

## Prothrombin (Faktor II) Mangelplasma

# DP010A / DP010K

**CE** Mangelplasma zur Bestimmung von Prothrombin  
 in Gerinnungstesten

In-vitro-Diagnostikum

### VERWENDUNGSZWECK:

Mit dem Prothrombin Mangelplasma kann die Aktivität von Faktor II (FII oder Prothrombin) in humanem Citratplasma mit einer Gerinnungsmethode, gestartet durch Zugabe von Calciumthromboplastin, bestimmt werden.

### TESTPRINZIP:

Die Methode basiert auf einem Gerinnungstest, bei dem alle Gerinnungsfaktoren, mit Ausnahme von FII, der aus dem Probenplasma stammt, durch das Mangelplasma in konstanter Menge und im Überschuss zur Verfügung gestellt werden. Der Gerinnungstest wird mit Calcium-Thromboplastin gestartet, wobei FII der limitierende Faktor ist. Die Gerinnungszeit ist umgekehrt proportional zur FII Konzentration. Bi-logarithmisch dargestellt, handelt es sich um einen umgekehrt linearen Zusammenhang zwischen der FII Konzentration der Probe und der korrespondierenden Gerinnungszeit.

### PROBENMATERIAL:

Humanes Plasma mit Trinatriumcitrat als Antikoagulant.

### REAGENZIEN:

1 Flasche mit 1 ml (DP010A) oder 6 Flaschen mit 1 ml (DP010K) humanem Citratplasma mit FII Mangel, immunadsorbiert, lyophilisiert in Gegenwart von Glycin und Stabilisatoren. Dieses Plasma hat einen Prothrombin Mangel (<1%), alle anderen Gerinnungsfaktoren liegen im Normalbereich vor (> 50%).

### ERFORDERLICHE MATERIALIEN, DIE NICHT IM KIT ENTHALTEN SIND:

- Automatische Pipette mit Abgabevolumina von 20 µl, 50 µl und 100 µl.
- Automatische Pipette mit variablen Abgabevolumina von 50 µl bis 1000 µl.
- Halb- bzw. vollautomatischer Gerinnungsanalyser, oder manuelles Koagulometer.
- Wasserbad, Stoppuhr.
- Aqua dest.
- Imidazol-Puffer (#AR021A/AR021K/AR021L).
- Normaler, humaner Citratplasmappool oder Faktor II Kalibrator (BIOPHEN Plasma Kalibrator - #222101).
- Qualitätskontrollplasma Normal und Abnormal, titriert für Faktor II (BIOPHEN Normal Kontrollplasma - #223201 und BIOPHEN Abnormal Kontrollplasma - #223301).
- Calciumthromboplastin.

### REKONSTITUTION UND STABILITÄT DER REAGENZIEN:

Ungeöffnete Reagenzien müssen bei 2-8°C in der Originalverpackung gelagert werden, sie sind dann bis zum auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum stabil.

### Rekonstitution:

Den Inhalt jeder Flasche mit exakt 1 ml Aqua dest. rekonstituieren und bis zur vollständigen Auflösung des Inhalts gut schütteln (Vortex). Für 15 Minuten bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren. Den Inhalt vor jedem Gebrauch homogenisieren.

### Stabilität nach Rekonstitution:

Stabilität von F II Mangelplasma in der Originalflasche unter Vermeidung jeglicher Kontamination:

- 8 Stunden bei Raumtemperatur (18-25°C)
- 24 Stunden bei 2-8°C
- 2 Monate bei -20°C oder kälter, in der Originalflasche oder einem Plastikröhrchen (vor Gebrauch bei 37°C für mindestens 15 Minuten im Wasserbad auftauen).

Anmerkung: Das zur Herstellung verwendete Plasma wurde mit registrierten Methoden getestet und als negativ für HIV-Antikörper, HBs-Ag und HCV-Antikörper eingestuft. Kein Test kann jedoch die Anwesenheit infektiöser Stoffe vollständig ausschließen. Jedes Produkt humanen Ursprungs, insbesondere Plasma, muss deshalb mit allen erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen als potentiell infektiös behandelt werden.

Stabilitätsstudien bei 30°C zeigen, dass die Reagenzien ohne Beeinträchtigung bei Raumtemperatur versendet werden können.

### PROBENGEWINNUNG:

Blut (9 Volumenteile) wird in 0,109 M (oder 0,129 M) Citrat als Antikoagulant (1 Volumenteil) abgenommen. Das Blut muss bei 2.500 g für 20 Minuten zentrifugiert werden. Das Plasma wird anschließend mit einer Plastikpipette in ein Kunststoffröhrchen überführt.

Lagerung der Plasmaprobe:

- 4 Stunden bei Raumtemperatur (18-25°C).
- 1 Monat tiefgefroren bei -20°C oder niedriger (vor Gebrauch für 15 Minuten im Wasserbad bei 37°C auftauen).

Weitere Vorschriften für die Probengewinnung, -handhabung und -lagerung sind im NCCLS Dokument H21-A2 veröffentlicht.

### TESTDURCHFÜHRUNG:

#### Kalibrationskurve:

1 ml Citrat-Plasmappool 1:10 mit Imidazol-Puffer verdünnen. Diese Verdünnung entspricht einer Konzentration von **100% FII**. Aus dieser Präparation werden die weiteren Kalibratorverdünnungen wie folgt hergestellt:

Faktor II	6,25%*	12,5%	25%	50%	100%
Verdünnung	1:160	1:80	1:40	1:20	1:10
Plasmappool 1:10	0,060 ml	0,125 ml	0,250 ml	0,500 ml	1,0 ml
Imidazol Puffer	0,900 ml	0,875 ml	0,750 ml	0,500 ml	0 ml

\*diese zusätzliche Verdünnung kann verwendet werden, falls eine hohe Präzision im unteren Messbereich erforderlich ist (≤ 10%).

Wir empfehlen die Verwendung des BIOPHEN® Plasma Kalibrators (#222101). Dessen Faktor II Aktivität ist für jede Charge auf dem beiliegenden Datenblatt exakt angegeben. Die verdünnten Kalibratorlösungen müssen innerhalb von 2 Stunden bei Raumtemperatur verwendet werden.

#### Testplasmen:

Das Testplasma muss 1:10 mit Imidazol-Puffer verdünnt werden. Das verdünnte Plasma muss innerhalb von 2 Stunden getestet werden.

Hinweis: Für eine optimale Testleistung müssen alle Bestimmungen (Kalibration, Proben, Kontrolle) ohne Unterbrechung durchgeführt werden.

### Testdurchführung:

#### Manuelle Methode:

Calcium-Thromboplastin bei 37°C vorinkubieren.

In Teströhrchen oder Küvetten wird nach folgendem Schema zugegeben:

- 100 µl FII Mangelplasma.
- 100 µl Kalibratorlösung oder Testplasma 1:10 verdünnt.

1 Minute bei 37°C inkubieren, dann zugeben und Stoppuhr starten:

- 200 µl Calcium-Thromboplastin (vorinkubiert bei 37°C).

Zeit bis zur Gerinnelbildung messen.

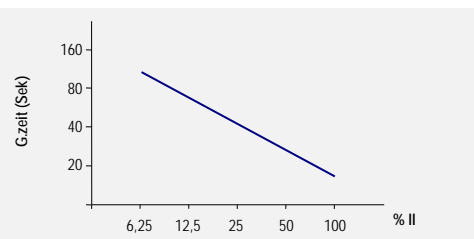
#### Automatisierte Methode:

Der Test kann mit halb- bzw. vollautomatischen Gerinnungsanalysern wie STA-R, KC-4, KC-10, BCT, BCS, usw. durchgeführt werden. Das üblicherweise verwendete Programm zur Bestimmung der Gerinnungsfaktoren im extrinsischen System - basierend auf der Thromboplastin-Methode mit Mangelplasma - kann verwendet werden. Die entsprechenden Reagenzverhältnisse müssen genau eingehalten werden. Üblicherweise werden bei automatisierten Methoden die halben Volumina der manuellen Methode eingesetzt. Beim Einsatz von halb- bzw. vollautomatischen Gerinnungsanalysern, besonders bei Analysern mit photometrischer Gerinnelbildung, sind die zu erwartenden Gerinnungszeiten etwas kürzer.

### ERGEBNISSE:

Die FII Konzentration wird auf einem bi-logarithmischen Millimeterpapier auf der x-Achse (Abszisse) gegen die korrespondierende Gerinnungszeit auf der y-Achse (Ordinate) aufgetragen. Die FII Konzentration der Probe kann von der Kalibrationskurve abgelesen werden.

Kalibrationsbeispiel: Bei der gezeigten Kalibrationskurve handelt es sich lediglich um ein Beispiel, das mit der manuellen Methode (Neoplastin C15, Diagnostica Stago) erstellt wurde.



### QUALITÄTSKONTROLLE:

Es sind verschiedene Qualitätskontrollen erhältlich, z.B.: BIOPHEN® Normal Kontrollplasma (#223201), BIOPHEN® Abnormal Kontrollplasma: (#223301) Die Verwendung von Qualitätskontrollplasma ermöglicht sowohl die Validierung der Kalibrationskurve als auch der homogenen Reaktivität von Analyse zu Analyse.

### EINSCHRÄNKUNGEN DES TESTS:

- Eine Aktivierung der Probe während der Blutentnahme oder Plasmagewinnung muss vermieden werden. Plasmen mit ungewöhnlichem Aussehen oder Anzeichen für eine Gerinnelbildung sind zu verwerfen.
- Um eine optimale Testleistung zu erzielen, wird empfohlen, den gesamten Test (Kalibratoren, Kontrollen, Proben) aus frisch hergestellten Lösungen und ohne Unterbrechung durchzuführen.
- Für eine bessere Präzision können Proben mit einem Ergebnis ≤ 10% auch lediglich 1:5 verdünnt gemessen werden. Die gemessenen Werte müssen dann durch 2 dividiert werden. Proben mit einem Ergebnis > 100% können 1:20 verdünnt gemessen werden. Das Ergebnis wird dann mit 2 multipliziert.
- Für eine Probe mit FII Mangel gilt: das Ergebnis sollte mit einer Messung der 1:5 Verdünnung und/oder einer weiteren Probe und/oder einem alternativen Testsystem überprüft werden. Ein möglicher zusätzlicher Faktorenmangel muss überprüft werden.
- In der Probe vorhandene Thrombin-Inhibitoren können die FII Konzentration der Probe beeinflussen.

### NORMALWERTE:

Üblicherweise liegt die Faktor II Aktivität bei > 70%.

### ANWENDUNGEN:

- Bestimmung der Faktor II Aktivität mit einem Gerinnungstest.
- Für Forschungsstudien, in denen eine Quelle mit Prothrombinmangel benötigt wird.

### TESTÄNDERUNGEN:

Die in diesem Test enthaltenen Gerinnungszeiten wurden mit Calcium-Thromboplastin von Biomérieux (Calcic Thromboplastin) und von Diagnostica Stago (Neoplastin) gemessen. Erwartungsgemäß liegen sie bei < 30 Sekunden für 100% FII Konzentration. Die Gerinnungszeiten und Testeigenschaften können je nach verwendetem Thromboplastinreagenz und Messgerät unterschiedlich sein. Sollwerte und Vertrauensbereiche für Qualitätskontrollen müssen unter den jeweiligen Arbeitsbedingungen bestätigt bzw. angepasst werden.

### REFERENZEN:

1. Soulier JP, Larrieu MJ. Etude analytique des temps de Quick allongés. Dosage de prothrombine, de proconvertine et de proaccéléline. Sang 1952 ; 23: 549-559.
2. Favre-Gilly J, Belleville J, Croizat P, Revel L. Les états hémorragiques acquis par trouble plasmatique de coagulation. Cah Med Lyonnais 1967 ; 43 (28) : 2611-2668.
3. Gionnaess H, Fagerhol MK. Studies on coagulation and fibrinolysis in pregnancy. Acta Obstet Gynecol Scand 1975; 54: 363-367.

4. Andrew M, Paes B, Milner R, Hohnston M, Mitchell L, Tollefsen DM, Powers P. Development of the human coagulation system in the full-term infant. *Blood* 1987; 70: 165-172.
5. Abrégés "Hémorragies et thromboses – Du Diagnostic au traitement", Samama et coll. Masson, 2004.