

PRINCIPIO

Il kit di dosaggio del fibrinogeno è stato formulato per la determinazione quantitativa del fibrinogeno in plasma umano.

Clauss® ha messo a punto un semplice metodo per la determinazione quantitativa del fibrinogeno misurando il tempo di coagulazione del plasma diluito in seguito all'aggiunta di trombina (>30 NIH unità/ml). Questo tempo di coagulazione è proporzionale alla concentrazione di fibrinogeno. I livelli di fibrinogeno possono aumentare in seguito ad infiammazione, gravidanza o impiego di contraccettivi orali°. Livelli ridotti di fibrinogeno sono riscontrabili in alcuni stati, come ad esempio le patologie epatiche e la DIC. Tra le carenze congenite rientrano l'alfibrinogenemia (assenza di fibrinogeno rilevabile), l'ipofibrinogenemia (<1 mg/ml) e la disfibrinogenemia (molecola di fibrinogeno anomala).

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

I reagenti contenuti in questo kit sono destinati esclusivamente alla diagnostica in vitro - **NON INGERRIR**. Indossare guanti protettivi durante l'uso dei componenti del kit. Fare riferimento alle istruzioni del prodotto per avvertenze su rischi e sicurezza ed informazioni sullo smaltimento dei componenti.

I prodotti plasmatici sono stati esaminati dando esito negativo (salvo diversamente indicato sulla confezione del kit o sul flacone) relativamente alla presenza dell'antigene dell'epatite B (HbsAg), dell'anticorpo anti-HIV 1 e 2 e dell'anticorpo anti-HCV; questi prodotti devono tuttavia essere manipolati con le stesse misure precauzionali adottate per un campione di plasma umano.

Da non utilizzare con AC-4.

COMPOSIZIONE

- Reagente a base di trombina (5 x 2ml)**
Ogni flacone contiene approssimativamente 200 unità di trombina bovina con stabilizzatori.
Preparazione: Ricostituire ogni flacone con 2,0 ml di acqua distillata o sospensione di caolino a seconda della metodologia specifica del manuale o dello strumento. Miscelare bene immediatamente prima dell'uso.
- Calibratore per fibrinogeno (2 x 1ml)**
Ogni flacone contiene 1ml di plasma umano normale liofilizzato dosato per i livelli di fibrinogeno.
Preparazione: Ricostituire ogni flacone con esattamente 1,0ml di acqua distillata. Agitare delicatamente e lasciare riposare per 10 minuti. Miscelare delicatamente prima dell'uso. Non scuotere.
- Tampone Veronal di Owren (2 x 25ml)**
Ogni flacone contiene 25ml di tampone contenente barbital e sodio cloruro con sodio azide come conservante. Il tampone è pronto all'uso così come viene fornito.
- Sospensione di caolino 0,5 g/l (2 x 5 ml)**
Contiene 5 ml di sospensione di caolino a 0,5 g/l.
Preparazione: Miscelare energicamente immediatamente prima dell'uso. Assicurarsi che non vi siano sedimenti visibili.
- Altri componenti del kit**
Ogni kit contiene un foglio procedurale e un inserto recante i valori di riferimento specifici per il lotto.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

I flaconi non aperti sono stabili fino alla data di scadenza indicata se conservati nelle condizioni riportate sul flacone o sull'etichetta del kit.

- Reagente a base di trombina**
Dopo la ricostituzione, il reagente è stabile per 8 ore a temperatura ambiente, 1 settimana a 2...6°C o per 1 mesi a -20°C.
- Calibratore per fibrinogeno**
Dopo la ricostituzione, il reagente è stabile per 4 ore a 2...6°C.
- Tampone Veronal di Owren**
Una volta aperto, conservare a 2...6°C.
- Sospensione di caolino**
Conservare a 2-6°C dopo l'apertura.

I reagenti contenuti in questo kit sono disponibili anche come materiale separato:

REF 5374	Reagente a base di trombina	10x2ml
REF 5378	Reagente a base di trombina	10x5ml
REF 5379	Calibratore per fibrinogeno	10x1ml
REF 5375	Tampone Veronal di Owren	10x25ml
REF 5488	Tampone Veronal di Owren	1x500ml

RACCOLTA DEI CAMPIONI E PREPARAZIONE

Nel corso dell'intera procedura è necessario utilizzare plastica o vetro silicizzato. Il sangue (9 parti) deve essere raccolto in sodio citrato al 3,2% o al 3,8% come anticoagulante (1 parte). Separare il plasma in seguito a centrifugazione a 2000 - 3000 x g per 15 minuti. Il plasma deve essere conservato a 2...6°C. I test devono essere completati entro 2 ore dalla raccolta dei campioni; in alternativa, il plasma può essere conservato congelato a -20°C per 2 settimane o a -70°C per 1 mese. Decongelare rapidamente a 37°C prima di eseguire il test. Non conservare a 37°C per oltre 5 minuti.

PROCEDURA

I reagenti di dosaggio del fibrinogeno Helena BioSciences sono ideati all'uso in qualsiasi analizzatore di coagulazione in grado di eseguire i dosaggi del fibrinogeno di Clauss. Fare riferimento al manuale utente dello strumento e/o alla nota applicativa per conoscere le istruzioni specifiche.

A. Metodo manuale

Preparare tutti i reagenti secondo le istruzioni riportate nel paragrafo **COMPOSIZIONE**.

1. Preparazione della curva standard

NOTA: Quando i numeri di lotto dei reagenti cambiano o se i valori previsti per i test del controllo qualità variano, è necessario utilizzare una nuova curva standard. Preparare le seguenti diluizioni nel tampone Veronal di Owren:

Provetta	Diluizione	Calibratore fibrinogeno (ml)	Tampone (ml)
1	1+4	0,2	0,8
2	1+9	0,1	0,9
3	1+19	0,1	1,9
4	1+29	0,1	2,9
5	1+39	0,1	3,9

Miscelare senza scuotere.

2. Preparazione dei campioni dei pazienti

Preparare 1+9 diluizioni di plasma del paziente o di plasma di controllo nel tampone Veronal di Owren. Miscelare senza scuotere.

3. Esecuzione del test

- Eseguire tutti i test per 2 volte.
- Pipettare 0,2ml di diluizione standard, del paziente o di controllo in una provetta di reazione ed incubare a 37°C per 2 minuti.
- Aggiungere 0,1ml di reagente a base di trombina (15...30°C).
- Determinare il tempo di coagulazione con un'approssimazione a 0,1 secondi.
- Tracciare il tempo di coagulazione standard medio (sull'asse Y) rispetto al livello di fibrinogeno (sull'asse X) sulla carta diagrammata del fibrinogeno.

Si dovrà ottenere una linea retta. Assegnare il valore di riferimento del calibratore per fibrinogeno alla diluizione 1+9, per consentire l'interpolazione diretta dei valori del paziente e di controllo dalla curva standard.

B. Metodi automatici e semi-automatici: Consultare le guide di applicazione specifiche dello strumento.

CONTROLLO QUALITÀ

Ogni laboratorio deve definire un programma di controllo qualità. I plasmi di controllo normali e anormali devono essere testati prima di ogni lotto di campioni di pazienti, per garantire un livello prestazionale soddisfacente sia per quanto riguarda lo strumento che per l'operatore. Qualora i controlli non funzionassero come previsto, i risultati relativi ai pazienti dovranno essere considerati non validi.

Helena BioSciences mette a disposizione i seguenti controlli utilizzabili con questo prodotto:

REF 5301	Sac-1 Plasma di controllo normale	10x1ml
REF 5302	Sac-2 Plasma di controllo anormale	10x1ml
REF 5186	Norm-Trol 1 Plasma di controllo	10x1ml
REF 5187	Ab-Trol 2 Plasma di controllo	10x1ml
REF 5183	Ab-Trol 3 Plasma di controllo	10x1ml

VALORI DI RIFERIMENTO

I valori di riferimento possono variare da un laboratorio all'altro in funzione delle tecniche e dei sistemi in uso. Per tale motivo ciascun laboratorio dovrà elaborare un proprio range normale. Nei soggetti adulti sani i valori previsti per il fibrinogeno sono di 150-350 mg/dl (1,5-3,5 g/L)^{3,4}.

LIMITAZIONI

I livelli di eparina >0,6 unità/ml e i prodotti fibrinolitici di degradazione >100mg/ml possono causare una quantificazione del fibrinogeno falsamente bassa. Se i valori fuoriescono dai valori della curva standard per i campioni dei pazienti, ripetere il dosaggio utilizzando una diluizione appropriata per portare i valori all'interno del range standard.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Le caratteristiche prestazionali sotto riportate sono state determinate da Helena BioSciences o dai propri rappresentanti a titolo di linee guida.

Ciascun laboratorio dovrà pertanto elaborare i propri dati prestazionali.

Il dosaggio fibrinogeno manuale è concepito per offrire una calibrazione lineare da 1,5-6,5 g/L.

RIPRODUCIBILITÀ:

Riproducibilità entro il dosaggio:		
Fibrinogeno (g/L)	CV	n
1.24	4.88	5
3.01	3.58	5
Riproducibilità tra i dosaggi:		
Fibrinogeno (g/L)	CV	n
1.02	6.17	10
3.62	3.78	10

BIBLIOGRAFIA

- Clauss, A., 'Gerinnungsphysiologische Schnell-methode zur bestimmung des Fibrinogens', Acta Haematol., 1957, 17 : 237-246.
- Shaw, T.S., 'Assays for Fibrinogen and its Derivatives' CRC Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., 1977, 8 : 145-192.
- Scully, R.E. et al., 'Normal Reference Laboratory Values', N. Eng. J. Med., 1980, 302(37) : 37-48.
- Okuno, T. and Selenko, V., Amer. J. Med. Tech., 1972, 38(6) : 196-201.

USO PREVISTO

El Kit de valoración del fibrinógeno está previsto para la determinación cuantitativa del fibrinógeno en el plasma humano.

Clauss® desarrolló un método simple para la determinación cuantitativa de fibrinógeno midiendo el tiempo de coagulación del plasma diluido después de la adición de trombina (>30 unidades NIH/ml). Este tiempo de coagulación es proporcional a la concentración de fibrinógeno. Los niveles de fibrinógeno pueden aumentar como consecuencia de inflamación, embarazo o uso de anticonceptivos orales°. Pueden encontrarse niveles disminuidos en determinados estados como la hepatopatía y la CID. Entre las deficiencias congénitas están la alfibrinogenemia (sin fibrinógeno detectable), la hipofibrinogenemia (<1mg/ml) y la disfibrinogenemia (molécula de fibrinógeno anormal).

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Los reactivos contenidos en este kit son sólo para uso diagnóstico – **NO SE DEBEN INGERRIR**. Usar guantes para manejar todos los componentes del kit. Consultar la hoja con los datos de seguridad del producto acerca de los riesgos, avisos de seguridad y consejos para su eliminación. Los productos plasmáticos se han sometido a pruebas y han resultado negativos (a menos que se indique otra cosa en la caja del kit o en el vial) para la presencia de antígeno de la hepatitis B (HbsAg), anticuerpos de VIH 1 y 2 y anticuerpo del VHC; sin embargo, deben manipularse con las mismas precauciones que una muestra de plasma humano.

No debe usarse con el AC-4.

COMPOSICIÓN

- Reactivo de trombina (5 x 2ml)**
Cada vial contiene aproximadamente 200 unidades de trombina bovina con estabilizadores.
Preparación: Reconstituya cada vial con 2,0 ml de agua purificada o suspensión de Kaolin dependiente de la metodología específica manual o de cada instrumento. Mezclar bien inmediatamente antes de usar.
- Calibrador del fibrinógeno (2 x 1ml)**
Cada vial contiene 1ml de plasma humano normal liofilizado estudiado en cuanto a niveles de fibrinógeno.
Preparación: Reconstituir cada vial con exactamente 1,0ml de agua destilada. Agitar suavemente y permitir que repose durante 10 minutos. Mezclar suavemente antes de su uso. No agitar.
- Tampón Veronal de Owren (2 x 25ml)**
Cada frasco contiene 25ml de tampón con barbital y cloruro sódico con azida sódica como conservante. El tampón viene envasado listo para usar.
- Suspensión de kaolin 0,5 g/l (2 x 5 ml)**
Contiene 5 ml de suspensión de kaolin a 0,5 g/l.
Preparación: Mezclar vigorosamente inmediatamente antes de usar. Comprobar que no hay sedimentación visible.
- Otros componentes del kit**
Cada kit contiene instrucciones de uso y valores de referencia específicos insertados del lote.

ALMACENAMIENTO Y PERÍODO DE VALIDEZ

Los viales no abiertos son estables hasta la fecha de caducidad indicada cuando se conservan en las condiciones indicadas en el vial o en la etiqueta del kit.

- Reactivo de trombina**
El reactivo reconstituido permanece estable durante 8 horas a temperatura ambiente, 1 semana a 2...6 °C o 1 meses a -20°C.
- Calibrador del fibrinógeno**
Una vez reconstituido, el reactivo permanece estable durante 4 horas a 2...6°C.
- Tampón Veronal de Owren**
Conservar a 2...6°C una vez abierto.
- Suspensión de kaolin**
Conservar a 2-6°C una vez abierto.

Los reactivos contenidos en este kit están también disponibles como artículos separados:

REF 5374	Reactivo de trombina	10x2 ml
REF 5378	Reactivo de trombina	10x5 ml
REF 5379	Calibrador del fibrinógeno	10x1 ml
REF 5375	Tampón Veronal de Owren	10x25 ml
REF 5488	Tampón Veronal de Owren	1x500 ml

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Deben usarse siempre plástico o vidrio silicizado.

Debe recogerse sangre (9 partes) en el anticoagulante citrato sódico al 3,2% o al 3,8% (1 parte). Se separa el plasma después de la centrifugación a 2000 - 3000 x g durante 15 minutos.

El plasma debe conservarse a 2...6°C. Las pruebas deberían terminarse en 2 horas desde la recogida de las muestras o el plasma puede conservarse congelado a -20°C durante 2 semanas o -70°C durante un mes. Descongelar rápidamente a 37°C antes de realizar la prueba. No conservar a 37°C durante más de 5 minutos.

PROCEDIMIENTO PASO A PASO

Los reactivos de la valoración del fibrinógeno de Helena BioSciences son adecuados para usarse en cualquier analizador de coagulación capaz de realizar valoraciones del fibrinógeno de Clauss. Consultese el Manual del Operador del Instrumento y/o la nota de aplicación para instrucciones adecuadas.

A. Método manual

Preparar todos los reactivos como se indica en "composición".

1. Preparación de la curva estándar

NOTA: Debe usarse una nueva curva estándar cuando los números de lote de los reactivos cambian o si los valores esperados en las pruebas de control de calidad cambian. Preparar las siguientes diluciones en Tampón Veronal de Owren.

Tubo	Diluición	Calibrador del fibrinógeno (ml)	Tampón (ml)
1	1+4	0,2	0,8
2	1+9	0,1	0,9
3	1+19	0,1	1,9
4	1+29	0,1	2,9
5	1+39	0,1	3,9

Mezclar sin agitar.

2. Preparación de la muestra del paciente

Preparar 1 + 9 diluciones del plasma del paciente o el plasma control en tampón Veronal de Owren. Mezclar sin agitar.

3. Realización de las pruebas

- Realizar todas las pruebas por duplicado.
- Pipetear 0,2ml de solución estándar, del paciente o control en un tubo de reacción e incubar a 37°C durante 2 minutos.
- Añadir 0,1ml de reactivo de trombina (15...30°C).
- Determinar el tiempo de coagulación en los 0,1 segundos más próximos.
- Dibujar el tiempo de coagulación estándar (eje Y) frente al nivel del fibrinógeno (eje X) en el papel de gráfico del fibrinógeno.

Debe obtenerse una línea recta. Asignar el valor de referencia del calibrador del fibrinógeno a la dilución 1 + 9 para permitir la interpolación directa de los valores del paciente y control a partir de la curva estándar.

B. Métodos automatizados y semiautomatizados: Consulte las guías de aplicación específicas de cada instrumento.

CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe establecer un programa de control de calidad. Los controles normales y anormales deben estudiarse antes de cada lote de muestras del paciente, para asegurar un funcionamiento adecuado del instrumento y el operador. Si los controles no se realizan como se esperaba, los resultados del paciente deben considerarse inválidos.

Helena BioSciences suministra los siguientes controles disponibles para usar con este producto:

REF 5301	Plasma control normal Sac-1	10x1 ml
REF 5302	Plasma control anormal Sac-2	10x1 ml
REF 5186	Plasma control Norm-Trol 1	10x1 ml
REF 5187	Plasma control Ab-Trol 2	10x1 ml
REF 5183	Plasma control Ab-Trol 3	10x1 ml

VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia pueden variar entre los laboratorios dependiendo de las técnicas y sistemas usados. Por esta razón, cada laboratorio debe establecer su propio intervalo normal.

Los valores esperados para el fibrinógeno en adultos sanos son de 150-350 mg/dl (1,5-3,5 g/l)^{3,4}.

LIMITACIONES

Los niveles de heparina >0,6 unidades/ml y los productos de degradación fibrinoliticos >100mg/ml pueden producir una cuantificación falsamente baja del fibrinógeno. Si los valores caen fuera de los valores de la curva estándar para las muestras de pacientes, vuelva a realizar la valoración usando una dilución adecuada para llevar los valores al intervalo estándar.

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

Helena BioSciences o sus representantes han determinado las siguientes características de rendimiento como directriz.

Cada laboratorio debe establecer sus propios datos de rendimiento.

La valoración del fibrinógeno manual está diseñada para dar una calibración lineal de 1,5 a 6,5 g/l.

REPRODUCTIBILIDAD:

Reproducibilidad dentro de cada ensayo:		
Fibrinógeno (g/l)	CV	n
1.24	4.88	5
3.01	3.58	5
Reproducibilidad entre distintos ensayos:		
Fibrinógeno (g/l)	CV	n
1.02	6.17	10
3.62	3.78	10

BIBLIOGRAFÍA

- Clauss, A., 'Gerinnungsphysiologische Schnell-methode zur Bestimmung des Fibrinogens', Acta Haematol., 1957, 17 : 237-246.
- Shaw, T.S., 'Assays for Fibrinogen and its Derivatives' CRC Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., 1977, 8 : 145-192.
- Scully, R.E. et al., 'Normal Reference Laboratory Values', N. Eng. J. Med., 1980, 302(37) : 37-48.
- Okuno, T. and Selenko, V., Amer. J. Med. Tech., 1972, 38(6) : 196-201.



Fibrinogen Assay Kit

Instructions for use

REF 5376

Kit de dosage du fibrinogène

Fiche technique

Fibrinogen Assay Kit

Anleitung

Kit di dosaggio del fibrinogeno

Istruzioni per l'uso

Kit de valoración del fibrinógeno

Instrucciones de uso

Helena Biosciences Europe

Queensway South

Team Valley Trading Estate

Gateshead

Tyne and Wear

NE11 0SD

Tel. +44 (0)191 482 8440

Fax +44 (0)191 482 8442

Email info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com