



## LIAPHEN™ Fibrinogen

REF 120102

R 4 x 5 mL

Méthode immuno-turbidimétrique pour dosage du Fibrinogène,  
avec réactifs liquides prêts à l'emploi.

Français, dernière révision : 01-2021

### UTILISATION:

Le coffret LIAPHEN™ Fibrinogen est une méthode immuno-turbidimétrique pour la détermination quantitative *in vitro* de l'antigène fibrinogène (Fib:Ag) sur plasma humain citraté ou en milieu purifié en utilisant une méthode manuelle ou automatisée. L'ensemble des réactifs est sous forme liquide, prêt à l'emploi.

### RESUME ET EXPLICATION:

#### Technique :<sup>1-3</sup>

Le Fibrinogène est une glycoprotéine plasmatique soluble de 340 Kd synthétisée dans le foie, composée de 6 chaînes peptidiques, symétriques 2 à 2, et reliées par des ponts disulfures (2 chaînes A $\alpha$ , 2 B $\beta$  et 2 $\gamma$ ). Sous l'action de la thrombine, le fibrinogène est coagulé en fibrine, ensuite stabilisée par le Facteur XIII activé, en présence de calcium. La plasmine le dégrade en fragments X et Y d'abord, puis en fragments D et E.

#### Clinique :<sup>3-7</sup>

La concentration de Fibrinogène en plasma humain normal est habituellement de 2 à 4 g/L. Des taux élevés de Fibrinogène (> 4g/L) sont observés dans divers contextes cliniques associés à un état inflammatoire, et sont également considérés comme facteur de risque de pathologie cardiovasculaire ou thrombotique.

L'hypofibrinogénémie est principalement associée à des contextes de pathologie hépatique sévère, ou de consommation excessive du fibrinogène (CIVD, hyperfibrinolyse).

Des variants de fibrinogène ont été décrits, et associés à des cas asymptomatiques, ou à des cas de saignement et/ou thrombose.

### PRINCIPE:

Le coffret LIAPHEN™ Fibrinogen est une méthode immuno-turbidimétrique basée sur une réaction antigène-anticorps : l'antigène fibrinogène de l'échantillon réagit avec les particules de latex sensibilisées avec des anticorps polyclonaux de lapin anti-fibrinogène humain, conduisant à l'agglutination des particules de latex. Cette agglutination peut être directement détectée par un changement d'absorbance. Le changement d'absorbance est directement proportionnel à la quantité de fibrinogène dans l'échantillon.

### REACTIFS:

**R** Latex, sous forme liquide. Contient de la BSA et de faibles quantités d'azide de sodium (0,9 g/L).

4 flacons de 5 mL.

### MISE EN GARDE ET AVERTISSEMENTS:

- Certains réactifs de ce coffret contiennent des produits d'origine animale. Ces réactifs d'origine biologique doivent être manipulés avec les précautions d'usage s'agissant de produits potentiellement infectieux.
- L'azide de sodium peut générer des composants explosifs au contact des canalisations en plomb ou en cuivre.
- L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux réglementations locales en vigueur.
- Utiliser uniquement les réactifs d'un même lot de coffret.
- Les études de vieillissement montrent que les réactifs peuvent être expédiés à température ambiante sans aucun dommage.
- Ce dispositif de diagnostic *in vitro* est destiné à une utilisation professionnelle en laboratoire.

### PREPARATION DES REACTIFS:

**R** Réactif prêt à l'emploi, homogénéiser par inversion douce en évitant la formation de mousse et charger directement sur l'automate en suivant les instructions du guide d'application.

Pour la méthode manuelle, laisser stabiliser pendant 30 min à température ambiante (18-25°C), homogénéiser avant utilisation.

### STOCKAGE ET STABILITE:

Les réactifs non ouverts doivent être conservés à 2-8°C dans leur emballage d'origine. Ils sont alors utilisables jusqu'à la date de péremption imprimée sur le coffret.

**R** La stabilité du réactif après ouverture, sous réserve de toute contamination ou d'évaporation, conservé dans son flacon d'origine est de :

- 6 mois à 2-8°C.
- 7 jours à température ambiante (18-25°C).
- Ne pas congeler.
- Stabilité à bord de l'automate : se référer à l'application spécifique.

### REACTIFS ET MATERIELS REQUIS MAIS NON FOURNIS:

#### Réactifs:

- Eau distillée.
- Tampon de dilution : Imidazole Buffer (AR021B/AR021K/AR021L/AR021M/AR021N) ou Tampon Tris NaCl BSA (0.05M; 0.15M; 1%), pH 7,40 (TBSA). Le même tampon doit être utilisé pour tous les tests réalisés.
- Etalon et contrôles spécifiques avec titration de Fib:Ag connue tels que :

Nom du produit	Reference
BIOPHEN™ Plasma Calibrator	222101
BIOPHEN™ Normal Control Plasma	223201
BIOPHEN™ Abnormal Control Plasma	223301

Se référer également au guide d'application spécifique de l'automate utilisé.

#### Matériels:

- Spectrophotomètre, automates pour dosage immuno-turbidimétrique.
- Chronomètre, Pipettes calibrées, cuves de spectrophotomètre pour tests en plastique.

### PRELEVEMENTS ET PREPARATION DES ECHANTILLONS:

Le sang (9 volumes) doit être collecté sur l'anticoagulant citrate trisodique (1 volume) (0,109M, 3,2%) avec précautions, par ponction veineuse franche. Le premier tube doit être éliminé.

La préparation et la conservation des échantillons doivent être réalisées selon les recommandations locales en vigueur (pour les Etats-Unis, se référer aux recommandations du CLSI H21-A5<sup>8</sup> pour plus d'informations concernant le prélèvement, la manipulation et la conservation).

Pour la conservation des plasmas, se référer aux références<sup>8,9</sup>.

### PROCEDURE:

Le coffret peut être utilisé en méthode cinétique, automatisée, ou en méthode manuelle. Le test est réalisé à 37°C et la turbidimétrie est mesurée à 620nm (d'autres longueurs d'onde sont utilisables, de préférence entre 405 et 700 nm).

Pour une méthode automatisée, les guides d'applications sont disponibles sur demande. Se référer aux guides d'application et aux précautions spécifiques pour chaque automate.

#### Méthode de dosage:

1. Reconstituer la préparation de référence (dosage en milieu purifié) ou l'étalon plasmatique, et les contrôles plasmatiques, comme indiqué dans les notices spécifiques ou selon la pratique interne.

Pour un étalon ou une préparation de référence avec une concentration de Fib:Ag connue (C) en  $\mu\text{g/mL}$ , le taux de 20  $\mu\text{g/mL}$  est obtenu en utilisant le facteur de dilution suivant :  $D = C/20$  avec C en  $\mu\text{g/mL}$ . (Par exemple, pour un standard à 3000  $\mu\text{g/mL}$ , le facteur de dilution D sera  $D = 3000/20 = 150$ .) Préparer 3 mL de la dilution à 20  $\mu\text{g/mL}$  de Fib:Ag (C1) en tampon de dilution. Préparer la gamme d'étalonnage suivante par dilutions successives comme suit:

Standard	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Fib:Ag ( $\mu\text{g/mL}$ )	20	15	10	5	2.5	0
Volume de standard	1000 $\mu\text{L}$ de C1	750 $\mu\text{L}$ de C1	500 $\mu\text{L}$ de C1	250 $\mu\text{L}$ de C1	125 $\mu\text{L}$ de C1	0 $\mu\text{L}$
Volume de Tampon	0 $\mu\text{L}$	250 $\mu\text{L}$	500 $\mu\text{L}$	750 $\mu\text{L}$	875 $\mu\text{L}$	1000 $\mu\text{L}$

Pour la méthode manuelle, réaliser une courbe de calibration pour chaque série de mesures

2. Diluer les échantillons et contrôles en tampon de dilution comme décrit dans le tableau ci-dessous (méthode manuelle) :

Echantillons	Référence	Dilution
BIOPHEN™ Normal Control Plasma	223201	1/300
BIOPHEN™ Abnormal Control Plasma	223301	1/300
Echantillons (≈ 1 à 6 g/L)	n.a	1/300

Réaliser la gamme d'étalonnage et la tester avec les contrôles de qualité. Les échantillons dilués doivent être testés extemporanément, s'ils sont conservés à température ambiante (18-25°C). Les concentrations exactes des étalons et des contrôles sont indiquées pour chaque lot sur le papillon fourni avec le coffret.

### 3. Introduire dans une cuve plastique incubée à 37°C:

	Volume
Echantillon, contrôle ou étalon dilués.	100 µL
<b>R</b> Réactif Latex, Préincubé à 37°C et homogénéisé avant utilisation	400 µL
Mélanger et incubé à 37°C, pendant exactement 15 minutes puis immédiatement après:	
<b>Agiter et lire la densité optique à 620nm contre du tampon de dilution. Bien respecter la même durée d'incubation totale pour chaque échantillon.</b>	

Si un volume réactionnel différent de celui indiqué ci-dessus est requis pour la méthode utilisée, le rapport des volumes doit être strictement respecté afin de garantir les performances du dosage. L'utilisateur est responsable de la validation des modifications et de leur impact sur tous les résultats.

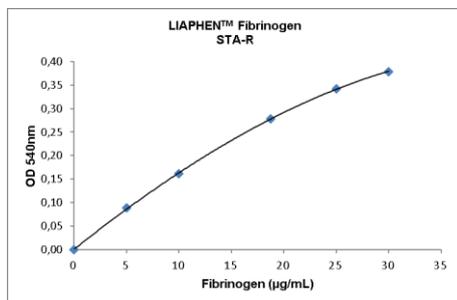
Pour des concentrations élevées (> 6 g/L), il est recommandé d'utiliser une dilution des échantillons au 1/1000 et pour les concentrations faibles (< 1 g/L), utiliser une dilution des échantillons au 1/100.

### CALIBRATION:

Le test LIAPHEN™ Fibrinogène peut être calibré pour le dosage du Fibrinogène (antigène). L'étalon plasmatique couvrant la zone calibration est disponible chez HYPHEN BioMed (Voir paragraphe REACTIFS ET MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNIS) et peut être utilisé pour générer la courbe de calibration.

- La zone de calibration est environ de 0 à 30 µg/mL (sur STA-R®).

La courbe de calibration ci-dessous est indiquée à titre d'exemple uniquement. La courbe de calibration générée pour la série de dosages doit être utilisée.



### CONTRÔLE QUALITE:

L'utilisation de contrôles de qualité permet de valider la conformité de la méthode ainsi que l'homogénéité des dosages entre les différents essais pour un même lot de réactifs.

Inclure des contrôles qualité dans chaque série, selon les bonnes pratiques de laboratoire, afin de valider le test. Une nouvelle courbe de calibration doit être établie, de préférence, pour chaque série d'essai, et au moins pour chaque nouveau lot de réactif ou après chaque maintenance de l'automate, ou quand les valeurs des contrôles de qualité sont mesurées en dehors de la zone d'acceptation définie pour la méthode.

Chaque laboratoire doit établir les zones d'acceptation et vérifier les performances attendues dans son système analytique.

### RESULTATS:

- Pour la méthode manuelle, en point final, tracer la droite de calibration, en portant en ordonnées la DO à 620 nm et en abscisses la concentration de Fib:Ag en µg/mL, en choisissant le mode d'interpolation le plus adapté. La concentration de Fib:Ag (µg/mL) dans l'échantillon à doser est déduite de la courbe de calibration, et multipliée par le facteur de dilution utilisé (300 à la dilution standard).
- Si d'autres dilutions sont utilisées le taux obtenu doit être multiplié par le facteur de dilution utilisé.
- Les résultats doivent être interprétés selon l'état clinique et biologique du patient.

### LIMITATIONS:

- Pour obtenir les performances optimales du test et répondre aux spécifications, suivre scrupuleusement les instructions techniques validées par HYPHEN BioMed.
- Tout réactif présentant un aspect inhabituel ou des signes de contamination doit être rejeté.
- Tout échantillon suspect ou présentant des signes d'activation doit être rejeté.
- La présence de facteur rhumatoïde est susceptible d'interférer dans le dosage en donnant une valeur anormalement élevée de fibrinogène.<sup>10</sup>
- Différents médicaments ou traitements peuvent affecter les résultats. Une investigation complémentaire devra être réalisée afin de déterminer l'origine de tout résultat anormal ou inattendu.
- Pour l'influence possible d'effet crochet, se reporter à l'application spécifique pour l'instrument utilisé (aucun effet significatif n'est observé pour des concentrations de fibrinogène jusqu'à 90 µg/mL dans la dilution du test).

### VALEURS ATTENDUES:

Le domaine de référence a été mesuré sur des sujets sains (n=56) sur STA-R® (Central 90%, 95th percentile) entre 1,94 et 4,17 g/L de fibrinogène.

Cependant, chaque laboratoire doit établir son propre intervalle normal.

### PERFORMANCES:

- La zone de mesure dépend du système analytique utilisé (environ de 1 à 30 µg/mL de Fib:Ag dans la dilution du test sur STA-R®-series, soit environ 0,2 à 6 g/L).
- Spécificité** : les sérums sont dosés en dessous de 0,2 g/L en moyenne.
- Les études de performances ont été réalisées en interne sur STA-R®-series. Les performances ont été évaluées avec les contrôles du laboratoire sur 5 jours et 2 séries par jour et 2 répétitions à chaque série pour un niveau de contrôle. Les résultats suivants ont été obtenus :

Contrôle	Intra-essai				Inter-essais			
	N	Moy.	CV%	SD	n	Moy.	CV%	SD
Niveau 3	20	5,04	3,8	0,19	20	5,04	7,7	0,39
Niveau 2	20	2,58	3,1	0,08	20	2,58	9,8	0,25
Niveau 1	20	1,31	3,4	0,04	20	1,31	9,8	0,13

- Corrélation avec une autre méthode (LIAPHEN™ Fibrinogène vs FIBRIPHEN™ sur STA-R®) :  
n = 70 y = 0,97x - 0,06 r = 0,977

- Interférences** : Aucune interférence, sur l'automate STA-R® n'a été observée avec les molécules et jusqu'aux concentrations suivantes :

Hémoglobine	200 mg/dL	Héparine (HNF/HBPM)	2/2 UI/mL
Bilirubine	20 mg/dL	Intralipides (équivalent Triglycérides)	2000 mg/dL

Se référer également au guide d'application spécifique de l'automate utilisé.

- Cross-réactivité** : Le LIAPHEN™ Fibrinogène réagit aussi avec le Fragment DD (DDimère), le Fragment D du fibrinogène, les produits de dégradation de la fibrine (PDFs), mais ne réagit pas avec le fragment E de la fibrine.

### REFERENCES:

- 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. Médecine/Sciences. 1986.
- VanDeWater L. et al. Analysis of elevated fibrin(ogen) 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.

### SYMBOLES:

Symboles utilisés et signes énumérés dans la norme ISO 15223-1, se référer au document Définition des symboles.

Changements par rapport à la précédente version.