

**Quantitative determination of Fibrinogen IVD**

Store at 2-8°C

**PRINCIPLE OF THE METHOD**

Fibrinogen in presence of an excess of thrombin concentration, changes into Fibrin.

The time for clot formation in dilute plasma is inversely proportional to the fibrinogen concentration in the sample.

The thrombin clotting time fibrinogen assay is based on the method originally described by Clauss.<sup>1</sup> In the presence of high concentrations of thrombin, the time required for clot formation in dilute plasma is inversely proportional to the fibrinogen concentration.

**CLINICAL SIGNIFICANCE**

Fibrinogen (Factor I), protein synthesized by the liver, is the substance used in the blood to form a clot. Its determination is used to evaluate abnormal blood clotting.

Elevated Fibrinogen levels are observed in acute inflammations and in pregnancy; low values are observed in trombotic therapy, in hepatic disease, in the congenital non fibrinogen, in DIC (Disseminated Intravascular Coagulation) and in pancreatitis (low values)<sup>1</sup>.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

**REAGENTS**

<b>R 1</b>	Bovine thrombin	≈ 100 NIH u /mL
<b>R 2</b>	Imidazole Buffer , Sodium azide	
<b>R3</b>	Caolin Solution	
<b>Optional</b>	COAGULATION CAL	REF: 1709101
	CONTROL NORMAL	REF: 1709104
	CONTROL PATHOLOGIC	REF: 1709106

**PRECAUTIONS**

R2: H290- May be corrosive to metals. H302-Harmful if swallowed. H360-May damage fertility or the unborn child. H412-Harmful to aquatic life with long lasting effects

Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

**PREPARATION**

R1: Dissolve (→) the contents with 2.0 mL of distilled water. Cap vial and mix gently to dissolve contents. Stability: 7 days at 2-8°C or 1 month at –20°C, if immediately frozen and stored in the original container. Do not re-freeze.

R2: Mix before use. R3: Ready for use reagent.

**TRACEABILITY**

The Coagulation Calibrator is traceable for Fibrinogen to the WHO standard, 2nd International Standard for Fibrinogen, plasma (98/612).

**STORAGE AND STABILITY**

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

**Signs of reagent deterioration:**

- Presence of particles and turbidity.
- Quality control values outside established ranges.
- Product colour variations.

**ADDITIONAL EQUIPMENT**

- Coagulometer or stopwatch and bath at 37°C ± 0.5°C.
- General laboratory equipment<sup>(Note 1)</sup>.

**SAMPLES**

Plasma from venous puncture diluted 1/10 in trisodium citrate solution 3.8% (105 mmol/L).

Mixing immediately the blood with anticoagulant. Avoid foaming the specimen.

Centrifuge the sample at 3000 x g for 10 min and transfer the plasma to siliconized glass or plastic containers.

Turbid, icteric, lipemic or hemolyzed samples may generate erroneous results.

The sample is stable for 4 hours at room temperature (15-25°C) or 28 days if immediately frozen at below 20°C.

**NOTES**

1. All labware must be clean and free of trace amounts of detergents.
2. Always follow instrument manufacturer's instructions; the results must be validated by the test laboratory.

**PROCEDURE**

The reagent can be used by manual procedure, mechanical, photo-optical or other means of end clot detection<sup>(Note 2)</sup>.

1. Dilute the citrated plasma and Control 1/10 with Imidazole buffer:  
50 µL plasma + 450 µL Imidazole buffer.  
The diluted sample must be processed in 1 hour.
2. Prepare the following dilutions of the Calibrator in Imidazole buffer.

Calibrator Dilution	1/40	1/30	1/20	1/10	1/5
IMIDAZOLE BUFFER (mL)	3.9	2.9	1.9	0.9	0.4
COAGULATION CAL (mL)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Factor	10/40*	10/30*	10/20*	10/10*	10/5*
Concentration (mg/dL)	0.25* x c	0.33* x c	0.5* x c	1* x c	2* x c

(c = Calibrator value)

3. Add 20 µL of R3 to 0.2 mL of each dilution, and allow to reach 37°C for 4-6 minutes.
4. Add 0.1 mL of R1 and time clot formation. Do not prewarm thrombin R1.

**Calculations**

1. Calculate the mean of duplicate clotting times immediately after reaction. Use all five of the calibrator points to construct a log-log curve that plots fibrinogen concentration (mg/dL) vs. clotting time (s).
2. Draw the straight line of best fit. Examine the curve and, if necessary, omit non-linear points. The final curve must consist of at least three consecutive points. Constructing the curve with only the most linear points will produce the best recovery on control and patient samples.
3. The following curve is **only orientative**. It will change with lot and concentration of the calibrator, a well as, with the instrument used.

Time (s)	Concentration (mg/dL)	Concentration (g/L)
18.1	608	6.08
26.4	304	3.04
49.6	152	1.52
84.7	76	0.76
153	38	0.38

4. Find the clotting time of quality control and patient samples on the curve and read the corresponding fibrinogen value.
5. If clotting times for the 1/10 dilution fall outside the linear curve, prepare 1/5 or 1/20 dilutions as needed. If the sample is diluted 1/5, divide the result from the standard curve by 2; if the sample was diluted 1/20, multiply the curve result by 2 to get the final result.

**QUALITY CONTROL**

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures:

CONTROL NORMAL REF: 1709104

CONTROL PATHOLOGIC REF: 1709106

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

**REFERENCE VALUES**

200 - 400 mg/dL<sup>1</sup> (2.00 – 4.00 g/L)

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

**PERFORMANCE CHARACTERISTICS**

**Precision:**

	Inter-assay (n=30)		
	144	294	488
Mean (U/L)			
CV (%)	5.9	3.4	2.9

**Accuracy:** Results obtained using SPINREACT reagents did not show systematic differences when compared with other commercial reagents.

**INTERFERENCES AND LIMITATIONS**

Has been observed interferences in samples with fibrinogen degradation.

Acute inflammatory reactions can elevate circulating fibrinogen. Hemolysis can cause clotting factor activation and end point detection interference. High paraprotein levels, and drugs that activate the fibrinolytic system can interfere with fibrinogen assays. A list of drugs and other interfering substances with the determination has been reported<sup>2,3</sup>.

**BIBLIOGRAPHY**

1. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

**PACKAGING**

Ref: 1709211	Cont.	R1: 8 x 2 mL
		R2: 1 x 100 mL
		R3: 1 x 3.5 mL

**Determinación cuantitativa de Fibrinógeno IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

El Fibrinógeno, en presencia de un exceso de trombina, se transforma en Fibrina.

El tiempo de formación del coágulo es inversamente proporcional a la concentración de Fibrinógeno presente en la muestra de plasma.

La determinación de fibrinógeno por el tiempo de coagulación de trombina, está basada en el método descrito por Clauss<sup>1</sup>. En presencia de altas concentraciones de trombina, el tiempo necesario para la formación del coágulo en el plasma diluido es inversamente proporcional a la concentración de fibrinógeno.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

El Fibrinógeno (Factor I), proteína sintetizada en el hígado, es un componente de la sangre utilizado para formar el coágulo. Su determinación nos ayuda a evaluar las alteraciones en los mecanismos de coagulación.

La concentración de fibrinógeno se incrementa en inflamaciones agudas y embarazo; por el contrario se observan valores bajos en terapias trombolíticas, enfermedades hepáticas, disfibrinogenia congénita, DIC (Coagulación intravascular diseminada) y pancreatitis<sup>1</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

<b>R 1</b>	Trombina bovina	≈ 100 u NIH/mL
<b>R 2</b>	Tampón Imidazol, Azida sódica	
<b>R3</b>	Solución Caolín	
<b>Opcional</b>	COAGULATION CAL	REF: 1709101
	CONTROL NORMAL	REF: 1709104
	CONTROL PATHOLOGIC	REF: 1709106

**PRECAUCIONES**

R2: H290- Puede ser corrosivo para los metales. H302-Nocivo en caso de ingestión. H360-Puede perjudicar la fertilidad o dañar al feto. H412-Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

**PREPARACIÓN**

R1: Reconstituir (→) en 2,0 mL de agua destilada. Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido. Estabilidad: 7 días a 2-8°C o 1 mes a -20°C, si se congela inmediatamente y se conserva en el frasco original. No volver a congelar.

R2: Agitar antes de usar.

R3: Listo para su uso.

**TRAZABILIDAD**

El Calibrador de Coagulación es trazable para el Fibrinógeno al estándar de la OMS, 2º Estándar Internacional para Fibrinógeno, plasma (98/612).

**CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:**

- Presencia de partículas y turbidez.
- Resultados en el Control de calidad fuera de los rangos establecidos.
- Variaciones de color.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Coagulómetro o cronómetro y baño a 37°C ± 0,5°C.
- Equipamiento habitual de laboratorio<sup>(Nota 1)</sup>.

**MUESTRAS**

Plasma obtenido por punción venosa diluido 1/10 en solución de citrato trisódico 3,8% (105 mmol/L).

Mezclar inmediatamente la sangre con el anticoagulante. Evitar la formación de espuma.

Centrifugar la muestra a 3000 x g 10 min y transferir el plasma.

Usar sólo contenedores de vidrio siliconado o plástico.

Los plasmas turbios, ictericos, lipémicos o hemolizados pueden dar resultados erróneos.

La muestra es estable 4 horas a temperatura ambiente (15-25°C) o 28 días si se congela inmediatamente a -20°C.

**NOTAS**

1. El material de laboratorio usado debe estar libre de restos de detergente.
2. Seguir minuciosamente las instrucciones del fabricante del instrumento, los resultados obtenidos deben ser validados por el laboratorio.

**PROCEDIMIENTO**

El reactivo puede emplearse en técnica manual, mecánica, fotoóptica o con cualquier instrumento apto para detectar la formación del coágulo<sup>(Nota 2)</sup>.

1. Preparar una dilución 1/10 de la muestra y los Controles en Tampón Imidazol: 50 µL muestra + 450 µL Tampón Imidazol.

La muestra diluida debe ser procesada antes de 1 hora.

2. Preparar las siguientes diluciones del Calibrador en Tampón Imidazol:

Dilución del Calibrador	1/40	1/30	1/20	1/10	1/5
Tampón Imidazol (mL)	3.9	2.9	1.9	0.9	0.4
COAGULATION CAL (mL)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Factor	10/40*	10/30*	10/20*	10/10*	10/5*
Concentración (mg/dL)	0.25* x c	0.33* x c	0.5* x c	1* x c	2* x c

(c = Valor del Calibrador)

3. A 0,2 mL de cada dilución añadir 20 µL de R3 y atemperar a 37°C durante 4-6 minutos.

4. Añadir 0,1 mL de reactivo R1 y cronometrar la formación de coágulos. No atemperar la trombina R1.

**CÁLCULOS**

1. Calcular la media de los duplicados de los tiempos de coagulación, inmediatamente después de finalizar la reacción. Utilizar los cinco puntos del calibrador para crear una curva de los tiempos obtenidos (s) frente a los valores de concentración de Fibrinógeno de cada dilución del Calibrador (mg/dL).

2. Trazar la mejor curva. Examinar la curva y, si es necesario, omitir los puntos no lineales. La curva final debe constar de tres puntos consecutivos como mínimo. La creación de la curva sólo con los puntos más lineales producirá la mejor recuperación en los controles y las muestras de paciente.

3. La siguiente curva de calibración es sólo **orientativa**, variando en función del lote y concentración del calibrador, así como del instrumento utilizado.

Tiempo (s)	Concentración (mg/dL)	Concentración (g/L)
18.1	608	6.08
26.4	304	3.04
49.6	152	1.52
84.7	76	0.76
153	38	0.38

4. La concentración de Fibrinógeno en la muestra se calcula por interpolación de su tiempo de coagulación en la curva de calibración. La dilución 1/10 del plasma representa el 100% del valor asignado.

5. Si los tiempos de dilución 1/10 se encuentran fuera de la curva lineal, preparar diluciones a 1/5 ó 1/20, según sea necesario. Si la muestra se diluye a 1/5 dividir el resultado de la curva por 2; si la muestra se diluye a 1/20, multiplicar el resultado por 2 para obtener el resultado final.

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

CONTROL NORMAL REF: 1709104

CONTROL PATHOLOGIC REF: 1709106

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos o la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**VALORES DE REFERENCIA**

200 - 400 mg/dL<sup>1</sup> ( 2.00 - 4.00 g/L)

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO**

**Precisión:**

	Interserie (n= 30)		
Media (U/L)	144	294	488
CV (%)	5,9	3,4	2,9

**Exactitud:** Los reactivos SPINREACT no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales.

**INTERFERENCIAS Y LIMITACIONES**

Se han observado interferencias relevantes en muestras con productos de degradación del Fibrinógeno. Las reacciones inflamatorias agudas pueden aumentar el fibrinógeno circulante. La hemólisis puede causar activación de los factores de coagulación e interferir en la detección del punto final. Los niveles altos de paraproteína, y de fármacos que activan el sistema fibrinolítico pueden interferir en las determinaciones de fibrinógeno. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en su determinación<sup>2,3</sup>.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

**PRESENTACIÓN**

Ref: 1709211	Cont.	R1: 8 x 2 mL
		R2: 1 x 100 mL
		R3: 1 x 3.5 mL

**Détermination quantitative de fibrinogène IVD**

Conserver à 2-8°C

**PRINCIPE DE LA METHODE**

Le fibrinogène, en présence d'un excès de thrombine, se transforme en fibrine. Le temps de formation du caillot est inversement proportionnel à la concentration de fibrinogène présent dans l'échantillon de plasma. La détermination de fibrinogène par le temps de coagulation de thrombine repose sur la méthode décrite par Clauss<sup>1</sup>. En présence de fortes concentrations de thrombine, le temps nécessaire à la formation du caillot dans le plasma dilué est inversement proportionnel à la concentration de fibrinogène.

**SIGNIFICATION CLINIQUE**

Le fibrinogène (Facteur I), protéine synthétisé dans le foie, est un composant du sang utilisé pour former le caillot. Sa détermination nous aide à évaluer les altérations dans les mécanismes de la coagulation. La concentration de fibrinogène augmente au cours des inflammations aiguës et lors de la grossesse ; au contraire, on observe des valeurs faibles dans le cas des thérapies thrombolytiques, des maladies hépatiques, de la dysfibrinogénie congénitale, de la DIC (Coagulation intravasculaire disséminée) et la pancréatite<sup>1</sup>. Le diagnostic clinique doit être réalisé en tenant compte de toutes les données cliniques et de laboratoire.

**RÉACTIFS**

<b>R 1</b>	Thrombine bovine	≈ 100 u NIH/mL
<b>R 2</b>	Tampon imidazole, azide de sodium	
<b>R3</b>	Solution kaolin	
<b>Optionnel</b>	COAGULATION CAL	RÉF. : 1709101
	CONTRÔLE NORMAL	RÉF. : 1709104
	CONTRÔLE PATHOLOGIQUE	RÉF. : 1709106

**PRECAUTIONS**

R2 : H290-Peut être corrosif pour les métaux. H302-Nocif en cas d'ingestion. H360-Peut nuire à la fertilité ou au fœtus. H412- Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Suivez les conseils de prudence donnés en SDS et étiquette.

**PRÉPARATION**

R1 : Reconstituer (→) dans 2,0 mL d'eau distillée. Boucher et mélanger doucement jusqu'à dissolution de son contenu. Stabilité : 7 jours à 2-8°C ou 1 mois à -20°C, si on le congèle immédiatement et qu'on le conserve dans le flacon original. Ne pas recongeler.  
R2 : Agiter avant emploi.  
R3 : Prêt à l'emploi.

**TRACABILITE**

La Coagulation etalon est traçable pour Fibrinogène à la norme de l'OMS, 2e Standard International pour Fibrinogène, de plasma (98/612).

**CONSERVATION ET STABILITE**

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage, si les flacons bien fermés sont conservés à 2-8°C, et que la contamination est évitée pendant leur utilisation. Ne pas utiliser de réactifs ayant dépassé la date de péremption.

**Indices de détérioration des réactifs:**

- Présence de particules et turbidité.
- Résultat dans le Contrôle de qualité hors des plages établies.
- Variations de couleur.

**MATERIEL SUPPLEMENTAIRE**

- Coagulomètre ou chronomètre et bain à 37°C ± 0,5°C.
- Équipement habituel de laboratoire (REMARQUE 1).

**ÉCHANTILLONS**

Plasma obtenu par ponction veineuse, dilué à raison de 1/10 dans une solution de citrate trisodique 3,8 % (105 mmol/L). Mélanger immédiatement le sang avec l'anticoagulant. Éviter la formation de mousse. Centrifuger la mousse à 3 000 x g 10 min et transférer le plasma. Utiliser uniquement des conteneurs en verre siliciné ou plastique. Les plasmas troubles, ictériques, lipémiques ou hémolysés peuvent donner des résultats erronés. L'échantillon est stable 4 heures à température ambiante (15-25°C) ou 28 jours si on le congèle immédiatement à -20°C.

**REMARQUES**

1. Le matériel de laboratoire utilisé doit être dépourvu de traces de détergent.
2. Suivre minutieusement les instructions du fabricant de l'instrument, les résultats obtenus doivent être validés par le laboratoire.

**PROCEDURE**

Le réactif peut être employé avec des techniques manuelle, mécanique, photo-optique ou avec tout instrument permettant de détecter la formation du caillot (Note 2).

1. Préparer une dilution 1/10 de l'échantillon et les Contrôles dans le Tampon Imidazole : 50 µL échantillon + 450 µL Tampon Imidazole.

L'échantillon dilué doit être traité avant 1 heure.

2. Préparer les dilutions du Calibrateur en Tampon Imidazole, comme suit :

Dilution du Calibrateur	1/40	1/30	1/20	1/10	1/5
Tampon Imidazole (mL)	3,9	2,9	1,9	0,9	0,4
COAGULATION CAL (mL)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Facteur	10/40*	10/30*	10/20*	10/10*	10/5*
Concentration (mg/dL)	0,25* x c	0,33* x c	0,5* x c	1* x c	2* x c

(c = Valeur du Calibrateur)

3. Dans 0,2 mL de chaque dilution, ajouter 20 µL de R3 et mettre à température ambiante à 37°C pendant 4-6 minutes.
4. Ajouter 0,1 mL de réactif R1 et chronométrer la formation de caillots. Ne pas mettre à température ambiante la thrombine R1.

**CALCULS**

1. Calculer la moyenne des duplications des temps de coagulation, immédiatement après la fin de la réaction. Utiliser les cinq points du calibrateur pour créer une courbe des temps obtenus (s) par rapport aux valeurs de concentration de fibrinogène de chaque dilution du Calibrateur (mg/dL).
2. Tracer la meilleure courbe. Examiner la courbe et, si besoin, omettre les points non linéaires. La courbe finale doit comporter au moins trois points consécutifs. Créer la courbe uniquement avec les points les plus linéaires donnera la meilleure récupération des contrôles et des échantillons de patient.
3. La courbe de calibration suivante a uniquement un caractère d'orientation ; elle varie en fonction du lot, de la concentration du calibrateur et de l'instrument utilisé.

Temps (s)	Concentration (mg/dL)	Concentration (g/L)
18,1	608	6,08
26,4	304	3,04
49,6	152	1,52
84,7	76	0,76
153	38	0,38

4. La concentration de fibrinogène dans l'échantillon se calcule par interpolation de son temps de coagulation dans la courbe de calibration. La dilution 1/10 du plasma représente 100 % de la valeur assignée.
5. Si les temps de dilution 1/10 sont hors de la courbe linéaire, préparer des dilutions à 1/5 ou 1/20, en fonction des besoins. Si l'échantillon est dilué à 1/5 diviser le résultat de la courbe par 2 ; si l'échantillon est dilué à 1/20, multiplier le résultat par 2 afin d'obtenir le résultat final.

**CONTROLE DE QUALITE**

Il convient d'analyser avec les échantillons, les sérums contrôle évalués :

CONTRÔLE NORMAL RÉF. : 1709104  
CONTRÔLE PATHOLOGIQUE RÉF. : 1709106

Si les valeurs découvertes sont hors de la plage de tolérance, il faut revoir l'instrument, les réactifs ou la technique. Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

**VALEURS DE REFERENCE**

200 - 400 mg/dL<sup>1</sup>. Ces valeurs ont un caractère d'orientation. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

**CARACTERISTIQUES DE LA METHODE**

**Précision:**

	Inter-série (n= 30)		
Moyenne (U/L)	144	294	488
CV (%)	5,9	3,4	2,9

**Exactitude:** Les réactifs SPINREACT ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux.

**INTERFERENCES ET LIMITATIONS**

Des interférences importantes ont été observées dans les échantillons comportant des produits dégradant le fibrinogène. Les réactions inflammatoires aiguës peuvent augmenter le fibrinogène circulant. L'hémolyse peut causer l'activation des facteurs de coagulation et interférer avec la détection du point final. Les niveaux élevés de paraprotéine et de médicaments activant le système fibrinolytique peuvent interférer avec les déterminations de fibrinogène. Il a été rapporté que certaines drogues et autres substances interfèrent avec sa détermination<sup>2,3</sup>.

**BIBLIOGRAPHIE**

1. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

**PRÉSENTATION**

Réf: 1709211	Cont.	R1 8 x 2 mL R2 1 x 100 mL R3 1 x 3.5 mL
--------------	-------	---



**Determinação quantitativa de Fibrinógeno**

**IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCÍPIO DO MÉTODO**

O fibrinógeno, na presença de um excesso de trombina, transforma-se em Fibrina..

O tempo de formação do coágulo é inversamente proporcional á concentração de Fibrinógeno presente na amostra de plasma.

A determinação de fibrinógeno pelo tempo de coagulação da trombina baseia-se no método descrito por Clauss<sup>1</sup>. Na presença de elevadas concentrações de trombina, o tempo necessário para a formação do coágulo no plasma diluído é inversamente proporcional á concentração de fibrinógeno.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

O Fibrinógeno (Factor I), proteína sintetizada no fígado, é um componente do sangue utilizado para formar o coágulo.A sua determinação ajuda-nos a avaliar as alterações no mecanismo da coagulação.

A concentração de fibrinógeno aumenta em inflamações agudas e gravidez; pelo contrário, observam-se valores baixos em terapias trombolíticas, doenças hepáticas, disfibrinogenia congénita, DIC (Coagulação intravascular disseminada) e pancreatite<sup>1</sup>.

O diagnóstico clínico deve realizar-se considerando todos os dados clínicos e laboratoriais.

**REAGENTES**

<b>R 1</b>	Trombina bovina	≈ 100 u NIH/mL
<b>R 2</b>	Tampão Imidazole, Azida de sódio	
<b>R3</b>	Solução de Caulino	
<b>Opcional</b>	COAGULAÇÃO CAL	REF: 1709101
	CONTROLO NORMAL	REF: 1709104
	CONTROLO PATHOLÓGICO	REF: 1709106

**PRECAUÇÕES**

R2: H290-Pode ser corrosivo para os metais. H302- Nocivo por ingestão. H360-Pode afectar a fertilidade ou o nascituro. H412-Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. Seguir os conselhos de prudência dados em SDS e etiqueta.

**PREPARAÇÃO**

R1: Reconstituir (→) em 2,0 mL de água destilada. Tapar e agitar suavemente até dissolução do seu conteúdo. Estabilidade: 7 dias a 2-8°C ou 1 mês a -20°C, quando congelado de imediato e conservado no frasco original.Não voltar a congelar.

R2: Agitar antes de usar. R3: Pronto para utilização

**TRAÇABILIDADE**

O Calibrador de Coagulação é traçável para o Fibrinógeno pelo standard da OMS, 2º Standard Internacional para Fibrinógeno, plasma (98/612).

**CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE**

Todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade indicada no rótulo, quando os frascos são mantidos bem fechados, protegidos da luz, conservados entre 2-8°C, e se evita a contaminação.

Não utilizar reagentes fora de prazo.

**Indicadores de deterioração dos reagentes:**

- Presença de partículas e turvação.
- Resultados no Controlo de qualidade fora dos intervalos estabelecidos.
- Variações de coloração.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Coagulómetro ou cronómetro e banho a 37°C ± 0.5°C.
- Equipamento habitual de laboratorio <sup>(Nota 1)</sup>.

**AMOSTRAS**

Plasma obtido por punção venosa diluído 1/10 em solução de citrato trisódico 3.8%(105 mmol/L).

Misturar imediatamente o sangue com o anticoagulante. Evitar a formação de espuma.

Centrifugar a amostra a 3000 x g 10 min. e transferir o plasma.

Utilizar apenas contentores de vidro siliconado ou plástico.

Os plasmas turvos, ictericos, lipémicos ou hemolizados podem dar resultados erróneos.

A amostra é estável por 4 horas a temperatura ambiente (15-25°C) ou 28 dias quando congelada de imediato -20°C.

**NOTAS**

1. O material de laboratorio utilizado deve estar livre de vestígios de detergente.
2. Seguir minuciosamente as instruções do fabricante do equipamento. Os resultados obtidos devem ser validados pelo laboratório.

**PROCEDIMENTO**

O Reagente pode ser empregue com técnica manual, mecânica, foto-óptica ou com qualquer instrumento apto para detectar a formação do coágulo <sup>(Nota2)</sup>.

1. Preparar uma diluição 1/10 da amostra e os controlos com Tampão Imidazole : 50 µL amostra + 450 µL Tampão de Imidazole.  
A amostra diluída deve ser processada em 1 hora.

2. Preparar as seguintes diluições do Calibrador em Tampão Imidazole:

Diluição do Calibrador	1/40	1/30	1/20	1/10	1/5
Tampão Imidazole (mL)	3.9	2.9	1.9	0.9	0.4
COAGULAÇÃO CAL (mL)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Factor	10/40*	10/30*	10/20*	10/10*	10/5*
Concentração (mg/dL)	0.25* x c	0.33* x c	0.5* x c	1* x c	2* x c

(c = Valor do Calibrador)

3. A 0,2 mL de cada diluição adicionar 20 µL de R3 e deixar que atinja os 37°C durante 4-6 minutos.
4. Juntar 0,1 mL de reagente R1 e cronometrar a formação de coágulos. O reagente trombina R1 não deve ser pré-aquecido..

**CÁLCULOS**

1. Calcular a media dos duplicados dos tempos de coagulação, logo após finalização da reacção. Utilizar os cinco pontos do calibrador para criar uma curva dos tempos obtidos (s) vs os valores de concentração de Fibrinógeno de cada diluição do Calibrador (mg/dL).
2. Traçar a curva mais correcta. Examinar a curva e, se necessário, omitir os pontos não lineares. Na curva final devem constar pelo menos três pontos consecutivos. A criação da curva apenas com os pontos mais lineares produzirá uma melhor recuperação nos controlos e nas amostras dos doentes.
3. A seguinte curva de calibração é apenas **orientativa**, variando em função do lote e concentração do calibrador, assim como com o equipamento utilizado.

Tempo (s)	Concentração (mg/dL)	Concentração (g/L)
18.1	608	6.08
26.4	304	3.04
49.6	152	1.52
84.7	76	0.76
153	38	0.38

4. A concentração de Fibrinógeno na amostra calcula-se por interpolação do seu tempo de coagulação na curva de calibração.
5. Se os tempos de coagulação na diluição 1/10 se encontrarem fora da curva linear, preparar diluições a 1/5 ou 1/20, caso seja necessário. Se a amostra for diluída a 1/5 dividir o resultado da curva por 2; se a amostra for diluída a 1/20, multiplicar o resultado por 2 para obter o resultado final.

**CONTROLO DE QUALIDADE**

É conveniente analisar, juntamente com as amostras, os soros controlo valorizados:

CONTROLO NORMAL REF: 1709104

CONTROLO PATHOLÓGICO REF: 1709106

Se os valores encontrados estiverem fora do intervalo de tolerância, devem-se rever o equipamento, os reagentes e a técnica.

Cada laboratorio deve dispôr do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer correções, caso estes controlos não cumpram com as tolerâncias.

**VALORES DE REFERÊNCIA**

200 - 400 mg/dL<sup>1</sup> ( 2.00 – 4.00 g/L)

Estes valores são orientativos. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

**CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO**

**Precisão:**

	Interserie (n= 30)		
Media (U/L)	144	294	488
CV (%)	5,9	3,4	2,9

**Exactidão:** Os reagentes SPINREACT não apresentam diferenças sistemáticas significativas quando comparados com outros reagentes comerciais.

**INTERFERÊNCIAS E LIMITAÇÕES**

Observaram-se interferências relevantes em amostras contendo produtos de degradação do Fibrinogenio.As reacções inflamatórias agudas podem aumentar o fibrinógeno circulante.A hémólise pode causar activação dos factores de coagulação e interferir na detecção do *end point*. Níveis elevados de paraproteína e de fármacos que activam o sistema fibrinolítico podem interferir nas determinações do fibrinógeno. Foram descritas várias drogas e outras substâncias que interferem na sua determinação<sup>2,3</sup>.

**BIBLIOGRAFIA**

1. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

**APRESENTAÇÃO**

Ref: 1709211	Cont.	R1: 8 x 2 mL
		R2: 1 x 100 mL
		R3: 1 x 3.5 mL