



LIQUID FIB

Determinação quantitativa do fibrinogénio segundo Clauss

• Dispositivo de 12 frascos de 4 ml

(REF 00673)

IVD

CE

Maio 2019

Português

### 1/ FINALIDADE

Quantificação do fibrinogénio plasmático segundo o método de Clauss (1) com STA-R®, STA Compact® e STA Satellite®.

### 2/ INTERESSE CLÍNICO

O fibrinogénio é uma glicoproteína de cerca de 340 000 daltons (6), cuja concentração plasmática, em relação aos outros factores de coagulação, é elevada (2 a 4 g/l) (2). O fibrinogénio é sintetizado ao nível do fígado (1,7 a 5 g/dia) (6). Esta síntese do fibrinogénio é controlada pelo gene por ele codificado para a síntese da cadeia  $\beta$  (3). Dada a existência de um polimorfismo genético ao nível deste gene, o nível plasmático do fibrinogénio varia de indivíduo para indivíduo (3). A semi-vida do fibrinogénio é de aproximadamente 3 a 5 dias (6). O fibrinogénio é constituído por 6 cadeias peptídicas, simétricas 2 a 2 (5). O fibrinogénio é transformado em fibrina pela trombina, que liberta 2 peptídeos A (FPA) e 2 peptídeos B (FPB) a partir, respectivamente, das cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  (5). As moléculas de fibrina agregam-se e formam um coágulo estabilizado pelo factor XIIIa (3, 5). A primeira etapa desta estabilização consiste na ligação de duas cadeias  $\gamma$  de monómeros de fibrina diferentes (5). Tal ligação está na origem da existência do D-dímero, produto de degradação específico da fibrina (5). Observa-se um aumento do nível de fibrinogénio plasmático nos casos de diabetes, de síndrome inflamatória, de obesidade (3, 6); este nível diminui em caso de consumo excessivo de fibrinogénio (CIVD, fibrinogenólise) (3). Além disso, o fibrinogénio parece estar implicado na patogenidade dos acidentes trombóticos cardiovasculares (3, 6).

### 3/ PRINCÍPIO DO TESTE

Em presença de um excesso de trombina, o tempo de coagulação de um plasma, diluído em proporções adequadas, depende directamente do nível de fibrinogénio plasmático (3).

### 4/ COMPOSIÇÃO

Cada kit de STA® - Liquid Fib contém uma bula com código de barras. Este código de barras contém as seguintes informações: número de lote, referência do kit, referência do reagente, prazo de validade e parâmetros de calibração.

**STA® - Liquid Fib:** trombina cálcica titulada (aprox. 100 unidades NIH/ml), de origem humana contendo um inibidor específico da heparina que permite a quantificação do fibrinogénio no plasma de pacientes tratados com este anticoagulante.

Este reagente contém produtos de origem humana e/ou animal. Sempre que é requerida a utilização de plasma humano na preparação deste reagente, são utilizados métodos validados para a detecção do antígeno HBs e dos anticorpos anti-HCV, anti-HIV 1 e anti-HIV 2, e o resultado obtido é negativo. No entanto, nenhum método oferece uma garantia total da inexistência de agentes infecciosos. Assim, este reagente de origem biológica deve ser manipulado com as precauções habitualmente utilizadas para produtos potencialmente infecciosos.

### 5/ AVISOS E PRECAUÇÕES

O kit deve ser conservado a uma temperatura entre 2-8 °C. Exclusivamente destinado para a utilização de diagnóstico *in vitro*. Este reagente só pode ser utilizado por profissionais habilitados para o efeito e devidamente autorizados pelo laboratório. Antes de utilizar, ler atentamente o “Manual de Referência” relativo ao equipamento utilizado. Manipular com precaução os reagentes e as amostras dos pacientes. A eliminação de resíduos deverá processar-se de acordo com a regulamentação local em vigor.

### 6/ COLHEITA E TRATAMENTO DA AMOSTRA

A colheita deve ser realizada em conformidade com as recomendações relativas a exames de hemostase.

- Colher o sangue em solução de citrato trissódico 0,109 M: 1 vol. de citrato para 9 vol. de sangue.
- Centrifugação: 15 minutos a 2000-2500 g.
- Conservação do plasma: 8 horas a 20 ± 5 °C.

### 7/ PREPARAÇÃO E CONSERVAÇÃO DO REAGENTE

#### • Preparação

Antes da utilização, deixar o reagente estabilizar, durante 30 minutos, à temperatura ambiente (18-25 °C). Homogeneizar. Em seguida, colocar um STA® - mini Reducer novo (REF 00797) e a cápsula operculada. O reagente está pronto a utilizar.

Este reagente contém a mistura 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-one / 2-metil-2H-isotiazol-3-one na proporção de 3:1. Na concentração fornecida (< 0,06 %), esta mistura é considerada como sensibilizante.

#### Atenção

Pode provocar uma reacção alérgica cutânea. Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes.

#### • Conservação

Quando conservado a 2-8 °C na embalagem de origem, o reagente mantém-se estável até ao prazo de validade indicado na embalagem. Após a abertura, com STA® - mini Reducer e cápsula operculada, o reagente mantém-se estável durante 10 dias nos STA-R®, STA Compact® y STA Satellite®. Após a primeira abertura, a solução restante, quando conservada a 2-8 °C no frasco de origem devidamente tapado, poderá ainda ser utilizada até 2 meses depois, desde que isenta de contaminação.

#### Não congelar.

NB: Considerando as várias combinações de condições de conservação (a bordo do equipamento e/ou a 2-8 °C), cada laboratório deverá estabelecer o seu próprio prazo de estabilidade de acordo com a sua prática. Este prazo não deverá exceder a estabilidade referida acima, a qual foi determinada sob condições controladas. No caso de conservação a 2-8 °C, deixar o reagente estabilizar à temperatura ambiente (18-25 °C) durante 30 minutos antes de utilizar.

### 8/ REAGENTES E MATERIAL AUXILIARES

- **STA® - Owren-Koller** (REF 00360).
- Calibração: **STA® - Unicalibrator** (REF 00675), se não for seleccionada a pré-calibragem.
- Controlo de qualidade: **STA® - Coag Control [N] + [P]** (REF 00679), **STA® - System Control [N] + [P]** (REF 00678) ou **STA® - Routine QC 2 ml** (REF 00554).
- STA-R®, STA Compact® ou STA Satellite®.
- STA® - mini Reducer (REF 00797).
- Equipamento habitualmente utilizado nos laboratórios de análises clínicas.

### 9/ MODO DE FUNCIONAMENTO

#### 9.1. Calibração

##### • Protocolo de pré-calibração

O reagente é pré-calibrado com relação a um padrão secundário da Norma Internacional 09/264, estabelecida em 2011; esta pré-calibração é idêntica para todos os reagentes de um mesmo lote. Para introduzir as coordenadas de calibração no instrumento, fazer passar o código de barras impresso na etiqueta diante do leitor de códigos de barras do aparelho. A calibração será validada para todo o lote, após determinação do nível de fibrinogénio de dois controlos. A calibração pode ser visualizada no ecrã a partir do menu “Calibration” (ver o “Manual de Referência”).

##### • Protocolo de calibração com STA® - Unicalibrator

Em alternativa ao protocolo de pré-calibragem, a calibragem pode ser igualmente efectuada com o STA® - Unicalibrator, desde que tenha sido seleccionado o teste de inicialização correcto (ver o “Manual de Referência”). Preparar STA® - Unicalibrator e transferir para o aparelho as informações contidas no código de barras da etiqueta. Os diferentes pontos da gama de calibração serão efectuados automaticamente pelo aparelho em STA® - Owren-Koller, segundo as modalidades inscritas na configuração do teste. A calibração pode ser visualizada no ecrã a partir do menu “Calibration” (ver o “Manual de Referência”).

#### 9.2. Plasmas a testar

Os plasmas a testar são utilizados em estado puro. São introduzidos no instrumento (ver o “Manual de Referência” relativo ao aparelho utilizado). As diluições em STA® - Owren-Koller é realizada automaticamente pelo aparelho.

Seleccionar o(s) teste(s) a efectuar no plasmas dos pacientes.

#### 9.3. Controlos

Os controlos são necessários para verificar a exactidão e a reprodutibilidade dos resultados. Devem ser utilizados dois níveis de controlo diferentes. Preparar estes controlos e transferir para o aparelho as informações contidas no código de barras de cada uma das duas etiquetas. Estes controlos são utilizados em estado puro.

### 9.4. Ensaio

Para a realização do ensaio, consultar o protocolo descrito no “Standardized Operating Procedures” do equipamento. O equipamento iniciará a análise logo que o carregamento das amostras estiver completo. Se o resultado obtido para um determinado plasma se situar fora do intervalo de linearidade, o instrumento realiza automaticamente a diluição apropriada para esta amostra e repete a determinação, desde que esta funcionalidade tenha sido definida na configuração do teste (ver o “Manual de Referência”).

### 10/ RESULTADOS

O nível de fibrinogénio das amostras testadas é visualizado em tempo real, na unidade escolhida pelo operador, no painel de bordo do instrumento (ver o “Manual de Referência”). O resultado deve ser interpretado em função do estado clínico e biológico do doente.

Verificar se os resultados obtidos para os controlos se situam dentro do intervalo indicado na bula incluída no kit. Se o aparelho indicar que os resultados obtidos para os controlos se situam fora dos intervalos indicados nas bulas destes controlos, verificar o funcionamento correcto de todo o sistema: condições operatórias, reagentes, plasmas a testar, etc. Se necessário, repetir as quantificações.

### 11/ LIMITAÇÕES DO MÉTODO

- Quando o ensaio do fibrinogénio se destina a ser realizado em amostras colhidas em doentes a receberem terapêutica trombolítica e sem a adição de uma mistura de anticoagulante contendo um inibidor de plasmina no tubo de colheita, os resultados do fibrinogénio podem ser subestimados.
- Foi demonstrado que os produtos de degradação da fibrina, a hirudina, as heparinas (HNF e HBPM), o dabigatran e o rivaroxaban não interferem com este ensaio até às concentrações de 120 µg/ml, 3 µg/ml, 2 U/ml, 500 ng/ml e 1,2 µg/ml respectivamente.

### 12/ INTERVALO DE REFERÊNCIA

O nível plasmático do fibrinogénio no adulto está geralmente compreendido entre 2 e 4 g/l (200-400 mg/dl) (2). No entanto, recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores normais. Durante a gravidez observa-se um aumento do nível de fibrinogénio (3, 6).

### 13/ CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

#### • Intervalo de linearidade - Intervalo de medição

Com uma diluição do plasma a testar a 1/20, o intervalo de linearidade nos STA-R®, STA Compact® e STA Satellite® varia entre 1,0 e 8,0 g/l. O âmbito de medição pode ser prolongado desde 0,4 g/l até 12,0 g/l na repetição automática do teste de plasma, à diluição apropriada (ver secção 9.4).

#### • Reprodutibilidade

Estudos de reprodutibilidade intra e inter ensaio foram realizados numa amostra normal e anormal. Os resultados obtidos no STA-R® estão indicados no quadro seguinte:

Amostra	Reprodutibilidade intra-ensaio		Reprodutibilidade inter-ensaio	
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4
n	21	21	10	10
$\bar{X}$ (g/l)	2,83	1,03	2,84	1,03
SD (g/l)	0,06	0,05	0,06	0,03
CV (%)	2,1	4,9	2,1	3,2

Reprodutibilidade intra-ensaio testada com 21 medições consecutivas. Reprodutibilidade inter-ensaio testada em 10 dias diferentes.

### 14/ PROTOCOLOS ALTERNATIVOS

Os capítulos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 11 e 12 acima são igualmente válidos para o teste em método semi-automático.

#### 14.1. Preparação e conservação do reagente

Quando conservado a 2-8 °C na embalagem de origem, o reagente mantém-se estável até ao prazo de validade indicado na embalagem. Antes de utilizar, deixar o reagente estabilizar durante 30 minutos à temperatura ambiente (18-25 °C). Em seguida, homogeneizar antes de utilizar (não adicionar o STA® - Reducer nem a cápsula operculada).

Este reagente contém a mistura 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-one / 2-metil-2H-isotiazol-3-one na proporção de 3:1. Na concentração fornecida (< 0,06 %), esta mistura é considerada como sensibilizante.

#### Atenção

Pode provocar uma reacção alérgica cutânea. Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes.

Uma vez aberto o reagente é estável 7 dias a 20 ± 5 °C ou 2 meses quando mantido a 2-8 °C no frasco original tapado após cada utilização.

#### Não congelar.

No caso de conservação a 2-8 °C, deixar o reagente estabilizar à temperatura ambiente (18-25 °C) durante 30 minutos antes de utilizar.

### 14.2. Reagentes e material auxiliares

- **STA® - Owren-Koller** (REF 00360).
- **Unicalibrator** (REF 00625).
- **Coag Control [N] + [P]** (REF 00621) ou **System Control [N] + [P]** (REF 00617): controlos normal e anormal.
- Instrumento do tipo ST art®.
- Equipamento habitualmente utilizado nos laboratórios de análises clínicas.

### 14.3. Plasmas a testar e controlos

Utilizar o STA® - Owren-Koller para preparar, em tubos de ensaio de plástico a diluição de 1/20 dos plasmas dos pacientes ou dos controlos.

### 14.4. Protocolo

Consultar a aplicação do equipamento.

### 14.5. Resultados

O resultado deve ser interpretado em função do estado clínico e biológico do doente.

Assegure-se de que os valores obtidos para os controlos estão dentro do intervalo indicado na bula com os valores do teste que é fornecida nas caixas de Coag Control [N] + [P] ou System Control [N] + [P]. Se estes resultados se situarem fora dos intervalos, verificar o funcionamento correcto do sistema: condições operatórias, reagentes, calibração, plasmas a testar, etc. Se necessário, repita o teste.

### 14.6. Características do método

#### • Intervalo de medição

De acordo com a taxa de calibração e as condições de funcionamento, quando o plasma é testado na diluição apropriada (consulte a aplicação do equipamento), o ensaio do STA® - Liquid Fib tem geralmente um intervalo de medição de 0,9 g/l - 12,0 g/l.

#### • Precisão

Os estudos de precisão foram realizados de acordo com a “guideline” CLSI EP05-A2 (4) utilizando amostras de controlo (20 dias, 2 séries por dia, diferentes operadores). Os resultados obtidos com STA® - Liquid Fib testado no ST art® foram os seguintes:

Amostra	Repetibilidade		Precisão intra-laboratorial	
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 1	Amostra 2
n	20	20	20	20
$\bar{X}$ (g/l)	2,50	1,08	2,50	1,08
SD (g/l)	0,04	0,02	0,12	0,04
CV (%)	1,72	1,60	4,73	3,77

### BIBLIOGRAFIA

1. CLAUSS A.: “Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogens”. Acta Haematol., 17, 237-246, 1957.
2. ANDREOTTI F., BURZOTTA F., MASERI A.: “Fibrinogen as a marker of inflammation: a clinical view”. Blood Coag. Fibrinolysis, 10, 3-4, 1999.
3. MACKIE I.J., KITCHEN S., MACHIN S.J., LOWE G.D.O.: “Guidelines on fibrinogen assays”. Br. J. Haematology, 121, 396-404, 2003.
4. CLSI Document EP05-A2: “Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline”. Second Edition, 24, 25, 2004.
5. MOSESSON M.W.: “Fibrinogen and fibrin structure and functions”. J. Thromb. Haemostasis, 3, 1894-1904, 2005.
6. HANTGAN R.R., LORD S.T.: “Fibrinogen structure and physiology” in “Hemostasis and Thrombosis - Basic principles and clinical practice”, Colman R.W., Clowes A.W., Goldhaber S.Z., Marder V.J., George J.N.: Lippincott Williams & Wilkins. Fifth Edition, 285-316, 2006.