



I. Indicazioni d'Uso

Il **Fibrinogen Kit** permette di determinare in modo quantitativo il fibrinogeno presente nel plasma.

II. Riepilogo e Principio

Il fibrinogeno è la proteina plasmatica precursore della fibrina; quando il fibrinogeno viene legato diventa il componente principale del coagulo formato dalla fibrina. La trombina degrada il fibrinogeno per formare un monomero di fibrina. I monomeri di fibrina si aggregano a formare i polimeri insolubili di fibrina. Il fibrinogeno può essere deficitario in condizioni quali l'afibrinogenemia congenita, l'ipofibrinogenemia ed in alcuni casi di disfibrinogenemia. Esso può anche essere deficitario in alcuni stati patologici, quali la coagulazione intravascolare disseminata, la fibrinolisi sistemica, la pancreatite e la disfunzione epatica severa. Il fibrinogeno è una proteina altamente reattiva in fasi acute e la sua concentrazione aumenta in risposta a molti differenti stimoli fisiologici. Può aumentare in stati infiammatori, a seguito di infezioni, durante la gravidanza e dopo traumi. È presente in concentrazione elevata tra i fumatori^{1,2}. Alti livelli di fibrinogeno nel plasma sono stati associati a stati pre-trombotici. I livelli di fibrinogeno sono stati anche positivamente correlati allo sviluppo dei disordini cardiovascolari aterosclerotici e alla apparizione di infarto del miocardio e a colpo apoplettico^{3,4}.

Il Fibrinogen Kit si basa sul metodo di Clauss. Quando il plasma diluito è fatto coagulare in presenza di un eccesso di trombina, il livello di fibrinogeno è inversamente proporzionale al tempo di coagulazione, fornendo una relazione concentrazione/tempo di tipo curvilineo quando viene messa in grafico su carta log-log. Per determinare la concentrazione di fibrinogeno nel campione all'esame, si usa una curva di calibrazione costruita con un fibrinogeno di riferimento.

III. Il Reagente

Per uso diagnostico *in vitro*.

Conservazione

Conservare il kit con i reagenti per il fibrinogeno in frigorifero (2-8°C). Le etichette dei reagenti riportano la data di scadenza. Il plasma di calibrazione ricostituito è stabile per 24 ore quando tenuto a 2-8°C.

Contenuto del kit

Imidazole Buffer

BUFFER

2x25ml Tampone Imidazolo, Imidazolo, 30 mmol/l, e cloruro di sodio, 125 mmol/l. Sodio azide, 0,1% aggiunto come conservante, pH 7,4 ± 0,2

Thrombin 100 IU

REAG 1

5x2 ml Trombina, Preparazione liofilizzata contenente trombina umana, approssimativamente 100 NIH U/ml, tampone, stabilizzanti e conservanti

Fibrinogen Cal

CALIBRATOR

1x1 ml Plasma di Calibrazione, Plasma umano citrato liofilizzato contenente tampone e conservanti. Il valore del fibrinogeno sull'etichetta è determinato con la tecnica Clauss, attribuibile al Secondary Coagulation Standard ISTH

Preparazione

Ricostituire il Plasma di Calibrazione con 1,0 ml di acqua distillata o deionizzata. Chiudere il flacone ed aspettare che il composto sia completamente dissolto. Capovolgere delicatamente per mescolare. NON AGITARE.

Ricostituire il reagente Trombina con 2,0 ml di acqua distillata o deionizzata. Chiudere il flacone ed aspettare che il composto sia completamente dissolto. Capovolgere periodicamente. NON AGITARE.

Il Tampone Imidazolo è fornito come liquido e non richiede alcuna preparazione prima dell'uso.

NOTE:

1. Non usare acqua distillata contenente conservanti.
2. Se il reagente Trombina è rimosso dal flacone originale durante l'uso, usare esclusivamente contenitori in polipropilene o vetro siliconato.

Avvertenza: Questo prodotto contiene sodio azide come conservante. Lo smaltimento di questi reagenti nelle tubature deve essere effettuato insieme ad abbondanti quantità di acqua, per evitare la formazione di azidi metalliche che, se presenti in tubature metalliche in alte concentrazioni, possono essere potenzialmente esplosive.

Stabilità

Il reagente Trombina ricostituito è stabile per 12 giorni a 2-8°C o per 3 giorni a temperatura ambiente (18-26°C). Conservare a 2-8°C quando il prodotto non è in uso.

IV. Raccolta dei campioni e preparazione

Prelievo

Non occorre una particolare preparazione del paziente e non è necessario che sia a digiuno. Si consiglia plasma anticoagulato con citrato di sodio al 3,2% (0,109 M). 7,8,9 Per ottenere risultati accurati, utilizzare nove parti di sangue con una parte di anticoagulante. I risultati di campioni plasmatici emolizzati, itterici o lipemici devono essere interpretati con attenzione. Centrifugare i campioni per 15 minuti a 1500 x g.

Conservazione

Eseguire i test entro 2 ore dal prelievo se i campioni sono conservati a 22-24°C. Qualora i test non sono eseguiti entro 24 ore dal prelievo, i plasmi possono essere conservati a -20 °C per 2 settimane o a -70 °C per 6 mesi. Per ulteriori informazioni sulla raccolta e conservazione dei campioni vedere il documento NCCLS H21-A3³.

V. Procedura

Avvertenze e Precauzioni

Il Plasma di Calibrazione è un MATERIALE A POTENZIALE RISCHIO BIOLOGICO. I composti originari da cui questo prodotto è stato derivato, sono stati trovati negativi per HBsAg e per gli anticorpi contro HCV, HIV-1 e HIV-2 attraverso metodologie di analisi approvate. Tuttavia, dal momento che nessuna analisi può offrire sicurezza completa che gli agenti infettivi siano assenti, questo prodotto deve essere maneggiato osservando le stesse precauzioni di sicurezza usate quando si maneggia qualunque tipo di materiale potenzialmente infettivo.

Il Reagente Trombina è NOCIVO se viene a contatto con la pelle e se ingerito. È irritante per gli occhi, il sistema respiratorio e la pelle. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con molta acqua e consultare un medico. Indossare vestiario protettivo appropriato.

Materiali necessari ma non forniti

- Acqua distillata
- Cronometro o timer
- Pipette di precisione 0,05, 0,1, 0,2 e 0,5 ml
- Plasma di controllo

Test del Paziente

I campioni di plasma del paziente vengono preparati diluendo il plasma 1:10 con tampone Imidazolo in provette di plastica. Conservare le diluizioni a 2-8°C.

Preparazione della Curva di Calibrazione

Preparare diluizioni di Plasma di Calibrazione con tampone Imidazolo e conservare le diluizioni refrigerate (2-8°C). Usare sempre provette di plastica. Capovolgere i tubi gentilmente per mescolare. Esempi di diluizioni di fibrinogeno di riferimento sono dati di seguito:

Diluizione	Plasma di Calibrazione (ml)	Tampone Imidazolo (ml)	Fattore di diluizione
1:5	0,5	2,0	2
1:10	0,5 di 1:5 diluizione	0,5	1
1:15	0,4 di 1:5 diluizione	0,8	0,66
1:20	0,2 di 1:5 diluizione	0,9	0,5
1:25	0,2 di 1:5 diluizione	0,8	0,4
1:30	0,2 di 1:5 diluizione	1,0	0,33

La diluizione 1:10 del Plasma di Calibrazione definisce il valore dell'analisi riportato sull'etichetta del contenitore ed è la diluizione a cui tutte le altre diluizioni si riferiscono. Il fattore di diluizione indica la relazione tra la diluizione 1:10 e tutte le altre diluizioni. I valori di tutte le altre diluizioni vengono calcolati nel modo seguente:

Valore determinato del Plasma di Calibrazione (mg/dl) x fattore di diluizione = fibrinogeno (mg/dl)

Con i dati delle diluizioni del calibratore si costruisce un grafico sul per grafici log-log a due decadi, con la concentrazione del fibrinogeno (mg/dl) sull'ascissa e il tempo di coagulazione (secondi) sull'ordinata. La curva che unisce i punti è generalmente leggermente curvilinea.

Procedura Manuale

Il kit per il fibrinogeno può essere usato con tecniche meccaniche o foto ottiche. Riferirsi al manuale di istruzioni dello strumento o alle istruzioni per le applicazioni specifiche dello strumento e per le limitazioni di procedura.

(segue)

Simbologia utilizzata



Scadenza Lotto



Numero di Lotto



Codice Prodotto



Conservare a 2-8 °C



Solo per uso *in vitro*



Consultare le istruzioni

IFU 21.100 Rev 2.5 nov2016



Produttore

P.R.I.S.M.A. srl

Via Cavour 42
I-20865 Usmate Velate MB
info@prismaonline.it
www.prismaonline.it
☎ +39 039 6076708

**Procedura manuale utilizzando un coagulometro KC 1**

(Per curva di calibrazione ed analisi del plasma del paziente)

1. Ricostituire il reagente trombina e riscaldare a temperatura ambiente (18– 26°C);
2. Mettere le cuvette in un porta cuvette posto nell'area di preparazione non riscaldata;
3. Inserire una sfera in ogni cuvetta;
4. Pipettare 0,1 ml (100 µl) di campione diluito in ogni cuvetta;
5. Chiudere il coperchio, rimuovere il porta cuvette dall'area di preparazione e mescolare gentilmente 4–5 volte. Trasferire il porta cuvette nell'area di incubazione riscaldata o nei canali di lettura;
6. Incubare per 1–3 minuti;
7. Mettere il porta cuvette nei canali di lettura. Aprire il coperchio;
8. Pipettare 0,05 ml (50 µl) di reagente trombina in ogni cuvetta;
9. Registrare i risultati del tempo di coagulazione in secondi;
10. Estrapolare la concentrazione dalla curva di calibrazione.

VI. Controllo di Qualità

Si consiglia l'uso di plasma di controllo (HaemoDiagnostics Level 1, 2, 3) per monitorare i test di coagulazione, in accordo alle procedure di controllo di qualità stabilite dal laboratorio. CLSI raccomanda che i controlli siano analizzati all'inizio del test, almeno una volta per turno, oppure contestualmente a ciascuna analisi. Nei laboratori che trattano volumi elevati, i controlli devono essere analizzati almeno ogni 40 campioni.³ Se i valori del controllo non rientrano nel range di riferimento, non comunicare i risultati al paziente. Determinare quale parte dello strumento/reagente/sistema di controllo che non abbia funzionato in modo appropriato e risolvere il problema. Dopo aver attuato e documentato tutte le correzioni in base alla buona pratica di laboratorio, rianalizzare i controlli. Se i valori ottenuti rientrano nel range, è possibile analizzare i campioni del paziente e comunicarne i risultati.

VII. Risultati

Usare la curva di calibrazione per leggere i valori dell'analisi del fibrinogeno nel modo seguente.
Determinare il punto in cui il tempo di coagulazione per la diluizione 1:10 del campione di plasma diluito (ordinata) intercetta la curva di calibrazione. Leggere il valore corrispondente di fibrinogeno in mg/dl (ascisse).
Se il tempo di coagulazione della diluizione 1:10 del plasma all'analisi eccede il tempo di coagulazione dell'ultimo punto di diluizione sulla curva di calibrazione, preparare una diluizione 1:5 del plasma all'analisi e ripetere il test. La concentrazione di fibrinogeno risultante, in mg/dl, deve essere moltiplicata per il fattore di diluizione di 0,5 per ottenere la corretta concentrazione di fibrinogeno, in mg/dl, del campione all'analisi. Se il tempo di coagulazione della diluizione 1:10 del plasma all'analisi è più breve del tempo di coagulazione dell'ultimo punto di diluizione sulla curva di calibrazione, preparare una diluizione 1:20 del plasma all'analisi e ripetere il test. La concentrazione di fibrinogeno risultante, in mg/dl, deve essere moltiplicata per il fattore di diluizione di 2 per ottenere la corretta concentrazione di fibrinogeno, in mg/dl, del campione all'analisi. Se vengono analizzate altre diluizioni, il valore ottenuto deve essere moltiplicato per il fattore di diluizione appropriato.

VIII. Interpretazione dei risultati

I risultati non sono particolarmente influenzati da livelli tipici di eparina terapeutica (fino a 3,0 USP U/ML) come è stato mostrato in pazienti sottoposti ad anticoagulanti. È stato riportato che i prodotti di degradazione della fibrina (FDP) possono inibire l'azione della trombina sul fibrinogeno e la polimerizzazione della fibrina stessa. FDP ha un effetto minimo sull'analisi del fibrinogeno a livelli normali di fibrinogeno. A concentrazioni di fibrinogeno inferiori 150 mg/dl (1,5 g/l), FDP, a concentrazioni maggiori di 100 µg/ml può inibire il test di Clauss¹.

IX. Risultati Previsti

I valori normali di fibrinogeno nel plasma umano vanno generalmente da 150 a 350 mg/dl (1,50-3,50 g/l)¹². Tuttavia, a causa della diversità delle procedure di analisi nei vari laboratori, ogni laboratorio deve stabilire il suo proprio valore medio e il suo campo di valori normali (valore medio ± 2 DS).

X. Performance**Precisione**

Campioni con concentrazione bassa, media ed alta di fibrinogeno sono stati saggiati con uno strumento foto-ottico per 3 giorni. Ciascun giorno sono state costruite 10 curve di calibrazione. Il coefficiente di variazione ottenuto per i campioni sono stati 5,9% (basso), 3,4% (normale) e 2,9% (alto).

Accuratezza

Campioni con concentrazione bassa, media ed alta di fibrinogeno sono stati saggiati in più laboratori con **Fibrinogen Kit**. I risultati sono stati confrontati con quelli ottenuti con reagenti di altri produttori:

Campione	Fibrinogen Kit	n=	Altri produttori	n=
Basso	144	10	163	195
Normale	294	10	297	195
Alto	488	16	474	390

XI. Riferimenti

1. Day HJ, Arkin CF, Bovill EG, Bowie EJW, Carroll JJ, Joist JH, Lenahan JG, Marlar RA, Triplett DA: Procedure for the Determination of Fibrinogen in Plasma; Approved Guideline—Second Edition. NCCLS document H30-A2 Vol21. No.18, 2001.
2. Tan V, Doyle CJ, Budzynski: Comparison of the Kinetic Fibrinogen Assay With the von Clauss Method and the Clot Recovery Method in Plasma of Patients With Conditions Affecting Fibrinogen Coagulability. Am. J. Clin. Pathol. 104:455–462, 1995
3. Kannel WB, Wolf PA, Castelli WP, D'Agostino RB. Fibrinogen and risk of cardiovascular disease: The Framingham Study. JAMA 258:1183–1186, 1987
4. Meade TW, Brozovic M, Chakrabarti RR, Haines AP, Imeson JD, Mellows S, Miller GJ, North WRS, Stirling Y, Thompson SG: Haemostatic Function and Ischaemic Heart Disease: Principal Results of the Northwick Park Heart Study. Lancet 2:533–537, 1987
5. Doolittle RF: Fibrinogen and Fibrin. IN Haemostasis and Thrombosis, AL Bloom, DP Thomas, Editors, Churchill Livingstone, London 1981, pp 163–187
6. Parfentjev IA, Johnson ML, Clifton EE: The determination of plasma fibrinogen by turbidity with ammonium sulphate. Arch Biochem Biophys 46:470, 1953
7. Exner T, Burrige J, Power P, and Rickard K: An evaluation of currently available methods for plasma fibrinogen. Am J Clin Pathol 71: 521, 1979
8. Clauss, A: Gerinungs physiologische schnell Methods zur bestimmung des Fibrinogens. Acta Haematol 17:237, 1957
9. Koepke JA, Gilmer PH, Filip DJ et al: Studies of fibrinogen measurement in the CAP survey program. Am J Clin Pathol 63:984, 1975
10. Bovill EG, McDonagh J, Triplett DA, Arkin CF, Brand JT, Hayes TE,
11. Kaczmarek E, Long T, Rock WA: Performance Characteristics of Fibrinogen Assays; Results of the College of American Pathologists Proficiency Testing Program 1988–1991. Arch. Pathol. Lab. Med. 117:58–66, 1993
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline—Fifth Edition. CLSI document H21-A5 Vol. 28, No. 5, 2008.
13. Hathaway WE and Goodnight SH: Disorders of Hemostasis and Thrombosis; A Clinical Guide. McGraw-Hill, Inc. New York. 1993, pp 47–48
14. Brozovic M: Acquired Disorders of Blood Coagulation. IN Haemostasis and Thrombosis. AL Bloom, DP Thomas, Editors, Churchill Livingstone, London. 1981, pp 411–426
15. User evaluation of precision performance of clinical chemistry devices—Second Edition NCCLS Document EP5-T2, 1992

XII. Informazioni per l'ordine

Codice	Denominazione	Quantità
HD21.100	Fibrinogen Kit	5 x 2 mL
HD14.101	Normal Coagulation Control Level 1	10 x 1 mL
HD15.101	Abnormal Coagulation Control Level 2	10 x 1 mL

Simbologia utilizzata

Scadenza Lotto



Numero di Lotto



Codice Prodotto



Conservare a 2 -8 °C



Solo per uso in vitro



Consultare le istruzioni

IFU 21.100 Rev 2.5 nov2016



Produttore

P.R.I.S.M.A. srl

Via Cavour 42
I-20865 Usmate Velate MB
info@prismaonline.it
www.prismaonline.it
☎ +39 039 6076708