

INTENDED PURPOSE

The Fibrinogen Assay Kit is intended for the quantitative determination of fibrinogen in human plasma.

Clauss' developed a simple method for the quantitative determination of fibrinogen by measuring the clotting time of dilute plasma after the addition of thrombin (>30 NIH units/ml). This clot time is proportional to the fibrinogen concentration. Levels of fibrinogen can increase as a result of inflammation, pregnancy or oral contraceptive use⁶. Decreased levels can be found in certain states such as liver disease and DIC. Congenital deficiencies include afibrinogenaemia (no detectable fibrinogen), hypofibrinogenaemia (<1 mg/ml) and dysfibrinogenaemia (abnormal fibrinogen molecule).

WARNINGS AND PRECAUTIONS

The reagents contained in this kit are for in-vitro diagnostic use only. **DO NOT INGEST.** Wear gloves when handling all kit components. Refer to the product safety data sheets for risk and safety phrases and disposal information. Plasma products have been screened and found negative (unless otherwise stated on the kit box or vial) for the presence of Hepatitis B Antigen (HbsAg) HIV 1 and 2 antibody and HCV antibody; however they should be handled with the same precautions as a human plasma sample.

COMPOSITION

- Thrombin Reagent (5 x 4ml)**
Contains approximately 200 units bovine thrombin with stabilisers.
Preparation: Reconstitute each vial with 4.0ml of purified water. Take care when pipetting to avoid contamination. Swirl gently and allow to stand for 15 minutes. Mix well before use. Do not shake.
- Fibrinogen Calibrator (2 x 1ml)**
Contains 1ml of lyophilised normal human plasma assayed for fibrinogen levels.
Preparation: Reconstitute each vial with exactly 1.0ml of purified water. Swirl gently and allow to stand for 10 minutes. Mix gently before use. Do not shake.
- Owren's Veronal Buffer (2 x 25ml)**
Contains 25ml of buffer which contains barbital and sodium chloride and sodium azide as preservative. The buffer is ready for use as packaged.
- Other kit components**
Each kit contains Instructions For Use and lot specific reference values insert.

STORAGE AND SHELF-LIFE

Unopened vials are stable until the given expiry date when stored under conditions indicated on the vial or kit label.

- Thrombin Reagent**
Once reconstituted, the reagent is stable for 8 hours at 15...30°C or 1 week at 2...6°C, AC-4 POS 29 @RT = 8hrs.
- Fibrinogen Calibrator**
Once reconstituted, the reagent is stable for 4 hours at 2...6°C.
- Owren's Veronal Buffer**
Store at 2...6°C once opened, AC-4 POS 39 @37°C = 8hrs.

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

Plastic or siliconised glass should be used throughout. Blood (9 parts) should be collected into 3,2% or 3,8% sodium citrate anticoagulant (1 part). Separate plasma after centrifugation at 2000 - 3000 x g for 15 minutes. Plasma should be kept at 2...6°C. Testing should be completed within 2 hours of sample collection, or plasma can be stored frozen at -20°C for 2 weeks or -70°C for one month. Thaw quickly at 37°C prior to testing. Do not keep at 37°C for more than 5 minutes.

STEP BY STEP PROCEDURE

Helena BioSciences Fibrinogen Assay reagents are suitable for use on any coagulation analyser capable of performing Clauss Fibrinogen assays. Refer to the Instrument Operators Manual and/or application note for appropriate instructions.

- A. Automated Methods, AC-4. (x400 samples)**
Refer to the appropriate AC-4 Operators Manual for detailed instructions. Prepare all reagents as instructed under 'composition'.

START =3s	METHOD =Coag	MIX=0	PATIENT (Pat) vol=10µL Pos=35 (CP)	Def. (DP) Vol=0µL	Plasma
INCUB =120s	MATH =logXY	CLEAN=Y	BUFFER (BUF) Vol=90µL Pos=39	R1 Vol=0µL	
RUNTIME =120s	SENS =0	U-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0µL	R2 Vol=50µL Pos=29	

QUALITY CONTROL

Each laboratory should establish a quality control program. Normal and abnormal control plasmas should be tested prior to each batch of patient samples, to ensure satisfactory instrument and operator performance. If controls do not perform as expected, patient results should be considered invalid.

- Helena BioSciences supply the following controls available for use with this product:
 REF 5301 Sac-1 Normal Control Plasma 10x1ml
 REF 5302 Sac-2 Abnormal Control Plasma 10x1ml
 REF 5186 Norm-Trol 1 Control Plasma 10x1ml
 REF 5187 Ab-Trol 2 Control Plasma 10x1ml
 REF 5183 Ab-Trol 3 Control Plasma 10x1ml

REFERENCE VALUES

Reference values can vary between laboratories depending on the techniques and systems in use. For this reason each laboratory should establish it's own normal range. Expected values for fibrinogen in healthy adults are 150-350 mg/dl (1.5-3.5g/L)3,4.

LIMITATIONS

Heparin levels >0.6 units/ml and fibrinolytic degradation products >100mg/ml may cause falsely low fibrinogen quantitation. If values fall outside the standard curve values for the patient samples, re-assay using an appropriate dilution to bring values into the standard range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Helena BioSciences or their representatives have determined the following performance characteristics as a guideline. Each laboratory should establish it's own performance data. The Fibrinogen assay is designed to give a linear calibration from 1.5 - 6.5g/L.

REPRODUCIBILITY:

Within assay reproducibility:		
Fibrinogen (g/L)	CV	n
1.24	4.88	5
3.01	3.58	5

Between assay reproducibility:		
Fibrinogen (g/L)	CV	n
1.02	6.17	10
3.62	3.78	10

BIBLIOGRAPHY

- Clauss, A., 'Gerinnungsphysiologische Schnell-methode zur bestimmung des Fibrinogens' Acta Haematol., 1957, 17 : 237-246.
- Shaw, T. S., 'Assays for Fibrinogen and its Derivatives' CRC Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., 1977, 8 : 145-192.
- Scully, R.E. et al., 'Normal Reference Laboratory Values', N. Eng. J. Med., 1980, 302(37) : 37-48.
- Okuno, T. and Selenko, V., Amer. J. Med. Tech., 1972, 38(6) : 196-201.

UTILISATION

Le kit de dosage du fibrinogène est utilisé pour la détermination quantitative du fibrinogène dans le plasma humain.

Clauss' a développé une méthode simple de détermination quantitative du fibrinogène en mesurant le temps de coagulation de plasma dilué après l'ajout de thrombine (>30 unités NIH/ml). Ce temps de coagulation est proportionnel à la concentration en fibrinogène. Le taux de fibrinogène peut augmenter en raison d'une inflammation, d'une grossesse ou de la prise de contraceptifs oraux⁶. Des taux diminués sont trouvés dans certaines pathologies comme une maladie du foie ou une CIVD. L'afibrinogénémie (pas de fibrinogène détectable), l'hypofibrinogénémie (<1mg/ml) et la dysfibrinogénémie (molécule de fibrinogène anormale) sont des anomalies congénitales.

PRÉCAUTIONS

Les réactifs du kit sont à usage diagnostic in-vitro uniquement. **NE PAS INGÉRER.** Porter des gants pour la manipulation de tous les composants. Se reporter aux fiches de sécurité des composants du kit pour la manipulation et l'élimination. Un dépistage des produits à base de plasma a été réalisé et a donné un résultat négatif (sauf indication contraire sur la boîte du kit ou sur le flacon) pour les antigènes de l'hépatite B (AgHBs), les anticorps anti VIH 1 et 2 et les anticorps anti VHC; il est malgré tout nécessaire de les manipuler avec les mêmes précautions que pour les échantillons de plasma humain.

COMPOSITION

- Réactif Thrombine (5 x 4ml)**
Chaque flacon contient environ 200 unités de thrombine bovine additionnée de stabilisateurs.
Préparation: Reconstituer chaque flacon avec 4,0ml d'eau distillée. Faire attention lors du pipetage pour éviter toute contamination. Agiter doucement et laisser reposer 15 minutes. Bien mélanger avant utilisation. Ne pas agiter.
- Étalon Fibrinogène (2 x 1ml)**
Chaque flacon contient 1ml de plasma humain normal lyophilisé dosé pour les taux de fibrinogène.
Préparation: Reconstituer chaque flacon avec exactement 1,0ml d'eau distillée. Agiter doucement et laisser reposer 10 minutes. Mélanger doucement avant utilisation. Ne pas agiter.
- Tampon Véronal de Owren (2 x 25ml)**
Chaque flacon contient 25ml de tampon contenant du barbital et du chlorure de sodium additionné d'azide de sodium comme conservateur. Le tampon est prêt à l'emploi.
- Autres composants du kit**
Chaque kit contient une fiche technique et les valeurs de référence spécifiques du lot.

STOCKAGE ET CONSERVATION

Les flacons non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée s'ils sont conservés dans les conditions indiquées sur l'étiquette du kit ou du flacon.

- Réactif Thrombine**
Une fois reconstitué, le réactif est stable 8 heures à température ambiante ou 1 semaine entre 2...6°C, AC-4 POS 29 @RT = 8hrs.
- Étalon Fibrinogène**
Une fois reconstitué, le réactif est stable 4 heures entre 2...6°C.
- Tampon Véronal de Owren**
Conserver entre 2...6°C une fois ouvert, AC-4 POS 39 @37°C = 8hrs.

PRÉLÈVEMENTS DES ÉCHANTILLONS

Utiliser tout au long du prélèvement du plastique ou du verre siliconé. Mélanger 9 volumes de sang et 1 volume de citrate de sodium à 3,2% ou 3,8%. Séparer le plasma après centrifugation à 2000 - 3000 x g pendant 15 minutes. Conserver le plasma entre 2...6°C. L'analyse doit être terminée dans les 2 heures suivant le prélèvement de l'échantillon; sinon, il est possible de congeler le plasma 2 semaines à -20°C ou un mois à -70°C. Décongeler rapidement à 37°C avant de réaliser l'analyse. Ne pas laisser à 37°C plus de 5 minutes.

MÉTHODOLOGIE

Les réactifs de dosage du fibrinogène sont appropriés pour être utilisé avec un analyseur de la coagulation pouvant réaliser le dosage du fibrinogène de Clauss. Se référer au manuel d'utilisation de l'instrument et/ou aux notes d'application pour avoir des instructions appropriées.

- A. Méthodes automatisées, AC-4. (x400 échantillons)**
Se conformer au manuel d'utilisation de AC-4 correspondant pour avoir des instructions détaillées. Préparer tous les réactifs en suivant les indications du paragraphe Composition

START =3s	METHOD =Coag	MIX=0	PATIENT (Pat) vol=10µL Pos=35 (CP)	Def. (DP) Vol=0µL	Plasma
INCUB =120s	MATH =logXY	CLEAN=Y	BUFFER (BUF) Vol=90µL Pos=39	R1 Vol=0µL	
RUNTIME =120s	SENS =0	U-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0µL	R2 Vol=50µL Pos=29	

CONTRÔLE QUALITÉ

Chaque laboratoire doit établir un programme de contrôle qualité. Les plasmas de contrôle, normaux et anormaux, doivent être testés avant chaque lot d'échantillons patients afin de s'assurer que l'instrument et l'opérateur offrent des performances satisfaisantes. Si les contrôles ne donnent pas les résultats prévus, les résultats du patient doivent être considérés comme non valables.

- Helena BioSciences distribue les contrôles suivants à utiliser avec ce produit:
 REF 5301 Plasma de contrôle normal SAS-1 10 x 1ml
 REF 5302 Plasma de contrôle anormal SAS-2 10 x 1ml
 REF 5186 Plasma de contrôle Norm-Trol 1 10 x ml
 REF 5187 Plasma de contrôle Ab-Trol 2 10 x 1 ml
 REF 5183 Plasma de contrôle Ab-Trol 3 10 x 1ml

VALEURS DE RÉFÉRENCE

Les valeurs de référence peuvent varier d'un laboratoire à l'autre suivant les techniques et les systèmes utilisés. C'est pour cette raison qu'il appartient à chaque laboratoire de déterminer sa propre plage normale. Le taux prévu de fibrinogène chez un adulte sain est de 150-350 mg/dl (1,5-3,5 g/l)3,4.

LIMITES

Des taux d'héparine >0,6 unités/ml et de produits de dégradation fibrinolytique >100mg/ml peuvent donner une quantification du fibrinogène erronément basse. Si les valeurs de l'échantillon patient se situent hors des valeurs de la courbe d'étalonnage, réaliser à nouveau l'analyse en utilisant la dilution appropriée pour les amener dans la plage de l'étalon.

PERFORMANCES

Helena BioSciences ou ses représentants ont déterminé à titre indicatif les performances suivantes. Chaque laboratoire doit établir ses propres données de performance. Le dosage du fibrinogène est conçu pour donner un étalonnage linéaire sur la page 1,5 – 6,5g/l.

REPRODUCTIBILITÉ:

Reproductibilité intra-analyse:		
Fibrinogène (g/l)	CV	n
1,24	4,88	5
3,01	3,58	5

Reproductibilité inter-analyse :		
Fibrinogène (g/l)	CV	n
1,02	6,17	10
3,62	3,78	10

BIBLIOGRAPHIE

- Clauss, A., 'Gerinnungsphysiologische Schnell-methode zur Bestimmung des Fibrinogens' Acta Haematol., 1957, 17 : 237-246.
- Shaw, T. S., 'Assays for Fibrinogen and its Derivatives' CRC Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., 1977, 8 : 145-192.
- Scully, R. E. et al., 'Normal Reference Laboratory Values', N. Eng. J. Med., 1980, 302(37) : 37-48.
- Okuno, T. et Selenko, V., Amer. J. Med. Tech., 1972, 38(6) : 196-201.

ANWENDUNGSBEREICH

Das Fibrinogen Test-Kit dient der quantitativen Bestimmung von Fibrinogen im Humanplasma.

Clauss' entwickelte zur quantitativen Bestimmung von Fibrinogen eine einfache Methode, bei der die Gerinnungszeit von verdünntem Plasma nach Zugabe von Thrombin gemessen wird (>30 NIH Einheiten/ml). Diese Gerinnungszeit ist der Fibrinogen-Konzentration direkt proportional. Das Fibrinogen kann durch Entzündung, Schwangerschaft oder Einnahme von oralen Verhütungsmitteln erhöht sein⁶. Vermindert wird es durch Lebererkrankung und Verbrauchskoagulopathie. Angeborene Mängelzustände sind insbesondere Afibrinogenämie (kein nachweisbares Fibrinogen), Hypofibrinogenämie (<1mg/ml) und Dysfibrinogenämie (abnormales Fibrinogenmolekül).

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Die Reagenzien dieses Kits sind nur zur in-vitro Diagnostik bestimmt. **NICHT EINNEHMEN.** Beim Umgang mit den Kit-Komponenten ist das Tragen von Handschuhen erforderlich. Siehe die Sicherheitsdatenblätter mit Gefahrenhinweisen und Sicherheitsvorschlügen sowie Informationen zur Entsorgung. Die Plasmaprodukte sind mit negativem Befund auf Hepatitis B Antigen (HBsAg), HIV-1 und HIV-2 Antikörper und HCV-Antikörper getestet worden (wenn nicht auf Kit-Verpackung oder Fläschchen anders bezeichnet). Sie sollten trotzdem mit derselben Vorsicht wie humane Plasmaproben behandelt werden.

INHALT

- Thrombin-Reagenz (5 x 4ml)**
Jedes Fläschchen enthält ca. 200 Einheiten Rinder-Thrombin mit Stabilisatoren.
Vorbereitung: Jedes Fläschchen mit 4,0ml destilliertem Wasser rekonstituieren. Kontamination beim Pipettieren vermeiden. Leicht schwenken und 15 Minuten stehen lassen. Vor Gebrauch gut mischen. Nicht schütteln.
- Fibrinogen-Kalibrator (2 x 1ml)**
Jedes Fläschchen enthält 1ml lyophilisiertes normales Humanplasma mit bekanntem Fibrinogen-Gehalt.
Vorbereitung: Jedes Fläschchen mit genau 1,0ml destilliertem Wasser rekonstituieren. Leicht schwenken und 10 Minuten stehen lassen. Vor Gebrauch leicht mischen. Nicht schütteln.
- Owrens Veronal-Puffer (2 x 25ml)**
Jede Flasche enthält 25ml Puffer aus Barbital- und Natriumchlorid mit Natriumazid als Konservierungsmittel. Der Puffer ist gebrauchsfertig verpackt.
- Weitere Kit-Komponenten**
Jedes Kit enthält eine Gebrauchsanweisung mit den chargenspezifischen Referenzwerten.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Ungeöffnete Fläschchen sind unter den auf Verpackung oder Fläschchen angegebenen Lagerbedingungen bis zum aufgedruckten Verfallsdatum stabil.

- Thrombin-Reagenz**
Nach Rekonstitution ist das Reagenz 8 Stunden bei Raumtemperatur oder 1 Woche bei 2...6°C stabil, AC-4 POS 29 @RT = 8hrs.
- Fibrinogen-Kalibrator**
Rekonstituiert ist das Reagenz bei einer Temperatur von 2...6°C für 4 Stunden stabil.
- Owrens Veronal-Puffer**
Nach dem Öffnen bei 2...6°C lagern, AC-4 POS 39 @37°C = 8hrs.

PROBENENTNAHME UND VORBEREITUNG

Nur Plastik oder Siilkonglas verwenden. Blut (9 Teile) sollte in 3,2% oder 3,8% Natriumcitrat als Antikoagulant (1 Teil) entnommen werden. 15 Minuten bei 2000 - 3000 g zentrifugieren und Plasma abpipettieren. Plasma bei 2...6°C lagern. Plasma sollte innerhalb von 2 Stunden verarbeitet werden oder kann tief gefroren bei -20°C 2 Wochen oder -70°C einen Monat gelagert werden. Vor dem Testen schnell bei 37°C auftauen. Nicht länger als 5 Minuten bei 37°C stehen lassen.

SCHRITT-FÜR-SCHRITT METHODE

Die Helena BioSciences Fibrinogen Test-Reagenzien können mit jedem Gerinnungsanalyser verwendet werden, auf dem man Fibrinogen-Bestimmungen nach Clauss durchführen kann. Zur Bedienung siehe Bedienungsanleitung des Geräts und/oder Anwenderhinweise.

- A. Automatisierte Methoden, AC-4. (x400 Proben)**
Siehe Bedienungsanleitung des verwendeten Geräts für eine genaue Anleitung. Alle Reagenzien wie unter „Inhalt“ beschrieben vorbereiten.

START =3s	METHOD =Coag	MIX=0	PATIENT (Pat) vol=10µL Pos=35 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=0µL
INCUB =120s	MATH =logXY	CLEAN=Y	BUFFER (BUF) Vol=90µL Pos=39	R1 Vol=0µL
RUNTIME =120s	SENS =0	U-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0µL	R2 Vol=50µL Pos=29

QUALITÄTSKONTROLLE

Jedes Labor muss für eine eigene Qualitätskontrolle sorgen. Vor jeder Testreihe mit Patientenproben müssen normale und pathologische Kontrollplasmen getestet werden, um eine zufrieden stellende Geräteleistung und Bedienung zu gewährleisten. Liegen die Kontrollen außerhalb des Normbereichs, sind die Patientenergebnisse nicht zu verwenden.

- In Verbindung mit diesem Produkt bietet Helena BioSciences die folgenden Kontrollen an:
 REF 5301 Sac-1 Normales Kontroll-Plasma 10x1ml
 REF 5302 Sac-2 Abnormales Kontroll-Plasma 10x1ml
 REF 5186 Norm-Trol 1 Kontroll-Plasma 10x1ml
 REF 5187 Ab-Trol 2 Kontroll-Plasma 10x1ml
 REF 5183 Ab-Trol 3 Kontroll-Plasma 10x1ml

REFERENZWERTE

Referenzwerte können je nach Technik und verwendetem System von Labor zu Labor unterschiedlich sein. Aus diesem Grund sollte jedes Labor seinen eigenen Normalwertbereich erstellen. Fibrinogen-Normalwerte bei gesunden Erwachsenen sind 150-350mg/dl (1,5-3,5 g/l)3,4.

EINSCHRÄNKUNGEN

Heparinwerte >0,6 Einheiten/ml und Fibrinolyse-Abbauprodukte >100mg/ml können falsch niedrige Fibrinogen-Mengen ergeben. Liegen bei Patientenproben die Werte außerhalb der Standardkurve, die Proben erneut mit verdünntem Plasma testen, um die Werte in den Bereich der Standardkurve zu bringen.

LEISTUNGSEIGENSCHAFTEN

Die folgenden Leistungseigenschaften wurden von Helena BioSciences oder in ihrem Auftrag als Richtlinien ermittelt: Jede Labor muss seine eigenen Werte ermitteln. Der Fibrinogen-Test ist so konzipiert, dass sich eine lineare Kalibration von 1,5 – 6,5g/l ergibt.

REPRODUZIERBARKEIT:

Reproduzierbarkeit innerhalb des Tests:		
Fibrinogen (g/l)	VK	n
1.24	4.88	5
3.01	3.58	5

Reproduzierbarkeit zwischen den Tests:		
Fibrinogen (g/l)	VK	n
1.02	6.17	10
3.62	3.78	10

LITERATUR

- Clauss, A., 'Gerinnungsphysiologische Schnell-methode zur Bestimmung des Fibrinogens' Acta Haematol., 1957, 17 : 237-246.
- Shaw, T. S., 'Assays for Fibrinogen and its Derivatives' CRC Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., 1977, 8 : 145-192.
- Scully, R. E. et al., 'Normal Reference Laboratory Values', N. Eng. J. Med., 1980, 302(37) : 37-48.
- Okuno, T. et Selenko, V., Amer. J. Med. Tech., 1972, 38(6) : 196-201.

PRINCIPIO

Il kit di dosaggio del fibrinogeno è stato formulato per la determinazione quantitativa del fibrinogeno in plasma umano.

Clauss[®] ha messo a punto un semplice metodo per la determinazione quantitativa del fibrinogeno misurando il tempo di coagulazione del plasma diluito in seguito all'aggiunta di trombina (>30 NIH unità/ml). Questo tempo di coagulazione è proporzionale alla concentrazione di fibrinogeno. I livelli di fibrinogeno possono aumentare in seguito ad infiammazione, gravidanza o impiego di contraccettivi orali[®]. Livelli ridotti di fibrinogeno sono riscontrabili in alcuni stati, come ad esempio le patologie epatiche e la DIC. Tra le carenze congenite rientrano l'afibrinogenemia (assenza di fibrinogeno rilevabile), l'ipofibrinogenemia (<1 mg/ml) e la disfibrinogenemia (molecola di fibrinogeno anomala).

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

I reagenti contenuti in questo kit sono destinati esclusivamente alla diagnostica in vitro - **NON INGERRIRE**. Indossare guanti protettivi durante l'uso dei componenti del kit. Fare riferimento alle istruzioni del prodotto per avvertenze su rischi e sicurezza ed informazioni sullo smaltimento dei componenti.

I prodotti plasmatici sono stati esaminati dando esito negativo (salvo diversamente indicato sulla confezione del kit o sul flacone) relativamente alla presenza dell'antigene dell'epatite B (HbsAg), dell'anticorpo anti-HIV 1 e 2 e dell'anticorpo anti-HCV; questi prodotti devono tuttavia essere manipolati con le stesse misure precauzionali adottate per un campione di plasma umano.

COMPOSIZIONE

1. Reagente a base di trombina (5 x 4ml)

Ogni flacone contiene approssimativamente 200 unità di trombina bovina con stabilizzatori.

Preparazione: Ricostituire ogni flacone con 4,0ml di acqua distillata. Durante il pipettaggio, prestare attenzione ad evitare la contaminazione. Agitare delicatamente e lasciare riposare per 15 minuti. Miscelare accuratamente prima dell'uso. Non scuotere.

2. Calibratore per fibrinogeno (2 x 1ml)

Ogni flacone contiene 1ml di plasma umano normale liofilizzato dosato per i livelli di fibrinogeno.

Preparazione: Ricostituire ogni flacone con esattamente 1,0ml di acqua distillata. Agitare delicatamente e lasciare riposare per 10 minuti. Miscelare delicatamente prima dell'uso. Non scuotere.

3. Tampone Veronal di Owren (2 x 25ml)

Ogni flacone contiene 25ml di tampone contenente barbital e sodio cloruro con sodio azide come conservante. Il tampone è pronto all'uso così come viene fornito.

4. Altri componenti del kit

Ogni kit contiene un foglio procedurale e un inserto recante i valori di riferimento specifici per il lotto.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

I flaconi non aperti sono stabili fino alla data di scadenza indicata se conservati nelle condizioni riportate sul flacone o sull'etichetta del kit.

1. Reagente a base di trombina

Dopo la ricostituzione, il reagente è stabile per 8 ore a temperatura ambiente o per 1 settimana a 2...6°C, AC-4 POS 29 @RT = 8hrs.

2. Calibratore per fibrinogeno

Dopo la ricostituzione, il reagente è stabile per 4 ore a 2...6°C.

3. Tampone Veronal di Owren

Una volta aperto, conservare a 2...6°C, AC-4 POS 39 @37°C = 8hrs.

RACCOLTA DEI CAMPIONI E PREPARAZIONE

Nel corso dell'intera procedura è necessario utilizzare plastica o vetro silicizzato. Il sangue (9 parti) deve essere raccolto in sodio citrato al 3,2% o al 3,8% come anticoagulante (1 parte). Separare il plasma in seguito a centrifugazione a 2000 - 3000 x g per 15 minuti. Il plasma deve essere conservato a 2...6°C. I test devono essere completati entro 2 ore dalla raccolta dei campioni; in alternativa, il plasma può essere conservato congelato a -20°C per 2 settimane o a -70°C per 1 mese. Decongelare rapidamente a 37°C prima di eseguire il test. Non conservare a 37°C per oltre 5 minuti.

PROCEDURA

I reagenti di dosaggio del fibrinogeno Helena BioSciences sono idonei all'uso in qualsiasi analizzatore di coagulazione in grado di eseguire i dosaggi del fibrinogeno di Clauss. Fare riferimento al manuale utente dello strumento e/o alla nota applicativa per conoscere le istruzioni specifiche.

A. Metodi automatici, AC4. (x400 campioni)

Fare riferimento al manuale utente dello AC-4 appropriato per conoscere le istruzioni dettagliate.

Preparare tutti i reagenti secondo le istruzioni riportate nel paragrafo COMPOSIZIONE.

START =3s	METHOD =Coag	MIX=0	PATIENT (Pat) vol=10µL Pos=35 (CP)	Def. (DP) Vol=0µL	Plasma
INCUB =120s	MATH =logXY	CLEAN=Y	BUFFER (BUF) Vol=90µL Pos=39	R1 Vol=0µL	
RUNTIME =120s	SENS =0	U-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0µL	R2 Vol=50µL Pos=29	

CONTROLLO QUALITÀ

Ogni laboratorio deve definire un programma di controllo qualità. I plasmidi di controllo normali e anormali devono essere testati prima di ogni lotto di campioni di pazienti, per garantire un livello prestazionale soddisfacente sia per quanto riguarda lo strumento che per l'operatore. Qualora i controlli non funzionassero come previsto, i risultati relativi ai pazienti dovranno essere considerati non validi.

Helena BioSciences mette a disposizione i seguenti controlli utilizzabili con questo prodotto:

REF 5301	Sac-1	Plasma di controllo normale	10x1ml
REF 5302	Sac-2	Plasma di controllo anormale	10x1ml
REF 5186	Norm-Trol 1	Plasma di controllo	10x1ml
REF 5187	Ab-Trol 2	Plasma di controllo	10x1ml
REF 5183	Ab-Trol 3	Plasma di controllo	10x1ml

VALORI DI RIFERIMENTO

I valori di riferimento possono variare da un laboratorio all'altro in funzione delle tecniche e dei sistemi in uso. Per tale motivo ciascun laboratorio dovrà elaborare un proprio range normale. Nei soggetti adulti sani i valori previsti per il fibrinogeno sono di 150-350 mg/dl (1,5-3,5 g/L)3,4.

LIMITAZIONI

I livelli di eparina >0,6 unità/ml e i prodotti fibrinolitici di degradazione >100mg/ml possono causare una quantificazione del fibrinogeno falsamente bassa. Se i valori fuoriescono dai valori della curva standard per i campioni dei pazienti, ripetere il dosaggio utilizzando una diluizione appropriata per portare i valori all'interno del range standard.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Le caratteristiche prestazionali sotto riportate sono state determinate da Helena BioSciences o dai propri rappresentanti a titolo di linee guida. Ciascun laboratorio dovrà pertanto elaborare i propri dati prestazionali.

Il dosaggio del fibrinogeno è stato studiato per fornire una calibrazione lineare compresa tra 1,5 e 6,5g/L.

RIPRODUCIBILITÀ:

Riproducibilità entro il dosaggio:		
Fibrinogeno (g/L)	CV	n
1.24	4.88	5
3.01	3.58	5
Riproducibilità tra i dosaggi:		
Fibrinogeno (g/L)	CV	n
1.02	6.17	10
3.62	3.78	10

BIBLIOGRAFIA

- Clauss, A., 'Gerinnungsphysiologische Schnell-methode zur bestimmung des Fibrinogens' Acta Haematol., 1957, 17 : 237-246.
- Shaw, T.S., 'Assays for Fibrinogen and its Derivatives' CRC Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., 1977, 8 : 145-192.
- Scully, R.E. et al., 'Normal Reference Laboratory Values', N. Eng. J. Med., 1980, 302(37) : 37-48.
- Okuno, T. and Selenko, V., Amer. J. Med. Tech., 1972, 38(6) : 196-201.

USO PREVISTO

El Kit de valoración del fibrinógeno está previsto para la determinación cuantitativa del fibrinógeno en el plasma humano.

Clauss[®] desarrolló un método simple para la determinación cuantitativa de fibrinógeno midiendo el tiempo de coagulación del plasma diluido después de la adición de trombina (>30 unidades NIH/ml). Este tiempo de coagulación es proporcional a la concentración de fibrinógeno. Los niveles de fibrinógeno pueden aumentar como consecuencia de inflamación, embarazo o uso de anticonceptivos orales[®]. Pueden encontrarse niveles disminuidos en determinados estados como la hepatopatía y la CID. Entre las deficiencias congénitas están la afibrinogenemia (sin fibrinógeno detectable), la hipofibrinogenemia (<1mg/ml) y la disfibrinogenemia (molécula de fibrinógeno anormal).

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Los reactivos contenidos en este kit son sólo para uso diagnóstico – **NO SE DEBEN INGERRIR**. Usar guantes para manejar todos los componentes del kit. Consultar la hoja con los datos de seguridad del producto acerca de los riesgos, avisos de seguridad y consejos para su eliminación. Los productos plasmáticos se han sometido a pruebas y han resultado negativos (a menos que se indique otra cosa en la caja del kit o en el vial) para la presencia de antígeno de la hepatitis B (HbsAg), anticuerpos de VIH 1 y 2 y anticuerpo del VHC; sin embargo, deben manipularse con las mismas precauciones que una muestra de plasma humano.

COMPOSICIÓN

1. Reactivo de trombina (5 x 4ml)

Cada vial contiene aproximadamente 200 unidades de trombina bovina con estabilizadores.

Preparación: Reconstituir cada vial con 4,0ml de agua destilada. Tener cuidado al pipetear para evitar la contaminación. Agitar suavemente y permitir que repose durante 15 minutos. Mezclar bien antes de usar. No agitar.

2. Calibrador del fibrinógeno (2 x 1ml)

Cada vial contiene 1ml de plasma humano normal liofilizado estudiado en cuanto a niveles de fibrinógeno.

Preparación: Reconstituir cada vial con exactamente 1,0ml de agua destilada. Agitar suavemente y permitir que repose durante 10 minutos. Mezclar suavemente antes de su uso. No agitar.

3. Tampón Veronal de Owren (2 x 25ml)

Cada frasco contiene 25ml de tampón con barbital y cloruro sódico con azida sódica como conservante. El tampón viene envasado listo para usar.

4. Otros componentes del kit

Cada kit contiene instrucciones de uso y valores de referencia específicos insertados del lote.

ALMACENAMIENTO Y PERÍODO DE VALIDEZ

Los viales no abiertos son estables hasta la fecha de caducidad indicada cuando se conservan en las condiciones indicadas en el vial o en la etiqueta del kit.

1. Reactivo de trombina

El reactivo reconstituido permanece estable durante 8 horas a temperatura ambiente o 1 semana a 2...6 °C, AC-4 POS 29 @RT = 8hrs

2. Calibrador del fibrinógeno

Una vez reconstituido, el reactivo permanece estable durante 4 horas a 2...6°C.

3. Tampón Veronal de Owren

Conservar a 2...6°C una vez abierto, AC-4 POS 39 @37°C = 8hrs.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Deben usarse siempre plástico o vidrio silicizado.

Debe recogerse sangre (9 partes) en el anticoagulante citrato sódico al 3,2% o al 3,8% (1 parte). Se separa el plasma después de la centrifugación a 2000 - 3000 x g durante 15 minutos.

El plasma debe conservarse a 2...6°C. Las pruebas deberían terminarse en 2 horas desde la recogida de las muestras o el plasma puede conservarse congelado a -20°C durante 2 semanas o -70°C durante un mes. Descongelar rápidamente a 37°C antes de realizar la prueba. No conservar a 37°C durante más de 5 minutos.

PROCEDIMIENTO PASO A PASO

Los reactivos de la valoración del fibrinógeno de Helena BioSciences son adecuados para usarse en cualquier analizador de coagulación capaz de realizar valoraciones del fibrinógeno de Clauss. Consúltese el Manual del Operador del Instrumento y/o la nota de aplicación para instrucciones adecuadas.

A. Métodos automatizados, AC-4. (x400 muestras)

Consúltese el Manual del Operador del AC-4 adecuado para instrucciones detalladas. Preparar todos los reactivos como se indica en "composición"..

START =3s	METHOD =Coag	MIX=0	PATIENT (Pat) vol=10µL Pos=35 (CP)	Def. (DP) Vol=0µL	Plasma
INCUB =120s	MATH =logXY	CLEAN=Y	BUFFER (BUF) Vol=90µL Pos=39	R1 Vol=0µL	
RUNTIME =120s	SENS =0	U-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0µL	R2 Vol=50µL Pos=29	

CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe establecer un programa de control de calidad. Los controles normales y anormales deben estudiarse antes de cada lote de muestras del paciente, para asegurar un funcionamiento adecuado del instrumento y el operador. Si los controles no se realizan como se esperaba, los resultados del paciente deben considerarse inválidos.

Helena BioSciences suministra los siguientes controles disponibles para usar con este producto:

REF 5301	Plasma control normal Sac-1	10x1 ml
REF 5302	Plasma control anormal Sac-2	10x1 ml
REF 5186	Plasma control Norm-Trol 1	10x1 ml
REF 5187	Plasma control Ab-Trol 2	10x1 ml
REF 5183	Plasma control Ab-Trol 3	10x1 ml

VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia pueden variar entre los laboratorios dependiendo de las técnicas y sistemas usados. Por esta razón, cada laboratorio debe establecer su propio intervalo normal.

Los valores esperados para el fibrinógeno en adultos sanos son de 150-350 mg/dl (1,5-3,5 g/L)3,4.

LIMITACIONES

Los niveles de heparina >0,6 unidades/ml y los productos de degradación fibrinolíticos >100mg/ml pueden producir una cuantificación falsamente baja del fibrinógeno. Si los valores caen fuera de los valores de la curva estándar para las muestras de pacientes, vuelva a realizar la valoración usando una dilución adecuada para llevar los valores al intervalo estándar.

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

Helena BioSciences o sus representantes han determinado las siguientes características de rendimiento como directriz.

Cada laboratorio debe establecer sus propios datos de rendimiento. La valoración del fibrinógeno está diseñada para dar una calibración lineal de 1,5 a 6,5g/L.

REPRODUCTIBILIDAD:

Reproducibilidad dentro de cada ensayo:		
Fibrinógeno (g/l)	CV	n
1.24	4.88	5
3.01	3.58	5
Reproducibilidad entre distintos ensayos:		
Fibrinógeno (g/l)	CV	n
1.02	6.17	10
3.62	3.78	10

BIBLIOGRAFÍA

- Clauss, A., 'Gerinnungsphysiologische Schnell-methode zur Bestimmung des Fibrinogens' Acta Haematol., 1957, 17 : 237-246.
- Shaw, T.S., 'Assays for Fibrinogen and its Derivatives' CRC Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., 1977, 8 : 145-192.
- Scully, R.E. et al., 'Normal Reference Laboratory Values', N. Eng. J. Med., 1980, 302(37) : 37-48.
- Okuno, T. and Selenko, V., Amer. J. Med. Tech., 1972, 38(6) : 196-201.

Fibrinogen Assay Kit

Instructions for use

REF 5556

Kit de dosage du fibrinogène

Fiche technique

Fibrinogen Assay Kit

Anleitung

Kit di dosaggio del fibrinogeno

Istruzioni per l'uso

Kit de valoración del fibrinógeno

Instrucciones de uso

Helena Biosciences Europe

Queensway South

Team Valley Trading Estate

Gateshead

Tyne and Wear

NE11 0SD

Tel. +44 (0)191 482 8440

Fax +44 (0)191 482 8442

Email info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

HL-2-1771P 2009/05 (5)