



Fibrinógeno

Reactivo para la determinación de fibrinógeno plasmático

SIGNIFICACION CLINICA

El fibrinógeno es una glicoproteína que se halla presente en el plasma y en los gránulos plaquetarios α . Es el factor de la coagulación que se encuentra en mayor concentración plasmática (200-500 mg/dl).

Cuando se produce un trauma o injuria vascular, la trombina formada escinde al fibrinógeno convirtiéndolo en monómeros de fibrina que polimerizan espontáneamente y luego son estabilizados dando lugar a la malla insoluble de fibrina.

Niveles bajos de fibrinógeno pueden encontrarse en desórdenes hereditarios tales como hipofibrinogenemia, afibrinogenemia, disfibrinogenemia, y también en otras circunstancias como enfermedad hepática, coagulación intravascular diseminada, síndromes fibrinolíticos, etc.

Niveles elevados pueden encontrarse en diabetes, enfermedad inflamatoria, etc.

Actualmente se ha reconocido que niveles altos de fibrinógeno aumentan el riesgo a padecer enfermedad cardiovascular.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El ensayo se basa en el método de Clauss, designado como procedimiento de referencia por el NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards).

Cuando un exceso de trombina se adiciona a un plasma diluido, el tiempo de coagulación es inversamente proporcional a la concentración de fibrinógeno plasmático. El tiempo de coagulación obtenido se compara posteriormente con una preparación de fibrinógeno estandarizada.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: viales conteniendo trombina liofilizada. Una vez reconstituida equivale aproximadamente a 100 Unidades NIH de trombina/ml.

B. Reactivo B: solución de imidazol 0,05 M, pH 7,3.

Calibrador: vial conteniendo plasma liofilizado. Ver el valor de fibrinógeno asignado en el rótulo.

REACTIVO NO PROVISTO

Agua bidestilada o desionizada.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A y Calibrador: quitar el precinto metálico y abrir el vial retirando lentamente el tapón de goma para evitar pérdidas del material. Agregar el volumen de agua bidestilada o desionizada indicado en el rótulo. Tapar, dejar reposar 30 minutos y luego mezclar suavemente (sin agitar) hasta obtener disolución completa antes de su uso. Fechar. Se recomienda mantener el Reactivo A en el frasco original luego de su reconstitución y durante su uso.

Reactivo B: listo para usar. Evitar su contaminación. Mantener en su frasco original bien cerrado.

PRECAUCIONES

Los Reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Este producto ha sido preparado a partir de plasmas humanos, los cuales han sido ensayados utilizando los métodos bajo licencia de la FDA. No se ha encontrado reactividad para HBsAg, HCV y HIV. Pero dado que ningún método de ensayo puede asegurar la ausencia absoluta de agentes infecciosos, los plasmas referencia, controles y muestras de pacientes deben manejarse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Reactivo A reconstituido: estable 5 días refrigerada (2-10°C) o 30 días congelada (-20°C). Para descongelarlo, hacerlo rápidamente a 37°C. No volver a congelar. Llevar a temperatura ambiente el reactivo antes de volver a usarlo. Evitar calentamientos prolongados.

Calibrador reconstituido: estable durante 8 horas refrigerado (2-10°C).

MUESTRA

Plasma

a) Recolección: obtener sangre cuidadosamente, evitando estasis o espuma, y colocarla en un tubo con anticoagulante en proporción 9 + 1 (ejemplo: 4,5 ml de sangre + 0,5 ml de anticoagulante). Mezclar suavemente. Centrifugar y separar el plasma antes de los 30 minutos. La extracción se debe efectuar con jeringas plásticas.

b) Aditivos: para obtener el plasma puede emplearse **Anticoagulante TP** de Wiener lab. o citrato de sodio 3,8% o 3,2%. No debe emplearse EDTA o heparina.

c) Sustancias interferentes conocidas:

- Las muestras ictericas, lipémicas o hemolizadas pueden dar resultados erróneos.

- Niveles elevados de productos de degradación de fibrinógeno o fibrina pueden alargar los tiempos de coagulación especialmente cuando los niveles de fibrinógeno son menores a 150 mg/dl.

- Niveles terapéuticos de heparina no interfieren con el en-

sayo, pero niveles elevados pueden conducir a resultados falsamente disminuidos.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe conservarse hasta el momento de su análisis en tubos plásticos para minimizar el efecto de activación por contacto que puede ocurrir con los tubos de vidrio. El plasma debe mantenerse en refrigerador (2-10°C) hasta el momento de efectuarse la prueba. Este período no debe prolongarse más de 4 horas. En caso de no poder procesarse en este lapso, el plasma debe congelarse a -20°C. Este último proceso debe realizarse con rapidez, al igual que el descongelamiento (sumergiendo en baño a 37°C) previo a la determinación.

MATERIAL REQUERIDO

1- Provisto

- Hoja de papel doble logarítmico.

2- No provisto

- Tubos de hemólisis.
- Tubos plásticos para preparar las soluciones.
- Pipetas y micropipetas para medir los volúmenes indicados.
- Baño de agua a 37°C.
- Cronómetro.
- Fuente luminosa para la observación del coágulo.

PROCEDIMIENTO

I- CURVA DE CALIBRACION

1- Preparar diluciones del Calibrador 1:5, 1:10, 1:15, 1:20, 1:30, empleando 0,1 ml del Calibrador reconstituido y 0,4; 0,9; 1,4; 1,9 y 2,9 ml de Reactivo B respectivamente. El Calibrador diluido 1:10 representa el 100% del valor asignado en el envase.

2- Precalear 0,2 ml de cada dilución a 37°C durante 2 minutos.

3- Disparar el cronómetro con el agregado de 0,1 ml de Reactivo A reconstituido (no precalear el Reactivo A) a las diluciones preincubadas y registrar el tiempo de formación del coágulo.

4- Calcular el tiempo promedio de coagulación para cada dilución, por duplicado.

5- Construir la curva de calibración de fibrinógeno representando los tiempos de coagulación en función de la concentración de fibrinógeno, sobre el papel log-log. Unir a través de una recta la mayoría de los puntos representados. La recta final debe contener por lo menos 3 puntos consecutivos.

Dilución	Reactivo B	Calibrador	Concentrac. fibrinógeno ^(*)	Factor dilución
1:5	0,8	0,2	---- mg/dl	x 2 =
1:10	0,9	0,1	---- mg/dl	x 1 =
1:15	1,4	0,1	---- mg/dl	x 0,67 =
1:20	1,9	0,1	---- mg/dl	x 0,5 =
1:30	2,9	0,1	---- mg/dl	x 0,33 =

^(*) concentración de fibrinógeno indicada en el rótulo del Calibrador

El valor de fibrinógeno de cada dilución de la curva se determina multiplicando la concentración de fibrinógeno en el Calibrador por el factor de dilución. Por ejemplo, si en el Calibrador se indica un nivel de fibrinógeno de 260 mg/dl, entonces las diluciones 1:5, 1:10, 1:15, 1:20 y 1:30 tienen 520, 260, 173, 130 y 87 mg/dl respectivamente.

II- MUESTRAS DE PACIENTES Y CONTROLES

- 1- Preparar diluciones 1:10 de los plasmas de pacientes o plasmas controles en Reactivo B.
- 2- Precalear 0,2 ml de cada dilución a 37°C durante 2 minutos.
- 3- Rápidamente adicionar 0,1 ml de Reactivo A y registrar el tiempo de formación del coágulo.
- 4- Repetir la determinación y promediar el resultado para cada muestra.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Conocido el tiempo de coagulación del paciente o del control, ingresar este valor a la curva standard e interpolar el valor de fibrinógeno en cada caso.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Si el tiempo de coagulación para la muestra es demasiado corto (por ejemplo, menor a 7 segundos) diluir el plasma 1:20 con Reactivo B y volver a ensayar. Multiplicar el resultado por 2.

Si el tiempo de coagulación para la muestra es demasiado largo (por ejemplo, mayor a 35 segundos) diluir el plasma 1:5 con Reactivo B y volver a ensayar. Multiplicar el resultado por 0,5.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Plasma Control normal/patológico.

VALORES DE REFERENCIA

El intervalo de valores observados en pacientes normales oscila entre 200 - 400 mg/dl.

En general se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia, dentro de su población de pacientes.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

Fibrinógeno (mg/dl) x 0,01 = Fibrinógeno (g/l)

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Se deberá realizar una curva de calibración nueva con cada cambio de lote de reactivo o cualquier cambio de instrumento.
- Fallas en la reconstitución de los reactivos pueden ser causa de resultados erróneos.
- Recolección de muestra: las muestras y sus diluciones deberán colocarse en tubos de plástico o de vidrio siliconado. Es importante respetar la relación de anticoagulante y sangre como también la concentración de citrato utilizada.
- Debe controlarse que el ensayo se realice a 37°C y que los tubos de trabajo estén absolutamente limpios.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando 20 replicados de las mismas muestras en un mismo día se obtuvieron los siguientes resultados:

Nivel	D.S.	C.V.
288 mg/dl	± 6,13 mg/dl	2,1 %
180 mg/dl	± 4,01 mg/dl	2,2 %

b) Linealidad: la reacción es lineal entre 100 y 600 mg/dl.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

El kit **Fibrinógeno** se puede usar en forma manual y con métodos de detección mecánicos y foto-ópticos. Para instrumentos semiautomáticos y automáticos se recomienda seguir las instrucciones del analizador.

PRESENTACION

Kit para 100 determinaciones conteniendo:


- Reactivo A: 10 x → 1 ml
 - Reactivo B: 2 x 60 ml
 - Calibrador: 1 x → 1 ml
- (Cód. 1705006)

BIBLIOGRAFIA

- Clauss, A. - Acta Haematol. 17:237, 1957.
- Koepke, J.A. - Am. J. Clin. Pathol. 63:984, 1975.
- Collet, J.P. - Blood 82/8:2462, 1993.
- Ernest, E. - Ann. Intern. Med. 118/12:956, 1993.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.


SIMBOLOS


Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.


 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Uso diagnóstico "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos

 Fecha de caducidad


 Límite de temperatura (conservar a)


 No congelar

 Riesgo biológico


 Volumen después de la reconstitución

 Contenido


 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Caústico

 Irritante


 Consultar instrucciones de uso


 Calibrador

 Control

 Control Positivo

 Control Negativo

 Número de catálogo

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. N°: 2925/98



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina