



Fibrinógeno

Reactivo para la determinación de fibrinógeno plasmático

SIGNIFICACION CLINICA

El fibrinógeno es una glicoproteína que se halla presente en el plasma y en los gránulos plaquetarios α . Es el factor de la coagulación que se encuentra en mayor concentración plasmática (200-500 mg/dl).

Cuando se produce un trauma o injuria vascular, la trombina formada escinde al fibrinógeno convirtiéndolo en monómeros de fibrina que polimerizan espontáneamente y luego son estabilizados dando lugar a la malla insoluble de fibrina.

Niveles bajos de fibrinógeno pueden encontrarse en desórdenes hereditarios tales como hipofibrinogenemia, afibrinogenemia, disfibrinogenemia, y también en otras circunstancias como enfermedad hepática, coagulación intravascular diseminada, síndromes fibrinolíticos, etc.

Niveles elevados pueden encontrarse en diabetes, enfermedad inflamatoria, etc.

Actualmente se ha reconocido que niveles altos de fibrinógeno aumentan el riesgo a padecer enfermedad cardiovascular.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El ensayo se basa en el método de Clauss, designado como procedimiento de referencia por el NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards).

Cuando un exceso de trombina se adiciona a un plasma diluido, el tiempo de coagulación es inversamente proporcional a la concentración de fibrinógeno plasmático. El tiempo de coagulación obtenido se compara posteriormente con una preparación de fibrinógeno estandarizada.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: viales conteniendo trombina liofilizada. Una vez reconstituida equivale aproximadamente a 100 Unidades NIH de trombina/ml.

B. Reactivo B: solución de imidazol 0,05 M, pH 7,3.

Calibrador: vial conteniendo plasma liofilizado. Ver el valor de fibrinógeno asignado en el rótulo.

REACTIVO NO PROVISTO

Agua bidestilada o desionizada.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A y Calibrador: quitar el precinto metálico y abrir el vial retirando lentamente el tapón de goma para evitar pérdidas del material. Agregar el volumen de agua bidestilada o desionizada indicado en el rótulo. Tapar, dejar reposar 30 minutos y luego mezclar suavemente (sin agitar) hasta obtener disolución completa antes de su uso. Fechar. Se recomienda mantener el Reactivo A en el frasco original luego de su reconstitución y durante su uso.

Reactivo B: listo para usar. Evitar su contaminación. Mantener en su frasco original bien cerrado.

PRECAUCIONES

Los Reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Este producto ha sido preparado a partir de plasmas humanos, los cuales han sido ensayados utilizando los métodos bajo licencia de la FDA. No se ha encontrado reactividad para HBsAg, HCV y HIV. Pero dado que ningún método de ensayo puede asegurar la ausencia absoluta de agentes infecciosos, los plasmas referencia, controles y muestras de pacientes deben manejarse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Reactivo A reconstituido: estable 5 días refrigerada (2-10°C) o 30 días congelada (-20°C). Para descongelarlo, hacerlo rápidamente a 37°C. No volver a congelar. Llevar a temperatura ambiente el reactivo antes de volver a usarlo. Evitar calentamientos prolongados.

Calibrador reconstituido: estable durante 8 horas refrigerado (2-10°C).

MUESTRA

Plasma

a) Recolección: obtener sangre cuidadosamente, evitando estasis o espuma, y colocarla en un tubo con anticoagulante en proporción 9 + 1 (ejemplo: 4,5 ml de sangre + 0,5 ml de anticoagulante). Mezclar suavemente. Centrifugar y separar el plasma antes de los 30 minutos. La extracción se debe efectuar con jeringas plásticas.

b) Aditivos: para obtener el plasma puede emplearse **Anticoagulante TP** de Wiener lab. o citrato de sodio 3,8% o 3,2%. No debe emplearse EDTA o heparina.

c) Sustancias interferentes conocidas:

- Las muestras ictericas, lipemicas o hemolizadas pueden dar resultados erróneos.

- Niveles elevados de productos de degradación de fibrinógeno o fibrina pueden alargar los tiempos de coagulación especialmente cuando los niveles de fibrinógeno son menores a 150 mg/dl.

- Niveles terapéuticos de heparina no interfieren con el en-

sayo, pero niveles elevados pueden conducir a resultados falsamente disminuidos.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe conservarse hasta el momento de su análisis en tubos plásticos para minimizar el efecto de activación por contacto que puede ocurrir con los tubos de vidrio. El plasma debe mantenerse en refrigerador (2-10°C) hasta el momento de efectuarse la prueba. Este período no debe prolongarse más de 4 horas. En caso de no poder procesarse en este lapso, el plasma debe congelarse a -20°C. Este último proceso debe realizarse con rapidez, al igual que el descongelamiento (sumergiendo en baño a 37°C) previo a la determinación.

MATERIAL REQUERIDO

1- Provisto

- Hoja de papel doble logarítmico.

2- No provisto

- Tubos de hemólisis.
- Tubos plásticos para preparar las soluciones.
- Pipetas y micropipetas para medir los volúmenes indicados.
- Baño de agua a 37°C.
- Cronómetro.
- Fuente luminosa para la observación del coágulo.

PROCEDIMIENTO

I- CURVA DE CALIBRACION

1- Preparar diluciones del Calibrador 1:5, 1:10, 1:15, 1:20, 1:30, empleando 0,1 ml del Calibrador reconstituido y 0,4; 0,9; 1,4; 1,9 y 2,9 ml de Reactivo B respectivamente. El Calibrador diluido 1:10 representa el 100% del valor asignado en el envase.

2- Precalear 0,2 ml de cada dilución a 37°C durante 2 minutos.

3- Disparar el cronómetro con el agregado de 0,1 ml de Reactivo A reconstituido (no precalentar el Reactivo A) a las diluciones preincubadas y registrar el tiempo de formación del coágulo.

4- Calcular el tiempo promedio de coagulación para cada dilución, por duplicado.

5- Construir la curva de calibración de fibrinógeno representando los tiempos de coagulación en función de la concentración de fibrinógeno, sobre el papel log-log. Unir a través de una recta la mayoría de los puntos representados. La recta final debe contener por lo menos 3 puntos consecutivos.

| Dilución | Reactivo B | Calibrador | Concentrac. fibrinógeno ⁽¹⁾ | Factor dilución |
|----------|------------|------------|--|-----------------|
| 1:5 | 0,8 | 0,2 | ---- mg/dl | x 2 = |
| 1:10 | 0,9 | 0,1 | ---- mg/dl | x 1 = |
| 1:15 | 1,4 | 0,1 | ---- mg/dl | x 0,67 = |
| 1:20 | 1,9 | 0,1 | ---- mg/dl | x 0,5 = |
| 1:30 | 2,9 | 0,1 | ---- mg/dl | x 0,33 = |

⁽¹⁾ concentración de fibrinógeno indicada en el rótulo del Calibrador

El valor de fibrinógeno de cada dilución de la curva se determina multiplicando la concentración de fibrinógeno en el Calibrador por el factor de dilución. Por ejemplo, si en el Calibrador se indica un nivel de fibrinógeno de 260 mg/dl, entonces las diluciones 1:5, 1:10, 1:15, 1:20 y 1:30 tienen 520, 260, 173, 130 y 87 mg/dl respectivamente.

II- MUESTRAS DE PACIENTES Y CONTROLES

- 1- Preparar diluciones 1:10 de los plasmas de pacientes o plasmas controles en Reactivo B.
- 2- Precalear 0,2 ml de cada dilución a 37°C durante 2 minutos.
- 3- Rápidamente adicionar 0,1 ml de Reactivo A y registrar el tiempo de formación del coágulo.
- 4- Repetir la determinación y promediar el resultado para cada muestra.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Conocido el tiempo de coagulación del paciente o del control, ingresar este valor a la curva standard e interpolar el valor de fibrinógeno en cada caso.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Si el tiempo de coagulación para la muestra es demasiado corto (por ejemplo, menor a 7 segundos) diluir el plasma 1:20 con Reactivo B y volver a ensayar. Multiplicar el resultado por 2.

Si el tiempo de coagulación para la muestra es demasiado largo (por ejemplo, mayor a 35 segundos) diluir el plasma 1:5 con Reactivo B y volver a ensayar. Multiplicar el resultado por 0,5.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Plasma Control normal/patológico.

VALORES DE REFERENCIA

El intervalo de valores observados en pacientes normales oscila entre 200 - 400 mg/dl.

En general se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia, dentro de su población de pacientes.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

Fibrinógeno (mg/dl) x 0,01 = Fibrinógeno (g/l)

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Se deberá realizar una curva de calibración nueva con cada cambio de lote de reactivo o cualquier cambio de instrumento.
- Fallas en la reconstitución de los reactivos pueden ser causa de resultados erróneos.
- Recolección de muestra: las muestras y sus diluciones deberán colocarse en tubos de plástico o de vidrio siliconado. Es importante respetar la relación de anticoagulante y sangre como también la concentración de citrato utilizada.
- Debe controlarse que el ensayo se realice a 37°C y que los tubos de trabajo estén absolutamente limpios.

PERFORMANCE

a) **Reproducibilidad:** procesando 20 replicados de las mismas muestras en un mismo día se obtuvieron los siguientes resultados:

| Nivel | D.S. | C.V. |
|-----------|--------------|-------|
| 288 mg/dl | ± 6,13 mg/dl | 2,1 % |
| 180 mg/dl | ± 4,01 mg/dl | 2,2 % |

b) **Linealidad:** la reacción es lineal entre 100 y 600 mg/dl.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

El kit **Fibrinógeno** se puede usar en forma manual y con métodos de detección mecánicos y foto-ópticos. Para instrumentos semiautomáticos y automáticos se recomienda seguir las instrucciones del analizador.

PRESENTACION

Kit para 100 determinaciones conteniendo:

- Reactivo A: 10 x → 1 ml
 - Reactivo B: 2 x 60 ml
 - Calibrador: 1 x → 1 ml
- (Cód. 1705006)

BIBLIOGRAFIA

- Clauss, A. - Acta Haematol. 17:237, 1957.
- Koepke, J.A. - Am. J. Clin. Pathol. 63:984, 1975.
- Collet, J.P. - Blood 82/8:2462, 1993.
- Ernest, E. - Ann. Intern. Med. 118/12:956, 1993.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

SÍMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo



Fibrinógeno

Reagente para a determinação de fibrinógeno plasmático

SIGNIFICADO CLÍNICO

O fibrinógeno é uma glicoproteína presente no plasma e nos grânulos plaquetários α . É o fator de coagulação que encontra-se na maior concentração plasmática (200-500 mg/dl). Quando se produz um traumatismo ou dano vascular, a trombina formada rasga o fibrinógeno convertendo-o em monômeros de fibrina que polimerizam espontaneamente e após são estabilizados dando lugar a uma rede insolúvel de fibrina. Níveis baixos de fibrinógeno podem-se encontrar em desordens hereditários tais como hipofibrinogenemia, afibrinogenemia, disfibrinogenemia e também em outras formas como doenças hepáticas, coagulação intravascular disseminada, síndromes fibrinolíticas, etc. Níveis elevados podem-se encontrar na diabetes, doenças inflamatórias, etc. Na atualidade foi reconhecido que os altos níveis de fibrinógeno aumentam o risco ao padecimento de doenças cardiovasculares.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

O ensaio se baseia no método de Clauss sendo considerado como método de referência pelo NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards).

Quando um excesso de trombina é adicionado a plasma diluído, o tempo de coagulação é inversamente proporcional à concentração de fibrinógeno plasmático. O tempo de coagulação obtido é comparado posteriormente com uma preparação de fibrinógeno padronizada.

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: frascos contendo trombina liofilizada. Uma vez reconstituída equivale aproximadamente a 100 Unidades NIH de trombina/ml.

B. Reagente B: solução de imidazol 0,05 M, pH 7,3.

Calibrador: frasco contendo plasma liofilizado. Vide o valor de fibrinógeno apontado no rótulo.

REAGENTES NÃO FORNECIDOS

Água bidestilada ou deionizada.

INSTRUÇÕES PARA USO

Reagente A e Calibrador: retirar o lacre metálico e abrir lentamente a tampa de borracha para evitar perdas do material liofilizado. Adicionar o volume de água bidestilada ou deionizada indicado no rótulo. Tampar, deixar em repouso 30 minutos e logo após misturar suavemente (sem agitar) até obter dissolução completa antes de usar. Datar. Recomenda-se manter o Reagente A em seu frasco original após sua reconstituição e durante o uso.

Reagente B: pronto para uso. Evitar sua contaminação. Manter em seu frasco original bem tampado.

PRECAUÇÕES

Os Reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Este produto foi preparado partindo de plasmas humanos os que foram ensaiados utilizando os métodos com licença da FDA. Não foi encontrada reatividade para HBsAg, HCV e HIV. Mas como nenhum método pode dar certeza da ausência absoluta de agentes infecciosos os plasmas referência, controle e amostras de pacientes devem ser manipuladas como se tratando de material potencialmente infectante.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Reagentes Fornecidos: são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem.

Reagente A reconstituída: estável 5 dias sob refrigeração (2-10°C) ou 30 dias congelada (-20°C). Para descongelar o material deverá ser feita rapidamente a 37°C e não voltar a congelar. Antes mesmo de ser utilizados levar o reagente a temperatura ambiente. Evitar os esquentamentos prolongados.

Calibrador reconstituído: estável por 8 horas sob refrigeração (2-10°C).

AMOSTRA

Plasma

a) Coleta: obter sangue cuidadosamente, evitando estases ou espuma e colocá-la num tubo com anticoagulante em proporção 9 + 1 (exemplo: 4,5 ml de sangue + 0,5 ml de anticoagulante). Misturar suavemente. Centrifugar e separar o plasma antes dos 30 minutos. A extração de sangue deve ser realizada com seringa descartável.

b) Aditivos: para obter o plasma pode ser utilizado **Anticoagulante TP** de Wiener lab. ou citrato de sódio 3,8% ou 3,2%. Não utilizar EDTA ou heparina.

c) Substâncias interferentes conhecidas:

- As amostras ictericas, lipêmicas ou hemolisadas podem apresentar resultados errados.

- Níveis elevados de produtos de degradação de fibrinógeno ou fibrina podem alongar os tempos de coagulação especialmente quando os níveis de fibrinógeno são menores a 150 mg/dl.

- Níveis terapêuticos de heparina não interferem com o ensaio mas níveis elevados podem levar a resultados

falsamente diminuídos.

Referência bibliográfica Young à efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: deve-se conservar a amostra até chegar a hora do análise em tubos plásticos para minimizar o efeito de ativação pelo contato que pode ser produzido com os tubos de vidro.

Mantenha o plasma sob refrigeração (2-10°C) até realizar a prova. Este período não pode ser maior que 4 horas. Caso não possa processar a amostra dentro deste tempo guardá-la no freezer a -20°C. O último processo deve ser realizado muito rápido igual que o descongelamento (submergindo em banho maria a 37°C antes da determinação).

MATERIAL NECESSÁRIO

1- Fornecido

- Folha de papel duplo logarítmico.

2- Não fornecido

- Tubos de hemólise.
- Tubos plásticos para preparar as soluções.
- Pipetas e micropipetas para medir os volumes indicados.
- Banho maria a 37°C.
- Cronômetro.
- Fonte de luz para a observação do coágulo.

PROCEDIMENTO

I- CURVA DE CALIBRAÇÃO

- 1- Preparar diluições do Calibrador 1:5, 1:10, 1:15, 1:20, 1:30, utilizando 0,1 ml do Calibrador reconstituído e 0,4; 0,9; 1,4; 1,9; e 2,9 ml de Reagente B. O Calibrador diluído 1:10 representa o 100% do valor indicado na embalagem.
- 2- Pré-aquecer 0,2 ml de cada diluição a 37°C durante 2 minutos.
- 3- Disparar o cronômetro após acrescentar 0,1 ml de Reativo A reconstituído (não pré-aquecer o Reagente A) às diluições pre-incubadas e registrar os tempos de formação do coágulo.
- 4- Calcular o tempo médio de coagulação para cada diluição, fazendo o teste em duplicata.
- 5- Construir a curva de calibração de fibrinogênio representando os tempos de coagulação em função da concentração de fibrinogênio colocado sobre o papel log-log. Unir através de uma reta a maioria dos pontos representados. A reta deve conter pelo menos 3 pontos consecuentes.

| Diluição | Reagente B | Calibrador | Concentrac. fibrinogênio ^(*) | Fator diluição |
|----------|------------|------------|---|----------------|
| 1:5 | 0,8 | 0,2 | --- mg/dl | x 2 = |
| 1:10 | 0,9 | 0,1 | --- mg/dl | x 1 = |
| 1:15 | 1,4 | 0,1 | --- mg/dl | x 0,67 = |
| 1:20 | 1,9 | 0,1 | --- mg/dl | x 0,5 = |
| 1:30 | 2,9 | 0,1 | --- mg/dl | x 0,33 = |

(*) concentração de fibrinogênio indicada em rótulo do Calibrador.

O valor de fibrinogênio de cada diluição da curva se determina multiplicando a concentração de fibrinogênio no Calibrador pelo fator de diluição. Exemplo: se no Calibrador se indica o nível de fibrinogênio de 260 mg/dl, as diluições 1:5, 1:10, 1:15, 1:20 e 1:30 tem 520, 260 173, 130 e 87 mg/dl respectivamente.

II- AMOSTRAS DE PACIENTES E CONTROLES

- 1- Preparar diluições 1:10 dos plasmas de pacientes ou plasmas controle em Reagente B.
- 2- Pré-aquecer 0,2 ml de cada diluição a 37°C durante 2 minutos.
- 3- Adicionar rapidamente 0,1 ml de Reagente A e registrar o tempo de formação do coágulo.
- 4- Repetir a determinação e fazer a média o resultado para cada amostra.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

Conhecendo o tempo de coagulação do paciente ou do controle, colocar o valor à curva padrão e interpolar o valor do fibrinogênio em cada caso.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Se o tempo de coagulação para a amostra é demasiado curto (por exemplo: menor a 7 segundos) diluir o plasma 1:20 com Reagente B e voltar a ensaiar. Multiplicar o resultado por 2. Se o tempo de coagulação para a amostra é demasiado longo (exemplo: maior a 35 segundos) diluir o plasma 1:5 com Reagente B e voltar a ensaiar. Multiplicar o resultado por 0,5.

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Plasma Control normal/patológico.

VALORES DE REFERÊNCIA

O intervalo de valores observados em pacientes normais oscila entre 200 - 400 mg/dl.

Em geral recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios intervalos de referência baseado em sua população.

CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

Fibrinogênio (mg/dl) x 0,01 = Fibrinogênio (g/l)

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Deve-se realizar uma curva de calibração nova com cada mudança de lote de reagente ou qualquer troca de aparelho.
- Falhas na reconstituição dos reagentes podem ser causa de resultados errados.
- Coleta de amostra: as amostras e seus diluições deveram-se colocar em tubos de plástico ou de vidro siliconado. É importante respeitar a relação de anticoagulante e sangue como também a concentração de citrato utilizada.
- Deve-se controlar que o ensaio seja realizado a 37°C e que os tubos de trabalho estejam absolutamente limpos.

DESEMPENHO

a) **Reprodutibilidade:** processando 20 duplicatas da mesma amostra num mesmo dia se obtiveram os seguintes resultados:

| Nível | D.P. | C.V. |
|-----------|--------------|-------|
| 288 mg/dl | ± 6,13 mg/dl | 2,1 % |
| 180 mg/dl | ± 4,05 mg/dl | 2,2 % |

b) **Linearidade:** a reação é linear entre 100 e 600 mg/dl.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

O kit **Fibrinógeno** Wiener lab. pode ser utilizado de forma manual e com métodos de detecção mecânicos e foto-óticos. Para aparelhos semi-automáticos recomenda-se seguir as instruções do manual de uso.

APRESENTAÇÃO

Kit para 100 determinações contendo:

- Reagente A: 10 x → 1 ml
 - Reagente B: 2 x 60 ml
 - Calibrador: 1 x → 1 ml
- (Cód. 1705006)

REFERÊNCIA

- Clauss, A. - Acta Haematol. 17:237, 1957.
- Koepke, J.A. - Am. J. Clin. Pathol. 63:984, 1975.
- Collet, J.P. - Blood 82/8:2462, 1993.
- Ernest, E. - Ann. Intern. Med. 118/12:956, 1993.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

SÍMBOLOS

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Europeia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após a reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo



Fibrinógeno

Reagent for the determination of fibrinogen levels in plasma

SUMMARY

Fibrinogen is a glycoprotein present in plasma and α platelet granules. It is the coagulation factor found in highest concentration of plasma (200-500 mg/dl).

In the presence of a trauma or vascular injury, the thrombin cleaves fibrinogen to form fibrin monomers. These monomers spontaneously form polymers and are stabilized producing the insoluble fibrin. A decrease in fibrinogen level is found in cases of hereditary disorders such as hypofibrinogenemia, afibrinogenemia, dysfibrinogenemia, and also in other circumstances such as hepatic disease, extended intravascular clotting, fibrinolytic syndromes, etc.

An increase in fibrinogen level is found in cases of diabetes, inflammatory syndromes, etc.

In addition, high fibrinogen levels are now recognized as a risk factor for the development of cardiovascular disease.

PRINCIPLE

This assay is based on the Clauss method, designed as a reference procedure by the NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards).

In the presence of high concentrations of thrombin, the time required for clot formation in dilute plasma is inversely proportional to the plasma fibrinogen concentration. The resultant clotting time is compared to a standard fibrinogen preparation.

PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: vials containing lyophilized thrombin. Once reconstituted the concentration is approximately 100 NIH units of thrombin/ml.

B. Reagent B: 0.05 M, pH 7.3 imidazole solution

Calibrator: vial containing lyophilized plasma. See assigned Fibrinogen value in label.

NON-PROVIDED REAGENTS

Bidistilled or deionized water.

INSTRUCTIONS FOR USE

Reagent A and Calibrator: remove the aluminum seal and open the vial withdrawing the rubber stopper to avoid loss of material. Add the bidistilled or deionized water indicated in the label. Cap, allow the material to stand for 30 minutes and then swirl gently (without agitating) until dilution is complete before use. Date.

It is recommended to maintain the Reagent A in its original vial after reconstitution and during use.

Reagent B: ready to use. Avoid contamination. Keep in its original vial properly capped.

WARNINGS

The provided reagents are for "in vitro" diagnostic use.

The Calibrator has been prepared from human plasma, which has been tested by an FDA approved method and found non-reactive for HBsAg, antibodies to HIV and HCV. However, no known test method can offer complete assurance of the absence of infectious agents. The Calibrator, Controls and patient samples should be handled as potentially infectious biological material.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: are stable in refrigerator (2-10°C) until expiration date indicated on the box.

Reconstituted Reagent A: stable 5 days refrigerated (2-10°C) or 30 days frozen (-20°C). Thaw rapidly at 37°C. Do not refreeze. Allow the reagent to stand at room temperature before using again. Avoid extended warming.

Reconstituted Calibrator: stable for 8 hours refrigerated (2-10°C).

SAMPLE

Plasma

a) Collection: obtain blood samples carefully avoiding stasis or foaming, mix gently in a tube with anticoagulant in 9 + 1 proportion (example: 4.5 ml blood + 0.5 ml anticoagulant). Centrifuge and remove plasma before 30 minutes. Perform the extraction with plastic syringes.

b) Additives: Anticoagulante TP from Wiener lab. or sodium citrate 3.8% or 3.2% could be used to obtain plasma. Do not use EDTA or heparin.

c) Known interference substances:

- Icteric, lipemic or hemolyzed samples may generate erroneous results.

- High levels of fibrinogen or fibrin degradation products may extend the coagulation period, especially when the fibrinogen levels are lower than 150 mg/dl.

- Therapeutic heparin levels do not interfere with the assay, however high levels may cause falsely low fibrinogen results. See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

d) Stability and storage instructions: sample should be stored in plastic tubes until testing to reduce the contact activation effect that can occur with glass tubes. Plasma should be stored in refrigerator (2-10°C) until testing. This

period should not be extended more than 4 hours. In case this process could not be performed, plasma should be frozen at -20°C. This process should be performed rapidly, alike the thawing (immersing in a 37°C bath) prior to testing.

REQUIRED MATERIAL

1- Provided

- Double logarithm paper sheet

2- Non-provided

- Hemolysis tubes
- Plastic tubes for preparing solutions
- Pipettes and micropipettes to measure indicated volumes
- Water bath at 37°C
- Stopwatch
- Light source for clot observation

PROCEDURE

I- CALIBRATION CURVE

- 1- Prepare dilutions of Calibrator 1:5, 1:10, 1:15, 1:20, 1:30, using 0.1 ml of reconstituted Calibrator and 0.4, 0.9, 1.4, 1.9, and 2.9 ml Reagent B respectively. Plasma diluted 1:10 represent 100% of the assigned value.
- 2- Prewarm 0.2 ml of each dilution to 37°C for 2 minutes.
- 3- Set stopwatch with the addition of 0.1 ml reconstituted Reagent A (do not warm thrombin reagent) to the pre-warmed dilutions and time clot formation.
- 4- Calculate the average clotting time for each dilution, in duplicate.
- 5- Use all of the points to construct a log-log curve that plots fibrinogen concentration vs. clotting time. Draw the straight line of best fit. The final curve must consist of at least 3 consecutive points.

| Dilution | Reagent B | Calibrator | Fibrinogen concentration(*) | Dilution factor |
|----------|-----------|------------|-----------------------------|-----------------|
| 1:5 | 0.8 | 0.2 | ---- mg/dl | x 2 = |
| 1:10 | 0.9 | 0.1 | ---- mg/dl | x 1 = |
| 1:15 | 1.4 | 0.1 | ---- mg/dl | x 0.67 = |
| 1:20 | 1.9 | 0.1 | ---- mg/dl | x 0.5 = |
| 1:30 | 2.9 | 0.1 | ---- mg/dl | x 0.33 = |

(*) fibrinogen concentration indicated on the label of the Calibrator

The fibrinogen value of every curve dilution is determined multiplying the fibrinogen concentration in the Calibrator by the dilution factor. For example, if there is a fibrinogen level of 260 mg/dl, indicated in the Calibrator, then the dilutions 1:5, 1:10, 1:15, 1:20 and 1:30 have 520, 260, 173, 130 and 87 mg/dl respectively.

II- PATIENT SAMPLES AND CONTROLS

- 1- Prepare dilutions 1:10 of the patients' plasmas or control plasmas in Reagent B.
- 2- Prewarm 0.2 ml of each dilution to 37°C for 2 minutes.
- 3- Add 0.1 ml Reagent A rapidly and register clotting time.
- 4- Repeat testing and calculate the mean result for each sample.

CALCULATIONS

Given the coagulation time of the patient or control, enter this value to the standard curve and interpolate the fibrinogen value for every case.

INTERPRETATION OF RESULTS

If the sample's coagulation time is too short (for example, less than 7 seconds) dilute plasma 1:20 with Reagent B and assay again. Multiply the result by 2.

If the sample's coagulation time is too much (for example, more than 35 seconds) dilute plasma 1:5 with Reagent B and assay again. Multiply the result by 0.5.

QUALITY CONTROL METHOD

Control Plasma normal/pathologic

REFERENCE VALUES

The observed range of values for normal patients oscillates between 200-400 mg/dl.

Each laboratory should establish its own Normal Reference Range from individuals representing the population being tested.

SI SYSTEM UNITS CONVERSION

Fibrinogen (mg/dl) x 0.01 = Fibrinogen (g/l)

PROCEDURE LIMITATIONS

- A new calibration curve should be performed with every change of reagent's lot or any instrument change.
- Failures in the reconstitution of reagents may generate erroneous results.
- Sample collection: samples and their dilutions should be placed in plastic tubes or siliconized borosilicate glass. It is important to maintain the blood-anticoagulant relation as well as the citrate concentration used.
- It must be checked that the assay be performed at 37°C and that the test tubes be absolutely clean.

PERFORMANCE

a) Reproducibility: processing replicates from the same samples during the day, the following results were obtained:

| Level | S.D. | C.V. |
|----------|-----------|-------|
| 12.1 sec | ± 0.3 sec | 2.7 % |
| 20.4 sec | ± 0.6 sec | 3.2 % |

b) Linearity: the reaction is linear between 100 and 600 mg/dl.

PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

Fibrinogen reagent is suitable for use with manual, mechanical, and photo-optical methods. For semi-automatic and automatic instrumentation follow the instrument manufacturer's instructions.

WIENER LAB. PROVIDES

Kit for 100 tests (Cat. No. 1705006) containing:

- Reagent A: 10 x → 1 ml
- Reagent B: 2 x 60 ml
- Calibrator: 1 x → 1 ml

REFERENCES

- Clauss, A. - Acta Haematol. 17:237, 1957.
- Koepke, J.A. - Am. J. Clin. Pathol. 63:984, 1975.
- Collet, J.P. - Blood 82/8:2462, 1993.
- Ernest, E. - Ann. Intern. Med. 118/12:956, 1993.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

SYMBOLS

The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits.



This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices

| | |
|--|---|
| | Authorized representative in the European Community |
| | "In vitro" diagnostic medical device |
| | Contains sufficient for <n> tests |
| | Use by |
| | Temperature limitation (store at) |
| | Do not freeze |
| | Biological risks |
| | Volume after reconstitution |
| | Contents |
| | Batch code |
| | Manufactured by: |
| | Harmful |
| | Corrosive / Caustic |
| | Irritant |
| | Consult instructions for use |
| | Calibrator |
| | Control |
| | Positive Control |
| | Negative Control |
| | Catalog number |



Fibrinógeno

Odczynnik do oznaczania poziomu fibrynogenu w osoczu

Nr kat. 1705006

WSTĘP

Fibrinogen jest glikoproteiną obecną w osoczu i ziarnistościach płytek. Jest czynnikiem krzepnięcia o najwyższym stężeniu w osoczu (200-500 mg/dl). Przy urazie lub uszkodzeniu naczyń trombina aktywuje fibrynogen do monomerów fibryny, które spontanicznie tworzą polimery i stają się trwałą formą nierozpuszczalnej fibryny. Zmniejszenie poziomu fibrynogenu obserwuje się w chorobach dziedzicznych takich jak hypofibrinogenemia, afibrinogenemia, dysfibrinogenemia, jak również w innych stanach takich jak choroby wątroby, choroby zakrzepowe, zespoły fibrynolityczne, itp.

Wzrost poziomu fibrynogenu obserwuje się w przypadkach cukrzycy, zespołach zapalnych itp.

Dodatkowo wysokie poziomy fibrynogenu ocenia się jako czynnik ryzyka rozwoju chorób sercowo naczyniowych.

ZASADA DZIAŁANIA

Badanie jest przeprowadzane zgodnie z metodą Claussa, określona przez NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) jako procedurą referencyjną.

Przy obecności wysokich stężeń trombiny, czas niezbędny do utworzenia skrzepu jest odwrotnie proporcjonalny do stężenia fibrynogenu w osoczu. Uzyskany czas krzepnięcia jest porównywany ze wzorcowym preparatem fibrynogenu.

DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: fiołki zawierające liofilizowaną trombinę. Po rozcieńczeniu stężenie wynosi ok. 100 jednostek NIH trombiny/ml.

B. Odczynnik B: 0,05 M, pH 7,3 roztwór imidazolu.

Kalibrator: fiołka zawierająca liofilizowane osocze. Patrz oznaczoną wartość fibrynogenu na etykiecie.

NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

Woda podwójnie destylowana lub dejonizowana.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Odczynnik A i Kalibrator: usunąć aluminiowy kapsel i otworzyć ostrożnie fiołkę ściągnąjąc gumową zatyczkę unikając utraty materiału. Dodać podwójnie destylowanej lub dejonizowanej wody w ilości wskazanej na etykiecie. Zamknąć i pozostawić materiał na 30 minut, a następnie delikatnie zamieszać (bez wstrząsania) do całkowitego rozpuszczenia przed użyciem. Odatować. Zaleca się pozostawienie Odczynnika A w oryginalnej fiołce w trakcie używania i przechowywania.

Odczynnik B: gotowy do użycia. Chronić przed zanieczyszczeniem. Trzymać w oryginalnej fiołce dobrze zamkniętej.

OSTRZEŻENIA

Odczynniki do diagnostyki "in vitro". Kalibrator został przygotowany z osocza ludzkiego przebadanego metodą uznaną przez FDA i nie reaguje z HbsAg, przeciwciałami przeciw HIV i HCV. Jakkolwiek żadna ze znanych metod analitycznych nie daje całkowitej pewności o braku czynników infekcyjnych. Kalibrator, próby wzorcowe i materiał badany powinny być traktowane jako materiał potencjalnie zakaźny. Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych. Wszystkie odczynniki i materiał badany należy odrzucać zgodnie z lokalnymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczane Odczynniki: są stabilne w lodówce w temperaturze (2-10°C) do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu.

Rozpuszczony Odczynnik A: trwały przez 5 dni w lodówce (2-10°C) lub 30 dni w zamrażalniku (-20°C). Nie zamrażać powtórnie. Należy wszystkie odczynniki doprowadzić do temperatury pokojowej przed użyciem. Unikać nadmiernego ogrzania.

Rozpuszczony Kalibrator: jest trwały przez 8 godzin w lodówce (2-10°C).

MATERIAŁ BADANY

Osocze

a) Pobranie: otrzymać próbkę krwi ostrożnie unikając stazy lub spienienia, wymieszać w próbce z antykoagulantem w proporcji 9 + 1 (np. 4,5 ml krwi + 0,5 ml antykoagulantu). Odwirować i usunąć osocze przed upływem 30 minut. Pobraniem wykonać plastikowymi strzykawkami.

b) Substancje dodatkowe: do pobrania osocza należy zastosować Anticoagulanty TP Wiener lab. lub Cytrynian sodu 3,8% lub 3,2 %. Nie używać EDTA lub heparyny.

c) Znane interakcje:

- Wysoki poziom bilirubiny, lipidów lub hemoliza materiału mogą dawać fałszywe wyniki.
- Wysoki poziom fibrynogenu lub produkty degeneracji fibryny mogą wydłużać okres koagulacji, szczególnie kiedy poziom fibrynogenu spada poniżej 150 mg/dl.
- Terapeutyczny poziom heparyny nie wpływa na badanie, jednakże wysoki poziom może fałszywie zaniżyć poziom fibrynogenu.

Zobacz źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie.

d) Trwałość i instrukcja przechowywania: materiał powinien być pobrany do plastikowych próbek w celu uniknięcia aktywacji kontaktowej, która zachodzi na szklanych pro

bówkach. Osocze przechowywać w lodówce w temperaturze (2-10°C) aż do przeprowadzenia badania nie dłużej niż 4 godziny. Jeśli badanie nie może zostać przeprowadzone w tym czasie, należy osocze zamrozić w temp. -20°C. Przed badaniem należy materiał szybko rozmrozić np. w łaźni wodnej o temperaturze 37°C.

WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT

1- Dostarczany

- papier logarytmiczny 2 egz.

2- Niedostarczane

- Próbówki do hemolizy,
- Plastikowe próbówki do przygotowania roztworów,
- Pipety i mikropipety do odmierzenia objętości,
- Łaźnia wodna o temp. 37°C,
- Stoper,
- Źródło światła do obserwacji skrzepu.

PROCEDURA

I- KRZYWA KALIBRACJI

1- Przygotować rozcieńczenia Kalibratora 1:5, 1:10, 1:15, 1:20, 1:30, używając 0,1 ml rozpuszczonego Kalibratora i odpowiednio 0,4; 0,9; 1,4; 1,9 i 2,9 ml Odczynnika B. Osocze rozcieńczone 1:10 odpowiada 100% wyznaczonych wartości.

2- Wstępnie ogrzać 0,2 ml każdego roztworu do temp. 37°C w ciągu 2 min.

3- Dodając 0,1 ml rozpuszczonego Odczynnika A do uprzednio ogrzanych roztworów (nie ogrzewać odczynnika z trombiną) włączyć stoper i zmierzyć czas tworzenia się skrzepu.

4- Przygotować obliczenia średniego czasu krzepnięcia dla każdego rozcieńczenia w dwóch egzemplarzach.

5- Zastosować wszystkie wyniki do narysowania krzywej logarytmicznej stężenia fibrynogenu do czasu krzepnięcia. Narysować linię prostą przechodzącą przez największą ilość punktów. Ostateczna krzywa powinna przechodzić co najmniej przez 3 kolejne punkty.

| R | B | K | SF ^(*) | WR |
|------|-----|-----|-------------------|----------|
| 1:5 | 0,8 | 0,2 | ---- mg/dl | x 2 = |
| 1:10 | 0,9 | 0,1 | ---- mg/dl | x 1 = |
| 1:15 | 1,4 | 0,1 | ---- mg/dl | x 0,67 = |
| 1:20 | 1,9 | 0,1 | ---- mg/dl | x 0,5 = |
| 1:30 | 2,9 | 0,1 | ---- mg/dl | x 0,33 = |

(*) stężenie fibrynogenu umieszczone na etykiecie Kalibratora

R: Rozcieńczenie

B: Odczynnik B

K: Kalibrator

SF: Stężenie fibrynogenu

WR: Współczynnik rozcieńczenia

Wartości fibrynogenu na każdej krzywej rozcieńczenia są zależne od iloczynu stężenia fibrynogenu w Kalibratorze i współczynnika rozcieńczenia. Np. jeśli poziom fibryno-

geny wynosi 260 mg/dl w Kalibratorze, rozcieńczenia odpowiednio 1:5, 1:10, 1:15, 1:20 i 1:30 otrzymujemy odpowiednio wyniki 520, 260, 173, 130 oraz 87 mg/dl.

II- MATERIAŁ BADANY PACJENTÓW I PRÓBY KONTROLNE.

1- Przygotować rozcieńczenie 1:10 osocza pacjentów lub osocza kontrolnego z Odczynnikiem B.

2- Wstępnie ogrzać 0,2 ml każde rozcieńczenie do temp. 37°C przez 2 min.

3- Dodać 0,1 ml Odczynnika A szybko i odnotować czas krzepnięcia.

4- Powtórzyć badanie i obliczyć średnią dla każdej próbki.

OBLICZENIA

Wartości czasu krzepnięcia pacjenta lub próby kontrolnej wprowadzić do standardowej krzywej i interpolować wartości fibrynogenu dla każdej próbki.

INTERPERTACJA WYNIKÓW

Jeśli czas krzepnięcia próbki jest zbyt krótki (np. mniej niż 7 sek.) rozcieńczyć osocze 1:20 Odczynnikiem B i przeprowadzić badanie powtórnie. Pomnożyć wyniki przez 2. Jeśli czas krzepnięcia próbki jest zbyt długi (np. więcej niż 35 sek.) rozcieńczyć osocze 1:5 Odczynnikiem B i przeprowadzić badanie powtórnie. Pomnożyć wyniki przez 0,5.

METODA KONTROLI JAKOŚCI

Kontrolne osocze prawidłowe/patologiczne.

WARTOŚCI REFERENCYJNE

Zakres wartości dla zdrowych pacjentów to przedział pomiędzy 200-400 mg/dl. Zaleca się by każde laboratorium ustaliło własne zakresy norm i wartości prawidłowych dla badanej populacji.

KONWERSJA JEDNOSTEK SI

Fibrynogen (mg/dl) x 0,01 = Fibrynogen (g/l)

OGRANICZENIA PROCEDURY

- Dla każdej serii odczynnika i przy każdej zmianie w aparacie należy przeprowadzić nową krzywą kalibracji.

- Nieprawidłowe rozcieńczanie odczynników może powodować fałszywe wyniki.

- Pobranie materiału: materiał i jego rozcieńczenia powinny być umieszczone w plastikowych probówkach lub ze szkła borokrzemowego silikonizowanego. Istotny pozostaje związek ze stężeniem antykoagulantu we krwi i zastosowanym stężeniem cytrynianu.

- Należy zaznaczyć, że badanie należy przeprowadzać zawsze w temp. 37°C oraz w idealnie czystych probówkach.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) **Powtarzalność:** przy powtórzeniach tego samego materiału w tym samym dniu, uzyskano następujące wyniki :

| Poziom | S.D. | C.V. |
|-----------|------------|-------|
| 12,1 sek. | ± 0,3 sek. | 2,7 % |
| 20,4 sek. | ± 0,6 sek. | 3,2 % |

b) Linijność: reakcja jest liniowa w zakresie pomiędzy 100 a 600 mg/dl.

PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Odczynniki fibrynogenu są przeznaczone do użycia w metodzie manualnej, mechanicznej i foto-optycznej. Dla metod półautomatycznych lub automatycznych należy zapoznać się z instrukcją obsługi urządzenia.

WIENER LAB. DOSTARCZA

Zestaw do 100 testów zawiera:


- Odczynnik A: 10 x → 1 ml
 - Odczynnik B: 2 x 60 ml
 - Kalibrator: 1 x → 1 ml
- (Nr kat. 1705006)

ŹRÓDŁA

- Clauss, A. - Acta Haematol. 17:237, 1957.
- Koepke, J.A. - Am. J. Clin. Pathol. 63:984, 1975.
- Collet, J.P. - Blood 82/8:2462, 1993.
- Ernest, E. - Ann. Intern. Med. 118/12:956, 1993.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

Oznaczenia


Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.

 Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Użyć przed


 Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 Nie zamrażać

 Ryzyko biologiczne

 Objętość po rozpuszczeniu

 Zawartość


 numer serii

 Wytwórca

 Substancja szkodliwa


 Substancja żrąca


 Substancja drażniąca

 Przed użyciem zapoznać się z instrukcją


 Kalibrator

 Próba kontrolna

 Próba kontrolna dodatnia

 Próba kontrolna ujemna

 Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. N°: 2925/98



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina