

VOORSCHRIFTEN:

Laboratorium voor

STOLLINGSCHEMIE

1 =	Alkalische fosfatase	vlgs Bessy	
2 =	Zure fosfatase	vlgs Bessy	
3 =	Kreatinine in urine		
4 =	Natrium		
5 =	Cholesterol	vlgs Pearson	
6 =	Bloedsuiker	(Beck) (G.en de G.,blz.242)	
7 =	Calcium	(G. en de G.," 228)	
8 =	Kreatinine in plasma (de Vries en v. Daatselaar)(" 278)		
9 =	Serumijzer		
10 =	Eiwitspectrum	vlgs Majoor	
11 =	Protrombinetijd (P.T.T.)	(Quick)	
12 =	Trombinetijd (T.T.)	- Neutraliseren	
13 =	Antiweefseltromboplastine	(Thromb. vol.6,'61, Biggs)	
14 =	Fibrinogeenbepaling	(Strengers)	
15 =	Anti-factor VIII		
16 =	Faktor XI		
17 =	Protrombinebepaling - Bepaling restprotrombine,	2pag.	
18 =	Fibrinase (factor XIII)		
19 =	AHF-bepaling (Coagulometermethode)		
20 =	Bepaling factoren V - VII - X		
21 =	Plasminogeen	(Biggs blz. 396)	
22 =	Chloride in plasma of urine		
23 =	Ureumbepaling in plasma	(AZUR test)	
24 =	Bilirubine	(G.en de G.,blz.313)	
25 =	S G O T - S G P T		
26 =	Recalcificatietijd	(all over test)	
27 =	Trombinevormingstest	(Pitney en Dacie)	
28 =	Euglobulinstolsel-lystest		
29 =	Tromboplastinevormingstest	(Biggs - Douglas)	
30 =	Stollingstijd	(Lee-White)	
31 =	Plaatjes-aggregatie en fibrinedraadvorming (met phase-contrast microscopie)		
32 =	Plaatjes aggregatie volgens Born		
33 =	RVV test (op uit plaatjes vrijgekomen phospholipiden)		
34 =	Factor VIII micromethode		
35 =	Geactiveerde cephalinetijd (Partial T.P. time)		
36 =	FDP kwalitatief met I.E. techniek		2 pag.
37 =	Haemagglutinatie remmingstest		2 pag.

Alkalische fosfatase vlgs Bessy
=====Reagentia

Bessy Alkalisch Substraat (G. en G. blz. 322)

Standaard 1 m.mol paranitrophenol

p.a. 139,1 mg/L = 1 E

Standaard 2 m.mol paranitrophenol

p.a. 278,2 mg/L = 2 E

NaOH 0,2 N

Uitvoering:

Pipetteer in 3 reageerbuizen 1,0 ml BAS (2 voor bepaling, 1 voor blanco) en zet in 37° bad.

Voeg na 5' aan bepaling buizen 0,1 ml te onderzoeken serum toe.

Na 30' bij 37° wordt de reactie geremd door toevoegen van 6 ml 0,2 N NaOH.

Hierna wordt aan blanco buis 0,1 ml serum toegevoegd.

Voor de standaarden wordt 0,1 ml paranitrophenol in 1,0 ml a.d. gemengd, hierbij 6 ml 0,2 N NaOH gevoegd en een eigen blanco van a.d. gemaakt.

Bepaling en standaarden worden afgelezen bij 410 mμ, ieder tegen eigen blanco.

Berekening

$$\frac{E_{\text{bep.}}}{E_{\text{St.1}}} \times 2 = E_B$$

VEROUDERD

0660/2

Zure fosfatase vlgs Bessy
=====

Reagentia

Bessy zuur substraat (G. en G. blz. 322)
Standaarden als voor alkalische fosfatase

Uitvoering:

Als bij alkalische fosfatase, maar één uur in waterbad laten staan
i.p.v. een half uur

Berekening

$$\frac{E \text{ bep.}}{E \text{ St.1}} = E B$$

VEROUDERD

0660/3

Kreatinine in urine

=====

Reagentia

Alkalisch pikraat: 160 ml pikrinezuur 1% + 50 ml 2 N NaOH tot 500 ml,
aanvullen met a.d.

Uitvoering:

urine 1:100 verdunnen.

2 ml urineverdunding (voor standaarden: 2 ml st. 10 mg/L, 2 ml st. 20 mg/L
voor blanco: 2 ml aq.dest)

+ 3 ml alkalisch pikraat

mengen

30 minuten laten staan.

Aflezen tegen blanco in 1 cm cuvetten bij golflengte 500 mμ

Berekening:

$\frac{E \text{ bep.}}{E \text{ st.}} \times \text{gehaltestandaard} \times 100 \text{ mg/L}$

VEROUDERD

0660/4

Natrium

=====

Reagentia

St. 120 meq/L

" 140 meq/L

" 150 meq/L

Uitvoering:

Verdun in duplo plasma en standaarden 1:500 (0,1 in 50 ml maatkolf)

Stel op vlamfotometer St. 150 op 90,

controleer andere standaarden en meet verdunning voor plasma

(St. 140 = 84 en St. 120 = 72)

Berekening

Lees op curve af

Kalium

=====

Reagentia

St. 6 meq/L

" 4 meq/L

" 2 meq/L

Uitvoering:

Verdun in duplo plasma en standaarden 1:20

Stel St. 6 op 90 op vlamfotometer. (St. 4 = 60, St. 2 = 30)

Meet verdunning van plasma en lees af op curve.

VERGOUDE RD

0660/5

Cholesterol vlgs Pearson

=====

Reagentia

reagens van Pearson (1 uur in 37°C stoof zetten voor gebruik)
cholesterolstandaarden 200 en 400 mg %

Uitvoering:

Pipetteer in dikke reageerbuizen in duplo

0,1 ml standaard 200 mg.% + 0,1 ml aq.dest

0,1 ml standaard 400 mg.% + 0,1 ml aq.dest

0,1 ml plasma

Voeg bij allen, 5 ml reagens van Pearson (met verdeelde pipet)
meng direct

precies 15' bij kamertemperatuur laten staan

Aflezen in geheel droge 1 cm cuvetten tegen reagens bij
golflengte 615

Berekening

$$\frac{E. \text{ plasma}}{E. \text{ standaard}} \times \text{mg.\% standaard}$$

VEROUDERD

0660/6

Bloedsuiker (Beck)

=====

(Gorter en de Graaff, blz. 242)

Reagentia

Zuur cadmiumsulfaat

NaOH 0,11 N

Oxydatiereagens van Beck

KOH p.a. in korrelvorm

Glucosestandaard 100 mg.%

Glucosestandaard 200 mg.%

Uitvoering:

Pipetteer met volpipet voor bepaling, standaard 100 mg.%,
standaard 200 mg.%

in rondbodem centrifugebuizen in duplo 2 ml zuur cadmiumsulfaat.
Breng met Macleanpipet 0,2 ml fluoridebloed (standaard) hierbij,
goed mengen en 5 minuten laten staan

2 ml NaOH 0,11 N toevoegen

goed mengen, 5 à 10 minuten laten staan.

centrifugeren

2 ml centrifugaat in erlenmeyer van 25 ml pipetteren, 2 korrels

KOH toevoegen; wachten op oplossen en afkoelen.

Titreren met vloeistof van Beck uit microburet.

Eerst kan vrij snel getitreerd worden, later voorzichtiger verder
tot groengele kleur 30'' blijft bestaan. (reagens werkt zelf als
indicator).

Normaal waarden: ca 100 mg.%

Berekening

Stel bloed verbruikt a ml reagens, standaard verbruikt b ml reagens,
$$\text{gehalte} = \frac{a}{b} \times \text{gehaltestandaard in mg.}\%$$

VEROUDERD

0660/7

Calcium

=====

(G. en de G. blz. 228)

Reagentia

Complexonoplossing 0,001 M

Murexide 10 mg./10 cc a.d.

0,05 N NaOH

Ca standaard 5 meq.

Uitvoering:

In 25 ml erlenmeyer in drievoud:

0,5 ml plasma (of standaard, of a.d. voor blanco)

5 ml loog 0,05 N

2 dr. murexide oplossing

Titreer met complexon van rood-paars naar blauw-paars.

Eerste kolf door omslagpunt heen titreren, andere kolven juist tot blauw-paarse kleur bereikt is.

Berekening

$$\frac{(\text{bep.} - \text{blanco}) \text{ ml}}{(\text{st.} - \text{blanco}) \text{ ml}} \times 5 \text{ meq./L}$$



Kreatinine in plasma (de Vries en van Daatselaar)

=====

(Gorter en de Graaff, blz. 278)

Reagentia

Alkalisch pikraat: 160 ml pikrinezuur 1% + 50 ml NaOH 2 N tot 500 ml
aanvullen met a.d.

Frankoniet: 1,5 g Frankoniet in 5 ml HCl 2 N suspenderen.

Om de dag vers maken.

MgCl₂ 0,05 M

HCl 0,01 N

Standaard 10 mg/L

Standaard 20 mg/L

Uitvoering:

Pipetteer in rondbodem centrifugebuis 0,5 ml plasma (standaard 10 mg/L,
standaard 20 mg/L, blanco 0,5 ml a.d.) + 0,1 ml Frankonietsuspensie
goed mengen

5 à 10 minuten laten staan, intussen enkele keren goed opschudden
bijvullen met a.d.

5 à 10 minuten bij 3000 toeren centrifugeren
afgieten

uitlekken op filtreerpapier

eventueel nogmaals met 0,01 N HCl wassen

Buizen lostikken

+ 1 ml MgCl₂

goed suspenderen

+ 2 ml alkalisch pikraat

mengen en 20 minuten laten staan. In deze tijd nog enkele keren goed
opschudden.

Aflezen tegen blanco in 1 cm cuvetten bij golflengte 500 mμ

Normaal waarden: vrouwen 6 - 9 mg/L; mannen 8 - 12 mg/L

Berekening

$$\frac{E \text{ bepaling}}{E \text{ standaard}} \times \text{gehaltestandaard mg/L}$$



0660/9

Serumijzer

=====

Reagentia

1. Na-sulfiet 0,63 g tot 50 ml oplossen (steeds vers maken)
2. IJsazijn
3. Chloroform
4. 0,1% $\alpha\alpha$ dipyridyloplissing in 3% ijsazijn
100 mg dipyridyl + 3 ml ijsazijn aanvullen met a.d. tot 100 ml.
5. Standaard Fe 100 mg.%
Weeg 702 mg. Mohr's zout. $(\text{FeSO}_4 (\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4 - 6 \text{ a.d.})$
Los op in aqua bidest, voeg enkele druppels $\pm 4 \text{ N H}_2\text{SO}_4$ toe
en vul aan tot 100 ml.

Uitvoering:

Gebruik voor de gehele bepaling in sterk zoutzuur ontijzerd glaswerk en voor afwegen houten spatels.

Maak eerst een verdunning van de standaard $\frac{1}{40}$ in aqua bidest (5 ml aanvullen tot 200 ml); dit geeft 2,5 mg% Fe.

Maak hieruit verdunningen 2 : 50 en 4 : 50 d.i. 100 $\gamma\%$ en 200 $\gamma\%$.

Pipetteer in 8 buizen (met geslepen hals) 2 ml $\alpha\alpha$ dipyridyl.

Voeg hierbij 2 ml serum (of standaard of aq.bidest) en dan 2 ml sulfietoplossing.

Meng op parafilm.

Zet buizen 5' - 10' in rustig kokend waterbad. Koel af in koud waterbad. Voeg bij alle buizen 1 ml chloroform. Schud 30" krachtig op stop. Draai 5' bij 3000 toeren af.

Pipetteer bovenstaande in andere buis, centrifugeer zo nodig nogmaals.

Lees extinctie af tegen blanco bij 520 m μ in 2 cm cuvetten.

Berekening

$$\frac{\text{Ext. bep.}}{\text{Ext. st. 100 } \gamma\%} \times 100 \gamma\%$$

Eiwitspectrum vlgs Majoor

=====



Reagentia

19% Na_2SO_4

28% Na_2SO_4 (beide in 37° stoof bewaren)

gehele bepaling met geijkte pipetten uitvoeren.

Uitvoering:

Pipetteer in twee reageerbuizen ieder $\frac{1}{2}$ ml hep.plasma (of serum).

Voeg aan de eerste buis $14\frac{1}{2}$ ml 19% Na_2SO_4 toe en aan de tweede

$14\frac{1}{2}$ ml 28% Na_2SO_4 .

Meng goed op kurk.

Pipetteer uit beide buizen 2 ml voor duplo totaal eiwit en

zet alle 4 de buizen met kurk erop een nacht in 37° bad.

(goed onderstaan).

Filtreer beide eerste buizen door 1597 eiwitfilter S en S (met horlogeglas op filter en alles in 37° bad).

Pipetteer uit de filtraten 2×2 ml.

Voeg aan de buizen voor totaal eiwit met 2 ml en de filtraat-

buizen met 2 ml alle 8 ml biureetreagens toe en lees na 20'

af tegen een blanco van aqua dest, met biureet bij golflengte 540 in 2 cm cuvetten.

Berekening

factor 255

Totaal

28% = albumine

19% - 28% = pseudoglobuline

T - 19% = euglobuline

Bereiding 19% en 28% Na_2SO_4 voor eiwitspectrum

=====

190 g Na_2SO_4 p.a. oplossen in aq.dest van 50° , af laten koelen tot 30° en aanvullen tot 1 ltr. Dit moet 2676,5 meq/L Na bevatten (1:20 voorverdunnen en als Na bepalen).

280 g Na_2SO_4 p.a. als boven oplossen.

Dit moet 3943,9 meq/L Na bevatten (1:25 voorverdunnen en als Na bepalen).

Protrombinetijd (P.T.T.) (Quick)
=====

Reagentia

Normaal plasma

Hersentromboplastine

(ca. 100 mg suspenderen in 3 ml phys.zout en 15' in 37° bad zetten.
Intussen af en toe flink schudden. 5' bij 2000 toeren afdraaien en
afschenken).

CaCl₂ 1/40 Mol.

Uitvoering:

0,1 ml plasma + 0,1 ml tromboplastine in lysisbuisje.

20" in 37° bad zetten.

0,1 ml CaCl₂ toevoegen en gelijk stopwatch indrukken.

Snel mengen.

Na + 9" uit bad nemen en kantelen.

Als de eerste stolling optreedt stopwatch weer indrukken.

Bij sterk verlengde P.T.T. buisje steeds weer in bad terug zetten,
om afkoelen te voorkomen.

Normale waarden: 11" - 13".

Altijd normaal plasma als controle meenemen.

Litt.: A.J. Quick; J. Biol.Chem. 1935, 109, 1 XXIII

The prothrombin in hemophilia and obstructive jaundice

Trombinetijd (T.T.)

=====

Reagentia

Normaal plasma.

Trombine 10 E/ml (0,1 ml 500 E/ml bij -20° bewaren en direct voor gebruik met 5 ml phys.zout verdunnen).

Uitvoering:

0,2 ml plasma in lysisbuisje in 37° bad zetten.

0,1 ml trombine toevoegen, gelijk stopwatch indrukken, snel mengen.

Na $\pm 7''$ buisje uit bad nemen, kantelen en als stolling optreedt stopwatch weer indrukken.

Bij lange trombinetijden buisje tussentijds steeds weer in bad zetten om afkoelen te voorkomen.

Normale waarden: 8 - 13''

Altijd normaal plasma als controle meenemen.

Neutraliseren

Bij sterk verhoogde trombinetijden de antitrombinewerking trachten te neutraliseren met protaminesulfaat.

Reagentia

Protaminesulfaat 10 mg/ml.

Michaelisbuffer pH 7,25

Uitvoering:

controlebepaling: 0,1 ml normaal plasma

0,1 ml Michaelisbuffer in 37° bad zetten.

0,1 ml trombine toevoegen en trombinetijd bepalen.

De op deze manier gevonden trombinetijd moet men bij patiënteplasma met toevoeging van protaminesulfaatverduunningen trachten te bereiken.

Men begint b.v. als volgt:

0,1 ml patiënteplasma

0,1 ml protaminesulfaat in Michaelisbuffer 200 γ /ml

(0,1 ml p.s. 10 mg/ml + 4,9 ml Michaelisbuffer) in 37° bad zetten.

+ 0,1 ml trombine en trombinetijd bepalen.

Naar gelang de uitkomst, met een sterkere/minder sterke verduunning van protaminesulfaat het neutralisatiepunt trachten te bereiken.

Antiweefseltromboplastine

=====

(Thrombosis vol.6, 1961, Biggs)

Reagentia

tromboplastine

NP

CaCl₂ 1/40 M

Uitvoering:

Maak tromboplastineverduunningen b.v. 1/50 - 1/100 - 1/200 enz.

Doe hiermee PTT's van NP en PP.

Verdun NP en PP 1/10 in phys.zout

Doe met 0,1 van deze verdunde plasma's eveneens een serie PTT's.

Bij een positieve uitkomst lopen de waarden van de onverdunde plasma's steeds verder uiteen, terwijl de waarden van de verdunde plasma's niet of in veel mindere mate uiteenlopen.

Een positieve uitkomst ziet er b.v. als volgt uit:

		<u>NP</u>	<u>PP</u>	<u>NP 1/10</u>	<u>PP 1/10</u>
TP	1/1	15	15		
	1/50	26	31		
	1/200	43	70	74	75
	1/400	57	110	98	97
	1/800	70	180	119	118

Een antiweefseltromboplastine kan worden gevonden bij L.E.

Fibrinogeenbepaling (Strengers)

Reagentia

Paardeserum R.I.V. (opgelost in aq.dest)

Trombine 500 E/ml in phys.zout (100 E indien TT niet sterk verlengd is)

NaOH 2 N

Uitvoering:

In duplo in centrifugebuisjes:

1 ml phys.zout + 0,4 ml citraatplasma + 0,2 ml trombine
snel mengen.

Maximaal 15 minuten laten staan.

Stolsel voorzichtig met stokje uit buisje halen en leegdrukken op
filtreerpapier.

Stolsel wassen in phys.zout en nogmaals uitdrukken op filtreerpapier.

Gehele stolsel onder in rondbodemige centrifugebuis brengen.

0,4 ml 2 N NaOH toevoegen en in kokend waterbad destrueren (5')

Afkoelen onder stromend water.

3 ml biureetreagens toevoegen.

Mengen.

Na 15 minuten aflezen bij 540 mμ tegen blanco van 0,4 ml loog
+ 3 ml biureet.*

Standaard: Als standaard in bepaling meenemen 10x in loog
verdund paardeserum (R.I.V.)

Berekening

$$\frac{\text{E bepaling}}{\text{E standaard}} \times \frac{\text{conc. stand.}}{10} \quad \text{mg.}\%$$

*Indien de oplossing niet helder is, schudden met 1 ml chloroform.
Daarna kort afdraaien en bovenstaande afpipetteren.

Anti-factor VIII
=====Oriënterend

Bij aanwezigheid van een anticoagulans is de recalcificatietijd sterk verlengd.

Men bepaalt nu de recalcificatietijd van de volgende mengsels:

1. 0,1 NP + 0,9 PP
2. 0,5 NP + 0,5 PP
3. 0,9 NP + 0,1 PP

Bij aanwezigheid van een anticoagulans is no. 3 duidelijk afwijkend van NP.
Bij een deficiëntie is no. 1 veel korter dan de rec. van PP.

Nader bepalend

Zet 15' in 37° bad:

1. 1 ml NP
2. 0,9 ml NP + 0,1 ml PP

Zet beide buizen dan direct op ijswater en bepaal factor VIII ervan:
Als buis 2. beduidend minder factor VIII bevat dan 90% van de waarde van buis 1. is antifactor VIII aanwezig.

Door aan NP in een tweevoudige verdunningsreeks verdund PP toe te voegen, kan men het anti-factor VIII uittitreren.

Faktor XI

=====

Opmerking

Voor NP en PP worden tot het einde der bepaling plastic buizen en gesiliconeerde pipetten gebruikt.

Deze bepaling kan op coagulometers worden uitgevoerd.

Reagentia

1. Normaal citraatplasma, in plastic opgevangen en 15' bij 3000 toeren afgedraaid.
2. Patiënteplasma als boven behandeld.
3. Celite
4. Cephaline volgens Owren 1/70 verdund in phys.zout.
5. Citraatzout: 5 delen phys.zout
1 deel 3,8% trinatriumcitraat
6. Gebufferd citraatzout:
1 deel Michaëlisbuffer pH 7,4
3 delen phys.zout
1 deel 25,66 mM trinatriumcitraat
7. Artificieel factor XI-deficiënt plasma (als beschreven in "Bloedstollingsonderzoek" - Haanen, blz. 47).
8. CaCl_2 1/40 M

Uitvoering:

Maak van NP in citraatzout de volgende verdunningen:

50%, 20%, 10%, 5%, 0% en van PP 50%.

Verdund de onverdunde plasma's en de verdunningen verder 1/10 in gebufferd citraatzout.

Incubeer nu in glazen stollingsbuisjes:

0,1 ml plasmaverdunning

0,1 ml cephalinesuspensie

0,1 ml artificieel factor XI-deficiënt plasma

Mengen.

Voeg na 6' toe: 0,1 ml 1/40 M CaCl_2 en druk stopwatch in.

Wacht 60" en controleer dan het optreden van stolling.

Berekening

Men zet de normaallijn uit op dubbel-logaritmischpapier en berekent hieruit het gehalte van de patiënt.

Protrombinebepaling

=====

Reagentia

1. Normaal plasma
2. Verdunningsvloeistof:
 - 19 ml phys.zout
 - 1 ml trinatriumcitraat 3,8%
 - 1 ml + 5 reagens
3. Acaciabuffer:
 - 1 flesje van 6 ml acaciabuffer
 - 3 ml tromboplastine
 - 0,3 ml verdund runderserum (0,1 ml RS + 0,9 ml phys.zout)
4. $2\frac{1}{2}$ ml 1% fibrinogeenoplossing. (+ 1 ml Michaëlis filtreren)

Uitvoering:

Normaal plasma 1/40 verdunnen (0,05 plasma + 1,95 verdunningsvloeistof)
 Hieruit 0,4 ml in lysisbuisje + 1,2 ml acaciabuffer. Snel mengen, in 28°
 bad zetten en stopwatch I indrukken.

3 lysisbuisjes met 0,1 ml fibrinogeenoplossing in 28° bad zetten.

Na 1 minuut 0,4 ml uit plasmamengsel bij fibrinogeenoplossing voegen,
 stopwatch II indrukken, 8 - 10" snel in waterbad mengen, dan boven bad
 rustig kantelen, tot eerste vlokking optreedt.

Na 2' en 3' herhalen.

De drie tijden noteren.

Zelfde bewerking met patiënteplasma.

De tijden moeten bij NP tussen 13" en 16" liggen, bij PP tussen 12" en 18".
 Indien de laagste tijd < 12", dan plasma voor bepaling verder verdunnen b.v.
 1/60 of 1/80, indien laagste tijd > 18", dan plasma minder verdunnen b.v.
 1/30 of 1/20.

Bepaling restprotrombine

=====

Uitvoering:

0,2 ml citraatserum
 0,2 ml verdunningsvloeistof } direct mengen in lysisbuisje (verdunning 1/2)
 + 1,2 ml acaciabuffer.
 Verder als protrombinebepaling.
 Zo nodig verder verdunnen.

Berekening

	factor	eenheden
12"	1.34	322
12 $\frac{1}{2}$	1.26	302
13	1.20	288
13 $\frac{1}{2}$	1.14	274
14	1.09	262
14 $\frac{1}{2}$	1.04	250
15	1.-	240
15 $\frac{1}{2}$	0.96	230
16	0.92	221
16 $\frac{1}{2}$	0.89	214
17	0.86	206
17 $\frac{1}{2}$	0.82	197
18	0.80	192

Protrombine

Bij gelijke verdunning als NP

$$\frac{E_{\text{pat.}}}{E_{\text{NP}}} \times 100\%$$

Anders: factor x verdunning x 4 x $\frac{5}{4}$ x $\frac{6}{5}$ E/ t.o.v. NP in % uitrekenen en opgeven.

Restprotrombine

factor x verdunning x 4 x $\frac{5}{4}$ x $\frac{5}{4}$ E in Eenheden opgeven.

Principe van protrombinebepaling

Dit is een two-stage bepaling.

1. In een mengsel waarin tromboplastine en de factoren V, VII en X in overmaat aanwezig zijn wordt protrombine omgezet in trombine.
2. Met een om de minuut te nemen monster hieruit, test men de vorming van trombine op een fibrinogeenoplossing van bekende sterkte.

Citraatserum

voor restprotrombine wordt verkregen door de 3 buisjes met 1 ml vol bloed, die voor de bepaling van de stollingstijd in het 37° bad waren gezet, na stollen nog 1 uur uit te laten stollen en bij 5 druppels trinitriumcitraat 3,8% uit de laatste twee buisjes ieder 10 druppels serum te voegen (verdunning 5/4).

Fibrinase (factor XIII)
=====

Reagentia

Michaëlisbuffer pH 7,25

CaCl₂ 1/40 mol.

ureum 5 mol. (30 g op 100 ml vers maken).

Uitvoering:

Stolsel maken van:

0,2 ml plasma

0,1 ml Michaëlisbuffer pH 7,25

0,2 ml CaCl₂ 1/40 mol.

Na stollen nog 10 min. bij 37°C laten staan.

Het stolsel met een stokje uitvissen en in 3 ml ureum 5 mol.
doen (onuitgeperst).

Ter controle NP meenemen.

Buizen 24 uur bij K.T. laten staan.

Normaal mag stolsel niet opgelost zijn.

Indien geen fibrinase aanwezig is, lost het stolsel snel op.

AHF-bepaling (Coagulometermethode)

CF -bepaling met F IX def.plasma - Hardisty mod. Veltkamp

=====

Reagentia

1. Pool normaal plasma. Citraatbloed 15' bij 3000 toeren afdraaien, het plasma hierna een half uur afdraaien bij 20.000 G
2. H.A.-plasma als boven verkregen.
3. Te onderzoeken citraatplasma als boven verkregen.
4. CaCl_2 1/30 M.
5. Kaoline (in porties van 10 mg in buizen klaargezet)
6. Phospholipide 1/50 verdund en in porties van 2 ml bij -20° bewaard. Ontdooi vlak voor gebruik een buisje phospholipide en meng dit met 10 mg kaoline.

Uitvoering:

Breng in voorste rij buizen van 3 coagulometers

0,1 ml HAP

0,1 ml plasmaverdunning in Michaëlisbuffer 7,4

0,1 ml kaoline-phospholipidemengsel, in de volgende volgorde:

NP 1/10 - NP 1/20 - NP 1/40 - P_1P 1/10 - P_1P 1/20 - P_2P 1/10 - P_2P 1/20 - P_3P 1/10 - P_3P 1/20 - NP 1/10 - NP 1/20 - NP 1/40

en druk stopwatch in.

Zet na 3 minuten in de tweede rij buizen een zelfde serie in en 3 minuten hierna een derde serie in de derde rij buizen.

30 minuten na inzetten worden de buizen met 0,1 ml CaCl_2 gerecalcificeerd.

De bewegende electrode wordt iedere keer na gebruik uitgegloeid.

Berekening

Bereken van iedere triplo de gemiddelde tijd. Zet van de tijden van de drie normaalverdunningen een lijn uit op dubbel-logaritmischpapier.

Lees hierop de percentages voor de te onderzoeken plasma's af.

Bepaling factoren V, VII en X

=====

Reagentia

Normaal plasma

-V reagens

-VII reagens

RVV cephaline (gedurende gehele bepaling in 37° bad zetten)

Tromboplastine (vers gemaakt)

Michaëlisbuffer pH 7,25

CaCl₂ oplossing 1/40 M.

Uitvoering:

Maak met geijkte 0,1 ml pipetten van Normaal plasma als volgt verdunningen in Michaëlisbuffer:

1/20 (0,1 + 1,9)

1/40 (0,1 + 3,9)

1/80 (1,0 uit 1/40 + 1,0) beter (0,1 + 7,9)

Maak van patienteplasma op dezelfde manier een verdunning 1/20.

Voeg bijeen in lysisbuisjes:

Voor factor V:	factor VII	factor X:
0,1 ml plasmaverdunning	idem	idem
0,1 ml -V reagens	0,1 ml -VII reagens	0,1 ml -VII reagens
0,1 ml tromboplastine	0,1 ml tromboplastine	0,1 ml RVV cephaline

zet in 37° bad en druk stopwatch in, na 20" 0,1 ml CaCl₂ toevoegen, mengen en gelijk stopwatch terugzetten.

Tijd van stollen bepalen door buisje om de 5" uit bad te nemen en te kantelen. Als stollingspunt nadert buisje regelmatig bekijken.

Tijd van stollen noteren.

Berekening

Op dubbel-logaritmisch papier als volgt normaallijn uitzetten:

Op de abscis de verdunningen

1/20 = 100%

1/40 = 50%

1/80 = 25%

Op de ordinaat de bijbehorende stollingstijden in seconden.

Hierop het gehalte aan de gezochte factor in het patiënteplasma aflezen.

Plasminogeen (Biggs blz. 396)

=====

Remmert en Cohen (mod. Alksjaersig, Fletcher en Sherry)

Reagentia

0,1 M fosfaatbuffer pH 7,4

5% caseïne in fosfaatbuffer

1/6 N NaOH

1/6 N HCl

10% TCA

Streptokinase 2000 E/ml

Citraatplasma

Uitvoering:

Altijd ook NP meenemen.

0,5 ml plasma + 0,5 ml 1/6 N HCl 15' kamertemperatuur

+ 0,5 ml 1/6 N NaOH

+ 1 ml fosfaatbuffer

+ 0,5 ml streptokinase

+ 2 ml caseïne oplossing

Zet in 37° bad

Zet buizen met 2 ml TCA klaar

Na 2' 2 ml mengsel uit buis pipetteren en bij buis met 2 ml TCA voegen.

Schudden op kurk.

Na 62' weer 2 ml mengsel bij 2 ml TCA

Buizen minstens een uur op kamertemperatuur laten staan.

Afdraaien en aflezen tegen a.d. bij 280 mμ.

Berekening

$$\frac{\text{Ext PP } 62' - \text{Ext PP } 2'}{\text{Ext NP } 62' - \text{Ext NP } 2'} \times 100\%$$

VEROUDERD

0660/22

Chloride in plasma of urine

Reagentia

HgNO₃ 0,25 N (voor gebruik 5x verdunnen)

Trichloorazijnzuur 15%

Uitvoering:

Pipetteer in duplo in centrifugebuizen

1 ml plasma (urine) +

2 ml trichloorazijnzuur 15% (bij plasma langzaam toevoegen)
mengen

10' staan, zonodig afdraaien.

1 ml hiervan in kleine erlenmeyer pipetteren en titreren met
+ 0,05 N HgNO₃ met diphenolcarbazon als indicator.

Chloridestandaard (100 meq/L) als boven behandelen en titreren.

Berekening

$$\frac{\text{ml HgNO}_3 \text{ nodig voor bepaling}}{\text{ml HgNO}_3 \text{ nodig voor standaard}} \times 100 \text{ meq/L}$$

VEROUDERD

0660/23

Ureumbepaling in plasma

(AZUR test)

=====

Reagentia

standaarden van 300 - 600 en 1200 mg/L

AZUR reagens 2

" " 3

urease suspensie AZUR

Uitvoering:

pipetteer in 10 weggooibuizen

0,2 ml urease suspensie (verdeelde pipet)

Voeg hierbij 0,02 ml plasma (standaard, a.d. voor blanco)

Direct kurk op buis en 15' in 37°C bad zetten.

Hierna aan iedere buis toevoegen: 1 ml reagens 2

1 ml reagens 3

4 ml a.d.

Snel buis weer afsluiten, mengen en 30' bij k.t. laten staan.

Aflezen tegen blanco in $\frac{1}{2}$ cm cuvetten bij golflengte 625

en rood filter.

Berekening

Standaarden uitzetten op normaal grafiekpapier en op deze lijn uitkomsten aflezen.

VEROUDERD

0660/24

Bilirubine (Evelyn en Malloy)

=====

(Gorter en de Graaff, blz. 313)

Reagentia

Ehrlich A

Ehrlich B

Diazoreagens: 10 ml Ehrlich A + 0,3 ml Ehrlich B, steeds vers maken.

Physiologisch zout

Methanol

Blanco reagens: 15 ml 25% HCl met a.d. aanvullen tot 1 ltr.

Uitvoering:

2 ml plasma in maatkolfje van 20 ml met a.d. verdunnen

Pipetteer het volgende in 4 reageerbuizen:

Buis 1: 5 ml phys.zout en 1 ml blanco reagens

Buis 2: 5 ml phys.zout en 1 ml diazoreagens

Buis 3: 5 ml methanol en 1 ml blanco reagens

Buis 4: 5 ml methanol en 1 ml diazoreagens

Voeg bij alle buizen 4 ml plasmaverdunning.

Meng goed.

Lees na precies 20' af in 2 cm cuvetten bij golflengte 540mμ.

Buis 2 aflezen tegen buis 1 als blanco en buis 4 aflezen tegen buis 3 als blanco.

Normaal waarden: direct tot 0,8 E

totaal tot 1,4 E

} maatpipetten

Berekening

Ext.buis 2 x 235 = Eenheden direct bilirubine

Ext.buis 4 x 235 = Eenheden totaal bilirubine

VEROUDERD

0660/25

SGOT
=====

Reagentia

SGOT substraat
kleurreagens
0,4 N NaOH p.a.] in ijskast bewaren

Uitvoering:

In 4 reageerbuizen (2 voor bepaling, 2 voor blanco)
0,5 ml SGOT reagens pipetteren.
Buizen met kurk erop in 37° bad zetten en na 5' in de
bepalingsbuizen 0,1 ml te onderzoeken serum brengen.
Buizen weer afsluiten en stopwatch inzetten.
Na 60' 37°C 0,5 cc kleurreagens toevoegen en buizen snel
afkoelen in bekersglas koud water.
Minstens 20' staan.
Hierna 5 ml 0,4 N NaOH toevoegen, mengen en na 15' staan
aflezen bij 510 mμ tegen a.d.

Berekening

Aflezen op curve

N.W. tot 50 E

Opmerking: Bij bewaren serum invriezen

SGPT
=====

Als boven met SGOT reagens, 30' bij 37°C zetten en uiteindelijk
aflezen op eigen curve. N;W. tot 40 E.

Recalcificatietijd (all over test)
=====

Reagentia

Normaal citraatplasma

CaCl_2 1/40 Mol.

Uitvoering:

0,2 ml citraatplasma in 37° bad zetten

na 1 minuut 0,2 ml CaCl_2 toevoegen, stopwatch indrukken en
snel mengen.

Om de kwart minuut uit het bad nemen en zien of stolling is
opgetreden.

Normale waarden: 1 - 3'.

Altijd normaal plasma als controle meenemen.

Trombinevormingstest

=====

(Pitney en Dacie)

Reagentia

fibrinogeenoplossing: 75 mg bovine fibrinogeen + 5 ml 1½% zout
15' bij 37° zetten. Hieraan toevoegen 5 ml
aq.dest en 15 ml zoutwaterbuffer.
eventueel door watje filtreren.

CaCl₂ 1/40 M.
normaal citraatbloed.

Uitvoering:

Neem van normaal en patiënt citraatbloed af en draai dit 5' bij
1500 toeren af.

Zet in 37° bad 12 agglutinatiebuisjes met 0,4 ml fibrinogeen-
oplossing.

Doe in centrifugebuis 0,5 ml phys.zout en 0,5 ml trombocytenrijk
plasma.

Voeg na 1' 0,5 ml CaCl₂ 1/40 M. toe

Stopwatch 1 in.

Voeg 0,1 mengsel bij fibrinogeen na 1', 2', 3' enz.

Noteer tijden van stolling.

Indien stolsel in centrifugebuis ontstaat dit uitpersen en tijd
noteren.

Beoordeling

Indien de tijden van stollen bij de patiënt (beduidend) langer zijn
dan bij de normaal (ev. 2 normalen) mag men van een vertraagde
trombinevorming spreken.

Euglobulinesstolsel-lystijd

=====

Reagentia

koud aqua dest

azijnzuur 1%

versene buffer

 CaCl_2 1/40 MUitvoering:

Neem 10 ml citraatbloed af.

Direct na afnemen 10' bij 2000 toeren afdraaien.

Men krijgt dan trombocyten plasma.

in duplo: 14 ml koud aqua dest

1 ml trombocytenrijk plasma in klein bekerglas.

Op pH 5,9 brengen met 1% azijnzuur en direct overgieten in brede centrifugebuis.

Minstens 15 minuten in ijskast zetten.

3 minuten bij 1500 toeren afdraaien.

Afgieten, uitlekken en losschudden.

Residu oplossen in 1 ml versene buffer en overbrengen in lysisbuisje.

 $\frac{1}{2}$ ml CaCl_2 1/40 M. toevoegen.

Mengen en in 37° bad zetten (goed onderstaan).

Tijd van stollen noteren.

Totale lystijd noteren.

Beoordeling

normale waarden >120'

Principe

De fibrinolytische factoren bevinden zich in de euglobulinefractie van het plasma. De antifibrinolytische factoren vooral in de albuminefractie.

Bij scheiding van de euglobulinefractie lost dit stolsel sneller op dan het bloed- of plasmastolsel.

Tromboplastinevormingstest (Biggs - Douglas) T.G.T.

=====

Reagentia

normaal plasma

normaal serum

glaspoeder

Al (OH)₃ suspensie

Cephaline (geconcentreerd verdunnen met phys.zout tot juiste sterkte, ca 1/100 - 1/200).

CaCl₂ 1/40 M.

Physiologisch zout

Substraat plasma

Uitvoering:

1 ml normaal plasma en

1 ml patiënteplasma adsorberen met 2 druppels Al(OH)₃ suspensie, 2½ minuut op 37° zetten.

1 ml normaal serum en 1 ml patiënteserum 2 minuten flink opschudden met een mespunt glaspoeder. Alles 5 minuten sterk afdraaien.

Plasma: 1:5 verdunnen in phys.zout (0,5 ml + 2 ml)

Serum : 1:10 verdunnen in phys.zout (0,5 ml + 4,5 ml)

In centrifugebuis samenbrengen:

0,2 ml plasmaverdunning

0,2 ml serumverdunning

0,2 ml cephalineverdunning

0,2 ml CaCl₂ (in iedere buis eigen verdeelde 1 ml pipet)

snel mengen, in 37° bad zetten en stopwatch I indrukken.

In bad 6 lysisbuisjes met 0,1 ml substraatplasma zetten.

Na 1 minuut 0,1 ml mengsel + gelijktijdig 0,1 ml CaCl₂ (uit 37° bad) in 1e substraatbuisje + zo snel mogelijk stopwatch II indrukken.

Tijd van stolling noteren.

3e t/m 7e minuut herhalen.

Normaal waarden: 1e min. tot 60"; 3e - 7e min. 6 - 10" (hoogstens ½ sec. verschil)

Uitvoeren met:

norm.plasma + norm. serum

pat. plasma + pat. serum

pat. plasma + norm. serum

norm.plasma + pat. serum

PLAATJES-AGGREGATIE EN FIBRINEDRAADVORMING met phase-contrast microscopie

Microscoop instellen:

Microscoop op balanstafel zetten.

Diafragma dicht, condensor in laagste stand, phase 1 lens in laagste stand, schijf in stand 1 zetten.

Condensor omhoog draaien tot diafragma zo scherp mogelijk zichtbaar is. Centreren met twee schroeven onder condensor.

Diafragma groter maken en zo goed mogelijk bij centreren.

Phase-oog i.p.v. oculair inzetten, uittrekken tot lichte en donkere ring zichtbaar is, met rechter zijknop en achterknop (onder schijf) beide ringen dekkend maken.

Oculair weer inzetten, phase 3 lens voorzetten en voorzichtig schijf op 3 zetten.

Uitvoering:

Bij microscoop klaarleggen: objectglas, dekglas, gesiliconeerde pasteurse pipet, immersie olie.

In centrifuge plastic puntbuis met water als tegenbuis klaarzetten. Plastic puntbuis uit vleugelnaald met bloed vullen.

Als buis half vol is stopwatch indrukken.

Buis 1 min. op 1500 T draaien, dan van bovenstaande PRP druppel met gesiliconeerde pipet op objectglas brengen. Dekglas erop, olie op dekglas, kijken onder microscoop.

Eventueel condensor nog wat omhoog.

N.W. aggregatie < 4½'
 fibrinedraden 6' - 10'

Opmerking:

Extra hoge of lage kamertemperatuur kan versnellend en vertragend werken.

PLAATJESAGGREGATIE VOLGENS BORN

Reagentia:

Michaelisbuffer pH 7,4 0,05 M
ADP (uitgevuld in vrieskist in 0,1 ml van 1000γ/ml in Michaelis-
buffer)
Collageen Sigma n.C. - 9879
750 mg/70 ml phys. zout
+ uur in mortier verwrijven
in buizen op + 2000 T 10 min. afdraaien
Bovenstaande in 0,5 ml porties invriezen.

Uitvoering:

Pompje aanzetten en controleren of waterbad op 37°C staat.
Colorimeter aanzetten.
1,8 ml plaatjesrijk plasma (15 min. 1000 T, in gesiliconeerd
glaswerk of plastic afnemen) in gesiliconeerde "Born" buis.
5 min. laten opwarmen in toestel
vlo erbij
Recorder aanzetten en regelen
na 2 min. toevoegen:
0,2 ml ADP (0,1 ml van 100 ml + 0,9 ml Michaelisbuffer, hieruit
weer 0,1 + 0,9 ml Michaelisbuffer, dit vlak voor gebruik maken)
of:
0,2 ml collageen (ingevroren concentratie is voor gebruik gereed)
Recorder ca. 15 min. laten lopen.

RVV TEST (op uit plaatjes vrijgekomen phospholipiden)
=====

Reagentia:

1. RVV stypven poeder (per flesje in 4 porties verdelen en in de ijskast bewaren)
2. RVV stypven oplosmiddel
3. CaCl_2 1/40 M
4. portie RVV stypven (1) vlak voor gebruik in 0,2 ml oplosmiddel (2). Hierbij 1,8 ml phys. zout

Bepaling:

Normaal plasma en patientenplasma beiden zo vers mogelijk, liefst gelijk, 10 min. op 3000 rpm. afdraaien.

0,1 plasma

+ 0,1 RVV verdunning (4)

30 sec. op 37°C

+ 0,1 CaCl_2 1/40

N.W. 25" - 40"

FACTOR VIII MICROMETHODE
=====Reagentia:

1. Michaëlisbuffer pH 7,4 0,05 M
2. 0,1 ml trinatriumcitraat 3,8 % in 40 ml Michaëlisbuffer

Bepaling:

Verdun 0,02 ml vol bloed direct uit goede vingerprik (hiel)
in 0,48 ml buffer met citraat (2) verdunning 1:25.

Maak van normaal plasma (riet) verdunningen in buffer (1)

b.v. 1:20 - 1:40 - 1:80 - 1:160 - 1:320 - blanco

Bepaal op coagulometers factor VIII verder als gebruikelijk.

Berekening:

Maak normaallijn 1:20 = 100 %, 1:40 = 50 % enz.

Uitkomst patient $\times \frac{25}{20}$ (andere verdunning) $\times$ factor riet $\times$
factor 1,20 (voor het werken met vol bloed).

GEACTIVEERDE CEPHALINETIJD (Partial T.P. time)

=====

Reagentia:

1. Owren pH 7,3: veronal Na 11,75 g
 NaCl 14,67 g
 HCl 0,1 N 430 ml
 aqua dest. 1570 ml
 pH nastellen op 7,3

2. Glidex (Centrolax P
 1825 Laranie Avenue 39
 Chicago, Illinois
 USA)
 100 mg glidex in 100 ml Owren buffer oplossen
 (in mortier verwrijven, 1 uur, buffer langzaam toevoegen)
 In kleine porties invriezen.

3. Gewassen kaoline
 4 g kaoline suspenderen in 100 ml phys. zout (+ week houdbaar)

4. Vlak voor bepaling gelijke delen 2 en 3 mengen.

Uitvoering:

- 0,1 ml plasma (10 min. 3000 rpm.)
- + 0,1 ml Owren buffer
- + 0,1 ml glidex-kaoline-mengsel
- 6 min. incuberen in 37°C bad, iedere minuut goed mengen.
- 0,1 ml CaCl₂ 1/30 M toevoegen, stopwatch indrukken.
- Normale waarden 40" - 58"

FDP KWALITATIEF MET I.E. TECHNIK

=====

Reagentia:

I.E. buffer:	11,04 g diaethylbarb. zuur 61,80 g Na-diaethylbarbituraat oplossen in a.d. tot 4 liter pH bijstellen tot 8,4 - 8,6 4 ml merthiolaat toevoegen
Fixeeragar:	3 % Special Agar Noble in aqua dest.
Plaatagar:	1½ % Bacto Agar in 70 % I.E. buffer - 30 % aqua dest.
Randagar:	1,3 % Special Agar Noble in 70 % I.E. buffer - 30 % aqua dest.
Gebufferd zout	
Kleurvloeistof:	1 g amidozwart 2,6 ml ijsazijn 100 ml glycerine 6,12 g Na-acetaat 3 H ₂ O + 900 ml aqua dest.
Ontkleurvloeistof:	114 ml ijsazijn 500 ml glycerine aanvullen tot 5 liter

Uitvoering:

Maak glasplaten schoon met alcohol, beschrijf ze met glasinkt, fixeer inkt in de vlam, bestrijk platen met fixeeragar (goed in beide richtingen inwrijven)
Fixeer platen 15 min. op 60° - 100°C
Wrijf mal dun in met silicone vet
Klem mal tussen plaat in gesiliconeerde dekplaat met 4 Pleuger klemmen vast.
Vul met plaatagar met een pasteurse pipet zonder luchtbelvorming.

Laat plaat vast worden, schuif dan voorzichtig de gesiliconeerde plaat eraf en wip mal eraf (met nagel)

Pons 6 gaatjes in plaat.

Vul ze met 10 μ l Pleuger pipet met te onderzoeken plasma's en sera (altijd ook NP meenemen)

Leg ze in I.E.-bak met beschreven bovenkant naar positieve pool.

Vul randen goed aan met randagar (handwarm)

Laat buffer door bak lopen.

Laat stroom 50 min. op 60 V lopen.

Snij dan gootjes en vul deze met uitgetrokken pasteurse pipet met konijne-anti-humaan fibrine serum.

Laat 24 - 48 uur diffunderen in horizontale bak die vochtig gehouden is.

Was platen 3 x gedurende 24 uur met $\frac{1}{2}$ aqua dest - $\frac{1}{2}$ gebufferd zout oplossing.

Dek plaat met filtreerpapier af, prik gootjes erin en laat 24 - 48 uur drogen in 37°C stoof.

Verwijder filtreerpapier, goed schoonmaken onder stromende kraan en 3 uur kleuren. Kleurvloeistof teruggieten, spoelen met kraanwater, ontkleuren met ontkleurvloeistof in bak (+ 15 min., op oog)

Drogen in 37°C stoof.

HAEMAGGLUTINATIE REMMINGSTESTReagentia:

fosfaat-citraat buffer
gelijke volumes van 0,15 M fosfaatbuffer pH 6,4 in
0,1 M natriumcitraat, waarin 0,1 % Na-azide zit.
anti-fibrine serum
Tannine
bovine albumine
vers normaal citraat plasma
O cellen

CELLEN COATEN MET FIBRINOGEEN

Wassen: citraat-bloed afdraaien 10 min. 2000 rpm.
cellen 3 x wassen met buffer en 5 min. 2000 rpm. afdraaien

Tanneren:

verse Tannine-oplossing maken van 5 mg in 100 ml buffer
2,4 ml buffer + 2,4 ml Tannine-oplossing + 0,2 ml packed cells
mengen en 10 min. op k.t. laten staan.
5 min. 2000 rpm.
1 x wassen met buffer
5 min. 1200 rpm.
Getanneerde cellen bewaren op smeltend ijs

Fibrinogeen coaten:

NP 1:10 in buffer verdunnen
4,9 ml buffer + 4,9 ml plasmaverdunning + cellen van één buis
mengen
30 min. kamertemperatuur.
3 x wassen met buffer waarin 0,4 % bovine albumine is opgelost.
Steeds 5 min. 2000 rpm. afdraaien.

Bewaren:

Cellen in 4 % suspensie in bovine albumine buffer = 5 ml per buis
bij + 4°C bewaren (in ijskast op ijswater dicht bij element)
De cellen zijn zo 14 dagen houdbaar.

ANTI-FIBRINE SERUM TITREREN

Maak tweevoudige verdunningsreeks van antiserum in phys. zout
b.v. 1:100, 1:200 enz.

In holtes van glazen agglutinatielschalen:

1 druppel verdund antiserum

1 druppel phys. zout

1 druppel ery-suspensie

10 min. schudden op vlakke schudplaat bij k.t.

Verdunning, één lager dan de laatste sterke agglutinatie
voor de bepalingen gebruiken.

UITVOERING BEPALING

Maak in phys. zout een verdunning van 1 mg% fibrinogeen van normaal plasma.

Maak van deze plasma verdunning en van de te onderzoeken sera

(4 uur 37°C uitgestold, eventueel bij afname een druppel tromboplastine
in de buis) een tweevoudige verdunningsreeks, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64

Meng in holtes van agglutinatie-schalen 1 druppel verdund antiserum met
1 druppel van de verdunningsreeksen.

10 min. 30°C.

dan een druppel celsuspensie toevoegen

10 min. schudden op vlakke plaat en aflezen.

BEREKENING

Fibrinogeen 1 mg% : 1:1 = 10 µg/ml

1:2 = 5 µg/ml

1:4 = 2,5 µg/ml

1:8 = 1,25 µg/ml enz.

Als van fibrinogeen verdunning 1:8 de eerste positieve uitslag
geeft en van het patiente serum de 1:4 verdunning, dan is het
gehalte aan FDP in serum $4 \times 1,25 \mu\text{g/ml}$

Men moet dus altijd terugrekenen op onverdund serum.