

HemoStat FIBRINOGEN

Determinación manual y automática de fibrinógeno en plasma

Presentación

[REF] 32002 para 100 determinaciones Estuche completo
[IVD]

Uso previsto

El Fibrinógeno es una proteína plasmática que pasa de un polímero soluble a uno insoluble por acción de la trombina, dando como resultado la formación de un coágulo de fibrina. La determinación del fibrinógeno plasmático está ampliamente aceptada como un test de diagnóstico, tratamiento y pronóstico de varios trastornos hemorrágicos. Hoy en día, altos niveles de fibrinógeno están considerados como un riesgo para enfermedades cardiovasculares.

Principio

El HemoStat FIBRINOGEN está basado en el método primeramente descrito por Clauss y comúnmente utilizado.¹

Una óptima cantidad de trombina (bovina) se añade a la muestra de plasma prediluida 1:10. El tiempo de coagulación es inversamente proporcional a la concentración de fibrinógeno en la muestra.

Contenido

[RGT] 5 x 2 ml Reactivo de trombina, liofilizado
Trombina (bovina) ~100 unidades NIH/ml

[BUF] 1 x 100 ml Buffer imidazol pH 7,4 ± 0,2
Imidazol 0,05 mol/l
Bufferes y estabilizadores

[CAL] 2 x 1 ml Plasma de referencia de fibrinógeno
liofilizado
Plasma humano
Bufferes y estabilizadores

Nota de seguridad

Cada unidad donada usada para la preparación del **[CAL]** ha sido probada y se encontró que no contenía HBsAg, anticuerpos HCV, ni anticuepros HIV. Sin embargo, ningún método conocido puede ofrecer completa garantía que el producto derivado de sangre humana no es infeccioso. Por eso, el **[CAL]** debe manejarse como un material potencialmente infeccioso.

Preparación de los reactivos, almacenamiento y estabilidad

Reconstituir **[RGT]** con exactamente 2 ml de agua destilada (ver Nota). Agitar suavemente hasta que la disolución sea completa.

El material reconstituido es estable durante 8 horas de 15...25°C, 7 días de 2...8°C o puede congelarse durante las 4 horas siguientes y usarse durante los 30 días siguientes (descongelar rápidamente a 37°C). No recongelar.

El **[BUF]** es listo para usar. Mantener de 2...8°C. Estable una vez abierto hasta fecha de caducidad. Evitar contaminar!

Reconstituir **[CAL]** con exactamente 1,0 ml de agua destilada (ver Nota). Agitar suavemente hasta que la disolución sea completa.

El material reconstituido es estable durante 8 horas si se mantiene de 2...8°C o puede congelarse a -20°C durante 30 días. No recongelar.

Toma de muestra

Usar Citrato de Sodio 3,2% (0,109M) como anticoagulante (EDTA y heparina no son apropiados). Las muestras ictericas, lipemicas o hemoliticas pueden dar resultados erroneos.

Obtener sangre venosa por punción venosa y mezclar inmediatamente 9 partes de sangre con 1 parte de citrato. Evitar la formación de espuma en la muestra.

Preparación de la muestra

Centrifugar de 15 minutos a 1500 g. Tapar las muestras para evitar los cambios de pH ya que pueden afectar los resultados de la prueba. Las muestras mantenidas de 22...24°C se deben determinar dentro de las 2 horas siguientes. Para periodos de tiempo más largos las muestras se deben congelar a -20°C durante 2 semanas o a -70°C durante 6 meses. Descongelar las muestras rápidamente a 37°C, mezclar suavemente para asegurar la homogeneidad y realizar la prueba inmediatamente. No se debe recongelar.²

Curva de calibración

Preparar al menos 5 soluciones diferentes de **[CAL]** para establecer la curva de referencia de fibrinógeno. Diluir al menos a 1:3 para minimizar las interferencias.³

Dilution	[CAL] ml	[BUF] ml
1:5	0,1	0,4
1:10	0,1	0,9
1:15	0,1	1,4
1:20	0,1	1,9
1:40	0,1	3,9

Diluir el plasma control, **[CPN]** y **[CPA]**, y las muestras de pacientes a 1:10 con **[BUF]** antes del uso.

Usar las muestras diluidas dentro de 15 minutos.

Procedimiento

Analizar las muestras y los controles por duplicado.

Pipetear en los tubos precalentados	
Muestra diluida/ [CAL] / [CPN] / [CPA]	0,2 ml
Incubar durante 4-6 min. a 37°C	
Añadir [RGT] (no precalentar [RGT])	0,1 ml
Activar el cronómetro con la adición del reactivo. Anotar el tiempo necesario para la formación del coágulo.	

Resultados

Calcular el tiempo medio de las determinaciones duplicadas y redondear a décimas de segundo.

Para construir la curva de calibración en un papel logarítmico, se usa el tiempo medio de coagulación obtenido a partir de determinaciones duplicadas y la concentración de fibrinógeno para cada dilución del **[CAL]**. La relación es lineal.

El plasma diluido a 1:10 representa el valor 100%. El factor de dilución indica la relación entre la dilución a 1:10 y otras diluciones.

Ejemplo: Plasma de Referencia para Fibrinógeno= 257 mg/dl

Dilución	Factor de dilución	Fibrinógeno (mg/dl)	Tiempo medio de coagulación (seg.)
1:5	2	514	6,6
1:10	1	257	12,1
1:15	0,67	172	17,7
1:20	0,5	128	22,4
1:40	0,25	64	47,3

Encontrar los tiempos de coagulación de **[CPN]**, **[CPA]** y de las muestras de pacientes en la curva y leer el valor de fibrinógeno correspondiente. Si los tiempos de coagulación de la dilución a 1:10 no se encuentran en la curva lineal, preparar diluciones a 1:5 o 1:20 en la medida necesaria y multiplicar el resultado con el factor de dilución siguiente.

Muestra	Dilución	Factor de dilución
# 1	1:5	0,5
# 2	1:20	2

Rango normal: 150-375 mg/dl

Cada laboratorio debe establecer su rango normal usando la instrumentación, métodos de toma de muestra y técnicas comúnmente usadas en dicho laboratorio.

Limitaciones

Productos que degradan altamente el fibrinógeno (FDP) (30µg/ml) pueden dar tiempos de coagulación altos

La heparina no interfiere en concentraciones terapéuticas. Sin embargo, niveles de heparina muy elevadas pueden dar resultados de fibrinógeno bajos.

Control de calidad

Es necesario un control de calidad de rutina en las pruebas de coagulación. HemoStat CONTROL PLASMA NORMAL (CPN) y ABNORMAL (CPA) se deben probar en conjunto con los plasmas de los pacientes para verificar el sistema.

Características de la ejecución

Los datos típicos de ejecución de la prueba pueden ser encontrados en el informe de verificación, accesible vía www.human.de/data/gb/vr/co-fib.pdf ó www.human-de.com/data/gb/vr/co-fib.pdf

Automatización

La prueba se puede realizar en los sistemas de coagulación con lectura óptica o mecánica. Por favor lea las instrucciones del fabricante. Las adaptaciones para sistemas selectas están a disposición mediante solicitud previa.

Nota

El agua destilada para reconstituir el reactivo debe estar libre de conservantes y de bacterias o de otra clase de contaminación. La calidad inadecuada del agua puede dar resultados no fiables y además reduce la estabilidad.

Literatura

1. Clauss, A., Acta Haemat 17, 237-246, (1957)
2. NCCLS, NCCLS Document H21-A3 (1998)
3. NCCLS, NCCLS Document H30-A (1994)
4. Musgrave, K.A. et al., Hemat; Clin and Lab Pract, 2, 1309-1315 (1993)

CO-FIB
INF 3200201 E
03-2005-6



Human