

Fibrinogen

Diagnostic reagent for the quantitative in vitro determination of Fibrinogen in human plasma by turbidimetric assay

REF

Content

A00517 1x 5 mL Fibrinogen Antibody Reagent
 2x 25 mL PEG6 Buffer

Additionally offered:

A01520 1x 0.5 mL Fibrinogen Calibrator
 A04825 1x 1 mL Fibrinogen Control

GENERAL INFORMATION

Method Immunoturbidimetric
Reaction Nonlinear, endpoint
Wavelength 340 nm
Assay Temperature 18 – 37 °C
Sample Sodium citrate plasma
Measuring Range approx. 0 – 500 mg/dL
Sensitivity 40 mg/dL (Cobas Mira)
Hook Effect > 5,150 mg/dL (Cobas Mira)
Manual Test Procedure Tests/Kit*
 with sample dilution 100

Automated Test Procedure

Instrument dependent – please ask for applications

* calculated on amount of antibody reagent; additional buffer on request

REAGENT COMPOSITION

COMPONENTS FINAL CONCENTRATION

Fibrinogen Antibody Reagent
 Turbidimetric grade antibody raised in the goat, monospecific for Fibrinogen variable
 Sodium azide 0.095 %

PEG6 Buffer

Phosphate buffered saline
 PEG 6 %
 Sodium azide 0.095 %

REAGENT PREPARATION

The reagents are liquid and ready to use.

REAGENT STABILITY AND STORAGE

Conditions: Protect from light. Close immediately after use.
Stability: at 2 – 8 °C up to the expiration date
 at 18 – 25 °C 1 month

Do not freeze!

SAMPLE STABILITY AND STORAGE

Use fresh plasma (sodium citrate plasma).
Stability: at 2 – 8 °C 3 hours

MANUAL TEST PROCEDURE

Test Procedure with Sample Dilution:

Samples/Controls: dilute 1:10 in saline 0.9%

Calibration curve: Use Fibrinogen Calibrator to generate a calibration curve by making 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 and 1:160 dilutions with 0.9% saline as diluent. Use 0.9% saline as zero point.

Pipette into test tubes:	Calibrators	Samples/Controls
Buffer	900 µL	900 µL
Cal./Ctrls/Samples	10 µL	10 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Antibody Reagent	50 µL	50 µL
Mix. Incubate 5 minutes at assay temperature. Read A2 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Calculate: $\Delta A = (A2 - A1)$		

CALCULATION

Calculate and plot $\Delta A = (A2 - A1)$ of the calibrators versus assigned concentration values on a linear-linear graph paper. Calculate ΔA optical densities of samples and control(s) and read values in mg/dL on the reference curve. Samples yielding absorbances above highest calibrator should be retested after further dilution.

REFERENCE RANGE

200 – 400 mg/dL
 It is recommended that each laboratory establishes its own normal range.

TEST PRINCIPLE

The assay of Fibrinogen is based on turbidimetric measurement. Turbidity is caused by the formation of antigen-antibody insoluble immuno complexes. The formation of the complexes is accelerated and enhanced by PEG

DIAGNOSTIC IMPLICATIONS

Minimising blood loss is accomplished by three events. One is a clumping of platelets in the blood at the site of injury. Another is a vasoconstriction of the injured vessel to reduce the flow through the break. The third event is aggregation of a protein, fibrin, into a clot – a stable three-dimensional lattice, that is strong enough to seal the damaged vessel while repairs are being made. Clotting occurs because a soluble blood plasma protein, fibrinogen, is partially hydrolysed to form fibrin. Elevated levels of fibrinogen in plasma are to be expected in inflammatory processes, after major trauma or surgery and also occur with metastasising tumours. Decreased levels of fibrinogen can occur in consumption coagulopathies like disseminated intravascular coagulation (DIC), primary hyperfibrinolysis, hepatic insufficiency and genetic deficiency. Epidemiological studies have shown that elevated plasma levels of fibrinogen are associated with an increased risk of arteriosclerosis.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

SENSITIVITY

40 mg/dL (Cobas Mira)

ACCURACY

A control from DADE was assayed in duplicate for Fibrinogen.

Control	Assigned Value (mg/dL)	Measured Value (mg/dL)
CI-TROL I – X (DADE)	281 (239 – 323)	275

PRECISION

Intra-Assay Precision

Two sera (low, high) were consecutively measured 20 times on the Cobas Mira.

Expected Value	n	Mean	S.D.	C.V
Low	20	164.05	3.66	2.23
High	20	522.3	15.93	3.05

Inter-Assay Precision

After calibration of the SPACE autoanalyser, Fibrinogen was measured in two plasma samples at regular time intervals during 3 weeks. Plasma were stored at 4 °C.

Sample	n	Mean	S.D.	C.V.
1	23	446.2	11.21	2.51
2	23	242.3	7.33	3.03

METHOD COMPARISON

A comparison with Nephelometry gave the following results:
 $y = 1.2077 x + 46.23$; $r = 0.9938$

INTERFERING SUBSTANCES

No interference up to:
 Bilirubin 20 mg/dL Hemoglobin 1000 mg/dL
 Triglycerides 2500 mg/dL

QUALITY CONTROL

All commercially available Control sera with Fibrinogen values measured by this method may be used. We recommend the Dialab Fibrinogen Control.

CALIBRATION

The assay requires the use of Fibrinogen Calibrators. We recommend the Dialab Fibrinogen Calibrator.

AUTOMATION

Applications for automated systems (with and without sample dilution) are available upon request.

WARNINGS AND PRECATIONS

- The Fibrinogen reagents are intended for in vitro diagnostic use only.
- Sodium azide has been reported to form lead or copper azide in laboratory plumbing which may explode on percussion.
- Each donor unit used in the preparation of the standards and controls was found to be negative for the presence of HIV antibodies, as well as for Hepatitis B surface antigen, using a method approved by the FDA

WASTE MANAGEMENT

Please refer to local requirements.

REFERENCES

- Ernst, E. und Resch, K. L., Ann. Intern. Med. 118, 956 (1993)
- Cremer, P. et al., Diagnose & Labor 42, 28 (1992)
- Dati, F. et al., Klin. Lab 39, 669 (1993)



Fibrinogen

Diagnostisches Reagenz für den quantitativen Nachweis von Fibrinogen in Humanplasma mittels turbidimetrischer Methode

REF

Inhalt

A00517 1x 5 mL Fibrinogen Antikörperreagenz
 2x 25 mL PEG6 Puffer

Zusätzlich wird angeboten:

A01520 1x 0.5 mL Fibrinogen Kalibrator
 A04825 1x 1 mL Fibrinogen Kontrolle

ALLGEMEINE INFORMATION

Methode: Immunturbidimetrisch
Reaktion: Nicht-linear, Endpunkt
Wellenlänge: 340 nm
Testtemperatur: 18 – 37 °C
Probe: Natrium-Citrat Plasma
Messbereich: ca. 0 – 500 mg/dL
Sensitivität: 40 mg/dL (Cobas Mira)
Hook-Effekt > 5,150 mg/dL (Cobas Mira)

Manuelle Testdurchführung Tests/Kit*
 mit Probenverdünnung 100

Automatische Testdurchführung

Instrumentenabhängig - Applikationen auf Anfrage

* berechnet aufgrund der Menge des Antikörperreagenz; zusätzlicher Puffer auf Anfrage

REAGENZIENZUSAMMENSETZUNG

KOMPONENTEN ENDKONZENTRATION

Fibrinogen Antikörperreagenz
 Turbidimetrisch-Grade-Antikörper aus der Ziege, monospezifisch für Fibrinogen variabel
 Natriumazid 0,095 %

PEG6 Puffer

Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung
 PEG 6 %
 Natriumazid 0,095 %

REAGENZENVORBEREITUNG

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

REAGENZIENSTABILITÄT UND -LAGERUNG

Bedingungen: Vor Licht schützen. Nach Verwendung sofort verschließen.
Haltbarkeit: bei 2 – 8 °C bis zum Verfallsdatum
 bei 18 – 25 °C 1 Monat

Nicht einfrieren!

PROBENSTABILITÄT UND -LAGERUNG

Frisches Plasma verwenden (Natrium-Citrat Plasma).

Haltbarkeit: bei 2 – 8 °C 3 Stunden

MANUELLE TESTDURCHFÜHRUNG

Testdurchführung mit Probenverdünnung:

Proben/Kontrollen: 1:10 mit 0,9% Kochsalzlösung verdünnen
 Kalibrationskurve: mit dem Fibrinogen Kalibrator eine Kalibrationskurve erstellen. Dazu eine 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 und 1:160 Verdünnung mit 0,9 % Kochsalzlösung herstellen. 0,9 % Kochsalzlösung als Nullpunkt verwenden.

In Küvetten pipettieren	Kalibratoren	Proben/Kontrollen
Puffer	900 µL	900 µL
Kal./Ktrl./Proben	10 µL	10 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	50 µL	50 µL
Mischen. 5 min. bei Testtemperatur inkubieren. A2 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Berechnung: $\Delta A = (A2 - A1)$		

BERECHNUNG

Das $\Delta A = (A2 - A1)$ jedes Kalibrators berechnen und gegen die angegebenen Konzentration auf einem linearen Millimeterpapier auftragen. Die ΔA optischen Dichten von Proben und Kontrolle(n) berechnen und die Werte in mg/dL auf der Referenzkurve ablesen. Proben mit Absorptionen über dem höchsten Kalibrator sollten nach Verdünnung nochmals getestet werden.

REFERENZBEREICH

200 – 400 mg/dL

Jedes Labor sollte wenn möglich seinen eigenen Normalbereich ermitteln.

TESTPRINZIP

Der Test für Fibrinogen basiert auf turbidimetrischer Messung. Durch Bildung von unlöslichen Antigen-Antikörper Immuno-Komplexen kommt es zu einer Trübung. Die Bildung dieser Komplexe wird durch PEG beschleunigt und verbessert.

DIAGNOSTISCHE BEDEUTUNG

Das Stoppen einer Blutung wird durch drei Ereignisse bewerkstelligt. Eines ist die Verklumpung von Blutplättchen an der Verletzungsstelle. Ein anderes ist die Gefäßverengung des verletzten Gefäßes, um den Blutfluss zu reduzieren. Das dritte Ereignis ist die Ansammlung eines Proteins, Fibrin, in einem Klumpen – ein stabiles, drei-dimensionales Gitter, das stark genug ist, um das verletzte Gefäß zu verschließen, während es repariert wird. Diese Verklumpung tritt auf, da das lösliche Blutplasma-protein Fibrinogen tw. hydrolysiert wird, um Fibrin zu bilden. Erhöhte Fibrinogenwerte im Plasma findet man bei Entzündungsprozessen, nach starkem Trauma oder Operation und auch bei metastasierenden Tumoren. Erniedrigte Werte findet man bei Verbrauchskoagulopathien wie verbreiteter intravasaler Koagulopathie (DIC), primärer Hyperfibrinolyse, Leberinsuffizienz und genetischen Mängeln. Epidemiologische Studien zeigten, dass erhöhte Fibrinogenwerte im Plasma mit einem erhöhten Risiko für Arteriosklerose in Verbindung gebracht werden.

LEISTUNGSMERKMALE

SENSITIVITÄT

40 mg/dL (Cobas Mira)

GENAUIGKEIT

Eine Kontrolle von DADE wurde in Doppelbestimmung auf Fibrinogen getestet.

Kontrolle	Bestimmter Wert (mg/dL)	Gemessener Wert (mg/dL)
CI-TROL I – X (DADE)	281 (239 – 323)	275

PRÄZISION

Präzision innerhalb der Serie

Zwei Seren (niedrig, hoch) wurden nacheinander je 20x auf dem Cobas Mira gemessen.

Erwarteter Wert	n	Mittelwert	S.D.	C.V
Niedrig	20	164.05	3.66	2.23
Hoch	20	522.3	15.93	3.05

Präzision zwischen den Serien

Nach Kalibration auf dem SPACE Autoanalyser wurde Fibrinogen in zwei Plasmaproben in regelmäßigen Zeitabständen 3 Wochen lang gemessen. Die Plasmen wurden bei 4°C gelagert.

Probe	n	Mittelwert	S.D.	C.V.
1	23	446.2	11.21	2.51
2	23	242.3	7.33	3.03

METHODENVERGLEICH

Ein Vergleich mit Nephelometrie ergab folgende Ergebnisse:

$$y = 1.2077 x + 46.23; r = 0.9938$$

STÖRENDE SUBSTANZEN

Keine Interferenzen bis:

Bilirubin 20 mg/dL Hämoglobin 1000 mg/dL
 Triglyceride 2500 mg/dL

QUALITÄTSKONTROLLE

Alle kommerziell erhältlichen Kontrollseren, bei denen Fibrinogen mit dieser Methode gemessen wurde, können verwendet werden. Wir empfehlen die Dialab Fibrinogen Kontrolle.

KALIBRATION

Für diesen Test werden Fibrinogen Kalibratoren benötigt. Wir empfehlen den Dialab Fibrinogen Kalibrator.

AUTOMATISIERUNG

Applikationen für automatisierte Systeme (mit und ohne Probenverdünnung) sind auf Anfrage erhältlich.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Die Fibrinogen Reagenzien sind nur für die In-Vitro-Diagnostik.
- Natriumazid bildet Blei- oder Kupferazide in Laborleitungen, was bei Erschütterung zu Explosionen führen kann.
- Jede Spendereinheit, die für die Herstellung der Standards und Kontrollen verwendet wurde, wurde negativ auf HIV-Antikörper und Hepatitis B Oberflächen-Antigen unter Verwendung einer FDA-geprüften Methode getestet.

ABFALLENTSORGUNG

Die lokalen Bestimmungen sind zu beachten.

BIBLIOGRAPHIE

- Ernst, E. und Resch, K. L., Ann. Intern. Med. 118, 956 (1993)
- Cremer, P. et al., Diagnose & Labor 42, 28 (1992)
- Dati, F. et al., Klin. Lab 39, 669 (1993)

