

### PRINCIPIO

La determinación de la cantidad de fibrinógeno, a través del tiempo de coagulación, se basa en el método original descrito por Clauss. En presencia de un exceso de trombina, el fibrinógeno se transforma en fibrina. El tiempo de formación del coágulo es inversamente proporcional a la concentración de fibrinógeno en el plasma humano. El reactivo de trombina QCA, puesto en contacto con el plasma del paciente, actúa sobre el fibrinógeno convirtiéndolo en fibrina la cual polimeriza para formar una red que da lugar a la formación del coágulo. El tiempo de formación se puede calcular de manera manual o automática.

### UTILIDAD DIAGNÓSTICA

El fibrinógeno es una glicoproteína plasmática que participa en el proceso de coagulación. El fibrinógeno aumenta en procesos de daño tisular o inflamación (infartos, leucemia, lupus) y disminuye en enfermedades hepáticas severas. Una única prueba de laboratorio no permite establecer un diagnóstico. Los resultados se han de evaluar en el contexto de todos los datos clínicos y de laboratorio obtenidos.

### REACTIVOS

#### KIT Ref. 99 94 30

Contiene:

- |                                       |               |
|---------------------------------------|---------------|
| A. 4 x 2 mL Trombina                  | Ref. 99 94 10 |
| B. 1 x 50 mL Tampón                   | Ref. 99 94 11 |
| C. 1 x 1 mL Calibrador de fibrinógeno | Ref. 99 94 12 |

### PREPARACIÓN DEL REACTIVO DE TRABAJO

Reactivo A: rehidratar un vial de trombina con 2 mL de agua destilada, agitar suavemente y esperar 10 min para la homogenización completa. Una vez rehidratado el reactivo es estable 7 días (2-8°C).

Reactivo B: el tampón imidazol está listo para su uso.

Reactivo C: rehidratar el calibrador de fibrinógeno con 1 mL de agua destilada. Agitar suavemente y esperar 20 min para la homogenización completa. El calibrador rehidratado es estable 8 horas a temperatura ambiente ( $\leq 25^\circ\text{C}$ ) o 2 días a  $-20^\circ\text{C}$ . La concentración viene indicada en la etiqueta del vial.

### COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS

- A: Trombina bovina liofilizada tamponada a pH 7,4 con estabilizantes y conservantes.  
B: Tampón imidazol 15mM a pH 7,4 que contiene NaCl 125mM con estabilizantes y conservantes.  
C: Pool de plasma humano liofilizado, valorado en fibrinógeno.

### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, almacenados a 2-8°C en su envase original.  
No usar el reactivo después de la fecha indicada. No congelar.

### Indicaciones de alteración de los reactivos:

Presencia de partículas en el reactivo B. Resultados obtenidos con el control de calidad fuera del rango de aceptación.

### MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

Material común de laboratorio.  
Coagulómetro o baño termostático a 37°C; cronómetro.

### MUESTRA

Para la obtención del plasma mezclar cuidadosamente 9 partes de sangre recién extraída con 1 parte de solución al 3,2% (0,109M) de citrato trisódico trihidratado (Ref. 99 59 59). Centrifugar a 3.000 rpm/5 min y separar el sobrenadante. Mantener la muestra a 2-8°C hasta el momento del ensayo. No demorar la prueba más de 2-3h desde la extracción.

### PRECAUCIONES

Las indicaciones de seguridad se encuentran en la etiqueta de los productos. Se aconseja consultar la ficha de datos de seguridad antes de la manipulación del reactivo. Los plasmas control y el plasma del paciente deben manipularse con precaución. La eliminación de residuos debe hacerse según la normativa local vigente.

### CONTROL DE CALIDAD

Es recomendable la inclusión de plasmas control, en cada proceso de medida para verificar los resultados.

### Juego de controles Ref. 99 25 50

- Contiene:  
1 x 1 mL Control de coagulación, nivel bajo  
1 x 1 mL Control de coagulación, nivel alto  
"Pool" de plasmas humanos con niveles conocidos de factores de coagulación.

Se aconseja que cada laboratorio establezca su propio programa de control de calidad y los procedimientos de corrección de las desviaciones en las medidas.

### PROCEDIMIENTO

#### 1. Dilución del plasma

Diluir el plasma y el plasma control 1:10 con el tampón (reactivo B) (1 plasma + 9 tampón).

#### 2. Método

- Incubar el reactivo de trombina (reactivo A) a 37°C/ 10-15 min
- Dispensar 0,2 mL de plasma diluido en el tubo del test e incubar a 37°C/2min
- Añadir 0,1 mL de reactivo de trombina (reactivo A) a temperatura a 37°C.
- Poner en marcha un cronómetro y determinar el tiempo de formación del coágulo.

#### 3. Curva de calibración

- Reconstruir el vial del calibrador del fibrinógeno como se indica.
- Preparar las diluciones como se indica a continuación.

	150%	100%	50%	25%
Tampón (mL)	0,85	0,90	1,90	3,90
Calibrador (mL)	0,15	0,10	0,10	0,10

- Determinar los tiempos de coagulación de cada dilución según se indica en el método.
- Los tiempos de coagulación obtenidos se representan frente a la concentración correspondiente de cada uno de los puntos de la curva. La curva obtenida permite transformar los tiempos de coagulación de las muestras problemas en concentración de fibrinógeno (%) por interpolación. La curva de calibración se debe repetir en cada lote de fibrinógeno.

### CÁLCULOS

Cada laboratorio debe establecer su curva de calibración como está descrita anteriormente y allí determinar por interpolación la concentración de las muestras. Se recomienda realizar mediciones dobles para cada plasma y calcular el valor medio del tiempo de coagulación obtenido antes de interpolar en la curva de calibración.

### VALORES DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer su propio rango de valores normales a partir de individuos representativos de la población a ensayar, utilizando su propia instrumentación, métodos de recogida de muestra y técnicas de determinación. Se recomienda utilizar un mínimo de 20 individuos para establecer el valor medio. Sin embargo y, a título de orientación, se relacionan a continuación los valores obtenidos de una población ambulatoria determinada:

200-400 mg/dL (2-4 g/L)

### PRESTACIONES. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Las prestaciones analíticas varían según la metodología utilizada; se aconseja su determinación para cada sistema en particular. Los resultados siguientes se han obtenido con un coagulómetro mecánico.

Sensibilidad, como mínima concentración detectable: 5mg/dL

Exactitud, como % de recuperación: 99,5%

Precisión en la serie, como %CV: 5,25%

Precisión entre series, como %CV: 5,9%

Veracidad. Los resultados obtenidos con el reactivo no presentan diferencias significativas al compararlo con el reactivo considerado de referencia.

Los datos detallados del estudio de las prestaciones del reactivo están disponibles bajo demanda.

### INTERFERENCIAS

Se han observado interferencias relevantes en muestras con productos de degradación del fibrinógeno (FDP o D-dimer).

Muestras hemolizadas pueden activar factores de coagulación y interferir en la detección final.

Las reacciones inflamatorias agudas pueden aumentar el fibrinógeno circulante (factor I). El consumo de ciertos medicamentos y sustancias pueden interferir e el test (consultar bibliografía).

### BIBLIOGRAFÍA

Clauss, A. Acta Haemat., 1957, 17, 237-246.

NCCLS, H30-A2, 2nd Ed., 2001 21(18).

Kitchen, S.; McCraw, A.; Echenagucia, M.; Diagnosis of Hemophilia and Other Bleeding Disorders, 2nd Ed.; 2010, 55-57.

Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.

# FIBRINOGEN

## CLAUSS METHOD

For "in vitro" diagnostic

### PRINCIPLE

The fibrinogen determination by clotting time is based on the method originally described by Clauss. In the presence of an excess of thrombin, the fibrinogen is transformed into fibrin and the time to clot formation is inversely proportional to the concentration of fibrinogen present in the plasma sample.

The QCA Thrombin reagent placed in contact with the plasma of the patient, acts on the fibrinogen to be converted into fibrin. This fibrin polymerizes to form a dense network which contributes to the clot formation. The training time can be measured manually or automatically.

### DIAGNOSTIC USE

Fibrinogen is a plasma glycoprotein which is involved in the coagulation processes. Fibrinogen increases in inflammatory processes and tissue diseases (infarction, leukaemia and lupus). Fibrinogen decreases in severe hepatic diseases. Single test result could not be used to make a clinical diagnosis. It should integrate clinical and laboratory data.

### REAGENTS

#### KIT Ref. 99 94 30

Content:	
A. 4 x 2 mL Thrombin	Ref. 99 94 10
B. 1 x 50 mL Buffer	Ref. 99 94 11
C. 1 x 1 mL Fibrinogen calibrator	Ref. 99 94 12

### WORKING REAGENT PREPARATION

Reagent A: rehydrate one vial with 2 mL of distilled water. Mix gently by inversion and wait 10 min for complete homogenization. Once open and rehydrated is stable 7 days at 2-8°C.  
Reagent B: imidazol buffer is ready to use.  
Reagent C: rehydrate one vial with 1 mL of distilled water. Mix gently by inversion and wait 20 min for complete homogenization. Once open and rehydrated is stable 8h at room temperature ( $\leq 25^{\circ}\text{C}$ ) or 2 days at  $-20^{\circ}\text{C}$ . The concentration is stated on the vial label.

### WORKING REAGENT COMPOSITION

A: Freeze-dried bovine thrombin buffered at pH 7.4 with preservatives and stabilizers.  
B: Imidazole buffer solution 15mM at pH 7.4, which contains NaCl 125mM with preservatives and stabilizers  
C: Freeze-dried pool of human plasma, standardized and assayed for fibrinogen.

### STORAGE AND STABILITY

When stored at 2-8°C, reagents are stable until the expiration date stated on the label. Do not use reagents over the expiration date. Do not freeze.

### Signs of reagent deterioration:

Presence of particles in the reagent B. Quality control values outside acceptance range.

### ADDITIONAL EQUIPMENT

General laboratory equipment.  
Coagulometer or bath 37°C and stopwatch.

### SAMPLE

Mix carefully 9 parts of fresh blood with 1 part of trihydrated trisodium citrate 3.2% (0.109M, Ref. 99 59 59). Centrifuge at 3.000 rpm/5 min and separate the supernatant plasma. Store at 2-8°C until prior to assay. (Not more than 2 hours)

### CAUTION

The safety statements are on the label. It is recommended to read SDS before reagent manipulation.  
The control plasma and patient plasma must be handled with care.  
Waste products must be handled as per local regulations.

### QUALITY CONTROL

Control plasma should be included in each test series.

#### Set of controls Ref. 99 25 50. Contents:

1 x 1 mL Coagulation Control, Low Level  
1 x 1 mL Coagulation Control, High Level  
Pool of human plasma with standardized levels of coagulation factors.

Each particular laboratory should establish its own control program and correctives actions of measure deviations.

### PROCEDURE

#### 1. Plasma dilution

Dilute plasma and control plasma 1:10 with buffer (reagent B) (1 plasma + 9 buffer)

#### 2. Method

- Preincubate thrombin (reagent A) at 37°C/10-15min
- Dispense 0.2 mL of diluted plasma into a test tube and incubate at 37°C during 2min
- Add 0.1 mL of thrombin (reagent A) at 37°C and start the stopwatch.
- Record the time for the clot to be formed.

#### 3. Calibration curve

- Rehydrate fibrinogen calibrator vial as described above.
- Prepare dilution series as following:

	150%	100%	50%	25%
Buffer (mL)	0.85	0.90	1.90	3.90
Calibrator (mL)	0.15	0.10	0.10	0.10

- Determine the coagulation time of each sample dilution according to the described method.

- Coagulation time obtained can be plotted on a graph vs each concentration in the calibration curve. Calibration curve allows to change into fibrinogen concentration (%) the plasma coagulation times of the patients samples by interpolation.

Calibration curve must be repeated at every fibrinogen lot change.

### CALCULATION

Each particular laboratory should establish its own calibration curve as described above, and then determine by interpolation the sample concentration. Duplicate coagulation time determinations are recommended, and then calculate the mean value of double determinations of each plasma sample before to interpolate in the calibration curve.

### REFERENCES VALUES

Each particular laboratory should establish its own normal range, obtained from samples of a representative population, using its own instrumentation, blood collection methods and assaying procedures.

It is advisable not to establish the mean value with less than 20 individuals. However and as a guideline, the values of a certain ambulatory population are related herewith:  
200-400 mg/dL (2-4 g/L)

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The performance characteristics depend on the method used. It is recommended to calculate these data for each particular test protocol. These results have been obtained using mechanical coagulometer.

Sensitivity, as minimum detectable concentration: 5mg/dL

Accuracy: 99.5%

Repetitivity, as CV%: 5.25%

Reproducibility, as CV%: 5.9%

Trueness: Results obtained with this reagent did not show systematic differences when compared with reference reagent.

Details of the performance studies are available on request.

### INTERFERENCES

Important interferences have been observed in samples with degradation fibrinogen products (FDP or D-Dimer).

Acute inflammatory reactions can increase circulating fibrinogen (factor I).

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

Drugs and substances consumption may interfere (See references)

### REFERENCES

Clauss, A. Acta Haemat., 1957, 17, 237-246.

NCCLS, H30-A2, 2nd Ed., 2001 21(18).

Kitchen, S.; McCraw, A.; Echenagucia, M.; Diagnosis of Hemophilia and Other Bleeding Disorders, 2nd Ed.; 2010, 55-57.

Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.

---

---

# FIBRINOGENÈ

## MÉTHODE DE CLAUSS

Pour le diagnostic "in vitro"

### PRINCIPE

La détermination de la quantité du fibrinogène par de temps de coagulation est basée sur la méthode décrite à l'origine par Clauss. En présence de thrombine en excès, le fibrinogène est transformé en fibrine. Le temps de formation du caillot est inversement proportionnel à la concentration du fibrinogène dans le plasma humain.

Le réactif thrombine QCA, une fois en contact avec le plasma du patient, transforme le fibrinogène en fibrine, qui polymérise formant un réseau et donnant lieu à la formation du caillot. Il est possible de calculer le temps de formation manuellement ou automatiquement.

### UTILITÉ DE DIAGNOSTIC

Le fibrinogène est une glycoprotéine plasmatique qui participe au processus de coagulation. Le fibrinogène augmente en présence de processus de lésions tissulaires et processus inflammatoires (infarctus, leucémie, lupus). Il diminue avec les maladies hépatiques sévères.

Un test de laboratoire unique ne peut pas établir un diagnostic. Les résultats doivent être évalués dans le contexte de toutes les données cliniques et de laboratoire obtenus.

### RÉACTIFS

#### KIT Réf. 99 94 30

Contient:

- A. 4 x 2 mL Trombine Réf. 99 94 10
- B. 1 x 50 mL Solution tampon Réf. 99 94 11
- C. 1 x 1 mL Calibrateur de fibrinogène Réf. 99 94 12

### PRÉPARATION DU REACTIF TRAVAIL

Réactif A: réhydratez un flacon de thrombine avec 2 mL d'eau distillée, agiter doucement et attendre 10 min pour une homogénéisation complète. Une fois réhydraté le réactif est stable 7 jours à 2-8°C.

Réactif B: Tampon imidazole; prêt à l'emploi.

Réactif C: réhydratez le calibrateur de fibrinogène avec 1 mL d'eau distillée. Agité doucement et attendre 20 min pour la homogénéisation complète. Le calibrateur réhydraté est stable pendant 8 heures à température ambiante ( $\leq 25^\circ\text{C}$ ) ou 2 jours à  $-20^\circ\text{C}$ . La concentration est indiquée sur l'étiquette du flacon.

### COMPOSITION DU REACTIF DE TRAVAIL

A : Thrombine bovine lyophilisée contenant un tampon pH 7,4, avec des stabilisants et conservateurs.

B : Tampon imidazole 15mM, pH 7,4, contenant du NaCl 125mM, avec des stabilisants et conservateurs.

C : Pool de plasma humain lyophilisé, avec concentration en fibrinogène connue.

### CONSERVATION ET STABILITÉ

Lorsqu'elles sont stockées à 2-8°C, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

### Indications d'altération de réactif:

La présence de particules ou de turbidité dans le réactif B. Les résultats du contrôle de qualité en dehors de le rang d'acceptation.

### MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Matériel courant de laboratoire.

Coagulomètre ou bain thermostatée à 37°C et un temporisateur.

### ÉCHANTILLON

Pour obtenir le plasma, mélangez 9 parts de sang avec une part de solution de citrate tri-sodique tri-hydraté 3,2% (0,109M) (Réf. 99 59 59). Centrifuger à 3000 rpm/5 min et l'éliminez le surageant.

Conserver les échantillons à 2-8°C jusqu'à l'analyse. Ne retarder le test de plus de 2-3h. à partir de l'extraction.

### PRÉCAUTION

Les indications de sécurité sont sur l'étiquette des produits. Est conseillé de consulter la fiche de données de sécurité avant de manipuler le réactif.

Le plasma de contrôle et le plasma du patient doivent être manipulés avec soin.

L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux normes en vigueur.

### CONTRÔLE DE QUALITÉ

Nous recommandons l'inclusion des plasmas de contrôle dans chaque processus de mesure pour vérifier les résultats.

**Kit de contrôles Réf. 99 25 50.** Contenu:

1 x 1 mL Contrôle de coagulation. Taux bas

1 x 1 mL Contrôle de coagulation. Taux élevé

Pool de plasmas humains avec des taux connus de facteurs de la coagulation.

Il est conseillé que chaque laboratoire établisse son propre programme de contrôle de la qualité et les procédures de correction des déviations dans les mesures.

### TECHNIQUE

#### 1. La dilution du plasma

Diluer le plasma et le réactif de plasma contrôle 1:10 avec le tampon (réactif B) (1 plasma + 9 tampon).

#### 2. Méthode

- a) Incubez le réactif de thrombine (réactif A) à 37°C / 10-15 min
- b) Introduire 0,2 mL de plasma diluée dans le tube à essai ; incubé 37°C/2min
- c) Ajouter 0,1 mL de réactif de thrombine (réactif A) tempérée à 37°C.
- d) Déclencher un chronomètre pour déterminer le temps de formation du caillot.

#### 3. Courbe de calibration

- a) Reconstruire le flacon de calibrateur de fibrinogène selon les instructions.
- b) Préparer les dilutions indiquées.

	150%	100%	50%	25%
Tampon (mL)	0,85	0,90	1,90	3,90
Calibrateur (mL)	0,15	0,10	0,10	0,10

- c) Déterminer le temps de coagulation pour chaque dilution selon le procédé ci-dessus.
  - d) Représenter les temps de coagulation obtenus versus la concentration de chaque dilution.
  - e) La courbe d'étalonnage permet de transformer les temps de coagulation des échantillons en concentration de fibrinogène (%) par interpolation.
- La courbe d'étalonnage doit être répétée dans chaque Lot de fibrinogène.

### CÁLCULS

Chaque laboratoire doit établir sa courbe d'étalonnage comme il est décrit précédemment et déterminer par interpolation la concentration des échantillons.

Il est recommandé d'effectuer deux mesures pour chaque plasma et calculer le temps de coagulation moyenne obtenue avant l'interpolation avec la courbe d'étalonnage.

### VALEURS DE RÉFÉRENCE

Chaque laboratoire doit établir sa propre gamme de valeurs normales des individus représentatifs de la population à tester, en utilisant leurs propres instruments, les méthodes de prélèvement d'échantillons et les techniques de détermination.

Toutefois, et à titre indicatif, la valeur de référence bibliographique pour des échantillons normaux est la suivante:

200-400 mg/dL (2-4 g/L)

### PERFORMANCE. CARACTÉRISTIQUES DE FONCTIONNEMENT

La performance analytique varie selon la méthode utilisée; il est conseillé sa détermination pour chaque système particulier.

Les résultats suivants ont été obtenus avec un coagulomètre mécanique.

Sensibilité comme limite de détection: 5mg/dL

Exactitude: le pourcentage de récupération est de 99,5%

Coefficient de variation dans la série: 5,25%

Coefficient de variation entre les séries: 5,9%

Justesse. Les résultats obtenus avec le réactif ne sont pas significativement différents par rapport au réactif de référence considéré.

L'étude détaillée de la performance du réactif est disponible sur demande.

### INTERFÉRENCE

Interférence significative n'a été observée sur des échantillons avec des produits de dégradation du fibrinogène (FDP ou D-dimer).

Des réactions inflammatoires aiguës peuvent augmenter le fibrinogène circulant (facteur I).

Des échantillons hémolysés peuvent activer des facteurs de coagulation et interférer avec la détection finale.

L'utilisation de certains médicaments et substances peuvent interférer avec le test (voir bibliographie).

### BIBLIOGRAPHIE

Clauss, A. Acta Haemat., 1957, 17, 237-246.

NCCLS, H30-A2, 2nd Ed., 2001 21(18).

Kitchen, S.; McCraw, A.; Echenagucia, M.; Diagnosis of Hemophilia and Other Bleeding Disorders, 2nd Ed.; 2010, 55-57.

Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.