



Key Code TSMX7824B
www.oxid.com/ifu
US 1 855 2360 190
CA 1 855 805 8539
ROW +31 20 794 7071

Thrombo-Wellcotest

REF R30852601.....	 ∇ 20	ES
---------------------------	---	-----------

1. UTILIDAD
Thrombo-Wellcotest™ es un ensayo rápido semicuantitativo para la detección de los productos de la degradación de la fibrina o el fibrinógeno (PDF) en muestras de suero y orina humanos. El ensayo Thrombo-Wellcotest se ha clasificado como medianamente complicado según la Ley de mejora de los laboratorios clínicos (“Clinical Laboratory Improvement act” CLIA88).
2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

Ferri y Ferreira¹ demostraron por primera vez la existencia de los productos de la degradación del fibrinógeno (PDF) producidos naturalmente en determinados sueros patológicos; posteriormente, el desarrollo de inmunoensayos de inhibición de la hemaglutinación^{2,3} y la mejora de la sensibilidad permitieron la detección de PDF en el 95% de los individuos normales. La concentración en reposo de aproximadamente 5 µg/ml⁴ aumenta con el ejercicio⁵, la ansiedad y otras formas de estrés⁶; no obstante, estos cambios son pequeños en comparación con las concentraciones muy elevadas que se presentan en las trombosis de cualquier clase, entre las que se incluyen infartos de miocardio o trombosis venosas después de intervenciones quirúrgicas⁷, y ciertos trastornos durante el embarazo. Cualquier aumento en las concentraciones de PDF es un signo diagnóstico precoz de una tasa elevada de sedimentación de fibrina o de trombosis, y se han observado concentraciones elevadas en la embolia pulmonar.

El ensayo Thrombo-Wellcotest es especialmente útil para el diagnóstico de la coagulación intravascular diseminada⁸.

Ha sido investigado la significación de los PDF en orina. En los individuos normales, la PDF urinaria no se puede detectar, sin embargo, se han detectado concentraciones de hasta 100 µg/ml en ciertos trastornos renales⁹. Este ensayo ayuda en el diagnóstico diferencial de los pacientes con glomerulonefritis¹⁰ y en el tratamiento de pacientes con trasplantes de riñón^{11,12}.

Thrombo-Wellcotest es un ensayo sencillo y rápido para la investigación de los pacientes con factor de riesgo. Éste es un ensayo de aglutinación sobre portaobjetos en el que se mezcla 1 gota de muestra y 1 gota de suspensión de látex durante 2 minutos agitando suavemente. Una aglutinación al final del ensayo indica la presencia de al menos 2 µg/ml de PDF en la muestra analizada. Se puede determinar la concentración aproximada de PDF mediante el análisis de las muestras en 2 diluciones diferentes.

El ensayo Thrombo-Wellcotest puede detectar la presencia de los productos principales de la degradación de la fibrina o el fibrinógeno. Las concentraciones obtenidas con este ensayo de látex se correlacionan bien con los resultados obtenidos con los inmunoensayos de inhibición de la hemaglutinación^{13,14,15}.

3. PRINCIPIOS BIOLÓGICOS DEL PROCEDIMIENTO
--

Se obtienen anticuerpos contra preparaciones altamente purificadas de los fragmentos D y E del fibrinógeno humano. Después de absorber la fase sólida para eliminar los anticuerpos frente a las demás proteínas séricas, se extraen los anticuerpos específicos y con ellos se recubren por adsorción, las partículas de látex en suspensión en un tampón con solución salina con glicina.

La sensibilidad del reactivo de látex está ajustada de manera que, en presencia de concentraciones de PDF de al menos 2 µg/ml (equivalente al fibrinógeno), las partículas de látex se agrupan para formar aglutinaciones macroscópicas.

4. REACTIVOS	
CONTENIDO DEL KIT	
Thrombo-Wellcotest	20 ensayos (HA13/R30852601)
1. Suspensión de látex	1 frasco cuentagotas (tapón blanco)
2. Control positivo (suero)	1 frasco cuentagotas (tapón rojo)
3. Control negativo (suero)	1 frasco cuentagotas (tapón azul)
4. Tubos de recogida de muestras	20
5. Tampón con solución salina con glicina	2 frascos cuentagotas (tapón blanco)
6. Portaobjetos	1
7. Pipetas desechables	25
8. Bastoncillos para mezclar desechables	1 paquete
9. Bulbo de goma	1
10. Instrucciones de uso	1

DESCRIPCIÓN, PREPARACIÓN PARA EL USO Y ALMACENAMIENTO

Si desea más información, consulte el apartado **Advertencias y precauciones** en este prospecto.



Si el kit Thrombo-Wellcotest se almacena a una temperatura entre 2° y 8°C, los reactivos se mantendrán activos al menos hasta la fecha de caducidad impresa en las etiquetas del envase. Los tubos de recogida de muestras y el tampón con solución salina con glicina se pueden almacenar a una temperatura entre 2° y 25°C.

Antes del uso, no es necesario purificar ni tratar los reactivos.

LÁTEX	Suspensión de látex:
	3 ml de suspensión al 0,75% de partículas de látex de poliestireno recubiertas de globulinas (de oveja) frente a la PDF en tampón con solución salina con glicina. Conservantes: Azida sódica al 0,1% y Micr-o-protect® al 0,4%.
CONTROL 	Control positivo (suero):
	1 ml de suero humano diluido en tampón con solución salina con glicina sin reactividad HBSAg, ni reactividad de anticuerpos frente a VIH-1/VIH-2 ni VHC. Conservante: Azida sódica al 0,1%.
CONTROL 	Control negativo (suero):
	1 ml de suero humano diluido en tampón con solución salina con glicina sin reactividad HBSAg, ni reactividad de anticuerpos frente a VIH-1/VIH-2 ni VHC. Conservante: Azida sódica al 0,1%.

	Tubos de recogida de muestras:
	20 tubos de vidrio con inhibidor de tripsina de soja (aproximadamente 3600 unidades NF/tubo) y veneno de <i>Bothrops atrox</i> (> 10 µg/tubo) para la recogida de 2 ml de sangre u orina.
GLYCINE SALINE	Tampón con solución salina con glicina:
	2 frascos (25 ml) con un pH del 8,2. Conservante: Azida sódica al 0,1%.

5. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES
IVD

Para uso exclusivo en diagnóstico *in vitro*.

Sólo para uso profesional.

Para más información sobre los componentes potencialmente peligrosos, consulte la ficha de seguridad del fabricante y el etiquetado de los productos.

PRECAUCIONES DE SEGURIDA

- ATENCIÓN: Este kit contiene componentes de origen humano. Al no existir métodos de análisis que garanticen la inocuidad de materiales de origen humano, todos los materiales de origen humano deberán considerarse como potencialmente infecciosos. El suero humano utilizado para producir los controles ha sido analizado y no se ha encontrado reactividad HBSAg, ni reactividad de anticuerpos frente a VIH ni VHC. Manipule los reactivos de origen humano y las muestras de acuerdo con los Procedimientos normalizados de trabajo.
- La suspensión de látex, los sueros de control positivo y negativo y el tampón con solución salina con glicina contienen azida sódica al 0,1%. Las azidas pueden reaccionar con el cobre y el plomo de algunas cañerías y formar sales explosivas. Aunque la cantidad usada en este kit sea mínima, se recomienda eliminar los materiales que contengan azidas junto con grandes cantidades de agua.
- Los tubos de recogida de muestras contienen concentraciones bajas de sustancias nocivas. No se debe respirar el polvo y debe evitarse el contacto con los ojos.
- Después del uso, los materiales no desechables se deben esterilizar. El método recomendado es la esterilización con autoclave a una temperatura de 121°C durante al menos 15 minutos. Los materiales desechables se deben esterilizar con autoclave o incinerar. Las salpicaduras de los materiales potencialmente infecciosos se deben eliminar inmediatamente con papel absorbente y se debe limpiar la zona contaminada con un desinfectante bactericida adecuado o con alcohol al 70%. NO utilice hipoclorato de sodio. Los materiales utilizados para limpiar las salpicaduras, incluidos los guantes, se deben eliminar de igual modo que los desechos potencialmente infecciosos.
- Utilice guantes desechables y protección para los ojos cuando manipule las muestras y realice el ensayo. Lávese bien las manos cuando haya terminado el análisis.

PRECAUCIONES DE MANIPULACIÓN

- El ensayo se debe realizar en condiciones de temperatura ambiente óptimas (entre 20° y 25°C); para ello, deje que los reactivos alcancen temperatura óptima antes del uso.
- Antes del análisis, la suspensión de látex se debe mezclar bien agitándola con fuerza entre 3 y 4 veces. Los reactivos de látex que presenten agregación cuando se dispensen por primera vez pueden haber estado congelados y no se deben utilizar. Si el látex no reacciona de la manera adecuada con los controles positivo y negativo, esto es indicio de una descomposición de 1 o más de los reactivos.
- Es importante mantener los frascos con cuentagotas en posición vertical y que las gotas se formen en la punta del cuentagotas. Si la boca del frasco se humedece, séquela antes de proseguir con el ensayo, ya que se formaría un volumen incorrecto alrededor del extremo del cuentagotas y no en la punta.
- Los controles de suero se suministran diluidos y listos para su uso (no es necesario prepararlos).
- Antes de utilizaro, el portaobjetos se debe limpiar siguiendo los procedimientos de laboratorio vigentes.

RECOGIDA Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS PARA EL ANÁLISIS

Muestras de suero:

Recoja la muestra de sangre por venipuntura de individuos en reposo utilizando una jeringa seca **sin causar una oclusión prolongada de la vena**. Inyecte 2 ml de la muestra de sangre a través del tapón en uno de los tubos de recogida de muestras suministrado con el kit o quite el tapón y añada 2 ml de la muestra de sangre. Se pueden recoger cantidades más pequeñas de sangre (no menos de 0,5 ml) de niños en tubos de recogida de muestras.

Mezcle inmediatamente los tubos invirtiéndolos suavemente varias veces, después de lo cual, la sangre se coagula. No agite el tubo mientras la sangre se está coagulando. Los tubos de recogida de muestras se pueden utilizar con el sistema Vacutainer® y se pueden utilizar con agujas especiales en lugar de una jeringa normal.

Asegúrese de etiquetar el tubo claramente con la identificación correcta del paciente.

Separe el coágulo de la pared para permitir la retracción y deje reposar el tubo a temperatura ambiente (entre 20° y 25°C) o a una temperatura de 37°C entre 30 y 60 minutos, hasta que pueda aspirar algunas gotas de suero con una pipeta Pasteur. Puede acelerar la separación del suero mediante centrifugación. Si es necesario, puede aclarar mediante centrifugación el suero separado.

Los tubos de recogida de muestras contienen veneno de *Bothrops atrox* que causa la coagulación rápida y total, incluso en presencia de heparina y de otras antitrombinas^{16,17}.

Después de la recogida del suero centrifugado, la muestra se puede almacenar antes del ensayo a una temperatura entre 2° y 8°C hasta 1 semana o a una temperatura entre -15° y -25°C durante períodos de tiempo más prolongados.

NOTA: Se puede observar una cierta hemólisis en las muestras, que no afecta a la capacidad del ensayo Thrombo-Wellcotest para detectar PDF en las muestras ni causa resultados positivos falsos.

Con este ensayo no se pueden utilizar muestras de sangre recogidas sin inhibidor de enzimas.

Muestras de orina:

Transfiera 2 ml de orina a un tubo de recogida de muestras PDF (suministrado con este kit) etiquetado con el nombre del donante. Mezcle bien el contenido invirtiendo el tubo tapado varias veces. Los tubos de recogida de muestras contienen veneno de *Bothrops atrox* e inhibidor de enzimas. Si la orina contuviese sangre debido a trastornos renales, deje reposar el tubo durante al menos 30 minutos a temperatura ambiente (entre 20° y 25°C) para asegurarse de eliminar todos los materiales coagulables. La presencia de inhibidor en los tubos evita la degradación que

se pueda producir durante la incubación. La orina contaminada con sangre (especialmente de la menstruación) puede contener concentraciones de PDF que no son representativas del estado de los riñones; por lo tanto, no analice estas muestras, aunque, en este caso, los resultados negativos pueden ser aceptables.

Filtre la orina con un disco de fibra de vidrio (Whatman GF/B o equivalente) o con un filtro con membrana (el tamaño de los poros debe ser igual o inferior a 8 µm). También puede congelar la orina a una temperatura entre -15° y -25°C durante una noche, descongelarla y centrifugarla si el ensayo no es urgente. Si no trata las muestras de orina de esta manera, puede obtener resultados positivos falsos a una dilución de hasta 1:4.

Si manipula las muestras de sangre y orina de la manera antes indicada, no se necesitan otros aditivos para conservar las muestras íntegras.

La presencia de factor reumatoide en las muestras de suero puede causar en contadas ocasiones falsos positivos en análisis PDF posteriores con el ensayo Thrombo-Wellcotest, por lo que los resultados de los pacientes que puedan tener artritis reumatoidea se deben interpretar con cuidado.

Las sustancias que puedan estar presentes en la orina y que causan aglutinaciones falsas se pueden eliminar realizando uno de los métodos antes indicados.

Antes del análisis, las muestras de orina se deben almacenar a una temperatura entre -15° y -25°C (bajo estas condiciones la concentración de PDF no varía durante períodos de tiempo prolongados). Después de la descongelación, no se deben volver a congelar las muestras, sino que se deben almacenar a una temperatura entre 2° y 8°C.

6. PROCEDIMIENTO



EXTRACCIÓN DEL TAPÓN HEMOGARD:

- Sujetar el tubo de toma de muestra con una mano, colocando el pulgar debajo del tapón HEMOGARD.
- Con la otra mano sujetar el tapón HEMOGARD como enseña la figura.
- Girar y tirar del tapón HEMOGARD con una mano presionando a la vez sobre el mismo con el pulgar de la otra.

NOTA: NO SE RECOMIENDA EL USO DE UNA SOLA MANO PARA RETIRAR EL TAPÓN HEMOGARD

Si la protección exterior de plástico y el tapón de goma se separasen, no volver a ensamblar. Retire el tapón de goma del tubo con cuidado.

Todas las muestras de sangre y los materiales utilizados en su extracción o almacenamiento deben manipularse cuidadosamente, y ser desechados según las normas de seguridad vigentes en cada país o centro hospitalario.

REPOSICIÓN DEL TAPÓN HEMOGARD:

- Con una mano, sujetar el tubo de toma de muestra.
- Con la otra mano, colocar el tapón HEMOGARD sobre el tubo y presionar suavemente hasta su completa fijación.

FORMA DE UTILIZACION

De cara a asegurar una correcta toma de la muestra, y para evitar el posible derrame de reflujo desde el tubo, es importante tomar las siguientes precauciones:

- Escoger el lugar para la punción.
- Aplicar el torniquete. Preparar la zona con el antiséptico apropiado.
- Realizar la punción con el brazo del paciente hacia abajo, de forma que el tapón del tubo quede hacia arriba.
- Empujar el tubo hasta el fondo del portatubos, perforando así el tapón.
- Quitar el torniquete cuando la sangre empiece a llenar el tubo.
- El contenido del tubo no debe entrar en contacto con la aguja durante la operación.

ORDEN DE EXTRACCION RECOMENDADA:

- Tubos de hemocultivo.
- Tubos sin aditivos.
- Tubos de coagulación.
- Tubos con aditivos.

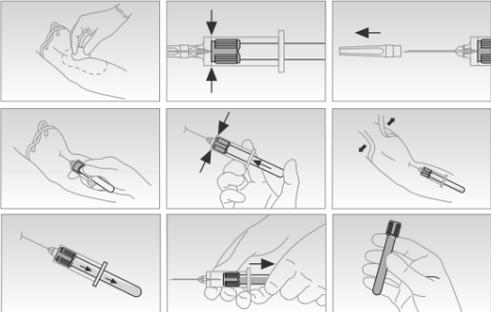
No recomendado para determinaciones de zinc salvo que se indique en la etiqueta.

MATERIALES SUMINISTRADOS:

Thrombo-Wellcotest contiene materiales suficientes para realizar 20 ensayos. Consulte el apartado **Contenido del kit** en este prospecto.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

NOTA: Todos los ensayos se deben realizar a temperatura ambiente óptima (entre 20° y 25°C).



Procedimiento cualitativo para las muestras de suero
1. Compruebe que la muestra no contenga células ni fibrina. Diluya las muestras de suero de la manera siguiente:
2. Numere 2 tubos pequeños de vidrio o de plástico como 1 y 2, respectivamente, e identifique de la misma manera 2 círculos sobre el portaobjetos.

- Con un cuentagotas graduado (suministrado con el frasco de tampón) dispense 0,75 ml de tampón con solución salina con glicina en cada tubo.
- Con una de las pipetas desechables con el bulbo suministrado dispense 5 gotas de la muestra de suero en el tubo nº 1 y 1 gota en el tubo nº 2.
- Mezcle el contenido de cada tubo, que ahora contienen diluciones de la muestra de suero al 1:5 y al 1:20, respectivamente. Limpie la pipeta desechable con un poco de agua o solución salina y transfiera con ella 1 gota del tubo nº 2 al círculo nº 2 del portaobjetos y 1 gota del tubo nº 1 al círculo nº 1. (Pipetee las gotas de muestra en este orden.)
- Mezcle bien la suspensión de látex agitándola entre 3 y 4 veces y, a continuación, añada 1 gota de la suspensión en cada círculo del portaobjetos.
- Agite las mezclas de suero/látex comenzando por la mezcla del círculo nº 2. Extienda el líquido en los círculos con un bastoncillo para mezclar desechable.
- Agite suavemente el portaobjetos durante exactamente 2 minutos mientras examina la aglutinación macroscópica. Como ocurre con todas las reacciones de aglutinación sobre portaobjetos, los resultados se observan mejor en luz natural difusa. Sin embargo, las aglutinaciones obtenidas con el ensayo Thrombo-Wellcotest son fácilmente observables y reconocibles bajo iluminación normal. No utilice lupa. Determine la presencia o ausencia de aglutinación inmediatamente después de agitar el portaobjetos durante 2 minutos. Si deja que la reacción se produzca durante más tiempo, se pueden obtener resultados falsos debidos a que la mezcla se ha secado en el portaobjetos.

Procedimiento cualitativo para las muestras de orina

- Compruebe que la muestra no parezca turbia ni que presente precipitados. Diluya las muestras de orina de la manera siguiente:
- Coja un tubo pequeño de vidrio o de plástico e identifique 2 círculos del portaobjetos como 1 y 2.
- Con un cuentagotas graduado (suministrado con el frasco de tampón) dispense 0,75 ml de tampón con solución salina con glicina en cada tubo.
- Con una de las pipetas desechables con el bulbo suministrado dispense 4 gotas de la muestra de orina en el tampón del tubo y dispense 1 gota de orina sin diluir en el círculo nº 1 del portaobjetos. Devuelva la orina sobrante al recipiente original.
- Mezcle el contenido del tubo (diluido aproximadamente al 1:5) aspirando repetidamente con la pipeta desechable y, a continuación, dispense 1 gota de la dilución en el círculo nº 2 del portaobjetos.
- Mezcle bien la suspensión de látex agitándola entre 3 y 4 veces y, a continuación, añada 1 gota de la suspensión en cada círculo del portaobjetos.
- Agite las mezclas de orina/látex comenzando por la mezcla del círculo nº 2. Extienda el líquido en los círculos con un bastoncillo para mezclar desechable.
- Agite suavemente el portaobjetos durante exactamente 2 minutos mientras examina la aglutinación macroscópica. Como ocurre con todas las reacciones de aglutinación sobre portaobjetos, los resultados se observan mejor en luz natural difusa. Sin embargo, las aglutinaciones obtenidas con el ensayo Thrombo-Wellcotest son fácilmente observables y reconocibles bajo iluminación normal. No utilice lupa. Determine la presencia o ausencia de aglutinación inmediatamente después de agitar el portaobjetos durante 2 minutos. Si deja que la reacción se produzca durante más tiempo, se pueden obtener resultados falsos debidos a que la mezcla se ha secado en el portaobjetos.

Debido a las diferencias de las propiedades del suero y de la orina, el volumen de 1 gota de suero es inferior al volumen de 1 gota de orina al dispensarlas con las pipetas suministradas. Por esta razón, los procedimientos para preparar las diluciones al 1:5 de suero y de orina no son iguales.

Procedimiento semicuantitativo para las muestras de suero

- Prepare una dilución al 1:10 de la muestra de suero añadiendo 0,1 ml de suero a 0,9 ml de tampón con solución salina con glicina en un tubo.
- Diluya la muestra en serie (cada dilución debe doblar la dilución anterior) desde una dilución al 1:10 hasta obtener una dilución al 1:320 de la manera siguiente:

	Tubo: nº 1	nº 2	nº 3	nº 4	nº 5	nº 6
Sol. salina con glicina:	0,9 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
Suero:	0,1 ml					
	Dilución: 1:10 1:20 1:40 1:80 1:160 1:320					

- Transfiera 1 gota de cada dilución comenzando por la dilución al 1:320 para separar los círculos en el portaobjetos, mediante la pipeta desechable y el bulbo suministrados.
- Mezcle bien la suspensión de látex agitándola entre 3 y 4 veces y, a continuación, añada 1 gota de la suspensión en cada círculo del portaobjetos.
- Con un bastoncillo para mezclar desechable, agite las mezclas de suero/látex comenzando por la dilución más alta.
- Agite suavemente el portaobjetos durante exactamente 2 minutos mientras examina la aglutinación macroscópica.
- El título de punto final es la última dilución de la muestra de suero en la que aparece aglutinación evidente.

Procedimiento semicuantitativo para las muestras de orina

- Prepare una dilución al 1:2 de la muestra de orina añadiendo 0,5 ml de orina a 0,5 ml de tampón con solución salina con glicina en un tubo.
 - Diluya la muestra en serie (cada dilución debe doblar la dilución anterior) desde una dilución al 1:2 hasta obtener una dilución al 1:64 de la manera siguiente:
- | | | | | | | |
|--------------------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|
| | Tubo: nº 1 | nº 2 | nº 3 | nº 4 | nº 5 | nº 6 |
| Sol. salina con glicina: | 0,5 ml | 0,5 ml | 0,5 ml | 0,5 ml | 0,5 ml | 0,5 ml |
| Orina: | 0,5 ml | | | | | |
| | | | | | | |
| | Dilución: 1:2 1:4 1:8 1:16 1:32 1:64 | | | | | |
- Transfiera 1 gota de cada dilución comenzando por la dilución al 1:64 para separar los círculos en el portaobjetos, mediante la pipeta desechable y el bulbo suministrados.
 - Mezcle bien la suspensión de látex agitándola entre 3 y 4 veces y, a continuación, añada 1 gota de la suspensión en cada círculo del portaobjetos.

- Con un bastoncillo para mezclar desechable, agite las mezclas de orina/látex comenzando por la dilución más alta.
- Agite suavemente el portaobjetos durante exactamente 2 minutos mientras examina la aglutinación macroscópica.
- El título de punto final es la última dilución de la muestra de orina en la que aparece aglutinación evidente.

7. RESULTADOS

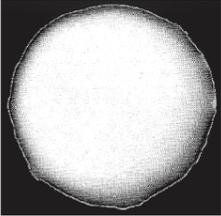
Los resultados de este ensayo siempre se deben interpretar conjuntamente con la historia clínica del paciente, la presentación clínica y otros datos.

LECTURA DE LOS RESULTADOS

Nota: Los resultados numéricos que se muestran más adelante son sólo una aproximación.

Las reacciones POSITIVAS se indican por el desarrollo de aglutinaciones en los 2 minutos en los que se mezclan las suspensiones de látex con las muestras, en las que se observa una aglutinación visible de las partículas de látex (consulte la ilustración 2). La rapidez y la calidad de la aglutinación dependen de los antígenos, por lo que pueden aparecer aglutinaciones mayores a los pocos segundos de comenzar a mezclar o aglutinaciones pequeñas que necesitan más tiempo para aparecer.

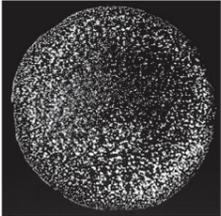
En las reacciones NEGATIVAS, el látex no se aglutina y el aspecto lechoso apenas cambia durante todo el análisis de 2 minutos (consulte la ilustración 1). Sin embargo, debe tener en cuenta que se puede observar una granulosis débil en las muestras negativas dependiendo de la capacidad visual del usuario.



Reacción típica

(Ilustración 1)

Sin aglutinación



(Ilustración 2)

Con aglutinación

Resultados cualitativos

Muestras de suero:

El ensayo Thrombo-Wellcotest está ajustado a una sensibilidad de 2 µg/ml, por lo que una **aglutinación** en cualquier círculo del portaobjetos indica una concentración de PDF de 2 µg/ml o superior en la dilución de suero de ese círculo. Debido a que las muestras de los círculos nº 1 y nº 2 están diluidas aproximadamente al 1:5 y al 1:20, respectivamente, un resultado positivo en el círculo nº 1 indica que en la muestra de suero hay una concentración de PDF de 10 µg/ml o superior, mientras que una aglutinación en el círculo nº 2 indica que la concentración es de 40 µg/ml o superior.

Nota: Si aparece una aglutinación en el círculo nº 2, también debe aparecer una aglutinación en el círculo nº 1; en caso contrario, el ensayo no se ha realizado correctamente y se debe repetir.

Muestras de orina:

El ensayo Thrombo-Wellcotest está ajustado a una sensibilidad de 2 µg/ml, por lo que una **aglutinación** en cualquier círculo del portaobjetos indica una concentración de PDF de 2 µg/ml o superior en la dilución de ese círculo. Debido a que la orina se analiza sin diluir en el círculo nº 1 y a una dilución al 1:5 en el círculo nº 2, un resultado positivo en el círculo nº 1 indica que en la muestra de orina hay una concentración de PDF de 2 µg/ml o superior, mientras que una aglutinación en el círculo nº 2 indica que la concentración es de 10 µg/ml o superior.

Nota: Si aparece una aglutinación en el círculo nº 2, también debe aparecer una aglutinación en el círculo nº 1; en caso contrario, el ensayo no se ha realizado correctamente y se debe repetir.

Ejemplos

Muestra 1 - Suero

Resultado con una dilución al 1:5 (círculo 1): positivo.

Resultado con una dilución al 1:20 (círculo 2): positivo.

Por lo tanto, el suero contiene al menos 2 µg/ml en la dilución al 1:20 y la concentración de PDF es de 40 µg/ml o superior.

Muestra 2 - Orina

Resultado con una muestra sin diluir (círculo 1): positivo.

Resultado con una dilución al 1:5 (círculo 2): negativo.

Por lo tanto, la orina sin diluir contiene al menos 2 µg/ml, pero menos de 2 µg/ml en la dilución al 1:5. La concentración de PDF en la orina se encuentra en el intervalo entre 2 µg/ml y 10 µg/ml.

Resultados semicuantitativos

Cálculo de los resultados

Las concentraciones de PDF en suero y orina se calculan multiplicando la dilución del título de punto final por 2 µg/ml.

Ejemplo: Suero

	1/10e	1/20e	1/40e	1/80e	1/160e	1/320e
	+++	++	+	+	-	-

Concentración de PDF: 80 x 2 = 160 µg/ml (aproximadamente).

CONTROL DE CALIDAD

Los reactivos son bastante estables, por lo que habitualmente no es necesario incluir controles positivo y negativo en cada sesión analítica. Sin embargo, si han transcurrido varios días desde el último análisis, se recomienda que compruebe el funcionamiento del ensayo analizando la suspensión de látex con los controles diluidos suministrados con el kit. Dispense 1 gota de cada control en el portaobjetos y siga con el **procedimiento cualitativo** del ensayo a partir del paso 6. El control positivo se debe aglutinar, mientras que el negativo no se aglutina. Si es necesario que el procedimiento semicuantitativo sea más preciso, se recomienda que utilice una preparación de referencia adecuada con cada ensayo.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Las concentraciones de PDF obtenidas con Thrombo-Wellcotest se correlacionan bien (r = 0,95) con los resultados obtenidos con inmunoensayos convencionales de inhibición de la hemaglutinación. Entre las muestras analizadas se incluyó plasma desfibrinado¹³, muestras de suero de pacientes con enfermedades renales y hepáticas, con carcinoma, hipertiroidismo, embolia pulmonar¹⁴, infarto tromboembólico y de miocardio¹⁵ y muestras de orina de individuos normales y muestras de pacientes con trasplantes renales recientes¹².

Por lo tanto, se deben interpretar los resultados del ensayo

Thrombo-Wellcotest de la misma manera que los resultados de los inmunoensayos de inhibición de la hemaglutinación.

Concentración de PDF en suero

Debido a que la concentración normal de PDF en suero es de 4,9 ± 2,8 µg/ml⁴, las muestras con concentraciones normales o ligeramente elevadas pueden presentar resultados negativos (no se produce la aglutinación) en las 2 diluciones analizadas según el procedimiento antes descrito. Aunque se han observado concentraciones no muy elevadas en muestras de pacientes con diversas enfermedades, los ensayos de cribado para PDF en suero pueden ser de importancia para el diagnóstico en la coagulación intravascular diseminada⁸ y en la enfermedad obstructiva vascular aguda, ya que ambas enfermedades son muy difíciles de detectar con fiabilidad sólo con un examen clínico¹⁹.

La **coagulación intravascular diseminada** (CID) se asocia con una disminución de la concentración circulante de fibrinógeno y de muchos factores de coagulación, y con un aumento en la deposición de fibrina y con la aparición de una concentración de PDF elevada en el suero como consecuencia de una fibrinólisis secundaria²⁰. Existen muchas condiciones que pueden causar la coagulación intravascular diseminada como, por ejemplo, shock, hipertermia, daño tisular extendido, mordeduras de serpientes, complicaciones del embarazo y hemólisis intravascular aguda, en la que se incluye las reacciones a transfusiones hemolíticas²¹. La determinación de la PDF circulante junto con otros ensayos para detectar la coagulación (la cuantificación de las plaquetas, el tiempo de protrombina, el tamaño y la estabilidad del coágulo, etc.) pueden servir para diagnosticar la coagulación intravascular diseminada y distinguirla de una enfermedad clínicamente parecida aunque mucho menos frecuente, la **fibrinogenólisis patológica**²².

La **embolia pulmonar** se asocia con un aumento marcado en la concentración de PDF hasta niveles superiores a 40 µg/ml, aunque las concentraciones máximas son temporales y puede que no se observen, a menos que se recojan muestras de suero a intervalos inmediatamente después del supuesto ataque¹⁹. En los casos de **trombosis venosa profunda** se suelen observar concentraciones medias entre 10 µg/ml y 40 µg/ml y, en algunas ocasiones, de hasta 100 µg/ml si se ha producido una coagulación masiva. En cambio, el estudio detallado mediante venografía y gammagrafía después de inyectar fibrinógeno marcado con ¹³¹I ha demostrado que los pacientes que pueden tener trombosis venosa profunda, pero que posteriormente no se confirma, raramente presentan niveles de PDF superiores a 10 µg/ml.

El **infarto de miocardio** se asocia con concentraciones elevadas de PDF en suero en el intervalo entre 40 µg/ml y 160 µg/ml un día o 2 días después del infarto. Después de que la concentración máxima haya disminuido, la monitorización posterior de los niveles en el suero puede advertir de la extensión del infarto o complicaciones trombóticas secundarias¹. Existen pruebas de que las concentraciones de PDF en suero observadas durante el estadio agudo están relacionadas con la frecuencia de las complicaciones posteriores²³.

Concentración de PDF en orina

La orina contiene normalmente menos de 0,25 µg/ml de PDF⁹, por lo cual se obtienen resultados negativos (no se produce aglutinación) en ambos círculos cuando se analizan de la manera descrita anteriormente. Los pacientes con **enfermedades renales** presentan concentraciones elevadas y existen pruebas de que las determinaciones diarias de PDF en suero²⁴ o en orina proporcionan información clínica útil sobre el tipo, la actividad y la gravedad de la enfermedad¹⁰. La efectividad de determinados fármacos en el tratamiento de glomerulonefritis proliferativas se puede monitorizar controlando la excreción de PDF durante el período de administración²⁵. De manera parecida, cuando se produce un rechazo después de un **trasplante de riñón**, las concentraciones de PDF pueden aumentar rápidamente hasta alcanzar niveles de 75 µg/ml^{9,15}. Si se monitorizan las concentraciones de PDF en orina, se puede detectar el comienzo del rechazo antes de que se manifieste de otras formas¹². La concentración desciende rápidamente cuando se reanuda el tratamiento inmunosupresivo¹¹. En el caso de **infección del tracto urinario**, la determinación de PDF en orina puede ser útil para localizar la infección, ya que las concentraciones elevadas se asocian con las infecciones del tracto superior y los pacientes con infecciones de vejiga presentan concentraciones normales²⁶.

8. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

En las muestras de suero, la presencia del factor reumatoide puede interferir con el ensayo y causar falsos positivos. Si se supone que el paciente tiene artritis reumatoide, se recomienda que realice un ensayo para la detección del factor reumatoide junto con el ensayo Thrombo-Wellcotest. Si el resultado del ensayo es negativo, la concentración de PDF es válida. Sin embargo, si ambos ensayos presentan resultados positivos, la concentración de PDF debe interpretarse con cuidado.

Las interferencias del factor reumatoide se pueden eliminar reduciendo el suero con ditiotreitol o con 2-mercaptoetanol¹⁸. Ciertas sustancias que pueden estar presentes en la orina pueden causar aglutinaciones inespecíficas. Estas sustancias interferentes se pueden eliminar de la manera descrita en el apartado **Recogida de las muestras**, bajo el título **Muestras de orina**, en este prospecto.

9. RESULTADOS PREVISTOS

El látex Thrombo-Wellcotest se aglutinará en presencia de PDF con una concentración de 2 µg/ml o mayor.

10. CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DEL FUNCIONAMIENTO

El ensayo Thrombo-Wellcotest puede detectar el fibrinógeno y todos los antígenos relacionados (monómeros de la fibrina y los fragmentos X, Y, D y E) en muestras de plasma, suero y orina humanos. La sensibilidad del ensayo está estandarizada en 2 µg/ml de PDF, pero la reactividad frente a las moléculas del fibrinógeno intactas puede variar entre los lotes. Se recomienda que si utiliza el ensayo Thrombo-Wellcotest para otros fines diferentes a la determinación de PDF en muestras de suero u orina de la manera descrita en este prospecto, se utilice con cada lote de reactivos una preparación estándar del material adecuado.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Ferri, R.G. and Ferreira, H.C.** (1963). Immunochemical studies of the circulating products of fibrinogenolysis in certain pathological conditions. *Vox Sang.* (Basel), **8**, 356.
- Merskey, C., Kleiner, G.J., et al** (1966). Quantitative estimation of split products of fibrinogen in human serum, relation to diagnosis and treatment. *Blood*, **28**, 1.
- Murkami, M.** (1965). An Immunological method for demonstrating fibrin or fibrinogen degradation products in the circulating blood. *Acta haemat. Jap.*, **28**, 341.
- Das, P.C., Allan, A.G.E., et al** (1967). Fibrin degradation products in sera of normal subjects. *Brit. Med. J.*, **4**, 718.
- Cash, J.D.** (1966). Effect of moderate exercise on the fibrinolytic system in normal young men and women. *Brit. Med. J.*, **2**, 502.

- Chakrabarti, R., Hocking, E.D., et al** (1969). Reaction pattern to three stresses-electoplexy, surgery, and myocardial infarction-of fibrinolysis and plasma fibrinogen. *J. Clin. Path.*, **22**, 659.

- Cash, J.D., Woodfield, D.G., et al** (1969). Diagnosis of suspected or occult pulmonary embolus. *Brit. Med. J.*, **2**, 576.

- Ellman, L., Carvalho, A., et al** (1973). The Thrombo-wellcotest as a screening test for disseminated intravascular coagulation. *New Engl. J. med.*, **288**, 633.

- Clarkson, A.R., Morton, J.B., et al** (1970). Urinary fibrin/fibrinogen degradation products after renal homotransplantation. *Lancet*, **2**, 1220.

- Clarkson, A.R., MacDonald, M.K., et al** (1971). Serum and urinary fibrin/fibrinogen degradation products in glomerulonephritis. *Brit. Med. J.*, **3**, 447.

- Cash, J.D. and Clarkson, A.R.** (1971). 45. Serum and urinary fibrin/ fibrinogen degradation products in renal disease. *Scand. J haemat., Suppl.* **13**, 331.

- Hulme, B. and Pitcher, P.M.** (1973). Rapid latex-screening test for the detection of fibrin-fibrinogen degradation products in urine after renal transplantation. *Lancet*, **1**, 6.

- Arocha-Pinango, C.L.** (1972). A comparison of the TRCII and latex-particle tests for the titration of FR-antigen. *J. Clin. Path.* **25**, 757.

- Garvey, M.B. and Black, J.M.** (1972). The detection of fibrinogen/ fibrin degradation products by means of a new antibody-coated latex particle. *J. Clin. Path.*, **25**, 680.

- Pitcher, P.M.** (1972). The detection of fibrinogen degradation products (FDP) in serum and urine. *Canad. J. Med. Tech.*, **34**, 166.

- Blombäck, B., Blombäck, M., et al** (1957). Coagulation studies on “Reptilase”, an extract of the venom from Bothrops jararaca. *Throm. et diath. haem.*, **1**, 76.

- Latallo, Z.S. and Teisseyre, E.** (1971). Evaluation of Reptilase R and thrombin clotting time in the presence of fibrinogen degradation products and heparin. *Scand. J. Haemat., Suppl.* **13**, 261.

- Rutstein, J.E., Holahan, J.R., et al** (1978). Rhematoid factor interference with the latex agglutination test for fibrin degradation products. *J. Lab. Clin. Med.*, **92**, 529.

- Ruckley, C.V., Das, P.C., et al** (1970). Serum fibrin/fibrinogen degradation products associated with postoperative pulmonary embolus and venous thrombosis. *Brit. Med. J.*, **4**, 395.

- Merskey, C., Johnson, A.J., et al** (1967). The defibrination syndrome: Clinical features and laboratory diagnosis. *Brit. J. Haemat.*, **13**, 528.

- Sack, E.S. and Nefa, O.M.** (1970). Fibrinogen and fibrin degradation products in Hemolytic transfusion reactions. *Transfusion*, **10**, 317.

- Marder, V.J.** (1971). Pathophysiology and therapy of disseminated intravascular coagulation. *Rational Drug Therapy*, **5/12**, 1.

- Baele, G., Mussche, M., et al** (1972). Serum fibrin/fibrinogen degradation products in acute myocardial infarction. *Lancet*, **1**, 689.

- Briggs, J.D., Prentice, C.R.M., et al** (1972). Serum and urine fibrinogen-fibrin-related antigen (F.R.-antigen) levels in renal disease. *Brit. Med. J.* **4**, 82.

- Clarkson, A.R., MacDonald, M.K., et al** (1972). Modification by drugs of urinary fibrin/fibrinogen degradation products in glomerulonephritis. *Brit. Med. J.*, **3**, 255.

- Whitworth, J.A., Fairley, K.F., et al** (1973). Urinary fibrin-degradation products and the site of urinary infection. *Lancet*, **1**, 234.

12. ENVASE

REF HA13/R3085260120 ensayos

13. LEYENDA DE LOS SÍMBOLOS

REF	Nº del catálogo
IVD	Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro
	Consultar las instrucciones de uso
	Límite de temperatura (Temp. de almacenamiento)
	Contenido suficiente para <n> ensayos
	Atención
	No volver a utilizar
STERILE R	Método de esterilización mediante irradiación
LOT	Código del lote (nº de lote)
	Fecha de caducidad
	Fabricado por

	Remel Europe Ltd. Clipper Boulevard West, Crossways Dartford, Kent, DA2 6PT UK
	Bei technischen Fragen wenden Sie sich bitte an Ihren zuständigen Vertriebspartner.

Vacutainer® es una marca registrada de Becton Dickinson. IFU X7824B Revisado Agosto 2022

	Remel Europe Ltd. Clipper Boulevard West, Crossways Dartford, Kent, DA2 6PT UK
---	---

Bei technischen Fragen wenden Sie sich bitte an Ihren zuständigen Vertriebspartner.