



Fibrinogen Assay Set (100 stanovení) nebo jedna z následujících součástí: Fibrinogen Reference Plasma Bovine Thrombin (200 nebo 500 NIH na lahvičku) Imidazole Buffered Saline

I. POUŽITÍ

Fibrinogen Assay Set, Fibrinogen Reference Plasma, Imidazole Buffered Saline (IBS) a Bovine Thrombin 200 a 500 (Pacific Hemostasis®) jsou určeny pro použití při kvantitativním stanovení fibrinogenu ve vzorcích plazmy.

II. SOUHRN A PRINCIP

Koagulační stanovení fibrinogenu pomocí trombinu je založeno na metodě, která byla původně popsána Claussem.¹ V přítomnosti vysoké koncentrace trombinu je čas potřebný k vytvoření koagula v ředěné plazmě nepřímo úměrný koncentraci fibrinogenu.

III. DIAGNOSTIKA

Pro diagnostické použití *in vitro*.

Všechny neotevřené reagentie skladujte při +2 až +8°C.

Složení:

Bovine Thrombin 200 nebo 500 (přibližně 100 NIH jednotek/ml): Lyofilizovaný pufovaný hovězí trombin. Rozpusťte v destilované vodě dle údajů na etiketě lahvičky. Jemně zamíchejte, dokud nedojde k úplnému rozpuštění. Rozpuštěné diagnostikum je stabilní 7 dnů při teplotě +2 až +8 °C nebo se může do 4 hodin od rozpuštění zamrazit a použít do 30 dnů.⁵ Rychle rozmrazte při +37°C. Opakovaně nezamrazujte.⁶

Fibrinogen Reference Plasma: Lidská plazma odebraná pomocí citrátového antikoagulačního roztoku. Před lyofilizací je přidáno <1% stabilizátorů a pufrů. Rozpusťte v 1 ml destilované vody. Jemně zamíchejte, dokud nedojde k úplnému rozpuštění. Rozpuštěná plazma je stabilní 8 hodin při +2 až +8°C.⁷

Imidazole Buffered Saline (IBS): Imidazolový pufr ve fyziologickém roztoku, pH 7,4 ± 0,2; s 0,1 % azidu sodného.

Upozornění: Každá jednotka zdrojového materiálu, který je použit při přípravě Fibrinogen Reference Plasma, byla testována schválenou metodou FDA a byla posouzena jako nereaktivní na HBsAg a negativní na protilátky na HIV a HCV. Avšak žádná známá vyšetřovací metoda nemůže poskytnout úplnou jistotu, že produkty odvozeny z lidské krve nebudou přenášet hepatitidu, AIDS nebo jiné infekční nemoci. S těmito produkty, podobně jako s každým materiálem lidského původu, by mělo být zacházeno jako s potenciálně infekčním biologickým materiálem.

Varování: IBS obsahuje 0,1 % azid sodný. Azid sodný tvoří v kyselém prostředí vysoce toxické sloučeniny. Před vyhozením nařeďte pod tekoucí vodou, opláchněte velkým množstvím vody. Tato opatření jsou doporučována proto, aby se zabránilo usazování v kovových trubkách, kde může docházet k nebezpečí výbuchu.

Absence vakua v lahvičkách Fibrinogen Reference Plasma nebo Thrombinu, chybné hodnoty nebo změny barvy výrobku mohou indikovat poškození výrobku. Špatné provedení však může být způsobeno také jinými faktory v testovacím systému.

IV. ODBĚR VZORKŮ

Pro koagulační vyšetření je doporučeno používat 3,2% (0,109 M) citrát sodný. Vyhněte se hemolýze a kontaminaci tkáňovou tekutinou. Vzorky, které mají méně než 90% požadovaného odběrového objemu, by měly být vyřazeny. Krev centrifugujte 15 minut při 1500 g. Pokud vzorky uchovávejte při +22°C až +24°C, vyšetřujte je do 2 hodin od odběru. Více podrobností o odběru a skladování vzorků je uvedeno v dokumentu NCCLS H21-A3.²

V. POSTUP

Dodaný materiál:

Fibrinogen Assay Set – 100 vyšetření (Pacific Hemostasis):
Bovine Thrombin 200: 5 lahviček po 2 ml
Fibrinogen Reference Plasma: 3 lahvičky po 1 ml
Imidazole Buffered Saline: 1 lahvička 135 ml

Poznámka: Bovine Thrombin 200, Bovine Thrombin 500, Fibrinogen Reference Plasma a Imidazole Buffered Saline mohou být dodány také samostatně.

Další požadované prostředky:

Plastové zkumavky
Přesné pipety: 0.1 ml a 0.2 ml
Serologické pipety
Normální a abnormální kontroly jako např. Coagulation Control Plasma Level 1; Low Fibrinogen Control a High Fibrinogen Control Plasma (Pacific Hemostasis).

Fibrinogen Assay Set a jeho samostatné součásti jsou vhodné pro použití s manuálními, mechanickými nebo fotooptickými metodami koagulační detekce. Pro použití na automatických a semi-automatických přístrojích dodržujte pokyny výrobce přístroje. Pro manuální a mechanické vyšetřovací metody:

- A. Připravte si nejméně 5 různých ředění fibrinogen referenční plazmy v IBS. Plazmu nařeďte nejméně 1:3, aby se omezil vliv interferujících faktorů.³
- B. Vzorky kontrolních a patientských plazem nařeďte v IBS 1:10.
- C. 0,2 ml z každého ředění předejte na 37°C: 4 až 6 minut.
- D. K předeheatému ředění přidejte 0,1 ml diagnostika Bovine Thrombin a změřte koagulační čas. Trombin nepředehejte.
- E. Frekvence přípravy kalibrační křivky částečně závisí na způsobu detekce. Vždy však připravte novou kalibrační křivku v případě změny šarže diagnostika, přístroje, nebo

pokud už výsledky kontrol nevyhovují zavedeným kontrolním rozmezím.³

VI. VÝSLEDKY

A. Plazma naředěná 1:10 představuje 100% deklarované hodnoty. Ředící faktor udává vztah mezi ředěním 1:10 a ostatními ředěními.

Příklad:

Standard = 304 mg/dl fibrinogenu (Každá laboratoř si musí připravit kalibrační křivky s použitím vlastních reagensů a přístrojů).⁸

Ředění	Ředící faktor	Fibrinogen (mg/dl)	Průměr. koag. čas (sekundy)
1:3,5	10/3,5 = 2,9	304 x 2,9 = 882	5,8
1:5	10/5 = 2	304 x 2 = 608	7,3
1:10	10/10 = 1	304 x 1 = 304	13,4
1:15	10/15 = 0,67	304 x 0,67 = 204	20,8
1:35	10/35 = 0,29	304 x 0,29 = 88	49,2

B. Z duplicitního stanovení vypočtete průměr s přesností na 0,1 sekundy. Použijte všech 5 kalibračních bodů k sestrojení křivky (log-log), která vztahuje koncentraci fibrinogenu versus koagulační čas. Nakreslete přímkou s co nejtěsnějším proložením. Provéřte ji a pokud je to nutné, vynechejte body, které jsou příliš odlehlé. Výsledná přímkou však musí být proložena nejméně 3 po sobě jdoucími body. Sestrojením přímkou z nejvíce lineárních bodů se dosáhne nejlepší shody kontrolních a patientských vzorků.

C. Najděte na přímce koagulační čas kontrolních a patientských vzorků a odečtěte odpovídající hodnoty fibrinogenu. Pokud koagulační časy vzorků ředěných 1:10 leží mimo kalibrační křivku, připravte podle potřeby ředění 1:5 nebo 1:20. Pokud byl vzorek naředěn 1:5, je nutné výsledek odečtený z křivky vydělit 2; v případě ředění 1:20 vynásobit 2, abyste dostali konečný výsledek.

VII. OMEZENÍ

- Krev musí být ihned přidána k citrátovému antikoagulačnímu roztoku a jemně zamíchána. EDTA a heparin jsou nevhodné antikoagulační roztoky.
- Hemolýza může způsobit aktivaci koagulačních faktorů a ovlivnit tak koncový bod detekce. Ikterické a lipemické vzorky mohou také být nevhodné pro detekci koncového bodu.
- Vzorky mohou přijít do styku pouze s nesmáčivými povrchy.
- Obvyklý poměr krve a antikoagulačního roztoku je 9:1 a výsledkem je koncentrace citrátu 10,9 až 12,9 mmol/l. Tato koncentrace musí být upravena pro pacienty s hematokritem vyšším než 55%. Prohlédněte si dokument NCCLS H21-A3.^{1,2}
- Mražení a rozmrazování plazmy, která obsahuje zbytky buněk, poškozuje buněčné membrány, což může ovlivnit výsledky.
- Akutní zánětlivé reakce mohou způsobit zvýšení cirkulujícího faktoru I (fibrinogenu).³
- Vysoké hladiny fibrinogen degračních produktů (FDP) mohou prodlužovat koagulační čas, zejména tehdy, klesne-li koncentrace fibrinogenu pod 150 mg/dl.³

- U pacientů s kvalitativními abnormalitami fibrinogenu může trombinový čas indikovat sníženou hladinu fibrinogenu. Pokud jsou ty samé vzorky testovány jinými metodami, mohou být výsledky kvantitativního stanovení fibrinogenu normální.^{3,4}
- Heparin v terapeutických koncentracích neruší. Avšak velmi vysoké hladiny heparinu mohou způsobovat snížené výsledky fibrinogenu.³ Pokud existuje podezření z heparinové interference, může být v těchto vyšetřeních trombin nahrazen enzymem Batroxobinem.
- Vysoké hladiny paraproteinu, protilátky proti trombinu a léky, které aktivují fibrinolytický systém, mohou interferovat při stanovení fibrinogenu.³
- Fibrinogen Assay Set a jednotlivé jeho komponenty jsou optimalizovány pro teplotu 37°C. Ujistěte se, že všechny zahřívací součásti fungují správně.

VIII. OČEKÁVANÉ HODNOTY

Laboratoře by si měly stanovit normální referenční interval pro měření fibrinogenu. Všeobecně platí, že normální referenční interval je 150 až 350 mg/dl (1,5 až 3,5 g/l).³

IX. VLASTNOSTI

A. **Správnost:** V mnoha laboratořích byla testována plazma s nízkým, normálním a vysokým obsahem fibrinogenu pomocí diagnostik Pacific Hemostasis. Výsledky byly porovnány s výsledky získanými s použitím diagnostik jiných výrobců.⁹

Vzorek	Pacific Hemostasis	n =	všechna diagnostika	n =
Nízký:	144 mg/dl	10	163 mg/dl	195
Normální:	294 mg/dl	10	297 mg/dl	195
Vysoký:	488 mg/dl	16	474 mg/dl	390

B. **Přesnost:** Plazma s nízkým, normálním a vysokým obsahem fibrinogenu byla testována několik dní s použitím diagnostik Pacific Hemostasis na fotooptickém přístroji. Každý den bylo vymezeno 10 kalibračních křivek, s celkovým množstvím 30 kalibračních křivek. Variační koeficient CV dosahoval hodnot 5,9 % (nízký); 3,4 % (normální) a 2,9 % (vysoký obsah fibrinogenu).

X. LITERATURA













- Clauss, A. *Acta Haemat.* 17:237-246, 1957.
- NCCLS: *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays.* 2nd edition. Approved guideline. NCCLS Document H21-A3. Wayne, PA., 1998.
- NCCLS: *Procedure for determining fibrinogen in plasma. Approved guideline.* NCCLS Document H30-A2. Wayne, PA., 2001.
- Musgrave, K.A., Bick, R.L.: *Quality Assurance in the Hemostasis Laboratory.* In Bick, R.L., et al, editors: *Hematology: Clinical and Laboratory Practice.* Vol. 2, pp1309-1315. Mosby. St. Louis, MO., 1993.
- 5-7. Stabilitní data dostupná v DHF.
- 8-10. Data dostupná v souboru 510(K).

OMEZENÍ ZÁRUKY FISHER DIAGNOSTICS®

Fisher Diagnostics (FD) zaručuje, že produkty firmy FD budou fungovat tak, jak je popsáno na štítcích a dokumentech přiložených k produktu. V případě specifických aplikací musí sám zákazník rozhodnout o vhodnosti produktů FD. FD se zavazuje, že na základě své volby buď vymění nevyhovující nebo poškozený produkt, nebo vrátí pořizovací cenu. FD NEUZNÁVÁ ŽÁDNÉ JINÉ ZÁRUKY, VÝSLOVNĚ NEBO MLČKY PŘEDPOKLÁDANÉ, VČETNĚ ZÁRUK OBCHODOVATELNOSTI A ZPŮSOBILOSTI PRO SPECIÁLNÍ ÚČELY. FD ani její pobočky nebudou v žádném případě zodpovídat za náhodné nebo nepřímé ztráty nebo poškození.

Pacific Hemostasis® je registrovaná ochranná známka společnosti Fisher Scientific Company L.L.C.

Fisher Diagnostics® je registrovaná ochranná známka společnosti Fisher Scientific Company L.L.C.

Symbols Key	Symbols	Symbols Key	Symbols
	Výrobce		<i>In vitro</i> diagnostický zdravotnický prostředek
	Číslo šarže		Spotřebujte do
	Označení CE		Omezení teploty
	Katalogové číslo		Podívejte se do návodu k použití
	Datum balení		Autorizovaný zástupce v Evropském společenství
	Upozornění, podívejte se do průvodního listu		Biologická rizika

Distributed By:



EXBIO Olomouc s.r.o.
Ovesná 14
779 00 Olomouc



MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL
UK



Fisher Diagnostics®
Fisher Scientific Company L.L.C.
8365 Valley Pike
Middletown, VA 22645-0307, USA
1-(800)-528-0494 jen USA