FXI na superfície das plaquetas.
Propagação	Produção de grande quantidade de trombina, formação de um tampão estável no sítio da lesão e interrupção da perda sanguínea.
Finalização	Processo da coagulação é limitado para evitar oclusão trombótica das áreas íntegras dos vasos.

Adaptado: Ferreira, et al,2010(25)

No novo modelo de hemostase as vias Extrínseca e Intrínseca encontram-se entrelaçadas no processo da Hemostase Fisiológica (21) e adquirem definições ligeiramente modificadas (24).

Assim, Via Extrínseca ou Tecidual é composta pelos complexos FVIIa/FT e FXa/Va, que decorre nas células portadoras de FT (Fibroblastos e Células musculares lisas- células adjacentes ao leito vascular, fora do endotélio vascular) (24).

Enquanto a Via Intrínseca, se desenvolve na superfície das Plaquetas. Não inclui o FXII ou seus co-fatores, (Pré- calicraína, e Kininogénio de Alto Peso Molecular), de acordo com estudos que sugerem que não participam na Hemostase, e envolve o FXIa, o complexo IXa/FVIIIa e complexo FXa/Va (24).

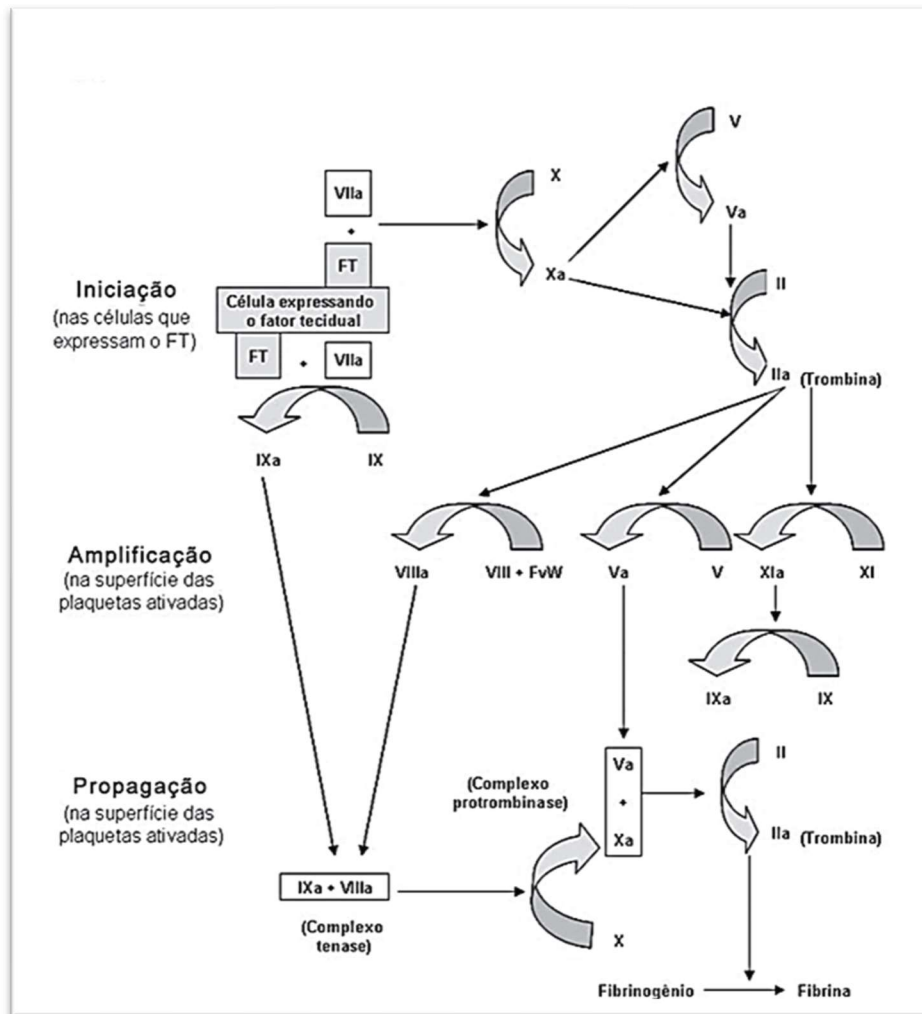


Figura 2.5 Modelo da Teoria da Coagulação baseado Superfícies Celulares  
Adaptação e Tradução, Vine, 2009

Concluída a formação do Coágulo de Fibrina, no vaso sanguíneo lesionado, o Sistema Fibrinolítico começa a intervir para dissolver o coágulo, ao mesmo tempo que decorre a cicatrização e se restabelece o fluxo sanguíneo (25).

#### 2.1.4 Inibidores da Coagulação (naturais)

É essencial garantir a regulação hemostática do tamanho e extensão do coágulo (21), para que este se limite ao local da lesão, e não se propague indefinidamente (14)A inibição da coagulação é assegurada por:

Ativação do TFPI (Inibidor do Fator Tecidual), que elimina o complexo FVIIa-FT correspondente ao início da coagulação pela via do Fator Tecidual (12).

- Antitrombina (AT), principal inibidor natural da coagulação, assegura 60% da inativação da Trombina. E ainda, inibe os Fatores X, XI e XII, mas em menor grau do que a trombina.
- Alfa-2-macroglobulina e o Cofator II da heparina.
- A Trombina ao difundir-se para além da área do dano vascular liga-se à Trombomodulina, na superfície das células endoteliais. Ainda que permaneça disponível para ligação à AT, a trombina ligada à trombomodulina já não cliva o fibrinogénio.
- Proteínas vitamina K dependentes – Proteínas C (ativada após ligação da Trombina ao recetor endotelial, a Trombomodulina) e S. Em que a Proteína C ligada, em simultâneo, ao recetor endotelial e à Proteína S formam complexo que promove a proteólise e inativação dos fatores VIIIa e Va.

#### 2.1.5 Inibidores da Coagulação (Terapêuticos)

Os últimos 100 anos foram marcados por avanços notáveis no conhecimento dos mecanismos da Hemostase e Coagulação. E permitiram o desenvolvimento de alvos para novas terapêuticas anticoagulantes, a aplicar em doentes com distúrbios trombóticos (4).

As terapêuticas anticoagulantes atuam através da inibição de fatores, como se pode observar pelos exemplos (26) na tabela seguinte

Tabela 2-2 - Inibidores Terapêuticos da Coagulação

Inibição	Fármacos	Mecanismo
<b>Antagonista da Vitamina K</b>	Varfarina	Inibe formação das formas funcionais dos Fatores II, VII, IX e X dependentes da Vitamina K (e das Proteínas C e S)
<b>Inibidores do FXa</b>	Apixaban, Edoxaban e Rivaroxaban	Inibem diretamente o FXa
<b>Inibidor da Trombina</b>	Dabigatran	Inibidor direto da Trombina
<b>Inibidores do FII e Xa</b>	Heparina não fracionada (HNF) e Heparina de baixo peso molecular (HBPM) - Enoxaparina, a Dalteparina e a Tinzaparina	Aumentam a atividade da AT para esta inativar o FII (Trombina) e o FXa
<b>Inibidor do FXa</b>	Fondaparinux – pequena molécula sintética que contém parte essencial do pentassacárido estrutural da Heparina	Aumenta a ação da AT, que inibe o FXa, mas não o FII
<b>Inibidores da Trombina (parentéricos)</b>	Argatroban e Bivalirudina	Inibidores diretos da trombina

Adaptado: Moake, 2018 (27)

## 2.2 Fibrinólise

Normalmente, existe um equilíbrio dinâmico entre coagulação e fibrinólise, a decorrer em simultâneo. Isto é, a primeira impede a perda de sangue, a última remove a fibrina formada em excesso e o sangue volta a fluir normalmente dentro do vaso sanguíneo reparado.

A Fibrina é o centro essencial da Hemostase, como produto primário da Cascata da coagulação e substrato final na Fibrinólise (27).

Através do mecanismo da Fibrinólise efetua-se a remoção de Fibrina e Coágulos sanguíneos (28).

### 2.2.1 Formação de Plasmina

O papel fisiológico de degradação da Fibrina cabe à Plasmina, protéase formada a partir do seu precursor, o Plasminogénio (28).

O principal ativador do Plasminogénio é o ativador tecidual (tPA= *tecidual plasminogen activator*), sintetizado e libertado pelas células endoteliais (27).

Durante a etapa de ativação o Plasminogênio e o seu ativador tPA possuem afinidade

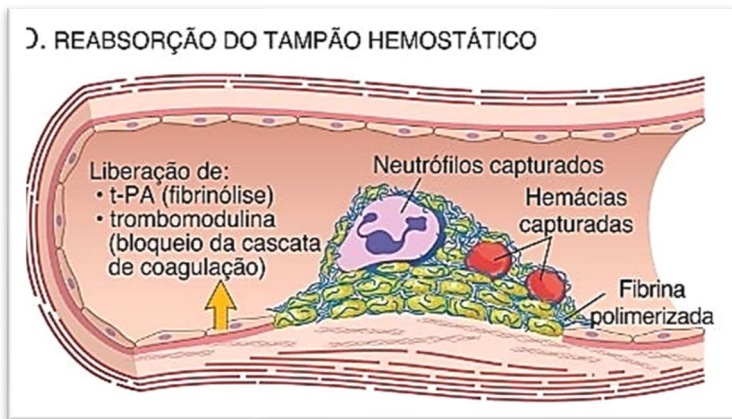


Figura 2.6 Fibrinólise

Adaptado: <https://studymaps.com.br/hemostasia/>

com a Trombina (no aminoácido lisina) (16) permitindo a sua aproximação, e consequente de geração de Plasmina (29), no local da sua ação.

Um segundo ativador do Plasminogênio, a Uroquinase (uPA), é

produzido pelos monócitos, macrófagos e epitélio urinário (27). Existe em duas formas, de cadeia simples e cadeia dupla, com propriedades distintas. Em cadeia simples não consegue ativar o Plasminogênio livre. Mas em cadeia dupla efetua ativação do Plasminogênio ligado à Trombina, em solução no plasma (26).

Outro potente ativador do Plasminogênio é Estreptoquinase, um produto bacteriano normalmente não encontrado no nosso corpo, mas que é utilizado como terapêutica para induzir a Fibrinólise em doentes com Trombose aguda (26). No entanto, tem tido menor uso por reações alérgicas (29).

### 2.2.2 Degradação da Fibrina

A Plasmina degrada a Fibrina. Para além disso, pode participar na degradação dos fatores da coagulação V, VII, VIII e Fibrinogênio (10).

Imediatamente após ativação do Plasminogênio a Plasmina começa a degradação do trombo, dando origem a Produtos solúveis de Degradação da Fibrina (PDF), nomeadamente o DD (27).

## 2.3 Avaliação Laboratorial da Coagulação

A avaliação laboratorial da Hemostase e Coagulação é efetuada em função da Avaliação Clínica, custos e complexidade (20).

Os testes iniciais para avaliação da coagulação, são testes de despiste ou triagem, de Primeira linha. São rápidos, baratos e com alto valor preditivo negativo (20).

A necessidade de esclarecimento da natureza e gravidade de distúrbio da coagulação, detetado em testes de primeira linha, requer investigação mais aprofundada, com testes mais específicos, de segunda e terceira linha (de acordo com História Clínica e os recursos do laboratório) (20).

Na tabela 2-3 estão discriminados os testes usuais no Laboratório de Hemostase e Coagulação, de acordo com a sua complexidade e especificidade.

O Laboratório de Coagulação, com recurso a novas metodologias de Biologia molecular e Genética, poderá dar o seu contributo para Medicina Personalizada, necessário para definir terapêuticas mais adequadas.

Tabela 2-3 - Testes de Hemostase e Coagulação. Adaptado: Lippi, et. al,2018(13)

Testes de 1ª Linha	Testes de 2ª Linha	Testes de 3ª Linha
<ul style="list-style-type: none"> <li>• TP</li> <li>• TTPa</li> <li>• Contagem de Plaquetas</li> <li>• Testes de triagem de função Plaquetária/ Adesão</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Testes de mistura (TP/TTPa)</li> <li>• Tromboelastograma/ Tromboelastograma rotacionais</li> <li>• Ensaio de Geração de Trombina</li> <li>• Atividade dos fatores/ ensaios cromogénicos</li> <li>• Estudos de agregação plaquetária</li> <li>• Doseamento imunoenzimáticos/ imunoturbidimétricos (Fator VW:ag)</li> <li>• Doseamentos imunoturbidimétricos (Fator VW: Cofator da Ristocetina)</li> <li>• Fator VW: Ligação ao colagénio</li> <li>• Imunoenzimático/ Quimioluminescência (por vezes considerado de 3ª linha)</li> <li>• Titulação de inibidores adquiridos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Concentração da Proteína do Fibrinogénio (Imunonefométrico/ Imunoenzimático)</li> <li>• Concentração de Proteína de Fator</li> <li>• Mutações Hemorrágicas/ Testes de Genética (pode ser de 2ª ou 3ª linha, Segundo Laboratório)</li> </ul>

### 2.3.1 Testes de Coagulação- Triagem ou 1ª Linha

Os testes de triagem ou 1ª linha são o primeiro passo para a investigação de distúrbios da coagulação nas seguintes situações(16):

- Avaliação preventiva pré-cirurgia;
- Investigação de patologias hemorrágicas (congénitas ou adquiridas);
- Monitorização de terapêutica anticoagulante;
- Despiste de estádios pré-trombóticos e trombofílicos;
- A triagem de distúrbios da coagulação é feita essencialmente com recurso ao TP, TTPa, Fib-C e DD.

Embora não esteja no âmbito do trabalho a desenvolver, a contagem de Plaquetas também faz parte da triagem laboratorial de avaliação da coagulação, e por vezes a função plaquetária e/ou agregação plaquetária (dependendo do historial clínico).

#### 2.3.1.1 Tempo de Protrombina (TP)

O Tempo de Protrombina foi descrito pela primeira vez por Armand J.Quick e colaboradores em 1935 (31,32) e baseia-se na via do FT.

É um teste coagulimétrico, de ponto final, que mede o tempo formação de coagulo após adição de Tromboplastina. ao plasma a testar.

O reagente de Tromboplastina contém FT e Fosfolípidos.

O FT tecidular usado por Quick era extrato de cérebro coelho. No entanto, outros FT foram usados (placenta, cérebro humano ou bovino). Atualmente podem conter FT Recombinante em vesículas de fosfolípidos (33).

As diferentes Tromboplastinas podem apresentar sensibilidades diferentes, com reflexos nos resultados entre laboratórios. Para compensar estas diferenças criou-se um sistema internacional de cálculo de resultados(28,29), que se descreve a seguir.

#### **Formula**

$$INR = \left( \frac{TP\ teste}{TP\ normal} \right)^{ISI}$$

**INR** = Razão Normalizada Internacional; **ISI** = Índice Internacional de Sensibilidade

**TP do Teste** = Teste do doente; **TP Normal** = Tempo médio de amostras Normais

O resultado do TP pode ser expresso em segundos (Seg.), % e INR(29).

O INR é utilizado para monitorizar doentes que fazem anticoagulação oral antagonista da vitamina K (AVK)(30).

O TP avalia a via extrínseca (iniciada pelo Fator tecidual (FT) libertado pelo tecido lesionado) e a via comum(31).

O prolongamento do TP pode ocorrer em coagulopatia, congénita ou adquirida, que afeta os Fatores da coagulação II, V, VII e X e pode também surgir na presença de anticoagulantes orais.

#### 2.3.1.2 Tempo de Tromboplastina Parcial ativada (TTPa)

O teste de TTPa marcou uma era da “Medicina da Coagulação”(32). Foi desenvolvido em 1953 por Langdell, Wagner e Brinkhours(32,33).

Em 1961, o teste foi modificado por Protor e Rapaport, que introduziram o Caulino como ativador de contato. Esta alteração foi adotada pelos laboratórios por todo o mundo(32).

As sucessivas alterações ao teste de TTPa permitiram que seja um teste coagulimétrico de ponto final, com utilização fácil, reproduzível e frequente (a par com TP)(30).

O TTPa tem designação de parcial, por não ter FT entre os componentes da reação.

O Teste TTPa consiste na determinação do tempo de coagulação de uma amostra de plasma recalcificado, pela adição Cloreto de cálcio, na presença de cefalina e de um ativador (caolin, Sílica ou ácido elágico). Na primeira fase, do teste o plasma é incubado com o ativador. Resulta desta fase a produção de FXIIa que por sua vez cliva o FXI e o transforma em FXIa. Sucede um segundo passo, a recalcificação, que permite que o FXIa ative o FIX e prossiga a formação do coágulo(16).

A utilização do teste TTPa prende-se às razões seguintes(34):

- Avaliar a via intrínseca – rastreio de deficiências dos Fatores VIII, IX e XI (Hemofilia A, B e C, respetivamente).
- O TTPa apresenta sensibilidade aos fatores da via de contato (XII, Pré-caliceína e Quinogénio de alto peso molecular).
- Pode estar prolongado na Doença Hepática, deficiência da Vitamina K e Coagulação Intravascular Disseminada.
- Permite monitorização da anticoagulação com HNF.
- Pode detetar a presença Anticoagulante Lúpico (AL).

### 2.3.1.3 Fibrinogénio (Clauss)

O fibrinogénio, Fator I da coagulação, é uma glicoproteína grande (340 KDa) e complexa(35) sintetizada nos hepatócitos. Está envolvido na imunidade, angiogenese e na reparação tecidual(36).

Na hemostase primária é o suporte para a agregação plaquetária, e substrato para a formação do coágulo de fibrina na hemostase secundária(36).

Os papéis fisiológicos que desempenha justificam avaliação em muitas doenças.

O método de Clauss é o mais utilizado para a avaliação funcional de Fibrinogénio. A sua determinação implica a adição de Trombina em alta concentração a plasma citratado diluído, para redução de interferentes se estiverem presentes (16). A Trombina vai converter o fibrinogénio em fibrina e formar o coágulo.

A concentração de Fibrinogénio é inversamente proporcional ao tempo necessário para formar o coágulo.

As anomalias quantitativas (ausência ou baixa produção) do Fibrinogénio são de dois tipos:

- Afibrinogénemia (muito rara)- Ausência completa de fibrinogénio(36).
- Hipofibrinogénemia- Nível baixo de produção de fibrinogénio

A anomalias qualitativas caracterizam-se pela produção de fibrinogénio em quantidade, mas com défice de atividade.

### 2.3.1.4 D-Dímero (DD)

O DD é um produto solúvel da degradação da Fibrina (PDF) gerado durante a Fibrinólise pela intervenção da Plasmina. É considerado um marcador Indireto da Fibrinólise e da renovação da Fibrina, em vários cenários clínicos(37).

A deteção de DD é efetuado por método Imunoturbidimétrico, com recurso a suspensão de esferas de latex ligadas a anticorpo monoclonal, altamente específico para o domínio DD, dos derivados solúveis da Fibrina(16). Quando a amostra de plasma é misturada com o reagente de Latex as partículas de latex revestidas aglutinam-se. A concentração de DD na amostra é proporcional ao grau de aglutinação, e corresponde a diminuição de transmissão de luz, induzida pelos agregados.

O teste de DD é útil para excluir o diagnóstico de tromboembolismo venoso (TEV). É também utilizado na monitorização da CID e na determinação da duração da anticoagulação.(38).

As limitações do teste de DD devem-se à sua baixa especificidade e traduzem-se em valores elevados com a idade, gravidez, cancro/malignidade, sobretudo infeções(38)

## **2.4 Automatização em Coagulação**

Huber e colaboradores, referem, a propósito da automatização na Hemostase:

” Automatia, uma antiga deusa grega da sorte que faz as coisas acontecerem por si mesma e por vontade própria, sem envolvimento humano, está presente em nossa vida diária no laboratório médico”(1).

Por definição a Automatização é qualquer sistema que com recurso a tecnologias de informação ou mecânicas dinamiza e otimiza processos produtivos de diversos setores(39).

No Laboratório Clínico a automação começou pela Química e estendeu-se a outras áreas, e mais recentemente à Hemostase.

### **2.4.1 Metodologias em Testes coagulimétricos de Hemóstase**

Ao longo de 50 anos os testes de Hemostase e Coagulação a avaliação da Hemostase e Coagulação beneficiaram da aquisição constante de novos conhecimentos nesta área.

Numa primeira fase os testes eram realizados em tubo de ensaio. E a avaliação/ deteção do coágulo era feita com recurso a agulha ou ansa fina, dobrada na extremidade.

No fim o Técnico parava o cronómetro quando visualmente existisse evidência de formação de coágulo na ponta da agulha. De seguida, registava do tempo em que se visualizou pela primeira vez a presença de coágulo(7). Ainda hoje o método em tubo é considerado Padrão para a determinação do ISI da Tromboplastina, que é usado para o cálculo do INR do TP(7).

O método visual foi gradualmente substituído, na década de 1980(40), por pequenos equipamentos (semi-automáticos) que permitiram maior rigor. Eram equipados com tecnologia de deteção do coágulo de dois tipos(7):

Deteção Ótica- alteração da transmissão luz com a formação do coágulo, que aciona paragem de cronómetro e registo do tempo final.

Deteção Mecânica- utilização de pequenas esferas metálicas, com movimento, que param com formação do coágulo. Ocorre paragem do cronómetro e registo do tempo necessário para a formação do coágulo(41).

Na década de 1990, surgiram equipamentos totalmente automatizados, mais sofisticados, com recurso à tecnologia anterior, Ótica e Mecânica(41).

A automatização da Hemostase e Coagulação trouxe(41): Maior capacidade de resposta, reprodutibilidade, redução de custos (amostras e reagentes), software de armazenamento de dados, permite múltiplas determinações simultâneas por amostra, efetua repetições em caso de erro, determinações em tubo fechado, verificações pré-analíticas(42) e, diluição automática de amostras calibradores e controlos.

Atualmente na automatização em Hemóstase ou Coagulação, essencialmente nos autoanalisadores de alto rendimento, existem três aplicações(7):

- Medição do tempo de coagulação;
- Espectrofotometria (medição da cor desenvolvida durante uma reação cromogénica);
- Imunoensaio;



**a) Laboratório Hemostase 1964**  
**b) Primeiros instrumentos semi automáticos**  
**c) Testes de coagulação integrados em laboratório totalmente automatizado**

Figura 2.7 Evolução do Laboratório de Hemostase e Coagulação

Adaptado: Huer, et al

### 2.4.2 Nefelometria

Consiste na imissão de um feixe fixo de luz em vários ângulos sobre a cubete de reação. É medida a dispersão de luz em leituras consecutivas. No final estas leituras serão convertidas em num gráfico ou curva de reação.

### 2.4.3 Turbidimetria

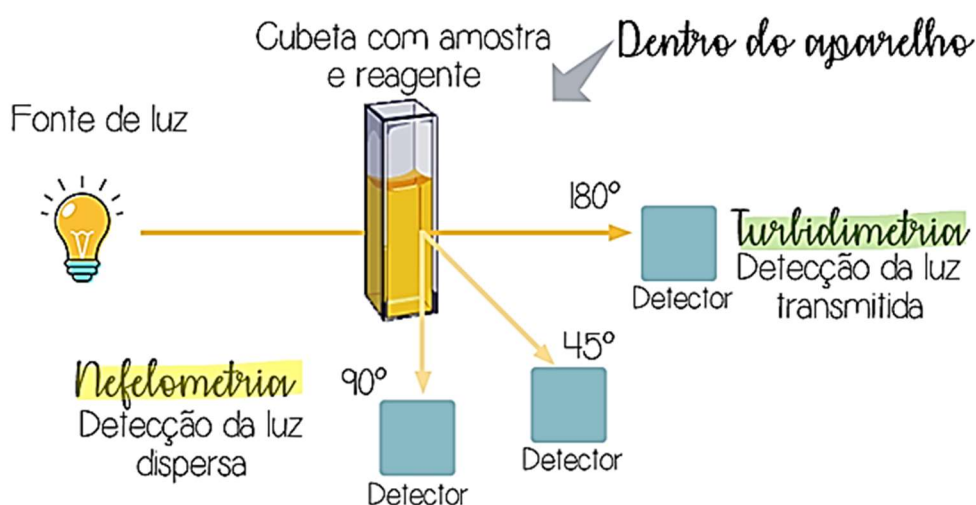


Figura 2.8 Nefelometria e Turbidimetria (esquema simplificado)

Nesta metodologia o incremento da opacidade nas cubetes de reação, á medida que se dá a reação (como a formação de coágulo), acompanhada de incidência de um feixe luz leva a diminuição da luz que atravessa a cubete. Existem sempre alterações da transmitância (diferença entre a leitura final e a inicial).

### 2.4.4 Imunoensaio

O Imunoensaio é utilizado em vários testes de diferentes áreas de avaliação Clínico-Laboratorial, e os testes de Hemóstase não são exceção.

Na hemostase os Imunoensaios são designados de ensaios Imunoturbidimétricos e fazem parte dos recursos que compõem os coagulómetros modernos. Baseia-se na reação antigénio (ag) presente no plasma – anticorpo (ac) unido a partículas de latex (específico do analito a estudar).

É através desta metodologia que se quantificam o DD e o fator Von Willebrand (FVW), entre outros.

## 2.5 Curvas de reação em coagulómetros de detecção ótica

A nova geração de coagulómetros óticos apresenta Curvas de reação geradas durante a realização dos ensaios de Coagulação, fornece informações que permitem compreender melhor os distúrbios da coagulação e o seu tratamento(43).

As curvas de reação em coagulómetros de detecção ótica definem-se como representações visuais da reação que ocorre na cuvete do equipamento, onde ocorre a interação da amostra com o reagente (com controlo de temperatura, mistura, tempos de incubação, etc.).

O sistema de detecção ótica mede as alterações, ao longo do tempo(44), na:

- Transmitância, fração luminosa que atravessa o plasma da amostra durante a formação do coágulo;
- Absorvância, fração de Luz absorvida pela cuvete de reação no processo de formação do coágulo ou aglutinação (imunoturbimetria).

### 2.5.1 Curvas de Avaliação da Transmitância

As curvas de Reação de testes coagulimétricos, em equipamentos óticos com medição da transmitância(45) permitem-nos saber, para além do tempo necessário para amostra coagular, informações ilustradas no gráfico 2.9:

- Valor mínimo da primeira derivada (Min 1) – a velocidade máxima;
- Valor máximo da Segunda derivada (Min 2) – aceleração máxima;
- Pico máximo da segunda derivada (Máx 2) – desaceleração;
- Densidade máxima do coágulo (diferença entre valores máximos iniciais e valores máximos finais, Delta).

Os analisadores automáticos MDA® e Sysmex® CS são exemplos de detecção da formação do coágulo de fibrina com recurso à Transmitância(46).

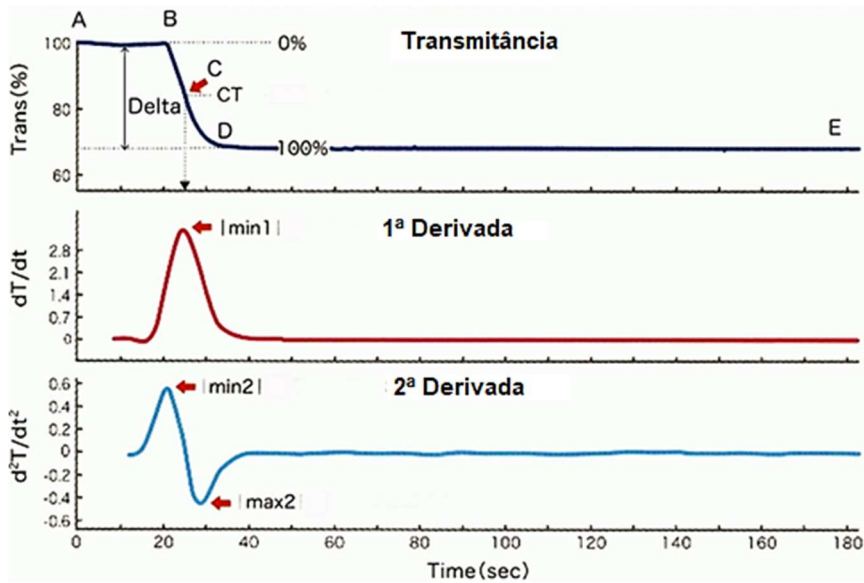


Figura 2.9 Curva de Reação de Transmitância. , Adaptado: Ichikava, et al,2022

Figura

## 2.5.2 Curvas de Avaliação de Absorvância

Os Coagulômetros óticos, com recurso a deteção da absorvância, apresentam Curvas de Reação de “assinatura” ou Padrão, em resultados normais, em testes coagulimétricos mais frequentes, TP e TTPa. Esta curvas de avaliação da coagulação de forma sigmoide, também designada de “ Forma de onda” , apresentam as seguintes características(44):

- Fase de Pré- Coagulação (Latência);
- Fase de Coagulação (Fibrino-formação);
- Fase de Pós-Coagulação (Estabilização da Fibrina);

O uso de deteção da absorvância e sua representação gráfica durante a formação de fibrina nos testes coagulimétricos, já referidos, está presente em equipamentos da família ACL TOP®(48).



Figura 2.10 Coagulômetros de detecção ótica- Família ACL TOP® série 50.

Fonte: <https://www.werfen.com>

A curva Padrão da Coagulação, na figura 2.11, permite ainda visualizar: as escalas de tempo e absorvância, as linhas de base (pré-coagulação), a aceleração, a desaceleração, o ponto final (pós-coagulação) e o Delta (diferença de absorvância entre início e fim da formação do coágulo da fibrina, que representa a densidade do coágulo).

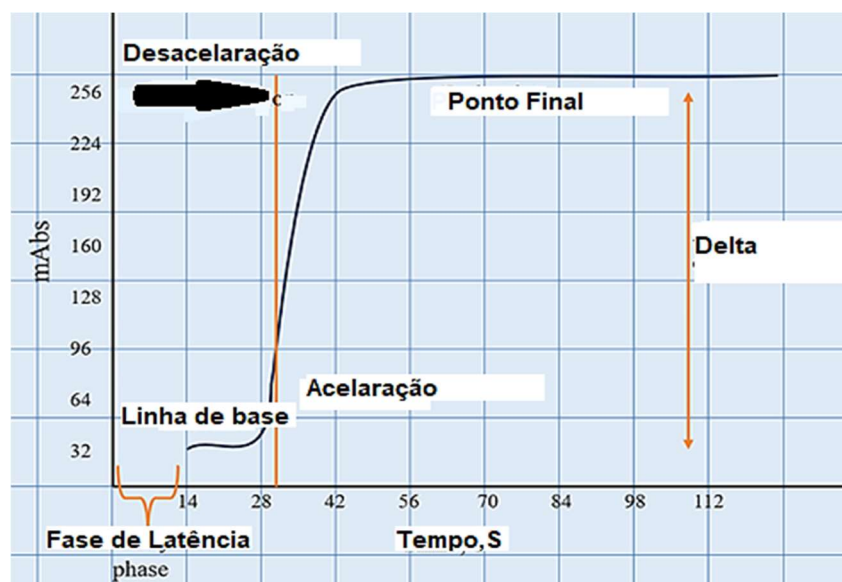


Figura 2.11 Curva de Reação

Adaptado: Iberahim, et al, 2024

Nas Curvas de Reação representativas da avaliação de absorvância é possível recolher informações pelas Curvas das Primeira e Segunda derivadas.

As Primeira derivada representa a velocidade de formação da fibrina e o seu pico corresponde á velocidade máxima(46) e indica o valor do TP, como podemos ver na figura 2.14.

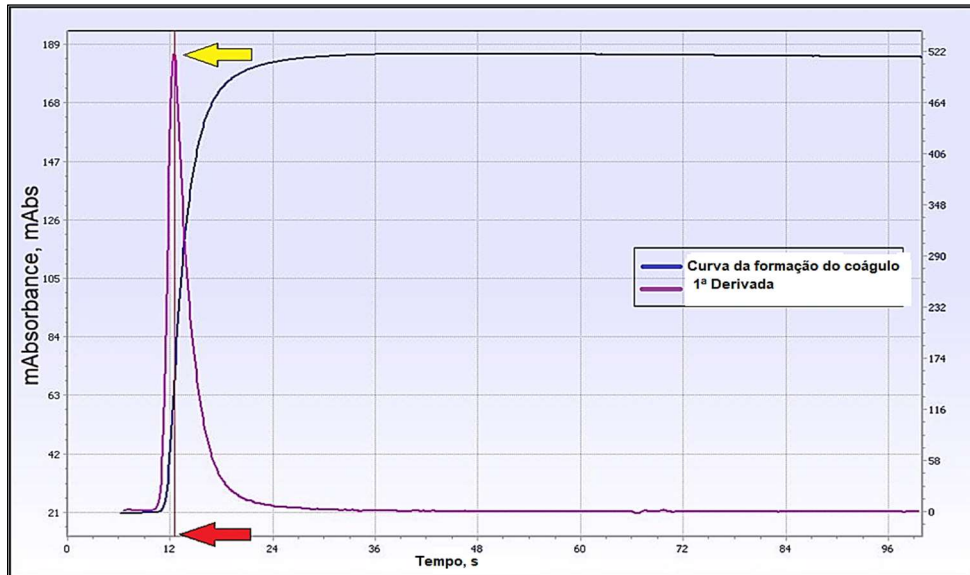


Figura 2.12 Curva Padrão do TP  
Adaptado: Iberahim, et al, 2024

Com a segunda derivada é possível avaliar a aceleração da formação de fibrina, e pelo seu pico máximo determinamos o valor de TTPa, representado pela figura 2.13.

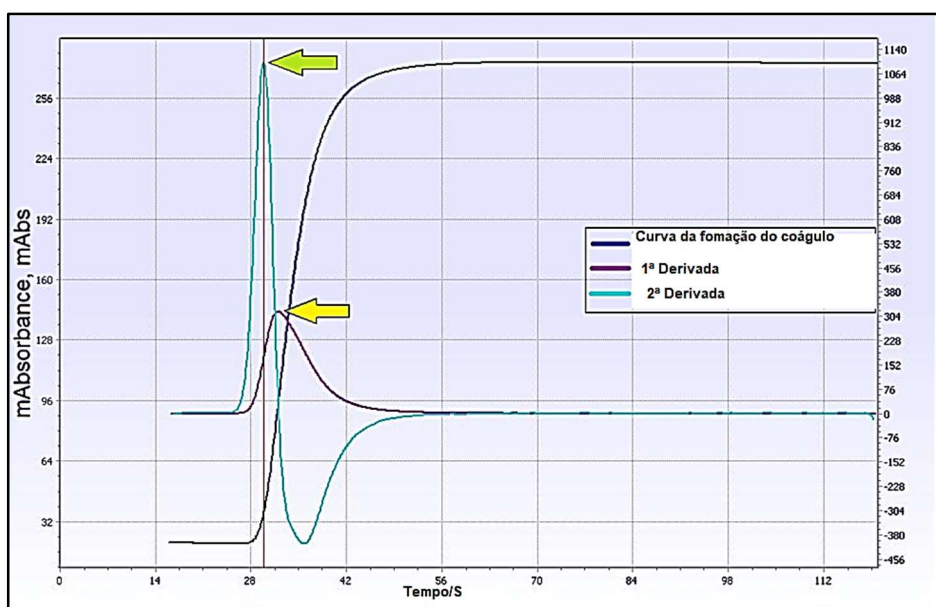


Figura 2.13 Curva padrão do TTPa  
Adaptado: Iberahim, et al, 2024

As curvas de reação de resultados regulares possuem ponto mínimo, máximo, final e mínimo delta.

A escala de absorvâncias, num teste regular, deve ser crescente. Mais fibrina, maior opacidade da cuvete de reação, maior quantidade de luz absorvida e menor transmitância.

As representações gráficas, Curvas de Reação, em Analisadores óticos podem ser extensivas a outros testes de Hemostase e Coagulação, nomeadamente Fib-C.

A curva de reação do Fib-C regular apresenta pendente inicial e delta total para identificação do ponto de coagulação. A leitura é feita com o algoritmo Umbral- Limiar, como pode ser observado na figura 2.14.

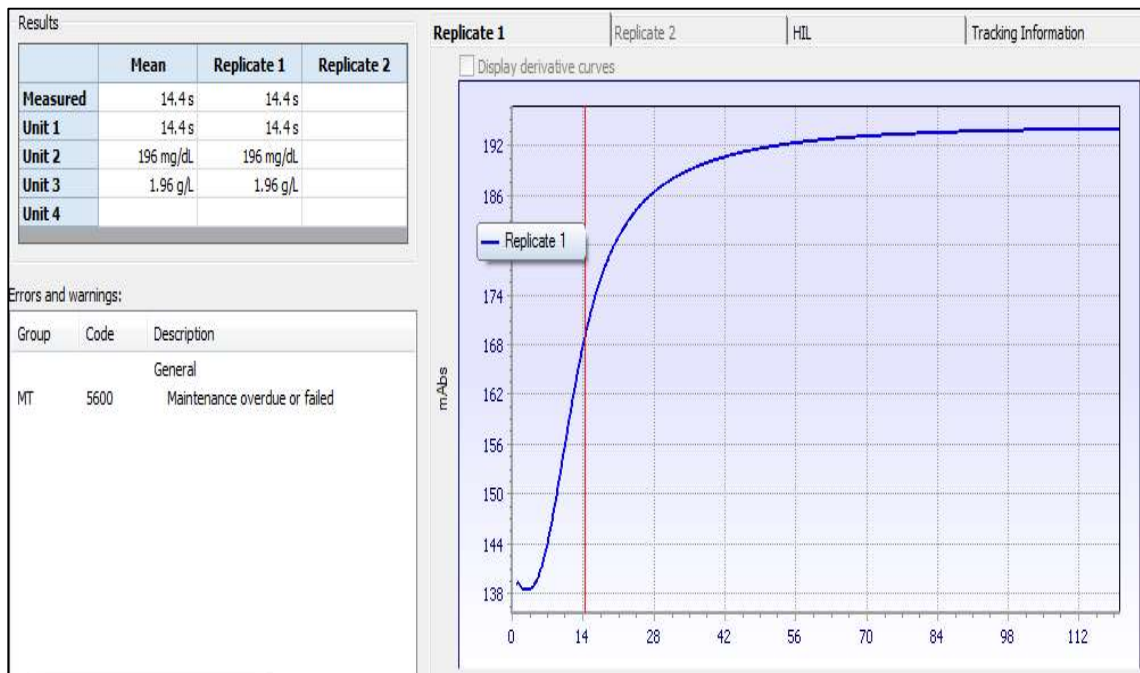


Figura 2.14 Curva padrão do FIB-C

Fonte: ULS S. José

Os testes turbidimétricos, como o DD, apresentam ponto mínimo, pendente inicial e ponto máximo.

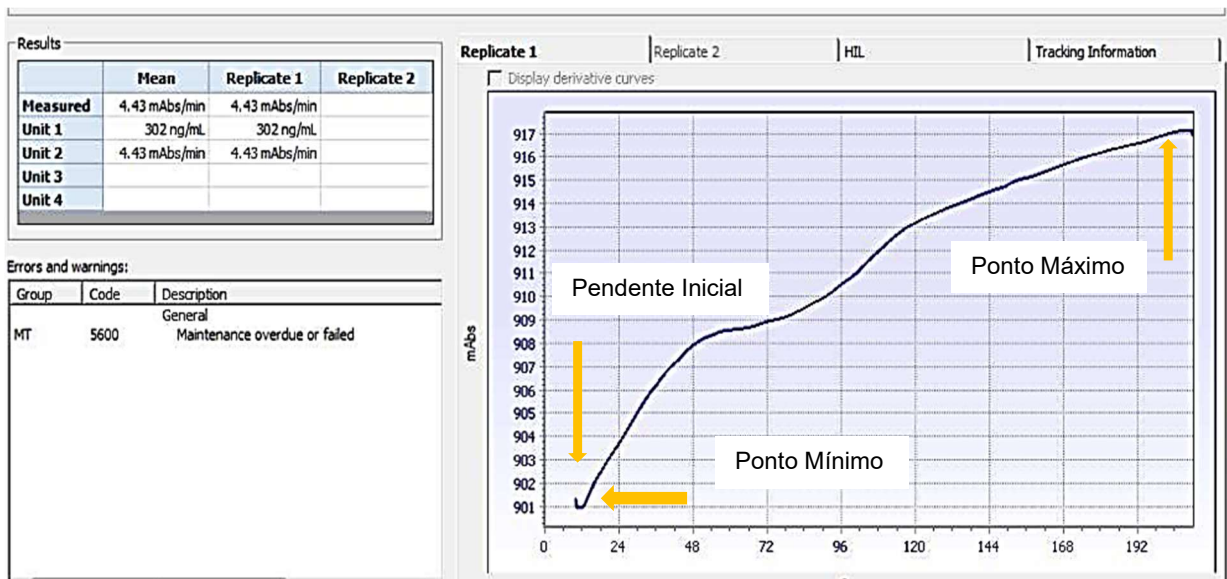


Figura 2.15 Curva Padrão do DD  
Fonte: ULS S José

### 2.5.3 Utilidade das curvas de reação

Estas representações gráficas são ferramentas úteis para investigação de:

- Resultados anormais;
- Resultados com alarmes;
- Resultados com erros;

### 2.5.4 Fatores que afetam as curvas de reação

As curvas de reação podem ser afetadas por:

- Qualidade da amostra;
- Reagentes;
- Equipamento;
- História Clínica do doente;

### 2.5.5 Aplicações da avaliação das Curvas de Reação

A avaliação das curvas de reação em coagulómetros óticos pode ser feita de duas formas:

Forma Simples – Com recurso a parâmetros qualitativos das curvas em resultados indeterminados ou com erro de determinação, com base em situações referidas nos pontos 2.5.3 e 2.5.4.

Forma avançada – Avaliação das Curvas de Reação através da “Forma da Onda”, é uma forma de avaliação global da coagulação. Inicialmente através do TTPa e alargada ao TP.

A avaliação da forma da onda foi descrita pela primeira vez por Braun e colaboradores, em 1997(49). Tem sido aplicada de forma experimental com base em vários estudos. A sua utilização, é pouco conhecida, está condicionada à sua Padronização alargada. O seu uso serve para:

- Detetar qualquer deficiência de fatores da coagulação;
- Diagnóstico diferencial entre Défice de fatores e Anticoagulante Lúpico;
- Diagnóstico diferencial entre Hemofilias A e B;
- Diagnóstico diferencial entre Hemofilia e Hemofilia adquirida;
- Avaliação direta de Anticoagulação Oral;
- Em várias patologias (CID, Sepsis, Tromboembolismo, etc.), permite relacionar vários parâmetros da curva de reação;

Na avaliação da forma da curva requer parâmetros qualitativos (referidos na apresentação das curvas de reação) e quantitativos da curva. Os parâmetros quantitativos são referentes à primeira e segunda derivada, tempo de 1/2 da formação de fibrina, altura do segundo pico, altura da formação da fibrina, largura do pico da segunda derivada, entre outros.

A forma simples ou avançada de Avaliação das Curvas é global, “simples” (porque é gerada, pelo software dos coagulómetros, e pode ser sempre utilizada ou guardada) e barata (não requer outros recursos, para além dos fornecidos pelos coagulómetros).

## **2.6 ACL TOP® 750 CTS**

O ACL TOP® 750 CTS faz parte da família ACL TOP Série 50, é um Coagulómetro ótico, de elevado rendimento, para provas de rotina e especiais.

Possibilita verificações pré- analíticas, e de cada passo de cada teste, incluindo a sua representação gráfica, Curvas de reação, através de Software que exhibe as Curvas de Reação, e efetua o cálculo de parâmetros associados, primeira e segunda derivadas.

Na elaboração deste trabalho utilizou-se dados das curvas de reação obtidas pelo ACL TOP® 750 CTS, em resultados indeterminados, foram avaliados pela Forma Simples.

### 3.1 Questão de investigação

Quais os critérios adequados para utilizar e interpretar as Curvas de Reação em Coagulómetros de deteção ótica?

### 3.2 Objetivo Geral

Construir um manual de utilização e interpretação de Curvas de Reação, para testes de coagulação mais frequentes em coagulómetros de deteção ótica – TP, TTPa, Fib-C e DD.

### 3.3 Objetivos Específicos

- Definir as bases e algoritmos de interpretação das Curvas de Reação.
- Determinar a frequência de utilização e interpretação de Curvas de Reação.
- Conhecer os padrões mais frequentes de curvas de reação.
- Enumerar o tipo de Curvas de Reação encontradas e respetiva interpretação.

### 4.1 Tipo de estudo

O estudo a desenvolver é de caráter Descritivo, porque consiste em verificar resultados dos testes de triagem em hemóstase (TP, TTPa, Fib-C e DD), em particular os indeterminados para avaliação da respetiva curva de reação.

### 4.2 Local de estudo

O estudo decorrerá no ULS S. José, SPC, área do Core- Hematologia, do hospital de S. José.

### 4.3 Amostragem

É uma amostra não probabilística accidental, de conveniência. Constituída por 30000 plasmas citratados, ou seja, de amostras colhidas em tubo de Citrato de Sódio 9NC:0.106 mol/l (proporção 1:9 – Anticoagulante/ Sangue) de doentes com estudo de hemóstase com os parâmetros: TP, TTPa, Fib-c e DD.

### 4.4 Recolha de dados

A recolha de dados incidiu no método analítico de Coagulómetros Óticos, Curvas de Reação, de resultados indeterminados (*failed*) dos testes de triagem de coagulação mais solicitados, já referidos.

Os dados deste estudo foram recolhidos nos coagulómetros existentes no local do estudo, dois ACL TOP® 750 CTS, Instrumentation Laboratory (IL)- Werfen.

### 4.5 Procedimentos

#### 4.5.1 Fase Pré-analítica

Implica 4 etapas:

- a) Solicitação Médica e consentimento do doente, de testes de rastreio da coagulação frequentes (TP, TTPa, Fib-c e DD), durante atividade regular do CHULC, em Consulta Externa, Urgência e Internamento – segundo as recomendações da Entidade Reguladora da Saúde (ERS);
- b) Colheita de sangue venoso pelos Técnicos de Análises Clínicas e Saúde Pública (TACSP) na Consulta Externa, Urgência e Internamento ou pelos Serviços (para os

tubos adequados aos parâmetros solicitados – em estudo da coagulação em tubo de Citrato de Sódio 1:9 - de acordo com manual de colheitas);

c) Transporte até ao Laboratório de Patologia Clínica (de acordo com o manual de boas práticas);

d) Integração dos pedidos de análises, pelos TACSP nas colheitas ou receção de produtos provenientes dos serviços, gera etiquetas com nº de registo que são coladas nos tubos. Todos os técnicos envolvidos são elementos externos á investigação. Logo, fica assegurada a Pseudoanonimização.

#### 4.5.2 Fase Analítica

É assegurada pela determinação dos parâmetros de coagulação solicitados no Coagulómetro de Detecção Ótica ACL TOP® 750 CTS, Instrumentation Laboratory (IL)-Werfen, cujo software regista graficamente todo o processo analítico, Curvas de Reação, e avalia segundo critérios e algoritmos definidos.

Todos os resultados que se encontram fora dos critérios de validação do equipamento são assinalados com “failed” e constituem o grupo de testes indeterminados, que serão o objeto de estudo da investigação. Concretamente a suas Curvas de Reação.

As curvas de Reação e erros associados dos testes indeterminados serão recolhidas pelos operadores do Coagulómetro, Core - Hematogia, externos á investigação, em ficheiro criado para o efeito. E também o nº total de testes efetuados. O investigador recebe os dados recolhidos e avalia as Curvas de Reação de acordo com critérios expressos no ponto 3.5.3. e regista em tabela criada para o efeito (em anexo).

#### 4.5.3 Validação e interpretação das Curvas de Reação em resultados indeterminados

Por cada amostra será registada a resposta a cada uma das seguintes Questões:

- Qual o teste afetado (com resultado indeterminado)?
- Existe curva de reação?
- É um teste coagulimétrico (com medição do tempo de coagulação)?

- A curva de reação tem desenvolvimento em 3 fases (latência, fibrinoformação e estabilização)?
- Qual a amplitude da escala de absorvâncias?
- É um teste Extendido (teste reflexo com tempo aquisição de resultados mais alargado)?
- Tem ponto mínimo, ponto máximo, ponto final e mínimo delta?
- A Curva de reação apresenta derivadas (1ª para o TP e 2ª para TTPA)?
- No caso de o teste ser um Fib-C (com algoritmo Umbral- Limiar) tem pendente inicial e delta total para identificação do ponto de coagulação?
  
- É um teste Imunoturbidimétrico?
- Tem ponto mínimo, pendente inicial e ponto máximo?
  
- Independentemente do tipo de teste que erros apresenta?
- De amostra, de reagente ou outro?
  
- Como se apresenta a amostra?
- Colhida incorretamente (não respeita a proporção amostra/ anticoagulante)?
- Apresenta coágulo, hemólise, lipemia ou icterícia?

De acordo com as respostas obtidas as curvas serão interpretadas e validadas. E corresponderão a um padrão específicos.

#### **4.5.4 Classificação de Padrões de Curvas de Reação**

Os possíveis padrões de curvas a encontrar, em resultados indeterminados, foram agrupados em quatro grupos listados na tabela, de acordo com a origem do problema que conduziu ao resultado indeterminado (ou failed).

Tabela 4-1 - Classificação de Padrões de Curvas de Reação em Resultados indeterminados (em função da causa)

Qualidade da Amostra	Reagente	Instrumento	Coagulopatia ou Terapêutica
-Coagulada	-Insuficiente	-Avaria súbita	<b>→ Com resultados elevados ou prolongados</b>
-Hemolisada	-Perda de estabilidade	-Obstrução da pipeta	-Déficit de fatores da Via extrínseca (TP); -Déficit de fatores da Via intrínseca (TTPa); -Terapêutica anticoagulante -Fibrinólise muito ativa ou CID (DD)
-Lipêmica			<b>→ Com resultados baixos</b> -Disfibrinogênemias -Hipofibrinogênemias -Afibrinogênemias -CID
- Volume Insuficiente ou inadequado			

#### 4.5.5 Construção de manual de utilização e interpretação de curvas de reação

A construção de manual de apoio á utilização e interpretação de curvas de reação será efetuado com os grupos de Curvas Padrão encontradas, respectivas interpretações e linhas a seguir com resultado obtido.

#### 4.6 Tratamento estatístico

Os dados foram tratados por estatística descritiva por Excel, com recurso ao cálculo das frequências absolutas e relativas.

Esta avaliação permitirá determinar a frequência de recurso ás Curvas de Reação e qual o padrão mais encontrado.

#### 4.7 Considerações éticas e legais

O trabalho foi aprovado pelos conselhos de ética do CHULC, com a referência 469/2023) e ESTESL (Escola Superior de Tecnologias da Saúde), com a referência CE-ESTeSL nº 66 - 2023.

O estudo incidiu sobre Curvas de Reação de resultados indeterminados de testes de coagulação frequentes (TP, APTT<sub>a</sub>, Fib-C e DD) em amostras de plasma já obtidos por solicitação médica e consentimento dos doentes, durante avaliação em Consultas Externas, Urgência e Internamento, de acordo com as recomendações da Entidade Reguladora da Saúde (ERS).

Não foram efetuados mais testes, além dos solicitados pelo Médico e aceites pelo Doente. Os dados do doente são anonimizados no ato de integração dos testes solicitados pelo Médico, por elementos externos ao estudo.

É um estudo exclusivamente metodológico que não recolhe nem analisa, dados do doente ou identificação do mesmo. Por esta razão foi dispensado de consentimento informado aos doentes.

### 5.1 Caraterização da Amostra

Da avaliação das 30000 amostras, recolhidas entre fevereiro e maio de 2024, foram realizados 66618 testes de triagem de Coagulação com a seguinte distribuição (gráfico).

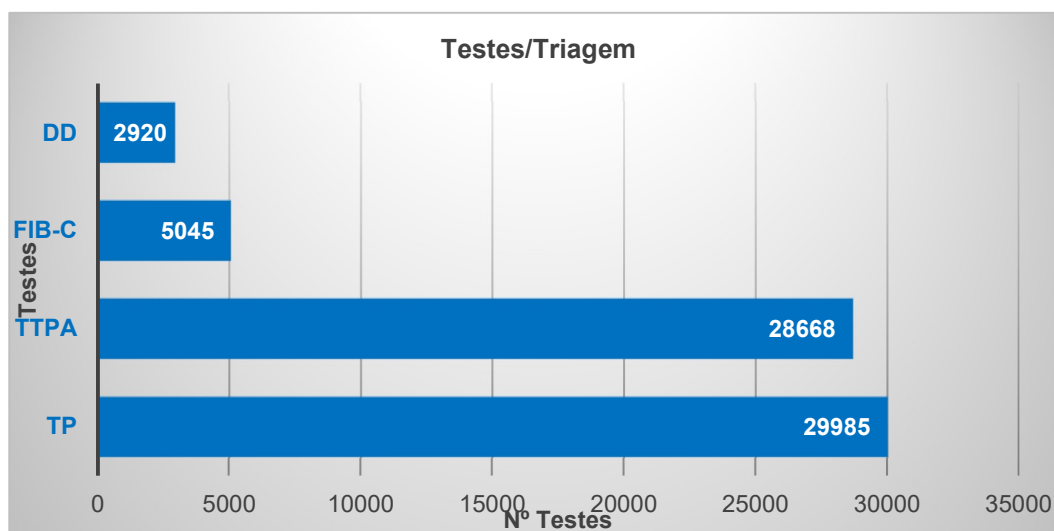


Gráfico 5.1 - Testes de triagem realizados em 30000 amostras

A avaliação analítica nos Coagulómetros Óticos, já referido, resultou em dois grupos de resultados, um com testes regulares e outro com testes indeterminados, com 453 amostras correspondentes a 691 testes. Este último grupo representa 1,04%, do total de testes realizados, como se pode verificar no gráfico

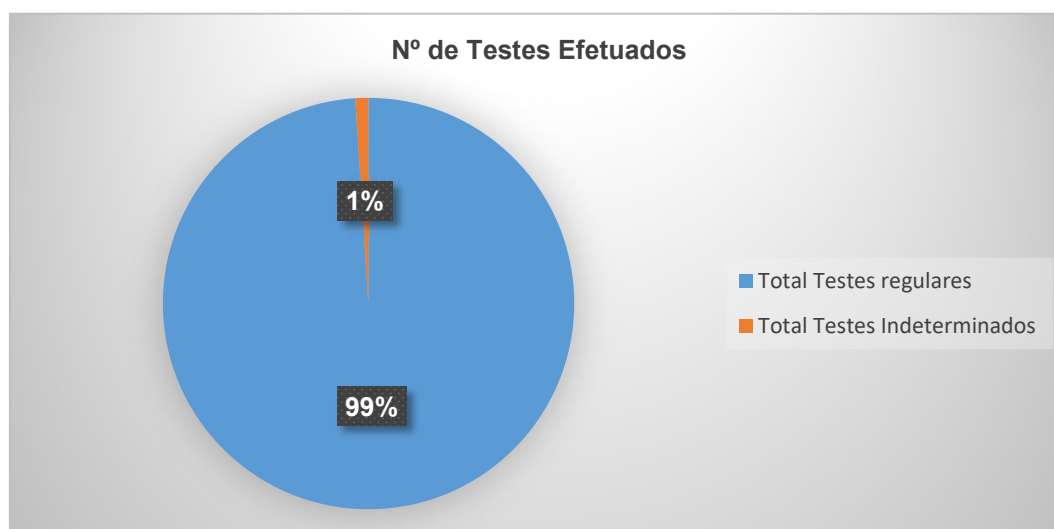


Gráfico 5.2 - Distribuição de testes efetuados

## 5.2 Resultados Indeterminados

Os resultados indeterminados, 691 testes, apresentaram frequências maiores entre os testes de DD e TTPa, 37% (253 Testes) e 31% (218 Testes), respectivamente, entre os quatro testes avaliados. TP contribuiu com 173 testes e o FIB-C com 47 Testes.

A distribuição de resultados indeterminados está representada no gráfico 5.3.

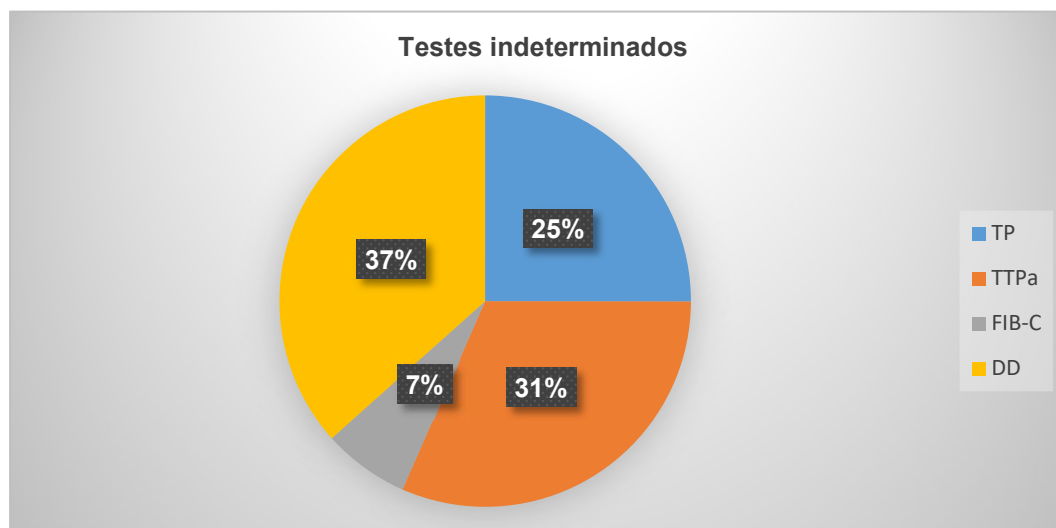


Gráfico 5.3 - Distribuição de testes indeterminados

## 5.3 Curvas de Reação em testes regulares

Os testes regulares, 99% dos efetuados, apresentaram um traçado característico e dentro das especificações de referência. Em resultados normais ou patológicos. Como se pode verificar nas figuras das curvas de reação obtidas durante este trabalho.

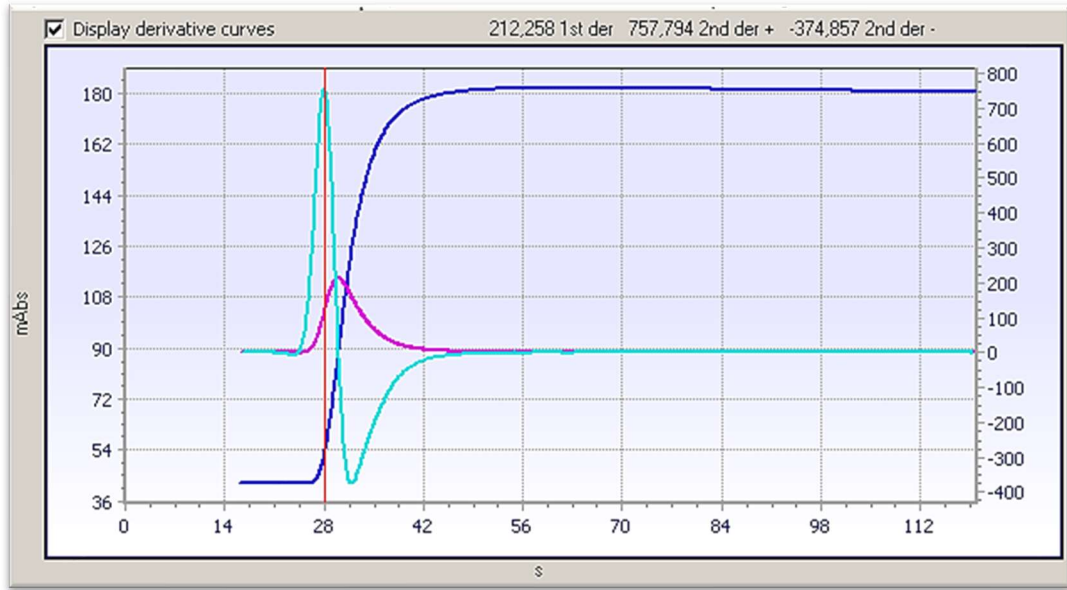


Figura 5.1 TTPa Regular Normal. Fonte: ULS S. José

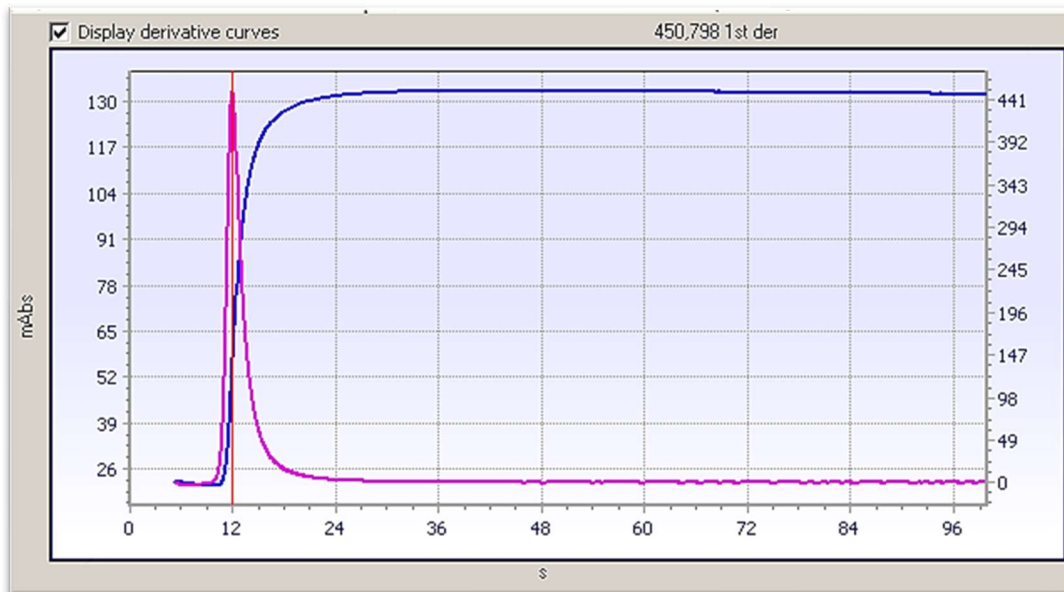


Figura 5.2 – TP Regular Normal. Fonte: ULS S. José

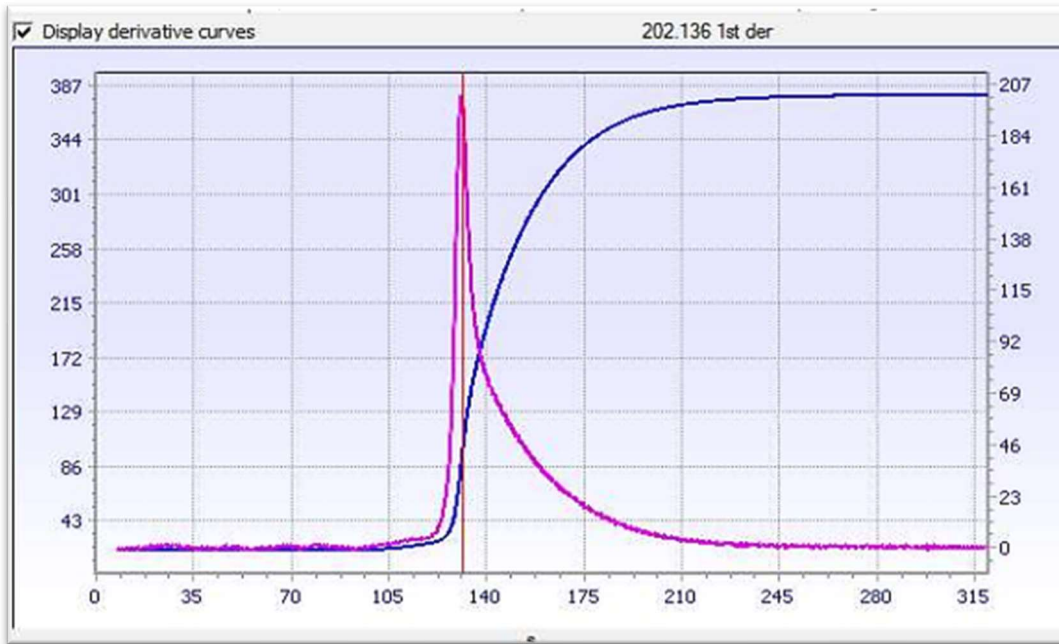


Figura 5.3 – TP Regular Prolongado. Fonte: ULS S. José

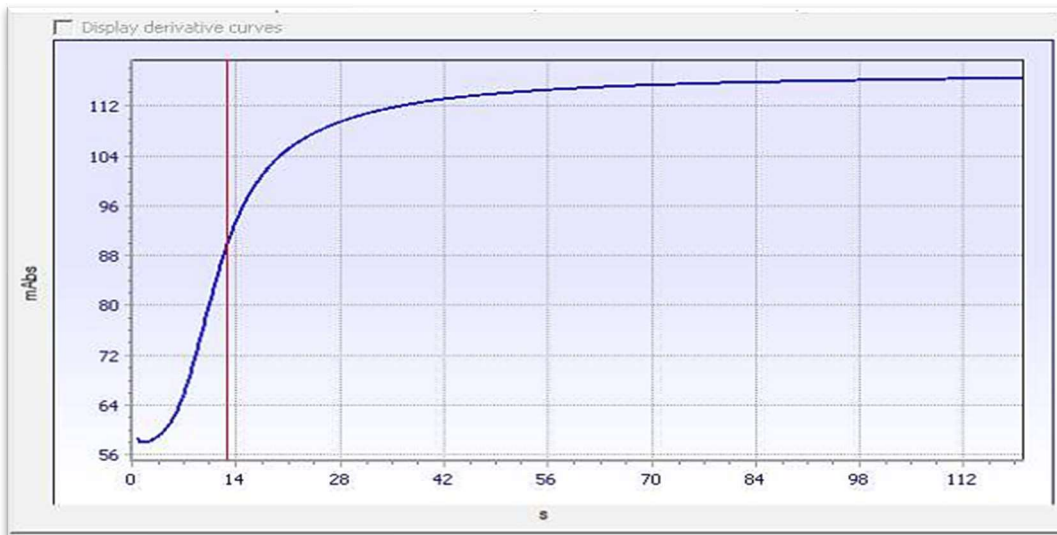


Figura 5.4 – Fibrinogénio Regular Normal. Fonte: ULS S. José

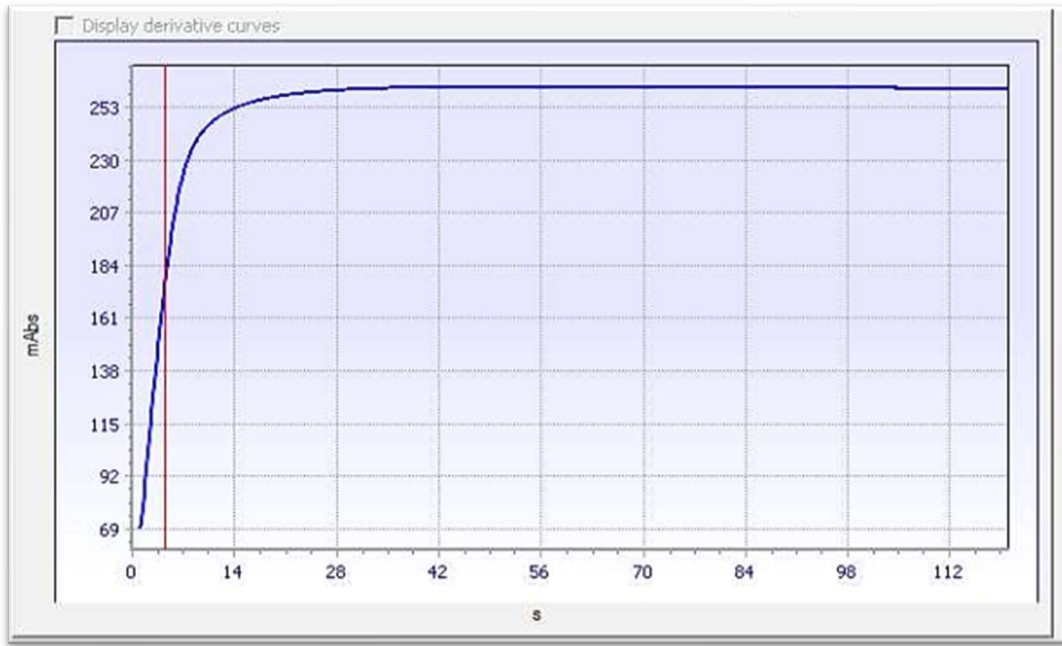


Figura 5.5 – Fibrinogênio Regular Alto. Fonte: ULS S. José

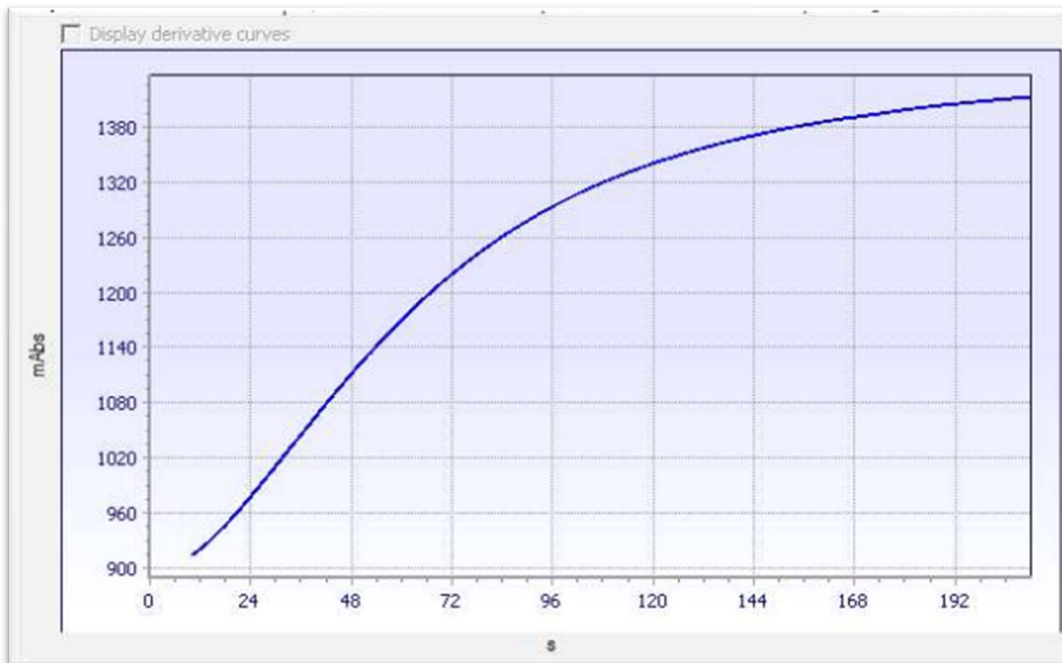


Figura 5.6 – DD Regular Normal. Fonte: ULS S. José

#### 5.4 Curvas de Reação em resultados indeterminados

Encontrou-se três grupos de resultados: Curva presente, Sem curva e Curva incompleta. O maior, com curva de reação, que corresponde a 373, 54% dos resultados indeterminados. E o grupo menor é sem curva de reação, 49 resultados. Os restantes resultados, são exclusivamente coagulimétricos, estão no terceiro grupo, com curva de reação incompleta, mas não tem curva de formação de fibrina.

O gráfico 5.4 apresenta a distribuição de erro em função da avaliação da curva de reação.

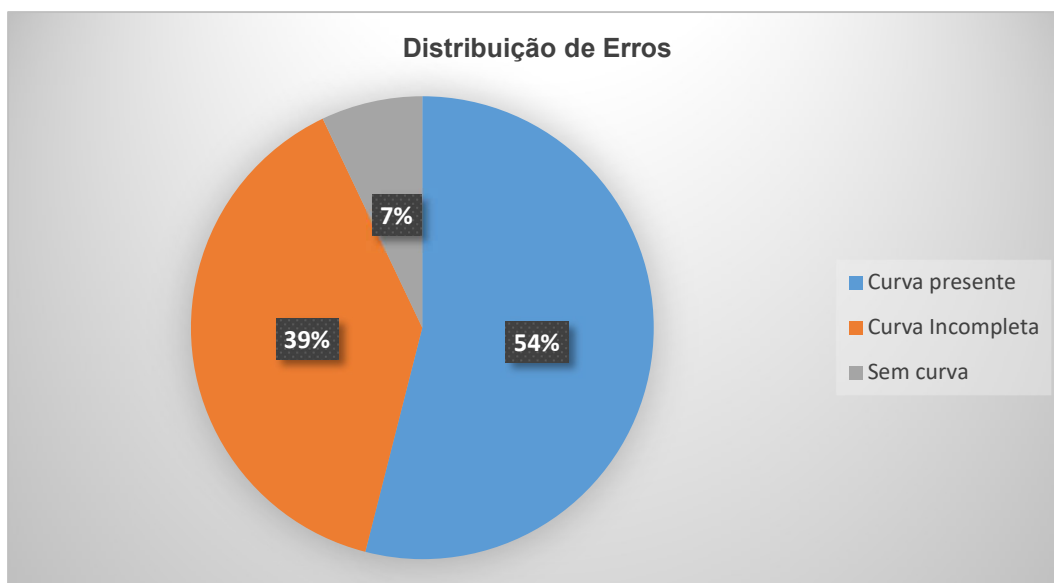


Gráfico 5.4 – Distribuição de erros em função da Curva de Reação

#### 5.5 Erros presentes em resultados indeterminados

Todos os resultados indeterminados têm um erro associado. O erro mais frequente, é o 5076 (Declive da pendente inicial da curva fora do limite), em 252 testes, e presente apenas nos resultados de DD.

Ao todo foram encontrados 18 erros, que estão registrados e descritos na tabela 5-1.

Tabela 5-1- Erros encontrados em curvas de reação de resultados indeterminados

Erros – Curvas de Reação		
(5004) – Erro de Aspiração	(5060) - Delta da curva muito baixo	(5700) - Volume insuficiente de amostra
(5005) - Detecção inesperada de líquido	(5071) – Sem Pico da 1ª Derivada	(5701) -Volume insuficiente de reagente
(5050) - Ponto inicial fora do intervalo	(5072) – Sem Pico da 2ª Derivada	(5771) - Bilirrubina Elevada
(5052) - Desvio da linha de base fora do intervalo	(5074) – Detecção de muitos picos	(5851) - Tubo de amostra cheio incorretamente
5056) - Muitos pontos de dados brutos inválidos	(5076) - Declive da pendente inicial da curva fora do limite	(5760) / (5860) - Obstrução de aspiração.
(5057) - Posição invertida dos pontos Min. e Máx	5058) – Último ponto fora do limite	(5222) - N° de picos excede limite

Os erros encontram-se distribuídos como ilustra o gráfico 5.5.

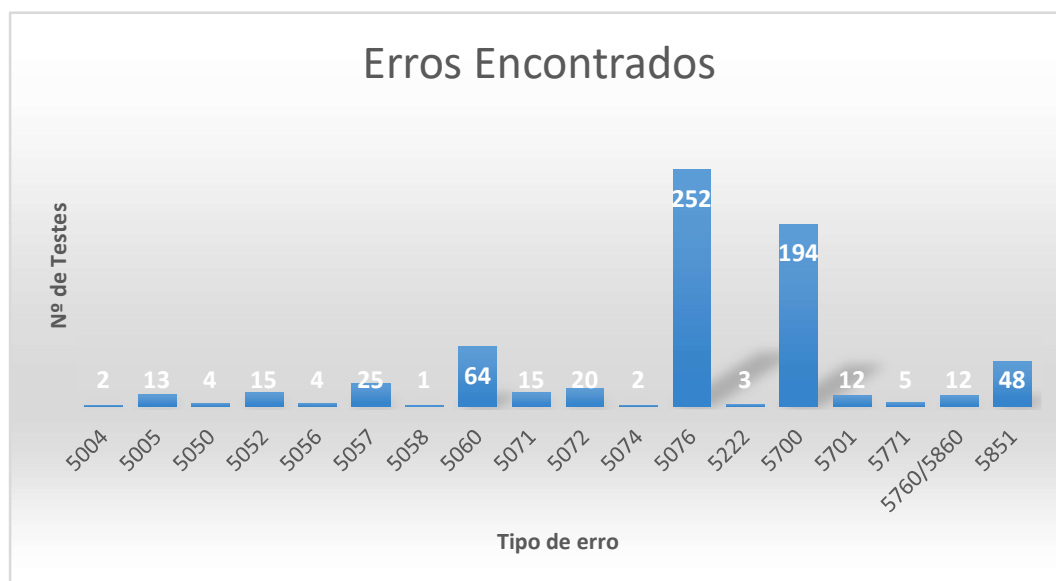


Gráfico 5.5 – Distribuição de erros

## 5.6 Avaliação Qualitativa de Erros

Os erros encontrados apareceram associados resultados sem curva de reação, curvas de reação incompletas. Exceto os erros 5060 e 5760/5860, que surgiram em resultados com curvas incompletas ou ausentes.

### 5.6.1 Distribuição de erros em resultados com Curva de Reação

A maior frequência está associada ao erro 5076, já mencionado, presente em todos os testes de DD (testes), que correspondem a resultados patológicos.

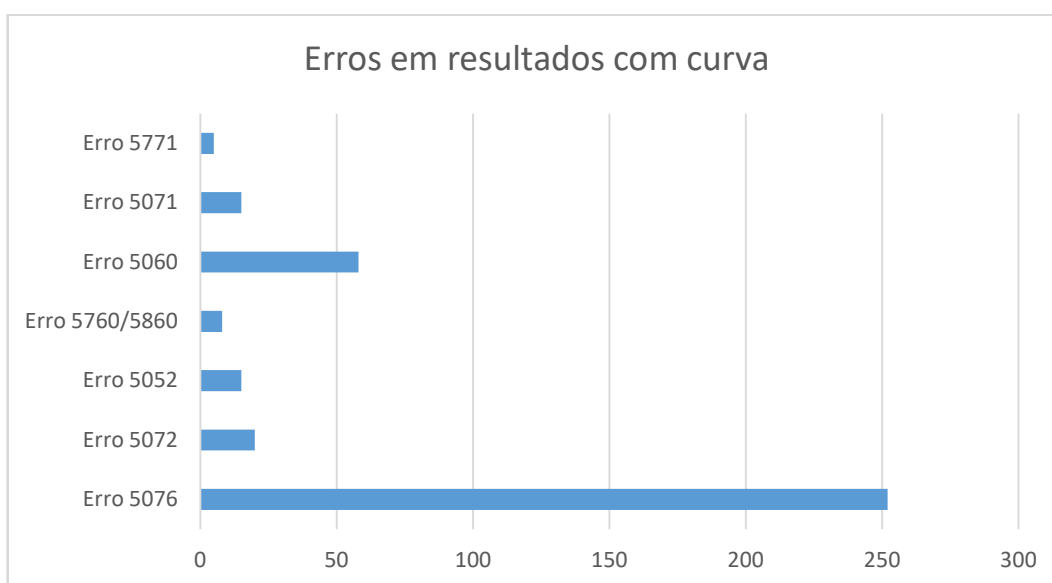


Gráfico 5.6 Erros encontrados em resultados indeterminados com curva de reação

### 5.6.2 Distribuição de erros em resultados indeterminado sem curvas de reação

Os resultados sem curva que apresentam cinco erros, e afetam 49 testes, que corresponde 7,09 % de resultados indeterminados. O erro com maior frequência 5057 está ligado á construção da curva de fibrina.

A distribuição destes erros pode observada no gráfico seguinte, 5.7.

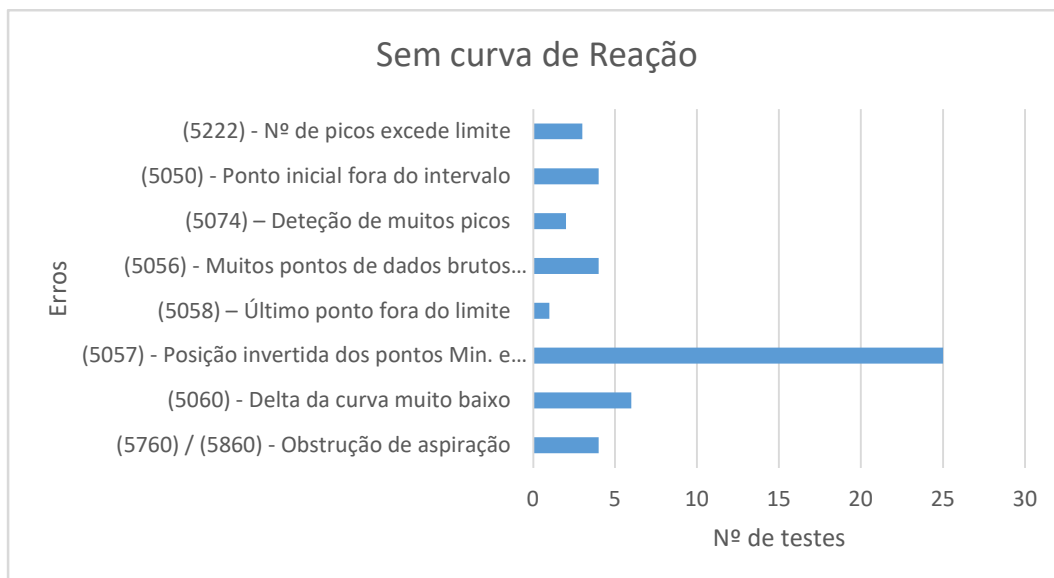


Gráfico 5.7 - Erros em resultados indeterminados

### 5.6.3 Distribuição de erros em resultados indeterminados com curva de reação incompleta

O erro mais comum neste grupo está associado á qualidade da amostra, volume insuficiente, presente em 194 testes, 28,08 % de todos os indeterminados. Os restantes erros estão associados a volume de amostra inadequado, erros de pipetagem e volume insuficiente de reagente, como pode ser visto no gráfico seguinte.

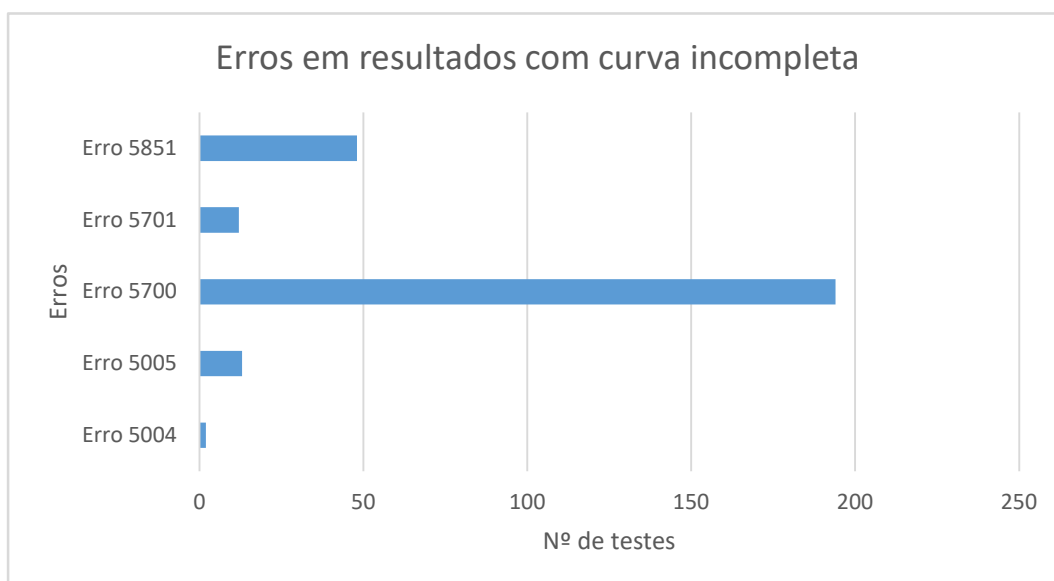


Gráfico 5.8 Distribuição erros em curvas de reação incompleta

#### 5.6.4 Distribuição de erros em resultados coagulimétricos indeterminados, com curva de reação ausente e incompleta

Os erros 5060 e 5760/5860 encontram-se em resultados de indeterminados, com curva de reação presentes, e também em curvas incompletas, como referido anteriormente. Estavam em todos os testes coagulimétricos e em situações relativas a má qualidade da amostra.

O gráfico 5.8 apresenta as diferentes situações, associadas ao erro 5060, em que a sua presença predominante, 40 resultados, se encontra ligada a alterações patológicas da coagulação e/ou terapêutica implementada.

O erro 5760/5860, referente a obstrução durante a pipetagem de amostras, presente 12 resultados, 8 com curva e 5 sem curva, como se pode observar no gráfico 5.9.

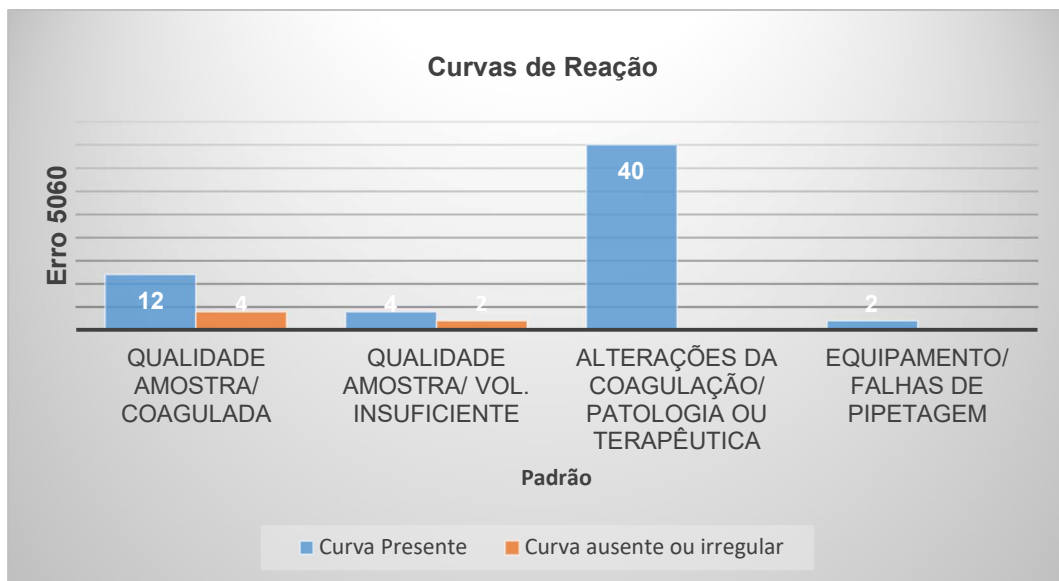


Gráfico 5.9 Padrão do Erro 5060 em curvas de reação

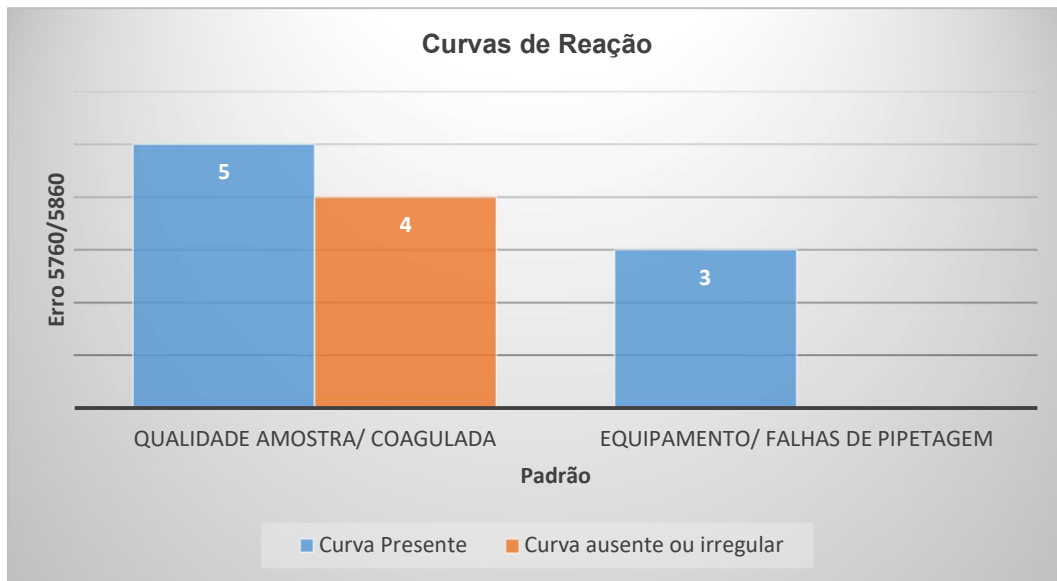


Gráfico 5.10 Padrão de erro 5760/5860

### 5.6.5 Resultados sem curva de reação

#### Erro 5004



Figura 5.7- Resultado Indeterminado por erro de aspiração. Fonte: ULS S. José

### 5.6.5.1 Erro 5005

Measured	Mean	Replicate 1	Replicate 2
Unit 1	FAILED s	FAILED s	
Unit 2	FAILED s	FAILED s	
Unit 3	FAILED Ratio	FAILED Ratio	
Unit 4			

Errors and warnings:

Group	Code	Description
MT	5600	
PW	5774	
HE	5005	Deteção inesperada de líquido
RE	5100	
RE	5100	

Replicate 1 | Replicate 2 | HIL | Tracking Information

Display derivative curves

Falha de resultado, reagente não dispensado

Figura 5.8 -Deteção inesperada de líquido. Fonte: ULS S. José

### Erro 5700

Measured	Mean	Replicate 1	Replicate 2
Unit 1	FAILED s	FAILED s	
Unit 2	FAILED %	FAILED %	
Unit 3	FAILED INR	FAILED INR	
Unit 4			

Errors and warnings:

Group	Code	Description
	5600	
	5774	
	5851	
	5700	
	5100	
	5100	
	5100	

Replicate 1 | Replicate 2 | HIL | Tracking Information

Display derivative curves

Falha de resultado, reagente não dispensado

Figura 5.9 – Resultado Indeterminado por volume de amostra insuficiente. Fonte: ULS S. José

### 5.6.5.2 Erro 5701

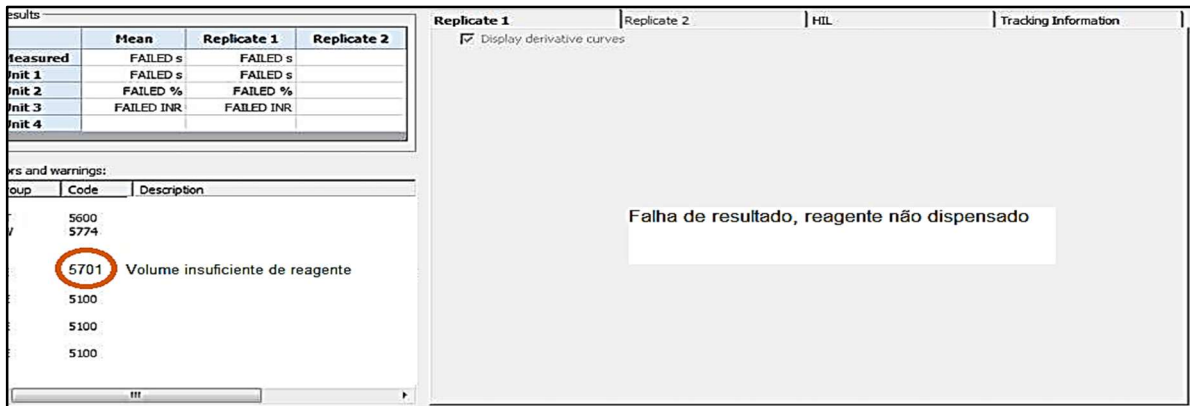


Figura 5.10 – Resultado Indeterminado por volume insuficiente de reagente. Fonte: ULS S. José

### 5.6.5.3 Erro 5851

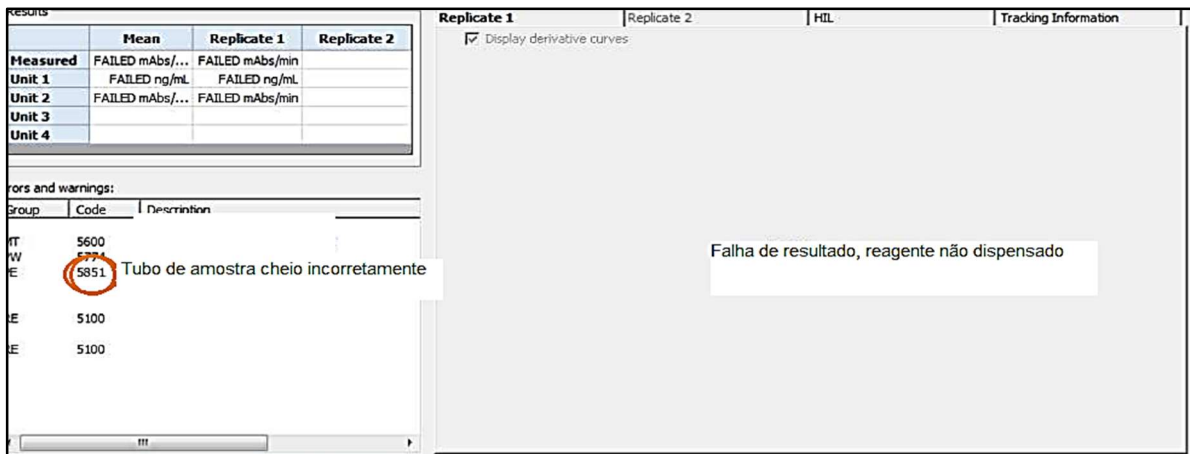


Figura 5.11 – Resultado Indeterminado por volume inadequado de amostra. Fonte: ULS S. José

## 5.6.6 Resultados indeterminados com curva de reação incompleta

### 5.6.6.1 Erro 5050

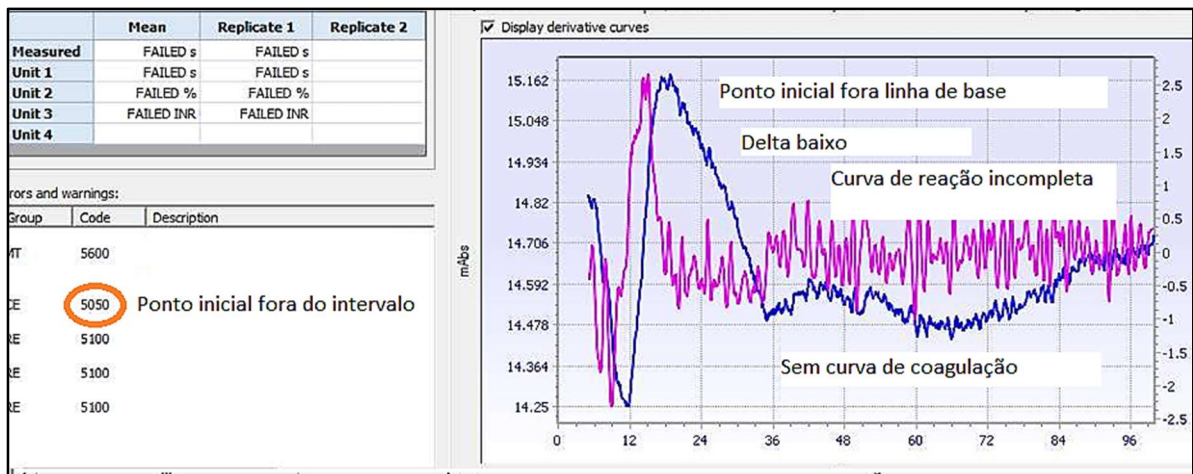


Figura 5.12 – TP Indeterminado com o primeiro ponto fora das especificações da curva. Fonte: ULS S. José

### 5.6.6.2 Erro 5056

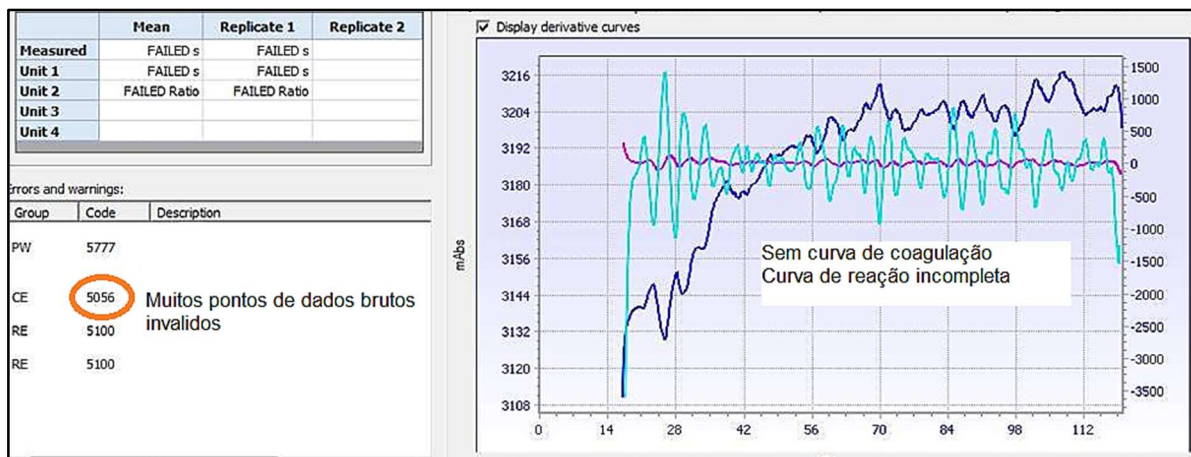


Figura 5.13 – Curva de Reação Incompleta por dados brutos inválidos. Fonte: ULS S. José

### 5.6.6.3 Erro 5057

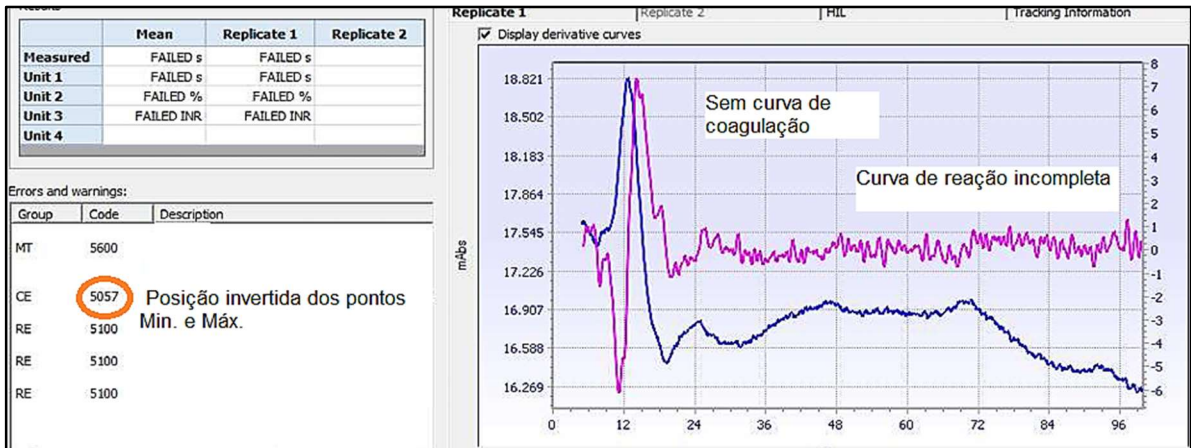


Figura 5.14 – Erro 5057 em TP Indeterminado com Curva de Reação Incompleta. Fonte: ULS S. José

### 5.6.6.4 Erro 5074

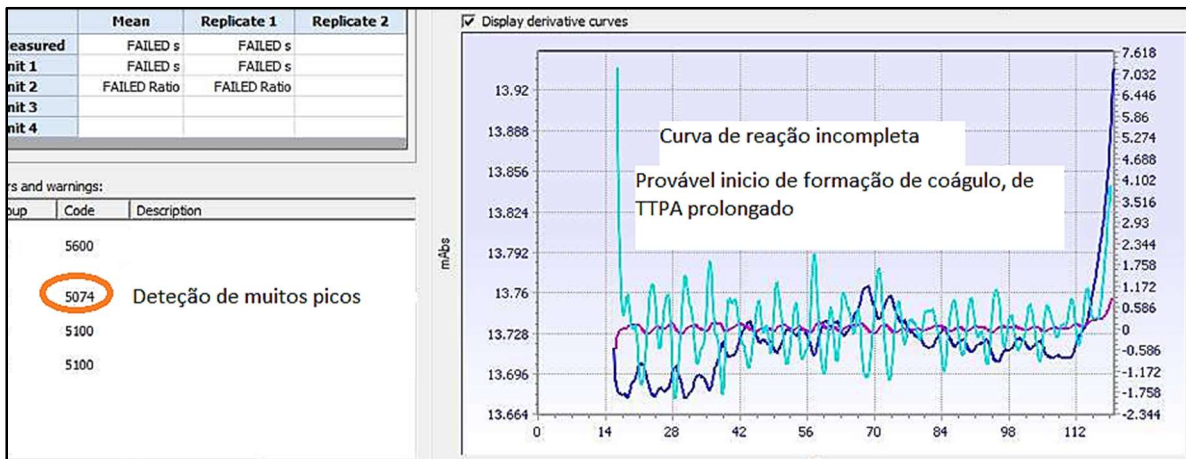


Figura 5.15 – Resultado Indeterminado com Curva Incompleta. Fonte: ULS S. José

### 5.6.6.5 Erro 5058

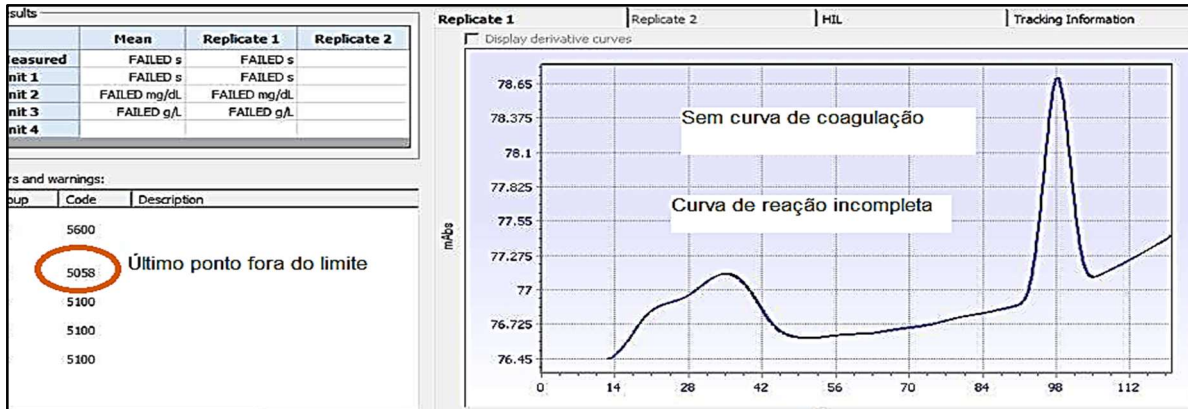


Figura 5.16 – Resultado Indeterminado de Fib- C sem Curva de Coagulação e Curva de Reação Incompleta. Fonte: ULS S. José

### 5.6.6.6 Erro 5222

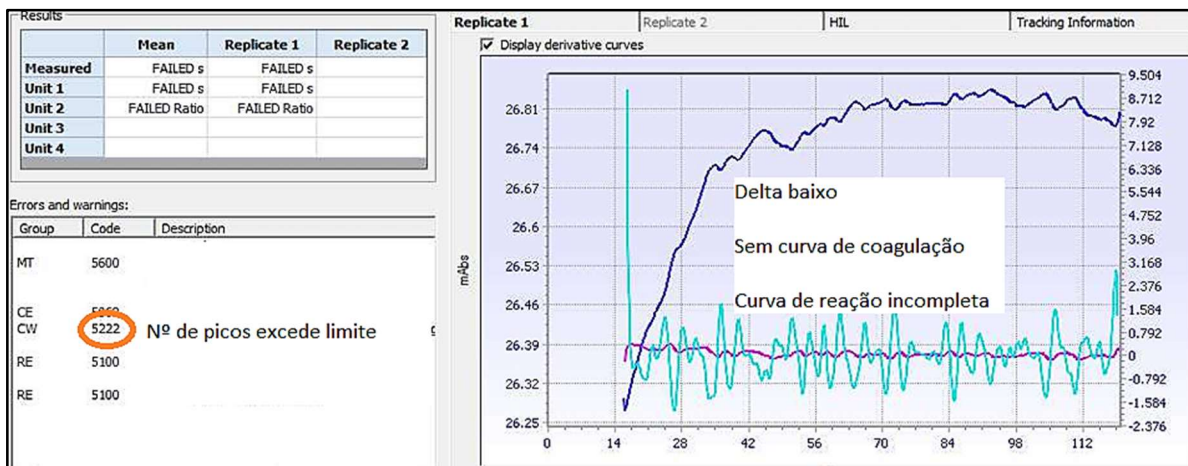


Figura 5.17 – Curva Incompleta com nº de picos eleva. Fonte: ULS S. José

### 5.6.6.7 Erro 5060

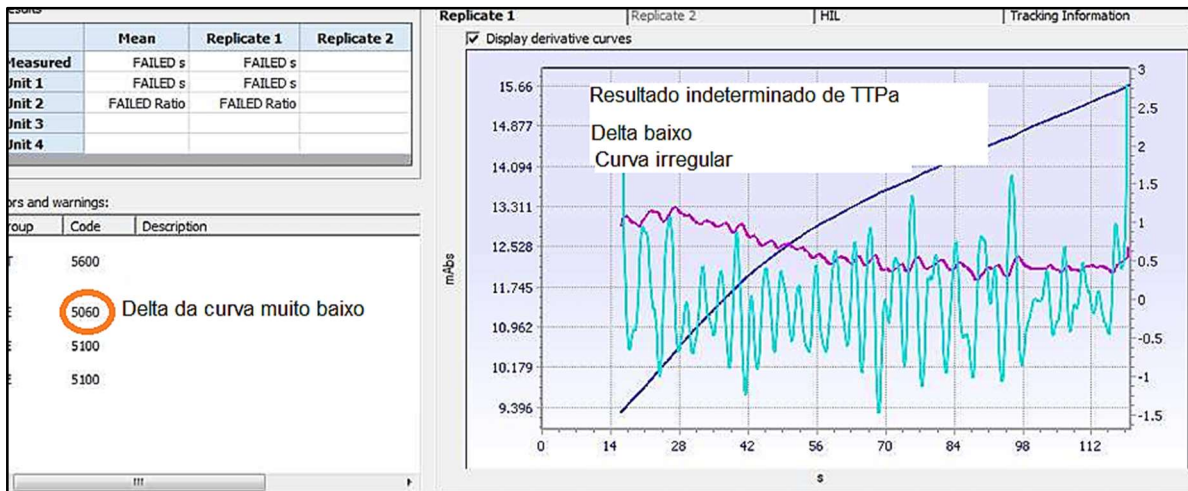


Figura 5.18 – Resultado Indeterminado de TTPa por delta muito baixo, sem alterações das absorvâncias.  
Fonte: ULS S. José

### 5.6.6.8 Erro 5760/5860

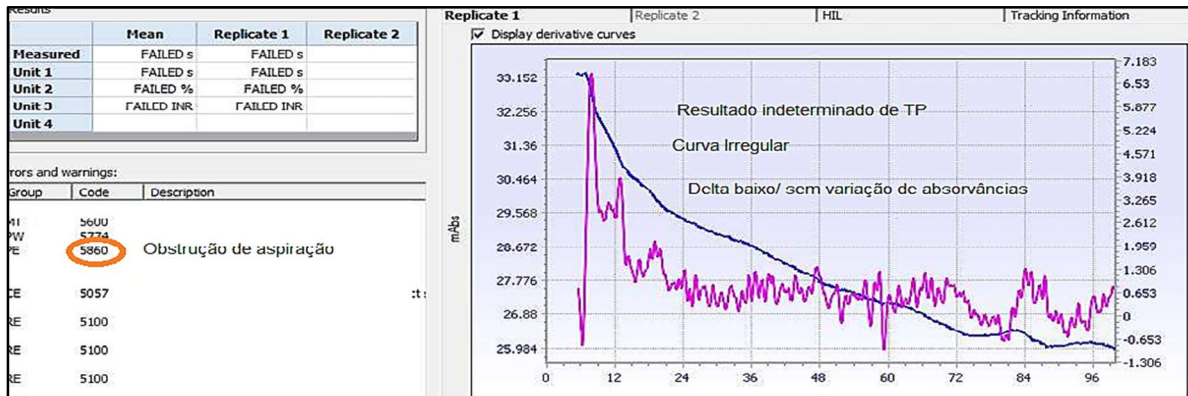


Figura 5.19 Resultado indeterminado de TP com delta muito baixo, por obstrução da aspiração

## 5.6.7 Resultados Indeterminados com curva de reação

### 5.6.7.1 Erro 5076

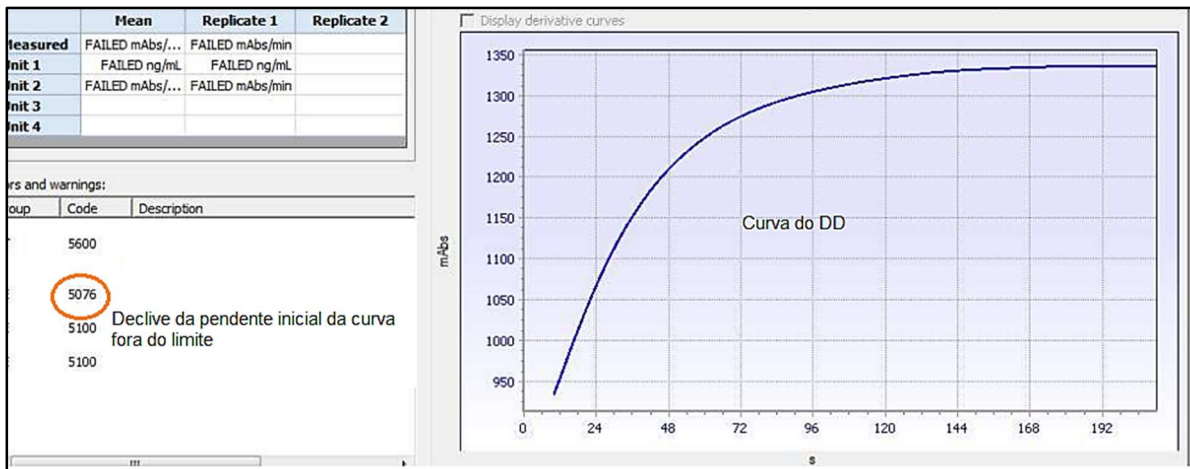


Figura 5.20 – Resultado Indeterminado de DD, por declive da pendente inicial da Curva de Reação fora do limite. Fonte: ULS S. José

### 5.6.7.2 Erro 5072

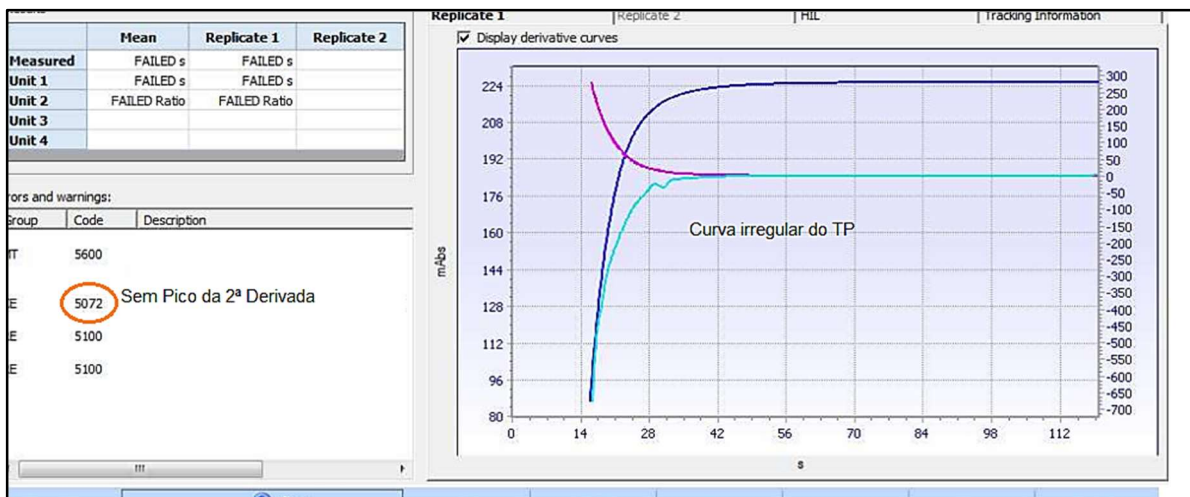


Figura 5.21 – Resultado Indeterminado de TTPa por falta da 2ª derivada na Curva de Reação. Fonte: ULS S. José

### 5.6.7.3 Erro 5052

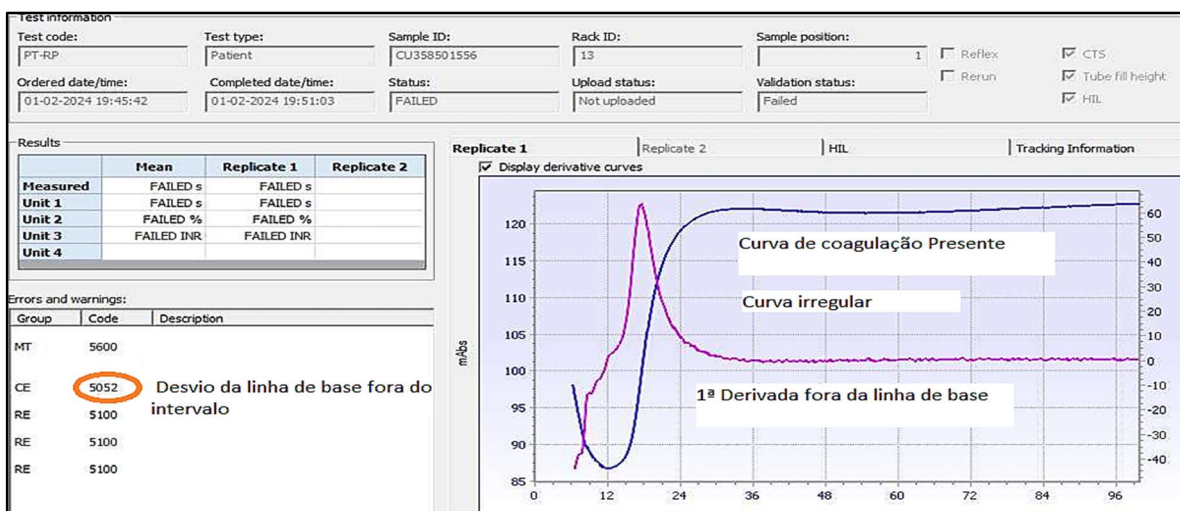


Figura 5.22 – TP com Curva de Reação Irregular, por 1ª derivada fora da linha de base. Fonte: ULS S. José.

### 5.6.7.4 Erro 5060 (I)

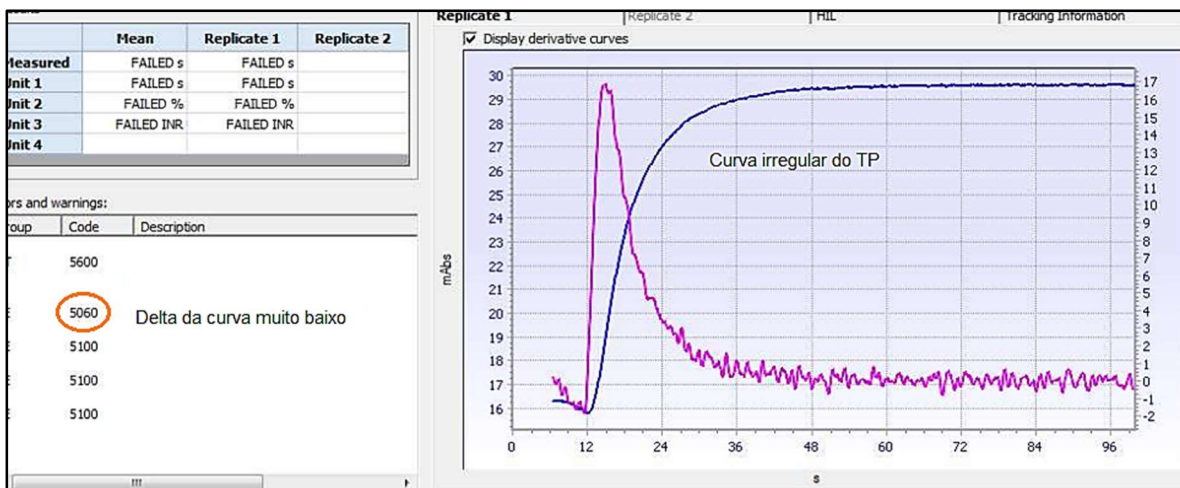


Figura 5.23 – TP Indeterminado; presumivelmente normal com delta muito baixo. Fonte: ULS S. José

### 5.6.7.5 Erro 5060 (II)

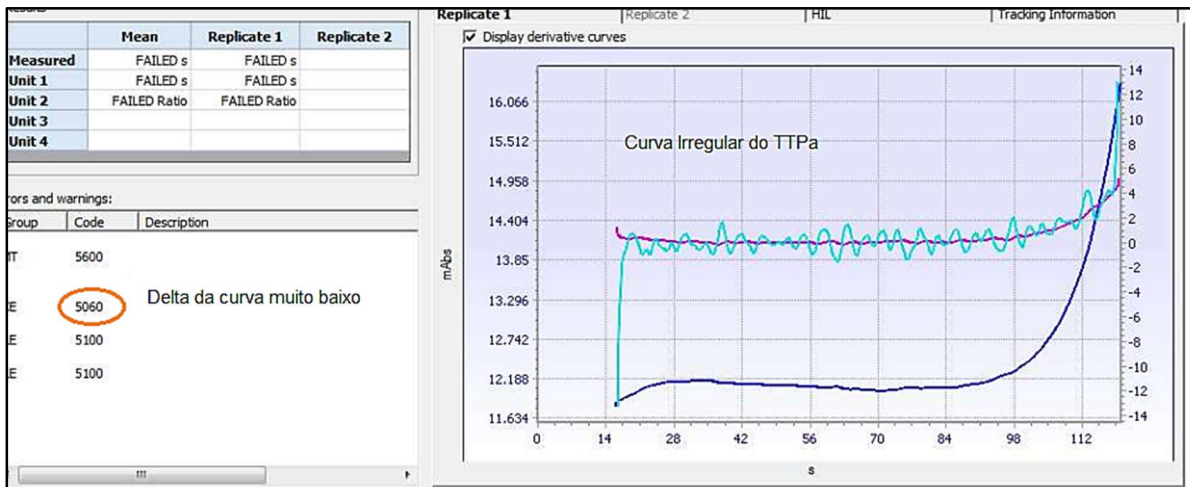


Figura 5.24 – TTPa Indeterminado, aparentemente prolongado e delta muito baixo. Fonte: ULS S. José

### 5.6.7.6 Erro 5071

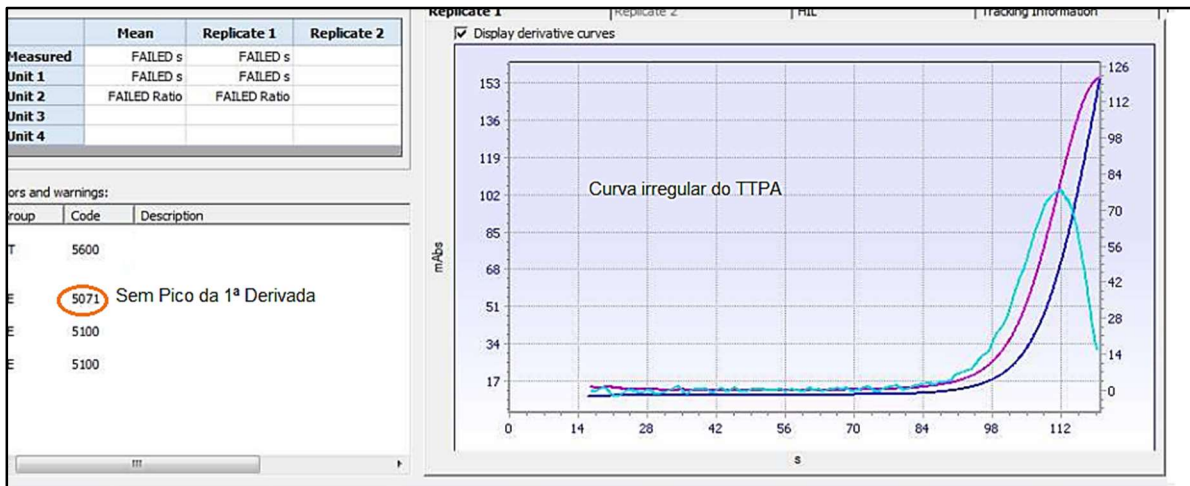


Figura 5.25 – TTPa Indeterminado, possivelmente, sem pico da 1ª derivada. Fonte: ULS S. José

### 5.6.7.7 Erro 5771

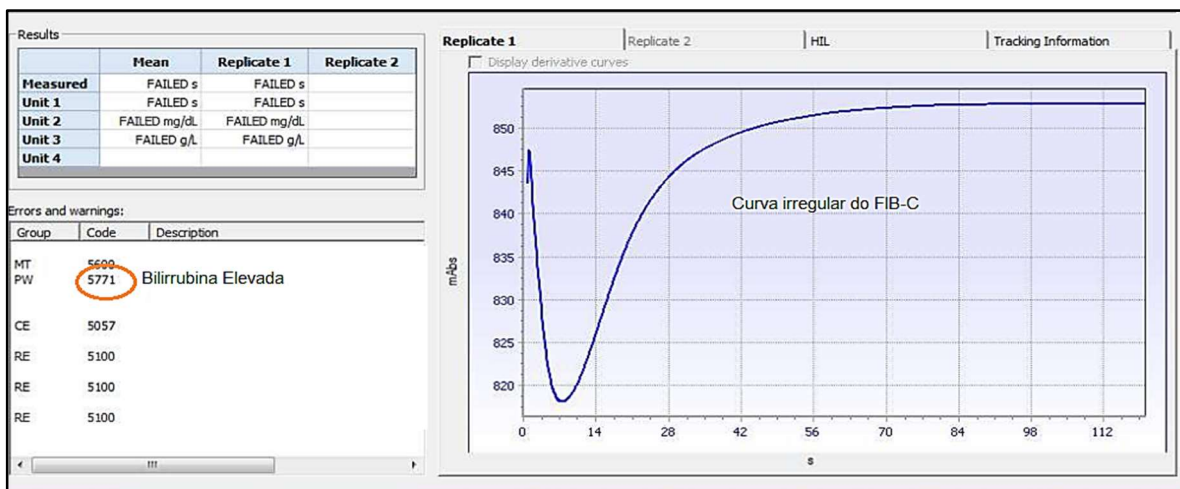


Figura 5.26 – Resultado Indeterminado de Fib- C, por interferência da bilirrubina. Fonte: ULS S. José

### 5.6.7.8 Erro 5760/5860

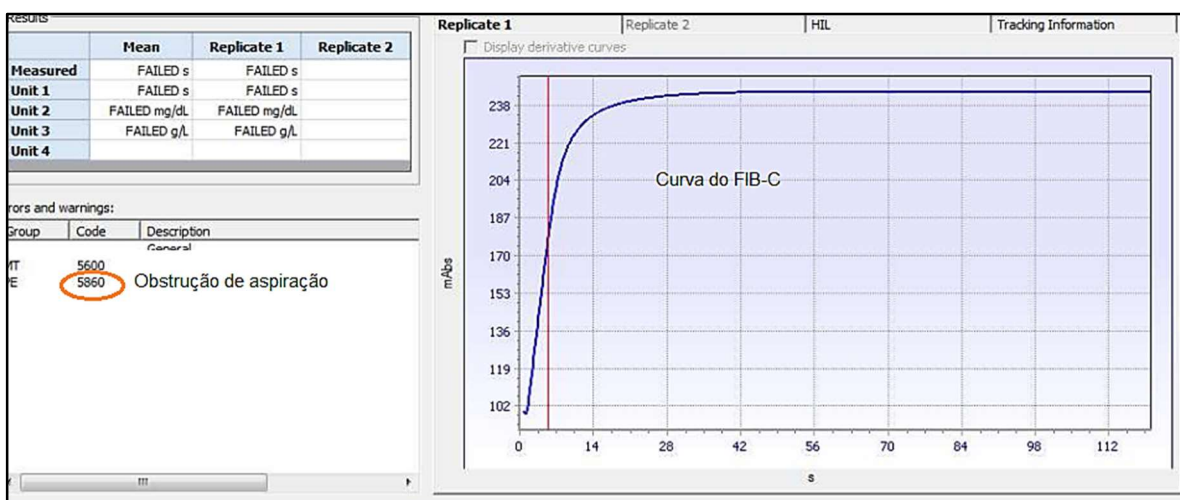


Figura 5.27 – Resultado Indeterminado de Fib-C, por obstrução da aspiração. Fonte: ULS S. José

## 5.7 Ações desenvolvidas na Avaliação de Curvas de Reação

### 5.7.1 Ações automáticas

A Primeira avaliação é efetuada pelo software do coagulómetros ótico, com ativação de testes reflexos para os quatro testes estudados. Neste estudo, as ações automáticas corresponderam a 308 testes, 44,57% dos resultados indeterminados.

Destaca-se que o teste DD, com erro 5076, aciona a diluição automática 1/15 na maioria dos testes.

### 5.7.2 Ações operacionais

A ações operacionais são efetuadas após falha das ações automáticas. São realizadas pelos Técnicos e/ou Patologistas. Durante este estudo foram sinalizados 316 testes indeterminados, que necessitaram de repetição com nova colheita. Outras ações foram desencadeadas no decorrer da avaliação das curvas de reação e podem ser verificadas no gráfico (5.11) seguinte:

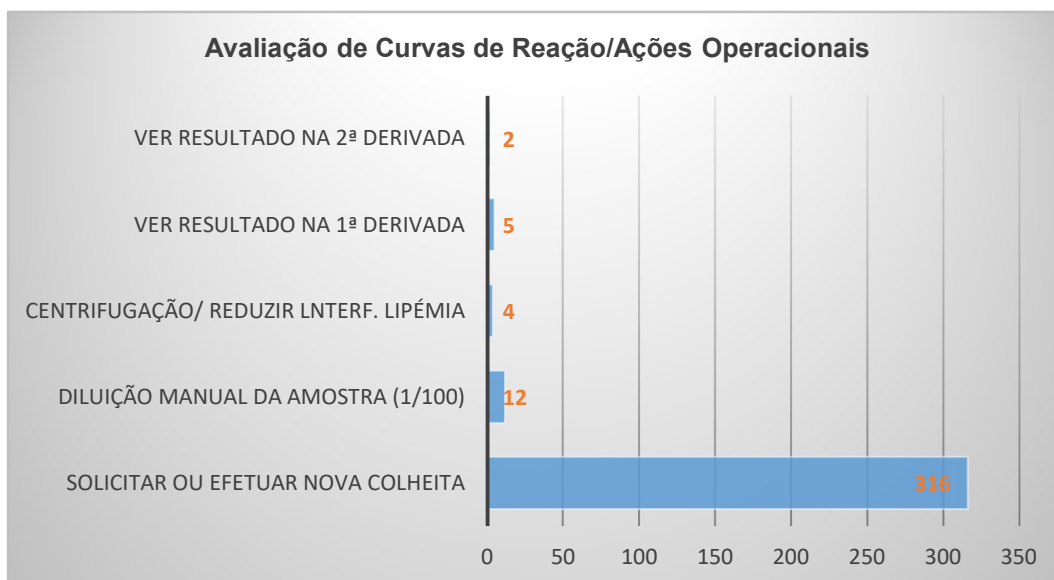


Gráfico 5.11 Distribuição de Ações Operacionais, pós avaliação de curva de reação

## 5.8 Padrões Encontrados

A avaliação das curvas de reação, em resultados indeterminados, permitiu encontrar vários Padrões de acordo a origem que os determinou (gráfico 5.12). Destacam-se dois

padrões. Alterações da coagulação por Patologia e/ou Terapêutica, em 45,88% de testes indeterminados. E um segundo referente a Volume Incorreto de Amostra, presente em 260 testes (37,63%).



Gráfico 5.12 Padrões específicos de curvas de reação, em função da causa

As alterações de coagulação por patologia e/ou terapêutica, 317, apresentam maior frequência entre os padrões específicos, mas quando se juntam os padrões específicos da mesma família para obtenção de padrões gerais destaca-se Qualidade da Amostra, com 325 testes indeterminados

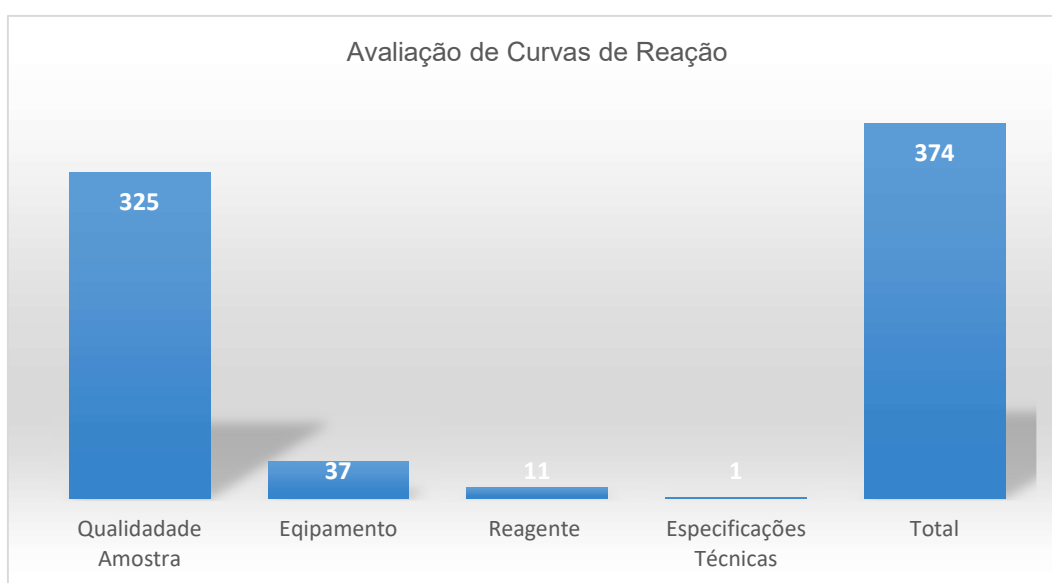


Gráfico 5.13 Resumo da avaliação das curvas de reação

### 6.1 Discussão

A inovação trazida aos coagulómetros óticos, no fim da década de 1990, com a introdução da avaliação das curvas de reação, abriu portas para o conhecimento integral das características “escondidas” de testes de monitorização da coagulação, para além dos tempos de coagulação(49). Inicialmente, apenas o TTPa, de seguida estendeu-se ao TP. E alargou-se a outros testes de triagem, incluindo FIB-C e DD.

O presente trabalho pretende dar resposta à questão: Quais os critérios adequados para utilizar e interpretar as curvas de reação em coagulómetros óticos?

Objetivo geral: Construir manual de utilização e interpretação de curvas de reação, para testes de rotina mais frequentes em coagulómetros de deteção ótica- TP, TTPa, FIB-C e DD.

É neste contexto que se elaborou este trabalho, efetuou-se a determinação TP, TTPa, FIB-C e DD em 30000 amostras citratadas, em coagulómetros óticos ACL TOP® 750 CTS, de acordo com pedidos requeridos pelos Médicos da ULS S. José, durante a atividade regular em Consultas, Internamento e Urgência. Correspondem a um total de 66618 Testes, em que o TP foi o teste mais solicitado clinicamente. Confirmando a tendência habitual, inerente à monitorização de terapêutica anticoagulante oral(30).

As alterações de absorvâncias, quer durante a formação do coágulo de fibrina (TP, FIB-C), quer da formação de Imunocomplexos (DD), foram registadas ao longo do tempo. Este registo é feito automaticamente pelo software do equipamento, que o representou graficamente em curva(50), a curva de reação. Esta curva é a “impressão digital ou assinatura” do teste realizado (46). Naquela amostra, doente, reagentes e equipamento.

As curvas de reação numa primeira fase foram avaliadas pelo software do equipamento em função das características específicas de cada teste, e de qualquer ocorrência que tenha impedido a formação da curva (falta de reagente, amostra, obstrução da pipeta, etc.).

Falhas nos critérios ou especificações geram registo de erros e falha de teste. São testes considerados indeterminados, representam 1% da totalidade dos testes efetuados. Que neste estudo representam 691 testes, em que o maior nº é referente ao DD (37%) e TTPa (31%). Estes resultados refletem, os valores elevados de DD, por Patologias encontradas durante a atividade desenvolvida na ULS S. José, com amostras

provenientes dos serviços de internamento, cuidados intensivos, urgência, consultas de hematologia e centro de referência de coagulopatia, entre outros.

Em relação ao TTPa, é um teste sensível a variáveis pré-analíticas, porque é realizado em dois passos: pré-ativação e posteriormente recalcificação com cloreto de cálcio, sob condições controladas(41).

O equipamento tenta ultrapassar o erro e a indeterminação dos testes, pela ativação de testes reflexos: com tempo prolongado ou estendido (TP e TTPa), diluição automática (DD) e ativação de teste com curva para valores baixos (FIB-C).

Findo o período de correção automática, os resultados que se mantiveram indeterminados passaram a avaliação operacional.

Durante esta fase foi necessário avaliar a curva de reação de acordo com o teste indeterminado e o erro gerado (orienta para origem do problema). Para o TP e TTPa, essa avaliação consiste em ver erros, a existência de curva, as três fases de fibrinoformação, o delta, a velocidade (primeira derivada), aceleração máxima (segunda derivada)(46), a escala de tempo e absorvâncias. No DD requer a presença de mínimo delta e pendente. Para o fibrinogénio observar ponto mínimo, máximo e Delta.

Foram encontrados vários exemplos de Curvas de Reação associados a erros específicos, em situações de presença ou ausência de curvas, embora alguns erros apareçam com ou sem curva, com o mesmo Padrão de avaliação.

Verificou-se em condições em que está comprometida a pipetagem de amostras ou reagentes, por volume insuficiente ou obstrução, não é realizada qualquer reação, e, por conseguinte, não existe nenhum traço gráfico ou curva de reação.

Apesar de representarem apenas 1% dos testes solicitados em 30000 amostras, é possível destacar dois padrões sólidos de resultados indeterminados, de acordo com a causa. Qualidade de amostra, e Alterações da coagulação por patologia ou terapêutica.

Para além da avaliação de situações patológicas e terapêuticas pode ser útil na avaliação de erros pré analíticos(51).

Como foi referido ao longo do trabalho para avaliar uma curva de reação os algoritmos passam por conhecer as características de cada curva de reação, e aplicar o seguinte algoritmo: avaliar erro, curva (relativamente ao padrão normal), verificar amostra, conhecer a informação clínica, e outras situações que possam interferir no resultado.

A frequência de utilização e interpretação das curvas é reduzida, só em resultados indeterminados, que estejam fora das especificações do equipamento, e passa por ver

resultados no pico máximo das derivadas, para TP e TTPa, diluições em resultados fora linearidade de FIB-C, verificar a qualidade da amostra em função do volume (que deve respeitar a diluição de 1:9 entre anticoagulante e sangue), coágulo e rotulagem. Em situações raras eliminar a interferência da lipémia. E em alterações significativas da coagulação, efetuar novos testes que esclareçam ou contribuam para diagnóstico terapêutica mais célere.

As curvas de reação encontradas correspondiam a ausência de curva (por presença de coágulo na amostra, resultado prolongado, anticoagulação ou patologia), presença de curva com delta baixo, coagulo ou fibrinogénio baixo.

## **6.2 6.2 Conclusões**

A construção de um manual de utilização e interpretação de Curvas de reação é possível, organizado por capítulos. Iniciado com apresentação das características das curvas, capítulos por testes a preencher com os exemplos e final com casos raros.

Terá que ser um manual aberto, em construção, porque os exemplos são poucos e por vezes únicos, cada um é uma impressão digital ou assinatura de uma reação.

É uma ferramenta útil por permitir a interpretação célere, sem recursos adicionais, para além do que é permitido pelo coagulómetro ótico e seu software. Portanto, sustentável.

Para além disso, permite decisões de diagnóstico e terapêutica sustentadas na evidência, em situações de urgência ou emergência. E abre caminho para o estudo de anomalias da coagulação por testes de segunda e terceira linha, com base em todo o processo analítico da formação da fibrina, em testes coagulimétricos. Permite avaliação de alterações pré-analíticas dos resultados.

## 7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPETIVAS FUTURAS

---

Apesar do nº elevado de amostras, 30000, o tempo limitado não permitiu a recolha de nº maior de exemplos de padrões de curvas de reação.

O estudo esteve limitado a um modelo de coagulómetros ótico, não se pode aplicar os exemplos recolhidos, algoritmos ou interpretações a outros modelos. Pelo que, se pode avaliar a utilização e interpretação em outros modelos, de outras casas comerciais. E comparar algoritmos.

O uso da avaliação de padrões das curvas de reação através do estudo da onda em coagulopatias conhecidas com recurso à inteligência artificial e Tecnologia de Machine Learning.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

1. Huber AR, Méndez A, Brunner-Agten S. Automation in haemostasis. *Hamostaseologie* [Internet]. 2013 [cited 2024 Jun 9];33(4):295–8. Available from: <http://www.thieme-connect.de/products/ejournals/html/10.5482/HAMO-12-05-0002>
2. Nair SC, Dargaud Y, Chitlur M, Srivastava A. Tests of global haemostasis and their applications in bleeding disorders. *Haemophilia* [Internet]. 2010 Jul [cited 2024 Apr 25];16 Suppl 5(SUPPL. 5):85–92. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20590862/>
3. Hemofilia U pela. Coagulação sanguínea | Unidos pela Hemofilia [Internet]. 2019 [cited 2024 Jun 21]. Available from: <https://www.unidospelahemofilia.pt/o-sangue/coagulacao-sanguinea/>
4. Izaguirre Avila R. Centenario de la doctrina de la coagulación sanguínea. *Arch Cardiol México*. 2005;75 Suppl 3.
5. STAGO. História da Coagulação | Stago [Internet]. [cited 2024 May 3]. Available from: <https://www.stago-br.com/hemostasia/historia-da-coagulacao/>
6. Saito H, Matsushita T, Kojima T. Historical perspective and future direction of coagulation research. *J Thromb Haemost* [Internet]. 2011 [cited 2023 Jun 6];9(1 S):352–63. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1538-7836.2011.04362.x>
7. Song J. Advances in laboratory assessment of thrombosis and hemostasis. *Blood Res* [Internet]. 2022 Apr 30 [cited 2023 Mar 21];57(0):S93–100. Available from: <https://www.bloodresearch.or.kr/journal/view.html?doi=10.5045/br.2022.2022048>
8. Periyah MH, Halim AS, Zaharil A, Saad M. Mechanism Action of Platelets and Crucial Blood Coagulation Pathways in Hemostasis. *Int J Hematol Stem Cell Res IJHOSCR*. 2017;11(4).
9. Pryzdial ELG, Leatherdale A, Conway EM. Coagulation and complement: Key innate defense participants in a seamless web. *Front Immunol*. 2022 Aug 9;13.
10. Smith SA, Travers RJ, Morrissey JH. How it all starts: Initiation of the clotting cascade. *Crit Rev Biochem Mol Biol* [Internet]. 2015 Jul 4 [cited 2024 Jan 21];50(4):326–36. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/10409238.2015.1050550>

11. Antonio Casas, Antonio Casas Moreno, Silvia Amich Oliveras, Concepción Calderón Alva, María Luisa Salve Martínez, Amparo García Garzón, Pilar Herrera Trevilla SPM. Laboratorio de hematología Laboratorio clínico. Interamericana M-H, editor. Madrid; 1994. 382 p.
12. Lippi G, Salvagno GL, Franchini M. Hemostasis. Clin Lab Med Textb [Internet]. 2023 [cited 2024 Apr 25];221–35. Available from: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-031-24958-7\\_17](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-031-24958-7_17)
13. Lippi G, Favaloro EJ. Laboratory hemostasis: from biology to the bench. Clin Chem Lab Med [Internet]. 2018 Jun 27 [cited 2024 Apr 25];56(7):1035–45. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29455188/>
14. Lippi G, Favaloro EJ, Franchini M, Guidi GC. Milestones and perspectives in coagulation and hemostasis. Semin Thromb Hemost. 2009 Feb;35(1):9–22.
15. Riddel JP, Aouizerat BE, Miaskowski C, Lillicrap DP. Theories of blood coagulation. J Pediatr Oncol Nurs. 2007;24(3):123–31.
16. Laffan MA, Manning RA. Investigation of Haemostasis. Dacie Lewis Pract Haematol Twelfth Ed. 2017;366–409.
17. Hrachovinová I. Diagnostic strategies in disorders of hemostasis. Vnitr Lek [Internet]. 2018 [cited 2023 Mar 12];64(5):537–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30193524/>
18. LaPelusa A, Dave HD. Physiology, Hemostasis. StatPearls [Internet]. 2023 May 1 [cited 2024 Jun 13]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545263/>
19. García PY, Andreu MG, Tirapo JB, Herrero EF. Conceptos Básicos De La Hemostasia. Man Util Hemostáticos y Sellantes en Cirugía Exp. 2019;13–6.
20. Sierra C, Moreno M, García-Ruiz JC. The physiology of hemostasis. Blood Coagul Fibrinolysis [Internet]. 2022 Jan 1 [cited 2023 Mar 12];33. Available from: [https://journals.lww.com/bloodcoagulation/Fulltext/2022/01001/The\\_physiology\\_of\\_hemostasis.1.aspx](https://journals.lww.com/bloodcoagulation/Fulltext/2022/01001/The_physiology_of_hemostasis.1.aspx)
21. Pryzdial ELG, Lee FMH, Lin BH, Carter RLR, Tegegn TZ, Belletrutti MJ. Blood coagulation dissected. Transfus Apher Sci [Internet]. 2018 Aug 1 [cited 2024 Jan 21];57(4):449–57. Available from: <http://www.trasci.com/article/S1473050218302817/fulltext>

22. O'Donnell JS, O'Sullivan JM, Preston RJS. Advances in understanding the molecular mechanisms that maintain normal haemostasis. *Br J Haematol* [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2024 Jan 21];186(1):24–36. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/bjh.15872>
23. Al-Amer OM. The role of thrombin in haemostasis. Vol. 33, *Blood Coagulation and Fibrinolysis*. Lippincott Williams and Wilkins; 2022. p. 145–8.
24. RODRIGUES ES, CASTILHO-FERNANDES A, FONTES AM. Novos conceitos sobre a fisiologia da hemostasia doi: <http://dx.doi.org/10.5892/ruvrv.2012.101.218233>. *Rev da Univ Val do Rio Verde* [Internet]. 2012 Jul 24 [cited 2023 Jun 11];10(1):218–33. Available from: <http://periodicos.unincor.br/index.php/revistaunincor/article/view/536>
25. Ferreira CN, Sousa M de O, Dusse LMS, Carvalho M das G. O novo modelo da cascata de coagulação baseado nas superfícies celulares e suas implicações A cell-based model of coagulation and its implications *REVISTA BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA REVISTA BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTER*. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2010;32(5):416–21.
26. Vine AK. Recent advances in haemostasis and thrombosis. *Retina*. 2009;29(1):1–7.
27. Moake JL. Visão geral de hemostasia - Hematologia e oncologia -. *Manuais MSD* [Internet]. 2018; Available from: <https://www.msmanuals.com/pt/profissional/hematologia-e-oncologia/hemostasia/visão-geral-de-hemostasia>
28. Smith SA, Comp PC, Morrissey JH. Phospholipid composition controls thromboplastin sensitivity to individual clotting factors. *J Thromb Haemost* [Internet]. 2006 Apr [cited 2024 May 2];4(4):820–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16634752/>
29. Dorgalaleh A, Favalaro EJ, Bahraini M, Rad F. Standardization of Prothrombin Time/International Normalized Ratio (PT/INR). *Int J Lab Hematol*. 2021;43(1):21–8.
30. Favalaro EJ, Lippi G, Franchini M. Laboratory diagnostics in thrombosis and hemostasis: The past, the present, and the future. *Semin Thromb Hemost*. 2008 Oct;34(7):579–83.

31. O'Connor SD, Taylor AJ, Williams EC, Winter TC. Coagulation concepts update. *AJR Am J Roentgenol* [Internet]. 2009 Dec [cited 2023 Mar 13];193(6):1656–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19933661/>
32. Lippi G, Favaloro EJ. Activated partial thromboplastin time: New tricks for an old dogma. *Semin Thromb Hemost* [Internet]. 2008 Oct [cited 2024 Apr 25];34(7):604–11. Available from: <http://www.thieme-connect.com/products/ejournals/html/10.1055/s-0028-1104539>
33. White GC. The partial thromboplastin time: Defining an era in coagulation. *J Thromb Haemost* [Internet]. 2003 Nov 1 [cited 2024 Jan 25];1(11):2267–70. Available from: <http://www.jthjournal.org/article/S1538783622155017/fulltext>
34. Favaloro EJ, Kershaw G, Mohammed S, Lippi G. How to Optimize Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Testing: Solutions to Establishing and Verifying Normal Reference Intervals and Assessing APTT Reagents for Sensitivity to Heparin, Lupus Anticoagulant, and Clotting Factors. *Semin Thromb Hemost* [Internet]. 2019 [cited 2023 Jun 11];45(1):22–35. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30630206/>
35. Veldman A, Hoffman M, Ehrenforth S. New insights into the coagulation system and implications for new therapeutic options with recombinant factor VIIa. *Curr Med Chem* [Internet]. 2003 Mar 23 [cited 2023 Mar 13];10(10):797–811. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12678684/>
36. Casini A, Neerman-Arbez M, de Moerloose P. Heterogeneity of congenital afibrinogenemia, from epidemiology to clinical consequences and management. *Blood Rev*. 2021 Jul 1;48:100793.
37. Tayal D, Jain P, Goswami B. D-dimer - a multifaceted molecule. *Horm Mol Biol Clin Investig* [Internet]. 2024 [cited 2024 Jun 21]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38716869/>
38. Johnson ED, Schell JC, Rodgers GM. The D-dimer assay. *Am J Hematol* [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2023 Mar 23];94(7):833–9. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ajh.25482>
39. Lippi G, Plebani M, Favaloro EJ. Technological advances in the Hemostasis laboratory. *Semin Thromb Hemost*. 2014 Mar;40(2):178–85.
40. Hemóstase | Stago [Internet]. [cited 2024 Jun 21]. Available from: <https://www.stago.pt/hemostase/o-que-e-a-hemostase/hemostase/>

41. McCraw A, Hillarp A, ECHENAGUCIA M, McCraw A, Dormandy Haemo- K. Considerations in the laboratory assessment of haemostasis. *Haemophilia* [Internet]. 2010 Jul [cited 2024 Apr 25];16(SUPPL. 5):74–8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2516.2010.02302.x>
42. Lippi G, Cadamuro J, Danese E, Gelati M, Montagnana M, Von Meyer A, et al. Internal quality assurance of HIL indices on Roche Cobas c702. *PLoS One* [Internet]. 2018 Jul 1 [cited 2024 May 4];13(7). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29979722/>
43. Leong L, Jiang X, Cifrese J, Murphy JE, Haaning J, Myles T. Waveform Analysis Extends the Capabilities of aPTT and PT Clotting Assays for Detecting Factor Deficiency and Monitoring Procoagulant Drug Therapy. *Blood*. 2011 Nov 18;118(21):1205.
44. Sevenet PO, Depasse F. Clot waveform analysis: Where do we stand in 2017? *Int J Lab Hematol*. 2017 Dec 1;39(6):561–8.
45. Marongiu F, Ruberto MF, Marongiu S, Barcellona D. Clot Waveform Analysis: From Hypercoagulability to Hypocoagulability – A Review. *Arch Pathol Lab Med* [Internet]. 2024 Feb 20 [cited 2024 Apr 25]; Available from: <https://dx.doi.org/10.5858/arpa.2023-0453-RA>
46. Iberahim S, Muhamat Yusoff R, Mohd Noor NH, Hassan R, Ramli NN, Bahar R, et al. Coagulation Status Using Clot Wave Analysis in Patients With Prolonged Immobilization. *Cureus* [Internet]. 2024 Jan 2 [cited 2024 Apr 25];16(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38304638/>
47. Ichikawa J, Okazaki R, Fukuda T, Ono T, Ishikawa M, Komori M. Evaluation of coagulation status using clot waveform analysis in general ward patients with COVID-19. *J Thromb Thrombolysis* [Internet]. 2022 Jan 1 [cited 2023 Jun 8];53(1):118–22. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11239-021-02499-z>
48. Katayama H, Matsumoto T, Wada H, Fujimoto N, Toyoda J, Abe Y, et al. An Evaluation of Hemostatic Abnormalities in Patients With Hemophilia According to the Activated Partial Thromboplastin Time Waveform. *Clin Appl Thromb* [Internet]. 2018 Oct 1 [cited 2024 May 2];24(7):1170. Available from: [/pmc/articles/PMC6714760/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31111111/)
49. Marongiu F, Marco Ntoukas D, Barberini L, Ruberto MF, Piras MS, Conti M, et al. Clot characterization by multidisciplinary approach: Biochemical and imaging

- parameters in a hypocoagulative setting. A pilot study. *J Public health Res* [Internet]. 2021 Oct 26 [cited 2024 May 4];10(4). Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/10.4081/jphr.2021.2358>
50. Kanouchi K, Narimatsu H, Shirata T, Morikane K. Diagnostic analysis of lupus anticoagulant using clot waveform analysis in activated partial thromboplastin time prolonged cases: A retrospective analysis. *Heal Sci Reports* [Internet]. 2021 Jun 1 [cited 2024 Apr 25];4(2):e258. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/hsr2.258>
51. Phatale R; Kannan S; Apte S. APTT Clot Waveform Analysis: A Tool in Prediction of Pre-Analytical Errors in Short APTT- Retrospective Analysis. In: *ISTH 2020 Congress: Diagnostics and OMICs » Laboratory Diagnostics*.



## II- Parecer da Comissão de Ética para a Saúde (CHULC)



### COMISSÃO DE ÉTICA PARA A SAÚDE

#### Parecer

**Data:** 20-12-2023

**Processo n.º** 1469/2023

**Título:** “CURVAS DE REACÇÃO EM COAGULÓMETROS DE DETECÇÃO ÓPTICA: CONSTRUÇÃO DE MANUAL DE UTILIZAÇÃO E INTERPRETAÇÃO”

**Relator:** João Alves, Dr.

1. É um estudo observacional, descritivo, cujo objectivo principal consiste na construção de um manual de utilização e interpretação de curvas de reacção em resultados indeterminados dos testes de coagulação mais frequentes (Tempo de Protrombina, Tempo de Tromboplastina Parcial activada, Fibrinogénio e D-Dímero).
2. É um estudo de iniciativa dos investigadores, no âmbito de mestrado em Tecnologias Clínico-Laboratoriais pelo IPL. O investigador principal é a TSDT Anabela Pereira Gomes, do serviço de Patologia Clínica.
3. Serão estudadas 30.000 amostras de plasma, colhidas durante a actividade regular do CHULC, em Consulta Externa, Urgência e Internamento, testadas no HSJ, para os 4 testes de coagulação mais frequentes, ao longo de 3 meses.
4. Serão colhidos dados do método analítico de resultados indeterminados dos testes referidos, incidindo na frequência de utilização e interpretação de curvas de reacção, nos padrões mais frequentes de curvas de reacção e em algoritmos, erros e interpretações das curvas de reacção encontradas. O estudo é exclusivamente metodológico, não recolhendo nem analisando dados clínicos do doente ou da sua identificação. Os dados recolhidos são anonimizados no acto de integração dos testes solicitados pelo médico. O responsável pelo tratamento dos dados será o Investigador Principal.
5. Não estão previstas quaisquer despesas para a instituição.
6. É solicitada dispensa de obtenção de consentimento informado, atendendo ao facto de se tratar de um estudo exclusivamente metodológico que não recorre a análise de dados do doente ou identificação do mesmo. As amostras e resultados são solicitados no decorrer da actividade normal do CHULC, por pedido médico e consentimento habitual dos doentes.
7. Foi obtido parecer favorável do Responsável da Especialidade de Patologia Clínica.
8. O estudo em análise não levanta questões do ponto de vista ético, pelo que esta Comissão entende emitir parecer favorável à sua realização.

O Presidente da Comissão de Ética

(João Alves)

## II - Parecer do conselho de Ética (ESTeSL)

20/06/24, 01:32

IPLNet WebMail 2023 (DSIC) :: CE-ESTeSL-Nº 66-2023- "Anabela Pereira Gomes"

### CE-ESTeSL-Nº 66-2023- "Anabela Pereira Gomes"

 **From** Comissão de Ética <conselhodeetica@estesl.ipl.pt>  
**To** Anabela Gomes <2022080@alunos.estesl.ipl.pt>, Edna Soraia Gregório Ribeiro <edna.ribeiro@estesl.ipl.pt>  
**Cc** Mestrados <mestrados@estesl.ipl.pt>  
**Date** 2024-02-07 17:45



#### REFERÊNCIA INTERNA DO PROJETO: CE-ESTeSL-Nº 66-2023- "Anabela Pereira Gomes"

**TÍTULO DO PROJETO:** CURVAS DE REAÇÃO EM COAGULÓMETROS DE DETEÇÃO ÓTICA:

CONSTRUÇÃO DE MANUAL DE UTILIZAÇÃO E INTERPRETAÇÃO

**TIPO de Projeto/Estudo:** Dissertação mestrado (Tecnologias Clínico Laboratoriais)

**INVESTIGADOR:** Anabela Pereira Gomes

**ORIENTADOR(ES):** Edna Ribeiro; M. Cristina Lopes (CHULC)

**EQUIPA:** Anabela Pereira Gomes, Edna Ribeiro, JM. Cristina Lopes

**INSTITUIÇÃO PROMOTORA:** ESTeSL-IPL

**INSTITUIÇÃO(ÕES) ENVOLVIDA(S):** ESTeSL-IPL; CHULC

**SUBMISSÃO do PROJETO:** 1 de novembro de 2023

**RESPOSTA CE-ESTeSL:** 27 novembro de 2023

**REPOSTA:** 28 janeiro de 2024

Exma. Senhora Professora Dra. Edna Ribeiro

Exma. Senhora Dra. Anabela Pereira Gomes, estudante de mestrado

Após os esclarecimentos, a Comissão de Ética da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa (CE-ESTeSL) aprovou por unanimidade a emissão de parecer favorável.

O presente parecer tem em consideração a versão submetida do projeto e demais documentação enviada. Eventuais alterações nestes documentos determinam a necessidade de revisão do presente parecer.

Lembramos que todos os estudos que envolvem a autorização dos participantes e a recolha de amostras e dados anonimizados e/ou codificados têm de cumprir com o estabelecido no Regulamento Geral sobre a Proteção de Dados de 27 de abril de 2016.

Por último, solicita-se que, ao abrigo do artº 19 da Lei 21/2014 de 16 de abril e do disposto no nº 23 da atual versão da Declaração de Helsínquia, seja dado conhecimento à CE-ESTeSL do relatório final, com as conclusões do estudo, bem como de eventuais alterações ao protocolo de investigação e demais informações tidas por relevantes.

Aproveitamos ainda para desejar o maior sucesso no desenvolvimento deste trabalho.

Com os melhores cumprimentos,

Rute Borrego

Rute Borrego | Professora Adjunta  
Presidente da Comissão de Ética

Av. D. João II, lote 4.69.01- Parque das Nações  
1990-096 Lisboa | Portugal  
conselhodeetica@estesl.ipl.pt  
+351 218990488 (ext. 674)





## I - Cronograma

<b>Atividades</b>	Set 2023	Out 2023	Nov 2023	Dez 2023	Jan 2024	Fev 2024	Mar 2024	Abr 2024	Mai 2025	Jun 2025
Revisão bibliográfica	X	X	X							
Colheita de dados				X	X	X				
Tratamento estatístico							X	X		
Redação da tese							X	X	X	
Revisão da Tese										X
Entrega										X



### III - Tabela de Frequências dos Testes Realizados em 30000 Amostras

Testes	F	Fr
TP	29985	45,01%
TTPa	28668	43,03%
FIB-C	5045	7,57%
DD	2920	4,38%
Total	66618	100,00%

### IV - Tabela de Frequências de Testes Indeterminados

10.1 Teste	10.2 N° Testes indeterminados
10.3 TP	10.4 173
10.5 TTPa	10.6 218
10.7 FIB-C	10.8 47
10.9 DD	10.10 253
10.11 TOTAL	10.12 691

### V- Tabela de distribuição de Frequências Testes/ Amostra

Total Amostras	Amostra/ R. Indeterminados	FR(A. Indeterminadas)
30000	453	1,51%

Total Testes regulares	Total Testes Indeterminados	FR (R. Indeterminados)
66618	691	1,04%

## VI -Tabela de Frequências de Erro

Erros encontrados	Total
5004	2
5005	12
5050	4
5052	15
5056	4
5057	25
5058	1
5060	64
5071	14
5072	20
5074	2
5076	215
5222	3
5224	1
5500	12
5502	8
5505	18
5700	194
5701	12
5771	5
5760/5860	12
5851	48
Total	691

## VII - Distribuição de Erros em Resultados Indeterminados/ Curva Ausente

(5700) - Volume insuficiente de amostra
Erro 5700
194

FR

28,08%

(5760) / (5860) - Obstrução de aspiração
Erro (5760) / (5860)
4

0,58%

(5060) - Delta da curva muito baixo
Erro 5060
6

0,87%

(5057) - Posição invertida dos pontos Min. e Máx.
Erro 5057
25

3,62%

(5058) – Último ponto fora do limite
Erro 5058
1

0,14%

(5701) -Volume insuficiente de reagente
Erro 5701
12

1,74%

(5005) - Detecção inesperada de líquido
Erro 5005
13

1,88%

(5004) – Erro de Aspiração
Erro 5004
2

0,29%

(5851) - Tubo de amostra cheio incorretamente
Erro 5851
48

100,00%

(5056) - Muitos pontos de dados brutos invalidos
Erro 5056
4

0,58%

(5074) – Detecção de muitos picos
Erro 5074
2

0,29%

(5050) - Ponto inicial fora do intervalo
Erro 5050
4

0,58%

(5222) - Nº de picos excede limite
Erro 5222
3

0,43%

Total

318

### VIII - Distribuição de Erros em Resultados Indeterminados/ Curva Presente

(5076) - Declive da pendente inicial da curva fora do limite
Erro 5076
252

FR

36,47%

(5072) – Sem Pico da 2ª Derivada	
Erro 5072	
	20

(5052) - Desvio da linha de base fora do intervalo	
Erro 5052	
	15

2,89%

(5760) / (5860) - Obstrução de aspiração	
Erro 5760/5860	
	8

2,17%

(5060) - Delta da curva muito baixo	
Erro 5060	
	58

1,16%

(5071) – Sem Pico da 1ª Derivada	
Erro 5071	
	15

8,39%

(5771) - Bilirrubina Elevada	
Erro 5771	
	5

2,17%

Total	
	372

### IX - Caracterização do erro 5060

Erro 5060	Curva Presente	Curva ausente ou irregular
Qualidade Amostra/ Coagulada	12	4
Qualidade Amostra/ Vol. Insuficiente	4	2
Alterações da coagulação/ Patologia ou Terapêutica	40	
Equipamento/ Falhas de pipetagem	2	
	58	6

### X - Caracterização dos erros 5760/5860

Erro (5760) / (5860)	Curva Presente	Curva ausente ou irregular
Qualidade Amostra/ Coagulada	5	4
Equipamento/ Falhas de pipetagem	3	

### XI - Padrões Específicos de Curvas de Reação

Qualidade Amostra/ Vol. Insuficiente	
	260
Qualidade Amostra/ Vol. Insuficiente	
	37,63%

Alterações da coagulação/ Patologia ou Terapêutica	
	317
Alterações da coagulação/ Patologia ou Terapêutica	
	45,88%

Equipamento/ Falhas de pipetagem	
	36
Equipamento/ Falhas de pipetagem	
	5,21%

Qualidade Amostra/ Coagulada	
	56
Qualidade Amostra/ Coagulada	
	8,10%
Qualidade Amostra/ Ictérica	
	2

Qualidade Amostra/ Ictérica	
	0,29%

Equipamento/ Obstrução de pipeta	
	1
Equipamento/ Obstrução de pipeta	
	0,14%

Reagente/ Insuficiente	
	10
Reagente/ Insuficiente	
	1,45%

Qualidade Amostra/ Lipémica	
	6
Qualidade Amostra/ Lipémica	
	0,87%

Qualidade Amostra/ Hemolisada	
	1
Qualidade Amostra/ Hemolisada	
	0,14%

Reagente/ preparação ou reconstituição	
	1
Reagente/ preparação ou reconstituição	
	0,14%

Curva irregular/ fora das especificações	
	1
Curva irregular/ fora das especificações	
	0,14%

691

100,00%

## XI - Padrões Gerais de Curvas de Reação

Qualidade Amostra	
	325
	47,03%

Equipamento	
	37
	5,35%

Reagente	
	11
	1,59%

Especificações Técnicas	
	1
	0,14%

Total	
	374
	54,12%

## XII - Avaliação das curvas de Reação/ Ações Operacionais

Solicitar ou efetuar nova colheita	
	316
	45,73%

Diluição manual da amostra (1/100)	
	12
DD dil	
	4,74%

Centrifugação/ reduzir Interf. Lipémia	
	4
Redução Interferência Lípémica	

66,67%

Ver resultado na 1ª derivada
5
2,89%

Ver resultado na 2ª derivada
2
0,92%

Total

339

### **XIII - Avaliação das curvas de Reação/ Ações Automáticas**

Ações Automáticas
308
44,57%