

Determinación cuantitativa de Fibrinógeno IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El Fibrinógeno, en presencia de un exceso de trombina, se transforma en Fibrina.

El tiempo de formación del coágulo es inversamente proporcional a la concentración de Fibrinógeno presente en la muestra de plasma.

La determinación de fibrinógeno por el tiempo de coagulación de trombina, está basada en el método descrito por Clauss¹. En presencia de altas concentraciones de trombina, el tiempo necesario para la formación del coágulo en el plasma diluido es inversamente proporcional a la concentración de fibrinógeno.

SIGNIFICADO CLÍNICO

El Fibrinógeno (Factor I), proteína sintetizada en el hígado, es un componente de la sangre utilizado para formar el coágulo. Su determinación nos ayuda a evaluar las alteraciones en los mecanismos de coagulación.

La concentración de fibrinógeno se incrementa en inflamaciones agudas y embarazo; por el contrario se observan valores bajos en terapias trombolíticas, enfermedades hepáticas, disfibrinogenia congénita, DIC (Coagulación intravascular diseminada) y pancreatitis¹.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1	Trombina bovina	≈ 100 u NIH/mL
R 2	Tampón Imidazol, Azida sódica	
R3	Solución Caolín	
Opcional	COAGULATION CAL	REF: 1709101
	CONTROL NORMAL	REF: 1709104
	CONTROL PATHOLOGIC	REF: 1709106

PRECAUCIONES

R2: H290- Puede ser corrosivo para los metales. H302-Nocivo en caso de ingestión. H360-Puede perjudicar la fertilidad o dañar al feto. H412-Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

R1: Reconstituir (→) en 2,0 mL de agua destilada. Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido. Estabilidad: 7 días a 2-8°C o 1 mes a -20°C, si se congela inmediatamente y se conserva en el frasco original. No volver a congelar.

R2: Agitar antes de usar.

R3: Listo para su uso.

TRAZABILIDAD

El Calibrador de Coagulación es trazable para el Fibrinógeno al estándar de la OMS, 2º Estándar Internacional para Fibrinógeno, plasma (98/612).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Resultados en el Control de calidad fuera de los rangos establecidos.
- Variaciones de color.

MATERIAL ADICIONAL

- Coagulómetro o cronómetro y baño a 37°C ± 0,5°C.
- Equipamiento habitual de laboratorio^(Nota 1).

MUESTRAS

Plasma obtenido por punción venosa diluido 1/10 en solución de citrato trisódico 3,8% (105 mmol/L).

Mezclar inmediatamente la sangre con el anticoagulante. Evitar la formación de espuma.

Centrifugar la muestra a 3000 x g 10 min y transferir el plasma.

Usar sólo contenedores de vidrio siliconado o plástico.

Los plasmas turbios, ictericos, lipémicos o hemolizados pueden dar resultados erróneos.

La muestra es estable 4 horas a temperatura ambiente (15-25°C) o 28 días si se congela inmediatamente a -20°C.

NOTAS

- El material de laboratorio usado debe estar libre de restos de detergente.
- Seguir minuciosamente las instrucciones del fabricante del instrumento, los resultados obtenidos deben ser validados por el laboratorio.

PROCEDIMIENTO

El reactivo puede emplearse en técnica manual, mecánica, fotoóptica o con cualquier instrumento apto para detectar la formación del coágulo^(Nota 2).

- Preparar una dilución 1/10 de la muestra y los Controles en Tampón Imidazol: 50 µL muestra + 450 µL Tampón Imidazol.

La muestra diluida debe ser procesada antes de 1 hora.

- Preparar las siguientes diluciones del Calibrador en Tampón Imidazol:

Dilución del Calibrador	1/40	1/30	1/20	1/10	1/5
Tampón Imidazol (mL)	3.9	2.9	1.9	0.9	0.4
COAGULATION CAL (mL)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Factor	10/40*	10/30*	10/20*	10/10*	10/5*
Concentración (mg/dL)	0.25* x c	0.33* x c	0.5* x c	1* x c	2* x c

(c = Valor del Calibrador)

- A 0,2 mL de cada dilución añadir 20 µL de R3 y atemperar a 37°C durante 4-6 minutos.

- Añadir 0,1 mL de reactivo R1 y cronometrar la formación de coágulos. No atemperar la trombina R1.

CÁLCULOS

- Calcular la media de los duplicados de los tiempos de coagulación, inmediatamente después de finalizar la reacción. Utilizar los cinco puntos del calibrador para crear una curva de los tiempos obtenidos (s) frente a los valores de concentración de Fibrinógeno de cada dilución del Calibrador (mg/dL).

- Trazar la mejor curva. Examinar la curva y, si es necesario, omitir los puntos no lineales. La curva final debe constar de tres puntos consecutivos como mínimo. La creación de la curva sólo con los puntos más lineales producirá la mejor recuperación en los controles y las muestras de paciente.

- La siguiente curva de calibración es sólo **orientativa**, variando en función del lote y concentración del calibrador, así como del instrumento utilizado.

Tiempo (s)	Concentración (mg/dL)	Concentración (g/L)
18.1	608	6.08
26.4	304	3.04
49.6	152	1.52
84.7	76	0.76
153	38	0.38

- La concentración de Fibrinógeno en la muestra se calcula por interpolación de su tiempo de coagulación en la curva de calibración. La dilución 1/10 del plasma representa el 100% del valor asignado.

- Si los tiempos de dilución 1/10 se encuentran fuera de la curva lineal, preparar diluciones a 1/5 ó 1/20, según sea necesario. Si la muestra se diluye a 1/5 dividir el resultado de la curva por 2; si la muestra se diluye a 1/20, multiplicar el resultado por 2 para obtener el resultado final.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

CONTROL NORMAL REF: 1709104

CONTROL PATHOLOGIC REF: 1709106

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos o la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

200 - 400 mg/dL¹ (2.00 - 4.00 g/L)

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Precisión:

Media (U/L)	Interserie (n= 30)		
	144	294	488
CV (%)	5,9	3,4	2,9

Exactitud: Los reactivos SPINREACT no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales.

INTERFERENCIAS Y LIMITACIONES

Se han observado interferencias relevantes en muestras con productos de degradación del Fibrinógeno. Las reacciones inflamatorias agudas pueden aumentar el fibrinógeno circulante. La hemólisis puede causar activación de los factores de coagulación e interferir en la detección del punto final. Los niveles altos de paraproteína, y de fármacos que activan el sistema fibrinolítico pueden interferir en las determinaciones de fibrinógeno. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en su determinación^{2,3}.

BIBLIOGRAFÍA

- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

PRESENTACIÓN

Ref: 1709211	Cont.	R1: 8 x 2 mL
		R2: 1 x 100 mL
		R3: 1 x 3.5 mL