



Pacific Hemostasis

840155 (R3)

Fibrinogen Assay Set (100 determinations) or one of the following components: Fibrinogen Reference Plasma Bovine Thrombin (200 or 500 NIH per vial) Imidazole Buffered Saline

I. Intended Use

Pacific Hemostasis® Fibrinogen Assay Set, Fibrinogen Reference Plasma, Imidazole Buffered Saline (IBS), and Bovine Thrombin 200 and 500 are intended for use in the quantitative determination of fibrinogen in plasma samples.

II. Summary and Principles

The thrombin clotting time fibrinogen assay is based on the method originally described by Clauss.¹ In the presence of high concentrations of thrombin, the time required for clot formation in dilute plasma is inversely proportional to the fibrinogen concentration.

III. Reagents

For *in vitro* diagnostic use. Store all unopened reagents at 2-8°C.

Composition:

Bovine Thrombin 200 or 500 (Approximately 100 NIH Units/mL): Lyophilized bovine thrombin. Reconstitute with distilled water according to vial label. Agitate gently until solution is complete. The reconstituted material is stable for 7 days at 2-8°C or 8 hours at 15-30°C or may be frozen within 4 hours for use within 30 days.² Thaw rapidly at 37°C. Do not refreeze.⁴

Fibrinogen Reference Plasma: Human plasma collected with sodium citrate anticoagulant. <1.0% Stabilizers and buffers are added prior to lyophilization. Reconstitute with 1.0 mL distilled water. Agitate gently until solution is complete. Reconstituted material is stable for 8 hours at 2-8°C.²

Imidazole Buffered Saline (IBS): Imidazole buffer in saline, pH 7.4 ± 0.2, with 0.1% sodium azide as a preservative.

Caution: Each unit of source material used in the preparation of Fibrinogen Reference Plasma has been tested by an FDA licensed method and found non-reactive for HBsAg and negative for antibodies to HIV and HCV. However, no known test method can offer complete assurance that products derived from human blood will not transmit hepatitis, AIDS, or other infectious diseases. This product, like all materials of human origin, should be handled as potentially infectious biological material.

Warning: IBS contains 0.1% sodium azide. Sodium azide under acid conditions yields hydrazoic acid, an extremely toxic compound. Dilute with running water before discarding, flush with large volumes of water. These precautions are recommended to avoid deposits in metal piping in which explosive conditions may develop.

Lack of vacuum in the Fibrinogen Reference Plasma vials or Thrombin, erratic values, or product color variations could indicate deterioration. However, poor performance could also be due to other factors within the test system.

IV. Specimen Collection

3.2% (0.109M) trisodium citrate anticoagulant is recommended for coagulation assays. Avoid hemolysis and contamination by tissue fluids. Samples that have less than 90% of the expected fill volume should be rejected. Centrifuge blood for 15 minutes at 1500 x g. Test within 2 hours if samples are held at 22-24°C. For more details on specimen collection and storage, see NCCLS Document H21-A3.²

V. Test Procedure

Materials Provided:

Pacific Hemostasis Fibrinogen Assay Set : 100 determinations:

Bovine Thrombin 200: five 2.0 mL vials

Fibrinogen Reference Plasma: three 1.0 mL vials

Imidazole Buffered Saline: one 135 mL vial

Note: Bovine Thrombin 200, Bovine Thrombin 500, Fibrinogen Reference Plasma, and Imidazole Buffered Saline can also be purchased separately.

Materials Required, But Not Provided:

Plastic test tubes

Precision pipeters: 0.1 mL and 0.2 mL

Serological pipets

Normal and abnormal controls, such as Pacific Hemostasis Level 1 Coagulation Control, Low Fibrinogen Control, and High Fibrinogen Control Plasmas.

The Fibrinogen Assay Set and individual components are suitable for use with manual, mechanical or photo-optical methods of end-point clot detection. For automated and semi-automated systems, follow the instrument manufacturer's instructions. For manual and mechanical test methods:

A. Prepare a minimum of five different dilutions of the reconstituted Fibrinogen Reference Plasma in IBS.

Dilute plasma at least 1:3 to minimize interfering factors.³

B. Dilute quality control and patient samples 1:10 in IBS.

C. Prewarm 0.2 mL of each dilution to 37°C for 4-6 minutes.

D. Add 0.1 mL of Bovine Thrombin reagent to prewarmed dilution and time clot formation. Do not prewarm thrombin.

E. The frequency of curve preparation is partially determined by the method of clot detection used. Always

VI. Results

A. Plasma diluted 1:10 represents 100% of the assigned value. The dilution factor indicates the relationship between the 1:10 dilution and other dilutions.

Example Only:

Standard = 304 mg/dL fibrinogen (Each lab must prepare curves with their reagents and instrumentation.)⁴

Dilution	Dilution factor	Fibrinogen (mg/dL)	mean CT (seconds)
1:3.5	10/3.5 = 2.9	304 x 2.9 = 882	5.8
1:5	10/5 = 2	304 x 2 = 608	7.3
1:10	10/10 = 1	304 x 1 = 304	13.4
1:15	10/15 = 0.67	304 x 0.67 = 204	20.8
1:35	10/35 = 0.29	304 x 0.29 = 88	49.2

- B.** Calculate the mean of duplicate clotting times to the nearest 0.1 second. Use all five of the calibrator points to construct a log-log curve that plots fibrinogen concentration vs. clotting time. Draw the straight line of best fit. Examine the curve and, if necessary, omit non-linear points. The final curve must consist of at least three consecutive points. Constructing the curve with only the most linear points will produce the best recovery on control and patient samples.
- C.** Find the clotting time of quality control and patient samples on the curve and read the corresponding fibrinogen value. If clotting times for the 1:10 dilution fall outside the linear curve, prepare 1:5 or 1:20 dilutions as needed. If the sample is diluted 1:5, divide the result from the standard curve by 2; if the sample was diluted 1:20, multiply the curve result by 2 to get the final result.

VII. Limitations

A. Blood must be immediately added to trisodium citrate anticoagulant and gently mixed. EDTA and heparin are unsuitable anticoagulants.

B. Hemolysis can cause clotting factor activation and end point detection interference. Icteric and lipemic specimens may also be inappropriate for end point detection methods.

C. The sample should only contact nonwetable surfaces.

D. The ratio of blood to anticoagulant is usually 9:1 and results in a citrate concentration of 10.9 to 12.9 mmol/L. This concentration must be adjusted for patients with hematocrits above 55%. See NCCLS Document H21-A3.^{1,2}

E. Freezing and thawing of plasma that contains residual cells will generate damaged cell membranes that can affect results.

F. Acute inflammatory reactions can elevate circulating Factor I (fibrinogen).³

G. High Fibrinogen Degradation Products (FDP) may prolong clotting times, especially when the fibrinogen level is below 150 mg/dL.³

H. In patients with qualitative fibrinogen abnormalities, the thrombin clotting time assay may indicate decreased fibrinogen. The quantitative fibrinogen results may be normal on these same samples if tested by other methods.^{1,4}

I. Heparin does not interfere at therapeutic levels. However, very high heparin levels may cause low fibrinogen results.³ Batroxobin enzyme can be substituted for thrombin in this assay if heparin interference is suspected.

J. High paroprotein levels, thrombin antibodies, and drugs that activate the fibrinolytic system can interfere with fibrinogen assays.³

K. The Fibrinogen Assay Set and individual components are designed to work at 37° C. Ensure that all heating elements are functioning properly.

VIII. Expected Values:

Laboratories should establish a normal reference interval for fibrinogen measurements. Generally, the normal reference interval is 150 to 350 mg/dL (1.5 to 3.5 g/L).³

IX. Performance Characteristics

A. Accuracy: A low, a normal, and a high fibrinogen plasma were tested in multiple laboratories using Pacific Hemostasis reagents. The results were compared to results obtained using other manufacturer's reagents in multiple labs.²

Sample	Pacific Hemostasis	n =	All reagents	n =
Low:	144 mg/dL	10	163 mg/dL	195
Normal:	294 mg/dL	10	297 mg/dL	195
High:	488 mg/dL	16	474 mg/dL	390

B. Precision: A low, a normal, and a high fibrinogen plasma were tested on multiple days using Pacific Hemostasis reagents on a photo-optical instrument. Ten standard curves were determined on each test day, for a total of 30 standard curves. The percent CV was determined to be 5.9% (low), 3.4% (normal), and 2.9% (high).¹⁰

X. References

- Clauss, A. *Acta Haemat.* 17:237-246, 1957.
- NCCLS: *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays.* 2nd edition. Approved guideline. NCCLS Document H21-A3. Wayne, PA., 1998.
- NCCLS: *Procedure for determining fibrinogen in plasma. Approved guideline.* NCCLS Document H30-A2. Wayne, PA., 2001.
- Musgrave, K.A., Bick, R.L.: *Quality Assurance in the Hemostasis Laboratory.* In Bick, R.L., et al, editors: *Hematology: Clinical and Laboratory Practice.* Vol. 2, pp1309-1315. Mosby, St. Louis, MO., 1993.
- Stability data found in DHF.
- Data found in 510K file

ORDERING INFORMATION		
Cat. No.	Description	Contents
100600	Fibrinogen Assay Set	100 determinations
100602	Fibrinogen Reference Plasma	10 x 1 mL
100604	Low Fibrinogen Control Plasma	10 x 1 mL
100607	High Fibrinogen Control Plasma	10 x 1 mL
100595	Coagulation Control Plasma, Level 1	10 x 1 mL
100601	Bovine Thrombin 200 (100 NIH/mL)	10 x 2 mL
100606	Bovine Thrombin 500 (100 NIH/mL)	10 x 5 mL
100647	Imidazole Buffered Saline	2 x 135 mL

FISHER DIAGNOSTICS® LIMITED WARRANTY

Fisher Diagnostics (FD) warrants to the purchaser only that FD products will perform as described on their labeling and product literature. Purchaser must determine the suitability of FD products for their specific applications. FD's sole obligation will be, at its option, to either replace a non-conforming or defective product, or return the purchase price. FD DISCLAIMS ALL OTHER WARRANTIES, EXPRESSED OR IMPLIED, INCLUDING THE WARRANTIES OF MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR ANY PARTICULAR PURPOSE. Neither FD nor its affiliates shall, in any event, be liable for incidental or consequential loss or damage.

Pacific Hemostasis® is a registered trademark of Fisher Scientific Company L.L.C.

Fisher Diagnostics® is a registered trademark of Fisher Scientific Company L.L.C.

EC REP

MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL
UK



Fisher Diagnostics®
Fisher Scientific Company L.L.C.
8365 Valley Pike
Middletown, VA 22645-0307, USA
1-800-528-0494 USA only

ENGLISH

prepare a new curve with each change in reagent lots, instrumentation, or when controls no longer fall within established ranges.²



Pacific Hemostasis

840155 (R3)

Fibrinogen Assay Set (100 Nachweise) oder eine der folgenden Komponenten: Fibrinogen Reference Plasma: Bovine Thrombin (200 oder 500 NIH pro Flasche) Imidazole Buffered Saline

I. Verwendungszweck

Pacific Hemostasis® Fibrinogen Assay Set, Fibrinogen Reference Plasma, Imidazole Buffered Saline (IBS) und Bovine Thrombin 200 und 500 sind für die Verwendung in der quantitativen Bestimmung von Fibrinogen in Plasmaproben vorgesehen.

II. Zusammenfassung und Prinzipien

Der Fibrinogentest für die Thrombin-Gerinungszeit basiert auf der Methode, die ursprünglich von Clauss beschrieben wurde.¹ Die bei hohen Thrombin-Konzentrationen erforderliche Zeit für die Gerinnung in verdünntem Plasma verhält sich umgekehrt proportional zur Fibrinogen-Konzentration.

III. Reagenzien

Zur Verwendung in der *In-vitro*-Diagnostik. Alle unverschlossenen Reagenzien bei 2-8 °C lagern.

Zusammensetzung:

Bovine Thrombin 200 oder 500 (ca. 100 NIH-Einheiten/mL): Lyophilisiertes, gepuffertes Bovine Thrombin. Gemäß Flascheneikett mit destilliertem Wasser rekonstituieren. Vorsichtig schütteln, bis zur vollständige Lösung. Nach der Rekonstitution sollte das verschlossen bei 2-8 °C gelagerte Reagenz innerhalb 7 Tagen verwendet werden, 8 Stunden bei 15-30°C. Innerhalb von 4 Stunden kann es eingefroren und auch noch nach 30 Tagen verwendet werden.¹ Schnell bei 37 °C auftauen. Nicht erneut einfrieren.⁴

Fibrinogen Reference Plasma: Mit Natriumziträt-Antikoagulans versetztes Humanplasma. Vor der Lyophilisierung werden <1,0 % Stabilisatoren und Puffer hinzugegeben. Mit 1,0 mL destilliertem Wasser rekonstituieren Vorsichtig schütteln, bis die Lösung vollständig ist. Rekonstituiertes Material sollte bei einer Lagerung von 2-8 °C innerhalb von 8 Stunden verwendet werden.²

Imidazole Buffered Saline (IBS): Imidazolpuffer in Kochsalzlösung, pH 7,4 ± 0,2, mit 0,1 % Natriumazid als Konservierungsstoff.

Vorsicht:Alle Ursprungsmaterialien die bei der Verarbeitung dieses Produkts verwendet werden, wurden gemäß FDA-lizenzierten Methoden getestet und wurde als nicht-reaktiv auf HBsAg und negativ auf HIV- und HCV-Antikörper befunden. Keine Testmethode kann allerdings völlig ausschließen, dass Blutprodukte menschlichen Ursprungs Hepatitis, AIDS oder andere infektiöse Krankheiten übertragen. Diese Produkte sollten wie alle Produkte menschlichen Ursprungs als potentiell infektiöses biologisches Material betrachtet werden.

Warning: IBS enthält 0,1 % Natriumazid. In saurer Lösung zersetzt sich Natriumazid in Stickstoffwasserstoffsäure, einen ausgesprochen toxischen Stoff. Mit viel Wasser vor der Entsorgung verdünnen, nach der Entsorgung mit viel Wasser nachspülen. Diese Vorsichtsmaßnahmen werden empfohlen, um Ablagerungen in Metallrohren zu vermeiden, die zu explosionsgefährlichen Bedingungen führen können.

Fehlendes Vakuum in den Fibrinogen Reference Plasma- oder Thrombin-Flaschen, fehlerhafte Werte oder Abweichungen in der Farbe können auf eine verschlechterte Produktqualität hinweisen. Eine mangelhafte Qualität kann jedoch auch durch andere Faktoren innerhalb des Testsystems begründet sein.

IV. Probenvorbereitung

Für Koagulationsversuche werden 3,2 % (0,109 M) des Thrombininhibitors Trinatriumcitrat empfohlen. Hämolyse und Kontamination durch Gewebeflüssigkeiten vermeiden. Proben mit weniger als 90 % des erwarteten Füllvolumens sollten abgelehnt werden. Blut für 15 Minuten bei 1500 x g zentrifugieren. Innerhalb von 2 Stunden testen, wenn die Proben bei 22-24 °C gehalten werden. Weitere Informationen zur Entnahme und Lagerung von Proben finden Sie im NCCLS-Dokument H21-A3.²

V. Testverfahren

Im Lieferumfang enthaltene Materialien:

Pacific Hemostasis Fibrinogen Assay Set : 100 Nachweise:

Bovine Thrombin 200: fünf 2,0 mL-Flaschen

Fibrinogen Reference Plasma: drei 1,0 mL-Flaschen

Imidazole Buffered Saline: eine 135 mL-Flasche

Hinweis: Bovine Thrombin 200, Bovine Thrombin 500, Fibrinogen Reference Plasma und Imidazole Buffered Saline können auch separat erworben werden.

Nicht im Lieferumfang enthaltene aber erforderliche Materialien:

Teströhrchen aus Kunststoff

Präzisionspipetten: 0,1 mL und 0,2 mL

Serologische Pipetten

Normale und abnormale Kontrollen, z. B. Pacific Hemostasis Level 1 Coagulation Control, Low Fibrinogen Control und High Fibrinogen Control Plasma.

Das Fibrinogen Assay Set und einzelne Komponenten eignen sich für die manuelle, mechanische, photo-optische oder andere Bestimmungsmethoden von Gerinnungsuntersuchungen. Für automatisierte und halbautomatisierte Geräte sind die Anweisungen des jeweiligen Geräteherstellers zu beachten. Für manuelle und mechanische Testmethoden:

A. Mindestens fünf unterschiedliche Verdünnungen des rekonstituierten Fibrinogen Reference Plasma in IBS vorbereiten. Um Störfaktoren zu minimieren, das Plasma mindestens in einem Verhältnis von 1:3 verdünnen.³

B. Qualitätskontroll- und Patientenproben in einem Verhältnis von 1:10 in IBS verdünnen.

C. 0,2 mL jeder Verdünnung für 4-6 Minuten auf 37 °C vorwärmen.

D. 0,1 mL Bovine Thrombin-Reagenz zur vorgewärmten Verdünnung hinzugeben und mit einem Timer messen, wann der Gerinnungsvorgang einsetzt. Thrombin nicht vorwärmen.

BESTELLINFORMATIONEN			
Kat.- Nr.	Beschreibung	Inhalt	
100600	Fibrinogen Assay Set	100 Nachweise	
100602	Fibrinogen Reference Plasma:	10 x 1 mL	
100604	Low Fibrinogen Control Plasma	10 x 1 mL	
100607	High Fibrinogen Control Plasma	10 x 1 mL	
100595	Coagulation Control Plasma, Level 1	10 x 1 mL	
100601	Bovine Thrombin 200 (100 NIH/mL)	10 x 2 mL	
100606	Bovine Thrombin 500 (100 NIH/mL)	10 x 5 mL	
100647	Imidazole Buffered Saline	2 x 135 mL	

FISHER DIAGNOSTICS® GEWÄHRLEISTUNGSSAUSSCHLUSS

Fisher Diagnostics (FD) garantiert dem Käufer nur, dass die FD-Produkte die Angaben auf den Etiketten und in der entsprechenden Produktdokumentation erfüllen. Der Käufer muss die spezifische Anwendungstauglichkeit der FD-Produkte selbst ermitteln. FD verpflichtet sich nach eigenem Ermessen ein fehlerhaftes oder unbrauchbares Produkt zu ersetzen oder die Anschaffungskosten zu ersetzen. FD SCHLIESST ALLE ANDEREN GEWÄHRLEISTUNGEN, AUSDRÜCKLICH ODER STILLSCHWEIGEND, EINSCHLIESSLICH DER GEWÄHRLEISTUNGEN DER MARKTGÄNGIGKEIT UND TAUGLICHKEIT FÜR BESTIMMTE ZWECKE AUS. Desweiteren sind weder FD noch ihre Vertreter in keinem Fall haftbar für beiläufig entstandene oder Folgeschäden bzw. -verluste.

Pacific Hemostasis® ist eine eingetragene Marke von Fisher Scientific Company L.L.C.

Fisher Diagnostics® ist eine eingetragene Marke von Fisher Scientific Company L.L.C.

DEUTSCH

E. Die Häufigkeit der Kurvenvorbereitung wird teilweise von der verwendeten Bestimmungsmethode für Gerinnungsverfahren festgelegt. Bei Änderungen in Reagenzchargen, Gerätewechsel oder wenn Kontrollen außerhalb des festgelegten Bereichs liegen, immer eine neue Kurve anlegen.²

VI. Ergebnisse

A. In einem Verhältnis von 1:10 verdünntes Plasma stellt 100 % des zugewiesenen Werts dar. Der Verdünnungsfaktor weist auf die Relation zwischen der 1:10-Verdünnung und anderen Verdünnungen hin.

Folgende Daten dienen nur als Beispiel:

Standard = 304 mg/dL Fibrinogen (jedes Labor muss die Kurven anhand der dort verwendeten Reagenzien und Geräte vorbereiten.)⁴

Verdünnung	Verdünnung Faktor	Fibrinogen (mg/dL)	Mittel-CT (Sekunden)
1:3,5	10/3,5 = 2,9	304 x 2,9 = 882	5,8
1:5	10/5 = 2	304 x 2 = 608	7,3
1:10	10/10 = 1	304 x 1 = 304	13,4
1:15	10/15 = 0,67	304 x 0,67 = 204	20,8
1:35	10/35 = 0,29	304 x 0,29 = 88	49,2

B. Den Mittelwert von doppelten Gerinnungszeiten bis auf 0,1 Sekunden genau berechnen. Alle fünf Kalibratorpunkte zum Konstruieren eines Log-Log-Diagramms verwenden, das die Fibrinogen-Konzentration im Vergleich zur Gerinnungszeit aufzeichnet. Ausgleichsgerade ziehen. Diagramm prüfen und ggf. nicht-lineare Punkte auslassen. Das endgültige Diagramm muss aus mindestens drei aufeinanderfolgenden Punkten bestehen. Ein Diagramm, das ausschließlich die linearsten Punkte enthält, produziert die genauesten Ergebnisse bei den Kontroll- und Patientenproben.

C. Gerinnungszeit der Qualitätskontroll- und Patientenproben im Diagramm und den entsprechenden Fibrinogen-Wert ermitteln. Wenn die Gerinnungszeiten für die 1:10-Verdünnung außerhalb der linearen Kurve fallen, je nach Bedarf 1:5- oder 1:20-Verdünnungen vorbereiten. Wenn die Probe in einem Verhältnis von 1:5 verdünnt wird, das Ergebnis der Standardkurve durch 2 dividieren, bei einer 1:20-Verdünnung, das Ergebnis der Kurve mit 2 multiplizieren, um das endgültige Ergebnis zu erhalten.

VII. Grenzen des Verfahrens

A. Dem Thrombininhibitor Trinatriumcitrat sofort Blut hinzugeben und vorsichtig mischen. EDTA und Heparin sind keine geeigneten Thrombininhibitoren.

B. Hämolyse kann eine Aktivierung der Gerinnungsfaktoren und eine Störung bei der Endpunkterkennung verursachen. Icteriche und lipämische Proben können für Endpunkterkennungsmethoden ebenfalls ungeeignet sein.

C. Die Proben sollten nur mit wasserabweisenden Oberflächen in Kontakt kommen.

D. Das Verhältnis von Blut zu Antikoagulans beträgt in der Regel 9:1 und resultiert in einer Zitratkonzentration von 10,9-12,9 mmol/L. Diese Konzentration muss für Patienten angepasst werden, deren Hämatokritwerte über 55 % liegen. Siehe NCCLS-Dokument H21-A3.^{1,2}

E. Das Einfrieren und Auftauen von Restzudellen enthaltendem Plasma verursacht eine Beschädigung der Zellmembranen, die sich auf die Ergebnisse auswirken kann.

F. Akute entzündliche Reaktionen können den Faktor I (Fibrinogen) erhöhen.³

G. Fibrinogen-Degradationsprodukte (FDP) können Gerinnungszeiten verlängern, besonders, wenn der Fibrinogengehalt unterhalb von 150 mg/dL liegt.³

H. Bei Patienten mit qualitativen Fibrinogenanomalien kann der Test für die Thrombin-Gerinnungszeit auf einen niedrigen Fibrinogengehalt hinweisen. Die quantitativen Fibrinogen-Ergebnisse können unter Verwendung anderer Testmethoden bei diesen Proben normal sein.^{1,4}

I. Bei therapeutischen Spiegeln hat Heparin keine Auswirkungen. Sehr hohe Heparinspiegel können jedoch niedrige Fibrinogen-Ergebnisse verursachen.³ Wenn eine Interferenz durch Heparin vermutet wird, kann das Thrombin in diesem Test durch das Enzym Batroxobin ersetzt werden.

J. Fibrinogen-Assays können durch hohe Paraproteinspiegel, Thrombin-Antikörper und das fibrinolytische System aktivierende Medikamente beeinträchtigt werden.³

K. Das Fibrinogen Assay Set und einzelne Komponenten sind für eine Verwendung bei einer Temperatur von 37 ° C vorgesehen. Das ordnungsgemäße Funktionieren aller Heizelemente ist sicherzustellen.

VIII. Erwartete Werte:

Laboratorien sollten für Fibrinogen-Messungen ein normales Referenzintervall festlegen. Das normale Referenzintervall beträgt in der Regel 150-350 mg/dL (1,5-3,5 g/L).³

IX. Leistungsmerkmale

A. Genauigkeit: Normales Plasma



Pacific Hemostasis

840155 (R3)

Fibrinogen Assay Set (100 tests) ou l'un des composants suivants : Fibrinogen Reference Plasma Bovine Thrombin (200 ou 500 NIH par flacon) Imidazole Buffered Saline

I. Utilisation prévue

Pacific Hemostasis® Fibrinogen Assay Set, Fibrinogen Reference Plasma, Imidazole Buffer Saline (IBS), et Bovine Thrombin 200 et 500 sont destinés à être utilisés dans la détermination quantitative du fibrinogène dans les échantillons de plasma.

II. Résumé et principes

Le dosage du fibrinogène lors du temps de thrombine est basé sur la méthode décrite à l'origine par Claus. En présence de concentrations élevées en thrombine, le temps nécessaire à la formation d'un caillot dans le plasma dilué est inversement proportionnel à la concentration en fibrinogène.

III. Réactifs

Pour utilisation diagnostique *in vitro*. Stocker tous les réactifs non ouverts entre 2 et 8 °C.

Composition :

Bovine Thrombin 200 ou 500 (environ 100 unités NIH/mL): thrombine bovine tamponnée lyophilisée. Reconstituer avec de l'eau distillée conformément aux instructions figurant sur l'étiquette du flacon. Agiter doucement jusqu'à ce que la solution soit uniforme. Le matériel reconstitué est stable pendant 7 jours entre 2 et 8 °C, ou 8 heures entre 15-30°C, ou peut être congelé dans les 4 heures pour être utilisé dans les 30 jours.⁵ Décongeler rapidement à 37 °C. Ne pas recongeler.⁶

Fibrinogen Reference Plasma: plasma humain recueilli à l'aide d'anticoagulant (citrate de sodium). On ajoute moins de 1,0 % de stabilisateurs et de tampon avant lyophilisation. Reconstituer avec 1,0 mL d'eau distillée. Agiter doucement jusqu'à ce que la solution soit uniforme. Le matériel reconstitué est stable pendant 8 heures entre 2 et 8 °C.⁷

Imidazole Tampon Saline (IBS): tampon d'imidazole en solution saline, pH 7,4 ± 0,2, contenant 0,1 % d'azide de sodium (conservateur).

Attention : Chacun des éléments entrant dans la préparation de Fibrinogen Reference Plasma a subi des tests homologués par la FDA, et a été déclaré non réactif au HBsAg et négatif aux anticorps du VIH et du HCV. Toutefois, aucune méthode de test connue ne peut offrir la garantie que des produits provenant de sang humain ne transmettront pas l'hépatite, le SIDA, ou toute autre maladie infectieuse. Ce produit, ainsi que tout produit d'origine humaine, doit être considéré comme potentiellement infectieux.

Attention : L'IBS contient 0,1 % d'azide de sodium. Dans un environnement acide, l'azide de sodium produit de l'acide hydrazoïque, composé extrêmement toxique. Diluer à l'eau courante avant d'éliminer ces composés, puis faire couler de grandes quantités d'eau. Ces précautions sont indispensables pour éviter les dépôts dans les conduites métalliques, qui peuvent produire des composés explosifs.

Un manque de vide dans les flacons de Fibrinogen Reference Plasma ou de Thrombin, des résultats aberrants, ou des variations de couleur du produit peuvent indiquer une détérioration. Cependant, d'autres facteurs relatifs au système de test peuvent nuire aux performances des contrôles.

IV. Prélèvement d'échantillon

Il est recommandé d'ajouter 3,2 % (0,109 M) de citrate trisodique comme anticoagulant lors des tests de coagulation. Éviter l'hémolyse et la contamination par des liquides tissulaires. Les échantillons contenant moins de 90 % du volume de remplissage escompté doivent être éliminés. Centrifuger le sang pendant 15 minutes à 1500 x g. Effectuer le dosage dans les 2 heures si les échantillons sont conservés entre 22 et 24 °C. Pour plus de détails sur le prélèvement et le stockage d'échantillon, consulter le Document H21-A3 du NCCLS.²

V. Procédure de test

Matériel fourni :

Pacific Hemostasis Fibrinogen Assay Set : 100 tests :

Bovine Thrombin 200 : cinq flacons de 2,0 mL

Fibrinogen Reference Plasma : trois flacons de 1,0 mL

Imidazole Tampon Saline : un flacon de 135 mL

Remarque : Bovine Thrombin 200, Bovine Thrombin 500, Fibrinogen Reference Plasma et Imidazole Tampon Saline peuvent également être achetés séparément.

Matériel nécessaire mais non fournis :

Tubes à essai en plastique

Pipettes de précision : 0,1 mL et 0,2 mL

Pipettes sérologiques

Contrôles normaux et anormaux, tels les Coagulation Control Niveau 1, les Low Fibrinogen Control Plasma et High Fibrinogen Control Plasma de Pacific Hemostasis.

Fibrinogen Assay Set et ses composants peuvent être utilisés avec les méthodes de détection des caillots au point de virage, qu'elles soient manuelles, mécaniques ou à cellule photoélectrique. Pour les instruments automatisés et semi-automatisés, suivre les instructions du fabricant. Pour les méthodes de test manuelles et mécaniques :

- Préparer au moins cinq dilutions différentes du Fibrinogen Reference Plasma reconstitué dans l'IBS. Diluer le plasma à au moins 1:3 afin de minimiser les facteurs interférents.³
- Diluer les échantillons de contrôle de qualité et du patient à 1:10 dans l'IBS.
- Préchauffer 0,2 mL de chaque dilution à 37 °C pendant 4 à 6 minutes.
- Ajouter 0,1 mL de réactif Bovine Thrombin à la dilution préchauffée et chronométrer la formation du caillot. Ne pas préchauffer la thrombine.

- La fréquence de préparation de la courbe est en partie déterminée par la méthode utilisée pour la détection des caillots. Toujours établir une nouvelle courbe à chaque changement de lot de réactif, d'instrument, ou lorsque les contrôles ne sont plus compris dans les intervalles prédéfinis.²

VI. Résultats

- Le plasma dilué à 1:10 représente 100 % de la valeur attribuée. Le facteur de dilution indique la relation entre la dilution à 1:10 et les autres dilutions.

À titre d'exemple :

Standard = 304 mg/dl de fibrinogène (Chaque laboratoire doit établir des courbes correspondant à ses réactifs et instruments.)⁸

Dilution	Facteur de dilution	Fibrinogène (mg/dL)	TC moy. (secondes)
1:3.5	10/3,5 = 2,9	304 x 2,9 = 882	5,8
1:5	10/5 = 2	304 x 2 = 608	7,3
1:10	10/10 = 1	304 x 1 = 304	13,4
1:15	10/15 = 0,67	304 x 0,67 = 204	20,8
1:35	10/35 = 0,29	304 x 0,29 = 88	49,2

- Calculer la moyenne des divers temps de coagulation en arrondissant au dixième de seconde le plus proche. Utiliser les cinq points d'étalement pour établir une courbe logarithmique indiquant la concentration en fibrinogène par rapport au temps de coagulation. Tracer la ligne droite de l'ajustement optimal. Examiner la courbe et, si nécessaire, omettre les points ne figurant pas sur cette droite. La courbe finale doit comprendre au moins trois points consécutifs. L'établissement de la courbe uniquement à l'aide des points les plus linéaires permet de déterminer le meilleur recouvrement sur les contrôles et les échantillons des patients.

- Déterminer le temps de coagulation des échantillons du contrôle de qualité et des patients sur la courbe et lire la valeur en fibrinogène correspondante. Si les temps de coagulation pour la dilution à 1:10 ne correspondent pas à la courbe linéaire, préparer des dilutions à 1:5 ou à 1:20 si nécessaire. Si l'échantillon est dilué à 1:5, diviser le résultat de la courbe étalon par 2 ; si l'échantillon était dilué à 1:20, multiplier le résultat de la courbe par 2 pour obtenir la valeur finale.

VII. Limites

- Il convient d'ajouter immédiatement le sang au citrate de trisodium (anticoagulant) et de mélanger doucement. L'EDTA et l'héparine ne sont pas des anticoagulants adéquats.
- L'hémolyse peut activer des facteurs de la coagulation et interférer sur la détection en point final. Les échantillons iotériques et lipémiques ne conviennent pas non plus aux méthodes de détection en point final.
- L'échantillon doit n'entrer en contact qu'avec des surfaces non mouillables.
- Le rapport entre sang et anticoagulant est généralement de 9:1 et donne une concentration en citrate de 10,9 à 12,9 mmol/L. Cette concentration doit être adaptée aux patients dont le taux d'hématocrite est supérieur à 55 %. Consulter le Document H21-A3 du NCCLS.^{1,2}
- Les échantillons de plasma congelés ou en cours de décongélation qui contiennent des cellules résiduelles produisant des membranes cellulaires abîmées qui peuvent altérer les résultats.
- Des réactions inflammatoires aiguës peuvent entraîner une hausse du Facteur I (fibrinogène) circulant.³
- Un taux élevé de produits de dégradation du fibrinogène (PDF) peuvent prolonger le temps de coagulation, notamment lorsque le taux de fibrinogène est inférieur à 150 mg/dl.³
- Chez les patients présentant des anomalies qualitatives du fibrinogène, le test du temps de thrombine peut indiquer une diminution du fibrinogène. Les résultats quantitatifs du fibrinogène peuvent s'avérer normaux pour ces échantillons si testés par d'autres méthodes.^{3,4}
- L'héparine n'interfère pas à des niveaux thérapeutiques. Cependant, des taux d'héparine très élevés peuvent faire baisser les taux de fibrinogène.³ La batroxobine (enzyme) peut remplacer la thrombine dans ce test si une interférence de l'héparine est suspectée.
- Des taux élevés de paraprotéine, des anticorps anti-thrombine et des médicaments qui activent le système fibrinolytique peuvent interférer avec les dosages du fibrinogène.⁶
- Le Fibrinogène Assay Set et ses composants sont conçus pour être utilisés à 37 °C. Vérifier le bon fonctionnement de tous les éléments chauffants.

VIII. Valeurs attendues Les laboratoires doivent établir un intervalle de référence normal pour les mesures du fibrinogène. En général, l'intervalle de référence normal est de 150 à 350 mg/dL (de 1,5 à 3,5 g/L).³

IX. Caractéristiques des performances

- Précision :** Des échantillons de plasma à fibrinogène faible, normal, et élevé ont été testés dans de nombreux laboratoires à l'aide de réactifs Pacific Hemostasis. Ces résultats ont été comparés aux résultats obtenus par de nombreux utilisant des réactifs d'autres fabricants.⁸

Échantillon	Pacific Hemostasis	n =	Tous les réactifs	n =
Faible :	144 mg/dL	10	163 mg/dL	195
Normal :	294 mg/dL	10	297 mg/dL	195
Élevé :	488 mg/dL	16	474 mg/dL	390

- Précision :** Des échantillons de plasma à fibrinogène faible, normal, et élevé ont été testés sur une période de plusieurs jours à l'aide de réactifs Pacific Hemostasis sur un instrument à cellule photoélectrique. Dix courbes étalon ont été établies pour chaque journée de test, pour un total de 30 courbes étalon. Le CV a été établi à 5,9 % (faible), 3,4 % (normal), et 2,9 % (élevé).¹⁰

X. Références

- Claus, A. *Acta Haemat.* 17:237-246, 1957.
- NCCLS: *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays.* 2nd edition. Approved guideline. NCCLS Document H21-A3. Wayne, PA., 1998.
- NCCLS: *Procedure for determining fibrinogen in plasma. Approved guideline.* NCCLS Document H30-A2. Wayne, PA., 2001.
- Musgrave, K.A., Bick, R.L.: *Quality Assurance in the Hemostasis Laboratory.* In Bick, R.L., et al, editors: *Hematology: Clinical and Laboratory Practice.* Vol. 2, pp1309-1315. Mosby. St. Louis, MO., 1993.
- 5-7. Données de stabilité provenant du DHF.
- 8-10. Données figurant dans le dossier 510(k).

FRANÇAIS



Pacific Hemostasis

840155 (R3)

Fibrinogen Assay Set (100 pruebas) o uno de los siguientes componentes: Fibrinogen Reference Plasma Bovine Thrombin (200 ó 500 NIH por vial) Imidazole Buffered Saline

I. Uso previsto

Los productos Pacific Hemostasis® Fibrinogen Assay Set, Fibrinogen Reference Plasma, Imidazole Buffered Saline (IBS) y Bovine Thrombin 200 y 500 se utilizan en la determinación cuantitativa de fibrinogeno en las muestras de plasma.

II. Resumen y fundamento

La determinación de fibríogeno por el tiempo de coagulación de trombina está basada en el método descrito por Claus.¹ En presencia de altas concentraciones de trombina, el tiempo necesario para la formación del coágulo en el plasma diluido es inversamente proporcional a la concentración de fibrinogéno.

III. Reactivos

Para uso diagnóstico *in vitro*. Conservar todos los reactivos sin abrir a 2–8 °C.

Composición :

Bovine Thrombin 200 ó 500 (aproximadamente 100 unidades NIH/mL): Trombina bovina tamponada y liofilizada. Reconstituir con agua destilada según indica la etiqueta del frasco. Agitar suavemente hasta su completa disolución. El material reconstituido es estable durante 7 días a una temperatura entre 2 y 8 °C, o 8 horas a 15-30°C, o puede ser congelado antes de las 4 horas para usarlo dentro de los 30 días⁵. Descongelar rápidamente a 37 °C. No volver a congelar⁶.

Fibrinogen Reference Plasma: Plasma humano recogido con citrato de sodio como anticoagulante. Se añaden <1,0 % de estabilizantes y soluciones tampón antes de la liofilización. Reconstituir con 1,0 mL de agua destilada. Agitar suavemente hasta su completa disolución. El material reconstituido es estable durante 8 horas a 2–8 °C.⁷

Imidazole Buffered Saline (IBS): Solución tampón de imidazol en solución salina, pH 7,4 ± 0,2, con azida sódica al 0,1 % como conservante.

Precaución : Todas las unidades de material de origen utilizadas en la preparación del Fibrinogen Reference Plasma han sido analizadas por un método homologado por la FDA, resultando no reactivas para HBsAg y negativas para los anticuerpos de VIH y VHC. Sin embargo, ningún método conocido puede ofrecer la seguridad completa de que los productos derivados de sangre humana no transmitirán hepatitis, SIDA u otras enfermedades infecciosas. Estos productos, como todos los materiales de origen humano, deben manipularse como materiales biológicos potencialmente infecciosos.

Advertencia : La IBS contiene azida sódica al 0,1 %. En un medio ácido, la azida sódica produce ácido hidrazoico, un compuesto muy tóxico. Diluir con agua corriente antes de desecharla, y luego aclarar con agua abundante. Se recomienda seguir estas precauciones a fin de evitar la acumulación de residuos en las tuberías de metal, que pueden generar condiciones explosivas.

La ausencia de vacío en los frascos del Fibrinogen Reference Plasma o Trombina, los valores erróneos o las variaciones de color pueden ser indicativos del deterioro del producto. Sin embargo, un funcionamiento deficiente también puede deberse a otros factores de la prueba.

IV. Recogida de muestras

Para las pruebas de coagulación se recomienda utilizar como anticoagulante, citrato trisódico ad 3,2 % (0,109 M). Evitar las hemólisis y la contaminación por los fluidos tisulares. Rechazar las muestras con volumen de llenado inferior al 90 % del volumen esperado. Centrifugar la sangre durante 15 minutos a 1500 x g. Realizar la prueba antes de las 2 horas de la extracción si las muestras han sido conservadas a 22–24 °C. Para más información sobre la recogida y conservación de muestras, consultar el documento H21-A3 del NCCLS.²

V. Procedimiento de la prueba

Material suministrado :

Pacific Hemostasis Fibrinogen Assay Set : 100 determinaciones:

Bovine Thrombin 200 : 5 frascos de 2,0 mL

Fibrinogen Reference Plasma : 3 frascos de 1,0 mL

Imidazole Buffered Saline : un frasco de 135 mL

Nota : Los productos Bovine Thrombin 200, Bovine Thrombin 500, Fibrinogen Reference Plasma e Imidazole Buffered Saline también pueden adquirirse por separado.

Material necesario pero no suministrado:

Tubos de ensayo de plástico

Pipetas de precisión: 0,1 y 0,2 mL

Pipetas serológicas

Controles normales y anormales, tales como Pacific Hemostasis Level 1 Coagulation Control, Low Fibrinogen Control y High Fibrinogen Control Plasmas.

El equipo de reactivos par determinación de fibrinogéno y los componentes individuales son adecuados para usuarios con métodos manuales, mecánicos o fotoopticos para la detección del punto final de formación del coágulo. En el caso de instrumentos automáticos y semiautomáticos, seguir las instrucciones del fabricante. En métodos de prueba manuales y mecánicos:

- Preparar un mínimo de cinco diluciones diferentes del Fibrinogen Reference Plasma reconstituido en IBS. Diluir el plasma al menos 1:3 para minimizar los factores interferentes³.
- Diluir el control de calidad y las muestras de pacientes a 1:10 en IBS.
- Precalentar 0,2 mL de cada dilución a 37 °C durante 4–6 minutos.
- Añadir 0,1 mL del reactivo de Bovine Thrombin a la dilución precalentada y cronometrar la formación del coágulo. No precalentar la trombina.

ESPAÑOL

- La frecuencia de la preparación de la curva de calibración viene parcialmente determinada por el método de detección de coágulos utilizado. Prepare siempre una nueva curva cada vez que cambie el lote de reactivo o el instrumento, o cuando los resultados de los controles no se encuentren dentro de los intervalos establecidos⁵.

VI. Resultados

- El plasma diluido a 1:10 representa el 100 % del valor asignado. El factor de dilución indica la relación entre la dilución a 1:10 y las demás diluciones.

Sólo a modo de ejemplo :

Estándar = 304 mg/dL de fibrinogéno (cada laboratorio debe preparar curvas con sus propios reactivos e instrumentos)⁸.

Dilución	Factor de dilución	Fibrinógeno (mg/dL)	TC medio (segundos)
1:3.5	10/3,5 = 2,9	304 x 2,9 = 882	5,8
1:5	10/5 = 2	304 x 2 = 608	7,3
1:10	10/10 = 1	304 x 1 = 304	13,4
1:15	10/15 = 0,67	304 x 0,67 = 204	20,8
1:35	10/35 = 0,29	304 x 0,29 = 88	49,2

- Calcular la media de los tiempos de coagulación duplicados al 0,1 de segundo más próximo. Utilizar los cinco puntos del calibrator para crear una curva log-log que represente la concentración de fibrinogéno frente al tiempo de coagulación. Trazar la línea recta que mejor se ajuste a los cinco puntos. Examinar la curva y, si es necesario, omitir los puntos no lineales. La curva final debe constar de tres puntos consecutivos como mínimo. La creación de la curva sólo con los puntos más lineales producirá la mejor recuperación de las concentraciones de los controles y de las muestras de paciente.

- Buscar el tiempo de coagulación del control de calidad y de las muestras de pacientes en la curva y leer el valor de fibrinogéno correspondiente. Si los tiempos de dilución a 1:10 se encuentran fuera de la curva lineal, preparar diluciones a 1:5 ó 1:20, según sea necesario. Si la muestra se diluye a 1:5, dividir el resultado de la curva estándar por 2 ; si la muestra se diluyó a 1:20, multiplicar el resultado de la curva por 2 para obtener el resultado final.

VII. Limitaciones

- La sangre debe añadirse inmediatamente al anticoagulante de citrato de trisódico y luego mezclarlos cuidadosamente. EDTA y heparina no son anticoagulantes adecuados.
- La hemólisis puede causar activación de los factores de coagulación e interferencia en la detección del punto final.
- La muestra sólo debe estar en contacto con superficies que no puedan mojarse.
- La proporción de sangre y anticoagulante generalmente es de 9:1 y da como resultado una concentración de citrato de 10,9 a 12,9 mmol/L. Esta concentración debe ajustarse en pacientes con hematocritos superiores al 55 %. Consultar el documento H21-A3 del NCCLS.^{1,2}
- La congelación y posterior descongelación del plasma con células residuales puede romper las membranas de las células, afectando adversamente a los resultados.
- Las reacciones inflamatorias agudas pueden aumentar el factor I circulante (fibrinogéno).³
- Los fragmentos grandes de degradación de fibrinogéno (FDP) pueden prolongar los tiempos de coagulación, especialmente cuando el nivel de fibrinogéno es inferior a 150 mg/dL.³
- En pacientes con anormalidades cualitativas de fibrinogéno, la determinación con el tiempo de trombina puede indicar un fibrinogéno bajo. Los resultados cuantitativos de fibrinogéno pueden ser normales en estas mismas muestras, si éstas se analizan con otros métodos.^{3,4}
- La heparina a niveles terapéuticos no interfiere. Sin embargo, los niveles de heparina muy altos pueden causar resultados de fibrinogéno bajo.³ La trombina puede ser sustituida por la enzima batroxobina en este ensayo si se sospecha una interferencia de la heparina.
- Los niveles altos de paraproteína, de anticuerpos de trobina y de fármacos que activan el sistema fibrinolítico pueden interferir en las determinaciones de fibrinogéno.⁶
- El Fibrinogen Assay Set y los componentes individuales están diseñados para funcionar a 37 °C. Asegurarse de que todos los elementos calefactores funcionan correctamente.

VIII. Valores previstos: Los laboratorios deben establecer un intervalo de referencia normal para las determinaciones de fibrinogéno. Generalmente, el intervalo de referencia normal es de 150 a 350 mg/dL (de 1,5 a 3,5 g/L).³

IX. Características de funcionamiento

- Precisión :** Se sometieron a prueba plasmas con una tasa de fibrinogéno baja, normal y alta en varios laboratorios utilizando reactivos de Pacific Hemostasis. Los resultados fueron comparados con los obtenidos utilizando reactivos de otros fabricantes en varios laboratorios.⁸

Muestra	Pacific Hemostasis	n =	Todos los reactivos	n =
Bajo :	144 mg/dl	10	163 mg/dL	195
Normal :	294 mg/dl	10	297 mg/dL	195
Alto :	488 mg/dl	16	474 mg/dL	390

- Exactitud:** Se sometieron a prueba plasmas con fibrinogéno bajo, normal y alto durante e fibrinogéno bajo, normal y alta durante múltiples días utilizando reactivos de Pacific Hemostasis en un instrumento fotooéctrico. En cada día de prueba se determinaron diez curvas estándar, obteniendo un total de 30. El porcentaje del cociente de variación fue de 5,9 % (bajo), 3,4 % (normal) y 2,9 % (alto).¹⁰

X. Bibliografía

- Claus, A. *Acta Haemat.* 17:237-246, 1957.
- NCCLS: *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays.* 2nd edition. Approved guideline. NCCLS Document H21-A3. Wayne, PA., 1998.
- NCCLS: *Procedure for determining fibrinogen in plasma. Approved guideline.* NCCLS Document H30-A2. Wayne, PA., 2001.
- Musgrave, K.A., Bick, R.L.: *Quality Assurance in the Hemostasis Laboratory.* In Bick, R.L., et al, editors: *Hematology: Clinical and Laboratory Practice.* Vol. 2, pp1309-1315. Mosby. St. Louis, MO., 1993.
- 5-7. Los datos de estabilidad proceden de DHF.
- 8-10. Información procedente de un archivo de 510(K).

POUR COMMANDER			
Réf. Cat.	Description	Contenu	
100600	Fibrinogen Assay Set	100 tests	
100602	Fibrinogen Reference Plasma	10 x 1 mL	
100604	Low Fibrinogen Control Plasma	10 x 1 mL	
100607	High Fibrinogen Control Plasma	10 x 1 mL	
100595	Coagulation Control Plasma, niveau 1	10 x 1 mL	
100601	Bovine Thrombin 200 (100 NIH/mL)	10 x 2 mL	
100606	Bovine Thrombin 500 (100 NIH/mL)	10 x 5 mL	
100647	Imidazole Buffered Saline	2 x 135 mL	

GARANTIE LIMITÉE DE FISHER DIAGNOSTICS®

Fisher Diagnostics (FD) garantit à l'acquéreur le bon fonctionnement des produits FD, tel que décrit sur l'étiquette et dans les modes d'emploi. Il revient à l'acquéreur de décider si les produits FD sont adaptés à ses besoins spécifiques. La seule obligation de FD consiste soit à remplacer un produit non conforme ou défectueux, soit à rembourser le prix d'achat, à sa discrétion. FD DÉCLINE TOUTE RESPONSABILITÉ QUANT AUX AUTRES GARANTIES, EXPLICITES OU IMPLICITES, Y COMPRIS LES GARANTIES DE COMMERCIALILITE, ET L'ADÉQUATION DU PRODUIT À TOUTE AUTRE UTILISATION. FD, ni aucune de ses filiales, ne peut en aucun cas être tenue pour responsable d'un incident entraînant une perte ou un dommage quelconque.

Pacific Hemostasis® est une marque déposée de Fisher Scientific Company L.L.C. Fisher Diagnostics® est une marque déposée de Fisher Scientific Company L.L.C.



MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL
Royaume-Uni



Pacific Hemostasis

840155 (R3)

Fibrinogen Assay Set (100 determinazioni) oppure uno solo dei seguenti componenti: Fibrinogen Reference Plasma Bovine Thrombin (200 oppure 500 NH a fiala) Imidazole Buffered Saline

I. Uso previsto

I prodotti Pacific Hemostasis® Fibrinogen Assay Set, Fibrinogen Reference Plasma, Imidazole Buffered Saline (IBS) e Bovine Thrombin 200 e 500 sono stati studiati per la determinazione quantitativa del fibrinogeno nei campioni di plasma.

II. Riepilogo e principi del test

Il dosaggio del fibrinogeno nel tempo di coagulazione con trombina si basa sul metodo originariamente descritto da Clauss.¹ In presenza di elevate concentrazioni di trombina, il tempo richiesto per la formazione del coagulo nel plasma diluito è inversamente proporzionale alla concentrazione di fibrinogeno.

III. Reagenti

Per diagnostica *in vitro*.
Conservare i reagenti nei flacone chiuse a 2–8 °C.

Composizione:

Bovine Thrombin 200 o 500 (circa 100 NIH Unità/mL): Bovine Thrombin tamponata liofilizzata. Ricostituire con acqua distillata come riportato sull'etichettadel flacone. Agitare dolcemente fino al completo scioglimento. Il materiale ricostituito si mantiene stabile per 7 giorni a 2–8 °C, oppure 8 ore a 15-30° oppure può essere congelato entro 4 ore dall'uso per 30 giorni.¹ Scongelare rapidamente a 37 °C. Non congelare nuovamente.⁴

Fibrinogen Reference Plasma: plasma umano raccolto con anticoagulante al citrato di sodio. Prima di procedere alla liofilizzazione vengono aggiunti stabilizzanti e tamponi nella misura del <1,0 %. Ricostituire con 1,0 mL di acqua distillata. Agitare dolcemente fino al completo scioglimento. Il materiale ricostituito si mantiene stabile per 8 ore a 2–8 °C.¹

Imidazole Buffered Saline (IBS): tampone all'imidazolo in soluzione salina, pH 7,4 ± 0,2, con 0,1 % di sodio azide come conservante.

Attenzione: ciascuna unità del materiale originale utilizzata per la preparazione del Fibrinogen Reference Plasma è stata testata tramite un metodo approvato della FDA ed è risultata non reattiva per HBsAg e negativa per gli anticorpi all'HIV e all'HCV. Ciononostante nessun test noto è in grado di garantire al 100 % che i prodotti ottenuti dal sangue umano non possano di trasmettere epatite, AIDS o altre infezioni. Questo prodotto, come tutti i materiali di origine umana, deve essere trattato alla stregua dei materiali biologici potenzialmente infettivi.

Avvertenza: IBS contiene 0,1 % di sodio azide.Sodio azide in condizioni acide rilascia acido idrazoico, un componente altamente tossico. Diluire con acqua corrente prima di smaltire e sciacquare con abbondante acqua. Queste precauzioni servono ad impedire la formazione di depositi nelle tubazioni metalliche in cui potrebbero svilupparsi delle condizioni esplosive.

La perdita del vuotonei flaconi di Fibrinogen Reference Plasma o della trombina, dei valori irregolari o alterazioni del colore potrebbero indicare un deterioramento del prodotto. In ogni caso, prestazioni scadenti potrebbero essere dovute ad altri fattori legati al sistema di test.

IV. Raccolta dei campioni

Per il test sulla coagulazione si raccomanda l'uso dell'anticoagulante al citrato trisodico al 3,2 % (0,109 M). Evitare l'emolisi e la contaminazione da parte dei liquidi tissutali. Non utilizzare i campioni con un volume di riempimento previsto inferiore al 90 %. Centrifugare il sangue per 15 minuti a 1500 x g. Nel caso in cui i campioni siano mantenuti a una temperatura di 22–24 °C, eseguire l'analisi entro 2 ore. Per maggiori informazioni sulla raccolta e sulla conservazione dei campioni vedere il documento NCCLS H21-A3.²

V. Procedura del test

Materiali in dotazione:

Pacific Hemostasis Fibrinogen Assay Set - 100 determinazioni:

Bovine Thrombin 200: cinque flaconi da 2,0 mL

Fibrinogen Reference Plasma: tre flaconi da 1,0 mL

Imidazole Buffered Saline: un flacone da 135 mL

Nota: è possibile acquistare anche separatamente Bovine Thrombin 200, Bovine Thrombin 500, Fibrinogen Reference Plasma e Imidazole Buffered Saline.

Materiali necessari, ma non in dotazione:

Provette di plastica

Pipettatrici di precisione: da 0,1 e 0,2 mL

Pipette sierologiche

Controlli normali ed patologici quali i prodotti Pacific Hemostasis Level 1 Coagulation Control, Low Fibrinogen Control e High Fibrinogen Control Plasmas.

Il Fibrinogen Assay Set ed i singoli componenti sono indicati in caso di metodi di per l'uso con metodi di rilevazione del coagulo manuale, meccanico oppure foto-ottico. Per la strumentazione automatica e semiautomatica attenersi alle istruzioni della ditta produttrice della strumentazione. Per i metodi di analisi manuale e meccanica:

- Preparare almeno cinque diverse diluizioni del Fibrinogen Reference Plasma ricostituito in IBS. Diluire il plasma almeno nel rapporto di 1:3 per ridurre al minimo i fattori di interferenza.³
- Diluire il controllo di qualità ed i campioni del paziente in IBS nel rapporto di 1:10.
- Preiscaldare 0,2 mL di ciascuna diluizione a 37 °C per 4–6 minuti.
- Aggiungere 0,1 mL di reagente della Bovine Thrombin alla diluizione preiscaldata e cronometrare la formazione del coagulo. Non preiscaldare la trombina.

- La frequenza della preparazione della curva è in parte determinata dal metodo di rilevamento del coagulo utilizzato. Preparare sempre una nuova curva ad ogni cambio del lotto del reagente, della strumentazione oppure ogniqualvolta i controlli non rientrano più nel range stabiliti.²

VI. Risultati

- Il plasma diluito ad 1:10 rappresenta il 100% del valore assegnato. Il fattore di diluizione indica il rapporto che intercorre tra la diluizione 1:10 ed altre diluizioni.

Esempio:

Standard = 304 mg/dL fibrinogeno (ciascun laboratorio è tenuto a preparare le curve con i propri reagenti e la propria strumentazione.)³

Diluizione	Diluizione fattore	Fibrinogeno (mg/dL)	CT medio (secondi)
1:3,5	10/3,5 = 2,9	304 x 2,9 = 882	5,3
1:5	10/5 = 2	304 x 2 = 608	7,3
1:10	10/10 = 1	304 x 1 = 304	13,4
1:15	10/15 = 0,67	304 x 0,67 = 204	20,8
1:35	10/35 = 0,29	304 x 0,29 = 88	49,2

- Calcolare il valore medio dei duplicati dei tempi di coagulazione arrotondando al decimo di secondo. Utilizzare tutti e cinque i punti del calibratore per costruire una curva logaritmica che rappresenti la concentrazione del fibrinogeno rispetto al tempo di coagulazione. Disegnare una retta del risultato migliore. Esaminare la curva e, se necessario, omettere i punti non lineari. La curva definitiva deve essere formata da almeno tre punti consecutivi. la costruzione della curva utilizzando esclusivamente i punti più lineari consentirà di ottenere il miglior rilevamento dei campioni di controllo e del paziente.
- Ricavare dalla curva il tempo di coagulazione del controllo di qualità e dei campioni del paziente e leggere il corrispondente valore del fibrinogeno. Se i tempi di coagulazione relativi alla diluizione 1:10 cadono al di fuori della curva lineare, preparare delle diluizioni 1:5 oppure 1:20. Se il campione è stato diluito in rapporto 1:5, dividere per 2 il risultato ottenuto dalla curva standard; se il campione è stato diluito in rapporto 1:20, moltiplicare per 2 il risultato della curva per ottenere il risultato finale.

VII. Limitazioni

- Aggiungere immediatamente il sangue all'anticoagulante a base di citrato trisodico e miscelare dolcemente. EDTA ed eparina non sono adatti come anticoagulanti.
- L'emolisi può attivare il fattore di coagulazione ed interferire nel rilevamento del punto finale. I campioni itterici e lipemici potrebbero risultare inappropriati per i metodi di rilevamento del punto finale.
- Il campione deve venire a contatto esclusivamente con superfici non umidificabili.
- Il rapporto del sangue rispetto all'anticoagulante è generalmente pari a 9:1 e dà luogo ad una concentrazione di citrato compresa tra 10,9 e 12,9 mmol/L. Nel caso di pazienti con ematocrito superiore al 55 % è necessario regolare tale concentrazione. Fare riferimento al documento NCCLS H21-A3.¹
- El congelamento e lo scongelamento del plasma contenente cellule residue può danneggiare le membrane delle cellule compromettendo i risultati.
- Gravi reazioni infiammatorie possono aumentare il fattore I circolante (fibrinogeno).
- Un'elevata concentrazione di prodotti di degradazione del fibrinogeno (FDP) potrebbe prolungare i tempi di coagulazione soprattutto nel caso in cui il livello del fibrinogeno risulti inferiore a 150 mg/dL.³
- Nei pazienti con gravi anomalie qualitative del fibrinogeno, l'analisi del tempo di coagulazione della trombina potrebbe indicare un decremento del fibrinogeno. I risultati quantitativi del fibrinogeno potrebbero risultare normali sugli stessi campioni in caso di utilizzo di altri metodi.^{3,4}
- L'eparina non interferisce sui livelli terapeutici. In ogni caso, livelli molto elevati di eparina potrebbero dare luogo a bassi valori del fibrinogeno.³ Se si sospetta una simile interferenza da parte dell'eparina, in luogo della trombina in questa analisi è possibile utilizzare l'enzima batroxobina.
- Elevati livelli di paraproteina, anticorpi della trombina e farmaci in grado di attivare il sistema fibrinolitico possono interferire con l'analisi del fibrinogeno.³
- Il Fibrinogen Assay Set ed i singoli componenti sono stati studiati per operare a 37 °C. Accertarsi che tutti gli elementi riscaldanti funzionino correttamente.

VIII. Valori attesi: I laboratori devono stabilire intervalli di riferimento normali per le misurazioni del fibrinogeno. Generalmente un intervallo di riferimento normale è 150–350 mg/dL (1,5–3,5 g/L).³

IX. Caratteristiche delle prestazioni

- Accuratezza:** Un plasma con valore del fibrinogeno basso, normale ed alto è stato analizzato in diversi laboratori utilizzando i reagenti Pacific Hemostasis. I risultati sono stati confrontati con quelli ottenuti in vari laboratori utilizzando reagenti di altre ditte produttrici.²

Campione	Pacific Hemostasis	n =	Tutti i reagenti	n =
Basso:	144 mg/dL	10	163 mg/dL	195
Normale:	294 mg/dL	10	297 mg/dL	195
Alto:	488 mg/dL	16	474 mg/dL	390

- Precisione:** In giorni diversi è stato analizzato un plasma con valore del fibrinogeno basso, normale ed alto utilizzando i reagenti Pacific Hemostasis su strumentazione foto-ottica. In ogni giorno di prova sono state determinate dieci curve standard, per un totale di 30 curve standard. È stato riscontrato un CV percentuale pari a 5,9 % (basso), 3,4 % (normale) e 2,9 % (alto).¹⁰

X. Bibliografia

- Clauss, A. *Acta Haemat.* 17:237-246, 1957.
- NCCLS: *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays.* 2nd edition. Approved guideline. NCCLS Document H21-A3. Wayne, PA., 1998.
- NCCLS: *Procedure for determining fibrinogen in plasma. Approved guideline.* NCCLS Document H30-A2. Wayne, PA., 2001.
- Musgrave, K.A., Bick, R.L.: *Quality Assurance in the Hemostasis Laboratory.* In Bick, R.L., et al, editors: *Hematology: Clinical and Laboratory Practice.* Vol. 2, pp1309-1315. Mosby. St. Louis, MO., 1993.
- I dati relativi alla stabilità sono stati ottenuti da DHF.
- 8-10. Informazioni ottenute dal file 510(k).

INFORMAZIONI PER GLI ORDINI		
N. cat.	Descrizione	Contenuto
100600	Fibrinogen Assay Set	100 determinazioni
100602	Fibrinogen Reference Plasma	10 x 1 mL
100604	Low Fibrinogen Control Plasma	10 x 1 mL
100607	High Fibrinogen Control Plasma	10 x 1 mL
100595	Coagulation Control Plasma, Level 1	10 x 1 mL
100601	Bovine Thrombin 200 (100 NIH/mL)	10 x 2 mL
100606	Bovine Thrombin 500 (100 NIH/mL)	10 x 5 mL
100647	Imidazole Buffered Saline	2 x 135 mL

GARANZIA LIMITATA FISHER DIAGNOSTICS®

Fisher Diagnostics (FD) garantisce all'acquirente esclusivamente che i prodotti FD avranno prestazioni conformi a quanto descritto nell'etichetta e nella documentazione del prodotto. L'acquirente è tenuto ad accertare l'idoneità dei prodotti FD alle applicazioni specifiche. In caso di un prodotto non conforme o difettoso, l'unico obbligo di FD è rappresentato, a sua discrezione, dalla sostituzione oppure dal rimborso del prezzo di acquisto. FD RIFIUTA QUALSIASI ALTRA GARANZIA, ESPRESSA O IMPLICITA, INCLUSE LE GARANZIE DI COMMERCIALITÀ ED IDONEITÀ A QUALSIASI SCOPO PARTICOLARE. Né la FD né le sue affiliate saranno in alcun caso ritenute responsabili di perdite o danni incidentali o indiretti.

Pacific Hemostasis® è un marchio registrato di Fisher Scientific Company L.L.C.

Fisher Diagnostics® è un marchio registrato di Fisher Scientific Company L.L.C.



MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL
Regno Unito



Fisher Diagnostics®
Fisher Scientific Company L.L.C.
8365 Valley Pike
Middletown, VA 22645-0307, Stati Uniti
1-800-528-0494 solo per gli USA

ITALIANO

Symbols Key	
	Manufacturer Hersteller Fabricant Fabricante Fabbricante
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device Medizinprodukt für die <i>in-vitro</i> -Diagnostik Matériel médical pour utilisation diagnostique <i>in vitro</i> Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i> Dispositivo medico per diagnosi <i>in vitro</i>
	Lot Number Chargennummer Numéro de lot Número de lote Numero di lotto
	Use By Verfallsdatum Utiliser jusque Fecha de caducidad Da utilizzare entro
	Temperature Limitation Temperatureinschränkungen Limite de température Limite de temperatura Limiti di temperatura
	CE Mark CE-Markierung Marquage CE Marca CE Marchio CE
	Catalogue Number Katalognummer Référence catalogue Número de catálogo Numero di catalogo
	Consult Instructions for Use Bedienungsanleitung lesen Consulter le manuel d'utilisation Consultar las instrucciones de uso Consultare le istruzioni per l'uso
	Pack Date Verpackungsdatum Date d'emballage Fecha de envasado Data di confezionamento
	Authorized Representative in the European Community Autorisierte Vertretung in der Europäische Gemeinschaft Représentant agréé pour La communauté Européenne Representante autorizado en la Comunidad Europea Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
	Biological Risks Biologische Risiken Risques biologiques Riesgos biológicos Rischi biologici