

Faktor X Mangelplasma

DP060A / DP060K

CE Mangelplasma zur Bestimmung von Faktor X
 in Gerinnungstesten

In-vitro-Diagnostikum

VERWENDUNGSZWECK:

Mit dem Faktor X Mangelplasma kann die Aktivität von Faktor X (FX oder Stuart Faktor), in einem Gerinnungstest mit Calcium-Thromboplastin, bestimmt werden.

TESTPRINZIP:

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

PROBENMATERIAL:

Humanes Plasma mit Tri-Natriumcitrat als Antikoagulant.

REAGENZIEN:

1 Flasche mit 1 ml (DP060A) oder 6 Flaschen mit 1 ml (DP060K) humanem Citratplasma mit FX Mangel, immunadsorbiert, lyophilisiert mit Glycin und Stabilisatoren. Das Plasma weist einen FX 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 Gerinnungsanalyzer, oder manuelles Koagulometer.
- Wasserbad, Stoppuhr.
- Aqua dest.
- Imidazol-Puffer (#AR021A/AR021K/AR021L).
- Normaler, humaner Citratplasma-Pool oder Faktor X Kalibrator (BIOPHEN® Plasma Kalibrator, #222101).
- Qualitätskontrollplasma Normal und Abnormal, titriert für Faktor X (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 FV 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 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-Plasmapool 1:10 mit Imidazol-Koller Puffer verdünnen. Diese Verdünnung entspricht einer Konzentration von 100% FX. Aus dieser Präparation werden die weiteren Kalibratorverdünnungen wie folgt hergestellt:

Faktor X	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 X 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 FX 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.

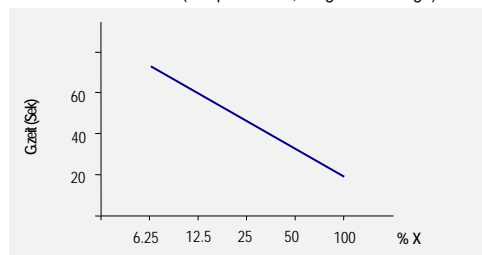
Automatisierte Methode:

Der Test kann mit halb- bzw. vollautomatischen Gerinnungsanalyzern 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 Gerinnungsanalyzern, besonders bei Analyzern mit photometrischer Gerinnelbildung, sind die üblichen Gerinnungszeiten etwas kürzer.

ERGEBNISSE:

Die FX Konzentration wird auf einem bi-logarithmischen Millimeterpapier auf der x-Achse (Abszisse) gegen die korrespondierende Gerinnungszeit auf der y-Achse (Ordinate) aufgetragen. Die FX 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 FX 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 FX Konzentration der Probe beeinflussen.

NORMALWERTE:

Üblicherweise liegt die Faktor X Aktivität bei > 70%.

ANWENDUNGEN:

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

TESTÄNDERUNGEN:

Die in diesem Test enthaltenen Gerinnungszeiten wurden mit Calcium-Thromboplastin von Biomérieux (Calcium Thromboplastin) und von Diagnostica Stago (Neoplastin) gemessen. Erwartungsgemäß liegen sie bei < 30 Sekunden für 100% FX 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. 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.
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.