

Faktor VII Mangelplasma

DP030A / DP030K

CE Mangelplasma zur Bestimmung von Faktor VII
 in Gerinnungstesten

In-vitro-Diagnostikum

VERWENDUNGSZWECK:

Mit dem FVII Mangelplasma kann die Aktivität von Faktor VII (FVII oder Proconverin), in einem Gerinnungstest mit Calcium-Thromboplastin, bestimmt werden.

TESTPRINZIP:

Die Methode basiert auf einem Gerinnungstest, bei dem alle Gerinnungsfaktoren, mit Ausnahme von FVII, 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 FVII der limitierende Faktor ist. Die Gerinnungszeit ist umgekehrt proportional zur FVII Konzentration. Bi-logarithmisch dargestellt, handelt es sich um einen umgekehrt linearen Zusammenhang zwischen der FVII Konzentration der Probe und der korrespondierenden Gerinnungszeit.

PROBENMATERIAL:

Humanes Plasma mit Tri-Natriumcitrat als Antikoagulant.

REAGENZIEN:

1 Flasche mit 1 ml (DP030A) oder 6 Flaschen mit 1 ml (DP030K) humanes Citratplasma mit FVII Mangel, immunadsorbiert, lyophilisiert mit Glycin und Stabilisatoren. Das Plasma weist einen FVII Mangel (< 1%) auf, alle anderen Gerinnungsfaktoren liegen im Normalbereich vor (> 50%).

ERFORDERLICHE MATERIALIEN, DIE NICHT IM KIT ENHALTEN 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 Citratplasma-Pool oder Faktor VII Kalibrator (BIOPHEN® Plasma Kalibrator, #222101).
- Qualitätskontrollplasmen Normal und Abnormal, titriert für Faktor VII (BIOPHEN® Normal Kontrollplasma, #223201 und BIOPHEN® Abnormal Kontrollplasma, #223301).
- Calcium-Thromboplastin.

REKONSTITUTION UND STABILITÄT DER REAGENZIEN:

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

Rekonstitution:

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

Stabilität nach Rekonstitution:

- Stabilität von FVII 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: Die zur Herstellung verwendeten Plasmen wurden 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 muss bei Lagerung bei Raumtemperatur (18-25°C) innerhalb von 4 Stunden gemessen werden. Das Plasma darf nicht bei 2-8°C gelagert werden.

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

TESTDURCHFÜHRUNG:

Kalibrationskurve:

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

Faktor VII	6,25%*	12,5%	25%	50%	100%
Verdünnung	1:160	1:80	1:40	1:20	1:10
Plasmapool 1:10	0,060 ml	0,125 ml	0,250 ml	0,500 ml	1,0 ml
Imidazol Koller 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 VII 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 ebenfalls 1:10 mit Imidazol-Koller Puffer verdünnt und 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 FVII 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 Gerinnungsbildung messen.

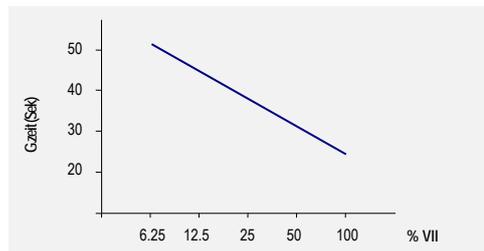
Automatisierte Methode:

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 Gerinnungsdetektion, sind die zu erwartenden Gerinnungszeiten etwas kürzer.

ERGEBNISSE:

Die FVII Konzentration wird auf einem bi-logarithmischen Millimeterpapier auf der x-Achse (Abszisse) gegen die korrespondierende Gerinnungszeit auf der y-Achse (Ordinate) aufgetragen. Die FVII 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 Cl5, Diagnostica Stago) erstellt wurde.



QUALITÄTSKONTROLLE:

Es sind verschiedene Qualitätskontrollen erhältlich, z.B.: BIOPHEN® Normal Kontrollplasma (#223201), BIOPHEN® Abnormal Kontrollplasma: (#223301) Die Verwendung von Qualitätskontrollplasmen 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 Gerinnungsbildung 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 FVII 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 FVII Konzentration der Probe beeinflussen.
- Proben nicht bei 2-8°C lagern.

NORMALWERTE:

Üblicherweise liegt die Faktor VII Aktivität bei > 60%.

ANWENDUNGEN:

- Bestimmung der Faktor VII Aktivität mit einem Gerinnungstest.
- Für Forschungsstudien, in denen eine Quelle mit Faktor VII Mangel 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% FVII 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 proconverine et de proacclélerine. Sang 1952 ; 23: 549-559.
2. Gjonnaess H, Fagerhol MK. Studies on coagulation and fibrinolysis in pregnancy. Acta Obstet Gynecol Scand 1975; 54: 363-367.
3. Abrégés "Hémorragies et thromboses - Du Diagnostic au traitement", Samama et coll. Masson, 2004.