

FIBRINOGENO (secondo CLAUSS)

Dosaggio del Fibrinogeno nel plasma con l'utilizzo di procedure manuali e automatiche

PRINCIPIO DEL TEST

Il dosaggio del fibrinogeno nel tempo di coagulazione con trombina si basa sul metodo originariamente descritto da Clauss; in presenza di un eccesso di trombina, il fibrinogeno si trasforma in fibrina e il tempo di formazione del coagulo è inversamente proporzionale alla concentrazione di fibrinogeno presente nel campione di plasma.

CAMPIONI

Plasma ottenuto per miscelazione di sangue con citrato trisodico 3.8% (9+1), in provetta di vetro silicofonato o plastica. Il plasma è separato dopo centrifugazione della miscela per 10' a 1500 x g. Stabilità: 4 ore a 15-25°C oppure 24 ore a -20°C. Non usare EDTA o eparina.

REAGENTI

Trombina bovina:

Trombina bovina tamponata liofilizzata, conservanti.

Plasma Calibrante "Cal-Fib":

Plasma umano liofilizzato, stabilizzanti e conservanti.

Plasma di Controllo "Pat-Fib":

Plasma umano liofilizzato, stabilizzanti e conservanti.

Le concentrazioni del Plasma Calibrante e del Plasma di Controllo sono riportate sul Certificato allegato.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Ricostituire un flacone di Trombina bovina con 2 ml esatti di acqua distillata. Tappare il flacone e miscelare delicatamente per inversione, evitando la formazione di schiuma.

Stabilità: 8 ore a 15-25°C, 7 giorni a -20°C.

Ricostituire un flacone di Plasma Calibrante con 1 ml esatto di acqua distillata. Tappare il flacone e miscelare delicatamente per inversione, evitando la formazione di schiuma.

Stabilità: 8 ore a 15-25°C, 2 giorni a -20°C.

Ricostituire un flacone di Plasma di Controllo con 1 ml esatto di acqua distillata. Tappare il flacone e miscelare delicatamente per inversione, evitando la formazione di schiuma.

Stabilità: 8 ore a 15-25°C, 2 giorni a -20°C.

MATERIALI/REAGENTI NECESSARI NON FORNITI

Provette per analisi, Cronometro, Termostato a 37 °C, Pipettatrici di precisione da 0.1, 0.2 e 1 ml, Pipette sierologiche, Diluente.

PRECAUZIONI

Il reagente può contenere componenti non reattivi e conservanti di varia natura. A scopo cautelativo è comunque opportuno evitare il contatto con la pelle e l'ingestione.

Il sangue di donatori di sostanze utilizzate per la preparazione dei Reattivi è stato testato e trovato negativo per HBsAg e anticorpi anti-HIV e HCV.

Ciononostante nessun test noto può garantire con assoluta certezza che i prodotti derivati da sangue umano non possano trasmettere Epatite, HIV o altri agenti infettivi, per questo motivo devono essere prese tutte le precauzioni necessarie per maneggiare materiale potenzialmente infetto.

PROCEDIMENTO (Applicazione Manuale)

Diluizione Plasmici

Diluire i campioni da analizzare e il Plasma di Controllo "Pat-Fib", 1:10 con diluente (1 di plasma + 9 di diluente).

Curva di Calibrazione

a) Ricostituire 1 flacone di Plasma Calibrante "Cal-Fib" secondo le indicazioni riportate precedentemente.

b) Preparare una serie di diluizioni come riportato nello schema seguente:

	150%	100%	50%	25%
Diluente (ml)	0,85	0,90	1,90	3,90
Cal-Fib (ml)	0,15	0,10	0,10	0,10

c) Per ciascuna diluizione determinare almeno in duplicato, il tempo di coagulazione.

d) Su carta millimetrata bilogarithmica riportare in ascissa le concentrazioni espresse in mg/dl o in g/l corrispondenti ai 4 punti della curva di calibrazione, e in ordinata i tempi ottenuti in secondi. Unendo i punti si deve ottenere una linea retta.

e) Utilizzare il grafico per calcolare le concentrazioni in mg/dl o g/l dei campioni.

f) La curva di calibrazione deve essere ripetuta ad ogni cambio lotto del kit Fibrinogeno (secondo Clauss).

Porre la Trombina Bovina ed il campione da analizzare in termostato a 37°C.

In una provetta per analisi trasferire 200 µl di campione.

Aggiungere 100 µl di Trombina bovina e cronometrare il tempo di formazione del coagulo.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Ogni laboratorio dovrebbe provvedere a determinare la curva di calibrazione come descritto precedentemente, e in seguito per interpolazione determinare la concentrazione del campione in analisi.

Per migliorare la rilevanza del coagulo su strumenti ottici, ricostituire il reattivo Trombina come descritto e aggiungere successivamente 0.1 ml di sospensione di Caolino.

Per concentrazioni superiori a 600 mg/dl si consiglia di diluire il campione 1:20 (0.05 ml + 1.95 ml Diluente), moltiplicando per 2 il valore in mg/dl ottenuto.

Per concentrazioni inferiori a 100 mg/dl si consiglia di diluire il campione 1:5 (0.2 ml + 0.8 ml Diluente), dividendo per 2 il valore in mg/dl ottenuto.

VALORI DI RIFERIMENTO

Ciascun laboratorio deve provvedere alla definizione dei valori di riferimento per la popolazione sottoposta ad indagine. Indicazioni bibliografiche riportano quale intervallo di riferimento

Fibrinogeno 200 - 400 mg/dl (2 - 4 g/L)

SIGNIFICATO CLINICO

Valori di concentrazione di fibrinogeno al di fuori dell'intervallo di riferimento sono stati osservati nelle infiammazioni acute ed in gravidanza (valori elevati); nella terapia trombolitica, nelle malattie epatiche, nella disfibrinogenemia congenita, nella DIC e nelle pancreatiti (valori ridotti)..

NOTE

- Come per qualunque procedimento diagnostico, se i risultati sono incompatibili con la presentazione clinica, il medico dovrebbe valutare i dati ottenuti usando questo test alla luce di altre informazioni cliniche.
- Solo per uso diagnostico in vitro.

CALIBRAZIONE / CONTROLLO QUALITA'

Il kit contiene il Plasma di Controllo "Cal-Fib" da utilizzarsi per verificare la corretta funzionalità dei reagenti.

PRESTAZIONI DEL TEST

Interferenze

Concentrazioni di eparina inferiori a 1 U/ml non interferiscono nel dosaggio. Sono state rilevate interferenze in campioni con prodotti di degradazione del Fibrinogeno e con concentrazioni di Bilirubina totale superiore a 15 mg/dl.

Elevati livelli di paraproteina, anticorpi della trombina e farmaci in grado di attivare il sistema fibrinolitico possono interferire con l'analisi del fibrinogeno.

Gravi reazioni infiammatorie possono aumentare il fattore I circolante (fibrinogeno).

Precisione

Ripetizione INTRASERIE Valori in mg/dl			
n = 10	Media	SD	CV%
FIB. Basso	118.2	2.573	2.18
FIB. Normale	243.2	3.852	1.58
FIB. Alto	639.0	4.242	0.66

Ripetizione INTERSERIE Valori in mg/dl			
n = 10	Media	SD	CV%
FIB. Normale	309.4	7.167	2.32
FIB. Patologico	119.1	1.728	1.45

Confronto tra metodi

Un confronto con un metodo commerciale disponibile ha fornito i seguenti risultati in una comparazione su 100 campioni di plasma in 3 sessioni di lavoro:

Fibrinogeno Clauss LTA = y

Fibrinogeno Clauss concorrenza = x

n = 100

y = 12,04235 + 0,92254x r = 0,98894

CONSIDERAZIONI SULLO SMALTIMENTO

Il prodotto è destinato all'utilizzo all'interno di laboratori di analisi professionali. Per un corretto smaltimento dei rifiuti fare riferimento alla normativa vigente e alle schede informative in materia di sicurezza.

CONFEZIONI

CODICE CG00400

Trombina bovina 4 x 2 ml (liofilo)

Plasma calibrante Pat-Fib 1 x 1 ml (liofilo)

Plasma di controllo Cal-Fib 1 x 1 ml (liofilo)

BIBLIOGRAFIA

Clauss, A Acta Haemat. 17:237-246, 1957.

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.

Quick, J.A.: Hemorrhagic Disease. Ed. Lea & Febiger. Philadelphia, 1957, p. 375.

Loeliger, E.A. et al.: The Certification of Three Reference Materials for Thromboplastins. Commission of the European Communities. Bruxelles, 1984.

WHO Expert Committee on Biological Standardization. 33rd Report. WHO The Rep. Ser. 84.867, 1983.

Loeliger, E.A. et al.: Thromb. And Haem. 54 (2). 515-517, 1985.

PRODUTTORE

LTA s.r.l.
Via Milano 15/F
20060 Bussero (Milano) ITALY
tel. ++39 02 95409034
fax. ++39 02 95334185
e-mail. info@ltaonline.it
website. http://www.ltaonline.it

LEGENDA SIMBOLI

	Per esclusivo uso diagnostico in vitro
	Lotto di fabbricazione
	Codice di catalogo
	Intervallo di temperatura per la conservazione
	Data di scadenza (anno - mese)
	Consultare i documenti allegati
	Consultare le istruzioni operative
	Rischio biologico

Mod. 01.06 (ver. 1.1 - 01/09/2009)

