

	Fabricante: RAL TÉCNICA PARA EL LABORATORIO, S.A. Av. Mare de Déu de Montserrat 51 08970 Sant Joan Despí (Barcelona)
IVD	PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO
	CONSERVAR A 2 - 8° C
	LEER LAS INSTRUCCIONES ANTES DEL USO

REF	Cont.
Referencia: GN 1045	Presentación: 5 x 2 mL trombina bovina + 125 mL tampón imidazol + 1 mL calibrador.

PRINCIPIO DEL METODO:

El kit Hemofibrin de Gernon sirve para la determinación cuantitativa del Fibrinógeno en plasma.

El método es una modificación del método de Clauss, basado en la cinética de la transformación del fibrinógeno en fibrina. En presencia de un exceso de trombina, el tiempo de coagulación es directamente proporcional a la concentración de fibrinógeno.

REACTIVOS:

Hemofibrin: Trombina Bovina tamponada y liofilizada.

Tampón imidazol: Solución tampón en solución salina pH= 7.4 ± 0.2, con 0.1% de azida sódica como conservante.

Calibrador de fibrinógeno: Plasma humano liofilizado.

Reconstituir el reactivo de Hemofibrin con 2 mL de agua destilada y agitar suavemente hasta su disolución completa. Mezclar bien antes de su uso.

Reconstituir el plasma calibrador con 1 mL de agua destilada. Agitar suavemente hasta su disolución completa.

CONSERVACIÓN:

Antes de abrir, los reactivos son estables hasta fecha de caducidad si se conservan a 2-8°C.

El reactivo de Hemofibrin es estable durante 8 horas a 15-30°C, 7 días a 2-8°C y 1 mes a -20°C. No volver a congelar.

El plasma calibrador reconstituido es estable 8 horas a 2-8°C.

PRECAUCIONES EN EL MANEJO:

El tampón contiene azida sódica. En medio ácido produce un compuesto tóxico. Diluir en agua antes de desechar el tampón y luego aclarar.

El plasma calibrador ha sido analizado mediante métodos aprobados por la FDA para descartar la presencia de HBsAg y de anticuerpos contra HCV y HIV. Dado que ningún método analítico puede descartar por completo la transmisión de enfermedades infecciosas, los materiales de origen humano deben manipularse como potencialmente infecciosos. Deben tomarse las precauciones necesarias en el uso de reactivos de laboratorio clínico.

MUESTRA:

Plasma citratado, pobre en plaquetas, de punción venosa con mínima estasis.

Como anticoagulante debe utilizarse el citrato trisódico al 3.2% para las pruebas de la coagulación. Evitar la hemólisis y contaminación por tejidos 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 las pruebas antes de 2 horas si las muestras han sido conservadas a 22-24°C.

PROCEDIMIENTO:

El kit Hemofibrin de Gernon es adecuado para métodos manuales, mecánicos o fotoópticos de detección del punto final de formación del coágulo. En el caso de instrumentos automáticos y semiautomáticos, deben seguirse las instrucciones del fabricante.

En métodos de prueba manuales y mecánicos:

Preparar un mínimo de 3 diluciones de un plasma calibrador (por ejemplo, 1:5, 1:10 y 1:20) en tampón imidazol. Las concentraciones correspondientes serán de 2c, c y c/2, siendo c la concentración de fibrinógeno del plasma calibrador. Deben prepararse dos replicados para cada calibrador.

Diluir el control de calidad y las muestras de pacientes a 1:10 en imidazol y termostatarlas a 37° durante 4-6 minutos.

Añadir 0.1 mL de Hemofibrin, sin termostatar, a la dilución de muestras y cronometrar la formación de coágulos.

Esquema de trabajo:

Añadir en cubiletes con agitación:	
Plasma calibrador o control o muestra diluido	0.2 mL
Termostatar a 37°C durante 4-6 minutos	
Reactivo Hemofibrin	0.1 mL

La frecuencia de calibración viene parcialmente determinada por el método de detección de coágulos utilizado. Hay que calibrar cada vez que se cambie el lote de reactivo o cuando los controles ya no se encuentren dentro de los rangos establecidos.

RESULTADOS:

Anotar el tiempo de coagulación. Calcular el valor medio de los replicados de los calibradores.

Representar los tiempos de coagulación obtenidos para las diluciones 2c, c y c/2 del plasma calibrador en un papel log-log.

Interpolarse el tiempo de las muestras en la recta de calibración para obtener la concentración de fibrinógeno.

Para tiempos de coagulación que se encuentren fuera del rango lineal; diluir a 1:5 y dividir por 2 el resultado interpolado si el tiempo obtenido es excesivamente largo, o diluir 1:20 y multiplicar el resultado interpolado por 2 si el tiempo obtenido es excesivamente corto.

VALORES ESPERADOS:

Valores normales: 150 - 350 mg/dL.

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de normalidad.

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS:

Exactitud:

Se sometieron a prueba plasmas con concentraciones de fibrinógeno baja, normal y alta, durante varios días utilizando el reactivo Hemofibrin y los reactivos de otros fabricantes en distintos laboratorios:

Muestra	Hemofibrin	n	Total de reactivos	n
Bajo	144 mg/dL	10	163 mg/dL	195
Normal	294 mg/dL	10	297 mg/dL	195
Alto	488 mg/dL	10	474 mg/dL	390

Precisión:

Se sometieron a prueba plasmas con concentraciones de fibrinógeno baja, normal y alta, durante varios días utilizando el reactivo hemofibrin en un instrumento fotoóptico:

Los coeficientes de variación obtenidos fueron: 5.9 % (bajo), 3.4% (medio) y 2.9% (alto).

LIMITACIONES:

La sangre debe añadirse inmediatamente (proporción 9:1) al anticoagulante de citrato de trisodio. La concentración de citrato debe ajustarse en pacientes con hematocrito superior al 55%. No usar ni EDTA ni heparina como anticoagulante.

Las muestras hemolizadas pueden dar interferencias. La congelación y posterior descongelación del plasma con células residuales puede dañar la membrana de las células, afectando a los resultados.

Las reacciones inflamatorias agudas, pueden aumentar el factor I circulante (fibrinógeno). Los productos de degradación de fibrinógeno alto (FDP) pueden prolongar los tiempos de coagulación, especialmente cuando el nivel de fibrinógeno es inferior a 150 mg/dL.

En pacientes con anomalías cualitativas de fibrinógeno, el tiempo de trombina puede indicar un fibrinógeno bajo. Los resultados cuantitativos de fibrinógeno pueden ser normales en estas mismas muestras, si éstas se someten a pruebas con otros métodos.

La heparina no interfiere a niveles terapéuticos. Sin embargo, los niveles de heparina muy altos pueden causar resultados de fibrinógeno bajo.

Los niveles altos de paraproteína, anticuerpos de trombina y fármacos que activan el sistema fibrinolítico pueden interferir con ensayos de fibrinógeno.

BIBLIOGRAFÍA:

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, pp 1309-1315. Mosby. St. Louis, MO., 1993

HEMOFIBRIN

Quantitative determination of Fibrinogen concentration

	Manufacturer: RAL TÉCNICA PARA EL LABORATORIO, S.A. Av. Mare de Déu de Montserrat 51 08970 Sant Joan Despí (Barcelona) - Spain
IVD	FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE
	STORE AT 2 - 8° C
	READ INSTRUCTIONS

REF	Cont.
Reference: GN 1045	Package: 5 x 2 mL bovine thrombin + 125 mL imidazole buffer + 1 mL calibrator

PRINCIPLE:

Gernon Hemofibrin kit is intended for use in the quantitative determination of fibrinogen in plasma samples.

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

REAGENTS:

Hemofibrin: Lyophilized buffered bovine thrombin.

Imidazole buffer: Imidazole buffer in saline, pH 7.4 ± 0.2, with 0.1% sodium azide as a preservative.

Fibrinogen calibrator: Human plasma collected with sodium citrate anticoagulant.

Reconstitute Hemofibrin reagent with 2 mL of distilled water. Agitate gently until solution is complete.

Reconstitute the calibrator plasma with 1.0 mL distilled water. Agitate gently until solution is complete.

STORAGE:

The unopened reagents are stable till the end of the expiry date if stored at 2-8°C.

The reconstituted Hemofibrin reagent 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. Thaw rapidly at 37°C. Do not refreeze.

The reconstituted calibrator plasma is stable for 8 hours at 2-8°C.

WARNINGS AND PRECAUTIONS:

Imidazole buffer contains 0.1% sodium azide. Sodium azide under acid conditions yields hydrazoic acid, a toxic compound. Dilute with running water before discarding, flush with large volumes of water.

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.

Take the necessary precautions for the use of laboratory reagents.

SPECIMEN:

Citrated plasma.

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.

PROCEDURE:

Gernon Hemofibrin is suitable for use with manual, mechanical or photo-optical methods of end-point clot detection. For automated and semi-automated instruments, follow the instrument manufacturer's instructions.

For manual and mechanical test methods:

Prepare a minimum of three different dilutions of the reconstituted Fibrinogen calibrator plasma in imidazole buffer (for instance, 1:5, 1:10 and 1:20). The corresponding concentrations will be 2c, c and c/2 (c = fibrinogen concentration in calibrator). Two replicates of each dilution should be prepared.

Dilute quality control and patient samples 1:10 in imidazole and prewarm 0.2 mL of each dilution to 37°C for 4-6 minutes.

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

Prior to use, mix well the reagents without shaking them.

Pipette directly into clean and dry cuvettes:

Add in cuvettes under stirring:	
Plasma (calibrator, control or sample diluted)	0.2 mL
Incubate at 37°C for 4-6 minutes	
Hemofibrin reagent	0.1 mL

The frequency of curve preparation is partially determined by the method of clot detection used. Always prepare a new curve with each change in reagent lots, instrumentation, or when controls no longer fall within established ranges.

CALCULATION:

Write down the clot time. Calculate the average value of calibrator replicates. Use all three calibrator points (dilutions 2c, c and c/2 of calibrator plasma) to construct a log-log curve that plots fibrinogen concentration vs. clotting time. 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.

REFERENCE RANGE:

The normal range for fibrinogen levels in human plasma is considered to be 150-350 mg/dL. Each laboratory should establish its own mean normal and normal range because of variances among different laboratories.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS:

Accuracy:

A low, a normal, and a high fibrinogen plasma were tested in multiple laboratories using Hemofibrin reagent. The results were compared to results obtained using other manufacturer's reagents in multiple labs.

Sample	Hemofibrin	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	10	474 mg/dL	390

Precision:

A low, a normal, and a high fibrinogen plasma were tested on multiple days using Hemofibrin reagent 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).

LIMITATIONS:

Blood must be immediately added to trisodium citrate anticoagulant (ratio 9:1) and gently mixed. EDTA and heparin are unsuitable anticoagulants. The citrate concentration must be adjusted for patients with hematocrits above 55%.

Hemolysis can cause clotting factor activation and end point detection interference.

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

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

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

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.

Heparin does not interfere at therapeutic levels. However, very high heparin levels may cause low fibrinogen results.

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

LITERATURE:

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, pp 1309-1315. Mosby. St. Louis, MO., 1993

IU/GN/1045/R0/0310/EA



	Fabricant: RAL TECNICA PARA EL LABORATORIO, S.A. Av. Mare de Déu de Montserrat 51 08970 Sant Joan Despí (Barcelone) - Espagne
IVD	POUR LE DIAGNOSTIC IN VITRO
	CONSERVÉ À 2 - 8 ° C
	LIRE LES NOTICES

REF	Cont.
Référence: GN 1045	Emballage: 5x2 mL thrombine bobine + 125 mL tampon d'imidazole + 1 mL calibrant.

PRINCIPE:

Le kit Hemofibrin de Gernon sert à la détermination quantitative du Fibrinogène dans le plasma.
La méthode est une modification de la méthode de Clauss, basée sur la cinétique de la transformation du fibrinogène dans fibrine. En présence d'un excès de thrombine, le temps de coagulation est directement proportionnel à la concentration de fibrinogène.

RÉACTIFS:

Hemofibrin: Thrombine Bovine tamponnée et lyophilisée.
Tampon imidazole: solution tampon dans solution saline pH = 7.4 ± 0.2, avec 0.1% d'azide sodique avec des conservateurs.
Calibrant de fibrinogène: plasma humain lyophilisé.

Reconstituer le réactif d'Hemofibrin avec 2 mL de l'eau distillée et agiter doucement jusqu'à la complète dissolution. Mélanger bien avant de son usage.
Reconstituer le plasma calibrant avec 1 mL de l'eau distillée. Mélanger doucement jusqu'à sa complète dissolution.

CONSERVATION:

Avant d'ouvrir, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption si sont conservés à 2-8°C. Le réactif d'Hemofibrin est stable pendant 8 heures à 15-30°C, 7 jours à 2-8°C et 1 mois à -20°C. Ne pas recongeler.
Le plasma calibrant reconstitué est stable 8 heures à 2-8°C.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS D'EMPLOI:

Le tampon contient azide sodique. Dans un milieu acide, il produit un composé toxique. Diluer dans l'eau avant de le jeter et après rincer bien.
Le plasma calibrant a été analysé par des méthodes approuvées par la FDA pour écarter la présence de HBsAg et des anticorps contre HCV et HIV. Étant donné que aucune méthode analytique écarte complètement la transmission des maladies infectieuses, les matériels d'origine humaine doivent être manipulés comme potentiellement infectieux.
Se référer aux précautions nécessaires pour l'utilisation des réactifs de laboratoire clinique.

SPÉCIMEN:

Plasma citraté, pauvre en plaquettes, de ponction veineuse avec minimum stase.
Comme anticoagulant doit être utilisé le citrate trisodique au 3.2% pour les essais de coagulation. Éviter l'hémolyse et la contamination par des tissus tissulaires. Refuser les échantillons avec un volume inférieur au 90% du volume espéré. Centrifuger le sang pendant 15 minutes à 1500 x g. Réaliser les essais avant 2 heures si les échantillons ont été conservés à 22-24°C.

MODE OPÉRATOIRE:

Le kit Hemofibrin de Gernon est approprié pour des méthodes manuelles, mécaniques et photo-optiques de détection du point final de la formation du caillot. Suivre les instructions du fabricant si l'on utilise des instruments automatiques ou semi-automatiques.

Dans des essais manuels et mécaniques:

Préparer minimum 3 dilutions du plasma calibrant (par exemple, 1:5, 1:10 et 1:20) sur tampon imidazole. Les concentrations correspondantes seront 2c, c et c/2, étant c la concentration du fibrinogène du plasma calibrant. Il faut préparer deux solutions de chaque calibrant.

Diluer le contrôle de qualité et les échantillons des patients 1:10 avec de l'imidazole et préchauffer à 37°C pendant 4-6 minutes.

Ajouter 0.1 mL d'Hemofibrin, sans être préchauffé, à la dilution des échantillons et mesurer la formation des caillots.

Schéma de travail:

Ajouter dans des cuvettes avec mélange:	
Plasma calibrant ou contrôle ou échantillon dilué	0.2 mL
Préchauffer à 37°C pendant 4-6 minutes	
Réactif d'Hemofibrin	0.1 mL

La fréquence de calibration vient partiellement déterminée par la méthode de détection des caillots utilisée. Il faut calibrer chaque fois que le lot des réactifs change ou quand les contrôles ne se trouvent au-dedans des ranges établis.

CALCUL:

Écrire le temps de coagulation. Calculer la valeur moyenne de chaque dilution des calibrants. Représenter les temps de coagulation obtenus pour les dilutions 2c, c et c/2 du plasma calibrant sur un papier log-log.
Interpoler le temps des échantillons sur la ligne de calibration pour obtenir la concentration du fibrinogène.
Pour des temps de coagulation qui se trouve au dehors du range linéaire, diluer à 1:5 et diviser le résultat interpolé par 2 si le temps obtenu est très long; ou diluer 1:20 et multiplier le résultat interpolé par 2 si le temps obtenu est très court.

VALEURS USUELLES:

Valeurs normales: 150 - 350 mg/dL.
Chaque laboratoire doit établir son propre range de normalité.

PERFORMANCES:

Exactitude:

Des plasmas avec des concentrations de fibrinogène haute, normale et basse ont été analysés pendant des jours en utilisant le réactif Hemofibrin et des réactifs d'autres fabricants dans différents laboratoires:

Échantillon	Hemofibrin	n	Total de réactifs	n
Basse	144 mg/dL	10	163 mg/dL	195
Normale	294 mg/dL	10	297 mg/dL	195
Haute	488 mg/dL	10	474 mg/dL	390

Précision:

Des plasmas avec des concentrations de fibrinogène haute, normale et basse ont été analysés pendant des jours en utilisant le réactif Hemofibrin et un instrument photo-optique.
Les coefficients de variation obtenus ont été: 5.9 (basse), 3.4% (normale) et 2.9% (haute).

LIMITATIONS:

Le sang doit être ajouté immédiatement (proportion 9:1) à l'anticoagulant de citrate de trisodique. La concentration de citrate doit être ajustée avec des patients avec hématoците supérieur au 55%. Ne pas utiliser EDTA ni héparine comme anticoagulant.
Les échantillons hémolysés peuvent donner des interférences.
La congélation et décongélation du plasma avec des cellules résiduelles peut abîmer la membrane des cellules, et affecter les résultats.
Les réactions inflammatoires aiguës, peuvent augmenter le facteur I circulant (fibrinogène).
Les produits de dégradation du fibrinogène haut (FDP) peuvent prolonger les temps de coagulation, spécialement quand le niveau de fibrinogène est inférieur à 150 mg/dL.
Sur des patients avec des anomalies qualitatives de fibrinogène, le temps de thrombine peut indiquer un fibrinogène bas. Les résultats quantitatifs de fibrinogène peuvent être normaux sur ces échantillons même, si on les essaye avec d'autres méthodes.
L'héparine n'interfère à des niveaux thérapeutiques. Néanmoins, les niveaux d'héparine très hauts peuvent donner des résultats de fibrinogène bas.
Les niveaux hauts de parprotéine, anticorps de thrombine et des médicaments qui activent le système fibrinolytique peuvent interférer avec des essais de fibrinogène.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES:

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, pp 1309-1315. Mosby. St. Louis, MO., 1993

IU/GN/1045/RO/0310/EF

