

FIBRINOGENÍO CLOT

FINALIDADE

O Fibrinogênio CLOT é utilizado para a determinação quantitativa do fibrinogênio no plasma citratado, podendo ser realizado de forma manual ou através de um equipamento coagulômetro que pode ser semi-automático ou automático. Somente para uso diagnóstico *In Vitro*.

FUNDAMENTO E MÉTODO

Método: Coagulometria - Tempo de Trombina de Clauss.

O Fibrinogênio CLOT baseia-se no método da coagulometria (tempo de trombina) de Clauss para a quantificação de fibrinogênio no plasma citratado, após a adição de uma quantidade padronizada de trombina em uma amostra de plasma citratado diluído e medido o seu tempo de coagulação. Este método mede a taxa de conversão do fibrinogênio em fibrina na presença elevada de trombina, e tem-se mostrado rápido, sensível e preciso. Quando a concentração de trombina estiver elevada, o tempo de coagulação do plasma citratado diluído é inversamente proporcional a concentração de fibrinogênio. Para a obtenção da concentração de fibrinogênio, o tempo de coagulação do plasma analisado é comparado com os tempos de coagulação de um plasma com concentração de fibrinogênio conhecido (calibrador).

SIGNIFICADO CLÍNICO

O fibrinogênio é uma glicoproteína presente no plasma e nos grânulos plaquetários. É o fator de coagulação que encontra-se na maior concentração plasmática (200 a 400 mg/dl). Também é chamada de proteína de fase aguda porque sua concentração no sangue aumenta rapidamente em resposta a processos de muitos estímulos fisiológicos diferentes, como inflamatórios e neoplásicos.

Níveis elevados de fibrinogênio estão associados à doença cardiovascular aterosclerótica e à ocorrência de eventos vasculares isquêmicos (infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral). Outras condições em que o fibrinogênio é elevado são câncer de estômago, mama ou rim e distúrbios inflamatórios como a artrite reumatoide.

Os níveis reduzidos de fibrinogênio são prevalentes em doenças hepáticas, câncer de próstata, doença pulmonar, lesões da medula óssea, desnutrição e coagulação intravascular disseminada.

Outras condições de fibrinogênio deficiente são distúrbios quantitativos (afibrinogenemia congênita e hipofibrinogenemia) e qualitativos (disfibrinogenemia).

LIMITAÇÕES DE USO (PRECAUÇÕES)

- Somente para Uso Diagnóstico *In Vitro*.
- Recomenda-se cuidados no manuseio das amostras e reagentes, seguindo as regras de biossegurança.
- Usar equipamentos de proteção individual (EPI) durante o manuseio.
- O descarte do material usado, bem como a lavagem, deverá obedecer as regras das Boas Práticas de Laboratório Clínico (BPLC).
- Armazenar entre 02 a 08°C.

IDENTIFICAÇÃO E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Reagente: É uma preparação liofilizada de trombina bovina, contendo aproximadamente 100 NIH U/mL, tampão, estabilizadores e conservante. É estável entre 2 a 8°C até a data de validade impressa no rótulo do frasco.

1. Reconstitua o conteúdo dos frascos individuais com 2 mL de água deionizada conforme indicado no rótulo, recoloque as tampas e gentilmente misturar até a sua completa dissolução;
2. Deixe repousar a temperatura ambiente durante 30 minutos antes do uso;
3. Certifique-se de que todas as partículas estão bem dissolvidas antes da utilização do reagente.
4. Após reconstituição, é estável durante 5 dias se mantido entre 2 a 8°C, ou congelado por até 30 dias. Para reutilização deve-se deixar atingir a temperatura ambiente. Não recongelar.

Solução Tampão: Pronto para uso. Reagente ligeiramente turvo. Homogeneizar antes de usar. É estável entre 2 a 8°C até a data de validade impressa no rótulo do frasco. Evitar contaminação.

Calibrador: É um plasma humano citratado liofilizado, contendo solução tampão e conservante. A concentração de fibrinogênio está impressa no rótulo do frasco. É estável entre 2 a 8°C até a data de validade impressa no rótulo do frasco.

Reconstituir com 1 mL de água deionizada e deixar atingir a temperatura ambiente por 30 minutos antes do uso, fazendo, ocasionalmente, movimentos circulares para a sua completa dissolução. Após reconstituição é estável por 8 horas entre 2 a 8°C.

ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Segundo determinado pelo fabricante do produto, a estabilidade é de 30 meses quando armazenado entre 02 a 08°C.

Segundo determinado pelo fabricante do produto, a estabilidade após (aberto) e constituição do reagente é de 5 dias entre 2 a 8°C, ou congelado por até 30 dias.

Os reagentes não abertos, quando armazenados nas condições indicadas, são estáveis entre 2 a 8°C até a data de validade impressa no rótulo do frasco ou por, no máximo, 7 dias à temperatura de até 25°C.

MATERIAIS NECESSÁRIOS FORNECIDOS

1. Calibrador normal de fibrinogênio.
2. Solução tampão de Imidazol.

EQUIPAMENTO, MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

- Coagulômetro;
- Banho-Maria (37°C);
- Relógio;
- Cronômetro;
- Ponteiras e Pipetas;
- Tubos de ensaio.

AMOSTRA

Descrição das amostras:

Plasma com anticoagulante: Utilizar como anticoagulante uma solução de citrato de sódio a 3,2% (0,109 mmol/L) ou 3,8% (0,130 mmol/L), na proporção de 9 partes de sangue para 1 de anticoagulante como exemplo: 4,5 mL de sangue + 0,5 mL de anticoagulante.

Coleta: O sangue deve ser obtido por punção venosa, evitando hemólise e garroteamento prolongado, formação de bolhas e aspiração de líquido tissular.

Preparação do plasma: O sangue deverá ser misturado com o anticoagulante logo após a coleta. Centrifugar imediatamente a 3000 rpm, durante 15 minutos. Remover o plasma sem pipetar células vermelhas ou a camada leucocitária. As amostras deverão ser testadas em menos de 3 horas. Se o teste não puder ser feito neste período o plasma deverá ser congelado por no máximo 1 semana a - 20°C.

Interferentes: Hemólise, ictericas e lipemia excessivas.

PROCEDIMENTO DE ENSAIO, INCLUINDO CÁLCULOS E INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS

Procedimento:

Este procedimento refere-se a técnica manual. Para sistemas semi-automáticos ou automáticos consultar o manual de uso do equipamento. Para a determinação da concentração do fibrinogênio faz-se necessário, inicialmente, a construção de uma curva de calibração conforme o seguinte procedimento:

Curva de Calibração:

- Prepare diluições a 1:5, 1:10, 1:15, 1:20, 1:30 do calibrador (3) usando a seguinte tabela:

CÓDIGO	CALIBRADOR	SOLUÇÃO TAMPÃO	VOLUME TOTAL
1:5	100 µl (0,1 mL)	400 µl (0,4 mL)	500 µl (0,5 mL)
1:10	100 µl (0,1 mL)	900 µl (0,9 mL)	1000 µl (1,0 mL)
1:15	100 µl (0,1 mL)	1400 µl (1,4 mL)	1500 µl (1,5 mL)
1:20	100 µl (0,1 mL)	1900 µl (1,9 mL)	2000 µl (2,0 mL)
1:30	100 µl (0,1 mL)	2900 µl (2,9 mL)	3000 µl (3,0 mL)

- Verificar se o fibrinogênio reconstituído esteja na temperatura ambiente antes do uso.
- Pipetar 200 ml (0,2 mL) de cada diluição de calibrador diluído em tubos de ensaio.
- Incubar a 37°C durante 2 minutos o calibrador diluído (não mais do que 5 minutos).
- Adicionar rapidamente 100 ml (0,1 mL) do reagente fibrinogênio (1), previamente reconstituído e na temperatura ambiente (não pré-aquecê-lo), acionando simultaneamente o cronômetro.
- Delicadamente por leve inversão registrar o tempo de coagulação do plasma em segundos. É recomendado que cada diluição seja feita em duplicata.
- Lançar os valores encontrados de fibrinogênio em um gráfico log-log. Trace a concentração de fibrinogênio em (mg/dl) no eixo x e os tempos de coagulação em segundos no eixo y. Usar o valor do fibrinogênio impresso no rótulo do frasco do calibrador (3) para determinar a concentração do fibrinogênio de cada diluição. Por exemplo: Se o valor do calibrador indicar uma concentração de 286 mg/dl de fibrinogênio, então multiplique os 286 mg/dl pelo fator de diluição para determinar a concentração de fibrinogênio de cada diluição. Use a seguinte tabela abaixo como exemplo, assumindo que o controle normal foi atribuído a uma concentração de fibrinogênio de 286 mg/dl.

DILUIÇÃO	FATOR DE DILUIÇÃO	CONCENTRAÇÃO DE FIBRINOGENIO (mg/dl)	TEMPO (seg.)
1:5	10/5 = 2,0	--- x 2,0	---
1:10	10/10 = 1,0	--- x 1,0	---
1:15	10/15 = 0,67	--- x 0,67	---
1:20	10/20 = 0,5	--- x 0,5	---
1:30	10/30 = 0,33	--- x 0,33	---

Realizando o teste:

- Preparar diluições de 1:10 para cada plasma de paciente.
- A diluição 1:10 do (calibrador) representa 100% do valor indicado no rótulo do frasco, ou seja o valor indicado no rótulo corresponde à concentração já diluído 1:10.
- Se o tempo de coagulação da amostra for curto (por exemplo: menor que 7 segundos), diluir o plasma para 1:20 com a solução tampão de Imidazol e voltar a testá-la. Multiplicar o resultado por 0,5. Se o tempo de coagulação da amostra for longo (por exemplo: maior que 35 segundos), diluir o plasma para 1:5 com a solução tampão de Imidazol e voltar a testá-la. Multiplicar o resultado por 2. Se o tempo de coagulação da diluição 1:20 for menor que o maior tempo de coagulação da curva de calibração, o resultado deve ser reportado como menor que a menor concentração da curva de calibração.

CÁLCULOS E RESULTADOS

Conhecendo o tempo de coagulação médio (segundos) da amostra teste (paciente) ou do controle, colocar o valor para a curva padrão e interpolar o valor do fibrinogênio em cada caso.

VALORES DE REFERÊNCIA

A faixa de normalidade para os níveis de fibrinogênio no plasma humano é considerada 200 a 400 mg/dl. Em geral recomenda-se que cada laboratório estabeleça sua variação média normal usando indivíduos de sua população de pacientes.

DETALHES DE QUALQUER TRATAMENTO OU MANUSEIO DOS PRODUTOS ANTES DE ESTAREM PRONTOS PARA USO, COMO INSTALAÇÃO, RECONSTITUIÇÃO, CALIBRAÇÃO, ENTRE OUTROS

Trace a concentração de fibrinogênio em (mg/dl) no eixo x e os tempos de coagulação em segundos no eixo y. Usar o valor do fibrinogênio impresso no rótulo do frasco do calibrador (3) para determinar a concentração do fibrinogênio de cada diluição. Por exemplo: Se o valor do calibrador indicar uma concentração de 286 mg/dl de fibrinogênio, então multiplique os 286 mg/dl pelo fator de diluição para determinar a concentração de fibrinogênio de cada diluição. Use a seguinte tabela abaixo como exemplo, assumindo que o controle normal foi atribuído a uma concentração de fibrinogênio de 286 mg/dl.

CONTROLE DE QUALIDADE

Todos os reagentes são avaliados pelo departamento de controle de qualidade, usando plasmas controles rastreados.

Todos os laboratórios deverão usar plasmas controles frequentemente em suas rotinas.

PRECAUÇÕES A SEREM TOMADAS COM RELAÇÃO AO DESCARTE DO PRODUTO, DE SEUS ACESSÓRIOS E DOS CONSUMÍVEIS USADOS, INCLUINDO RISCOS DE INFECÇÃO OU MICROBIOLÓGICOS, AMBIENTAIS E FÍSICOS

O descarte de resíduos deve ser realizado pelos geradores de Resíduos de Serviços de Saúde (RSS) em conformidade com os requisitos estabelecidos pelos Órgãos estaduais, municipais da Vigilância Sanitária e dos ambientais para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Exatidão:

O Fibrinogênio CLOT foi comparado com um reagente de marca comercial de referência onde foram testados 10 pacientes com ambas as marcas em um coagulômetro semi-automático, e os resultados obtidos foram expressos em uma equação de regressão linear.

O coeficiente de correlação foi estabelecido a partir da análise de regressão linear. Os resultados obtidos foram:

$$Y = AX + B \quad \text{onde: } A = 1.0230 \\ B = -19,773 \\ R^2 = 0.99815$$

Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão de medição:

Repetibilidade (Precisão inter-ensaio):

Foram realizadas 6 dosagens sucessivas com calibrador para verificar o seu desvio padrão e seu coeficiente de variação entre os resultados obtidos:

AMOSTRA	QUANTIDADE	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	COEFICIENTE VARIAÇÃO
1	6	297,7	12,14	4,08%

Reprodutibilidade (Precisão intra-ensaio):

Foram realizadas 12 dosagens com calibrador para verificar o seu desvio padrão e seu coeficiente de variação entre os resultados obtidos:

AMOSTRA	QUANTIDADE	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	COEFICIENTE VARIAÇÃO
1	12	304,9	12,07	3,96%

APRESENTAÇÃO

CÓDIGO	Nº DE TESTES	VOLUME
F. 050	50 testes	5 x 1 mL + 60 mL
F. 040	40 testes	2 x 2 mL + 3 x 15 mL
F. 1002	100 testes	5 x 2 mL + 2 x 60 mL
F. 100	100 testes	10 x 1 mL + 2 x 60 mL
F. 200	200 testes	10 x 2 mL + 4 x 60 mL

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.Deykin, D, Anticoagulant therapy. In: Colman, R.W., Hirsh, J, Marder, V., Salzman, EW (Eds.); Hemostasis and Thrombosis, JB Lippincott, Philadelphia, 1982, p1000.
- 2.Errichette AM, Holden A, Ansell J; Management of Oral Anticoagulant Therapy: experience with an Anticoagulation Clinic, Arch. Inter. Medicine 144; p1966 (1984).
- 3.Hirsh J, Dalen JE, Deykin D., Polter L; Oral Anticoagulants: Mechanisms of Action, Clinical Effectiveness and Optimal Therapeutic Range, Chest 102 (suppl):312S, (1992).
- 4.Miale JB; Laboratory Medicine-Hematology, 4th edition, CV Mosbe, St Louis, (1972).
- 5.Furie B, Furie BC; Molecular and Cellular Biology of Blood Coagulation, N Eng J Medicine 326; p800 (1992).
- 6.Hougie C; The Biochemistry of Blood Coagulation; In Triplett DA, Laboratory Evaluation of Coagulation, American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, p2 (1982).
- 7.WHO Expert Committee on Biological Standardization, 33 Report. Technical Report Series 687, WHO, Geneva (1983).
- 8.Clauss A. Acta Haemat 1957;17;237-246.
- 9.NCCLS. Procedure for the determination of fibrinogen in plasma; Approved guideline – Second edition. NCCLS Document H30-A2, 2001.
- 10.Kirkwood T; Calibration of Reference Thromboplastins and Standardization of the Prothrombin Time Ratio, Thromb Haemostasis 49; p238 (1983).
- 11.International Committee for Standardization in Haematology and International Committee on Thrombosis and Haemostasis. Amer J Clin Path 88; p779 (1985).
- 12.Young DS, Thomas DW, Friedman RB, et al.; Effect of Drugs in Clinical Tests, Clin Chem 18; p1041 (1972).
- 13.Laposala M, Connor A, Hicks D, Phillips D: The Clinical Hemostasis handbook, Year Book Medical Publishers Inc. (1989).

GARANTIA DO PRODUTO

A empresa BIOS DIAGNÓSTICA garante a substituição de todos os kits que apresentarem problemas decorrentes de fabricação, desde que o cliente siga corretamente as instruções de uso e utilize materiais em boas condições técnicas.

APOIO AO CLIENTE

Importado e Distribuído no Brasil por:

BIOS - DIAGNÓSTICA INDÚSTRIA E COMÉRCIO DE PRODUTOS BIOLÓGICOS LTDA - EPP.

CNPJ: 06.074.511/0001-34 / I.E.: 669.525.153.110

Rua Leão Brasil, 243 - Bloco B - Vila Fiori

CEP: 18075-083 - Sorocaba - SP

Tel.: (15) 3233-3800

ANVISA: 80252400006

Responsável Técnico:

Gilmar Chizzolini Junior - CRF/SP 45.891

sac@clot.com.br

www@clot.com.br

Fabricado por: BIOMEDICADIAGNOSTICS INC.

94 Wentworth Road PO Box 1030 Windsor NS B0N 2T0

Nova Escócia - Canadá www.biomedicadiagnostics.com