



# Trombin (bovine) 100 NIH U/ml

Schválený FDA

Pro kvantitativní stanovení fibrinogenu v lidské plazmě soupravou Fibrinogen Kit (kat. číslo T955500 nebo T955550).

Katalogové číslo

**T955502**

10 x 2 ml

**T955555**

10 x 5 ml

## Shrnutí

Trombin představuje důležitý koagulační faktor, který mění fibrinogen na nerozpustný fibrin. Stanovení fibrinogenu se používá k diagnóze hemoragických onemocnění, která mají vztah k hladině fibrinogenu v plazmě.

## Princip

Pro stanovení hladiny fibrinogenu v plazmě je využito Claussovy metody měření koagulačního času (5). Ke koagulaci plazmy dochází v přítomnosti nadbytku trombinu (hovězí). Čas nutný ke vzniku koagula je nepřímo úměrný obsahu fibrinogenu.

## Činidla

Hovězí trombin 100 NIH U/ml

lyofilizát

## Příprava a stabilita činidla

Obsah lahvičky rozpustíte v předepsaném množství ultra čisté vody (T955502 ve 2 ml, T955555 v 5 ml). Při stanovení na koagulometru Coatron použijte k rozpuštění trombinu místo ultra čisté vody kaolinovou suspenzi. Za občasného promíchání nechejte stát při pokojové teplotě do úplného rozpuštění (15-20 minut). Po rozpuštění je činidlo stabilní 30 dní při 2-8°C, 10 dní při 15-25°C nebo 3 dny při 37°C. Před použitím vždy vytemperujte na laboratorní teplotu. Po skončení práce ihned uložte činidlo do ledničky.

## Odběr vzorku

Jako antikoagulant používejte pufrovaný citrát sodný (3,2% ~0,105 M)

1. Odeberte venózní krev čistým vpichem.
2. Ihned smíchejte 9 dílů krve s 1 dílem antikoagulantu, (Na-citrát) a důkladně promíchejte.
3. Centrifugujte 10 min při 1500rcf.
4. Do 60-ti minut stáhněte plazmu plastovou pipetou do plastové zkumavky.
5. Stanovení proveďte do 4 hodin, jinak je nutno plazmu zamrazit.

## Vybavení nutné k provedení testu

Souprava na kvantitativní stanovení fibrinogenu – kat. číslo T955500 nebo T955550.

1. manuální, mechanické nebo optické prostředky k detekci koagula
2. plastové zkumavky (12 x 75 mm)
3. pipety (1 a 5 ml)
4. pipety – 100, 200 µl
5. stopky

## Provedení testu

### A. Automatické provedení na přístroji Coatron A4

START= 3s	METHOD=COAG	POINTS=4	PIP2BUF=YES	Def. Plasma (DP) Vol = 0µl
INCUB= 60s	MATH= lin	MIX= NO	PATIENT (Pat) Vol = 10µl Pos = 35 (CP)	<b>R0 Vol = 0µl</b>
RUNTIME= 120s	CT-MECH= NO	CLEAN= NO	IBS (BUF) Vol = 90µl P39 Pos = 39	<b>R1</b> Vol = 0µl
UNIT=769	SENS=1	T-CORR =0%, 0s S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol = 0µl	Thrombin (R2) Vol = 50µl Pos = 29

### B. Manuální provedení Coatron M

#### 1. Připravte si ředění Standardů, kontrol a vzorků

Standard Dilution	Plasma	IBS Buffer
1:5	200µL Standard	800µL
1:10	500µL 1:5 STD	500µL
1:20	500µL 1:10 STD	500µL
1:40	500µL 1:20 STD	500µL
Patient or Control	100µL Plasma	900µL

1. 50 µl vzorku temperujte 2 minuty při 37°C.
2. Ke každému vzorku přidejte 25 µl hovězího trombinu. (Použitý trombin má laboratorní teplotu, vzorky 37°C).
3. Zaznamenejte čas nutný ke vzniku koagula.

Při použití jiného typu přístroje postupujte podle manuálu.

## Výsledek

Sestrojte kalibrační křivku vynesemím průměrné hodnoty duplicitního měření pro všechna ředění normální koagulační kontrolní plazmy proti odpovídající koncentraci fibrinogenu na logaritmický papír. Spočítejte průměrnou hodnotu duplicitního měření pro vzorky pacientů. Odečtěte odpovídající hodnotu -koncentrace fibrinogenu z kalibrační křivky. Odečtenou hodnotu vynásobte 10 a získáte výslednou hodnotu koncentrace fibrinogenu v plazmě pacienta.

## Kontrola kvality

Ke kontrole kvality použijte abnormální koagulační referenční plazmu. Všechna stanovení proveďte duplicitně. Hodnoty kontroly by měly být v rozmezí  $\pm 15\%$  udaných hodnot. Plazmu rekonstituujte a alikvotní podíly 120 – 150µl zamrazte na -20 °C v polypropylénových zkumavkách na 30 dní.

## Normální hodnoty

Normální hodnoty koncentrace fibrinogenu v plazmě se pohybují v rozmezí 180 – 450 mg/dl (popř. 1,5-3,5 g/l) <sup>4,5</sup>. Protože hodnoty závisí na metodě detekce koagula, doporučujeme každé laboratoři stanovit si vlastní normální rozmezí hodnot.

## Omezení, interference

### Odběr vzorku

1. Nepoužívejte sklo, odběr provádějte pouze do zkumavek z plastu nebo silikátového skla.
2. Ihned po odběru dobře promíchejte odebraný vzorek s antikoagulantem.
3. Nepoužívejte hemolytické nebo lipemické vzorky.
4. Zabraňte kontaminaci tkáňovým tromboplastinem.
5. Dodržujte poměr krve a antikoagulantu.

### Provedení testu

1. Dodržujte teplotu 37°C.
2. Používejte pouze ultra čistou vodu.
3. Optimální pH při stanovení je 7,0 – 7,5.

### Interferující látky

1. FDP – zvýšená hodnota fibrin-degradačních produktů (> 30 µg/ml. Může prodlužovat čas nutný ke vzniku koagula. Další ředění vzorku (např. 1/20) redukuje interferenci FDP.
2. Heparin – inhibitor trombinu (5U/ml v neředěném vzorku)

## Kalibrace

Všechny komerční normální koagulační kontrolní plazmy. Doporučujeme používat:  
T105100 10x1ml Normální koagulační kontrolní plazmu

## Upozornění

Plazma použitá k přípravě kontrol a kalibrátorů byla testována a shledána negativní na přítomnost protilátek proti HIV, HBsAg a HCV metodami doporučenými FDA. Přesto je nutno dodržovat veškerá pravidla a pokyny pro práci s potenciálně infekčním materiálem.

## Analytické parametry stanovení

<b>Precision:</b>	CV% (within run)	CV% (inter-runs)
Normal control	< 5.0	< 5.0
Abnormal control	< 5.0	< 10.0

(Typical performance on instrument Coatron M4)

## Odpadové hospodářství

Prázdný obal zneškodněte v rámci tříděného odpadu v souladu se zákonem o odpadech.

## Literatura

1. Clauss, A., Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur bestimmung des Fibrinogens. Acta Haematol., 1957, 17: 237-246.
2. Shaw, T.S., Assays for Fibrinogen and its Derivatives, CRC Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., 1977, 8: 145-192.
3. National Committee for the National Laboratory (NCCLS) Standards: Collection transport and preparation of blood specimens for coagulation testing and performance of coagulation assays. Document H21-A2, vol. 11, No. 23, 1991.
4. Scully, R.E. et al., Normal Reference Laboratory Values, N. Eng. J. Med., 1980, 302(37) : 37-48.
5. Okuno, T. and Selenko, V., Amer. J. Med. Tech., 1972, 38(6) : 196-201.

Bezpečnostní listy jsou k dispozici na vyžádání.  
Určeno pro "in vitro" diagnostické použití.



DIALAB Produktion und Vertrieb von chemisch – technischen  
Produkten und Laborinstrumenten Gesellschaft m.b.H.  
A – 2351 Wiener Neudorf, Austria  
IZ-NÖ Süd, Hondastrasse, Objekt M55  
Phone: ++43 (0) 2236 660910-0  
Fax: ++43 (0) 2236 660910-30 e-mail: [office@dialab.at](mailto:office@dialab.at)