



# BIOPHEN™ Heparin LRT

REF 221011 R1 R2 4 x 7,5 mL

REF 221013 R1 R2 3 x 3 mL

REF 221015 R1 R2 4 x 5 mL

Chromogener Test zur Bestimmung der Anti-Faktor Xa-Aktivität von Heparinen, Heparin-Analoga und direkten Faktor Xa-Inhibitoren, mit gebrauchsfertigen Flüssigreagenzien



Vertrieb und Support:  
CooChrom Diagnostica GmbH  
www.coachrom.com | info@coachrom.com  
Tel. +43-1-236 222 1 | Fax +43-1-236 222 11  
Kostenfreie Nummern für Deutschland:  
Tel. 0800-24 66 33-0 | Fax 0800-24 66 33-3

## VERWENDUNGSZWECK:

BIOPHEN™ Heparin LRT (Liquid Reagent Technology) ist ein chromogener Test zur *In vitro*-Bestimmung der Anti-Faktor Xa-Aktivität von unfractioniertem bzw. niedermolekularem Heparin (UFH bzw. LMWH), Heparin-Analoga wie Danaparoid (Orgaran®) und Fondaparinux (Arixtra®), sowie direkten Faktor Xa-Inhibitoren (DiXa-I) wie Rivaroxaban (Xarelto®), Apixaban (Eliquis®) und Edoxaban (Lixiana®) unter Verwendung von substanzspezifischen oder Hybrid-Kalibrationskurven. Der Test ist als automatisierte oder manuelle Methode durchführbar. Alle Reagenzien liegen gebrauchsfertig in flüssiger Form vor (LRT, Liquid Reagent Technology).

## ZUSAMMENFASSUNG:

### Technisch:

Heparin ist ein sulfatiertes Polysaccharid mit hoher Affinität für Antithrombin (AT). Im Komplex mit Heparin entwickelt AT eine schnell wirkende und hohe inhibitorische Aktivität gegen gerinnungsaktive Serinesterasen wie Faktor IXa, Faktor Xa, Faktor XIa, Faktor XIIa und Thrombin<sup>1,2</sup>. LMWH und das Heparin-Analog Danaparoid (Orgaran®) hemmen Faktor Xa und Thrombin, während das Heparin-Analog Fondaparinux (Arixtra®) und DiXa-I wie z.B. Rivaroxaban (Xarelto®) selektive Faktor Xa-Hemmer sind. Anti-Faktor Xa-Teste sind daher die Methoden der Wahl zur Bestimmung von Heparinen und anderen Faktor Xa-Inhibitoren (Rivaroxaban, Apixaban, Edoxaban, Arixtra® und Orgaran®).

### Klinisch:

Heparine (UFH und LMWH) werden als Antikoagulant für therapeutische und prophylaktische Indikationen genutzt. Alternative Antikoagulantien (Orgaran® und Arixtra®) können in Spezialfällen genutzt werden. Die Bestimmung ihrer Spiegel im Patientenplasma erlaubt die Therapieüberwachung und die Anpassung ihrer Dosierung.

Rivaroxaban, Apixaban und Edoxaban sind direkte orale Antikoagulantien (DOAKs) und werden für die gleichen Indikationen genutzt. Auch wenn die Überwachung von mit DOAKs behandelten Patienten nicht notwendig ist, kann die Bestimmung ihrer Spiegel in bestimmten Fällen von Nutzen sein, besonders vor einem dringenden operativen Eingriff oder bei einem Verdacht auf Überdosierung (Blutungsrisiko).

### TESTPRINZIP:

BIOPHEN™ Heparin LRT ist eine einstufige kinetische Methode, die auf der Hemmung einer konstanten Menge zugesetzten Faktor Xa durch Heparine bzw. andere Faktor Xa-Inhibitoren in der Probe in Anwesenheit von endogenem AT und anschließender Spaltung eines Faktor Xa-spezifischen chromogenen Substrates (Sxa-11) durch den restlichen Faktor Xa basiert. Dabei wird der Farbstoff para-Nitroanilin (pNA) aus dem chromogenen Substrat freigesetzt.<sup>3</sup> Die Menge des freigesetzten pNA korreliert mit der Faktor Xa-Restaktivität. Die Farbentwicklung, gemessen bei 405 nm, ist damit umgekehrt proportional zur Anti-Faktor Xa-Aktivität von Heparinen bzw. anderen Faktor Xa-Inhibitoren in der Probe.

### Heparine und Analoga:

AT + Heparin → [AT•Heparin]

[AT•Hep.] + [FXa (Überschuss)] → [FXa•AT•Heparin] + [FXa (Rest)]

[FXa (Rest)] + Sxa-11 → Peptid + pNA

### Rivaroxaban / Apixaban / Edoxaban (DiXa-I):

[DiXa-I] + [FXa (Überschuss)] → [FXa•DiXa-I] + [FXa (Rest)]

[FXa (Rest)] + Sxa-11 → Peptid + pNA

### IM KIT ENTHALTENE REAGENZIEN:

**R1** Reagenz 1: Chromogenes Faktor Xa-Substrat (Sxa-11), Flüssigreagenz. Enthält Proclin.

**R2** Reagenz 2: Boviner Faktor Xa, Flüssigreagenz. Enthält Rinderserumalbumin, Dextransulfat<sup>4</sup> und in geringer Menge Natriumazid (0,9 g/l).

REF 221011 → R1 R2 Je 4 Flaschen mit je 7,5 mL

REF 221013 → R1 R2 Je 3 Flaschen mit je 3 mL

REF 221015 → R1 R2 Je 4 Flaschen mit je 5 mL

### ANMERKUNGEN UND WARNHINWEISE:

- Einige der in diesen Kits enthaltenen Reagenzien beinhalten Stoffe tierischen Ursprungs. Diese müssen mit größter Sorgfalt unter Beachtung der erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen und als potentiell infektiös behandelt werden.
- Natriumazid kann mit Blei- bzw. Kupferarmaturen unter Bildung hochexplorier Metallazide reagieren.
- Bei der Entsorgung sind die lokalen Entsorgungsrichtlinien zu befolgen.
- Nur Reagenzien aus Packungen mit identischer Chargennummer verwenden.
- Stabilitätsstudien für 3 Wochen bei 30°C haben gezeigt, dass die Packungen ohne Beeinträchtigung bei Raumtemperatur versendet werden können.
- Zur *In vitro*-Diagnostik in Laborumgebung.

### VORBEREITUNG DER REAGENZIEN:

**R1** **R2** Reagenzien sind gebrauchsfertig. Homogenisieren und direkt, unter Beachtung der Anwendungsanleitung, in den Analyseautomaten einlegen.

Bei der manuellen Methode vor Verwendung für 30 Minuten bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren und anschließend homogenisieren.

### LAGERUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN:

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

Stabilität der in der Originalflasche oder in einem geschlossenen Kunststoffbehälter gelagerten, geöffneten Reagenzien 1 und 2 unter der Voraussetzung, dass diese nicht kontaminiert wurden und keine Verdunstung erfolgte:

- 6 Monate bei 2-8°C.
- 14 Tage bei Raumtemperatur (18-25°C).
- Nicht einfrieren.
- On-Board-Stabilität: Siehe gerätespezifische Vorschrift des Analyseautomaten

Falls das Substrat eine Gelbfärbung aufweist, ist dies ein Zeichen von Kontamination. Die betroffene Flasche ist zu verwerfen und eine neue Flasche muss verwendet werden.

### ERFORDERLICHE MATERIALIEN, DIE NICHT IM KIT ENTHALTEN SIND:

#### Reagenzien:

- Aqua dest.
- 20% Essigsäure oder 2% Zitronensäure (Endpunkt-Methode).
- Physiologische Kochsalzlösung (0,9% NaCl).
- Optional: Tris-NaCl-EDTA-Puffer, pH 7,85 (Art.Nr. AR032A/K): Spezial-Verdünnungspuffer zur Reduzierung von Heparin-Interferenzen bei Messung von direkten Xa-Inhibitoren.
- Kalibrations- und Kontrollplasmen mit bekannter Konzentration wie z.B.:

	UFH	LMWH	Orgaran®	Arixtra®
Kalibrator	222001 / 222301	222001	222201	222501
Kontrolle	223101 / 224101 / 223901	223001 / 223801 / 224201 / 223701 / 224301 / 224401	223501	224001

	Rivaroxaban / Rivaroxaban niedrig	Apixaban / Apixaban niedrig	Edoxaban / Edoxaban niedrig
Kalibrator	222701 / 226001	226201 / 226101	226501 / 226401
Kontrolle	224501 / 225101	225301 / 225201	225501 / 225401

Es ist auch die spezifische Anwendungsanleitung des verwendeten Analyseautomaten zu beachten.

#### Geräte:

- Photometer oder Gerinnungsautomaten zur Bestimmung chromogener Teste.
- Stoppuhr, geeichte Pipetten, silikoniertes Glas- oder Plastikröhrchen oder Mikrotiterplatte

### PROBENGEWINNUNG:

Blut (9 Volumenteile) wird vorsichtig in 0,109 M Citrat (3,2%) als Antikoagulant (1 Volumenteile) abgenommen. Die Blutabnahme erfolgt durch Venenpunktion. Spezifische Abnehmeröhrchen für die Testung von unfractioniertem Heparin, z.B. CTAD (Citrat, Theophyllin, Adenosin und Dipyridamol)-Röhrchen können genutzt werden. Das erste Röhrchen ist zu verwerfen.

Die Gewinnung und Lagerung der Proben hat gemäß aktueller lokaler Vorschriften zu erfolgen (Vorschriften für die Probengewinnung, -handhabung und -lagerung sind im CLSI Dokument H21-A5<sup>10</sup> veröffentlicht).

Hinsichtlich der Lagerung der Plasmaproben sind die Referenzen zu beachten.<sup>10,11,12,13</sup>

### TESTDURCHFÜHRUNG:

BIOPHEN™ Heparin LRT wurde als kinetische Methode zur Durchführung auf Gerinnungsautomaten entwickelt und kann auch als Endpunkt-Methode durchgeführt werden. Der Test wird bei einer Temperatur von 37°C durchgeführt, die Farbentwicklung bei 405 nm gemessen. Um die homogene Reaktivität für UFH und LMWH zu gewährleisten, muss der Test in jedem Fall analog zum nachfolgend beschriebenen manuellen Testschema durchgeführt werden.

**Automatisierte Methoden:** Adaptionen für verschiedene Gerinnungsautomaten sind auf Anfrage erhältlich. Die Besonderheiten der jeweiligen Anwendung und spezifische Warnhinweise für den jeweiligen Automaten sind zu beachten.

#### Manuelle Methode:

1) Probenvorbereitung: Die Kalibrations- und Kontrollplasmen werden gemäß den jeweiligen Packungsbeilagen rekonstituiert und wie in der untenstehenden Tabelle beschrieben verdünnt. Anschließend sollten innerhalb von einer Stunde die Kalibrationskurve erstellt und die Kontrollen getestet werden. Die Zielwerte für Kalibrations- und Kontrollplasmen finden sich im chargenspezifischen Zertifikat, das jeder Packung beiliegt. Die Plasmaproben werden ebenfalls gemäß nachstehender Tabelle verdünnt und so bald wie möglich getestet:

Produkt	Art.Nr. Kalibrator	Art.Nr. Kontrolle	Verdünnung in 0,9% NaCl*
LMWH	222001	223001 / 223801 / 224201 / 223701 / 224301 / 224401	1:2
UFH	222001 / 222301	223101 / 224101 / 223901	1:2
Arixtra®	222501	224001	1:2
Orgaran®	222201	223501	1:2
Rivaroxaban	222701	224501	1:10
Rivaroxaban niedrig	226001	225101	1:3
Apixaban	226201	225301	1:15
Apixaban niedrig	226101	225201	1:3
Edoxaban	226501	225501	1:10
Edoxaban niedrig	226401	225401	1:2

\* Bei der Bestimmung von Rivaroxaban, Apixaban und Edoxaban kann alternativ unser Spezial-Verdünnungspuffer zur Eliminierung von Heparin-Interferenzen verwendet werden (Tris-NaCl-EDTA-Puffer, pH 7,85, Art.Nr. AR032A/K).

2) Testdurchführung: In ein bei 37°C vorinkubiertes Teströhrchen bzw. Mikrotiterplatte wird nach folgendem Schema zugegeben:

	LMWH, UFH, Arixtra®, Orgaran®		Rivaroxaban, Apixaban, Edoxaban
	Mikrotiterplatte	Teströhrchen	Teströhrchen
Probe, Kalibrator oder Kontrolle (verdünnt)	30 µL	100 µL	100 µL
<b>[R1]</b> Substrat SXa-11, vorinkubiert bei 37°C	75 µL	250 µL	250 µL
<i>Mischen und für 2 Minuten bei 37°C inkubieren, dann zugeben:</i>			
<b>[R2]</b> Faktor Xa, vorinkubiert bei 37°C	75 µL	250 µL	250 µL
<i>Mischen und bei 37°C inkubieren für exakt:</i>			
	60 Sekunden	60 Sekunden	120 Sekunden
<i>Stoppen der Reaktion durch Zugabe von:</i>			
Zitronensäure (2%) oder Essigsäure (20%)	100 µL	350 µL	400 µL
<i>Mischen und Messung der Absorption bei 405nm gegen den entsprechenden Probenleerwert.</i>			

Die gebildete Gelbfärbung ist 2 Stunden stabil. Der Probenleerwert wird durch Mischen der Reagenzien in der umgekehrten Testreihenfolge erhalten, d.h. Zitronensäure (2%) oder Essigsäure (20%), Faktor Xa (R2), Substrat SXa-11 (R1), verdünntes Plasma. Die Absorption des Probenleerwertes bei 405 nm ist von der Absorption des entsprechenden Probenwertes abziehen.

Bei lipämischem, ikterischem oder hämolysiertem Plasma, oder bei unüblicher Färbung, ist eine Leerprobe mitzuführen.

Die Messung kann auch kinetisch erfolgen, indem die Änderung der Absorption bei 405 nm zwischen 10 und 35 Sekunden nach Zugabe des Substrats aufgezeichnet wird. In diesem Fall ist es nicht erforderlich, den Probenleerwert abziehen oder die Reaktion zu stoppen. Falls die verwendete Methode andere Reagenzvolumenta als die oben beschriebenen erfordert, müssen die Verhältnisse der Reagenzkonzentrationen und Reagenzvolumenta genau eingehalten werden, um eine optimale Testleistung zu gewährleisten. Der Anwender ist für die Validierung jeglicher Änderungen und deren Auswirkungen auf die Ergebnisse verantwortlich.

#### **KALIBRATION:**

Spezielle Kalibratoren, die den dynamischen Bereich des Tests abdecken, sind bei HYPHEN BioMed erhältlich (siehe Abschnitt ERFORDERLICHE MATERIALIEN, DIE NICHT IM KIT ENTHALTEN SIND) und können für die Erstellung der Kalibrationskurve verwendet werden.

#### **QUALITÄTSKONTROLLE:**

Die Verwendung von Qualitätskontrollplasmen ermöglicht bei Verwendung der gleichen Reagenzchargen die Validierung der Methodenkonformität 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, Wartungsarbeiten am Analysenautomaten oder wenn die Kontrollen außerhalb des Vertrauensbereiches liegen, muss eine Neukalibration erfolgen. Jedes Labor sollte die Richtigkeit der Zielwerte und Akzeptanzbereiche unter den eigenen Testbedingungen überprüfen.

#### **ERGEBNISSE:**

- Bei der Endpunktmethode ist die Konzentration auf der x-Achse (Abszisse / Lin) gegen die korrespondierende Absorption (A405) auf der y-Achse (Ordinate) aufgetragen:
  - Rivaroxaban niedrig, Edoxaban, Arixtra®, Orgaran®, UFH und LMWH: Lin-Log-Skala nutzen (ng/mL)
  - Rivaroxaban, Apixaban und Edoxaban niedrig: Lin-Lin-Skala nutzen (ng/mL)
  - Bei der kinetischen Methode ist ΔOD 405nm anstatt OD 405nm zu verwenden.
- Wenn die Standardverdünnung verwendet wird, wird die Heparin-Konzentration in der Probe direkt von der Kalibrationskurve abgelesen.
- Falls andere Verdünnungen genutzt wurden, wird die gemessene Konzentration mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multipliziert.
- Die Ergebnisse werden für UFH/LMWH in Internationalen Einheiten/mL (IE/mL) angegeben, für Orgaran® in E/mL, für Arixtra® in µg/mL und für Rivaroxaban, Apixaban und Edoxaban in ng/mL.
- Die Ergebnisse sind orientiert am klinischen und biologischen Zustand des Patienten zu interpretieren.

#### **EINSCHRÄNKUNGEN DES TESTES:**

- Um eine optimale Testleistung 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. Plasmen, die Gerinnsel oder Anzeichen für Kontaminationen aufweisen, sind zu verworfen.
- Aktivierung der Probe während der Blutentnahme oder Plasmagewinnung kann zur Freisetzung von Plättchenfaktor-4 führen, welcher Heparin inhibieren kann. Der Test wurde konzipiert, um die Beeinflussung durch Anti-Heparin-Substanzen im Plasma, insbesondere durch PF4, zu minimieren.
- Plasmaproben mit einer AT-Konzentration von <50% können zu fehlerhaft niedrigen Heparin-, Arixtra® oder Orgaran®-Ergebnissen führen. In diesem Fall muss eine modifizierte Methode unter Verwendung einer exogenen AT-Quelle durchgeführt werden. Die zusätzliche Bestimmung von AT kann hilfreich sein. Hohe AT-Werte (>150%) können zu leicht erhöhten Ergebnissen führen.
- Proben mit sehr hoher Konzentration können auch mit gepooltem Normalplasma verdünnt werden.
- Fälschlich niedrige Bestimmungen des Heparin-Spiegels und der Heparin-Resistenz wurden bei einigen Patienten mit Amyloidose beobachtet<sup>3</sup>.
- Wird eine gemeinsame Kalibrationskurve für LMWH und UFH verwendet, sollte diese mit den entsprechenden LMWH/UFH-Kontrollplasmen überprüft werden.

#### **ERWARTETE WERTE:**

Anti-Xa-Spiegel sind in normalen Plasmen üblicherweise nicht vorhanden. Um die richtige Wirksamkeit zusammen mit dem niedrigsten Blutungsrisiko zu erreichen, muss die Heparin-Dosierung in dem vom jeweiligen Hersteller empfohlenen therapeutischen Bereich liegen<sup>7,8,11</sup>. Normalbereich, therapeutischer Bereich und Blutungsrisikobereich sind für das jeweilige Medikament anhand der aktuellen Herstellerempfehlungen festzulegen.

#### **LEISTUNGSMERKMALE:**

- Die untere Grenze und der Messbereich sind durch das verwendete Analysesystem definiert.**
- Der Kalibrationsbereich im normalen Messbereich beträgt für Rivaroxaban/Edoxaban/Apixaban etwa 0 - 600 ng/mL
- Der Kalibrationsbereich im niedrigen Messbereich beträgt für Rivaroxaban etwa 0 - 100 ng/mL und für Apixaban/Edoxaban 0 - 120 ng/mL.
- Der Kalibrationsbereich beträgt etwa 0 bis 1,5 IE/mL für UFH, 0 bis 1,75 IE/mL für LMWH, 0 bis 1,6 µg/mL für Arixtra® und 0 bis 1,75 E/mL für Orgaran®.
- Die enzymatische Reaktion verläuft rasch und ermöglicht so die hohe Sensitivität des Tests.
- Leistungsstudien wurden intern unter Einsatz einer Reagenzcharge auf der Sysmex CS-Serie durchgeführt. Sie wurden mittels Qualitätskontrollen des Labors mit mindestens 10 Testserien pro Tag ausgewertet und mit mindestens einer Wiederholung für jedes Kontrollniveau. Die folgenden Daten wurden erhalten:

Probe	Intra-Assays				Inter-Assays			
	n	Mittelwert	VK%	SD	n	Mittelwert	VK%	SD
UFH Level 1	10	0,19 IE/mL	2,8	0,01	20	0,20 IE/mL	5,7	0,01
UFH Level 2	10	0,56 IE/mL	0,9	0,01	20	0,57 IE/mL	1,3	0,01
LMWH Level 3	10	0,78 IE/mL	1,0	0,01	20	0,80 IE/mL	1,1	0,01
LMWH Level 4	10	1,22 IE/mL	0,6	0,01	20	1,18 IE/mL	1,2	0,02
Rivaroxaban	30	317 ng/mL	0,9	2,80	20	310 ng/mL	1,2	3,60
Rivaroxaban (niedrig)	30	81 ng/mL	0,7	0,54	22	85 ng/mL	4,1	3,51
Apixaban	30	207 ng/mL	1,2	2,53	20	212 ng/mL	2,6	5,58
Apixaban (niedrig)	30	85 ng/mL	1,2	0,98	20	84 ng/mL	2,2	1,82
Edoxaban	40	314 ng/mL	0,9	2,82	120	306 ng/mL	1,5	4,68
Edoxaban (niedrig)	40	85 ng/mL	1,8	0,70	120	86 ng/mL	3,8	3,22
Orgaran®	10	1,00 E/mL	0,5	0,01	20	1,00 E/mL	0,9	0,01
Arixtra®	10	1,18 µg/mL	0,6	0,01	20	1,19 µg/mL	0,6	0,01

- Korrelation mit der Referenzmethode (LCMS: MS vs. BIOPHEN™ Heparin LRT, Edoxaban):  
**Sysmex CS-5100: n = 144 y = 0,98x + 2,43 r = 0,998**  
 Für andere Präparate ist die spezifische Anwendungsanleitung des verwendeten Analyseautomaten zu beachten.
- Interferenzen: Siehe spezifische Anwendungsanleitung des jeweiligen Analyseautomaten.

#### **REFERENZEN:**

- Hemker HC, Beguin S. The mode of action of heparin In-vitro and in-vivo. Adv Exp Med Biol (1992).
- Leslie B et al. Investigation of the anticoagulant mechanism of a covalent antithrombin-heparin complex J Biol Chem (2000).
- Marlowe CK et al. Design synthesis and structure activity relationship of a series of arginine aldehydes factor Xa inhibitors. Part 1: structure based on the (D)-Arg-Gly-Arg tripeptide sequence. Bioorg Med Chem Lett (2000).
- Lyon SG et al. Modification of an Amidolytic Heparin Assay to Express Protein-Bound Heparin and to Correct for the Effect of Antithrombin III Concentration. Thromb Hemost (1987)
- Christiansen J and Lindqvist B. Heparin resistance in amyloidosis. Acta Med Scand (1967)
- Holm HA et al. Heparin assays and bleeding complication in deep venous thrombosis with particular reference retroperitoneal bleeding. Thromb Haemost (1985).
- Shannon M et al. Treatment of venous thromboembolism. Thromb Haemost (1999).
- Castellone DD and Van Cott EM. Laboratory monitoring of new anticoagulants. Am J Hematol. (2010).
- Gray E. et al. Heparin and low-molecular-weight heparin. Thromb Haemost. (2008)
- CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". (2008)
- Douxfils J. et al. Non-VKA Oral Anticoagulants: Accurate Measurement of Plasma Drug. BioMed Research International. 2015.
- Mauge L. and Alhenc-Gelas M. Stabilité pré-analytique des paramètres de la coagulation: revue des données disponibles. Ann Biol Clin. (2014)
- Birri N et al. Stability of low molecular weight heparin anti-factor Xa activity in citrated whole blood and plasma. Br J Haematol (2011).

#### **SYMBOLE:**

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

**[R1]:** H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen.