



Lyophilisierte Thrombozyten

REF AG006K

R1 R2 3 x 5 mL



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

Thrombozyten zur Bestimmung der Cofaktor-Aktivität von Ristocetin (vWF:RCO)

VERWENDUNGSZWECK:

Für in-vitro-diagnostische Untersuchungen. Messung der Thrombozytenaggregation.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNGEN:

Das Reagenz kann mit Ristocetin (AG004K) zur Bestimmung der Cofaktor-Aktivität von Ristocetin (vWF:RCO) verwendet werden, um die Diagnose des von-Willebrand-Syndroms zu unterstützen.

TESTPRINZIP:

Wird einer Suspension von lyophilisierten Thrombozyten Patientenplasma und Ristocetin zugegeben, so wird eine Interaktion zwischen dem von-Willebrand-Faktor (vWF) und seinem Thrombozytenrezeptor, dem Glykoprotein GPIb-V-IX, ermöglicht. Der vWF:RCO-Test misst die biologische Aktivität des vWF über die Agglutination der lyophilisierten Thrombozyten bei einer bestimmten Ristocetin-Konzentration. Die Agglutination der Thrombozyten hängt direkt von der Konzentration des vWF im zugegebenen Plasma ab.

REAGENZEN:

R1 Reagenz 1: Formaldehyd fixierte Thrombozyten: mit Stabilisatoren lyophilisiert.

3 Flaschen zu 5 mL.

R2 Reagenz 2: Tris-NaCl-Puffer (TBS): zur Rekonstitution lyophilisierter Thrombozyten (enthält BND als Stabilisator).

3 Flaschen zu 5 mL.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE:

- Alle Produkte biologischer Herkunft sind mit der erforderlichen Sorgfalt zu behandeln und gelten als potenziell infektiös.
- Bei der Entsorgung von Restmaterial sind die geltenden lokalen Richtlinien zu befolgen.
- Bei der Nutzung der Reagenzien ist eine Kontamination zu vermeiden. Die Verdunstung des Reagenzes ist zu verhindern.
- Um die Stabilität der Reagenzien zu erhalten, müssen die Flaschen nach jeder Verwendung mit dem jeweiligen Schraubverschluss verschlossen werden.
- Stabilitätsuntersuchungen bei 30°C über einen Zeitraum von 3 Wochen zeigten keine Veränderung der Reagenzeigenschaften. Die Reagenzien können ohne Beeinträchtigung bei Raumtemperatur versendet werden.
- Es wird empfohlen, die zu testenden Patientenproben und Kontrollen zeitnah nacheinander abzuarbeiten, um eine optimale Testleistung zu erzielen.
- Die üblichen Hygiene- und Sicherheitsvorkehrungen in Labors sind einzuhalten.
- Das Reagenz darf ausschließlich für in-vitro-diagnostische Untersuchungen verwendet werden.

HERSTELLUNG UND STABILITÄT DER REAGENZEN:

Der Inhalt der Flasche ist lyophilisiert und die Flasche steht unter Vakuum. Beim Öffnen der Flasche muss der Gummistopfen vorsichtig entfernt werden, um einen Verlust des lyophilisierten Reagenzes zu vermeiden.

R1 Reagenz 1: Thrombozyten

Jede Flasche mit genau 5 mL **R2** Tris-NaCl-Puffer (TBS) (Tris 0,05M, NaCl 0,15M, pH 7,35) rekonstituieren und kräftig mischen, bis das Lyophilisat vollständig in eine Suspension übergegangen ist. Das Reagenz 30 min. bei Raumtemperatur (18-25°C) äquilibrieren, dabei von Zeit zu Zeit mischen.

Das Reagenz vor jeder Verwendung homogenisieren.

Stabilität der in der Originalflasche gelagerten Reagenzien unter der Voraussetzung, dass keine Kontamination und keine Verdunstung erfolgte:

- 56 Tage bei 2-8°C.
- 7 Stunden bei Raumtemperatur (18-25°C).

R2 Reagenz 2: Tris-NaCl-Puffer (TBS)

Gebrauchsfertig. Vor der Benutzung 30 Min. bei Raumtemperatur (18-25°C) stabilisieren lassen.

Vor jedem Gebrauch gut homogenisieren.

LAGERUNG:

Ungeöffnete Reagenzien müssen bei 2-8°C in der Originalverpackung gelagert werden. Sie können bis zu dem auf dem Kit aufgedruckten Verfalldatum verwendet werden.

ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERT REAGENZEN UND AUSRÜSTUNGEN:

Reagenzien:

- Kochsalzlösung (0.9% NaCl).

Materialien:

- Lichttransmissionsaggregometer.
- Gerinnungsanalyser der Sysmex CS-Serie und zugehöriges Verbrauchsmaterial.
- kalibrierte Pipetten.

VORGEHENSWEISE:

Die rekonstituierten Thrombozyten werden als Thrombozytenquelle für die Aktivität des Ristocetin-Cofaktors verwendet.

Das folgende Protokoll dient lediglich als Beispiel und ist unter den genauen Arbeitsbedingungen des Labors (Kombination Instrumente/Reagenzien/Kalibrator) zu überprüfen.

- Jede Küvette muss mit einem Rührer bestückt werden.
- Eine Blindprobe herstellen: dazu 150 µL plättchenarmes Plasma (PPP) + 150 µL Kochsalzlösung in eine Küvette pipettieren. 100 % Aggregation mit der Blindprobe herstellen.
- 270 µL Thrombozyten in eine zweite Küvette pipettieren.
- 30 µL Ristocetin mit 12 mg/mL zugeben
Ca. 3 Minuten lang bei 37°C inkubieren. 0 % Aggregation mit der Thrombozyten + Ristocetin-Mischung herstellen.
- 30 µL Plasma des Patienten oder Kalibratorplasma, in Kochsalzlösung im Verhältnis 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 verdünnt, direkt der Mischung zugeben.
Die Probe sollte nicht an die Küvettenwänden pipettiert werden.
- Das Aggregationsprofil benötigt 6 Minuten zur Bildung.

Der Anwender ist verantwortlich für die Validierung jeder Änderungen und deren Auswirkungen auf die Ergebnisse.

EINSCHRÄNKUNGEN:

- Um eine optimale Testleistung zu erzielen und die Spezifikationen zu erfüllen, sind die von HYPHEN BioMed validierten technischen Anweisungen genau einzuhalten. Das Labor ist verantwortlich für die Validierung aller Änderungen an dieser Gebrauchsanleitung.
- Alle Reagenzien, die ungewöhnlich aussehen oder Zeichen einer Kontamination aufweisen, sind zu verwerfen.
- Alle Plasmen, die Gerinnsel oder Zeichen von Kontaminationen enthalten, sind zu verwerfen.
- Alle verdächtigen Probenahmen oder solche, die Aktivierungszeichen aufweisen, sind zu verwerfen.

ERWARTETE WERTE:

Die Bestimmung des vWF (Aktivität und Antigen) ermöglicht die Diagnose des von-Willebrand-Syndroms (vWD). Es gibt drei Haupttypen des von-Willebrand-Syndroms mit unterschiedlicher Schwere:

- Typ 1 (50 bis 75 % der Fälle) ist jener mit der geringsten Schwere und auf teilweise zu geringe Mengen des vWF zurückzuführen.
- Typ 2 (20 bis 30 % der Fälle) ist in der Regel schwerer und auf qualitative Mängel des vWF zurückzuführen. Es gibt 4 Varianten von Typ 2: 2A, 2B, 2M und 2N
- Typ 3 (weniger als 5 % der Fälle) ist der schwerste, er ist auf ein fast vollständiges Defizit des vWF zurückzuführen und ist mit einem ausgeprägten Mangel an FVIII²⁻³ verbunden.

LEISTUNGSMERKMALE:

Beispiel der maximalen, der normalen und der abnormalen Aggregation (%):

	Normal	Anormal
Maximale Aggregation (%)	76	13

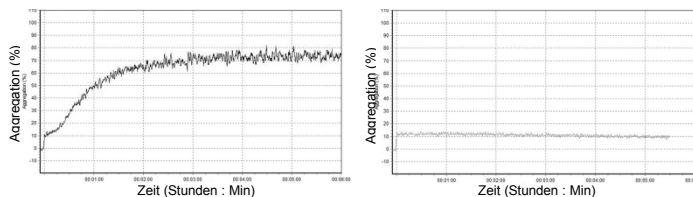


Abbildung: Beispiel einer normalen Aggregationskurve (links) und einer abnormalen Aggregationskurve (rechts) mit Ristocetin (1,2 mg/mL).

LITERATUR:

- Thompson, J.M. Blood coagulation and haemostasis, a practical guide, third edition, Longman group (FE) pg 142, 145, 192, 1985.
- The Diagnosis, Evaluation, and Management of von Willebrand Disease. NIH Publication No. 08-5832, 2007.
- Blatt, P.M. et al., Antithrombotic factor concentrate therapy in vWD, J Am Med Assn, 236:2770-2772, 1976.

SYMBOLE:

Die verwendeten Symbole und die in der Norm ISO 15223-1 aufgelisteten Zeichen sind dem Dokument Symboldefinitionen zu entnehmen.

Aktualisierung gegenüber der vorherigen Version