

CONTINUT

REF 3510301 FIBRINOGEN 5x2 ml (200 teste)

Numai pentru diagnosticarea *in vitro***Fibrinogen**

METODA CLAUSS

Determinarea timpului de fibrinogen

PRINCIPIUL

Testul Linear Chemicals Fibrinogen se bazeaza pe metoda de cuantificare Clauss. Metoda Clauss masoara viteza de conversie a fibrinogenului la fibrina in prezenta unui exces de trombina si s-a dovedit a fi rapida, sensibila si precisa. Cand plasma diluata coaguleaza cu exces de trombina, nivelul de fibrinogen este proportional cu timpul de coagulare. Se pregateste o curba de coagulare sintr-un standard de referinta si se tipareste pe hartie log-log. Aceasta curba de calibrare se va folosi la determinarea concentratiei de fibrinogen in proba testata.

COMPOZITIA REACTIVULUI

Fibrinogen	Preparat liofilizat din trombina bovina, \approx 100 NIH U/mL intr-un buffer, stabilizatoare si conservanti. 5x2ml, liofilizat
Buffer imidazol	Buffer imidazol, stabilizatori si conservanti. gata de folosire. (6x15ml)

Optional: Plasma nivel 1, Plasma nivel 2**Atentie:** Reactivii din aceasta trusa contin azida de sodiu. Nu permiteti contactul cu mucoasele sau cu pielea.**PASTRARE SI STABILITATE**

Reactivul este stabil pana la data inscrisa pe ambalaj daca se respecta conditiile de pastrare la 2-8 °C.

RECONSTITUIRE

Fibrinogen. Reconstituiti cu **2.0 mL** de **apa distilata**. Lasati sa stea la temperatura camerei 30 de minute inainte de utilizare. Asigurati-va ca dizolvarea materialului este completa. Dupa reconstituire solutia este stabila 5 zile la 2-8°C sau pana la 30 zile la -20°C.

PROBELE

Plasma de testare trebuie preparata din sange integral recoltat **fara** heparina, EDTA sau oxalati.

Transferati imediat 9.0 mL de sange intr-un tub continand 1.0 mL de solutie de citrat de sodiu 3.2% sau 3.8%.

Asigurati-va ca recoltarea s-a facut corect si ca este respectata proportia de 9 parti sange la 1 parte citrat. Nu trebuie sa folositi o branula heparinizata sau o linie de transfer heparinizata. Se recomanda, ca in general pentru testele de coagulare sa fie folosit al doilea sau al treilea tub in ordinea recoltrarii.

1. Colectarea sangelui integral

- Trageti sangele venos cu o seringă de plastic sau siliconata.

- Trageti sangele venos intr-un tub acumat comercial continand solutie de citrat de sodiu cu concentratia 3.2% de 3.8% .

2. Prepararea plasmei

Amesetcati bine prin inversie si centrifugati la 2500 x g pentru 15 minute cat ai repede dupa recoltare. Daca probele nu sunt procesate imediat, transferati plasma intr-un tub de plastic. Plasma care este in mod clar hemolizata sau contine mi mult de 10000 plachete pe milimetrul cub sau celule rosii nu este corespunzatoare testarii.

3. Pastrarea plasmei

Probele de plasma pot fi pastrate la temperatura camerei (18 - 26 °C) pana la 2 ore; refrigerate (2 - 8 °C) pana la 4 ore; inghetate la -20 °C pana la 2 luni, iar la -70 °C pana la 6 luni. Plasma poate fi recentrifugata inainte de congelare, pentru a ne asigura ca toate celulele au fost indepartate. Dezghetati rapid probele inghetate si testati-le imediat. Probele NU trebuie sa intre in contact cu sticla. NU incubati probele la 37 °C pentru mai mult de 5 minutes pentru a evita pierderea factorilor V si VII. Pierderea factorului V poate prelungi PT.

INTERFERENTE

Timpul de coagulare pentru **Fibrinogen** poate fi prelungit de :corticosteroidi, EDTA, contraceptive orale, aspaaginaza, clofibrat, eritromicina, etanol, tetraciclina, anticoaguanti de tipul Coumadinului.

Timpul de coagulare pentru **Fibrinogen** poate fi scurtat de: antihistaminice, barbiturice, cafeina, contraceptive orale, fenobarbital, vitamina K.

ECHIPAMENT NECESAR DAR NELIVRAT

Coagulometru sau ceas de laborator si baie de apa termostata la 37°C \pm 0.5°C. Echipament general de laborator.

PROCEDURA

Procedura este aplicabila procedurilor manuale sau semi-automate. Pentru rezultate optime se recomanda lucrul in duplicat.

Asigurati-va ca **Fibrinogenul** reconstituit este la temperatura camerei inainte de utilizare.

Pipetati cate 100 μ L din fiecare **dilutie a plasmei** intr-o cuveta de test. **Incubati la 37°C pentru 2-5 minute.**

Adaugati 50 μ L de reactiv **Fibrinogen** in fiecare cuveta de reactie si porniti imediat cronometrul.

Notati timpul de coagulare, in secunde. Toate probele trebuie lucrate in duplicat.

CALCULE

Folositi curba de calibrare din trusa. De exemplu:

NR LOT	35038
Valabil pana la	2012-01
g/L	Secunde
4	7.6
3	9.9
2	14.4
1	27.3

Introduceti parametrii de calibrare in memoria aparatului sau reprezentati-o pe hartie.

Calculati manual sau utilizati aparatul pentru medierea timpilor de coagulare pentru 2 probe din acelasi ser. Diferentele intre probele analizate in duplicat trebuie sa fie mai mici de 5%. Daca este necesar, repetati testarea.

Probele cu o concentratie mai mica de 1g/L trebuie diluate 1:5 si reanalizate. Probele care depasesc domeniul de linearitate se dilueaza 1:20 si se reanalizeaza.

VALORI DE REFERINTA

Domeniul normal: 150-400 mg/dL.

Aceste valori sunt orientative; fiecare laborator trebuie sa-si stabileasca propriile valori de referinta.

CONTROLUL DE CALITATE

Pentru monitorizarea performantelor testului se recomanda foloarea unor seruri de control.

REF 3935205 Fibrinogen Normal Control

REF 3935210 Fibrinogen Low Control

Fiecare laborator in parte trebuie sa-si stabileasca propria schema de control al calitatii si sa ia masurile corespunzatoare daca analizarea controalelor nu duce la rezultatele asteptate.

PERFORMANTA ANALITICA

Linearitate: 0.5-5.7 g/L

Sensibilitate analitica: 0.5g/L

Domeniul Normal: 2.5-3.8 g/L

Trasabilitate: Stago STA Fibrinogen

Acuratete: Rezultatele obtinute cu acest reactiv nu au aratat diferente majore fata de rezultatele obtinute cu alti reactivi.

Detaliile comparatiei sunt disponibile la cerere.

SEMNFICATIA CLINICA

Fibrinogenul, o proteina, sintetizata in ficat, este substranta folosita in sange pentru formarea cheagului. Determinarea lui este folosita in evaluarea formarii cheagului anormal.

Nivelele ridicate ale fibrinogenului sunt observate in inflamatiile acute si in sarcina; valorile scazute sunt observate in terapia trombolitica, in bolile hepatice, in afectiunile congenitale de lipsa de fibrinogen, in DIC (Coagulare intravasculara diseminata) si in pancreatite (valori scazute).

Diagnosticul clinic nu trebuie pus doar pe baza unui singur test; trebuie interpretat impreuna cu celelalte date clinice si de laborator.

NOTE

1. Daca timpul de coagulare al dilutie 1:10 a plasmei de pacient depaseste ultimul punct de pe curba de calibrare, pregatiti o dilutie 1:5 a plasmei si repetati determinarea. Inmultiti rezultatul obtinut cu 5 in loc de 10. Obtineti astfel valoarea de fibrinogen nediluat in proba de plasma de la pacient.

2. Daca timpul de coagulare al dilutiei 1:10 de la pacient este mai scurt decat ultimul punct de pe curba de calibrare, pregatiti o dilutie 1:20 dilution a plasmei de la pacient si repetati determinarea. Inmultiti rezultatul obtinut cu 20 in loc de 10. Obtineti astfel valoarea de fibrinogen nediluat in proba de plasma de la pacient.

LIMITARILE PROCEDURII

Cea mai scazuta rata de dilutie este 1:3. Plasma nediluata nu poate fi testata deoarece substantele care interfera si inhibitorii pot afecta acuratetea rezultatelor. Rezultatele nu sunt afectate semnificativ de nivele terapeutice uzuale de heparina de pana la 3.0 U/mL ca cele intalnite la pacientii tratati cu anticoagulante. Timpul de coagulare prelungiti vor fi observati la concentratii de aproximativ 5 U/mL in proba nediluata de pacient.

Produsele de degradare ale fibrinei (FDP) pot inhiba actiunea trombinei pe fibrinogen sau polimerizarea fibrinei. In probele cu nivel de fibrinogen sub 150 mg/dl si concentratii FDP mai mari de 100 µg/mL, testul poate avea inhibitia crescuta. Dilutiile urmatoare ale plasmei vor reduce aceasta interferenta.

BIBLIOGRAFIE

1. Deykin, D, Anticoagulant therapy. In: Colman, R.W., Hirsh, J, Marder, V., Salzman, EW (Eds.); Hemostasis and Thrombosis, JB Lippincott, Philadelphia, 1982, p1000.
2. Errichette AM, Holden A, Ansell J; Management of Oral Anticoagulant Therapy: experience with an Anticoagulation Clinic, Arch. Inter. Medicine 144: p1966 (1984).
3. Hirsh J, Dalen JE, Deykin D., Polter L; Oral Anticoagulants: Mechanisms of Action, Clinical Effectiveness and Optimal Therapeutic Range, Chest 102 (suppl):312S, (1992)
4. Miale JB; Laboratory Medicine-Hematology, 4th edition, CV Mosbe, St Louis, (1972)
5. Furie B, Furie BC; Molecular and Cellular Biology of Blood Coagulation, N Eng J Medicine 326:p800 (1992)
6. Hougie C; The Biochemistry of Blood Coagulation; In Triplett DA, Laboratory Evaluation of Coagulation, American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, p2 (1982)
7. WHO Expert Committee on Biological Standardization, 33 Report. Technical Report Series 687, WHO, Geneva (1983)
8. Kirkwood T; Calibration of Reference Thromboplastins and Standardization of the Prothrombin Time Ratio, Thromb Haemostasis 49: p238 (1983)
9. International Committee for Standardization in Haematology and International Committee on Thrombosis and Haemostasis. Amer J Clin Path 88: p779 (1985)
10. Young DS, Thomas DW, Friedman RB, et al.; Effect of Drugs in Clinical Tests, Clin Chem 18: p1041 (1972)
11. Laposala M, Connor A, Hicks D, Phillips D: The Clinical Hemostasis handbook, Year Book Medical Publishers Inc. (1989)