Der Inhalt dieses Dokuments dient lediglich als Beispiel und ist unter Umständen nicht aktuell. Die aktuellste Version können Sie per E-Mail anfordern: info@coachrom.com

HYPHEN BioMed
Vertrieb und Support:
CoaChrom Diagnostica GmbH
www.coachrom.com | info@coachrom.com
Tel. +43-1-236 222 1 | Fax +43-1-236 222 111
Kostenfreie Nummern für Deutschland:
Tel. 0800-24 66 33-0 | Fax 0800-24 66 33-3

Faktor XII Mangelplasma

CE

DP080A / # DP080K

Mangelplasma zur Bestimmung von Faktor XII in Gerinnungstesten

In-vitro-Diagnostikum

VERWENDUNGSZWECK:

Mit dem Faktor XII Mangelplasma kann die Aktivität von Faktor XII (FXII oder Hagemann Faktor), in einem Gerinnungstest mit Cephalin, Aktivator und Calcium (aPTT Reagenz), bestimmt werden.

TESTPRINZIP:

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

PROBENMATERIAL:

Humanes Plasma mit Tri-Natriumcitrat als Antikoagulanz.

REAGENZIEN:

1 Flasche mit 1 ml (#DP080A) oder 6 Flaschen mit je 1 ml (#DP080K) humanem Citratplasma mit FXII Mangel, immunadsorbiert, lyophilisiert mit Glycin und Stabilisatoren. Das Plasma weist einen FXII Mangel (< 1%) auf, 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 Gerinnungsanalyzer, oder manuelles Koagulometer.
- Wasserbad, Stoppuhr.
- Aqua dest.
- Calciumchlorid 0,025 M (#AR001A/AR001K)
- Imidazol-Puffer (#AR021A/AR021K/AR021L).
- Normaler, humaner Citratplasma-Pool oder Faktor XII Kalibrator.
- Qualitätskontrollplasmen Normal und Abnormal, titriert für Faktor XII.
- aPTT Reagenz (Cephalin)

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 FXII 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 Antikoagulanz (1 Volumenteil) abgenommen. Jegliche Aktivierung der Gerinnung bei der Blutabnahme durch Venepunktion muss verhindert werden. Das Blut muss umgehend 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 (20-25°C).

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% FXII.** Aus dieser Präparation werden die weiteren Kalibratorverdünnungen wie folgt hergestellt:

Faktor XII	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%).*

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:

In Teströhrchen oder Küvetten wird nach folgendem Schema zugegeben:

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

1 Minute bei 37°C inkubieren, dann zugeben:

- 100 µl aPTT Reagenz (Cephalin)

Exakt 3 Minuten bei 37°C inkubieren, dann zugeben und die Stoppuhr starten:

- 100 µl Calciumchlorid 0,025M (vorinkubiert bei 37°C).

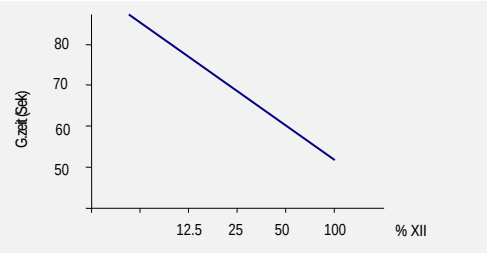
Zeit bis zur Gerinnselbildung messen.

Automatisierte Methode:

Der Test kann mit halb- bzw. vollautomatischen Gerinnungsanalyzern wie STA-R, KC-4, KC-10, BCT, BCS, usw. durchgeführt werden. Das üblicherweise verwendete Programm zur Bestimmung der Gerinnungsfaktoren - basierend auf einer aktivierten partiellen Thromboplastin Zeit 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 Gerinnungsanalyzern, besonders bei Analyzern mit photometrischer Gerinnseldetektion, sind die üblichen Gerinnungszeiten etwas kürzer.

ERGEBNISSE:

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



QUALITÄTSKONTROLLE:

Für die Qualitätskontrolle kann jedes kommerziell erhältliche Qualitätskontrollplasma titriert für FXII verwendet werden. 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 Gerinnselbildung 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 FXII 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 FXII Konzentration der Probe beeinflussen.

NORMALWERTE:

Üblicherweise liegt die Faktor XII Aktivität bei > 60%.

ANWENDUNGEN:

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

TESTÄNDERUNGEN:

Die in diesem Test enthaltenen Gerinnungszeiten wurden mit CK Prest von Diagnostica Stago gemessen. Erwartungsgemäß liegen sie bei < 65 Sekunden für 100% FXII Konzentration. Die Gerinnungszeiten und Testeigenschaften können je nach verwendetem Cephalin Reagenz und Messgerät unterschiedlich sein. Sollwerte und Vertrauensbereiche für Qualitätskontrollen müssen unter den jeweiligen Arbeitsbedingungen bestätigt bzw. angepasst werden.

REFERENZEN:

1. D. Gailani, T. Renné. The instrinsic pathway of coagulation : a target for treating thromboembolic disease ? J Thromb Haemost 2007 5 (6), 1106-1112.
2. Andrew M, Paes B, Milner R Hohnston M, Mithell L, Tollefsen DM, Powers P. Development of the human coagulation system in the full-therm infant. Blood 1987; 70: 165-172
3. Abrégés “Hémorragies et thromboses – Du Diagnostic au traitement”, Samama et coll. Masson, 2004.