Erba Thrombin Reagent
Stanovení fibrinogenu

Kat. č.	Název balení	Obsah balení
EHL00005	Erba Thrombin Reagent 10	5 × 2 mL

CZ

CE IVD

POUŽITÍ

Souprava Erba Thrombin Reagent je určena ke kvantitativnímu stanovení fibrinogenu v lidské plazmě metodou podle Clausse.[1]

KLINICKÝ VÝZNAM

Fibrinogen (označován také jako Faktor I) je glykoprotein syntetizovaný v jaterních hepatocytech a megakaryocytech. Molekulu fibrinogenu tvoří dimer, který se skládá ze tří rozdílných párů polypeptidových řetězců (α, β a γ), ty jsou navzájem vázány disulfidickými můstky. Na α a β řetězcích se nachází krátká peptidová sekvence nazývaná fibrinopeptid. Trombin (Faktor IIa) je odpovědný za konverzi fibrinogenu na fibrin štěpením na fibrinopeptidové monomery. Monomery navzájem agregují za tvorby fibrinu, který se pak spojuje pomocí faktoru XIIIa a vytváří nerozpustnou fibrinovou sraženinu.

Fibrinogen patří mezi proteiny akutní fáze. Proto může být jeho hladina v krvi zvýšena jako odpověď na zánětlivý stav, infekce, v průběhu těhotenství a po prožitém traumatu.[2]

Snížená hladina fibrinogenu se vyskytuje u vrozené hypofibrinogenemie a afibrinogenemie. Hladina může být snížena také v případě DIK–diseminované intravaskulární koagulace, při fibrinolýze, dysfunkci pankreatu a kritických jaterních dysfunkcích.

PRINCIP METODY

Metoda stanovení fibrinogenu založená na měření trombinového času vychází z metody popsané Claussem.[1] V přítomnosti vysoké koncentrace trombinu je čas nutný ke vzniku koagula v naředěné plazmě nepřímo úměrný koncentraci fibrinogenu.

Stanovení biologické aktivity (tj. schopnost tvorby koagula) je pro diagnózu přínosnější než stanovení množství cirkulujícího fibrinogenu.

SLOŽENÍ ČINIDEL

Erba Thrombin Reagent: obsahuje přibližně 100 NIH jednotek/ml hovězího trombinu se stabilizátory.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

- Pouze pro *in vitro* diagnostiku. S těmito činidly mohou pracovat pouze odborně způsobilí laboratorní pracovníci.
- Zabraňte požití.
- Pokud pracujete se soupravou, používejte ochranné rukavice.
- Abyste zabránili kontaminaci, používejte čisté nebo jednorázové laboratorní vybavení.
- Případné zbytky činidel je nutno likvidovat podle vlastních interních předpisů v souladu se Zákonem o odpadech.

Činidlo obsahuje hovězí thrombin <30 %.

Klasifikace směsi podle nařízení (ES) č. 1272/2008

Varování

Standardní věta o nebezpečnosti:

H315 Dráždí kůži.

H317 Může vyvolat alergickou kožní reakci.

H319 Způsobuje vážné podráždění očí.

Pokyny pro bezpečné zacházení:

P302 + P352 PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody.

P305 + P351 + P338 PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

VAROVÁNÍ – BIOLOGICKÉ RIZIKO

Některá činidla, která jsou součástí této soupravy, obsahují látky lidského a/nebo živočišného původu. Vždy, když je k přípravě těchto činidel vyžadována lidská plazma, je testována na přítomnost protilátek proti HIV 1, HIV 2 a HCV a na HBsAg a tyto výsledky jsou negativní. Nicméně žádná testovací metoda neposkytuje absolutní jistotu, že infekční agens nejsou přítomna. Proto musí být všichni pracovníci při práci s tímto biologickým materiálem mimořádně opatrní a pracovat zcela ve shodě s platnými bezpečnostními opatřeními jako by se jednalo o infekční materiál

10020367
10020410

PŘÍPRAVA PRACOVNÍCH ROZTOKŮ

Obsah každé lahvičky rozpusťte ve 2 mL destilované vody. Při pipetování postupujte tak, abyste zabránili kontaminaci. Opatrně promíchejte a nechejte stát 15 minut. Těsně před použitím dobře promíchejte. Činidlem netřepejte. Zabraňte kontaminaci činidla.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA PRACOVNÍCH ROZTOKŮ

Neotevřená činidla, skladovaná při 2–8 °C, jsou stabilní do data exspirace uvedeného na štítku.

Činidlo v originální uzavřené lahvičce po rekonstituci je stabilní:

- 8 hodin při 15–30 °C
- 1 týden při 2–8 °C
- 1 měsíc při -20 °C.

POŽADOVANÉ REAGENCIE, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ SOUPRAVY

Erba Standard Plasma (kat. č. EHL00012)

Erba Owrens Veronal Buffer (kat. č. EHL00021)

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU

Doporučuje se, aby odběr a skladování vzorků probíhaly v souladu se směrnicí CLSI H21-A5.[3]

Při práci používejte plast nebo silikonizované sklo.

Krev (9 objemových dílů) odeberte do 3,2 % citrátu sodného (1 objemový díl), který působí jako antikoagulant. Centrifugujte 15 minut při 1 500 x g a odseparujte plazmu.

Plazmu skladujte při 2–8 °C nebo 18–24 °C. Stanovení by mělo být provedeno do 4 hodin od odběru vzorku. Plazma může být skladována při -20 °C po dobu 2 týdnů nebo při -70 °C po dobu 6 měsíců. Před stanovením plazmu rychle rozpusťte při +37 °C. Při této teplotě ponechejte plazmu maximálně po dobu 5 minut.[3]

POSTUP MĚŘENÍ

Manuální metoda

1. Kalibrační křivka

Nová kalibrace by měla být provedena při každé změně šarže činidel. Pro sestrojení kalibrační křivky si připravte doporučená ředění kalibrační plazmy (Erba Standard Plasma, kat.č. EHL00012) podle následující tabulky. Pro ředění použijte Erba Owrens Veronal Buffer (kat.č. EHL00021).

Zkumavka	ECL 760 doporučené ředění	Ředění (Manuál, ECL 105, ECL 412)	Erba Standard Plasma (mL)	Owrenův pufr (mL)
1	2/1	1 + 4	0,2	0,8
2	1/1	1 + 9	0,1	0,9
3	1/2	1 + 19	0,1	1,9
4	1/3	1 + 29	0,1	2,9
5	1/4	1 + 39	0,1	3,9

2. Příprava pacientských vzorků

- Pacientské vzorky nebo kontrolní plazmy nařeďte v poměru 1+9 Owrenovým pufrem (1 díl vzorku + 9 dílů pufru).
- Promíchejte, ale netřepejte.

3. Postup stanovení

- Do reakční zkumavky napipetujte 200 µl standardu, pacientského vzorku nebo kontrolní plazmy a inkubujte 2 minuty při 37 °C.
- Přidejte 100 µl činidla Erba Thrombin Reagent současně pusťte stopky.
- Zaznamenejte čas nutný pro vytvoření koagula s přesností na 0,1 sekundy.
- Sestrojí se kalibrační křivka, jako závislost standardního času srážení (osa Y) na koncentraci fibrinogenu (osa X), hodnotu fibrinogenu v kalibrační plazmě přiřaďte ředění 1 + 9, hladiny pacientských vzorků a kontrol naředěných v poměru 1 + 9 Owrenovým pufrem se pak odečítají z kalibrační křivky.

Automatická metoda

Postupujte podle informací uvedených v Uživatelském manuálu.

REFERENČNÍ HODNOTY

Referenční limity[4,5] pro fibrinogen (g/L) v plazmě:

0–1 rok: 1,50–3,40
1–6 let: 1,70–4,00
6–11 let: 1,55–4,00
11–16 let: 1,55–4,50
16–18 let: 1,60–4,20
≥18 let: 1,80–4,20

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 13485

Referenční intervaly se liší laboratoř od laboratoře v závislosti na populaci, technice a šarži reagencií. Každá laboratoř si proto musí stanovit své vlastní referenční intervaly nebo je ověřit, kdykoli se změní jedna nebo více výše uvedených proměnných. Další informace o stanovení referenčních intervalů viz dokument CLSI C28-A3.[6]

KONTROLA KVALITY

Každá laboratoř by si měla založit vlastní program kontroly kvality.

Pro zajištění odpovídající kvality stanovení je doporučeno použít kontrolní plazmu. Je doporučeno použít dvě hladiny kontrolní plazmy, jednu v oblasti normálních hodnot pacientů (Erba Control N, kat. č. EHL00014 nebo Erba Control N Plus, kat. č. EHL00016) a druhou představující patologické hodnoty (Erba Control P, kat. č. EHL00015 nebo Erba Control P Plus, kat. č. EHL00017).

OMEZENÍ

Koncentrace heparinu >0,6 jednotek/ml a produkty degradace fibrinu >100 mg/ml mohou způsobit falešně nízké hodnoty fibrinogenu. Pokud jsou hodnoty pacientských vzorků mimo rozmezí hodnot použitých pro sestrojení kalibrační křivky, je nutné provést nové stanovení s takovým naředěním vzorku, aby hodnota byla v rozmezí hodnot standardu.

VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Tyto výkonnostní charakteristiky byly získány na ECL analyzátorech. Výsledky se mohou lišit, pokud je použit jiný přístroj nebo manuální metoda.

Přesnost

Intra assay	ECL 105/412		ECL 760	
	Tvorba sraženiny (g/L)	CV (%)	Tvorba sraženiny (g/L)	CV (%)
Erba Control N	2,59	6,68	3,30	3,38
Erba Control P	2,66	5,05	2,93	5,43
Vysoká kontrola	0,91	7,03	0,99	5,18

Inter assay	ECL 105/412		ECL 760	
	Tvorba sraženiny (g/L)	CV (%)	Tvorba sraženiny (g/L)	CV (%)
Erba Control N	2,46	7,31	3,51	7,58
Erba Control P	2,37	5,86	3,11	9,67

Limit kvantifikace	
ECL 105/412	**ECL 760**
0,368 g/L	0,517 g/L

Rozsah měření	
ECL 105	0,80–7,50 (g/L)
ECL 412	0,80–6,81 (g/L)
ECL 760	1,39–5,56 (g/L)

Interference

Interferující látka	ECL 105/412	ECL 760
Hemoglobin	min. 1 g/L	min. 3 g/L
Triglyceridy	min. 320 mg/dL	min. 680 mg/dL
Bilirubin	min. 24 mg/dL	min. 28 mg/dL

LITERATURA

1. Clauss A (1957) Gerinnungsphysiologische Schnell-methode zur bestimmung des Fibrinogens, Acta Haematol, 17:237-246
2. Shaw TS (1977) Assays for Fibrinogen and its Derivatives CRC, Crit.Rev.Clin.Lab.Sci, 8:145-192
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI:H21-A5
4. Hematology of Infancy and Childhood, Nathan and Orkin, Saunderds 2003, P. Monagle: Developmental haemostasis: Impact for clinical haemostasis laboratories, Thromb Haemost 2006; 95: 362-72
5. Czech haematological Society CzMA JEP
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline. CLSI document C28-A3

POUŽITÉ SYMBOLY

LOT Číslo šarže
IVD Diagnostický zdravotnický prostředek *in vitro*
Čtěte návod k použití
REF Katalogové číslo
Výrobce
CONT Obsah
Datum expirace
Teplota skladování
Biologická rizika

Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbamannheim.com, www.erbamannheim.com

N/234/22/A/INT *Datum revize: 3. 5. 2022*

Erba Thrombin Reagent
For Fibrinogen Determination

Cat. No.	Pack name	Packaging (Content)
EHL00005	Erba Thrombin Reagent 10	5 × 2 mL

EN

CE IVD

INTENDED USE
Erba Thrombin Reagent is intended for use in the quantitative determination of fibrinogen in human plasma using the Clauss Method.[1]

CLINICAL SIGNIFICANCE
Fibrinogen (also called Factor I) is a glycoprotein synthesised in the liver hepatocytes and magekaryocytes. Fibrinogen is composed of two sets of three different chains (α, β, and γ), linked to each other by disulfide bonds. On the alpha and beta chains, there is small peptide sequence (called a fibrinopeptide). Thrombin (Factor IIa) is responsible for converting fibrinogen into fibrin, by splitting out fibrinopeptides monomers. The monomers aggregate to form Fibrin, which is then cross linked by Factor XIII a to form an insoluble fibrin clot.
Fibrinogen is an acute phase reactant protein. Therefore its blood level can be increased as a response of inflammatory states, with infections, during pregnancy, and after trauma.[2] A decrease of the fibrinogen level is found in congenital hypofibrinogenemia and afibrinogenemia. It can also be decreased in cases of Disseminated Intravascular Coagulation (DIC), systemic fibrinolysis, pancreatic and severe hepatic dysfunction.

PRINCIPLE
Clauss[1] developed a simple method for the quantitative determination of fibrinogen by measuring the clotting time of dilute plasma after the addition of Thrombin (> 30 NIH units/ml). This clot time is proportional to the fibrinogen concentration.

COMPOSITION
Erba Thrombin Reagent; approximately 100 NIH units/ml bovine thrombin with stabilisers.

WARNINGS AND PRECAUTIONS
- For *in vitro* diagnostic use only. These reagents are to be used by certified medical laboratory personnel only.
- Do not ingest.
- Wear gloves when handling all kit components.
- Only use clean or single use laboratory equipment to avoid contaminations.
- The eventual rest of reagents should be disposed of in accordance with the internal regulations and in compliance with local and national regulations relating to the safe handling of waste.

Reagent contains <30 % bovine thrombin.

Hazards identification in accordance with Regulation (EC) No 1272/2008

Warning

Hazard statement:
H315 Causes skin irritation.
H317 May cause an allergic skin reaction.
H319 Causes serious eye irritation.

Precautionary statement:
P302 + P352 IF ON SKIN: Wash with plenty of water.
P305 + P351 + P338 IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

WARNING – POTENTIAL BIOHAZARDOUS MATERIAL
The Erba Thrombin Reagent contains bovine thrombin. Plasma products have been screened and founded negative (unless otherwise stated on the box or vial) for the presence of Hepatitis B Antigen (HBsAg), HIV 1 and 2 antibody and HCV antibody. Therefore, users of reagents of these types must exercise extreme care in full compliance with regulatory safety precautions in the manipulation of these biological materials as if they were infectious.

10020367
10020410

WORKING REAGENT
Reconstitute each vial of Erba Thrombin Reagent with exactly 2 mL of purified water. Take care when pipetting to avoid contamination. Swirl gently and allow to stand for 15 minutes. Mix well immediately before use. Do not shake. Avoid reagent contamination

STABILITY AND STORAGE
The unopened reagents are stable till the expiry date stated on the bottle and kit label when stored at 2–8°C.
The reagent in the original closed vial after reconstitution is stable:
- 8 hours at15–30 °C
- 1 week at 2–8 °C
- 1 month at -20 °C.

REAGENTS REQUIRED BUT NOT PROVIDE
Erba Standard Plasma (Cat. No.: EHL00012)
Erba Owrens Veronal Buffer (Cat. No.: EHL00021)

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION
It is recommended that specimen collection and storage be carried out in accordance with the CLSI guideline H21-A5.[3] Plastic or siliconised glass should be used throughout. Blood (9 parts) should be collected into 3.2 % sodium citrate anticoagulant (1 part). Separate plasma after centrifugation at 1500 x g for 15 minutes. Plasma should be kept between 2–8 °C or between 18–24 °C. Testing should be completed within 4 hours of sample collection, or plasma can be stored frozen at -20°C for 2 weeks or -70 °C for 6 months. Thaw quickly at 37 °C prior to testing. Do not keep at 37 °C for more than 5 minutes.[3]

PROCEDURE
Manual method

1. Standard Curve Preparation
A new standard curve should be used when reagent lot numbers change or if expected values in quality control testing change. Prepare the following dilutions of Erba Standard Plasma (Cat.No.: EHL00012) in Erba Owrens Veronal Buffer (Cat. No.: EHL00021)

Tube	ECL 760 Recommended dilution	Dilution (Manual, ECL 105, ECL 412)	Erba Standard Plasma (mL)	Owren's buffer (mL)
1	2/1	1 + 4	0,2	0,8
2	1/1	1 + 9	0,1	0,9
3	1/2	1 + 19	0,1	1,9
4	1/3	1 + 29	0,1	2,9
5	1/4	1 + 39	0,1	3,9

2. Patient Sample Preparation:
- Prepare 1 + 9 dilutions of the patient plasma or control plasma in Owrens Buffer.
- Mix without shaking.

3. Testing
- Pipette 0.2 ml of standard, patient or control dilution into a reaction tube and incubate at 37 °C for 2 minutes.
- Add 0.1 ml of Erba Thrombin Reagent (15–30 °C) and start simultaneously a timer.
- Note the time for clot formation to the nearest 0.1 second.
- Plot means Standard Clot Time (Y-axis) versus Fibrinogen Level (X-axis) on the fibrinogen graph paper. A straight line should be obtained. Assign the Erba Standard Plasma (Cat. No.: EHL00012) reference value to the 1 + 9 dilution to allow direct interpolation of patient and control values from the standard curve.

utomated method
Refer to the instrument's operator's manual.

REFERENCES VALUES
Reference limits[4,5] for Fibrinogen (g/L) in plasma:
0–1 year: 1.50–3.40
1–6 years: 1.70–4.00
6–11 years: 1.55–4.00
11–16 years: 1.55– 4.50
16–18 years: 1.60– 4.20
≥18 years: 1.80– 4.20

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 13485

Reference intervals vary from laboratory to laboratory depending on the population, the technique and reagent lot. Therefore, each laboratory must establish its own reference intervals or verify them whenever one or more of the aforementioned variables are changed. For more information on establishing reference intervals see CLSI document C28-A3.[6]

QUALITY CONTROL
Each laboratory should establish a quality control program.
To ensure adequate quality, control plasmas are recommended. It is suggested to use two levels of control, one close to the normal patient values (Erba Control N, Cat. No.: EHL00014 or Erba Control N Plus, Cat. No.: EHL00016) and the second representative the pathologic values (Erba Control P, Cat. No.: EHL00015 or Erba Control P Plus, Cat. No.: EHL00017).

LIMITATIONS
Heparin levels >0.6 units/ml and fibrinolytic degradation product >100 mg/ml may cause falsely low fibrinogen quantitation. If values fall outside the standard curve values for the patient samples, re-assay using an appropriate dilution to bring values into the standard range.

PERFORMANCES
These performances have been obtained using an analyzers ECL. Results may vary if a different instrument or manual procedure is used.
Precision

Intra assay	ECL 105/412		ECL 760	
	Clot formation (g/L)	CV (%)	Clot formation (g/L)	CV (%)
Erba Control N	2.59	6.68	3.30	3.38
Erba Control P	2.66	5.05	2.93	5.43
High Control	0.91	7.03	0.99	5.18

Inter assay	ECL 105/412		ECL 760	
	Clot formation (g/L)	CV (%)	Clot formation (g/L)	CV (%)
Erba Control N	2.46	7.31	3.51	7.58
Erba Control P	2.37	5.86	3.11	9.67

Limit of quantification	
ECL 105/412	**ECL 760**
0.368 g/L	0.517 g/L

Measuring range	
ECL 105	0.80–7.50 (g/L)
ECL 412	0.80–6.81 (g/L)
ECL 760	1.39–5.56 (g/L)

Interfering substance	ECL 105/412	ECL 760
Hemoglobin	min. 1 g/L	min. 3 g/L
Triglycerides	min. 320 mg/dL	min. 680 mg/dL
Bilirubin	min. 24 mg/dL	min. 28 mg/dL

REFERENCES

1. Clauss A (1957) Gerinnungsphysiologische Schnell-methode zur bestimmung des Fibrinogens, Acta Haematol, 17:237-246
2. Shaw TS (1977) Assays for Fibrinogen and its Derivatives CRC, Crit.Rev.Clin.Lab.Sci, 8:145-192
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI:H21-A5
4. Hematology of Infancy and Childhood, Nathan and Orkin, Saunderds 2003, P. Monagle: Developmental haemostasis: Impact for clinical haemostasis laboratories, Thromb Haemost 2006; 95: 362-72
5. Czech haematological Society CzMA JEP
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline. CLSI document C28-A3

USED SYMBOLS
LOT Lot Number
IVD *In vitro* diagnostic medical device
See Instructions for Use
REF Catalogue Number
Manufacturer
CONT Content
Expiry Date
Storage Temperature
Biological Risks

Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbamannheim.com, www.erbamannheim.com

N/234/22/A/INT *Date of revision: 3. 5. 2022*

Erba Thrombin Reagent
Набір Фібриноген Thrombin Reagent

Кат. номер	Назва на упаковці	Вміст
EHL00005	Набір Фібриноген Thrombin Reagent 10	5 × 2 мл

UA

CE IVD

ЗАСТОСУВАННЯ
Набір реагентів Фібриноген Thrombin Reagent призначений для кількісного визначення фібриногену у плазмі крові людини згідно методу Клаусса.[1]

КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ
Фібриноген (або Фактор I згортання крові) є глікопротеїном, що синтезується у гепатоцитах і мегакаріоцитах печінки. Фібриноген складається з двох наборів трьох різних ланцюжків (α, β і γ), пов'язаних між собою дисульфідними зв'язками. У складі α- і β-ланцюжків наявні пептидні послідовності невеликого розміру (фібринопептиди). Тромбін (Фактор IIa) відповідає за перетворення фібриногену у фібрин шляхом розщеплення фібринопептидів на мономери, які в свою чергу агрегуються у фібрин. Нерозчинний фібриновий тромб утворюється внаслідок зшиття фібрину Фактором XIII.
Фібриноген є білком гострої фази запалення. Таким чином, його рівень у крові підвищується у відповідь на запальні процеси, під час інфекційних захворювань і вагітності, а також внаслідок травм. Занижений вміст фібриногену спостерігається при вродженій гіпофібриногенемії та афібриногенемії, а також у випадку дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові (ДВЗ--синдрому), системного фібринолізу, панкреатичній і тяжкій гепатичній дисфункції.

ПРИНЦИП РЕАКЦІЇ
Клаусом[1] розроблено простий метод кількісного визначення фібриногену шляхом визначення часу утворення тромбу у розчиненій плазмі крові після додавання тромбіну (>30 одиниць НІЗ (NIH) / мл). Час утворення тромбу у такому випадку є прямо пропорційним концентрації фібриногену.

СКЛАД РЕАГЕНТІВ
Фібриноген Thrombin Reagent: близько 100 одиниць НІЗ (NIH) / мл тромбіну ВРХ із стабілізаторами.

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ І ЗАХОДИ БЕЗПЕКИ
- Лише для *in vitro* діагностики професійно підготовленим персоналом медичної лабораторії.
- Уникати ковтання.
- Користуватися захисними рукавичками при поводженні з усіма компонентами набору.
- Запобігати контамінації, використовувати лише чисті або одноразові лабораторні приналежності.
- Залишки реагентів повинні утилізуватися у відповідності до діючих локальних або національних правил для даних видів матеріалів.

Реагент містить <30 % тромбіну ВРХ.

Класифікація небезпеки згідно Керівництва ЄС №1272/2008

Обережно

Позначки небезпеки:
H315 Спричиняє подразнення шкіри.
H317 Може спричинити алергічну реакцію на шкірі.
H319 Спричиняє сильне подразнення очей.
Заходи безпеки:
P302 + P352 ЯКЩО НА ШКІРІ: Вимийте великою кількістю води.
P305 + P351 + P338 У РАЗІ КОНТАКТУ З ОЧИМА: Протягом декількох хвилин ретельно промити водою. Якщо є контактні лінзи, зняти у разі можливості. Продовжувати промивати.

УВАГА! ПОТЕНЦІЙНО БІОЛОГІЧНО НЕБЕЗПЕЧНИЙ МАТЕРІАЛ
Erba Thrombin Reagent містить тромбін ВРХ. Використана для виготовлення реагентів плазма перевірена на відсутність (якщо інше не зазначене на упаковці або флаконі) антитіл до вірусів ВІЛ 1, ВІЛ 2 та гепатиту С, а також поверхневого антигену гепатиту В. З огляду на вищевказане працювати необхідно із суворим дотриманням заходів безпеки під час роботи з потенційно інфікованими матеріалами.

ПРИГОТУВАННЯ РЕАГЕНТІВ
Відновити вміст кожного флакону Фібриноген Thrombin Reagent за допомогою точно 2 мл очищеної води. (EHL00005 і EHL00006) або 5 мл (EHL00025) очищеної води. При піпетуванні уникати контамінації. Обережно похитати флакон і залишити на 15 хвилин. Безпосередньо перед використанням ретельно перемішати. Не струшувати.
Уникати контамінації реагенту.

ЗБЕРІГАННЯ І СТАБІЛЬНІСТЬ
Невідкриті реагенти є стабільними до вичерпання вказаного на упаковці терміну придатності за умови зберігання за температури 2–8 °C. Відновлений реагент в закритому оригінальному флаконі є стабільним упродовж:
- 8 годин за температури 15–30 °C
- 1 тижня за температури 2–8 °C
- 1 місяця за температури -20 °C.

НЕОБХІДНІ ДОДАТКОВІ МАТЕРІАЛИ
Стандартна плазма (кат. номер: EHL00012)
Owrens Veronal буфер (кат. номер: EHL00021)

ВІДБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ
Відбір і підготовку зразків рекомендовано проводити у відповідності з настановою CLSI H21-A5. [3]
Використовувати посуд з органічного або силіконізованого скла. Кров (9 частин) необхідно відібрати вантикоагулянт: 3,2 % або 3,8 % натрію цитрат (1 частина). Відділити плазму крові центрифугуванням на 1500 x g упродовж 15 хвилин. Плазму зберігати за температури 2–8 °C або 18–24 °C, аналіз провести упродовж 4 годин з моменту відбору. Для більш тривалого зберігання плазму необхідно заморозити, тривалість зберігання у замороженому вигляді: 2 тижні за температури -20 °C або 6 місяців за температури -70 °C. Безпосередньо перед початком аналізу розморозити за температури 37 °C. Не утримувати за температури 37 °C понад 5 хвилин. [3]

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ
Ручний метод
1. Побудова калібрувальної кривої:
Процедура калібрування здійснюється кожного разу при зміні номеру партії реагентів або при зміні приписаних значень контрольних матеріалів. Приготувати наступні розчини стандартної плазми Стандартна плазма (кат. номер EHL00012) в буфері Owrens Veronal буфер (кат. номер EHL00021)

Пробірка	ECL 760 Реком. розведення	Розчин (Посібник, ECL 105, ECL 412)	Erba Standard Plasma (мл)	Owren's buffer (мл)
1	2/1	1 + 4	0,2	0,8
2	1/1	1 + 9	0,1	0,9
3	1/2	1 + 19	0,1	1,9
4	1/3	1 + 29	0,1	2,9
5	1/4	1 + 39	0,1	3,9

2. Підготовка зразків пацієнтів і контрольних зразків:
- Приготувати розчини (1 + 9) зразків пацієнта або контрольних плазм в буфері Erba Owrens Veronal Buffer.
- Перемішати без струшування.

3. Аналіз:
- Піпетувати 0,2 мл розчинів стандартної плазми, зразків пацієнта або контрольних плазм у реакційні пробірки, інкубувати за температури 37 °C упродовж 2 хвилин.
- Додати 0,1 мл реагенту Фібриноген Thrombin Reagent (15–30 °C) і одночасно запустити відлік часу.
- Зафіксувати час утворення тромбу з точністю до 0,1 секунди.
- На міліметровому папері нанести точки калібрувальних розчинів із значеннями рівнів фібриногену (мг/дл) на осі абсцис та часом згортання крові (с) на осі ординат. При побудові калібрувальної прямої точку розчину 1 + 9 встановити як опорну для прямої інтерполяції. Встановити значення активності для зразків пацієнтів і контролів з використанням калібрувальної прямої.

Автоматичний метод
Див. Інструкцію користувача обладнання.

НОРМАЛЬНІ ВЕЛИЧИНИ
Нормальні величини [4,5] для фібриногену в плазмі крові (г/л):

0-1 рік:	1,50 – 3,40
1-6 років:	1,70 – 4,00
6-11 років:	1,55 – 4,00
11-16 років:	1,55 – 4,50
16-18 років:	1,60 – 4,20
Понад 18 років:	1,80 – 4,20

Кожна лабораторія повинна встановити власний діапазон нормальних значень, із урахуванням обладнання, методів відбору зразків і методик аналізу, які використовуються. Діапазон нормальних значень повинен коригуватися або підтверджуватися після зміни одного або кількох вищенаведених факторів. Для отримання детальної інформації див. настанову CLSI C28-A3 [6].

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ
Кожна лабораторія встановлює власні процедури контролю якості.
Задля забезпечення якості і ефективності роботи рекомендованим є використання контрольних плазм крові з двома рівнями контролю, один з яких для нормальних (близьких до нормальних) значень: Контрольна плазма нормальна (кат. номер EHL00014) або Контрольна плазма нормальна Плюс (кат. номер EHL00016), другий – для патологічних значень: Контрольна плазма патологія (кат. номер EHL00015) або Контрольна плазма патологія Плюс (кат. номер EHL00017).

ОБМЕЖЕННЯ ЗАСТОСУВАННЯ
Вміст гепарину понад 0,6 Од/мл або вміст продукту фібринолітичного розкладу понад > 100 мг/мл можуть спричинити отримання хибнозаниження результатів визначення вмісту фібриногену. Якщо значення для зразків пацієнтів не потрапляють у діапазон калібрувальної прямої, необхідно повторити аналіз із коригуванням ступеню розведення зразка з метою зміщення значень у вищезгаданий діапазон.

ПАРАМЕТРИ РЕАГЕНТІВ
Наведені значення отримувалися на аналізаторах Erba серії ECL і можуть відрізнятися від отриманих ручним методом або на інших аналізаторах.
Точність:

Внутрішньосерійна	ECL 105/412		ECL 760	
	Значення (сек)	СКВ (%)	Значення (сек)	СКВ (%)
Erba Control N	2,59	6,68	3,30	3,38
Erba Control P	2,66	5,05	2,93	5,43
Патологічний контроль	0,91	7,03	0,99	5,18

Міжсерійна	ECL 105/412		ECL 760	
	Значення (сек)	СКВ (%)	Значення (сек)	СКВ (%)
Erba Control N	2,46	7,31	3,51	7,58
Erba Control P	2,37	5,86	3,11	9,67

Нижня межа визначення	
ECL 105/412	**ECL 760**
0,368 г/л	0,517 г/л

Діапазон вимірювання	
ECL 105	0,80–7,50 (g/L)
ECL 412	0,80–6,81 (g/L)
ECL 760	1,39–5,56 (g/L)

Фактор впливу	ECL 105/412	ECL 760
Гемоглобін	мін. 1 г/л	мін. 3 г/л
Тригліцериди	мін. 320 мг/дл	мін. 680 мг/дл
Білірубін	мін. 24 мг/дл	мін. 28 мг/дл

ЛІТЕРАТУРА

1. Clauss A (1957) Gerinnungsphysiologische Schnell-methode zur bestimmung des Fibrinogens, Acta Haematol, 17:237-246
2. Shaw TS (1977) Assays for Fibrinogen and its Derivatives CRC, Crit.Rev.Clin.Lab.Sci, 8:145-192
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI:H21-A5
4. Hematology of Infancy and Childhood, Nathan and Orkin, Saunderds 2003, P. Monagle: Developmental haemostasis: Impact for clinical haemostasis laboratories, Thromb Haemost 2006; 95: 362-72
5. Czech haematological Society CzMA JEP
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline. CLSI document C28-A3

UA Уповноважений представник в Україні:
ТОВ „ЕРБА ДІАГНОСТИКС УКРАЇНА“
01042, Київ, вул. ІОННА ПАВЛА II, буд. 21, офіс 401
тел. +38-050-4483456
ukraine@erbamannheim.com

ВИКОРИСТАНІ ПОЗНАЧКИ

LOT	Номер партії	IVD	*In vitro* діагностика		Перед використанням уважно вивчіть Інструкцію
REF	Каталожний номер		Виробник	CONT	Вміст
	Термін придатності		Температура зберігання		Біологічні ризики
	Національний знак відповідності для України				

10020367
10020410

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 13485

Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbamannheim.com, www.erbamannheim.com

N/234/22/A/INT *Дата проведення контролю: 3. 5. 2022*

Reactivo de Trombina Erba

Para la Determinación del Fibrinógeno

Кат. номер	Назва на упаковці	Вміст
EHL00005	Reactivo de Trombina Erba	5 × 2 ml

ES

CE IVD

USO PREVISTO

El Reactivo de Trombina de Erba está destinado a la determinación cuantitativa de fibrinógeno en plasma humano mediante el método de Clauss.

IMPACTO CLÍNICO

El fibrinógeno (también llamado Factor I) es una glicoproteína sintetizada en los hepatocitos del hígado y en los megacariocitos. El fibrinógeno está compuesto por dos conjuntos de tres cadenas diferentes (α, β y γ), unidas entre sí por enlaces disulfuro. En las cadenas alfa y beta, hay una pequeña secuencia de péptidos (llamada fibrinopéptido). La trombina (Factor IIa) es responsable de convertir el fibrinógeno en fibrina, separando los monómeros de fibrinopéptidos. Los monómeros se agregan para formar la Fibrina, que luego es entrecruzada por el Factor XIII a para formar un coágulo de fibrina insoluble.

El fibrinógeno es una proteína reactante de fase aguda. Por lo tanto, su nivel en la sangre puede aumentar como respuesta a estados inflamatorios, con infecciones, durante el embarazo y después de un traumatismo. La disminución del nivel de fibrinógeno se encuentra en la deficiencia congénita de fibrinógeno y en la afibrinogenemia. También puede disminuir en casos de Coagulación Intravascular Diseminada (CID), fibrinólosis sistémica, disfunción pancreática y disfunción hepática grave.

PRINCIPIO

Clauss[1] desarrolló un método sencillo para la determinación cuantitativa del fibrinógeno midiendo el tiempo de coagulación del plasma diluido tras la adición de trombina (> 30 unidades NIH/ml). Este tiempo de coagulación es proporcional a la concentración de fibrinógeno.

COMPOSICIÓN

Reactivo de trombina Erba; aproximadamente 100 unidades NIH/ml de trombina bovina con estabilizadores.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Sólo para uso de diagnóstico in vitro. Estos reactivos deben ser utilizados únicamente por personal de laboratorio médico certificado.
- No ingerir.
- Utilice guantes para manipular todos los componentes del juego.
- Utilice únicamente material de laboratorio limpio o de un solo uso para evitar contaminaciones.
- El residuo final de reactivos debe eliminarse de acuerdo con el reglamento interno y en cumplimiento de la normativa local y nacional relativa a la manipulación segura de los residuos.

El reactivo contiene < 30 % de trombina bovina.

Identificación de peligros de acuerdo con el Reglamento (CE) Nº 1272/2008

Atención

Declaración de riesgos:

H315 Provoca irritación cutánea.

H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

H319 Provoca irritación ocular grave.

Declaración de cuidado:

P302 + P352 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con abundante agua.

P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

ADVERTENCIA - MATERIAL POTENCIALMENTE BIOPELIGROSO

El Reactivo de Trombina Erba contiene trombina bovina. Los productos del plasma han sido monitoreados y se ha determinado que son negativos (a menos que se indique lo contrario en la caja o el vial) para la presencia del Antígeno de la Hepatitis B (HBsAg), los anticuerpos del VIH 1 y 2 y los anticuerpos del VHC. Por lo tanto, los usuarios de reactivos de este tipo deben extremar las precauciones, manipulando estos materiales biológicos como si fueran infecciosos, en cumplimiento total de la normativa de seguridad.

REACTIVO DE TRABAJO

BReconstituya cada vial Reactivo de Trombina Erba con exactamente 2 ml (EHL00005/EHL00006) o 5 ml (EHL00025) de agua purificada. Tenga cuidado al pipetear para evitar la contaminación.

10020367
10020410

Agitar suavemente y dejar reposar durante 15 minutos Mezcle bien inmediatamente antes del uso. No agite.
Evite la contaminación del reactivo

ESTABLIDAD Y ALMACENAMIENTO

Los reactivos sin abrir son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el frasco y en la etiqueta del juego cuando se almacenan a 2-8°C. Una vez se haya reconstituido, el reactivo es estable durante:

- 8 horas a 15-30 °C
- 1 semana a 2-8 °C
- 1 mes a -20 °C

REACTIVOS NECESARIOS, PERO NO PROPORCIONADOS

Erba Standard Plasma (Cat. No.: EHL00012)
Erba Owrens Veronal Buffer (Cat. No.: EHL00021)

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Se debe utilizar plástico o vidrio siliconado en todo momento. La sangre (9 partes) debe recogerse en citrato de sodio anticoagulante al 3,2 % o al 3,8 % (1 parte). Separe el plasma después de centrifugarlo a 1500 x g durante 15 minutos. El plasma debe ser conservado entre 2-8 °C o entre 18-24 °C. La prueba debe completarse en las 4 horas siguientes a la recogida de la muestra, o el plasma puede ser almacenado congelado a -20°C durante 2 semanas o a -70 °C durante 6 meses. Descongele rápidamente a 37 °C antes de la prueba. No lo mantenga a 37 °C por más de 5 minutos.[2]

PROCEDIMIENTO

Método manual

1. Preparación de la Curva Estándar:

Se debe utilizar una nueva curva estándar cuando cambien los números de lote de los reactivos o si cambian los valores esperados en las pruebas de control de calidad. Prepare las siguientes diluciones de Erba Standard Plasma (Cat.No: EHL00012) en Erba Owrens Veronal Buffer (Cat. No.: EHL00021)

Tubo	ECL 760 Diluciones Recomendadas	Dilución (Manual, ECL 105, ECL 412)	Erba Standard Plasma (ml)	Owren's buffer (ml)
1	2/1	1 + 4	0,2	0,8
2	1/1	1 + 9	0,1	0,9
3	1/2	1 + 19	0,1	1,9
4	1/3	1 + 29	0,1	2,9
5	1/4	1 + 39	0,1	3,9

2. Preparación de las Muestras de Pacientes:

- Preparar diluciones 1 + 9 de plasma del paciente o de plasma de control en el Tampón Owrens.
- Mezclar sin agitar.

3. Pruebas:

- Pipetear 0,2 ml de dilución estándar, del paciente o de control en un tubo de reacción e incubar a 37 °C durante 2 minutos.
- Agregar 0,1 ml de Reactivo de Trombina Erba (15–30 °C) y al mismo tiempo iniciar el temporizador.
- Anote el tiempo de formación de coágulos con una precisión de 0,1 segundos.
- Trazar el Tiempo de Coagulación Estándar (eje Y) frente al Nivel de Fibrinógeno (eje X) en la hoja del gráfico de fibrinógeno. Debería obtenerse una línea recta. Asignar el valor de referencia de Erba Standard Plasma (Cat. No.: EHL00012) a la dilución 1 + 9 para permitir la interpolación directa de los valores del paciente y de control a partir de la curva estándar.

Método automatizado

Vea el manual para operadores del aparato.

VALORES DE REFERENCIA

Límites de referencia[4,5] para fibrinógeno (g/L) en plasma:

0–1 año: 1,50–3,40
1–6 años: 1,70–4,00
6–11 años: 1,55–4,00
11–16 años: 1,55– 4,50
16–18 años: 1,60– 4,20
≥18 años: 1,80– 4,20

Los intervalos de referencia varían de un laboratorio a otro según la población, la técnica y el lote de reactivo. Por lo tanto, cada laboratorio debe establecer sus propios intervalos de referencia o verificarlos cada vez que se modifique una o más de las variables antes mencionadas.

Para obtener más información sobre el establecimiento de intervalos de referencia, consulte el documento CLSI C28-A3. [6]

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 13485

CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe establecer un programa de control de calidad.

Para asegurar la calidad adecuada, se recomienda utilizar plasmas de control. Se sugiere utilizar dos niveles de control, uno cercano a los valores normales del paciente (Erba Control N, Cat. No.: EHL00014 o Erba Control N Plus, Cat. No.: EHL00016) y el segundo representante los valores patológicos (Erba Control P, Cat. No.: EHL00015 o Erba Control P Plus, Cat. No.: EHL00017).

LIMITANTES

Los niveles de heparina > 0,6 unidades/ml y el producto de degradación fibrinolítica > 100 mg/ml pueden causar una cuantificación de fibrinógeno falsamente baja. Si los valores quedan fuera de los valores de la curva estándar para las muestras de los pacientes, vuelva a realizar el ensayo utilizando una dilución adecuada para que los valores queden en el rango estándar.

INTERFERENCIAS

Hemoglobina: Sin interferencias significativas hasta 10 g/l en plasma normal (366,9 mg/dl). Bilirrubina total: Sesgo positivo a partir de 91 mg/l (155,6 µmol/l) en plasma normal (373,3 mg/dl).

Turbidez: Sesgo positivo a partir de 3,7 g/l (4,22 mmol/l) de triglicéridos equivalentes en plasma normal (365,1 mg/dl).

RENDIMIENTO

Estos rendimientos se han obtenido utilizando un analizador ECL. Los resultados pueden variar si se utiliza un instrumento o procedimiento manual diferente.

Precisión:

Intra ensayo	ECL 105/412		ECL 760	
	Formación de coágulos (g/L)	CV (%)	Formación de coágulos (g/L)	CV (%)
Control Erba N	2,59	6,68	3,30	3,38
Control Erba P	2,66	5,05	2,93	5,43
Control alto	0,91	7,03	0,99	5,18

Intra ensayo	ECL 105/412		ECL 760	
	Formación de coágulos (g/L)	CV (%)	Formación de coágulos (g/L)	CV (%)
Control Erba N	2,46	7,31	3,51	7,58
Control Erba P	2,37	5,86	3,11	9,67

Límite de cuantificación	
ECL 105/412	**ECL 760**
0,368 g/l	0,517 g/l

Rango de medición	
ECL 105	0,80–7,50 (g/L)
ECL 412	0,80–6,81 (g/L)
ECL 760	1,39–5,56 (g/L)

Sustancia interferente	ECL 105/412	ECL 760
Hemoglobina	mín. 1 g/L	mín. 3 g/L
Triglicéridos	mín. 320 mg/dL	mín. 680 mg/dL
Bilirrubina	mín. 24 mg/dL	mín. 28 mg/dL

REFERENCIAS

1. Clauss A (1957) Gerinnungsphysiologische Schnell-methode zur-bestimmung des Fibrinogens, Acta Haematol, 17:237-246
2. Shaw TS (1977) Assays for Fibrinogen and its Derivatives CRC, Crit.Rev.Clin.Lab.Sci, 8:145-192
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI:H21-A5
4. Hematology of Infancy and Childhood, Nathan and Orkin, Saunderds 2003, P. Monagle: Developmental haemostasis: Impact for clinical haemostasis laboratories, Thromb Haemost 2006; 95: 362-72
5. Czech haematological Society CzMA JEP
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline. CLSI document C28-A3

SÍMBOLOS UTILIZADOS

LOT Número de lote
IVD Dispositivo Médico para Diagnóstico *in Vitro* Solamente
Véase instrucciones de uso
REF Número de Catálogo
Fabricante
CONT Contenido
Fecha de caducidad
Rango de Temperatura
Riesgos biológicos

Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbamannheim.com, www.erbamannheim.com

N/234/22/A/INT *Fecha de revisión: 3. 5. 2022*