



LIAPHEN™ Fibrinogen

REF 120102

R1 4 x 5 ml



www.hyphen-biomed.com

155, rue d'Eragny
95000 NEUVILLE SUR OISE
FRANCE
Tel. : +33 (0)1 34 40 65 10
Fax : +33 (0)1 34 48 72 36
info@hyphen-biomed.com

Datum revize: 01/2021

IVD

Turbidimetrický immuassay pro
kvantitativní stanovení Fibrinogenu.
Tekutá reagensie.

POUŽITÍ:

LIAPHEN Fibrinogen souprava je immunoassay pro in vitro kvantitativní stanovení antigenu Fibrinogenu (Fib:Ag) v lidské citrátové plazmě nebo v purifikovaných roztočích při použití manuální nebo automatizované. Reagensie jsou připraveny k použití.

OBECNÉ INFORMACE A VYSVĚTLENÍ:

Technické:¹⁻³

Fibrinogen je 340 Kd rozpustný glykoprotein vytvořený v játrech. Obsahuje 6 peptidových řetězců s dvě ku dvě symetrii, propojené disulfidovými můstky (2 A α , 2 B β a 2 γ řetězci). Thrombin aktivuje fibrinogen, vznikne fibrin, který je stabilizován aktivovaným faktorem XIII za přítomnosti vápníku. Fibrinogen je štěpen plasminem nejprve na fragmenty X a Y, poté D a E.

Klinické:³⁻⁷

Koncentrace Fibrinogenu v normální lidské plazmě je mezi 2 a 4 g/l. Zvýšená hladina fibrinogenu (> 4 g/l) byla pozorována u pacientů se záněty a je považována za rizikový faktor pro kardiovaskulární nemoci a trombózy.

Hypofibrinogenemie je hlavně spojena s těžkým onemocněním jater nebo nadměrným užíváním fibrinogenu (DIC, hyperfibrinolýza).

Bylo popsáno mnoho variací fibrinogenu v souvislosti s asymptomatickými případy nebo v případech s krvácením nebo trombózou.

PRINCIP TESTU:

LIAPHEN™ Fibrinogen je immunoturbidimetrický test založený na reakci antigenu s protilátkou: antigen fibrinogenu vzorku reaguje s polyklonální králičí protilátkou proti lidskému fibrinogenu a veve k aglutinaci latexových částic. Aglutinace může být změněna změnou absorbance, která je přímo úměrná množství fibrinogenu ve vzorku.

REAGENCIE:

R Latex, tekutá reagensie. Obsahuje BSA a malé množství Azidu sodného (0,9 g/l).

4 lahvičky po 5 ml.

VAROVÁNÍ A UPOZORNĚNÍ:

- Některé reagensie v soupravě obsahují materiál zvířecího původu. Manipulujte s reagensiemi dle příslušných platných regulací a postupů jako u materiálu potencionálně infekčního.
- V kontaktu s olověným nebo měděným potrubím může Azid sodný vytvářet výbušné sloučeniny.
- Odpad likvidujte dle místním příslušných platných regulací.
- Používejte pouze reagensie stejné šarže.
- Studie stability ukazují, že reagensie se mohou převážet při pokojové teplotě bez degradace.
- Produkt je pouze pro in vitro diagnostické použití v laboratorii.

PŘÍPRAVA REAGENCIE:

R Reagensie je připravena k použití; homogenizujte před použitím jemnou inverzí. Zamezte tvorbě pěny a po promíchání vložte do analyzátoru dle specifického aplikačního protokolu.

Pro manuální metodu nechte reagensii stabilizovat 30 minut za pokojové teploty (18-25°C), homogenizujte před použitím.

SKLADOVACÍ PODMÍNKY A STABILITA:

Neotevřené reagensie musí být skladovány při 2-8°C v jejich originálních obalech. Pak jsou stabilní do data expirace uvedeného na obalu.

R Stabilita otevřené reagensie, pokud je zabráněno kontaminaci nebo odpařování a pokud je skladována uzavřená v originálním balení, je:

- 6 měsíců při 2 – 8°C
- 7 dní při pokojové teplotě (18 – 25°C)
- Nemrazte.
- Stabilita v analyzátoru: Viz specifický aplikační protokol.

REAGENCIE A MATERIÁL POTŘEBNÝ, V KITU NEPŘÍTOMNÝ:

Reagensie:

- Destilovaná voda.
- Imidazol pufr (AR021B/K/L/M/N) nebo Tris NaCl BSA (0,05M; 0,15M; 1%) pufr, pH 7,40 (TBSA). Pro všechna měření použijte stejný pufr.

Specifické kalibrátory a kontroly se známou hladinou Fib:Ag, například:

Název produktu	Katalogové číslo
BIOPHEN™ Plasma Calibrator	222101
BIOPHEN™ Normal Control Plasma	223201
BIOPHEN™ Abnormal Control Plasma	223301

Odkazujeme na specifický aplikační protokol pro použitý analyzátor.

Materiál:

- Spektrofotometr nebo automatický přístroj pro immuno-turbidimetrická měření.
- Stopy, kalibrované pipety, plastové kyvetu pro spektrofotometr.

VZOREK:

Krev (9 dílů) musí být odebrána do tri-sodného citrátového antikoagulantia (1 díl; 0,109M, 3,2%), přímou venepunkcí. První odebraná zkumavka by měla být znehodnocena.

Vzorky by měly být připraveny a skladovány dle relevantních řádů.

Pro skladování plazmy se odkažte na reference^{8,9}.

POSTUP:

Souprava se používá pro kinetickou metodu automatickou nebo manuální. Měření provádějte při 37°C a turbiditu měřte na 620 nm (mohou být použity i jiné vlnové délky, v rozmezí od 405 do 700 nm.)

Pro automatickou metodu jsou dostupné na vyžádání specifické aplikační protokoly pro použitý analyzátor, viz aplikační protokol a bezpečnostní opatření pro použitý přístroj.

Postup:

1. Rekonstituujte referenční médium (pro testy v purifikovaném prostředí) nebo plazmatické kalibrátory a kontroly dle jejich specifických instrukcí nebo podle interního postupu.

Pro kalibrátor nebo referenční médium se známou hladinou Fib:Ag (C) v $\mu\text{g/ml}$, koncentrace 20 $\mu\text{g/ml}$ je získána použitím dilučního faktoru: $D = C:20 \text{ s } C \text{ v } \mu\text{g/ml}$. (Například – pro standard při 3,000 $\mu\text{g/ml}$ je ředící faktor $D = 3,000:20 = 150$.)

Připravte 3 ml rozotku C1 (20 $\mu\text{g/ml}$ Fib:Ag) v ředícím pufru.

Stanovte kalibrační křivku následujícími roztoky:

Standard	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Fib:Ag ($\mu\text{g/ml}$)	20	15	10	5	2,5	0
Objem standardu	1000 μl C1	750 μl μl C1	500 μl μl C1	250 μl μl C1	125 μl C1	0 μl
Objem pufru	0 μl	250 μl	500 μl	750 μl	875 μl	1000 μl

Pro manuální metodu musí být kalibrační křivka stanovena pro každou sérii testů.

2. Nařeďte vzorky a kontroly v ředícím pufru, dle následující tabulky:

Vzorky	Katalogové číslo	Ředění
BIOPHEN™ Normal Control Plasma	223201	1:300
BIOPHEN™ Abnormal Control Plasma	223301	1:300
Vzorek (≈ 1 až 6 g/l)	-	1:300

Stanovte kalibrační křivku a proveďte kontrolu kvality. Pokud skladujete vzorky při pokojové teplotě (18 – 25°C), měřte je co nejdříve. Přesné koncentrace kalibrátorů a kontrol pro danou šarži jsou uvedeny na letáku přibaleném k jejich balení.

3. Do platové zkumavky nebo reakční kyvetu inkubované na 37°C přidejte:

	Objem
Vzorek, kalibrátor nebo kontrola – ředění	100 μl
R Latex reagensie, před-inkubovaná na 37°C a homogenizovaná před použitím	400 μl
Míchejte při 37°C přesně 15 minut, a ihned poté:	
Míchejte a měřte absorbanci při 620 nm v porovnání s ředícím pufrům.	
Dbejte na stejnou reakční dobu pro každý měřený vzorek.	

Pokud jsou pro metodu potřeba jiné reakční objemy než jsou uvedeny výše, musí být poměr reagensií a vzorku přísně dodržen. Každý uživatel je odpovědný za validaci provedených změn postupu a za jejich vliv na výsledek.

Pro vyšší koncentrace (> 6 g/l) doporučujeme ředit vzorek 1:1000 a pro nízké koncentrace (< 1 g/l) 1:100.

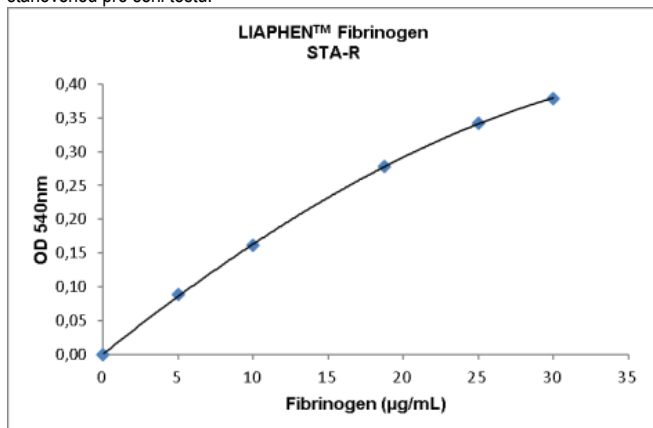


KALIBRACE:

LIAPHEN™ Fibrinogen měření se kalibruje pro test antigenu Fibrinogenu. Plazmatický kalibrátor pokrývající kalibrační rozmezí je k dispozici od společnosti Hyphen BioMed (Viz REAGENCIE A MATERIÁL POTŘEBNÝ, V KITU NEPŘÍTOMNÝ) může být použit pro stanovení kalibrační křivky.

- Kalibrační rozmezí je přibližně od 0 do 30 µg/ml (na STA-R®).

Kalibrační křivka uvedená níže je pouze příklad. Pro měření použijte křivku stanovenou pro sérii testů.



KONTROLA KVALITY:

Použití kontrol slouží k validaci výsledků a homogenity měření v sérii nebo mezi sériemi pro danou šarži reagensů.

Pro validaci měření začleňte kontroly kvality do každé série měření, podle pravidel laboratorní praxe. Nová kalibrační křivka by měla být stanovena nejlépe pro každou sérii testů a alespoň pro každou novou šarži reagensů, po opravě nebo údržbě analyzátoru, nebo pokud jsou naměřené hodnoty mimo přijatelné rozmezí pro metodu.

Každá laboratoř si musí stanovit vlastní přijatelné meze pro svůj analytický systém a ověřit jejich výkon.

VÝSLEDKY:

- Pro manuální endpoint metodu stanovte kalibrační křivku s OD 620 nm na ose Y a koncentrací Fib:Ag na ose X. Vyberte nevhodnější extrapolací metodu. Koncentrace Fib:Ag (µg/ml) v měřeném vzorku je vypočtena z kalibrační křivky a násobena použitým ředícím faktorem (300 při standardním ředění).
- Pokud jsou použity ředící poměry, výsledné koncentrace musí být násobena použitým faktorem.
- Výsledky by měly být interpretovány dle biologického a klinického stavu pacienta.

LIMITY:

- Pro zajištění optimálního průběhu testu a pro splnění specifikací by měly být dodrženy instrukce validované výrobcem HYPHEN BioMed.
- Reagensie s neobvyklým vzhledem nebo jevící známky kontaminace, by měly být znehodnoceny.
- Vzorky podezřelého vzhledu nebo vzorky vykazující známky aktivace musí být znehodnoceny.
- Přítomnost revmatoidního faktoru může ovlivnit výsledky falešně zvýšenou koncentrací Fibrinogenu¹⁰.
- Některé léky mohou ovlivnit výsledky měření. Proto by měl být neočekávaný výsledek dále zkoumán.
- Kvůli možnému vlivu Hookova efektu odkazujeme na specifický aplikační protokol k použitému analyzátoru (žádné výrazné efekty nebyly pozorovány pro koncentraci fibrinogenu do 90 µg/ml).

OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY:

- Referenční rozmezí bylo získáno na analyzátoru STA-R® série (kolem 1 do 30 µg/ml Fib:Ag v testovacím ředění, tedy 0,2 až 6 g/l).
- **Specifita:** séra jsou měřena pod 0,2 g/l (průměr).
- Studie výkonu byly provedeny vnitřně na STA-R® sérii na laboratorních kontrolách po dobu 5 dní, 2 série denně a 2 opakování každé série pro hladinu kontroly. Byly získány následující hodnoty:

Kontroly	Intra assay			
	N	Průměr	CV%	SD
Hladina 3	20	5,04	3,8	0,19
Hladina 2	20	2,58	3,1	0,08
Hladina 1	20	1,31	3,4	0,04
	Inter assay			
	N	Průměr	CV%	SD
Hladina 3	20	5,04	7,7	0,39
Hladina 2	20	2,58	9,8	0,25
Hladina 1	20	1,31	9,8	0,13

- Korelace s referenční metodou (LIAPHEN™ Fibrinogen versus FIBRIPHEN™ na STA-R®)

$$N = 70 \quad y = 0,97x - 0,06 \quad r = 0,977$$

- **Interference:** Nebyly zjištěny žádné interference na STA-R® analyzátoru do následujících koncentrací:

Hemoglobin	200 mg/dl	Heparin (UFH/LMWH)	2/2 IU/ml
Bilirubin	20 mg/dl	Intralipidy (Triglycerid ekvivalenty)	2000 mg/dl

Odkazujeme na specifický aplikační protokol pro použité analyzátor.

- **Reaktivita:** LIAPHEN™ Fibrinogen reaguje s fragmentovaným DD (DDimer), Fibrinogen fragmentem D a degradačních produktů fibrinu (FDP). Nereaguje s fragmentem fibrinu E.

REFERENCE:

1. Mosesson M.W. Fibrinogen and fibrin structure and function. JTH. 2005.
2. Henschen-Edman AH. On the identification of beneficial and detrimental molecular forms of fibrinogen. Haemostasis 1999.
3. Marguerie G. Le fibrinogène, facteur multifonctionnel de l'hémostase. Medecine/Sciences. 1986.
4. VanDeWater L. et al. Analysis of elevated fibrin(ogen) degradation product levels in patients with liver disease. Blood. 2019.
5. Lowe G.D.O. et al. Epidemiology of coagulation factors, inhibitors and activation markers: The Third Glasgow MONICA Survey I. Illustrative reference ranges by age, sex and hormone use. British Journal of Haematology. 1997.
6. Appel I.M. et al. Age dependency of coagulation parameters during childhood and puberty. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2012.
7. Ernst E. Plasma fibrinogen – an independent cardiovascular risk factor. Journal of Internal Medicine. 1990.
8. CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008
9. Mauge L. and Alhenc-Gelas M. Stabilité pré-analytique des paramètres de la coagulation: revue des données disponibles. Ann Biol Clin. 2014.
10. Hamano A. et al. Latex immunoturbidimetric assay for soluble fibrin complex. Clinical Chemistry. 2005.

SYMBOLY:

Použité symboly a znaky jsou uvedeny v seznamu ISO 15223-1 standard, viz dokument definice symbolů.