

DIN 58923



ICS 11.100.30

Ersatz für
DIN 58923:2009-05

**Hämostaseologie –
Referenzmethode zur Bestimmung der Ristocetin-Cofaktor Aktivität des
VWF;
Text Deutsch und Englisch**

Haemostaseology –
Reference method for the ristocetin-cofactor activity of the VWF;
Text in German and English

Hémostase –
Méthode de référence pour la détermination de l'activité VWF cofacteur de la ristocétine;
Texte en allemand et anglais

Gesamtumfang 20 Seiten

DIN-Normenausschuss Medizin (NAMed)

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
1 Anwendungsbereich	4
2 Normative Verweisungen	4
3 Begriffe	4
4 Abkürzungen	4
5 Bezeichnung	5
6 Entnahme und Aufbereitung des Blutes	5
7 Geräte, Materialien und Reagenzien	5
7.1 Allgemeines	5
7.2 Geräte und Ausrüstung	5
7.3 Materialien und Reagenzien	6
7.3.1 Thrombozytensuspension	6
7.3.2 Ristocetin	6
7.3.3 Referenzmaterial	6
8 Durchführung	6
8.1 Agglutinationsmethode mittels einer Glasplatte	6
8.2 Aggregationsmethode mittels eines Aggregometers	7
8.3 Verwendung von Gerinnungsanalysensystemen	7
8.4 Leistungsdaten	7
8.4.1 Bezugskurve, Kalibrationsbereich und Messbereich	7
8.4.2 Verdünnungsechtheit des Tests	7
8.4.3 Präzision	7
8.4.4 Methodenvergleich	8
9 Auswertung und Evaluierung der Daten	8
9.1 Agglutinationsmethode mittels Glasplatten	8
9.2 Aggregationsmethode mittels eines Aggregometers	8
9.3 Verwendung von Gerinnungsanalysensystemen	8
9.4 Ergebnismitteilung	8
10 Referenzintervall	8
11 Störfaktoren	8
Literaturhinweise	10

Tabellen

Tabelle 1 — Transport- und Lagerungsbedingungen	5
Tabelle 2 — Verdünnungsschema	6

Vorwort

Dieses Dokument wurde vom Arbeitsausschuss NA 063-03-05 AA „Hämostaseologie“ im DIN-Normenausschuss Medizin (NAMed) erarbeitet.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. DIN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Änderungen

Gegenüber DIN 58923:2009-05 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) die Transport- und Lagerungsbedingungen in Abschnitt 5 (insbesondere Tabelle 1) wurden überarbeitet;
- b) die Norm wurde redaktionell überarbeitet.

Frühere Ausgaben

DIN 58923: 2009-05

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument ist anzuwenden für die Bestimmung der funktionellen Aktivität des Von Willebrand Faktors in Citratplasmen und Plasmakonzentraten mittels der Ristocetin-induzierten Thrombozytenagglutination (Ristocetin-Cofaktor Aktivität, Von Willebrand Faktor Ristocetin-Cofaktor Aktivität).

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

DIN 58905-1, *Hämostaseologie — Blutentnahme — Teil 1: Gewinnung von venösem Citratplasma für hämostaseologische Analysen*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

DIN und DKE stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

— DIN-TERMinologieportal: verfügbar unter <https://www.din.de/go/din-term/>

— DKE-IEV: verfügbar unter <http://www.dke.de/DKE-IEV>

3.1

Von Willebrand Faktor

humanes Glykoprotein großer Molekülmasse, das in der primären Hämostase sowohl für die Interaktion zwischen Thrombozyt und Gefäßwand als auch von Thrombozyten untereinander verantwortlich ist, und in der sekundären Hämostase das Trägerprotein des F VIII ist und dessen Genort auf dem kurzen Arm des Chromosoms 12 liegt

3.2

Von Willebrand Faktor Ristocetin-Cofaktor Aktivität

spezifische Funktion des VWF, die eine Agglutination von Thrombozyten in Gegenwart von Ristocetin ermöglicht

Anmerkung 1 zum Begriff: Die RCo Aktivität des Von Willebrand Faktors wird durch Messung der Agglutinationsrate von frischen oder durch Lyophilisierung oder Fixierung stabilisierten normalen Thrombozyten bestimmt. Mit Ristocetin resuspendierte Thrombozyten agglutinieren in Anwesenheit von ausreichend funktionellen VWF-Molekülen.

4 Abkürzungen

Folgende Abkürzungen werden in dieser Norm verwendet:

IE	Internationale Einheit (en: International Unit)
RT	Raumtemperatur
WHO	Weltgesundheitsorganisation (en: World Health Organization)

Für den Von Willebrand Faktor gelten im Besonderen die folgenden Definitionen:

VWF	Von Willebrand Faktor
VWS	Von Willebrand Syndrom

VWF:Ag Von Willebrand Faktor Antigen
 VWF:RCo Von Willebrand Faktor Ristocetin-Cofaktor Aktivität

5 Bezeichnung

Bezeichnung der Bestimmung der VWF:RCo ist

Bestimmung DIN 58923 — VWF:RCo

6 Entnahme und Aufbereitung des Blutes

Die Entnahme und Aufbereitung des Blutes erfolgen nach DIN 58905-1.

Im Gegensatz zu vielen anderen Gerinnungsproteinen ist der VWF relativ stabil. Transport von Plasma oder Blut bei Raumtemperatur (RT) führt zu keinerlei Veränderungen, solange 72 h nicht überschritten werden. Danach kommt es zu einem graduellen Verlust großer Multimere und zu einem dysproportionalen Abfall funktioneller Tests, während das VWF:Ag über noch längere Zeit stabil bleibt [1]. Hämolytische Proben können ein Hinweis auf fehlerhafte Blutentnahme und Lagerung sein. Die Transport- und Lagerungsbedingungen müssen der Tabelle 1 entnommen werden.

Tabelle 1 — Transport- und Lagerungsbedingungen

Probe ^a	Temperatur	Zeit
Citratblut	Raumtemperatur	≤ 72 h
Citratplasma	Raumtemperatur	≤ 72 h
Citratplasma	–20 °C	mindestens 1,5 Jahre
Citratplasma	–70 °C	mindestens 10 Jahre
^a Lagerung und Transport bei Kühlschranktemperatur ist nicht geeignet, da dies zu qualitativen Veränderungen führt (Vortäuschung von VWS Typ 2).		

7 Geräte, Materialien und Reagenzien

7.1 Allgemeines

Der Ristocetin-Cofaktor Test wird bei Anwendung der makroskopischen Variante sowie unter Verwendung von Aggregometern oder Gerinnungsanalysensystem in der Regel mit kommerziell erhältlichen Testvarianten durchgeführt.

7.2 Geräte und Ausrüstung

Bei Durchführung des Tests mit Hilfe des makroskopischen Agglutinationstests wird eine Glasplatte benötigt. Bei Durchführung des Tests mit Hilfe eines klassischen Aggregometers wird ein Instrument zur photometrischen Bestimmung der Thrombozytenaggregation mit instrumentspezifischen Küvetten, Rührern oder Magneten zur Durchführung der Bestimmung benötigt. Außerdem sind Pipetten und Mixer notwendig. Darüber hinaus kann der Test auch an einigen vollautomatischen Gerinnungsanalysensystemen mit Hilfe einer turbidimetrischen Bestimmung der Thrombozytenagglutination durchgeführt werden.

7.3 Materialien und Reagenzien

7.3.1 Thrombozytensuspension

Zur quantitativen Bestimmung des Ristocetin-Cofaktors können standardisierte Thrombozytenpräparationen verwendet werden, die durch Zentrifugation aus antikoaguliertem Vollblut oder mit Hilfe anderer maschineller Verfahren gewonnen werden. Die Thrombozyten zur Bestimmung des Ristocetin-Cofaktors werden in fixierter Form (Formaldehyd, Paraformaldehyd) eingesetzt. Zur Verbesserung der Lagerstabilität der Thrombozyten ist Lyophilisieren optional möglich.

Die Qualität der Thrombozytensuspension kann deutlich hinsichtlich der Resultate der Rohwerte, der Reproduzierbarkeit und der Wiederfindung der Kontrollen variieren. Für jedes Herstellungsverfahren muss daher die Konstanz und die Einhaltung der geforderten Leistungsdaten im RCo Test geklärt werden (siehe 8.4).

7.3.2 Ristocetin

Kommerziell erhältliches Ristocetin stammt aus *Amycolatopsis orientalis ssp. lurida*. Die Agglutinationsinduktion durch Ristocetin kann deutlich hinsichtlich der Resultate der Rohwerte, der Reproduzierbarkeit und der Wiederfindung der Kontrollen variieren. Für jede neue verwendete Charge muss daher die Konstanz und die Einhaltung der geforderten Leistungsdaten im Ristocetin-Cofaktor Test geprüft werden (siehe 8.4).

7.3.3 Referenzmaterial

Das Normalplasma muss (1,00 ± 0,20) IE/ml [(100 ± 20) % der Norm] VWF:RCo enthalten. Es muss ein Plasma, das am jeweils gültigen WHO-Standard kalibriert ist, verwendet werden.

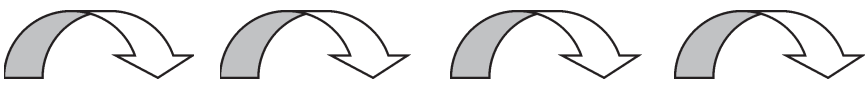
Für die Messung des RCo-Anteiles von Konzentraten kann ein Konzentratstandard eingesetzt werden, der gegen den jeweils gültigen WHO-Standard kalibriert ist.

8 Durchführung

8.1 Agglutinationsmethode mittels einer Glasplatte

Das Referenzplasma und die Probe müssen mit einem geeigneten Verdünnungsmedium, z. B. isotonischer Kochsalzlösung, entsprechend dem Schema nach Tabelle 2 verdünnt werden.

Tabelle 2 — Verdünnungsschema



	Negativ-kontrolle	Verdün-nung 1	Verdün-nung 2	Verdün-nung 3	Verdün-nung 4	Verdün-nung 5
Probe bzw. Verdünnung	—	50 µl	500 µl	500 µl	500 µl	250 µl
Isotonische Kochsalzlösung	250 µl	950 µl	500 µl	500 µl	250 µl	250 µl
Verdünnungsstufe	Leerwert	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 120	1 : 160
Titer	—	20	40	80	120	160

Konzentratproben müssen mit einem geeigneten Puffer in den Arbeitsbereich der Methode verdünnt werden.

Auf die Felder einer Glasplatte müssen nacheinander 50 µl Probenverdünnung, Leerwerte bzw. Kontrolle und 50 µl einer Mischung aus Plättchensuspension und Ristocetinreagenz pipettiert und gemischt werden. Danach die Glasplatte 1 min langsam schwenken (Schütteltisch oder durch Handbewegung) und anschließend 1 min