

RISTOCETIN

Artikel-Nr.: 0203004

EDMA Nr.: 1302040100

IVD

Verwendungszweck:

Ristocetin ist für die Routine-Aggregationsmessung bestimmt, um Störungen der Thrombozytenfunktion zu erkennen. **Ristocetin** wird zur Feststellung des v. Willebrand Syndroms, zur Mengenbestimmung des v. Willebrand Faktors und zur Identifikation des Bernard-Soulier-Syndroms verwendet.

Produktbeschreibung:

Lyophilisiertes **Ristocetin** (Ristocetin Sulfat) ist eine Substanz von unbekannter chemischer Struktur, welche aus *Nocardia lurida* isoliert wird. **Ristocetin** enthält mehr als 90 % Ristocetin A (Ristocetin Sulfat). In Gegenwart des von Willebrand Faktors induziert **Ristocetin** eine Agglutination der Thrombozyten im plättchenreichen Plasma oder in der Standard Plättchen Suspension.

Warnhinweis:

Ristocetin ist nur für *in vitro* Diagnostik bestimmt und darf nicht injiziert werden.

Prinzip:

Nach Zugabe zu plättchenreichem Citratplasma stimuliert **Ristocetin** die Thrombozyten zur Aggregation. Die **Ristocetin** induzierte Aggregation kann entweder als Zwei-Phasen-Aggregation oder in einer großen Aggregationswelle vorkommen. Die erste Welle wird von der Agglutination der Thrombozyten durch den von Willebrand Faktor in Gegenwart von Ristocetin ausgelöst. Die zweite Welle entsteht durch die Freisetzung von endogenem **ADP** aus den Plättchen.

Packungsinhalt:

- 1 Flasche mit 15,0 mg **Ristocetin** Lyophilisat
- 1 Flasche mit 2,0 ml Diluent
- 1 Gebrauchsanweisung

Lagerung des Reagenz:

Lagerung des Lyophilisats in ungeöffneten Flaschen bei 2 - 8 °C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum.

Rekonstitution des Reagenz:

Zur Bestimmung der **von Willebrand - CoFaktor - Aktivität** ist eine Konzentration von **10 mg/ml** vorgesehen. Bringen Sie das **Ristocetin** Reagenz auf Raumtemperatur 15 - 30°C. Lösen Sie den Inhalt der Flasche **Ristocetin** mit **1,5 ml Diluent** auf.

- a) Gemäß der unten stehenden Verdünnungstabelle die entsprechende Menge des Diluent aus der Diluentflasche entnehmen und in die Ristocetin-Flasche geben.
- b) Legen Sie die Reagenzflasche für ca. 30 Minuten auf einen Rollen- oder Reagenzmischer um eine homogene Durchmischung zu erreichen.

Diluentzugabe auf 15 mg Ristocetin	Arbeitskonzentration (wie rekonstituiert)	Gewünschte Ristocetin Endkonzentration
1,00 ml	15 mg/ml	1,5 mg/ml
1,07 ml	14 mg/ml	1,4 mg/ml
1,15 ml	13 mg/ml	1,3 mg/ml
1,25 ml	12 mg/ml	1,2 mg/ml
1,36 ml	11 mg/ml	1,1 mg/ml
1,50 ml	10 mg/ml	1,0 mg/ml

Haltbarkeit des rekonstituierten Reagenz:

Das rekonstituierte **Ristocetin** Reagenz ist bei 2 - 8 °C in der gut verschlossenen Originalflasche **7 Tage** stabil. Für längere Lagerung kann das rekonstituierte **Ristocetin** bis zu **8 Wochen** bei -20 °C eingefroren werden. Nach dem Auftauen muss das Reagenz innerhalb von **8 Stunden** verbraucht werden. Das Reagenz muss während der Auftauphase 30 Minuten lang leicht geschüttelt werden.

Konzentrationsdefinition:

Die Zugabe des Diluents von 1,5 ml ergibt eine Flaschenkonzentration von **10 mg/ml** (Arbeitskonzentration). Die Endkonzentration in der Probe beträgt **1,0 mg/ml**.

Geräte:

Ristocetin kann in den meisten Aggregometer eingesetzt werden. Genaue Hinweise sind den jeweiligen Betriebsanleitungen der Geräte zu entnehmen.

Wir empfehlen zur Messung der Thrombozytenfunktion die Aggregationsprofiler PAP 4 und PAP 8.

Empfohlenes Material:

1. Aggregometer
2. Aggregometerküvetten
3. Rührstäbe
4. Pipetten
5. Zentrifuge

Blutentnahme und Herstellung des Citratplasmas:

Blut zur Durchführung der Plättchenaggregation muss in Spritzen oder Citratabnehmeröhrchen aus Kunststoff entnommen werden. Citratblut oder plättchenreiches Plasma darf zu keiner Zeit mit Glas in Berührung kommen.

A. Blutentnahme

Die Blutentnahme sollte mit größter Sorgfalt ausgeführt werden, um eine Hämolyse und eine Kontamination mit Gewebeflüssigkeit zu vermeiden.

1. Spritzen-Entnahme-Technik

- Entnehmen Sie 9,0 ml venöses Blut mit einer Kunststoffspritze. Vermeiden Sie zu starken Sog. Entfernen Sie die Nadel von der Spritze und überführen Sie das Blut in ein Kunststoffröhrchen, in dem sich 1 ml Natrium-Citrat 0,11 M befindet. Mischen Sie das Röhrchen schonend durch vorsichtiges Schwenken.

2. Vakuum-Entnahme-Technik

- Entnehmen Sie venöses Blut unter Verwendung von Citratabnehmeröhrchen, die Natrium-Citrat 0,11 M in einem Mischungsverhältnis von 1: 9 enthalten. Mischen Sie das Röhrchen schonend durch vorsichtiges Schwenken.

B. Herstellung des plättchenreichen und plättchenarmen Plasma

1. Zentrifugieren Sie das Citratblut für 10 Minuten bei Raumtemperatur und 150 x g.
2. Befinden sich noch Erythrozyten im plättchenreichem Plasma, zentrifugieren Sie das Plasma erneut für weitere 5 Minuten.
3. Überführen Sie das plättchenreiche Plasma mit einer Kunststoffpipette in ein mit PRP beschriftetes Kunststoffröhrchen (PRP – platelet rich plasma). Verschließen Sie das Röhrchen luftdicht und lassen es für ca. 30 Minuten ruhig stehen, damit die Thrombozyten sich erholen können.
4. Zentrifugieren Sie das im Abnehmeröhrchen verbleibende Blut für ca. 20 Minuten bei Raumtemperatur und 1500 x g.
5. Überführen Sie das plättchenarme Plasma mit einer Kunststoffpipette in ein mit PPP beschriftetes Kunststoffröhrchen (PPP – platelet poor plasma). Verschließen Sie das Röhrchen.
6. Bestimmen Sie die Thrombozytenzahl des PRP mit einem Zellzähler.

Testdurchführung PAP 4 (PAP 8):

Die Analyse des plättchenreichen Plasmas muss spätestens 4 Std. nach der Blutentnahme abgeschlossen sein.

1. Stellen Sie einen Aggregometer Leerwert durch Pipettieren von 500 µl (250 µl) plättchenarmen Plasma in eine Küvette ohne Rührer her.
 2. Pipettieren Sie 450 µl (225 µl) plättchenreiches Plasma in eine mit einem Rührer vorgelegte 2 Küvette. Inkubation für 3 Minuten bei 37°C.
 3. Falls erforderlich, Einstellung der 0 und 100 % Grundlinie gemäß den Anweisungen des Geräteherstellers.
 4. Geben Sie 50µl (25µl) **Ristocetin** direkt in das plättchenreiche Plasma und nicht an die Küvettenwand. Die Endkonzentration von **Ristocetin** im plättchenreichen Plasma beträgt **1,0 mg/ml**.
- Achtung: Mischen Sie vor jeder Reagenzentnahme die Reagenzflasche nochmals gut auf.**
5. Lassen Sie die Aggregationskurven für mindestens 6 Minuten aufzeichnen.

Für die von Willebrand-Co-Faktor Bestimmung in Standard Plättchen Suspension wird eine **Arbeitskonzentration** von **10 ng/ml**, sowie

Referenzplasma benötigt. **Referenzplasma** für diese Untersuchung ist bei uns erhältlich.

Ergebnisse:

Typische **Ristocetin** Aggregationsmuster sind in den Abbildungen 1 und 2 dargestellt. **Ristocetin** mit einer Endkonzentration von **1,5 mg/ml** bewirkt bei normalem, plättchenreichen Plasma eine große einzelne Aggregationswelle.

Erwartungswerte (Normalwerte):

Der Normalbereich für die **Ristocetin** Aggregation sollte von jedem Labor selbst erstellt werden. Studien haben gezeigt, dass **Ristocetin**, mit einer Endkonzentration von **1,0 mg/ml**, im normalen, plättchenreichen Plasma eine Endaggregation von **55 - 80 %** bewirkt. Eine abnormale **Ristocetin** Aggregation kann durch den v. Willebrand Faktor oder das Bernard-Soulier-Syndrom verursacht werden und erfordert weitere Auswertungen. Verminderte von Willebrand Faktor Aktivität in einem quantitativen Test deutet auf das von Willebrand Syndrom hin. Trotzdem sollten keine definitiven Diagnosen dieser Coagulopathie gestellt oder ausgeschlossen werden, ohne weitere Laboruntersuchungen.

Hinweis: Das Vorhandensein von Erythrozyten im plättchenreichem Plasma führt zu einer fälschlich verminderten Gesamtaggregation. Das Vorhandensein von Thrombozyten im plättchenarmen Plasma führt zu einer fälschlich erhöhten Gesamtaggregation.

Einschränkungen:

Falsche Ergebnisse werden beobachtet, wenn die Thrombozytenzahl im plättchenreichen Plasma unter **75.000 / µl** liegt. Plättchenreiches Plasma, das nicht mindestens 30 Minuten vor der Testdurchführung bei Raumtemperatur ruhend aufbewahrt wurde, kann abnormale Ergebnisse liefern.

Qualitätskontrolle:

Um eine täglich gleich bleibende Reagenzqualität zu gewährleisten, sollte eine Kontrollprobe wie eine Patientenprobe mitgeführt werden. Für die Kontrollprobe sollte frisches, plättchenreiches Plasma von einem gesunden Spender, der während der letzten 10 Tage keine Medikamente eingenommen hat, verwendet werden.

Ausführungsmerkmale:

Langzeitversuche haben gezeigt, dass **Ristocetin** bei richtiger Lagerung einwandfreie Ergebnisse liefert.

Qualitätssicherung:

Dieses Produkt wird für **möLab** nach dem Qualitätsmanagement **DIN EN ISO 13485** hergestellt. **möLab** überwacht mit eigenem Qualitätsmanagement **DIN EN ISO 9001** und **DIN EN ISO 13485** dieses Produkt. Es unterliegt dem **EDMA** Klassifikations- und Überwachungssystem und wird gemäß der Richtlinie **98/79/EG** in Verkehr gebracht.

26:362, 1971.

2. Allain JP, Cooper HA, Wagner HA, et al: Platelet fixed with paraformaldehyde: A new reagent for assay of von Willebrand factor. J.Lab Clin Med. 85:318, 1975.
3. Brinkhous KM, Graham JE, Cooper HA, Allain JP, Wagner RH: Assay of von Willebrand factor in von Willebrand disease and hemophilia. Use of macroscopic platelet aggregation test. Thromb Res. 6:267, 1975.
4. Weiss HJ: Aspirin and platelets in drugs and hematologic reactions. Dinitrov and Nordine (eds.) Grune and Stratton, New York 1974.
5. Triplett DA, et al: Platelet Function. Laboratory Evaluation and Clinical Application. ASCP, 1978

Legende:

Resultate der **Ristocetin** induzierten Aggregation im normalen und abnormalen plättchenreichen Plasma. Der Kurvenpeak bei 0 % kennzeichnet die Reagenzugabe.

Bestellhinweis

		Bestell-Nr.
Ristocetin	15,0 mg/ml	0203004

Weitere Produkte zur Messung der von Willebrand Faktor Aktivität:

Ristocetin	15,0 mg/ml	0203002
Referenzplasma	3 x 0,5 ml	0203035
Kontrollplasma Abnormal	3 x 0,5 ml	0203036
Kontrollplasma Normal	2 x 1,0 ml	0203037
Lyophilisierte Plättchen	1 x 10 ml	0203030
Tris Puffer Salzlösung	500 ml	0203041

möLab GmbH
Dietrich-Bonhoeffer-Straße 9
40764 Langenfeld
Tel.: 02173 /26 99 00
Fax: 02173 /26 99 029
E-mail: Info@moelab.de
Internet: www.moelab.de



Gebrauchsanweisung beachten!

Stand: 21.08.2015

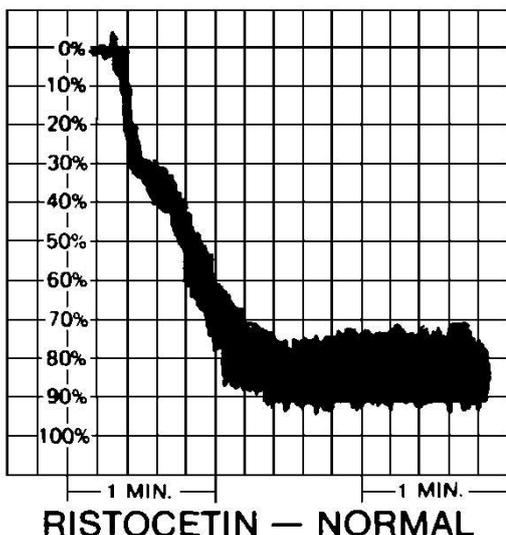


Abb. 1: Ristocetin-induzierte Aggregation im normalen plättchenreichen Plasma.

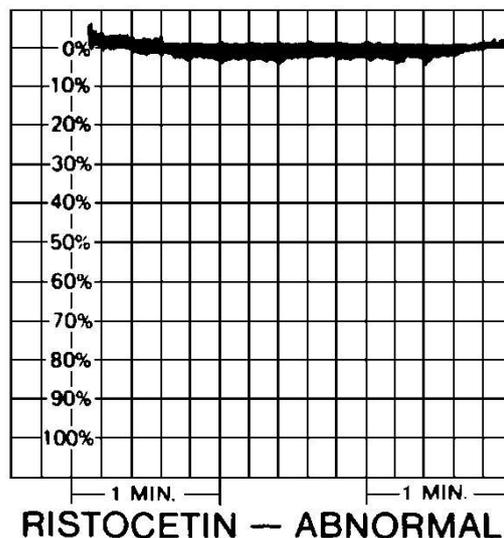


Abb. 2: Fehlende Ristocetin-induzierte Aggregation im abnormalem plättchenreichen Plasma.

Literatur:

1. Howard MA, Firkin BG: Ristocetin - A new tool in the investigation of platelet aggregation. Thromb Diath Haemorrh,