

MODIFICACION A LA TECNICA DE GUREWICH PARA LA DETECCION DE MONOMEROS DE FIBRINA

Julio Mora C. *
Ana Porras M. *

Key Words: Gurewich, modified fibrin monomers, protamine sulfate, protamine chloridrate.

Resumen

En una muestra de 39 pacientes con CID y 10 controles normales, se procedió a determinar la presencia de monómeros de fibrina usando la técnica de diluciones seriadas de Gurewich con sulfato de protamina y con clorhidrato de protamina. Los resultados en las 49 muestras estudiadas fueron iguales con ambos reactivos, lo que nos indica que ambos reactivos pueden ser usados indistintamente. (Rev. Cost. Cienc. Jun. 1982, 3(1):65—68).

Introducción

La presencia de complejos solubles de fibrina, consecutivos a la formación trombina en la sangre circulante, es en principio de ayuda para el diagnóstico de coagulación intravascular (4). Estos complejos pueden ser puestos en evidencia por medio de las pruebas del sulfato de protamina (6) o del gel de etanol (3), que son simples y rápidas aunque de confiabilidad discutida. A su vez, en un cierto número de entidades clínicas, una prueba positiva puede ser de difícil interpretación; pudiendo ser indicativa de una activación de la coagulación sin evidencia clínica. En estos casos es de gran ayuda diagnóstica la determinación de los productos de degradación (5).

Las pruebas para la determinación de complejos solubles de fibrina están basadas en el hecho de que estos son ligeramente menos solubles que el fibrinógeno normal. El plasma es tratado en tal forma que no precipite el fibrinógeno pero los complejos solubles sí (8). Los agentes precipitantes incluyen el frío, la heparina, el etanol y el sulfato de protamina. Debido a que el sulfato de protamina es de difícil obtención en nuestro país, hemos sustituido aquel por el clorhidrato de protamina, tomando para esto un grupo de pacientes con coagulación intravascular y haciendo el estudio comparativo basados en la técnica de Gurewich (6) usando ambos reactivos.

Materiales y métodos

Se tomó un grupo de 39 pacientes con diagnóstico de coagulación intravascular diseminada y 19 controles normales a los cuales se les tomó una muestra de sangre con citrato de sodio 0,13M en una relación 9:1, usando jeringas de plástico y tubos siliconados. Se le determinó a las muestras los monómeros de fibrina por el método de Gurewich en diluciones seriadas (6), usando sulfato de protamina y clorhidrato de protamina. Este método y su modificación fueron comparados con la prueba de gelificación con etanol de Breen y Tullis (3).

* Laboratorio Clínico, Dr. Clodomiro Picado. Hospital San Juan de Dios.

De la solución 1 por ciento de clorhidrato de protamina (Roche) se prepararon diluciones 1:5, 1:10, 1:20, 1:40 en la solución tampón tris-salino 0,05M, pH 6,5.

En tubos de 12 x 75 mm se colocan 0,20 ml de cada dilución y se mezclan con igual volumen del plasma en estudio —al cual se ha agregado una concentración final de Trasylol (Bayer) de 300 U/ml— se agitan los tubos con suavidad y se dejan a temperatura ambiente. Se observan a los 30 minutos y a las 12 y 24 horas, usando luz directa y un fondo negro si fuera necesario. La prueba se considera positiva si se desarrolla un gel o fibras en cualquiera de las diluciones.

Resultados

El presente trabajo se realizó en dos etapas. En la primera se comparé el sulfato de protamina contra el clorhidrato de protamina, 13 muestras de las 39 dieron positiva la prueba por ambos métodos. Los restantes 26 pacientes y los 10 controles dieron negativos por ambos métodos.

En la segunda etapa se comparó el clorhidrato de protamina y el gel del etanol en 43 pacientes; 7 muestras de pacientes dieron resultados positivos por ambos métodos; los restantes 35 dieron negativos ambos métodos. Únicamente una muestra dio positiva la prueba del gel de etanol y negativa la prueba de clorhidrato de protamina.

Discusión

El sulfato de protamina o en su defecto el clorhidrato de protamina producen una gelación de los monómeros de fibrina solubles y de los fragmentos X°. Ni el fibrinógeno ni ningún otro producto de degradación del fibrinógeno forman gel o coágulo de fibrina visible en presencia de sulfato o clorhidrato de protamina (2), por lo que hace a esta prueba específica para la detección de monómero de fibrina y de ayuda diagnóstica en la CID (7).

La prueba del gel de etanol que detecta monómero de fibrina, es menos sensible pero más específica que la del sulfato de protamina pero más específica (1).

En la segunda etapa del trabajo la discrepancia que existió con la muestra de un paciente que dio la prueba del gel de etanol positiva y la de clorhidrato de protamina negativa con las demás pruebas de coagulación normales, pudo deberse a los falsos positivos que producen las concentraciones altas de fibrinógeno en la reacción del gel de etanol (9).

Como resultado de este estudio en el que sustituimos el sulfato de protamina por el clorhidrato, podemos concluir que este último se puede usar en vez del sulfato, cumpliendo con los requisitos deseados para hacer de esta prueba una determinación sencilla, sensible y específica para detectar monómero de fibrina.

ABSTRACT

We have determined fibrin monomers in 39 patients with disseminated intravascular coagulation, and 10 normal controls, using a modification of the Gurewick test with protamine sulfate. We used protamine chlorhydrate, which is readily available in this country, and in all 49 samples the results were identical, thus indicating that both reagents may be used indistinctively.

Bibliografía

1. Abate, N., Martínez, A. Pruebas de paracoagulación en plasmas normales. *Sangre*, 1978; 23(1): 72-79.
2. Barrantes, A. Hemostasia y trombosis. Técnicas de estudio e interpretación. Centro de Docencia e Investigación CCSS. 1980; 81—83.
3. Breen, F., Tullis, J. Ethanol gelation: a rapid screening test for intravascular coagulation. *Ann. Intern. Med.* 1968; 69(6): 1197—1206.
4. Conard, J., Bogaty—Yver, J., Samama. M. Comparaison de deux tests de paracoagulation. *Nouv. Press Med.* 1974;3:2639—2641.
5. Ellman, E., Carvalho, A. Colman, R. The Thrombo-wellcotest as a screening test for disseminated intravascular coagulation. *New. Engl. J. Med.* 1973; 2880 (12):633—634.
6. Gurewich, V., Hutchinson, E. Detection of intravascular coagulation by serial dilution protamine sulfate test. *Ann. Intern. Med.* 1971; 75(6):895—902.
7. Niewiarowski, S., Gurewich, V. Laboratory identification of intravascular coagulation: the SDPS test for the detection of fibrin monomer and fibrin degradation products. *J. Lab. Clin. Med.* 1971; 77:665—676.
8. Owen, C.A., Bowie, E. J. W. Chronic intravascular coagulation syndromes. *Mayo Clin. Proc.* 1974; 49:673-679.
9. Slaataad, R. Godal, H, Kierulf, P. The amount of fibrin necessary to give a positive ethanol gelation at various fibrinogen levels.