

Clauss Fibrinogen 100



REF 5376
REF 5376H



Helena Biosciences Europe, Queensway South, Team Valley Trading Estate, Gateshead, Tyne and Wear, NE11 OSD, United Kingdom
Tel: +44 (0)191 482 8440
Fax: +44 (0)191 482 8442
Email: info@helena-biosciences.com
Web: www.helena-biosciences.com

HL-2-0592P 2016/01 (11)

Clauss Fibrinogen 100 Instructions for use

INTENDED PURPOSE

The Clauss Fibrinogen 100 kit is intended for carrying out clot based haemostasis assays.

Clauss¹ 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 use². 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). Clauss Fibrinogen 100 is intended for the quantitative determination of fibrinogen in human plasma.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

The reagents contained in this kit are for *in vitro* diagnostic use only – DO NOT INGEST. Wear appropriate personal protective equipment when handling all kit components. Refer to the product safety declaration for the link to appropriate hazard and precautionary statements where applicable. Dispose of components in accordance with local regulations.

Blood 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 antibody HIV 2 antibody
- HCV antibody

However they should be handled with the same precautions as a human patient sample.

COMPOSITION

Component	Content	Description	Preparation
Thrombin: 100 NIH/mL	5 x 2 mL (REF 5376) 5 x 1 mL (REF 5376H)	Contains approximately 200 (REF 5376) / 100 (REF 5376H) units bovine thrombin with stabilisers.	Reconstitute each vial with: 2 mL (REF 5376) 1 mL (REF 5376H) of purified water or kaolin suspension depending on manual or instrument specific methodology. Take care when pipetting to avoid contamination. Swirl gently and allow to stand for 15 minutes. Mix well immediately before use. Do not shake.
Fibrinogen Calibrator	2 x 1 mL (REF 5376) 1 x 1 mL (REF 5376H)	Contains 1 mL of lyophilised normal human plasma assayed for fibrinogen levels.	Reconstitute each vial with exactly 1 mL of purified water. Swirl gently and allow to stand for 10 minutes. Mix gently before use. Do not shake.
Owren's Buffer	2 x 25 mL (REF 5376) 1 x 25 mL (REF 5376H)	Contains 25 mL of buffer which contains barbital and sodium chloride and sodium azide as preservative.	The buffer is ready for use as packaged.
Kaolin Suspension: 0.5 g/L	2 x 5 mL (REF 5376) 1 x 5 mL (REF 5376H)	Contains 5 mL of kaolin suspension at 0.5 g/L.	Mix vigorously immediately before use. Ensure no sedimentation is visible.

Each kit contains instructions for use.

Each kit contains lot specific reference values insert.

ITEMS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Helena Biosciences Europe fibrinogen assay reagents are suitable for use on any coagulation analyser capable of performing Clauss Fibrinogen assays (not for use with the AC-4, C-1, C-2, C-4). Refer to the Instrument Operators' Manual and/or application note for appropriate instructions.

The reagents contained in this kit are also available as separate items:

REF 5374	Clauss Fibrinogen (Thrombin only)
REF 5378	Clauss Fibrinogen (Thrombin only)
REF 5379	Fibrinogen Calibrator
REF 5375	Owren's Buffer
REF 53765	Kaolin Suspension

STORAGE, SHELF-LIFE AND STABILITY

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

Thrombin: 100 NIH/mL	Once reconstituted, the reagent is stable for 8 hours at *15 –*30°C, 1 week at *2 –*8°C or 1 month at -20°C.
Fibrinogen Calibrator	Once reconstituted, the reagent is stable for 4 hours at *2 –*8°C.
Owren's Buffer	Store at *2 –*8°C once opened.
Kaolin Suspension	Store at *2 –*8°C once opened.

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 1500 x g for 15 minutes. Plasma should be kept at *2 –*8°C or *18 –*24°C. Testing should be completed within 4 hours of sample collection, or plasma can be stored frozen at -20°C for 2 weeks or -70°C for 6 months. Thaw quickly at *37°C prior to testing. Do not keep at *37°C for more than 5 minutes³.

PROCEDURE

Manual Method

Prepare all reagents as instructed under "composition".

- Standard Curve Preparation:
 - A new standard curve should be used when reagent lot numbers change or if expected values in quality control testing change. Prepare the following dilutions in Owren's Buffer (mix without shaking):

Tube	Dilution	Fibrinogen Calibrator (mL)	Buffer (mL)
1	1 + 4	0.2	0.8
2	1 + 9	0.1	0.9
3	1 + 19	0.1	1.9
4	1 + 29	0.1	2.9
5	1 + 39	0.1	3.9

- Patient Sample Preparation:
 - Prepare 1+9 dilutions of the patient plasma or control plasma in Owren's Buffer.
 - Mix without shaking.
- Testing:
 - Perform all tests in duplicate:
 - Pipette 0.2 mL of standard, patient or control dilution into a reaction tube and incubate at *37°C for 2 minutes.
 - Add 0.1 mL of thrombin (*15 –*30°C).
 - Determine the clot time to the nearest 0.1 seconds.
 - Plot mean Standard Clot Time (Y-axis) versus Fibrinogen Level (X-axis) on the Fibrinogen graph paper. A straight line should be obtained. Assign the Fibrinogen Calibrator reference value to the 1+9 dilution to allow direct interpolation of patient and control values from the standard curve.

Automated Method

Refer to the appropriate instrument Operator Manual for detailed instructions or contact Helena Biosciences Europe for instrument specific application guides.

INTERPRETATION OF RESULTS

Expected values for fibrinogen in healthy adults are 150-350 mg/dL (1.5-3.5 g/L)^{4,5}.

LIMITATIONS

Heparin levels >0.6 units/mL and fibrinolytic degradation products >100 mg/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.

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 Europe supply the following controls available for use with this product:

REF 5301	Speciality Assayed Control N
REF 5302	Speciality Assayed Control A
REF 5186	Routine Control N
REF 5187	Routine Control A
REF 5183	Routine Control SA

REFERENCE VALUES

Reference values can vary between laboratories depending on the techniques and systems in use. For this reason each laboratory should establish its own normal range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Helena Biosciences Europe or their representatives have determined the following performance characteristics as a guideline. Each laboratory should establish its own performance data. The manual Clauss Fibrinogen is designed to give a linear calibration from 1.5 - 6.5 g/L.

Reproducibility			Inter-assay precision		
Intra-assay precision			Inter-assay precision		
<i>Fibrinogen (g/L)</i>	<i>n</i>	<i>CV (%)</i>	<i>Fibrinogen (g/L)</i>	<i>n</i>	<i>CV (%)</i>
1.24	5	4.88	1.02	10	6.17
3.01	5	3.58	3.62	10	3.75

BIBLIOGRAPHY

- Clauss A (1957) Gerinnungsphysiologische Schnell-methode zur bestimmung des Fibrinogens, *Acta Haematol*, **17**:237-246
- Shaw TS (1977) Assays for Fibrinogen and its Derivatives CRC, *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* **8**:145-192.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI: H21-A5
- Scully RE et al. (1980) Normal Reference Laboratory Values, *New England Journal Medicine*, **302**(37):37-48.
- Okuno T, Selenko V (1972) Plasma fibrinogen determination by automated thrombin time, *American Journal of Medical Technology*, **38**(6):196-201

Clauss Fibrinogen 100 Fiche technique

UTILISATION

Le kit Clauss Fibrinogen 100 est destiné à la réalisation des analyses de l'hémostase basées sur la formation de caillots.

Clauss¹ a développé une méthode simple de détermination quantitative du fibrinogène en mesurant le temps de coagulation de plasma dilué après l'ajout de Thrombin (>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 oraux². Des taux diminués sont trouvés dans certaines pathologies comme une maladie du foie ou une CIVD. L'afibrinogénémie (pas de fibrinogène détectable), l'hypofibrinogénémie (<1 mg/mL) et la dysfibrinogénémie (molécule de fibrinogène anormale) sont des anomalies congénitales. Le kit de Fibrinogène Clauss 100 est utilisé pour la détermination quantitative du fibrinogène dans le plasma humain.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Les réactifs du kit sont à usage diagnostique *in vitro* uniquement – NE PAS INGÉRER. Porter un équipement de protection individuelle approprié lors de la manipulation de tous les composants du kit. Consulter la fiche de données de sécurité du produit pour obtenir le lien vers les phrases de risque et les conseils de prudence le cas échéant. Éliminer les composants conformément aux églémentations locales.

Un dépistage des produits sanguins a été réalisé et a donné un résultat négatif (sauf indication contraire sur la boîte du kit ou sur le flacon) quant à la présence de :

- Antigène de l'hépatite B (AghBs)
- Anticorps anti-VIH 1
- Anticorps anti-VIH 2
- Anticorps anti-VHC

Cependant, ils doivent être manipulés avec les mêmes précautions que celles prises pour les échantillons patients humains.

COMPOSITION

Composant	Contient	Description	Préparation
Thrombin: 100 NIH/mL	5 x 2 mL (REF 5376) 5 x 1 mL (REF 5376H)	Chaque flacon contient environ 200 (REF 5376) / 100 (REF 5376H) unités de Thrombin bovine additionnée de stabilisateurs.	Reconstituer chaque flacon avec: 2 mL (REF 5376) 1 mL (REF 5376H) d'eau distillée ou de Kaolin Suspension en fonction de la méthode utilisée: manuelle ou spécifique de l'instrument. Faire attention lors du pipetage pour éviter toute contamination. Remuer doucement et laisser reposer 15 minutes. Bien mélanger juste avant utilisation. Ne pas agiter.
Fibrinogen Calibrator	2 x 1 mL (REF 5376) 1 x 1 mL (REF 5376H)	Chaque flacon contient 1 mL de plasma humain normal lyophilisé dosé pour les taux de fibrinogène.	Reconstituer chaque flacon avec exactement 1,0 mL d'eau distillée. Remuer doucement et laisser reposer 10 minutes. Mélanger doucement avant utilisation. Ne pas agiter.
Owren's Buffer	2 x 25 mL (REF 5376) 1 x 25 mL (REF 5376H)	Chaque flacon contient 25 mL de tampon contenant du barbital et du chlorure de sodium additionné d'azide de sodium comme conservateur.	Le tampon est prêt à l'emploi.
Kaolin Suspension: 0.5 g/L	2 x 5 mL (REF 5376) 1 x 5 mL (REF 5376H)	Contient 5 mL de Kaolin Suspension à 0,5 g/L.	Mélanger vigoureusement juste avant utilisation. S'assurer qu'il n'y a pas de sédimentation visible.

Chaque kit contient une fiche technique.

Chaque kit contient valeurs de référence spécifiques du lot.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE NON FOURNI

Les Helena Biosciences Europe réactifs de dosage du fibrinogène sont appropriés pour être utilisé avec un analyseur de la coagulation pouvant réaliser le dosage du fibrinogène de Clauss (ne doit pas être utilisé avec l'AC-4, C-1, C-2, C-4). Se référer au manuel d'utilisation de l'instrument et/ou aux notes d'application pour avoir des instructions appropriées.

Les réactifs du kit sont aussi disponibles séparément:

REF 5374	Clauss Fibrinogen (Thrombin only)
REF 5378	Clauss Fibrinogen (Thrombin only)
REF 5379	Fibrinogen Calibrator
REF 5375	Owren's Buffer
REF 53765	Kaolin Suspension

CONSERVATION, DURÉE DE VIE UTILE ET STABILITÉ

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.

Thrombin: 100 NIH/mL	Une fois reconstitué, le réactif est stable 8 heures à température ambiante, 1 semaine entre *2 –*8°C ou 1 mois à -20°C.
Fibrinogen Calibrator	Une fois reconstitué, le réactif est stable 4 heures entre *2 –*8°C.
Owren's Buffer	Conservé entre *2 –*8°C une fois ouvert.
Kaolin Suspension	Conservé entre *2 –*8°C une fois ouvert.

PRÉLEVEMENT ET PRÉPARATION 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 1500 x g pendant 15 minutes. Conserver le plasma entre *2 –*8°C ou *18 –*24°C. L'analyse doit être terminée dans les 4 heures suivant le prélèvement de l'échantillon; sinon, il est possible de congeler le plasma 2 semaines à -20°C ou 6 mois à -70°C. Décongeler rapidement à *37°C avant de réaliser l'analyse. Ne pas laisser à *37°C plus de 5 minutes³.

PROCÉDURE

Méthode Manuelle

Préparer tous les réactifs en suivant les indications du paragraphe "Composition".

- Préparation de la courbe d'étalonnage:
 - Il faut utiliser une nouvelle courbe d'étalonnage lorsque vous utilisez un nouveau numéro de lot de réactif ou si les valeurs prévues dans le contrôle qualité changent. Préparer les dilutions suivantes du Owren's Buffer (Mélanger sans agiter):

Tube	Dilution	Étalon Fibrinogène (mL)	Tampon (mL)
1	1 + 4	0.2	0.8
2	1 + 9	0.1	0.9
3	1 + 19	0.1	1.9
4	1 + 29	0.1	2.9
5	1 + 39	0.1	3.9

- Préparation de l'échantillon patient:
 - Préparer des dilutions 1+9 du plasma du patient ou du plasma de contrôle avec du Owren's Buffer.
 - Mélanger sans agiter.
- Analyse:
 - Réaliser toutes les analyses en double:
 - Pipeter 0,2 mL de dilution étalon, patient ou contrôle dans un tube à essai et incubé à *37°C pendant 2 minutes.
 - Ajouter 0,1 mL de Thrombin (*15 –*30°C).
 - Déterminer le temps de coagulation en arrondissant au dixième de seconde.
 - Tracer une courbe avec le temps moyen de coagulation de l'étalon (en ordonnée) et le taux de fibrinogène (en abscisse) sur le papier millimétré du fibrinogène. Vous devez obtenir une ligne droite. Assigner la valeur de référence de l'Fibrinogen Calibrator à la dilution 1+9 afin de réaliser une interpolation directe des valeurs patient et contrôle à partir de la courbe d'étalonnage.

Méthodes Automatisées

Consulter le manuel d'utilisation de l'instrument approprié pour obtenir des instructions détaillées ou contacter Helena Biosciences Europe pour obtenir des notes d'application spécifiques à l'instrument.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Le taux prévu de fibrinogène chez un adulte sain est de 150–350 mg/dL (1,5–3,5 g/L)^{4,5}.

LIMITES

Des taux d'héparine >0,6 unités/mL et de produits de dégradation fibrinolytique >100 mg/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.

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 Europe distribue les contrôles suivants à utiliser avec ce produit:

REF 5301	Speciality Assayed Control N
REF 5302	Speciality Assayed Control A
REF 5186	Routine Control N
REF 5187	Routine Control A
REF 5183	Routine Control SA

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.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

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

Reproductibilité			Précision inter-séries		
Précision intra-série			Précision inter-séries		
<i>Fibrinogène (g/L)</i>	<i>n</i>	<i>CV (%)</i>	<i>Fibrinogène (g/L)</i>	<i>n</i>	<i>CV (%)</i>
1.24	5	4.88	1.02	10	6.17
3.01	5	3.58	3.62	10	3.75

BIBLIOGRAPHIE

- Clauss A (1957) Gerinnungsphysiologische Schnell-methode zur bestimmung des Fibrinogens, *Acta Haematol*, **17**:237-246
- Shaw TS (1977) Assays for Fibrinogen and its Derivatives CRC, *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* **8**:145-192.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI: H21-A5
- Scully RE et al. (1980) Normal Reference Laboratory Values, *New England Journal Medicine*, **302**(37):37-48.
- Okuno T, Selenko V (1972) Plasma fibrinogen determination by automated thrombin time, *American Journal of Medical Technology*, **38**(6):196-201

Clauss Fibrinogen 100 Anleitung

VERWENDUNGSZWECK

Das Clauss Fibrinogen 100-Kit ist für koagulometrische Gerinnungstests vorgesehen.

Clauss¹ 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 sein². Vermindert wird es durch Lebererkrankung und Verbrauchskoagulopathie. Angeborene Mängelzustände sind insbesondere Afibrinogenämie (kein nachweisbares Fibrinogen), Hypofibrinogenämie (<1mg/mL) und Dysfibrinogenämie (abnormales Fibrinogenmolekül). Das Clauss Fibrinogen 100 dient der quantitativen Bestimmung von Fibrinogen im Humanplasma.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Die in diesem Kit enthaltenen Reagenzien sind ausschließlich für die Verwendung von *in-vitro*-Diagnosen vorgesehen. NICHT VERSCHLÜCKEN. Tragen Sie beim Umgang mit sämtlichen Komponenten des Kits geeignete Schutzausrüstung. Beachten Sie gegebenenfalls die Verweise auf entsprechende Gefahren- und Vorbeugeklärungen in der Produktsicherheitsklärung. Entsorgen Sie die Komponenten gemäß den örtlichen Vorschriften.

Die Blutprodukte wurden untersucht und sind für folgende Gene ohne Befund (soweit nicht anderweitig auf der Verpackung oder den Ampullen angegeben):

- Hepatitis-B-Antikörper (HbsAg)
- HIV-Antikörper 1
- HIV-Antikörper 2
- HCV-Antikörper

Sie sind jedoch mit den gleichen Vorkehrungen zu behandeln wie Proben von menschlichen Patienten.

ZUSAMMENSETZUNG

Komponente	Inhalt	Beschreibung	Vorbereitung
Thrombin: 100 NIH/mL	5 x 2 mL (REF 5376) 5 x 1 mL (REF 5376H)	Jedes Fläschchen enthält ca. 200 (REF 5376) / 100 (REF 5376H) Einheiten Fibrinogen-Thrombin mit Stabilisatoren.	Jedes Fläschchen mit: 2 mL (REF 5376) 1 mL (REF 5376H) destilliertes Wasser oder Kaolinsuspension, je nach manueller oder gerätespezifischer Methode, rekonstituieren. Kontamination beim Pipetieren vermeiden. Leicht schwenken und 15 Minuten stehen lassen. Vor Gebrauch gut mischen. Nicht schütteln.
Fibrinogen Calibrator	2 x 1 mL (REF 5376) 1 x 1 mL (REF 5376H)	Jedes Fläschchen enthält 1 mL lyophilisiertes normales Humanplasma mit bekanntem Fibrinogen-Gehal.	Jedes Fläschchen mit genau 1,0 mL destilliertem Wasser rekonstituieren. Leicht schwenken und 10 Minuten stehen lassen. Vor Gebrauch leicht mischen. Nicht schütteln.
Owren's Buffer	2 x 25 mL (REF 5376) 1 x 25 mL (REF 5376H)	Jede Flasche enthält 25 mL Puffer aus Barbital- und Natriumchlorid mit Natriumazid als Konservierungsmittel.	Der Puffer ist gebrauchsfertig verpackt.
Kaolin Suspension: 0.5 g/L	2 x 5 mL (REF 5376) 1 x 5 mL (REF 5376H)	Enthält 5 mL Kaolinsuspension bei 0,5 g/L.	Unmittelbar vor Gebrauch kräftig mischen. Darauf achten, dass keine Sedimentation zu sehen ist.

Jedes Kit enthält eine Gebrauchsanweisung.

Jedes Kit enthält chargenspezifischen Referenzwerten.

ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTER ARTIKEL

Die Helena Biosciences Europe Fibrinogen Test-Reagenzien können mit jedem Gerinnungsanalyser verwendet werden, auf dem man Fibrinogen-Bestimmungen nach Clauss durchführen kann (nicht zum Gebrauch mit dem AC-4, C-1, C-2, C-4). Zur Bedienung siehe Bedienungsanleitung des Geräts und/oder Anwenderhinweise.

Die Re

Clauss Fibrinogen 100

Istruzioni per l'uso

SCOPO PREVISTO

Il kit Clauss Fibrinogen 100 è concepito per l'esecuzione di dosaggi di emostasi basati sulla presenza di coaguli.

Clauss¹ 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 Trombin (>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 orali². 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 disfibrinogenia (molecola di fibrinogeno anomala). Il kit di Fibrinogen Clauss 100 è stato formulato per la determinazione quantitativa del fibrinogeno in plasma umano.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

I reagenti contenuti in questo kit sono destinati esclusivamente alla diagnostica *in vitro* - NON INGERIRE. Indossare un'adeguata attrezzatura protettiva personale durante la manipolazione di tutti i componenti del kit. Per conoscere i relativi simboli precauzionali e di pericolo, laddove pertinente, fare riferimento alla dichiarazione di sicurezza del prodotto. Sminuire i componenti conformemente alle normative locali vigenti.

I prodotti ematici sono stati sottoposti a screening e trovati negativi (salvo diversa indicazione sulla confezione del kit o sulla fiata) per la presenza di:

Antigene dell'epatite B (HbsAg)

Anticorpo HIV 1

Anticorpo HIV 2

Anticorpo HCV

Questi prodotti devono tuttavia essere manipolati con le stesse misure precauzionali adottate per un campione paziente umano.

COMPOSIZIONE

Componente	Contiene	Descrizione	Preparazione
Trombin: 100 NIH/mL	5 x 2 mL (REF 5376) <p>5 x 1 mL (REF 5376H)</p>	Ogni flacone contiene approssimativamente 200 (REF 5376) / 100 (REF 5376H) unità di Trombin bovina con stabilizzatori.	Ricostituire ogni flacone con: <p>2 mL (REF 5376) <p>1 mL (REF 5376H) di acqua distillate o Kaolin Suspension a seconda della metodologia specifica del manuale o dello strumento. Durante il pipettaggio, prestare attenzione ad evitare la contaminazione. Agitare delicatamente e lasciare riposare per 15 minuti. Miscelare bene immediatamente prima dell'uso. Non scuotere.</p></p>
Fibrinogen Calibrator	2 x 1 mL (REF 5376) <p>1 x 1 mL (REF 5376H)</p>	Ogni flacone contiene 1 mL di plasma umano normale liofilizzato dosato per i livelli di fibrinogeno.	Ricostituire ogni flacone con esattamente 1,0 mL di acqua distillata. Agitare delicatamente e lasciare riposare per 10 minuti. Miscelare delicatamente prima dell'uso. Non scuotere.
Owren's Buffer	2 x 25 mL (REF 5376) <p>1 x 25 mL (REF 5376H)</p>	Ogni flacone contiene 25 mL di tampone contenente barbital e sodio cloruro con sodio azide come conservante.	Il tampone è pronto all'uso così come viene fornito.
Kaolin Suspension: 0.5 g/L	2 x 5 mL (REF 5376) <p>1 x 5 mL (REF 5376H)</p>	Contiene 5 mL di sospensione di caolino a 0,5 g/L.	Miscelare energicamente immediatamente prima dell'uso. Assicurarsi che non vi siano sedimenti visibili.

Ogni kit contiene un Istruzioni per l'uso.

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

MATERIALI NECESSARI, MA NON IN DOTAZIONE

I reagenti di dosaggio del fibrinogeno Helena Biosciences Europe sono idonei all'uso in qualsiasi analizzatore di coagulazione in grado di eseguire i dosaggi del fibrinogeno di Clauss (da non utilizzare con AC-4, C-1, C-2, C-4). Fare riferimento al manuale utente dello strumento e/o alla nota applicativa per conoscere le istruzioni specifiche.

Ireagenti contenuti in questo kit sono disponibili anche come materiale separato:

REF 5374	Clauss Fibrinogen (Thrombin only)
REF 5378	Clauss Fibrinogen (Thrombin only)
REF 5379	Fibrinogen Calibrator
REF 5375	Owren's Buffer
REF 53765	Kaolin Suspension

CONSERVAZIONE, VITA UTILE 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.

Trombin: 100 NIH/mL	Dopo la ricostituzione, il reagente è stabile per 8 ore a temperatura ambiente, 1 settimana a *2 –8°C o per 1 mesi a -20°C.
Fibrinogen Calibrator	Dopo la ricostituzione, il reagente è stabile per 4 ore a *2 –8°C.
Owren's Buffer	Conservare a *2 –8°C dopo l'apertura.
Kaolin Suspension	Conservare a *2 –8°C dopo l'apertura.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

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 1500 x g per 15 minuti. Il plasma deve essere conservato a *2 –8°C o *18 –24°C. I test devono essere completati entro 4 ore dalla raccolta dei campioni, in alternativa, il plasma può essere conservato congelato a -20°C per 2 settimane o a -70°C per 6 mesi. Decongelare rapidamente a *37°C prima di eseguire i test. Non conservare a *37°C per oltre 5 minuti³.

PROCEDURA

Metodo Manuale

Preparare tutti i reagenti secondo le istruzioni riportate nel paragrafo "Composizione".

- Preparazione della curva standard:
 - Quando i numeri di lotto dei reagenti cambiano o se i valori previsti per i test del controllo qualità variano, è necessario utilizzare una nuova curva standard. Preparare le seguenti diluizioni nel Owren's Buffer (Miscelare senza scuotere):

Provetta	Diluizione	Calibratore per fibrinogeno (mL)	Tampone (mL)
1	1 + 4	0,2	0,8
2	1 + 9	0,1	0,9
3	1 + 19	0,1	1,9
4	1 + 29	0,1	2,9
5	1 + 39	0,1	3,9

- Preparazione dei campioni dei pazienti:
 - Preparare 1+9 diluizioni di plasma del paziente o di plasma di controllo nel Owren's Buffer.
 - Miscelare senza scuotere.
- Esecuzione del test:
 - Eseguire tutti i test per 2 volte:
 - Pipettare 0,2 mL di diluizione standard, del paziente o di controllo in una provetta di reazione ed incubare a *37°C per 2 minuti.
 - Aggiungere 0,1 mL di Trombin (*15 –30°C).
 - Determinare il tempo di coagulazione con un'approssimazione a 0,1 secondi.
 - Tracciare il tempo di coagulazione standard medio (sull'asse Y) rispetto al livello di fibrinogeno (sull'asse X) sulla carta diagrammata del fibrinogeno. Si dovrà ottenere una linea retta. Assegnare il valore di riferimento del Fibrinogen Calibrator alla diluizione 1+9, per consentire l'interpolazione diretta dei valori del paziente e di controllo dalla curva standard.

Metodo Automatico

Fare riferimento al manuale utente dello strumento appropriato per istruzioni dettagliate oppure contattare Helena Biosciences Europe per le note applicative specifiche dello strumento.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Nei soggetti adulti sani i valori previsti per il fibrinogeno sono di 150-350 mg/dL (1,5-3,5 g/L)^{4,5}.

LIMITAZIONI

I livelli di eparina >0,6 unità/mL e i prodotti fibrinolitici di degradazione >100 mg/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.

CONTROLLO QUALITÀ

Ogni laboratorio deve definire un programma di controllo qualità. I plasm 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 Europe mette a disposizione i seguenti controlli utilizzzabili con questo prodotto:

REF 5301	Speciality Assayed Control N
REF 5302	Speciality Assayed Control A
REF 5186	Routine Control N
REF 5187	Routine Control A
REF 5183	Routine Control SA

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.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Le caratteristiche prestazionali sotto riportate sono state determinate da Helena Biosciences Europe o dai propri rappresentanti a titolo di linee guida. Ciascun laboratorio dovrà pertanto elaborare i propri dati prestazionali. Il dosaggio fibrinogeno manuale è concepito per offrire una calibrazione lineare da 1,5-6,5 g/L.

Riproducibilità					
Precisione intra-dosaggio	Precisione tra i dosaggi				
Fibrinogeno (g/L)	n	CV (%)	Fibrinogeno (g/L)	n	CV (%)
1.24	5	4.88	1.02	10	6.17
3.01	5	3.58	3.62	10	3.75

BIBLIOGRAFIA

- Clauss A (1957) Gerinnungsphysiologische Schnell-methode zur bestimmung des Fibrinogens, *Acta Haematol*, **17**:237-246
- Shaw TS (1977) Assays for Fibrinogen and its Derivatives CRC, *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* **8**:145-192.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI: H21-A5
- Scully RE *et al.* (1980) Normal Reference Laboratory Values, *New England Journal Medicine*, **302**(37):37-48.
- Okuno T, Selenko V (1972) Plasma fibrinogen determination by automated thrombin time, *American Journal of Medical Technology*, **38**(6):196-201

Clauss Fibrinogen 100

Instrucciones de uso

USO PREVISTO

El uso previsto del kit Clauss Fibrinogen 100 es realizar ensayos de hemostasia basados en la coagulación.

Clauss¹ desarrolló un método simple para la determinación cuantitativa de fibrinógeno midiendo el tiempo de coagulación del plasma diluido después de la adición de Trombin (>30 unidades NIH/mL). Este tiempo de coagulacón es proporcional a la concentración de fibrinógeno. Los niveles de fibrinógeno pueden aumentar como consecuencia de inflamación, embarazo o uso de anticonceptivos orales². Pueden encontrarse niveles disminuidos en determinados estados como la hepatopatía y la CID. Entre las deficiencias congénitas están la afibrinogenemia (sin fibrinógeno detectable), la hipofibrinogenia (<1 mg/mL) y la disfibrinogenia (molecula de fibrinógeno anormal). El Kit de Fibrinogeno de Clauss 100 está previsto para la determinación cuantitativa del fibrinógeno en el plasma humano.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Los reactivos que contiene este kit son sólo para uso de diagnóstico *in vitro*: NO INGERIR. Lleve el equipo de protección personal adecuado cuando utilice todos los componentes del kit. Consulte la declaración de seguridad del producto para saber más sobre las indicaciones adecuadas de advertencia y riesgo. Desechar los componentes de conformidad con las normativas locales.

La sangre se ha sometido a pruebas que han resultado negativas (a menos que se indique lo contrario en la caja del kit o en el vial) de la presencia de:

Antígeno de la hepatitis B (HbsAg)

Anticuerpos del VIH 1

Anticuerpos del VIH 2

Anticuerpos del VHC

Sin embargo, deben manipularse con las mismas precauciones con una muestra de un paciente.

COMPOSICIÓN

Componente	Contiene	Descripción	Preparación
Trombin: 100 NIH/mL	5 x 2 mL (REF 5376) <p>5 x 1 mL (REF 5376H)</p>	Cada vial contiene aproximadamente 200 (REF 5376) / 100 (REF 5376H) unidades de trombina bovina con estabilizadores.	Reconstituya cada vial con: <p>2 mL (REF 5376) <p>1 mL (REF 5376H) de agua purificada o suspensión de Kaolin dependiente de la metodología específica manual o de cada instrumento. Tener cuidado al pipetear para evitar la contaminación. Agitar suavemente y permitir que repose durante 15 minutos. Mezclar bien inmediatamente antes de usar. No agitar.</p></p>
Fibrinogen Calibrator	2 x 1 mL (REF 5376) <p>1 x 1 mL (REF 5376H)</p>	Cada vial contiene 1 mL de plasma humano normal liofilizado estudiado en cuanto a niveles de fibrinógeno.	Reconstituir cada vial con exactamente 1,0 mL de agua destilada. Agitar suavemente y permitir que repose durante 10 minutos. Mezclar suavemente antes de su uso. No agitar.
Owren's Buffer	2 x 25 mL (REF 5376) <p>1 x 25 mL (REF 5376H)</p>	Cada frasco contiene 25 mL de tampón con barbital y cloruro sódico con azida sódica como conservante.	El tampón viene envasado listo para usar.
Kaolin Suspension: 0.5 g/L	2 x 5 mL (REF 5376) <p>1 x 5 mL (REF 5376H)</p>	Contiene 5 mL de suspensión de kaolin a 0,5 g/L.	Mezclar vigorosamente inmediatamente antes de usar. Comprobar que no hay sedimentación visible.

Cada kit contiene instrucciones de uso.

Cada kit contiene valores de referencia específicos insertados del lote.

ARTÍCULOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Los reactivos de la valoración del fibrinógeno de Helena Biosciences Europe son adecuados para usarse en cualquier analizador de coagulación capaz de realizar valoraciones del fibrinógeno de Clauss (no debe usarse con el AC-4, C-1, C-2, C-4). Consúltese el Manual del Operador del Instrumento y/o la nota de aplicación para instrucciones adecuadas.

Los reactivos contenidos en este kit están también disponibles como artículos separados:

REF 5374	Clauss Fibrinogen (Thrombin only)
REF 5378	Clauss Fibrinogen (Thrombin only)
REF 5379	Fibrinogen Calibrator
REF 5375	Owren's Buffer
REF 53765	Kaolin Suspension

ALMACENAMIENTO, CADUCIDAD Y ESTABILIDAD

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.

Trombin: 100 NIH/mL	El reactivo reconstituido permanece estable durante 8 horas a temperatura ambiente, 1 semana a *2 –8°C o 1 meses a -20°C.
Fibrinogen Calibrator	Una vez reconstituido, el reactivo permanece estable durante 4 horas a *2 –8°C.
Owren's Buffer	Conservar a *2 –8°C una vez abierto.
Kaolin Suspension	Conservar a *2 –8°C una vez abierto.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Debe 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). Separar el plasma después de la centrifugación a 1500 x g durante 15 minutos. El plasma debe conservarse a *2 –8°C o *18 –24°C. Las pruebas deberían terminarse en 4 horas desde la recogida de las muestras o el plasma puede conservarse congelado a -20°C durante 2 semanas o 70°C durante 6 mes. Decongelar rápidamente a *37°C antes de realizar la prueba. No conservar a *37°C durante más de 5 minutos³.

PROCEDIMIENTO

Método Manual

Preparar todos los reactivos como se indica en "composición".

- Preparación de la curva estándar:
 - Debe usarse una nueva curva estándar cuando los números de lote de los reactivos cambian o si los valores esperados en las pruebas de control de calidad cambian. Preparar las siguientes diluciones en Owren's Buffer (Mezclar sin agitar):
- | Tubo | Dilución | Calibrador del fibrinógeno (mL) | Tampón (mL) |
|------|----------|---------------------------------|-------------|
| 1 | 1 + 4 | 0,2 | 0,8 |
| 2 | 1 + 9 | 0,1 | 0,9 |
| 3 | 1 + 19 | 0,1 | 1,9 |
| 4 | 1 + 29 | 0,1 | 2,9 |
| 5 | 1 + 39 | 0,1 | 3,9 |

- Preparación de la muestra del paciente:
 - Preparar 1 + 9 diluciones del plasma del paciente o el plasma control en Owren's Buffer.
 - Mezclar sin agitar.
- Realización de las pruebas:
 - Realizar todas las pruebas por duplicado:
 - Pipetear 0,2 mL de solución estándar, del paciente o control en un tubo de reacción e incubar a *37°C durante 2 minutos.
 - Añadir 0,1 mL de Trombin (*15 –30°C).
 - Determinar el tiempo de coagulación en los 0,1 segundos más próximos.
 - Dibujar el tiempo de coagulación estándar (eje Y) frente al nivel del fibrinógeno (eje X) en el papel de gráfico del fibrinógeno. Debe obtenerse una línea recta. Asignar el valor de referencia del Fibrinogen Calibrator a la dilución 1 + 9 para permitir la interpolación directa de los valores del paciente y control a partir de la curva estándar.

Método Automatizado

Consulte el manual del usuario del instrumento adecuado para instrucciones detalladas o póngase en contacto con Helena Biosciences Europe para notas de aplicación específicas del instrumento.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

LIMITACIONES

Los niveles de heparina >0,6 unidades/mL y los productos de degradación fibrinolíticos >100 mg/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.

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 Europe suministra los siguientes controles disponibles para usar con este producto:

REF 5301	Speciality Assay Control N
REF 5302	Speciality Assay Control A
REF 5186	Routine Control N
REF 5187	Routine Control A
REF 5183	Routine Control SA

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.

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

Helena Biosciences Europeo sus representantes han determinado las siguientes características de rendimiento como directix. Cada laboratorio debe establecer sus propios datos de rendimiento. La valoración del fibrinógeno manual está diseñada para dar una calibración lineal de 1,5 a 6,5 g/L.

Reproducibilidad					
Precisionis intra-ensayo	Precisionis inter-ensayo				
Fibrinógeno (g/L)	n	CV (%)	Fibrinógeno (g/L)	n	CV (%)
1.24	5	4.88	1.02	10	6.17
3.01	5	3.58	3.62	10	3.75

BIBLIOGRAFÍA

- Clauss A (1957) Gerinnungsphysiologische Schnell-methode zur bestimmung des Fibrinogens, *Acta Haematol*, **17**:237-246
- Shaw TS (1977) Assays for Fibrinogen and its Derivatives CRC, *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* **8**:145-192.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI: H21-A5
- Scully RE *et al.* (1980) Normal Reference Laboratory Values, *New England Journal Medicine*, **302**(37):37-48.
- Okuno T, Selenko V (1972) Plasma fibrinogen determination by automated thrombin time, *American Journal of Medical Technology*, **38**(6):196-201

Тест-система "Определение фибриногена методом Клаусса 100"

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплект "Определение фибриногена методом Клаусса 100" предназначен для выполнения анализов гемостаза на основе кровяного сгустка.

Метод Клаусса¹ – простой метод количественного определения фибриногена, основанный на измерении времени образования сгустка. Метод проводится в разведенной плазме после добавления тромбинового реагента (> 30 МЕ/мл). Время образования сгустка пропорционально концентрации фибриногена. Уровень фибриногена может увеличиваться при воспалении, беременности или при приеме пероральных контрацептивов². Низкие значения могут наблюдаться при заболеваниях печени и ДВС. Изменение содержания фибриногена в плазме помогает диагностике врожденных дефицитных состояний, включая афibrиногенмию (полное отсутствие фибриногена), гипсфibrиногенемию (концентрация фибриногена менее 1 мг/мл) и дисфibrиногенмию (структурные нарушения в молекуле фибриногена). Тест-система "Определение фибриногена методом Клаусса 100" предназначена для проведения количественного определения фибриногена по Клауссу в плазме крови человека на коагулометрах.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Содержащиеся в данном наборе реагенты предназначены только для *in vitro* диагностики– НЕ ПРИНИМАТЬ ВНИТУРЫ! При работе со всеми компонентами набора использовать соответствующие средства индивидуальной защиты. В случае необходимости см. свідетельство о безопасности изделия для ознакомления с соответствующими описаниями опасного воздействия и сведениями о мерах предосторожности. Удаление компонентов в отходы производите в соответствии с местными правилами.

Препараты крови были подвергнуты скринингу и показали отрицательный результат (если на коробке, в которую упакован комплект или на пробирке не указано иное) на:

Антиген к гепатиту В (HbsAg)

Антитела к ВИЧ 1

Антитела к ВИЧ 2

Антитела к вирусу гепатита С (HCV)

Объём не менее с ними следует обращаться, соблюдая те же меры предосторожности, что и при обращении с образцом, полученным от человека. .

СОСТАВ

Компоненты	Состав набора	Описание	Приготовление реагентов
Тромбиновый Реагент: 100 МЕ/мл	5 x 2 мл (Кат. № 5376) <p>5 x 1 мл (Кат. № 5376H)</p>	содержит 200 единиц (Кат. № 5376) / 100 единиц (Кат. № 5376H) бычьего тромбина со стабилизаторами.	Внести во флакон: <p>2,0 мл (Кат. № 5376) или 1,0 мл (Кат. № 5376H) дистиллированной (деионизированной воды) или каолиновой суспензии (0,5 r/l) в зависимости от адаптации к прибору. Осторожно перемешать и оставить при комнатной температуре в течение 15 минут. Перед использованием еще раз перемешать. Не встряхивать.</p>
Калибратор Фибриногена	2 x 1 мл (Кат. № 5376) <p>1 x 1 мл (Кат. № 5376H)</p>	Содержит 1,0 мл лиофилизированной нормальной плазмы человека, аттестованной по уровню фибриногена.	Внести во флакон 1,0 мл дистиллированной или деионизированной воды. Осторожно перемешать и оставить при комнатной температуре в течение 10 минут. Перед использованием еще раз перемешать. Не встряхивать.
Буфер Оуренса	2 x 25 мл (Кат. № 5376) <p>1 x 25 мл (Кат. № 5376H)</p>	Флакон содержит 25,0 мл готового к использованию буфера, содержащего натрия хлорид и натрия азид в качестве стабилизатора.	Дополнительные разведения не требуются.
Каолиновая суспензия 0,5 r/l	2 x 5 мл (Кат. № 5376) <p>1 x 5 мл (Кат. № 5376H)</p>	Содержит 5 мл каолиновой суспензии с концентрацией 0,5 r/l.	Перед использованием перемешать. Не встряхивать. Убедитесь в растворении осажденного материала.

Каждый набор содержит инструкцию по применению.

Паспорт с референсными значениями.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВК