



LIAPHEN™ Fibrinogen

REF 120102

R1 4x5 mL

Turbidimetrischer Latex-Immunoassay mit
gebrauchsfertigen Flüssigreagenzien zur quantitativen
Bestimmung von Fibrinogen im Plasma



Vertrieb und Support:
CoaChrom Diagnostica GmbH
www.coachrom.com | info@coachrom.com
Tel. +43-1-236 222 1 | Fax +43-1-236 222 111
Kostenfreie Nummern für Deutschland:
Tel. 0800-24 66 33-0 | Fax 0800-24 66 33-3

VERWENDUNGSZWECK:

LIAPHEN™ Fibrinogen ist ein Latex-Immunoassay zur quantitativen *in-vitro*-Bestimmung von Fibrinogen-Antigen (Fib:Ag) in humanem Citratplasma oder gereinigten Präparationen mit automatisierten oder manuellen Methoden. Die Reagenzien liegen in flüssiger Form vor und sind sofort einsetzbar.

ZUSAMMENFASSUNG:

Technisch:¹⁻³

Fibrinogen ist ein lösliches Plasma Glykoprotein, das in der Leber synthetisiert wird. Das Molekulargewicht von 340 kD besteht aus je zwei von drei durch Disulfidbrücken symmetrisch verbundenen Peptidketten (2 Aα, 2Bβ und 2 γ-Ketten). Thrombin setzt aus Fibrinogen die Fibrinmonomere frei, es bildet sich Fibrin, welches anschließend durch aktivierten Faktor XIII in Anwesenheit von Calcium stabilisiert wird. Fibrinogen wird durch Plasmin abgebaut, zuerst entstehen dabei die Fragmente X und Y, danach D und E.

Klinisch:³⁻⁷

Die Fibrinogen-Konzentration in humanem Normalplasma liegt üblicherweise zwischen 2 g/L und 4 g/L. Erhöhte Fibrinogen-Konzentrationen (> 4 g/L) werden bei Entzündungen beobachtet und gelten als Risikofaktor für Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Thrombose. Hypofibrinogenämie tritt hauptsächlich bei schweren Lebererkrankungen oder bei überhöhtem Fibrinogenkonsum auf (DIC, Hyperfibrinolyse). Es sind zahlreiche Varianten des Fibrinogens in Zusammenhang mit asymptomatischen oder Blutungs- und/oder Thrombosefällen beschrieben worden.

TESTPRINZIP:

LIAPHEN™ Fibrinogen ist eine turbidimetrischer Latex-Immunoassay, der auf einer Antigen-Antikörper-Reaktion basiert. Wird die Probe mit dem Latexreagenz vermischt, bindet in der Probe vorhandenes Fibrinogen an die im Latexreagenz enthaltenen polyklonalen Kaninchen Anti-Human Fibrinogen-Antikörper und führt so zur Agglutination. Die Agglutination wird durch Lichtabsorption gemessen und ist proportional zum Gehalt an Fibrinogen in der Probe.

REAGENZIEN:

R1 Latexreagenz, 4 Flaschen mit je 5 mL Flüssigreagenz.

Enthält bovines Serumalbumin (BSA) und eine geringe Menge an Natriumazid (0,9 g/L).

ANMERKUNGEN UND WARNHINWEISE:

- Für die Herstellung der Reagenzien wird Material tierischen Ursprungs verwendet. Produkte biologischen Ursprungs müssen mit den erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen und als potentiell infektiös gehandhabt werden.
- Natriumazid kann mit Blei- bzw. Kupferarmaturen unter Bildung explosiver Verbindungen reagieren.
- Bei Entsorgung sind die lokalen Richtlinien zu befolgen.
- Nur Reagenzien aus Packungen mit identischer Chargennummer verwenden.
- Stabilitätsstudien für 3 Wochen bei 30°C haben gezeigt, dass die Packungen ohne Beeinträchtigung bei Raumtemperatur versendet werden können.
- Zur *in-vitro*-Diagnostik in professionellem Laborgebrauch.

VORBEREITUNG DER REAGENZIEN:

R1 Die Reagenzien liegen gebrauchsfertig vor. Vorsichtig durchmischen und dabei Schaumbildung vermeiden. Gemäß Applikationsanleitung auf den Gerinnungsautomaten laden.

Manuelle Methode: 30 Minuten bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren. Den Inhalt vor jedem Gebrauch homogenisieren.

LAGERUNG UND STABILITÄT:

Die ungeöffneten Reagenzien müssen bei 2-8°C in der Originalverpackung gelagert werden. Sie sind dann bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum stabil.

R1 Stabilität des geschlossen gelagerten Reagenz nach Rekonstitution unter der Voraussetzung, dass dieses nicht kontaminiert wurde und keine Verdunstung erfolgte:

- 6 Monate bei 2-8°C
- 7 Tage bei Raumtemperatur (18-25°C)
- Nicht einfrieren
- On Board-Stabilität – siehe gerätespezifische Applikation

ERFORDERLICHE MATERIALIEN, DIE NICHT IM KIT ENTHALTEN SIND:

Reagenzien:

- Aqua dest.
- Imidazol-Puffer (Art.Nr. AR021A/AR021K/AR021L) oder Tris-NaCl-BSA Puffer pH 7,4 (TBSA, Art.Nr. AR005L) als Verdünnungspuffer. Für alle durchgeführten Tests muss derselbe Puffer verwendet werden.
- Spezifische Kalibratoren und Kontrollen mit bekannten Fib:Ag-Werten, z.B.:

| Artikelbezeichnung | Art.Nr. |
|--|---------|
| BIOPHEN™ Kalibrationsplasma Gerinnung | 222101 |
| BIOPHEN™ Kontrollplasma Gerinnung „Normal“ | 223201 |
| BIOPHEN™ Kontrollplasma Gerinnung „Abnormal“ | 223301 |

Außerdem ist die spezifische Applikationsanleitung des verwendeten Gerinnungsautomaten zu beachten.

Geräte:

- Spektrophotometer oder Gerinnungsautomat für turbidimetrische Immunoassays
- Stoppuhr, kalibrierte Pipetten, Plastikröhrchen für den Spektrophotometer.

PROBENGEWINNUNG:

Blut (9 Volumenteile) wird vorsichtig in 0,109 M Citrat als Antikoagulant (1 Volumenteil) abgenommen. Die Blutabnahme erfolgt durch Venenpunktion. Das erste Röhrchen ist zu verwerfen.

Die Gewinnung und Lagerung der Proben hat gemäß aktuellen lokalen Vorschriften zu erfolgen (Vorschriften für die Probengewinnung, -handhabung und -lagerung sind im CLSI-Dokument H21-A5⁸ veröffentlicht). In Bezug auf die Lagerung des Plasmas sind die Referenzen zu beachten.^{8,9}

TESTDURCHFÜHRUNG:

LIAPHEN™ Fibrinogen kann sowohl kinetisch auf einem Gerinnungsautomaten als auch mit der manuellen Methode durchgeführt werden. Der Test wird bei einer Temperatur von 37°C durchgeführt, die Agglutinationsentwicklung wird bei 620 nm gemessen (andere Wellenlängen können benutzt werden, vorzugsweise zwischen 405 und 700 nm).

Für die automatisierte Durchführung sind Applikationsanleitungen für die gängigsten Gerinnungsautomaten auf Anfrage erhältlich. Die gerätespezifische Applikation und die spezifischen Vorsichtsmaßnahmen des jeweiligen Gerinnungsautomaten sind zu beachten.

Testmethode:

- Die Referenzpräparation (Test in gereinigter Präparation) oder die Kalibratoren und Kontrollen sind anhand der spezifischen Inserts oder nach interner Praxis zu rekonstituieren.

Bei Verwendung eines kommerziell verfügbaren Plasmakalibrators oder gereinigten Fibrinogens mit einer bekannten Fibrinogenkonzentration (C) in µg/mL erhält man den höchsten Kalibrationspunkt (20 µg/mL) durch Verdünnung des Kalibrators mit Tris-NaCl-BSA Puffer. Für diesen Zweck wird der Verdünnungsfaktor (D) wie folgt ermittelt: D = C:20. Beispiel: bei einer Fibrinogenkonzentration (C) des Kalibrators von 3000 µg/mL (3g/L) wird der Verdünnungsfaktor (D) wie folgt ermittelt: D = 3000:20 = 150.

Ausgehend von 3 mL dieser Stammlösung mit 20 µg/mL (C1), werden die weiteren Kalibrationspunkte durch Verdünnung mit Puffer wie folgt hergestellt:

| Kalibrator | C1 | C2 | C3 | C4 | C5 | C6 |
|--------------------|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------|
| Fibrinogen (µg/mL) | 20 | 15 | 10 | 5 | 2,5 | 0 |
| Kalibrator | 1000 µL von C1 | 750 µL von C1 | 500 µL von C1 | 250 µL von C1 | 125 µL von C1 | 0 µL |
| Puffer | 0 µL | 250 µL | 500 µL | 750 µL | 875 µL | 1000 µL |

Bei der manuellen Methode muss bei jedem Testlauf eine Kalibrationskurve erstellt werden.

- Die Plasmaproben und Kontrollplasmen werden 1:300 mit Puffer vorverdünnt (manuelle Methode). Die Kalibrationskurve ist zu erstellen und mittels Qualitätskontrollen zu überprüfen. Verdünnte Proben sollten, wenn sie bei Raumtemperatur (18-25°C) gelagert werden, rasch getestet werden. Die exakten chargenspezifischen Werte der Kalibratoren und Kontrollen sind einem der Packung beiliegenden Datenblatt zu entnehmen.

3. In ein bei 37°C präinkubiertes Kunststoffröhrchen folgendermaßen hinzufügen:

| | Volumen |
|--|---------|
| Verdünnte Proben, Kalibratoren oder Kontrollen | 100 µL |
| R1 Latexreagenz, präinkubiert bei 37°C und vor Gebrauch durchmischt | 400 µL |
| Mischen und bei 37°C für exakt 15 Minuten inkubieren, anschließend umgehend: Mischen und Messen der Absorption bei 620 nm gegen Puffer. Die Inkubationszeit muss für alle Proben gleich sein. | |

Falls die angewandte Methode andere Reagenzvolumina als die oben beschriebenen erfordert, müssen die Verhältnisse der Reagenzkonzentrationen genau eingehalten werden, um den Erhalt der Leistungsmerkmale des Tests zu gewährleisten. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, alle Veränderungen und sämtliche Auswirkungen auf die Testergebnisse zu überprüfen.

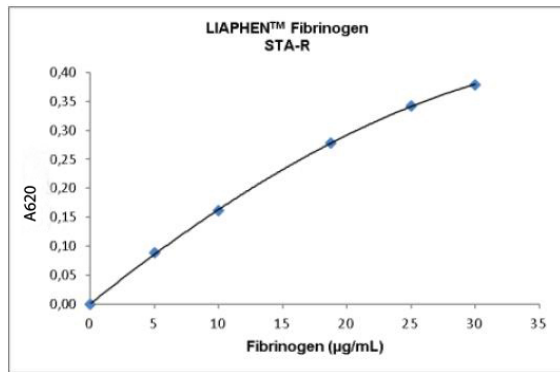
Für hohe Konzentrationen (> 6 g/L) wird eine Probenverdünnung von 1:1000 und für niedrige Konzentrationen (< 1 g/L) 1:100 empfohlen.

KALIBRATION:

LIAPHEN™ Fibrinogen kann für die Messung von Fib:Ag in humanem Plasma kalibriert werden. Entsprechende Kalibrationsplamen, die den Kalibrationsbereich abdecken, sind von HYPHEN BioMed erhältlich (siehe Abschnitt ERFORDERLICHE MATERIALIEN, DIE NICHT IM KIT ENTHALTEN SIND) und können für die Erstellung der Kalibrationskurve verwendet werden.

Der Kalibrationsbereich auf STA-R® beträgt 0 bis 30 µg/mL.

Die nachfolgend gezeigte Kalibrationskurve dient lediglich als Beispiel. Zur Ergebnisberechnung von Proben darf ausschließlich die für die jeweilige Analysenserie gemessene Kalibrationskurve verwendet werden.



QUALITÄTSKONTROLLE:

Die Verwendung von Qualitätskontrollplamen ermöglicht bei Verwendung der gleichen Reagenzcharge die Validierung der Kalibrationskurve und der homogenen Reaktivität des Tests von Analyse zu Analyse.

Gemäß guter Laborpraxis ist bei jeder Testserie eine Qualitätskontrolle zu inkludieren, um die generierten Ergebnisse zu überprüfen. Zumindest bei Chargenwechsel, größeren Wartungsarbeiten am Analysenautomaten oder wenn die Kontrollen außerhalb des Vertrauensbereiches liegen, muss eine Neukalibration erfolgen. Jedes Labor sollte die Richtigkeit der Zielwerte und Akzeptanzbereiche unter den eigenen Testbedingungen überprüfen.

ERGEBNISSE:

- Bei der manuellen Endpunktmethode wird auf Millimeterpapier die Fibrinogen-Konzentration (µg/mL) auf der Abszisse (x-Achse) gegen die jeweilige Absorption bei 620 nm auf der Ordinate (y-Achse) aufgetragen. Die Fibrinogen-Konzentration in der Probe (µg/mL) leitet sich von der Kalibrationskurve ab und muss mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert werden (d.h. Multiplikation mit 300 bei der Standardverdünnung).
- Falls andere Verdünnungen genutzt wurden, wird die gemessene Konzentration mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multipliziert.
- Die Ergebnisse sind orientiert am klinischen und biologischen Zustand des Patienten zu interpretieren.

EINSCHRÄNKUNGEN DES TESTES:

- Um eine optimale Leistung zu gewährleisten und die Spezifikationen zu erfüllen, sollten die technischen Anweisungen von HYPHEN BioMed sorgsam beachtet werden.
- Jegliches Reagenz mit unüblicher Erscheinung oder Anzeichen von Kontamination muss verworfen werden. Jegliche verdächtige Proben oder jene mit Anzeichen für Aktivierung müssen verworfen werden.
- Die Anwesenheit von Rheumafaktor kann zu einer Überschätzung der Fibrinogen-Konzentration führen.¹⁰
- Verschiedene Medikamente und Therapien können die Testergebnisse beeinflussen. Bei unerwarteten oder abnormalen Ergebnissen sollte daher stets eine zusätzliche Überprüfung erfolgen.

- Hinsichtlich einer möglichen Beeinflussung durch den Hook-Effekt ist die spezifische Applikationsanleitung für den verwendeten Gerinnungsautomaten zu beachten (es wurde bei Verwendung der Standardplasmaverdünnung kein signifikanter Hook-Effekt bei Fibrinogen-Konzentrationen unter 90 µg/mL festgestellt).

ERWARTETE WERTE:

Der Referenzbereich wurde bei gesunden Erwachsenen (n=56) auf STA-R® gemessen (Zentral 90%, 95. Perzentil) und liegt zwischen 1,94 g/L und 4,17 g/L Fib:Ag. Jedoch muss jedes Labor seinen eigenen Normbereich festlegen.

LEISTUNGSMERKMALE:

- Der Messbereich hängt vom verwendeten Analysensystem ab (zwischen 1 und 30 µg/mL Fib:Ag auf der STA-R®-Serie mit der Standardplasmaverdünnung, d.h. zwischen 0,2 g/L und 6 g/L).
- Spezifität:** In Serum werden Konzentrationen unter 0,2 g/L gemessen (Mittelwert).
- Leistungsstudien wurden intern unter Einsatz einer Reagenzcharge auf der STA-R®-Serie durchgeführt. Sie wurden mittels Qualitätskontrollen des Labors 5 Tage ausgewertet, 2 Läufe pro Tag und 2 Wiederholungen pro Lauf für jedes Kontrollniveau. Die folgenden Daten wurden erhalten:

| Kontrolle | Intra-Lauf | | | | Inter-Lauf | | | |
|-----------|------------|------------|-----|------|------------|------------|-----|------|
| | n | Mittelwert | VK% | SD | n | Mittelwert | VK% | SD |
| Level 3 | 20 | 5,04 | 3,8 | 0,19 | 20 | 5,04 | 7,7 | 0,39 |
| Level 2 | 20 | 2,58 | 3,1 | 0,08 | 20 | 2,58 | 9,8 | 0,25 |
| Level 1 | 20 | 1,31 | 3,4 | 0,04 | 20 | 1,31 | 9,8 | 0,13 |

- Korrelation mit Referenzmethode (LIAPHEN™ Fibrinogen vs. FIBRIPHEN™ auf STA-R®):
 $n = 70$ $y = 0,97x - 0,06$ $r = 0,977$
- Interferenzen:** Auf dem STA-R® Analyzer wurde keine Beeinflussung des Testes durch Hämoglobin-Konzentrationen ≤ 200 mg/dL, Bilirubin-Konzentrationen ≤ 20 mg/dL, Heparin (UFH/LMWH)-Konzentrationen ≤ 2 IE/mL und Intralipid (Triglyzerid-Äquivalent)-Konzentrationen ≤ 2.000 mg/dL festgestellt. Es ist zusätzlich die spezifische Applikationsanleitung des verwendeten Gerinnungsautomaten zu beachten.
- Kreuzreaktivität:** LIAPHEN™ Fibrinogen reagiert mit Fibrinogen Fragment DD (D-Dimer), Fragment D und Fibrinogenabbauprodukten (FDPs). Es besteht keine Kreuzreaktivität mit Fibrin Fragment E.

LITERATUR:

- Mosesson M.W. Fibrinogen and fibrin structure and function. JTH. 2005.
- Henschen-Edman AH. On the identification of beneficial and detrimental molecular forms of fibrinogen. Haemostasis 1999.
- Marguerie G. Le fibrinogène, facteur multifonctionnel de l'hémostase. Medecine/Sciences. 1986.
- VanDeWater L. et al. Analysis of elevated fibrinogen degradation product levels in patients with liver disease. Blood. 2019.
- 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.
- Appel I.M. et al. Age dependency of coagulation parameters during childhood and puberty. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2012.
- Ernst E. Plasma fibrinogen – an independent cardiovascular risk factor. Journal of Internal Medicine. 1990.
- CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008
- Mauge L. and Alhenc-Gelas M. Stabilité pré-analytique des paramètres de la coagulation: revue des données disponibles. Ann Biol Clin. 2014.
- Hamano A. et al. Latex immunoturbidimetric assay for soluble fibrin complex. Clinical Chemistry. 2005.

SYMBOLE:

Verwendete Symbole und Zeichen sind in der ISO-Norm 15223-1 gelistet. Das der Packung beiliegende Symbolerklärungs-Blatt ist zu beachten.