

# FIBRINOGÊNIO

Instruções de Uso

Ref.: **506**  
MS 10009010331

**Finalidade** . Sistema para determinação quantitativa de fibrinogênio no plasma.

**Uso profissional.**

**[Somente para uso diagnóstico in vitro.]**

**Princípio** . Uma quantidade padronizada de trombina é adicionada a uma amostra de plasma citratado diluído e o tempo de coagulação é medido. Na presença de concentração elevada de trombina, o tempo de coagulação do plasma citratado diluído é inversamente proporcional à concentração de fibrinogênio. Para obter a concentração de fibrinogênio, o tempo de coagulação de um plasma é comparado com os tempos de coagulação de uma série de diluições de um plasma contendo concentração conhecida de fibrinogênio.

**Característica do sistema** . O sistema Fibrinogênio é formado por Tampão, Trombina Bovina e Plasma Referência e utiliza o método do tempo de trombina descrito por Clauss<sup>1</sup> para determinação da concentração de fibrinogênio em plasma citratado.

Fibrinogênio tem a propriedade de medir a concentração do fibrinogênio coagulável utilizando a característica funcional do analito e permite a obtenção de uma informação de uso clínico importante.

O Reagente 1 contém uma suspensão de polímero coloidal tamponado que favorece a detecção da formação do coágulo por instrumentos automáticos e semi-automáticos mesmo em concentrações diminuídas de fibrinogênio.

O método pode ser utilizado em procedimentos manuais e pode ser aplicado em coagulômetros com sistema de detecção de ponto final da coagulação por métodos mecânicos ou foto-óticos.

**Metodologia** . Coagulometria - Tempo de trombina-Clauss<sup>1</sup>.

## Reagente

### 1. **R1** - Tampão - Armazenar entre 2 - 8°C.

Contém imidazol 50 mmol/L, azida sódica ≤0,095%, polímero coloidal e estabilizadores.

### 2. **R2** - Trombina Bovina - Armazenar entre 2 - 8°C.

Contém trombina 102,35 unidades NIH/mL, Albumina 0,9%, tampão Tris 123 mmol/L e estabilizadores.

### 3. **R3** - Plasma Referência - Armazenar entre 2 - 8°C.

Contém tampão HEPES 50 mmol/L, plasma humano, azida sódica 14,6 mM e estabilizadores. **Ver concentração de fibrinogênio no rótulo do frasco.**

Os reagentes não abertos, quando armazenados nas condições indicadas, são estáveis até a data de expiração impressa no rótulo.

## Preparo dos reagentes

**R1. Tampão** - Pronto para uso. Reagente ligeiramente turvo. Homogeneizar antes de usar. Após aberto, o reagente é estável até a data de validade indicada no rótulo, mas somente quando armazenado bem vedado em temperatura entre 2 - 8°C e não esteja submetido a contaminações química ou microbiana.

**R2. Trombina Bovina** - Adicionar o volume exato de água tipo II indicado no rótulo. Recolocar a tampa, homogeneizar suavemente e deixar em repouso durante 15 minutos entre 15 - 25°C. Não agitar por inversão ou vigorosamente. Antes de utilizar, homogeneizar suavemente. O reagente reconstituído é estável por 7 dias entre 2 - 8°C, 24 horas entre 15 - 30°C e 30 dias quando congelado nas primeiras 4 horas após reconstituição. Descongelar rapidamente a 37°C. Não recongelar.

**R3. Plasma Referência** - Reconstituir com 1,0 mL de água tipo II. Recolocar a tampa, homogeneizar suavemente até a dissolução completa. Não agitar vigorosamente. Antes de utilizar, homogeneizar suavemente. O plasma reconstituído é estável por 8 horas entre 2 - 8°C.

Os reagentes devem ser manuseados de acordo com as boas práticas de laboratório para evitar contaminações de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade. Para preservar o desempenho, manter os reagentes fora da temperatura de armazenamento (2 - 8°C) somente pelo tempo mínimo necessário para se obter o volume a ser utilizado.

## Precauções e cuidados especiais

Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.

O plasma de referência contém derivados de sangue humano e foi testado para a presença de HBsAg, anticorpos anti-HIV-1/HIV-2 e anti-HCV, apresentando resultados negativos. Apesar de terem sido utilizados testes validados e aprovados, nenhum deles pode assegurar que produtos derivados do sangue humano estejam livres de agentes infecciosos. Portanto, esse reagente deve ser considerado como sendo potencialmente infectante e as normas de biossegurança devem ser aplicadas na sua manipulação.

O R1 - Tampão contém azida sódica que é tóxica. Não ingerir e, no caso de contato com os olhos, lavar imediatamente com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

A azida pode formar compostos altamente explosivos com tubulações de chumbo e cobre. Portanto, utilizar grandes volumes de água para descartar o reagente.

## Material necessário e não fornecido

1. Banho-maria mantido à temperatura constante (37°C);
2. Pipetas para medir amostras e reagente;
3. Cronômetro ou coagulômetro (mecânico ou foto-ótico).

**Influências pré-analíticas** . O fibrinogênio pode estar aumentado em mulheres em uso de contraceptivos orais, em fumantes e em mulheres grávidas. Como o fibrinogênio é uma das proteínas de fase aguda, pode-se encontrar valores elevados em processos inflamatórios. Podem ocorrer reduções do fibrinogênio com o uso de clofibrato e dextran, no alcoolismo crônico e por efeito de EDTA. Não foram relatados efeitos com o uso de warfarin.

A heparina em doses terapêuticas não atua como interferente, mas em doses elevadas produz resultados diminuídos.

Congelamento e descongelamento de plasma contendo células podem gerar membranas celulares danificadas que modificam os resultados de modo imprevisível.

A presença de produtos de degradação do fibrinogênio pode prolongar os tempos de coagulação do procedimento de medição, principalmente quando a concentração de fibrinogênio é menor que 150 mg/dL.

Níveis elevados de paraproteínas, anticorpos antitrombina e drogas que ativam o sistema fibrinolítico podem interferir com a dosagem de fibrinogênio<sup>2</sup>.

## Amostra

Usar plasma colhido em citrato trissódico anidro 3,2% (109 mmol/L).

Deve ser criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleça procedimentos adequados para coleta, preparação e armazenamento da amostra. Enfatizamos que os erros devidos à amostra podem ser muito maiores que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

Considerando que a qualidade da amostra é fundamental para a exatidão dos resultados, recomenda-se a utilização dos procedimentos que se seguem<sup>3,5</sup>.

**1.** Obter o sangue por punção venosa e evitar garroteamento prolongado, hemólise, formação de bolhas e aspiração de líquido tissular (fator III). A agulha deve penetrar diretamente na veia na primeira tentativa (punção venosa não traumática). O sangue deve fluir livremente sem que seja necessário aplicar demasiada força ao êmbolo. Não realizar a determinação da concentração de fibrinogênio em amostra cuja punção for difícil (punção venosa traumática).

**2.** Coletar a amostra com seringa de plástico e centrifugar em tubos de plástico. Após remover a agulha, utilizar a porção central da amostra na seringa, deixando as porções anterior e posterior para outros testes.

**3.** No caso de sistema de coleta a vácuo, usar tubo de plástico ou vidro silicizado. Ao realizar coleta somente para testes de coagulação, coletar duas amostras. A primeira em um tubo sem anticoagulante ou em tubo contendo citrato (tampa azul) que deve ser desprezada. A segunda amostra coletada em tubo contendo citrato (tampa azul) deve ser utilizada para a realização dos testes. No caso de coleta múltipla, a amostra para testes de coagulação deverá ser obtida após a coleta de amostra em tubo sem anticoagulante e antes da coleta em tubo contendo EDTA.

**4.** Misturar 9 partes de sangue com 1 parte de citrato ou 3 mL de sangue e 1 gota de Trombstab (Labtest Ref. 45). Homogeneizar 3 ou 4 vezes por inversão suave.

**5.** Em pacientes que apresentam hematócrito maior que 55% a relação entre os volumes de sangue e de anticoagulante deve ser ajustada para garantir a exatidão do resultado.

Para calcular o volume de anticoagulante necessário em função do hematócrito e do volume de sangue, utilizar a fórmula que se segue:

Volume de anticoagulante (mL) = 0,00185 x volume de sangue (mL) x (100 - hematócrito)

**Exemplo** . Para um hematócrito de 60% usar 0,22 mL de citrato e completar para 3,0 mL com sangue. Para usar Trombstab (Labtest Ref. 45), adicionar 2 gotas a 0,5 mL de água e usar na proporção indicada pelo cálculo.

**6.** Centrifugar até 1 hora após a coleta a 3000 rpm ou 1500 g durante 15 minutos. Não é necessário remover o plasma do tubo. Manter o tubo tampado até a execução do teste para evitar mudança do pH da amostra, que pode interferir nos resultados.

**7.** Manter as amostras entre 2 - 24°C e realizar a determinação da concentração de fibrinogênio até 4 horas após a coleta. Caso exista possibilidade de congelamento rápido, o plasma, separado das células, pode ser congelado a 20°C negativos por 2 semanas ou 70°C negativos por 6 meses. Sugere-se congelar o material em alíquotas de 0,5 mL e, para evitar evaporação do material durante o período de armazenamento, utilizar frascos adequados para congelamento ("criotubos"). As amostras devem ser descongeladas rapidamente a 37°C e testadas imediatamente.

**8.** A presença de coágulos implica rejeição da amostra.

Amostras de sangue devem ser consideradas como potencialmente infectantes. Portanto, ao manuseá-las deve-se seguir as normas estabelecidas para biossegurança.

Para descartar os reagentes e o material biológico, sugerimos aplicar as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

## Interferências

Amostras ictericas, lipêmicas e hemolisadas podem modificar os resultados de modo imprevisível.

## Procedimento<sup>2</sup>

O seguinte procedimento se aplica a técnica manual. O reagente pode ser empregado para determinação do fibrinogênio utilizando equipamentos automáticos e semi-automáticos. Recomenda-se seguir exatamente as instruções de operação propostas pelos fabricantes.

**Atenção** . O R1 (Tampão) deve ser bem homogeneizado antes de preparar as diluições.

**1.** Diluir as amostras (controle ou teste) 1:10 [0,1 mL da amostra + 0,9 mL do R1 (Tampão)].

**2.** Realizar os testes em tubos de vidro rigorosamente limpos.

**3.** A temperatura do banho-maria deve estar entre 36 - 38°C.

**4.** Incubar 0,2 mL da amostra diluída por 4 a 6 minutos.

**5.** Adicionar 0,1 mL do R2 (Trombina bovina) não aquecido e disparar simultaneamente o cronômetro.

**6.** Remover o tubo, incliná-lo sucessivamente em intervalos menores que 1 segundo e observar a formação de um coágulo que interrompe a movimentação do líquido. Parar imediatamente o cronômetro e registrar o tempo. Estimar a concentração do fibrinogênio, utilizando a curva de calibração.

**Curva de calibração** . Preparar diluições do plasma de referência de acordo com a seguinte tabela:

R3 - Plasma Referência		R1 - Tampão (mL)	Fator de diluição
Diluição	Volume (mL)		
1:5	0,1	0,4	10/5 = 2,0
1:10	0,1	0,9	10/10 = 1,0
1:15	0,1	1,4	10/15 = 0,67
1:20	0,1	1,9	10/20 = 0,5
1:30	0,1	2,9	10/30 = 0,33

A diluição 1:10 do R3 (Plasma Referência) representa 100% da concentração designada para o mesmo.

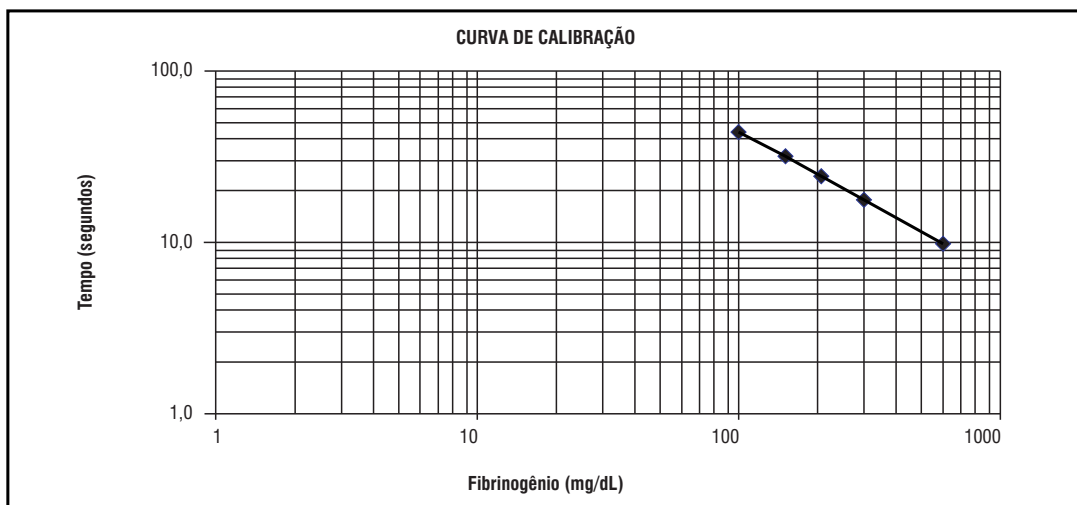
Os fatores de diluição indicados na tabela acima representam a relação entre a diluição 1:10 do R3 (Plasma Referência) e as outras diluições.

Medir, em duplicata, os tempos de coagulação de cada diluição do R3 (Plasma Referência) com exatidão de uma casa decimal (0,1 segundos) e obter a média dos tempos. Construir um gráfico em um papel log-log aplicando os valores de concentração no eixo x (abscissa) e os tempos de coagulação no eixo y (ordenada).

Para obter os valores de concentração de pacientes e controles, ler os resultados diretamente na curva de calibração.

**Exemplo** . Concentração de fibrinogênio no plasma de referência: 304 mg/dL

R3 - Plasma Referência		R1 - Tampão (mL)	Fator de diluição	Fibrinogênio (mg/dL)	Tempo em (segundos)
Diluição	Volume (mL)				
1:5	0,1	0,4	10/5 = 2,0	<b>304</b> x 2 = 608	10,0
1:10	0,1	0,9	10/10 = 1,0	<b>304</b> x 1 = 304	18,0
1:15	0,1	1,4	10/15 = 0,67	<b>304</b> x 0,67 = 204	25,0
1:20	0,1	1,9	10/20 = 0,5	<b>304</b> x 0,50 = 152	32,5
1:30	0,1	2,9	10/30 = 0,33	<b>304</b> x 0,33 = 100	44,8



**Rastreabilidade** . A concentração de fibrinogênio presente no Plasma Referência Ref. 506.3 é rastreável ao World Health Organization (WHO) - 3<sup>rd</sup> INTERNATIONAL STANDARD FIBRINOGEN PLASMA - 09/264.

**Desempenho do sistema** . O resultado do paciente e do controle somente devem ser lidos na curva de calibração se o tempo em segundos estiver contido entre o menor e o maior tempo de coagulação na curva de calibração. Se o tempo de coagulação da amostra é menor que o tempo de coagulação da diluição 1:5 da curva de calibração, repetir o teste diluindo a amostra 1:30, ler o resultado na curva de calibração e multiplicá-lo por 3. Quando o tempo de coagulação da amostra é maior que o tempo de coagulação da diluição 1:30 da curva de calibração, repetir o teste diluindo a amostra 1:3, ler o resultado na curva de calibração e multiplicá-lo por 0,3. Não utilizar diluição inferior a 1:3 porque a presença de interferentes pode produzir resultados inexatos. Se o tempo de coagulação da diluição 1:3 é maior 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.

**Sensibilidade** . A sensibilidade do sistema é definida pela diluição de 1:30 empregada no Plasma Referência utilizado na calibração.

**Exemplo** . Plasma Referência: 300 mg/dL de fibrinogênio  
Sensibilidade para o sistema: 100 mg/dL

**Controle interno da qualidade** . O laboratório deve manter um programa de controle interno da qualidade que defina claramente os regulamentos aplicáveis, objetivos, procedimentos, critérios para especificações da qualidade e limites de tolerância, ações corretivas e registro das atividades. Materiais de controle devem ser utilizados para avaliar a imprecisão e desvios da calibração. Sugere-se utilizar as especificações CLIA para os limites de erro total<sup>6</sup>.

**Intervalo de referência** . Os intervalos devem ser usados apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça, na população atendida, seus próprios intervalos de referência.

**Fibrinogênio** . 150 a 350 mg/dL

**Conversão** . Unidades convencionais (mg/dL) x 0,01 = Unidades SI (g/L).

## Características do desempenho<sup>7</sup>

**Estudos de comparação** . O método proposto foi comparado com método similar, sendo obtidos os seguintes resultados:

	Método Comparativo	Método Labtest
Número de amostras	40	40
Fibrinogênio (mg/dL)	73 - 550	87 - 550
Média das estimativas (mg/dL)	289	296
Equação da regressão	Método Labtest = 0,966 x Método Comparativo + 16,66	
Coefficiente de correlação	0,996	

Utilizando a equação da regressão, o erro sistemático total estimado na concentração de 150 mg/dL é igual a 7,8% e na concentração de 300 mg/dL é igual 2,2%.

**Estudos de precisão** . Os seguintes resultados foram obtidos nos estudos de precisão:

## Repetitividade - Imprecisão intra-ensaio

	n	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	30	146	4,17	2,86
Amostra 2	30	285	6,80	2,38

## Reprodutibilidade - Imprecisão total

	n	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	5	157	6,72	4,28
Amostra 2	5	289	7,52	2,60

**Avaliação do erro total** . O erro total (erro aleatório + erro sistemático) estimado na concentração de 150 mg/dL é igual a 16,1% e na concentração de 300 mg/dL é igual 7,3%. Os resultados indicam que o método atende à especificação CLIA para erro total ( $\leq 20,0\%$ )<sup>6</sup>.

**Significado clínico<sup>2,8</sup>** . Na deficiência congênita de fibrinogênio ocorre uma diminuição em sua síntese e o processo da coagulação não completa sua fase final porque não ocorre a conversão de fibrinogênio em fibrina. Mesmo não havendo formação de fibrina, o sangramento em pequenos vasos é minimizado por vasoconstrição e formação de trombo plaquetário. Também não ocorre alteração no sangramento menstrual. A disfunção muitas vezes se manifesta ao nascimento por sangramento do cordão umbilical e se assemelha clinicamente à deficiência de fator VIII (hemofilia A) sendo, no entanto, menos grave porque não ocorrem hemartroses como na hemofilia. Os episódios hemorrágicos podem ocorrer em consequência de traumatismos, seja em articulações ou tecidos moles. Os testes que dependem da formação de fibrina como tempo de coagulação, tempos de protrombina e trombina se mostram alterados e a dosagem de fibrinogênio revela quantidades muito reduzidas ou ausência completa do analito.

A deficiência adquirida de fibrinogênio pode ocorrer por coagulação intravascular disseminada (CID), sendo muito comum durante ou logo em seguida ao parto e se manifesta por hemorragia generalizada e incoagulabilidade do sangue. As causas mais frequentes são descolamento prematuro de placenta, embolia por líquido amniótico e retenção de feto morto. A CID ocorre também em neoplasias, destruição de órgãos internos (pancreatite aguda necro-hemorrágica), sepse (30-40%), insuficiência hepática grave, reações anafiláticas graves, traumas (politraumas, traumas neurológicos, traumas com embolismo gorduroso) e anormalidades vasculares. A dosagem de fibrinogênio utilizando o tempo de trombina é um bom indicador da deficiência de fibrinogênio nessas patologias. O fibrinogênio pode também estar diminuído na cirrose e colestase hepáticas.

Como o fibrinogênio é uma proteína de fase aguda, ele pode aumentar nas primeiras 12 horas que se seguem ao início de um processo inflamatório.

Valores continuamente elevados de fibrinogênio estão relacionados com risco elevado de trombose arterial e venosa (estado pré-trombótico ou estado de hipercoagulabilidade) e podem ser um fator independente de risco para doença arterial coronariana.

## Observações

**1.** A limpeza e secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

**2.** A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade  $\geq 1$  megaohm ou condutividade  $\leq 1$  microsiemens e concentração de silicatos  $< 0,1$  mg/L (água tipo II). Para o enxágüe da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade  $\geq 0,1$  megaohms ou condutividade  $\leq 10$  microsiemens. No enxágüe final utilizar água tipo II. Quando a coluna deionizadora está com sua capacidade saturada ocorre a produção de água alcalina com liberação de vários íons, silicatos e substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando os resultados de modo imprevisível. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

**3.** Para uma revisão das fontes fisiopatológicas e medicamentosas de interferência nos resultados e na metodologia sugere-se consultar <http://www.fxol.org>

## Referências

1. Clauss A. Acta Haemat 1957;17:237-246.
2. NCCLS. Procedure for the determination of fibrinogen in plasma; Approved guideline - Second edition. NCCLS Document H30-A2, 2001.

3. International Committee for Standardization in Hematology. Thromb Haemostas 1976;36:237-238.

4. NCCLS. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays; Approved Guideline - Fourth Edition. NCCLS document H21-A4, 2003.

5. NCCLS. Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard-Fifth Edition. NCCLS document H3-A5, 2003.

6. CLIA Requirements for Analytical Quality. Disponível em <http://www.westgard.com/cli.htm>.

7. Labtest: Dados de arquivo.

8. Leavell BS, Thorup, Jr AO. Fundamentals of Clinical Hematology. 2a. edição, WB Saunders Co:Philadelphia, 1966.

## Apresentação

Produto	Referência	Conteúdo
Fibrinogênio	506-4/2	<b>R11</b> 1 X 100 mL
		<b>R12</b> 4 X 2 mL
		<b>R13</b> 1 X 1 mL

## Informações ao consumidor

### [Termos e Condições de Garantia]

A **Labtest Diagnóstica** garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.

### **Labtest Diagnóstica S.A.**

CNPJ: 16.516.296 / 0001 - 38  
Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP 33400-000  
Lagoa Santa - Minas Gerais Brasil - [www.labtest.com.br](http://www.labtest.com.br)

**Serviço de Apoio ao Cliente** | 0800 031 34 11 (Ligação Gratuita)  
e-mail: [sac@labtest.com.br](mailto:sac@labtest.com.br)

Edição: Julho, 2016  
Ref.: 210616

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.  
Reprodução sob prévia autorização

# Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with ivd devices

	<b>Conteúdo suficiente para &lt; n &gt; testes</b> Contenido suficiente para < n > tests Contains sufficient for < n > tests		<b>Risco biológico</b> Riesgo biológico Biological risk
	<b>Data limite de utilização (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa)</b> Estable hasta (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Use by (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		<b>Marca CE</b> Marcado CE CE Mark
	<b>Material Calibrador</b> Material Calibrador Calibrator Material		<b>Tóxico</b> Tóxico Poison
	<b>Material Calibrador</b> Material Calibrador Calibrator Material		<b>Reagente</b> Reactivo Reagent
	<b>Limite de temperatura (conservar a)</b> Temperatura limite (conservar a) Temperature limitation (store at)		<b>Fabricado por</b> Elaborado por Manufactured by
	<b>Representante Autorizado na Comunidade Europeia</b> Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		<b>Número do lote</b> Denominación de lote Batch code
	<b>Consultar instruções de uso</b> Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		<b>Controle</b> Control Control
	<b>Número do catálogo</b> Número de catálogo Catalog Number		<b>Controle negativo</b> Control negativo Negative control
	<b>Adições ou alterações significativas</b> Cambios o suplementos significativos Significant additions or changes		<b>Controle positivo</b> Control positivo Positive control
	<b>Produto diagnóstico in vitro</b> Dispositivo de diagnóstico in vitro In vitro diagnostic device		<b>Controle</b> Control Control
	<b>Liofilizado</b> Liofilizado Lyophilized		<b>Corrosivo</b> Corrosivo Corrosive
	<b>Periodo após abertura</b> Periodo post-abertura Period after-opening		<b>Uso veterinário</b> Uso veterinario Veterinary use
	<b>Instalar até</b> Instalar hasta Install before		

Ref.: 140214 |