



LIAPHEN™ Fibrinogen

REF 120102

R1 4 x 5 ml

Método inmunoturbidimétrico para el ensayo de fibrinógeno, con reactivo líquido listo para usar

Español, última revisión: 01-2021

USO PREVISTO:

El kit LIAPHEN™ Fibrinogen es un ensayo inmunoturbidimétrico para la determinación cuantitativa *in vitro* del antígeno de fibrinógeno (Fib:Ag) en plasma humano citratado o en medio purificado, mediante un método manual o automatizado. Los reactivos se suministran en forma líquida, listos para utilizar.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN:

Desde el punto de vista técnico:¹⁻³

El fibrinógeno es una glicoproteína plasmática soluble de 340 kDa, sintetizada en el hígado, que contiene 6 cadenas peptídicas con una simetría de 2 a 2 unidas por puentes disulfuro (cadenas 2 A α , 2 B β y 2 γ). La trombina coagula el fibrinógeno y forma fibrina, que luego es estabilizada por el factor XIII activado en presencia de calcio. El fibrinógeno es lisado por la plasmina en los fragmentos X e Y, primero, y luego en D y E.

Desde el punto de vista clínico:³⁻⁷

La concentración de fibrinógeno en el plasma humano normal suele oscilar entre 2 y 4 g/l. En cuadros clínicos asociados a inflamación se observan concentraciones elevadas de fibrinógeno (>4 g/l), que también se consideran un factor de riesgo de enfermedad cardiovascular y trombosis.

La hipofibrinogenemia se asocia principalmente a enfermedad hepática grave o a un consumo excesivo de fibrinógeno (coagulación intravascular diseminada, hiperfibrinólisis).

Se han descrito numerosas variantes de fibrinógeno, asociadas a casos asintomáticos o a casos con hemorragia y/o trombosis.

PRINCIPIO:

LIAPHEN™ Fibrinogen es un método inmunoturbidimétrico basado en la reacción antígeno-anticuerpo: el antígeno de fibrinógeno de la muestra reacciona con anticuerpos policlonales de conejo antifibrinógeno humano, dando lugar a la aglutinación de partículas de látex. Esta aglutinación puede detectarse mediante un cambio de absorbancia, que es directamente proporcional a la cantidad de fibrinógeno en la muestra.

REACTIVOS:

[R] Látex, forma líquida. Contiene albúmina sérica bovina (BSA) y cantidades pequeñas de azida de sodio (0,9 g/l).

4 viales de 5 ml.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES:

- Algunos reactivos incluidos en estos kits contienen material de origen animal. Los usuarios de reactivos de este tipo deben asegurarse de extremar las precauciones de seguridad y de manipular cualquier material biológico como si fuera infeccioso.
- En contacto con tuberías de plomo o de cobre, la azida de sodio puede generar compuestos explosivos.
- Los residuos se deben eliminar de acuerdo con la normativa local vigente.
- Solo se deben utilizar los reactivos del mismo lote de kits.
- Los estudios de envejecimiento demuestran que los reactivos se pueden transportar a temperatura ambiente sin degradarse.
- Este producto sanitario para diagnóstico *in vitro* está destinado al uso profesional en el laboratorio.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS:

[R] El reactivo está listo para utilizar; homogeneizarlo por inversión suave antes del uso, evitando la formación de espuma, y cargarlo directamente en el analizador siguiendo las instrucciones de la guía de aplicación.

Para el método manual, dejar que se establezca durante 30 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C) y homogeneizar antes del uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD:

Los reactivos sin abrir se deben conservar a 2-8 °C en el embalaje original. En estas condiciones, se pueden utilizar hasta la fecha de caducidad impresa en el kit.

[R] La estabilidad del reactivo una vez abierto, descartada cualquier contaminación o evaporación, y conservado en el vial original, es de:

- 6 meses** a 2-8 °C.

- 7 días** a temperatura ambiente (18-25 °C).
- No congelar.**
- Estabilidad cargado en el analizador: ver la aplicación específica.**

REACTIVOS Y MATERIAL NECESARIOS NO SUMINISTRADOS:

Reactivos:

- Agua destilada.
- Tampón de dilución: tampón de imidazol (AR021B/AR021K/AR021L/AR021M/AR021N) o de Tris-NaCl-BSA (0,05 M; 0,15 M; 1 %), pH 7,40 (TBSA). Debe utilizarse el mismo tampón en todas las pruebas que se realicen.
- Calibradores y controles específicos con valoración Fib:Ag conocida, como:

Nombre del producto	Referencia
BIOPHEN™ Plasma Calibrator	222101
BIOPHEN™ Normal Control Plasma	223201
BIOPHEN™ Abnormal Control Plasma	223301

Consultar también la guía de aplicación específica del analizador utilizado.

Materiales:

- Espectrofotómetro o instrumento automático para ensayos inmunoturbidimétricos.
- Cronómetro, pipetas calibradas, cubetas de plástico para espectrofotómetro.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA:

La sangre se debe recoger con cuidado en tubos con anticoagulante citrato trisódico (0,109 M, 3,2 %) (en proporción 9:1) mediante venopunción aséptica. Desechar el primer tubo.

Las muestras se deben preparar y conservar de acuerdo con las directrices locales aplicables (en los Estados Unidos, ver las directrices CLSI H21-A5⁸ para obtener más información sobre la obtención, manipulación y conservación de las muestras). Para la conservación del plasma, ver las referencias.^{8,9}

PROCEDIMIENTO:

El kit puede utilizarse para métodos cinéticos, automatizados o manuales. Realizar la prueba a **37 °C** y la turbidimetría a **620 nm** (se pueden utilizar otras longitudes de onda, a ser posible entre 405 y 700 nm).

Para los métodos automatizados, las guías de aplicación se encuentran a disposición de los interesados. Consultar la guía de aplicación y las precauciones específicas de cada analizador.

Método de ensayo:

1. Reconstituir la preparación de referencia (ensayo en medio purificado) o el calibrador de plasma, así como los controles de plasma, tal como se indica en las instrucciones específicas o según la práctica interna.

Para un calibrador o una preparación de referencia con una concentración (C) de Fib:Ag conocida en $\mu\text{g/ml}$, la concentración de **20 $\mu\text{g/ml}$** se obtiene utilizando el siguiente factor de dilución: **D = C:20, con C en $\mu\text{g/ml}$** (por ejemplo, para un estándar en 3000 $\mu\text{g/ml}$, el factor de dilución D será **D = 3000:20 = 150**). Preparar **3 ml** de la dilución **Fib:Ag 20 $\mu\text{g/ml}$ (C1)** en el tampón de dilución. Preparar la curva de calibración efectuando diluciones seriadas como sigue:

Estándar Fib:Ag ($\mu\text{g/ml}$)	C1 20	C2 15	C3 10	C4 5	C5 2,5	C6 0
Volumen de estándar	1000 μl de C1	750 μl de C1	500 μl de C1	250 μl de C1	125 μl de C1	0 μl
Volumen de tampón	0 μl	250 μl	500 μl	750 μl	875 μl	1000 μl

Para el método manual, debe realizarse una curva de calibración para cada serie de pruebas.

2. Diluir las muestras y los controles con el tampón de dilución, según se describe en la siguiente tabla (método manual):

Muestras	Referencia	Dilución
BIOPHEN™ Normal Control Plasma	223201	1:300
BIOPHEN™ Abnormal Control Plasma	223301	1:300
Muestra (\approx 1 a 6 g/l)	n.d.	1:300

Establecer la curva de calibración y validarla con los controles de calidad. Si las muestras diluidas se conservan a temperatura ambiente (18-25 °C), analizarlas rápidamente. La concentración exacta de calibrador y controles para cada lote se indica en el folleto incluido en el kit.

3. Verter lo siguiente en la cubeta de plástico incubada a 37 °C:

	Volumen
Muestra, calibrador o control diluidos	100 µl
R Reactivo de látex, preincubado a 37 °C y homogeneizado antes	400 µl
Mezclar e incubar a 37 °C durante exactamente 15 minutos y a	
Mezclar y leer la absorbancia a 620 nm con respecto al tampón de dilución. Respetar el mismo tiempo de reacción global para cada muestra.	

Si se requiere un volumen de reacción distinto del especificado más arriba para el método utilizado, se debe respetar estrictamente la relación de volúmenes para garantizar el rendimiento del ensayo. El usuario es el responsable de validar cualquier cambio y su repercusión en los resultados.

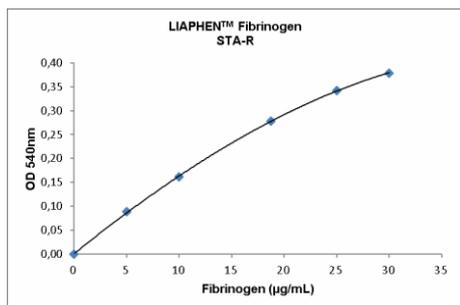
Para concentraciones elevadas (>6 g/l), se recomienda utilizar una dilución de muestra de 1:1000, y para concentraciones bajas (<1 g/l), una dilución de muestra de 1:100.

CALIBRACIÓN:

El ensayo LIAPHEN™ Fibrinogen puede calibrarse para el ensayo de fibrinógeno (antígeno). El calibrador de plasma que abarca el intervalo de calibración puede obtenerse en HYPHEN BioMed (ver el apartado REACTIVOS Y MATERIAL NECESARIOS NO SUMINISTRADOS) y utilizarse para establecer la curva de calibración.

- El intervalo de calibración es aproximadamente de 0 a 30 µg/ml (en STA-R®).

La curva de calibración que se muestra a continuación solo se proporciona a modo de ejemplo. Se debe emplear la curva de calibración establecida para la serie de ensayos.



CONTROL DE CALIDAD:

El uso de controles de calidad sirve para validar el cumplimiento del método, junto con la homogeneidad interserial para un determinado lote de reactivos.

Hay que incluir los controles de calidad con cada serie, de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio, con el fin de validar la prueba. Se debe definir una nueva curva de calibración, preferiblemente para cada serie de pruebas y, como mínimo, para cada nuevo lote de reactivos, o tras una operación de mantenimiento del analizador, o cuando los valores de control de calidad medidos se sitúen fuera del intervalo de aceptación del método.

Cada laboratorio debe definir su intervalo de aceptación y verificar el rendimiento previsto en su sistema analítico.

RESULTADOS:

- Para el método manual de punto final, trazar la curva de calibración, con una DO de 620 nm a lo largo del eje de ordenadas y la concentración de Fib:Ag, expresada en µg/ml, a lo largo del eje de abscisas, eligiendo el método de interpolación más adecuado. La concentración de Fib:Ag (µg/ml) en la muestra problema se deduce de la curva de calibración y se multiplica por el factor de dilución utilizado (300 con la dilución estándar).
- Si se utilizan otras diluciones, el nivel obtenido es el medido multiplicado por el factor de dilución utilizado.
- Los resultados deben interpretarse de acuerdo con la situación clínica y biológica del paciente.

LIMITACIONES:

- Para garantizar el rendimiento óptimo de la prueba y cumplir las especificaciones, se deben seguir cuidadosamente las instrucciones técnicas validadas por HYPHEN BioMed.
- Se deben descartar los reactivos que presenten un aspecto atípico o que muestren signos de contaminación.
- Se deben descartar las muestras sospechosas o que muestren signos de activación.
- La presencia de factor reumatoide puede dar lugar a una sobreestimación de la concentración de fibrinógeno.¹⁰

- Existen diferentes fármacos o tratamientos que pueden afectar a los resultados. Se debería realizar un estudio adicional para determinar el origen de cada resultado anómalo o inesperado.
- En cuanto a la posible influencia del efecto gancho, consultar la guía de aplicación específica del analizador utilizado (no se observa ningún efecto significativo para concentraciones de fibrinógeno de hasta 90 µg/ml en la dilución problema).

VALORES PREVISTOS:

- El intervalo de medición depende del sistema analítico utilizado (aproximadamente de 1 a 30 µg/ml de Fib:Ag en la dilución problema en la serie STA-R®, es decir, de 0,2 a 6 g/l).
- Especificidad:** los sueros se analizan por debajo de 0,2 g/l (media).
- Los estudios de rendimiento se llevaron a cabo internamente en la serie STA-R®. El rendimiento se evaluó utilizando controles de laboratorio durante un período de 5 días, 2 series por día y 2 repeticiones en cada serie para un nivel de control. Se obtuvieron los siguientes resultados:

Control	Intraensayo				Interensayo			
	n	Media	% CV	DE	n	Media	% CV	DE
Nivel 3	20	5,04	3,8	0,19	20	5,04	7,7	0,39
Nivel 2	20	2,58	3,1	0,08	20	2,58	9,8	0,25
Nivel 1	20	1,31	3,4	0,04	20	1,31	9,8	0,13

- Correlación con el método de referencia (LIAPHEN™ Fibrinogen frente a FIBRI PHEN™ en STA-R®):

$$n = 70y = 0,97x - 0,06 \quad r = 0,977$$

- Interferencias:** en el analizador STA-R®, no se observaron interferencias de las moléculas hasta las siguientes concentraciones:

Hemoglobina	200 mg/dl	Heparina (HNF/HBPM)	2/2 UI/ml
Bilirrubina	20 mg/dl	Intralípidos (equivalente de triglicéridos)	2000 mg/dl

Consultar también la guía de aplicación específica del analizador utilizado.

- Reactividad cruzada:** LIAPHEN™ Fibrinogen reacciona también con el fragmento DD (D-dímero), el fragmento D del fibrinógeno y los productos de degradación de la fibrina (PDF); no reacciona con el fragmento E de la fibrina.

REFERENCIAS:

- Mosesson M.W. Fibrinogen and fibrin structure and function. JTH. 2005.
- Henschen-Edman AH. On the identification of beneficial and detrimental molecular forms of fibrinogen. *Haemostasis* 1999.
- Marguerie G. Le fibrinogène, facteur multifonctionnel de l'hémostase. *Medecine/Sciences*. 1986.
- VanDeWater L. et al. Analysis of elevated fibrin(ogen) degradation product levels in patients with liver disease. *Blood*. 2019.
- Lowe G.D.O. et al. Epidemiology of coagulation factors, inhibitors and activation markers: The Third Glasgow MONICA Survey I. Illustrative reference ranges by age, sex and hormone use. *British Journal of Haematology*. 1997.
- Appel I.M. et al. Age dependency of coagulation parameters during childhood and puberty. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2012.
- Ernst E. Plasma fibrinogen – an independent cardiovascular risk factor. *Journal of Internal Medicine*. 1990.
- CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008
- Mauge L. and Alhenc-Gelas M. Stabilité pré-analytique des paramètres de la coagulation: revue des données disponibles. *Ann Biol Clin*. 2014.
- Hamano A. et al. Latex immunoturbidimetric assay for soluble fibrin complex. *Clinical Chemistry*. 2005.

SÍMBOLOS:

Símbolos utilizados y signos enumerados en la norma ISO 15223-1; ver el documento de definiciones de los símbolos.

Cambios respecto a la versión anterior.



HYPHEN BioMed

155 rue d'Eragny, 95000 Neuville-sur-Oise, Francia

