



REF 5374

REF 5378

 	
	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-2-0651P 2015/10 (10)

Claus Fibrinogen (Thrombin only)	en
Instructions for use	

INTENDED PURPOSE

The Claus Fibrinogen (Thrombin only) kit is intended for carrying out clot based haemostasis assays.

Claus¹ 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). Claus Fibrinogen (Thrombin only) is intended for use in the quantitative determination of fibrinogen in human plasma using the Claus¹ Method.

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.

COMPOSITION

Component	Content	Description	Preparation
Thrombin: 100 NIH/mL	10 x 2 mL (REF 5374) <p>10 x 5 mL (REF 5378)</p>	Each vial contains approximately 100 NIH units/mL bovine thrombin with stabilisers.	Reconstitute each vial with: 2 mL (REF 5374) 5 mL (REF 5378) of purified water. Take care when pipetting to avoid contamination. Swirl gently and allow to stand for 15 minutes. Mix well immediately before use. Do not shake.

Each kit contains Instructions For Use.

ITEMS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

REF 5379	Fibrinogen Calibrator
REF 5185	Calibration Plasma
REF 5375	Owren's Buffer

Helena Biosciences Europe also provides the complete fibrinogen assay kit, REF 5376, Claus Fibrinogen 100.

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: 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.

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 minutes⁵.

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) (REF 5379 / REF 5185)	Buffer (mL) (REF 5375)
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 (REF 5185) 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 Claus Fibrinogen is designed to give a linear calibration from 1.5 - 6.5 g/L.

Reproducibility					
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>
3.64	10	4.87	3.61	10	3.78

BIBLIOGRAPHY

- Claus 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

Claus Fibrinogen (Thrombin only)	fr
Fiche technique	

UTILISATION

Le kit Claus Fibrinogen (Thrombin only) est destiné à la réalisation des analyses de l'hémostase basées sur la formation de caillots.

Claus¹ 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 Claus Fibrinogen (Thrombin only) est utilisé pour la détermination quantitative du fibrinogène dans le plasma humain en utilisant la méthode de Claus¹.

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 églements locaux.

COMPOSITION

Composant	Contient	Description	Préparation
Thrombin: 100 NIH/mL	10 x 2 mL (REF 5374) <p>10 x 5 mL (REF 5378)</p>	Chaque flacon contient environ 100 NIH unités/mL de Thrombin bovine additionnée de stabilisateurs.	Reconstituer chaque flacon avec: 2 mL (REF 5374) 5 mL (REF 5378) d'eau distillée. Faire attention lors du pipetage pour éviter toute contamination. Remuer doucement et laisser reposer 15 minutes. Bien mélanger juste avant utilisation. Ne pas agiter.

Chaque kit contient une fiche technique.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE NON FOURNI

REF 5379	Fibrinogen Calibrator
REF 5185	Calibration Plasma
REF 5375	Owren's Buffer

Helena Biosciences Europe distribue aussi un kit complet de dosage du fibrinogène, REF 5376, Claus Fibrinogen 100.

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.

PRÉLÈVEMENT 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 minutes⁹.

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) (REF 5379 / REF 5185)	Tampon (mL) (REF 5375)
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 (REF 5185) 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 incuber 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 du fibrinogène est conçu pour donner un étalonnage linéaire sur la plage 1,5 – 6,5 g/L.

Reproductibilité					
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>
3.64	10	4.87	3.61	10	3.78

BIBLIOGRAPHIE

- Claus 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

Claus Fibrinogen (Thrombin only)	de
Anleitung	

VERWENDUNGSZWECK

Das Claus Fibrinogen (Thrombin only)-Kit ist für koagulometrische Gerinnungstests vorgesehen.

Claus¹ 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 Claus Fibrinogen (Thrombin only) dient zum quantitativen Nachweis von Fibrinogen in Humanplasma nach der Methode nach Claus¹.

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 Vorbeugeerklärungen in der Produktsicherheitsklärung. Entsorgen Sie die Komponenten gemäß den örtlichen Vorschriften.

ZUSAMMENSETZUNG

Komponente	Inhalt	Beschreibung	Vorbereitung
Thrombin: 100 NIH/mL	10 x 2 mL (REF 5374) <p>10 x 5 mL (REF 5378)</p>	Jedes Fläschchen enthält ca. 100 NIH Einheiten/mL Rinder-Thrombin mit Stabilisatoren.	Jedes Fläschchen mit: 2 mL (REF 5374) 5 mL (REF 5378) destilliertes Wasser. Kontamination beim Pipettieren vermeiden. Leicht schwenken und 15 Minuten stehen lassen. Vor Gebrauch gut mischen. Nicht schütteln.

Jedes Kit enthält eine Gebrauchsanweisung.

ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTER ARTIKEL

REF 5379	Fibrinogen Calibrator
REF 5185	Calibration Plasma
REF 5375	Owren's Buffer

Helena Biosciences Europa bietet auch ein komplettes Fibrinogen Test-Kit an, REF 5376, Claus Fibrinogen 100.

LAGERUNG, HALTBARKEIT UND STABILITÄT

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

Thrombin: Nach Rekonstitution ist das Reagenz 8 Stunden bei Raumtemperatur, 1 Woche bei 100 NIH/mL *2 –+8°C stabil oder 1 monate bei -20°C stabil.

PROBENNAHME UND VORBEREITUNG

Nur Plastik oder Silikonglas verwenden. Blut (9 Teile) sollte in 3,2% oder 3,8% Natriumcitrat als Antikoagulanz (1 Teil) entnommen werden. 15 Minuten bei 1500 g zentrifugieren und Plasma abpipettieren. Plasma bei *2 –+8 oder *18 –+24°C lagern. Plasma sollte innerhalb von 4 Stunden verarbeitet oder tief gefroren bei -20°C für 2 Wochen oder -70°C für 6 Monat gelagert werden. Vor dem Testen schnell bei *37°C auftauen. Nicht länger als 5 Minuten bei *37°C belassen⁵.

VORGEHENSWEISE

Manuelle Methode

Alle Reagenzien wie unter „Inhalt“ beschrieben vorbereiten.

- Erstellung der Standardkurve:
 - Für jede neue Reagenzien-Charge, oder wenn sich die Normalwerte der Qualitätskontrolle ändern, muss eine neue Standardkurve erstellt werden. Folgende Verdünnungen mit Owren's Buffer herstellen (Ohne zu schütteln mischen):

Röhrchen	Verdünnung	Fibrinogen-Kalibrator (mL) (REF 5379 / REF 5185)	Buffer (mL) (REF 5375)
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

- Vorbereitung der Patientenprobe:
 - Eine 1+9 Verdünnung des Patienten- oder Kontrollplasmas (REF 5185) mit Owren's Buffer herstellen.
 - Ohne zu schütteln mischen.
- Testdurchführung:
 - Alle Tests im Doppelansatz durchführen:
 - 0,2 mL Standard, Patienten- oder Kontrollverdünnung in ein Röhrchen pipettieren und bei *37°C 2 Minuten inkubieren.
 - 0,1 mL Thrombin (*15 –+30°C) hinzufügen.
 - Die Gerinnungszeit bis auf 0,1 Sekunden genau bestimmen.
 - Den Mittelwert der Standardgerinnungszeit (Y-Achse) gegen Fibrinogen-Wert (X-Achse) auf Fibrinogen-Millimeterpapier auftragen. Es sollte eine gerade Linie erzielt werden. Den Referenzwert des Fibrinogen-Kalibrators der 1+9 Verdünnung zuordnen, um eine direkte Interpolation von Patienten- und Kontrollwerten aus der Standardkurve zu ermöglichen.

Automatisierte Methoden

Siehe die Bedienungsanleitung des entsprechenden Geräts für genaue Anweisungen oder wenden Sie sich an Helena Biosciences Europe für spezielle anwendungstechnische Hinweise.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Fibrinogen-Normalwerte bei gesunden Erwachsenen sind 150-350 mg/dL (1,5-3,5 g/L)^{4,5}.

EINSCHRÄNKUNGEN

Heparinwerte >0,6 Einheiten/mL und Fibrinolyse-Abbauprodukte >100 mg/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.

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 Europe die folgenden Kontrollen an:

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

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.

LEISTUNGSMERKMALE

Die folgenden Leistungseigenschaften wurden von Helena Biosciences Europe 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 – 6,5 g/L ergibt.

Reproduzierbarkeit					
Intra-assay-Pr					

Clauss Fibrinogen (Thrombin only) Istruzioni per l'uso	it
---------------------------------------------------------------	-----------

SCOPO PREVISTO

Il kit Clauss Fibrinogen (Thrombin only) 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 Thrombin (>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 disfibrinogenemia (molecola di fibrinogeno anomala). Il Clauss Fibrinogen (Thrombin only) è stato formulato per la determinazione quantitativa del fibrinogeno in plasma umano utilizzando il metodo Clauss¹.

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. Smaltire i componenti conformemente alle normative locali vigenti.

COMPOSIZIONE

Componente	Contiene	Descrizione	Preparazione
Thrombin: 100 NIH/mL	10 x 2 mL (REF 5374) 10 x 5 mL (REF 5378)	Ogni flacone contiene approssimativamente 100 NIH unità/mL di Thrombin bovina con stabilizzatori.	Ricostituire ogni flacone con: 2 mL (REF 5374) 5 mL (REF 5378) di acqua distillate. Durante il pipettinggio, prestare attenzione ad evitare la contaminazione. Agitare delicatamente e lasciare riposare per 15 minuti. Miscelare bene immediatamente prima dell'uso. Non scuotere.
Ogni kit contiene un	Istruzioni per l'uso.		

MATERIALI NECESSARI, MA NON IN DOTAZIONE

REF 5379	Fibrinogen Calibrator
REF 5185	Calibration Plasma
REF 5375	Owren's Buffer

Helena Biosciences Europe fornisce anche il kit di dosaggio del fibrinogeno completo, REF 5376, Clauss Fibrinogen 100.

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.

Thrombin: 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.

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 mese. 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) (REF 5379 / REF 5185)	Tampone (mL) (REF 5375)
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 (REF 5185) 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 Thrombin (*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 fuonescono 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 utilizzabili 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 del fibrinogeno è stato studiato per fornire calibrazione lineare compresa tra 1,5-6,5 g/L.

Riproducibilità					
Precisione intra-dosaggio	Precisione tra i dosaggi				
<i>Fibrinogeno (g/L)</i>	<i>n</i>	<i>CV (%)</i>	<i>Fibrinogeno (g/L)</i>	<i>n</i>	<i>CV (%)</i>
3.64	10	4.87	3.61	10	3.78

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 (Thrombin only) Instrucciones de uso	es
---------------------------------------------------------------	-----------

USO PREVISTO

El uso previsto del kit Clauss Fibrinogen (Thrombin only) 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 Thrombin (>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 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 hipofibrinogenemia (<1 mg/mL) y la disfibrinogenemia (molécula de fibrinógeno anormal). El Clauss Fibrinogen (Thrombin only) está previsto para su uso en la determinación cuantitativa del fibrinógeno en el plasma humano usando el método de Clauss¹.

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.

COMPOSICIÓN

Componente	Contiene	Descripción	Preparación
Thrombin: 100 NIH/mL	10 x 2 mL (REF 5374) 10 x 5 mL (REF 5378)	Cada vial contiene aproximadamente 100 NIH unidades/mL de trombina bovina con estabilizadores.	Reconstituya cada vial con: 2 mL (REF 5374) 5 mL (REF 5378) de agua purificada. 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.
Cada kit contiene instrucciones de uso.			

ARTÍCULOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

REF 5379	Fibrinogen Calibrator
REF 5185	Calibration Plasma
REF 5375	Owren's Buffer

Helena Biosciences Europe también proporciona el kit de Valoración del Fibrinógeno completo, REF 5376, Clauss Fibrinogen 100.

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.

Thrombin: El reactivo reconstituido permanece estable durante 8 horas a temperatura ambiente, 1 semana a *2 –-8°C o 1 meses a -20°C.

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) (REF 5379 / REF 5185)	Tampón (mL) (REF 5375)
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 (REF 5185) 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 Thrombin (*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 Europe sus representantes han determinado las siguientes características de rendimiento como directrx. Cada laboratorio debe establecer sus propios datos de rendimiento. La valoración del fibrinógeno está diseñada para dar una calibración lineal de 1,5 a 6,5 g/L.

Reproducibilidad					
Precisión intra-ensayo	Precisión inter-ensayo				
<i>Fibrinógeno (g/L)</i>	<i>n</i>	<i>CV (%)</i>	<i>Fibrinógeno (g/L)</i>	<i>n</i>	<i>CV (%)</i>
3.64	10	4.87	3.61	10	3.78

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 "Фибриноген по Клауссу (только тромбиновый реагент)" ИНСТРУКЦИЯ	ru
-------------------------------------------------------------------------------------	-----------

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплект "Фибриноген по Клауссу (только тромбиновый реагент)" предназначен для выполнения анализов гемостаза на основе кровяного сгустка.

НАЗНАЧЕНИЕ

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 афибриногемию (полное отсутствие фибриногена), гипофибриногемию (концентрация фибриногена менее 1 мг/мл) и дисфибриногемию (структурные нарушения в молекуле фибриногена).
Тест-система "Фибриноген по Клауссу (только тромбиновый реагент)" предназначена для проведения количественного определения фибриногена по Клауссу³ в плазме крови человека.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Содержащиеся в данном наборе реагенты предназначены только для *in vitro* диагностики– НЕ ПРИНИМАТЬ ВНУТРЬ! При работе со всеми компонентами набора использовать соответствующие средства индивидуальной защиты. В случае необходимости см. свидетельство 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.

СОСТАВ

Компоненты	Состав набора	Описание	Приготовление реагентов
тромбиновый реагент: 100 единиц/мл	10 x 2 мл (Кат. № 5374) 10 x 5 мл (Кат. № 5378)	содержит 100 единиц/мл бычьего тромбина со стабилизаторами.	Внести во флакон: 2.0 мл (Кат. № 5374) или 5.0 мл (Кат. № 5378) дистиллированной (деионизированной воды). Осторожно перемешать и оставить при комнатной температуре в течение 15 минут. Перед использованием еще раз перемешать. Не встряхивать.
Каждый набор содержит инструкцию по применению.			

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

Кат. № 5379	Калибратор Фибриногена
Кат. № 5185	Универсальный калибратор
Кат. № 5375	Тестовый реагент "Буфер Оуренса"

Компания Хелена, так же поставляет Кат. № 5376 Тест-система "Определение фибриногена методом Клаусса 100"

ХРАНЕНИЕ, СРОК ГОДНОСТИ И УСТОЙЧИВОСТЬ

Невскрытые флаконы хранятся до истечения срока годности в условиях, указанных на упаковке или этикетке.

тромбиновый реагент: После растворения, тромбиновый реагент стабилен в течение 7 дней 100 единиц/мл при *2 –-8°C, 8 часов на борту анализатора при *15 –-30°C и 1 месяц при -20°C

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Для работы следует использовать только пластиковые или силиконированные стеклянные пробирки. Кровь забирается в пробирку с цитратным антикоагулянтom (3,2% или 3,8% цитрат натрия) в соотношении 9 + 1. После центрифугирования при 1500 г, в течение 15 минут (использование других параметров должно проверяться лабораторией), полученную плазму необходимо отделить от форменных элементов крови. Плазму следует хранить при температуре *2 –-8°C или *18 –-24°C. Тестирование должно быть проведено в течение 4 часов после забора образцов, либо плазму можно однократно заморозить и хранить при температуре -20°C в течение 2 недель или при -70°C в течение 6 месяцев. Перед проведением исследования плазму следует быстро разморозить при *37°C. Не держать плазму при *37°C более 5 минут³.

ПРОЦЕДУРА

Ручной Метод

- Подготовьте все реактивы, см. выше раздел Приготовление реагентов.
- Новая калировка должна использоваться при изменении номера партии реагентов или если ожидаемые значения контроля выходят за пределы референсных значений. Разведите калибратор буфером Оуренса как указано в таблице:

Пробирки	Разведение	Калибратор Фибриногена (мл) (Кат. № 5379 / Кат. № 5185)	Буфер (мл) (Кат. № 5375)
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

- Подготовка образца:
 - Смешайте 1 часть плазмы пациента или контроля (Кат. № 5185) с 9 частями буфера Оуренса.
 - Аккуратно перемешайте (без встряхивания)
- Выполняйте все тесты в дубле:
 - Отберите пипеткой 0,2 мл стандарта, пробы пациента или контроля в реакционную пробирку и инкубируйте в течение 2 минут при *37°C.
 - Добавьте 0,1 мл тромбинового реактива (*15 –-30°C)
 - Определите время свертывания с точностью 0,1 секунды.
 - На миллиметровой бумаге (вложенной в набор реагентов) отложите по оси Y значения: (концентрация фибриногена), а по оси X значения: (время свертывания стандарта).
 - Должна быть получена прямая линия. Определите значения калибратора фибриногена в разведении 1+9, интерполируйте полученное значение с целью контроля стандартной кривой.

Автоматизированный Метод

Для получения более подробной информации обратитесь к инструкции на автоматический или полуавтоматический коагулометр.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Средний уровень Фибриногена в популяции практически здоровых людей находится между 150-350 мг/дл (1.5-3.5 r/l)^{4,5}.

ОГРАНИЧЕНИЯ

На низко лодные результаты концентрации фибриногена, полученные на коагулометре, может влиять гепарин в концентрации >0,6 Ед/мл и ПДФв концентрации >100 мг/мл. Если значения образцов пациентов выпадают за график стандартной кривой, то требуется дальнейшее разведение образца, чтобы значение попадали в линейный диапазон от 1,0 до 6,5 г/л.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Каждая лаборатория должна установить программу контроля качества. Перед измерением каждой партии образцов пациентов необходимо протестировать нормальную и патологическую плазму, чтобы удостовериться в удовлетворительной работе оборудования и оператора. Если контрольные измерения не совпадают с ожидаемыми значениями, то измеренные данные пациентов следует считать недостоверными. омпания Хелена рекомендует следующие контрольные материалы:

Кат. № 5301	Контроль качества специальные тесты, норма
Кат. № 5302	Контроль качества специальные тесты, патология
Кат. № 5186	Контроль качества, норма
Кат. № 5187	Контроль качества, умеренно выраженная патология
Кат. № 5183	Контроль качества, высокая патология

НОРМАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ

Референсные значения могут варьировать между лабораториями в зависимости от используемых методов и коагулометров. По этой причине каждая лаборатория должна установить свои собственные значения.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Компания Хелена или её дистрибьюторы определили следующие ориентировочные аналитические характеристики. Каждая лаборатория должна определить свои собственные аналитические характеристики. При использовании ручного метода были определены следующие коэффициенты вариации (CV) и линейность в диапазоне от 1,0 до 6,5 г/л (без дополнительных разведений плазмы).

Воспроизводимость в пределах аналитической серии	между разными аналитическими сериями				
<i>Фибриноген (г/л)</i>	<i>n</i>	<i>CV (%)</i>	<i>Фибриноген (г/л)</i>	<i>n</i>	<i>CV (%)</i>
3.6					