

Fibrinogen Assay Set (100 alebo 300 stanovení)
alebo jedna z nasledujúcich súčasti:
Fibrinogen Reference Plasma
Bovine Thrombin (200 alebo 500 NIH na fľaštičku)
Imidazole Buffered Saline

I. POUŽITIE

Fibrinogen Assay Set, Fibrinogen Reference Plasma, Imidazole Buffered Saline (IBS) a Bovine Thrombin 200 a 500 (Pacific Hemostasis®) sú určené na použitie pri kvantitatívnom stanovení fibrinogénu vo vzorkách plazmy.

II. SÚHRN A PRINCÍP

Koagulačné stanovenie fibrinogénu pomocou trombínu je založené na metóde, ktorá bola pôvodne popísaná Claussom.¹ V prítomnosti vysokej koncentrácie trombínu je čas potrebný k vytvoreniu koagula v riedenej plazme nepriamo úmerný koncentrácii fibrinogénu.

III. DIAGNOSTIKA

Pre diagnostické použitie *in vitro*.

Všetky neotvorené reagentie skladujte pri +2 až +8 °C.

Zloženie:

Bovine Thrombin 200 alebo 500 (približne 100 NIH jednotiek/ml): Lyofilizovaný pufrovaný hovädzí trombín. Rozpusťte v destilovanej vode podľa údajov na etikete fľaštičky. Jemne zamiešajte, pokiaľ nedôjde k úplnému rozpusteniu. Rozpustená diagnostika je stabilná 7 dní pri teplote +2 až +8 °C alebo sa môže do 4 hodín od rozpustenia zamraziť a použiť do 30 dní.⁵ Rýchle rozmrazte pri +37 °C. Opakovane nezamrazujte.⁶

Fibrinogen Reference Plasma: Ľudská plazma odobratá pomocou citrátového antikoagulačného roztoku. Pred lyofilizáciou je pridané <1% stabilizátorov a pufrov. Rozpusťte v 1 ml destilovanej vody. Jemne zamiešajte, pokiaľ nedôjde k úplnému rozpusteniu. Rozpustená plazma je stabilná 8 hodín pri +2 až +8 °C.⁷

Imidazole Buffered Saline (IBS): Imidazolový pufor vo fyziologickom roztoku, pH 7,4 ± 0,2; s 0,1 % azidu sodného.

Upozornenie: Každá jednotka zdrojového materiálu, ktorý je použitý pri príprave Fibrinogen Reference Plasma, bola testovaná schválenou metódou FDA a bola posúdená ako nereaktívna na HBsAg a negatívna na protilátky proti HIV a HCV. Avšak žiadna známa vyšetrovacia metóda nemôže poskytnúť úplnú istotu, že produkty odvodené z ľudskej krvi nebudú prenášať hepatitídu, AIDS alebo iné infekčné choroby. S týmito produktmi, podobne ako s každým materiálom ľudskeho pôvodu, by malo byť zaobchádzané ako s potenciálne infekčným biologickým materiálom.

Varovanie: IBS obsahuje 0,1 % azid sodný. Azid sodný tvorí v kyslom prostredí vysoko toxické zlúčeniny. Pred vyhodnotením nariedte pod tečúcou vodou, opláchnite veľkým množstvom vody. Tieto opatrenia sú odporúčané preto, aby sa zabránilo usadzovaniu v kovových trubkách, kde môže dochádzať k nebezpečenstvu výbuchu. Absencia vákua vo fľaštičkách Fibrinogen Reference Plasma alebo Thrombin, chybné hodnoty alebo zmeny farby výrobku môžu indikovať poškodenie výrobku. Zlé vykonanie však môže byť spôsobené aj inými faktormi v testovacom systéme.

IV. ODBER VZORIEK

Na koagulačné vyšetrenie je doporučené používať 3,2% (0,109 M) citrát sodný. Vyhnite sa hemolýze a kontaminácii tkanivovou tekutinou. Vzorky, ktoré majú menej než 90% požadovaného odberového objemu, by mali byť vyradené. Krv centrifugujte 15 minút pri 1500 g. Pokiaľ vzorky uchováвате pri +22°C až +24 °C, vyšetrte ich do 2 hodín od odberu. Viac podrobností o odbere a skladovaní vzoriek je uvedené v dokumente NCCLS H21-A3.²

V. POSTUP

Dodaný materiál:

Fibrinogen Assay Set – 100 vyšetrení (Pacific Hemostasis):

Bovine Thrombin 200: 5 fľaštičiek po 2 ml

Fibrinogen Reference Plasma: 3 fľaštičky po 1 ml

Imidazole Buffered Saline: 1 fľaštička 135 ml

Fibrinogen Assay Set – 300 vyšetrení (Pacific Hemostasis):

Bovine Thrombin 500: 6 fľaštičiek po 5 ml

Fibrinogen Reference Plasma: 2 fľaštičky po 1 ml

Imidazole Buffered Saline: 2 fľaštičky po 135 ml

Poznámka: Bovine Thrombin 200, Bovine Thrombin 500, Fibrinogen Reference Plasma a Imidazole Buffered Saline môžu byť dodané tiež samostatne.

Ďalšie požadované prostriedky:

Plastové skúmavky

Presné pipety: 0.1 ml a 0.2 ml

Sérologické pipety

Normálne a abnormálne kontroly ako napr. Coagulation Control Plasma Level 1; Low Fibrinogen Control a High Fibrinogen Control Plasma (Pacific Hemostasis).

Fibrinogen Assay Set a jeho samostatné súčasti sú vhodné na použitie s manuálnymi, mechanickými alebo fotooptickými metódami koagulačnej detekcie. Pri použití na automatických a semi-automatických prístrojoch dodržujte pokyny výrobcu prístroja. Pre manuálne a mechanické vyšetrovacie metódy:

- A. Pripravte si najmenej 5 rôznych riedení fibrinogén referenčnej plazmy v IBS. Plazmu naďte najmenej 1:3, aby sa obmedzil vplyv interferujúcich faktorov.
- B. Vzorky kontrolných a patientskych plaziem naďte v IBS 1:10.
- C. 0,2 ml z každého riedenia predhrejte na 37°C: 4 až 6 minút.
- D. K predhriatému riedeniu pridajte 0,1 ml diagnostiky Bovine Thrombin a zmerajte koagulačný čas. Trombín nepredhrievajte.
- E. Frekvencia prípravy kalibračnej krivky čiastočne závisí na spôsobe detekcie. Vždy však pripravte novú kalibračnú krivku v prípade zmeny šarže diagnostiky, prístroja, alebo pokiaľ už výsledky kontrol nevyhovujú zavedeným kontrolným rozmedziam.³

VI. VÝSLEDKY

A. Plazma nařídená 1:10 predstavuje 100% deklarovanej hodnoty. Riediaci faktor udáva vzťah medzi riedením 1:10 a ostatnými riedeniami.

Príklad:

Štandard = 304 mg/dl fibrinogénu (Každé laboratórium si musí pripraviť kalibračné krivky s použitím vlastných reagensí a prístrojov).⁸

Riedenie	Riediaci faktor	Fibrinogén (mg/dl)	Priemer. 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 duplicitného stanovenia vypočítajte priemer s presnosťou na 0,1 sekundy. Použite všetkých 5 kalibračných bodov k zostrojeniu krivky (log-log), ktorá vzťahuje koncentráciu fibrinogénu versus koagulačný čas. Nakreslite

priamku s čo najtesnejším preložením. Preverte ju a pokiaľ je nutné, vynechajte body, ktoré sú príliš odľahlé. Výsledná priamka však musí byť preložená najmenej 3 po sebe idúcimi bodmi. Zostrojením priamky z najviac lineárnych bodov sa dosiahne najlepšej zhody kontrolných a patientskych vzoriek.

C. Nájdite na priamke koagulačný čas kontrolných a patientskych vzoriek a odčítajte zodpovedajúce hodnoty fibrinogénu. Pokiaľ koagulačné časy vzoriek riedených 1:10 ležia mimo kalibračnej krivky, pripravte podľa potreby riedenia 1:5 alebo 1:20. Pokiaľ bola vzorka nariedená 1:5, je nutné výsledok odčítaný z krivky vydeliť 2; v prípade riedenia 1:20 vynásobiť 2, aby ste dostali konečný výsledok.

VII. OBMEDZENIA

- A. Krv musí byť ihneď pridaná k citrátovému antikoagulačnému roztoku a jemne zamiešaná. EDTA a heparín sú nevhodné antikoagulačné roztoky.
- B. Hemolýza môže spôsobiť aktiváciu koagulačných faktorov a ovplyvniť tak koncový bod detekcie. Ikterické a lipemické vzorky tiež môžu byť nevhodné na detekciu koncového bodu.
- C. Vzorky môžu prísť do styku iba s nezmáčavými povrchmi.
- D. Obvyklý pomer krvi a antikoagulačného roztoku je 9:1 a výsledkom je koncentrácia citrátu 10,9 až 12,9 mmol/l. Táto koncentrácia musí byť upravená pre pacientov s hematokritom vyšším než 55%. Prehliadnite si dokument NCCLS H21-A3.^{1,2}
- E. Mrazenie a rozmrazovanie plazmy, ktorá obsahuje zvyšky buniek, poškodzuje bunčné membrány, čo môže ovplyvniť výsledky.
- F. Akútne zápalové reakcie môžu spôsobiť zvýšenie cirkulujúceho faktoru I (fibrinogénu).³
- G. Vysoké hladiny fibrinogén degradačných produktov (FDP) môžu predlžovať koagulačný čas, najmä vtedy, ak klesne koncentrácia fibrinogénu pod 150 mg/dl.³
- H. U pacientov s kvalitatívnymi abnormalitami fibrinogénu môže trombínový čas indikovať zníženú hladinu fibrinogénu. Pokiaľ sú tie isté vzorky testované inými metódami, môžu byť výsledky kvantitatívneho stanovenia fibrinogénu normálne.^{3,4}
- I. Heparín v terapeutických koncentráciách neruší. Avšak veľmi vysoké hladiny heparínu môžu spôsobovať znížené výsledky fibrinogénu.³ Pokiaľ existuje podozrenie z heparínovej interferencie, môže byť v týchto vyšetreniach trombín nahradený enzýmom Batroxobinom.
- J. Vysoké hladiny paraproteínu, protilátky proti trombínu a lieky, ktoré aktivujú fibrinolytický systém, môžu interferovať pri stanovení fibrinogénu.³
- K. Fibrinogen Assay Set a jednotlivé jeho komponenty sú optimalizované na teplotu 37°C. Uistite sa, že všetky zahrievacie súčasti fungujú správne.

VIII. OČAKÁVANÉ HODNOTY

Laboratória by si mali stanoviť normálny referenčný interval pre meranie fibrinogénu. Všeobecne platí, že normálny referenčný interval je 150 až 350 mg/dl (1,5 až 3,5 g/l).³

IX. VLASTNOSTI

Správnosť: V mnohých laboratóriách bola testovaná plazma s nízkym, normálnym a vysokým obsahom fibrinogénu pomocou diagnostík Pacific Hemostasis. Výsledky boli porovnávané s výsledkami získanými pri použití diagnostík iných výrobcov.⁹

Vzorka	Pacific Hemostasis	n =	všetky diagnostiky	n =
Nízky:	144 mg/dl	10	163 mg/dl	195
Normálny:	294 mg/dl	10	297 mg/dl	195
Vysoký:	488 mg/dl	16	474 mg/dl	390

B. Presnosť: Plazma s nízkym, normálnym a vysokým obsahom fibrinogénu bola testovaná niekoľko dní s použitím diagnostík Pacific Hemostasis na foto-optickom prístroji. Každý deň bolo vymedzených 10 kalibračných kriviek, s celkovým množstvom 30 kalibračných kriviek. Variačný koeficient CV dosahoval hodnôt 5,9 % (nízky); 3,4 % (normálny) a 2,9 % (vysoký obsah fibrinogénu).

X. LITERATURA










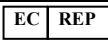

1. Clauss, A. *Acta Haemat.* 17:237-246, 1957.
2. NCCLS: *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays.* 2nd edition. Approved guideline. NCCLS Document H21-A3. Wayne, PA., 1998.
3. NCCLS: *Procedure for determining fibrinogen in plasma. Approved guideline.* NCCLS Document H30-A2. Wayne, PA., 2001.
4. 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).

OBMEDZENIA ZÁRUKY FISHER DIAGNOSTICS®

Fisher Diagnostics (FD) zaručuje, že produkty firmy FD budú fungovať tak, ako je popísané na štítkoch a dokumentoch priložených k produktu. V prípade špecifických aplikácií musí sám zákazník rozhodnúť o vhodnosti produktov FD. FD sa zaväzuje, že na základe svojej voľby buď vymení nevyhovujúci alebo poškodený produkt, alebo vráti nákupnú cenu. FD NEUZŇAVÁ ŽIADNE INÉ ZÁRUKY, VYSLOVENÉ ALEBO MLČKY PREDPOKLADANÉ, VRÁTANE ZÁRUK OBCHODOVATEĽNOSTI A SPÔSOBILOSTI PRE ŠPECIÁLNE ÚČELY. FD ani jej pobočky nebudú v žiadnom prípade zodpovedať za náhodné alebo nepriame straty alebo poškodenia.

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

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

Symbols Key	Symboly	Symbols Key	Symboly
	Výrobca		<i>In vitro</i> diagnostický zdravotnícky prostriedok
	Číslo šarže		Spotrebujte do
	Označenie CE		Obmedzenie teploty
	Katalógové číslo		Pozrite sa do návodu na použitie
	Dátum balenia		Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve
	Upozornenie, pozrite sa do sprievodného listu		

Dovozca:



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®
8365 Valley Pike
Middletown, VA 22645-0307, USA
1-(800)-528-0494 jen USA