

BIOPHEN™ Faktor XIa

REF 220412

R1A R1B R2 R3 2x3 mL, R4 2x25 mL, CAL 2x2 mL

Chromogener Testkit zur Bestimmung der Faktor XIa-Aktivität

Nur für Forschungszwecke ,

nicht zur Verwendung in diagnostischen Verfahren



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

VERWENDUNGSZWECK:

BIOPHEN™ Faktor XIa ist ein chromogener Testkit zur quantitativen *in-vitro*-Bestimmung der Aktivität von aktiviertem Faktor XI (FXIa) in gereinigten Medien mit automatisierter oder manueller Methode. Dieser Kit ist nur für Forschungszwecke bestimmt und darf nicht zu Diagnose- oder Behandlungszwecken verwendet werden.

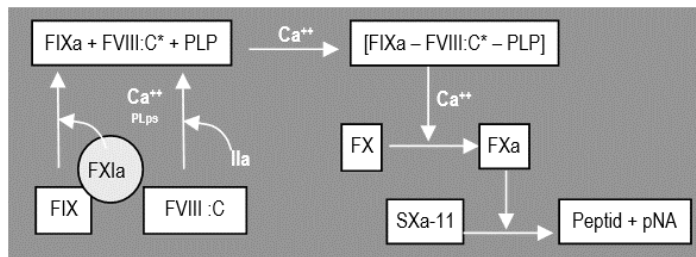
ZUSAMMENFASSUNG:

Technisch: 1

Die normale Faktor-XI-Konzentration in humanem Plasma beträgt zwischen 3 und 7 µg/mL. FXI liegt im Plasma als Zymogen vor. Bei seiner Aktivierung durch aktivierten Faktor XII (FXIIa), Thrombin oder Autoaktivierung wird es zu einer Trypsin-ähnlichen Serinprotease, die in der Kontaktaktivierungsphase an der Blutgerinnung beteiligt ist.

TESTPRINZIP:

In Gegenwart von Phospholipiden (PLP), Calcium und Thrombin aktiviert der in der Probe vorhandene FXIa FIX zu FIXa. FIXa bildet einen Enzymkomplex mit Thrombin-aktiviertem Faktor VIII:C. Dieser Enzymkomplex aktiviert anschließend ebenfalls im Testansatz vorhandenen FX zu FXa. Der gebildete FXa kann dann durch die spezifische Aktivität für das chromogene FXa-Substrat SXa-11 exakt bestimmt werden. Die Menge des durch die Spaltung des Substrates freigesetzten para-Nitroanilin (pNA, bestimmt durch Absorptionsmessung bei 405 nm) ist direkt proportional zur FXIa-Aktivität in der Probe (FIX, FVIII:C und FX sind im Testansatz in konstanter Konzentration und im Überschuss vorhanden).



Anmerkung: FVIII:C*: Thrombin-aktivierter Faktor VIII:C

IM TESTKIT ENTHALTENE REAGENZIEN:

- R1A** Humaner FX und FVIII:C, lyophilisiert. Enthält Calciumchlorid, Kupfersulfat, einen Fibrin-Polymerisations-Inhibitor, Stabilisatoren und BSA.
- R1B** Humaner FIX (ohne FIXa), lyophilisiert. Enthält Stabilisatoren und BSA.
- R2** Aktivierungsreagenz (Thrombin-Calcium-Phospholipide), lyophilisiert. Enthält humanes Thrombin, Calcium, Imidazol, synthetische Phospholipide, Stabilisatoren und BSA.
- R3** SXa-11 Substrat, lyophilisiert. Chromogenes, FXa-spezifisches Substrat. Enthält einen FXIa-Inhibitor.
- R4** Spezifischer Tris-BSA-Puffer: Reaktionspuffer, gebrauchsfertig. Enthält 1% BSA, PEG und eine geringe Menge an Natriumazid (0,9 g/L).
- CAL** FXIa-Kalibrator, lyophilisiert. Gereinigter humaner FXIa mit einer titrierten FXIa-Konzentration von ca. 45 mIE/mL. Enthält Stabilisatoren und BSA.

R1A R1B R2 R3 2 Flaschen mit je 3 mL

R4 2 Flaschen mit je 25 mL

CAL 2 Flaschen mit je 2 mL

Die Kalibrator-Konzentrationen können von Charge zu Charge leicht variieren. Die exakte FXIa-Konzentration ist auf einem Datenblatt angegeben, das dem Testkit beigelegt ist.

ANMERKUNGEN UND WARNHINWEISE:

- Für die Herstellung der Reagenzien wird Material menschlichen und tierischen Ursprungs verwendet. Aus humanem Plasma gewonnenes Material wurde mit validierten Methoden auf HIV-Antikörper, HBs-Ag und HCV-Antikörper untersucht und für negativ befunden. Kein Test kann jedoch die Abwesenheit von Infektionserregern mit absoluter Sicherheit garantieren. Sämtliche Produkte biologischen Ursprungs müssen deshalb mit allen erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen und als potenziell infektiös gehandhabt werden.
- Natriumazid kann mit Blei- bzw. Kupferarmaturen unter Bildung explosiver Verbindungen reagieren.
- Bei Entsorgung sind die lokalen Richtlinien zu befolgen.
- Nur Reagenzien aus Packungen mit identischer Chargennummer verwenden.
- Stabilitätsstudien haben gezeigt, dass die Packungen ohne Beeinträchtigung bei Raumtemperatur versendet werden können.
- Zur *in-vitro*-Diagnostik in professionellem Laborgebrauch.

VORBEREITUNG DER REAGENZIEN:

Die Gummistopfen der Flaschen sind vorsichtig zu öffnen, um einen Verlust an Reagenz zu vermeiden.

R1A R1B R2 R3 Den Inhalt jeder Flasche rekonstituieren mit exakt 3 mL aqua dest.

Bis zur vollständigen Auflösung des Inhalts gut durchmischen und dabei Schaumbildung vermeiden, gemäß Applikationsanleitung auf den Gerinnungsautomaten laden.

Manuelle Methode: Vor Verwendung 30 Minuten bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren. Den Inhalt vor jedem Gebrauch homogenisieren.

CAL Den Inhalt jeder Flasche rekonstituieren mit exakt 2 mL aqua dest.

Bis zur vollständigen Auflösung des Inhalts des geschlossenen Reagenz nach Rekonstitution unter der Voraussetzung, dass dieses nicht kontaminiert wurde und keine Verdunstung erfolgte:

Manuelle Methode: Vor Verwendung 15 Minuten bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren. Den Inhalt vor jedem Gebrauch homogenisieren.

R4 Gebrauchsfertig. Durchmischen und gemäß Applikationsanleitung auf den Gerinnungsautomaten laden.

Manuelle Methode: Vor Verwendung 30 Minuten bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren. Den Inhalt vor jedem Gebrauch homogenisieren.

LAGERUNG UND STABILITÄT:

Die ungeöffneten Reagenzien müssen bei 2-8°C in der Originalverpackung gelagert werden. Sie sind dann bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum stabil.

R1A R1B R2 Stabilität des geschlossenen gelagerten Reagenz nach Rekonstitution unter der Voraussetzung, dass dieses nicht kontaminiert wurde und keine Verdunstung erfolgte:

- 24 Stunden bei 2-8°C
- 8 Stunden bei Raumtemperatur (18-25°C)
- 2 Monate bei ≤ -20°C*
- On Board-Stabilität – siehe gerätespezifische Applikation

R3 Stabilität des geschlossen gelagerten Reagenz nach Rekonstitution unter der Voraussetzung, dass dieses nicht kontaminiert wurde und keine Verdunstung erfolgte:

- 1 Monat bei 2-8°C
- 7 Tage bei Raumtemperatur (18-25°C)
- 2 Monate bei ≤ -20°C*
- On Board-Stabilität – siehe gerätespezifische Applikation

*Kann einmalig bei 37°C aufgetaut werden und muss umgehend verwendet werden.

Eine Gelbfärbung des Substrats deutet auf Kontamination hin. Die betroffene Flasche muss entsorgt und eine neue verwendet werden.

R4 Stabilität des geschlossen gelagerten Reagenz nach dem Öffnen unter der Voraussetzung, dass dieses nicht kontaminiert wurde und keine Verdunstung erfolgte:

- 7 Tage bei 2-8°C
- On Board-Stabilität – siehe gerätespezifische Applikation

CAL Stabilität des geschlossen gelagerten Reagenz nach Rekonstitution unter der Voraussetzung, dass dieses nicht kontaminiert wurde und keine Verdunstung erfolgte:

- 24 Stunden bei 2-8°C
- 8 Stunden bei Raumtemperatur (18-25°C)
- Nicht einfrieren
- On Board-Stabilität – siehe gerätespezifische Applikation

ERFORDERLICHE MATERIALIEN, DIE NICHT IM TESTKIT ENTHALTEN SIND:

Reagenzien:

- Aqua dest.
- Endpunkt-Methode: Essigsäure (20%) oder Zitronensäure (2%).
- Alternativ: FXIa-Referenzmaterial (interner oder internationaler Standard)
- Spezifische Kontrollplasmen: BIOPHEN™ Faktor XIa Kontrollset, Art.Nr. 224801

Außerdem ist die spezifische Applikationsanleitung des verwendeten Gerinnungsautomaten zu beachten.

Materialien:

- Spektrophotometer oder Gerinnungsautomat für chromogene Tests
- Stoppuhr, kalibrierte Pipetten, Kunststoff-Teströhrchen oder Mikrotiterplatte

PROBE:

FXIa in gereinigten Medien oder in FXI-Konzentraten

TESTDURCHFÜHRUNG:

Der Testkit BIOPHEN™ Faktor XIa kann sowohl als automatisierbare kinetische Methode wie auch als manuelle Endpunktmethode durchgeführt werden. Der Test wird bei einer kontrollierten Temperatur von 37°C durchgeführt und die Farbentwicklung bei 405 nm gemessen.

Testmethode:

1. Die Kalibratoren und Kontrollen sind anhand der spezifischen Packungsbeilagen oder gemäß interner Praxis zu rekonstituieren. Die Kalibratoren sind mit R4 wie in der unten stehenden Tabelle beschrieben zu verdünnen, um die Kalibrationskurve zu erstellen („C“ definiert die FXIa-Konzentration).

Kalibrator	C	C:2	C:4	C:8	0
Faktor XIa-Kalibrator (C)	1 mL	0,5 mL	0,25 mL	0,125 mL	0 mL
Puffer R4	0 mL	0,5 mL	0,75 mL	0,875 mL	1 mL

Die Kalibration kann ebenso mit Faktor XIa-Referenzmaterial (interner oder internationaler Standard) durchgeführt werden. Das Referenzmaterial wird mit dem Puffer R4 auf einen Gehalt von „C“ (etwa 45 mIE/ml) Faktor XIa verdünnt, um daraus anschließend die Kalibratorverdünnungen wie oben beschrieben herzustellen.

2. Proben oder Konzentrate müssen entweder unverdünnt oder nach Verdünnung mit dem Puffer R4 auf eine FXIa-Konzentration von ≤ 45 mIE/mL getestet werden. Da der Test in Anwesenheit von Calcium R2 durchgeführt wird, ist darauf zu achten, dass die Proben (sofern diese auf Citrat oder Na2EDTA abgenommen wurden) ausreichend verdünnt werden, damit das Calcium in der

Testdurchführung nicht stört. Alternativ kann das Calcium in der Probe mit divalenten Anionen in passender Konzentration neutralisiert werden.

Zum Testen von FXIa in Konzentraten muss die Probe in Puffer [R4] vorverdünnt werden, um auf eine FXIa-Konzentration zwischen 5 und 35 mIE/mL zu kommen. Die gemessene Konzentration ist dann mit dem Verdünnungsfaktor zu multiplizieren.

Die Kalibrationskurve ist zu erstellen und mittels Qualitätskontrollen zu überprüfen. Verdünnte Proben sollten, wenn sie bei Raumtemperatur (18-25°C) gelagert werden, rasch getestet werden. Die exakten chargenspezifischen Werte der Kalibratoren und Kontrollen sind einem der Packung beiliegenden Datenblatt zu entnehmen.

3. In Mikrotiterplatten oder Teströhrchen, die jeweils bei 37°C präinkubiert sind, wird nach folgendem Schema zugegeben:

Reagenz	Mikrotierplatte	Teströhrchen
In [R4] verdünnte Proben, Kontrollen oder Kalibratoren	50 µL	200 µL
[R1A] Humaner FX und FVIII:C	50 µL	200 µL
[R1B] Humaner FIX	50 µL	200 µL
Mischen und für 2 min bei 37°C inkubieren, dann zugeben:		
[R2] Aktivierungsreagenz	50 µL	200 µL
Mischen und für 2 min bei 37°C inkubieren, dann zugeben:		
[R3] Substrat SXa-11, präinkubiert bei 37°C	50 µL	200 µL
Mischen und für 5 min bei 37°C inkubieren, dann:		
Stoppen der Reaktion durch Zugabe von:		
Zitronensäure (2%)*	50 µL	200 µL
Mischen und die Absorption bei 405 nm gegen den jeweiligen Probenleerwert messen.		

*Oder Essigsäure (20%). Die Gelbfärbung ist für 2 Stunden stabil.

Der Probenleerwert wird durch Mischung der Reagenzien in umgekehrter Reihenfolge erzeugt, d.h. Zitronensäure (2%), R3, R2, R1B, R1A, verdünnte Probe.

Die Absorption wird bei 405 nm (A405) gemessen und anschließend der Probenleerwert des Testes vom A405-Wert subtrahiert. Bei ungewöhnlicher Farbe der Probe ist ein Probenleerwert durchzuführen. Falls die verwendete Methode andere Reagenzvolumenta als die oben beschriebenen erfordert, müssen die Verhältnisse der Reagenzkonzentrationen genau eingehalten werden, um den Erhalt der Leistungsmerkmale des Tests zu gewährleisten. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, alle Veränderungen und sämtliche Auswirkungen auf die Testergebnisse zu überprüfen.

Kinetische Methode:

Der Test kann automatisiert durch Messung der Veränderung der Absorption im Zeitraum von 10 bis 100 Sekunden nach Hinzufügen des Substrats (Δ A405). In diesem Fall muss die Testreaktion nicht gestoppt werden und der Probenleerwert wird automatisch berücksichtigt.

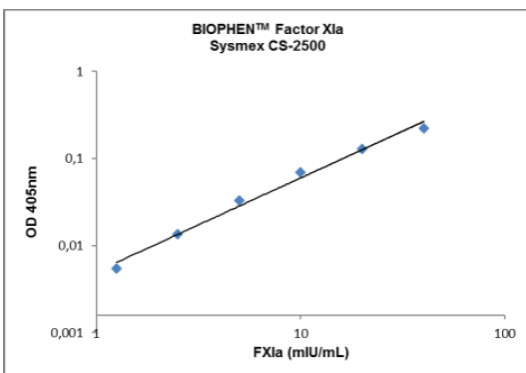
Für die automatisierte Durchführung sind Applikationsanleitungen für die gängigsten Gerinnungsautomaten auf Anfrage erhältlich. Die gerätespezifische Applikation und die spezifischen Vorsichtsmaßnahmen des jeweiligen Gerinnungsautomaten sind zu beachten.

KALIBRATION:

BIOPHEN™ Faktor XIa ist für die Messung von FXIa zu kalibrieren. Der Kalibrator [CAL] kann zur Erstellung der Kalibrationskurve verwendet werden.

Auf Sysmex CS-2400/2500 beträgt der Kalibrationsbereich ca. 1,25 bis 40 mIE/mL.

Die nachfolgend gezeigte Kalibrationskurve dient lediglich als Beispiel. Es darf ausschließlich die für die jeweilige Analysenserie gemessene Kalibrationskurve verwendet werden.



QUALITÄTSKONTROLLE:

Die Verwendung von Qualitätskontrollplasma ermöglicht bei Verwendung der gleichen Reagenzcharge die Validierung der Kalibrationskurve und der homogenen Reaktivität des Tests von Analyse zu Analyse. Gemäß guter Laborpraxis ist bei jeder Testserie eine Qualitätskontrolle zu inkludieren, um die generierten Ergebnisse zu überprüfen. Zumindest bei Chargenwechsel, größeren Wartungsarbeiten am Analysenautomaten oder wenn die Kontrollen außerhalb des Vertrauensbereiches liegen, muss eine Neukalibration erfolgen. Jedes Labor sollte seine eigenen Akzeptanzbereiche festlegen und die erwartete Leistung unter den eigenen Testbedingungen verifizieren.

RÜCKFÜHRBARKEIT AUF REFERENZMATERIALIEN:

Die FXIa-Konzentration des BIOPHEN™ FXIa-Kalibrators wurde gegen den gültigen NIBSC-Standard für humanen FXIa validiert.

ERGEBNISSE:

- Bei der Endpunktmethode wird die Faktor XIa-Konzentration (mIE/mL) auf der x-Achse (Abszisse) gegen die korrespondierende Absorption (A405) auf der y-Achse (Ordinate) im bilogarithmischen Maßstab aufgetragen.
- Bei der kinetischen Methode ist Δ A405 anstelle von A405 zu verwenden.
- Sofern die Standardverdünnung verwendet wird, leitet sich die FXIa-Konzentration in mIE/mL in der Probe direkt von der Kalibrationskurve ab.
- Falls andere Verdünnungsfaktoren genutzt wurden, wird die gemessene Konzentration mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multipliziert.

EINSCHRÄNKUNGEN DES TESTES:

- Um eine optimale Leistung zu gewährleisten und die Spezifikationen zu erfüllen, sollten die technischen Anweisungen von HYPHEN BioMed sorgsam beachtet werden.
- Jegliches Reagenz mit unüblicher Erscheinung oder Anzeichen von Kontamination muss verworfen werden. Jegliche verdächtige Proben oder jene mit Anzeichen für Aktivierung müssen verworfen werden.

LEISTUNGSMERKMALE:

- Die untere Nachweisgrenze des Gerinnungsautomaten hängt vom verwendeten Analysensystem ab.
- Der Messbereich hängt vom verwendeten Analysensystem ab (ca. 2,5 bis 40 mIE/mL FXIa auf Sysmex CS-2400/2500).
- Die Nachweisgrenze des Testes wird an der Kalibrationskurve durch Messung der „scheinbaren“ Faktor XIa-Konzentration einer Faktor XIa-freien Probe bestimmt und berechnet sich als der mittlere A405-Wert dieser Probe plus 3x Standardabweichung. Diese Nachweisgrenze liegt bei < 2,5 mIE/mL.
- Leistungsstudien wurden intern auf Sysmex CS-2400/2500 durchgeführt. Sie wurden mittels Qualitätskontrollen des Labors ausgewertet. Die folgenden Daten wurden erhalten:

Kontrolle	Intra-Lauf			
	n	Mittelwert	VK%	SD
Level 1	10	36,2	0,7	0,27
Level 2	10	11,2	2,0	0,22

LITERATUR:

- Bassem MM. et al. An Update on Factor XI Structure and Function. Thromb. Res. 2018.

SYMBOLE:

Verwendete Symbole und Zeichen sind in der ISO-Norm 15223-1 gelistet. Das der Packung beiliegende Symbolerklärungs-Blatt ist zu beachten.

- [R1A] H315: Verursacht Hautreizungen.
H319: Verursacht schwere Augenreizung.
H335: Kann die Atemwege reizen.
H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.

- [R1B] H315: Verursacht Hautreizungen.
H319: Verursacht schwere Augenreizung.
H335: Kann die Atemwege reizen.

- [R2] H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.
H318: Verursacht schwere Augenschäden.
H360D: Kann das Kind im Mutterleib schädigen.