

**BIOPHEN™ Faktor XIII****REF 227005****R1 3 x 4 mL, R2 3 x 5 mL**

Chromogener Test zur Bestimmung der Faktor XIII-Aktivität



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 XIII ist ein chromogener Testkit zur quantitativen *in-vitro*-Bestimmung der Faktor XIII (FXIII)-Aktivität in humanem Citratplasma.

ZUSAMMENFASSUNG:**Technisch:**

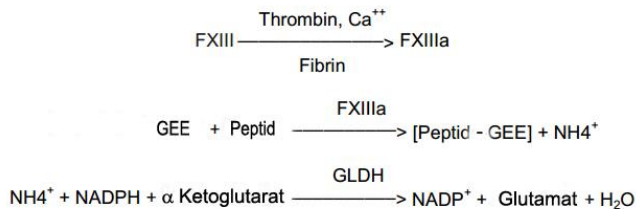
FXIII ist eine Transglutaminase, die als A₂B₂ Tetramer mit einer Konzentration von 14 bis 28 mg/L im Plasma zirkuliert, wobei die A-Untereinheit die funktionale Form ist.² Bei Aktivierung durch Thrombin und Calcium zu FXIIIa trägt es zur Fibrinquervernetzung und Stabilisierung des Gerinnsels im letzten Schritt der Gerinnungskaskade bei.

Klinisch:

Ein FXIII-Mangel kann angeboren oder durch erhöhten Verbrauch oder das Vorhandensein von Autoantikörpern erworben sein. Niedrige FXIII-Spiegel werden mit Blutungskomplikationen in Situationen wie Trauma oder Operationen assoziiert. FXIII ist auch in anderen Prozessen wie Wundheilung und Erhaltung einer Schwangerschaft beteiligt.^{1,2,3} Die Bestimmung der FXIII-Aktivität in humanem Plasma hilft bei der Diagnose eines angeborenen oder erworbenen FXIII-Mangels.

TESTPRINZIP:

FXIII wird in der Probe durch Thrombin in Anwesenheit von Calcium in den aktivierten FXIII (FXIIIa) umgewandelt.⁴ Während das lösliche Fibrin, das ebenfalls durch Thrombinaktivität gebildet wird, die Reaktion beschleunigt, verhindert ein Anti-Polymerisationspeptid die Gerinnungsbildung. Die FXIIIa-Transglutaminase-Aktivität zwischen einem synthetischen Peptidsubstrat und Glycinethylester (GEE) führt zur Bildung von Ammoniak (NH₄⁺). In Gegenwart von Ammoniak und Alpha-Ketoglutarat wandelt die Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) NADPH zu NADP⁺ um. Diese Umwandlung kann bei 340 nm gemessen werden. Die Absorptionsabnahme bei 340 nm ist proportional zur FXIII-Konzentration der Probe.

**IM TESTKIT ENTHALTENE REAGENZIEN:**

- R1** Thrombin-Reagenz, lyophilisiert, enthält BSA.
- R2** Nachweis-Reagenz, lyophilisiert, enthält BSA und GEE.
- R1** 3 Flaschen mit je 4 mL
- R2** 3 Flaschen mit je 5 mL

ANMERKUNGEN UND WARNHINWEISE:

- Für die Herstellung der Reagenzien wird Material tierischen Ursprungs verwendet. Sämtliche Produkte biologischen Ursprungs müssen mit allen erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen und als potenziell infektiös gehandhabt werden.
- 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.
- Dieses Produkt ist zur *in-vitro*-Diagnostik in professionellem Laborgebrauch vorgesehen.

VORBEREITUNG DER REAGENZIEN:

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

R1 Den Inhalt jeder Flasche mit exakt **4 mL aqua dest.** rekonstituieren.

R2 Den Inhalt jeder Flasche mit exakt **5 mL aqua dest.** rekonstituieren.

Bis zur vollständigen Auflösung des Inhalts gut durchmischen und dabei Schaumbildung vermeiden, gemäß Applikationsanleitung auf den Gerinnungsautomaten laden. Bei der manuellen Methode für 30 Minuten bei Raumtemperatur (18-25°C) stabilisieren lassen, vor dem 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.

R1 R2 Stabilität des geschlossen gelagerten Reagenz nach Rekonstitution unter der Voraussetzung, dass dieses nicht kontaminiert wurde und keine Verdunstung erfolgte:

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

* Kann einmalig gefroren und aufgetaut werden, nach dem Auftauen sofort verwenden.

ERFORDERLICHE MATERIALIEN, DIE NICHT IM TESTKIT ENTHALTEN SIND:**Reagenzien:**

- Aqua dest.
- Physiologische Kochsalzlösung (0,9% NaCl)
- Kalibrations- und Kontrollplasma mit bekannter FXIII-Konzentration, die auf den internationalen Standard für FXIII im Plasma rückführbar sind. Z.B. BIOPHEN™ Kalibrationsplasma (Art.Nr. 222101), BIOPHEN™ Normal Kontrollplasma (Art.Nr. 223201) und BIOPHEN™ Abnormal Kontrollplasma (Art.Nr. 223301).

Geräte:

- Spektrophotometer oder Gerinnungsautomat für chromogene Tests mit Wellenlänge **340 nm**
- Stoppuhr, geeichte Pipetten

PROBENGEWINNUNG:

Blut (9 Volumenteile) wird vorsichtig mit 0,109 M Citrat (3,2%) als Antikoagulant (1 Volumenteil) durch Venenpunktion abgenommen. Das erste Röhrchen ist zu verwerfen. Die Gewinnung, Vorbereitung und Lagerung der Proben hat gemäß aktuellen lokalen Vorschriften zu erfolgen (Vorschriften für die Probengewinnung, -handhabung und -lagerung sind im CLSI-Dokument H21-A5⁵ veröffentlicht). In Bezug auf die Lagerung des Plasmas sind die Referenzen zu beachten.⁵

TESTDURCHFÜHRUNG:

Der Testkit BIOPHEN™ Faktor XIII kann als kinetische Methode zur Durchführung auf Gerinnungsautomaten verwendet werden. Der Test ist bei einer Temperatur von **37°C** durchzuführen, die Farbentwicklung ist bei **340 nm** zu messen.

Testmethode:

1) Kalibratoren und Kontrollen gemäß deren Packungsbeilage rekonstituieren. Zur Vorbereitung der Kalibrationskurve (0 bis ca. 150% FXIII) den Kalibrator mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnen. Die **1:2 Verdünnung in physiologischer Kochsalzlösung (siehe unten stehende Tabelle)** entspricht per Definition bei gepooltem Normalplasma 100% bzw. C% FXIII bei einem handelsüblichen Kalibrator.

Kalibrator % FXIII	C	C:2	C:4	C:8	0
Menge Kalibrator	500 µL	250 µL	125 µL	60 µL	0 µL
Menge physiolog. Kochsalzlösung	0 µL	250 µL	375 µL	420 µL	500 µL

Den Punkt 3C/2 (oder 150% bei gepooltem Normalplasma) erhält man durch hinzupipettieren von 30 µL Kalibrator und 10 µL physiologischer Kochsalzlösung (s. unten stehendes Applikationsbeispiel).

2) Die Kalibrationskurve ist zu erstellen und mittels Qualitätskontrollen zu überprüfen. Es sind die genauen Konzentrationen der Kalibratoren und Kontrollen zu beachten, die für die jeweilige Charge auf dem im Kit enthaltenen Zertifikat vermerkt sind.

3) Die folgende Tabelle zeigt ein Applikationsbeispiel (CS-Serie). In ein bei **37°C** inkubiertes Kunststoffröhrchen nach folgendem Schema hinzufügen (direkt durch den Gerinnungsautomaten durchgeführt):

Reagenz	Menge
Proben, Kalibrator oder Kontrolle	20 µL
Physiologische Kochsalzlösung	20 µL
R1 Thrombin-Reagenz, präinkubiert bei 37°C	80 µL
Mischen und exakt 110 Sekunden bei 37°C inkubieren, dann zugeben:	
R2 Nachweis-Reagenz, präinkubiert bei 37°C	100 µL
Mischen, bei 37°C inkubieren, Messen der Absorption (kinetische Methode) (OD)/min bei 340 nm zwischen 200 und 500 Sekunden .	

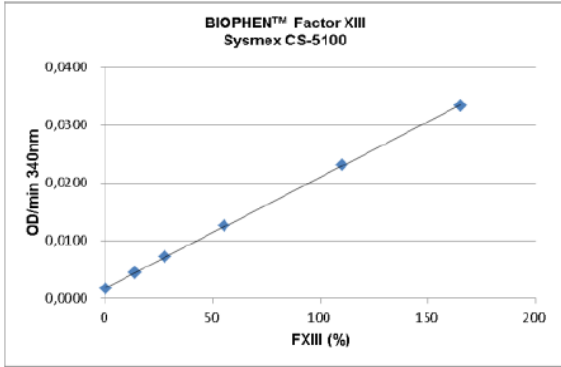
Der Inhalt dieses Dokuments dient lediglich als Beispiel. Die aktuellste Version finden Sie in unserem geschützten Downloadbereich unter <https://www.coachrom.com/insert>. Bei Bedarf senden wir sie Ihnen aber auch gerne zu, bitte anfordern unter: info@coachrom.com

Falls die verwendete Methode andere Reagenzvolumina als die oben beschriebenen erfordert, müssen die Verhältnisse der Reagenzkonzentrationen und Reagenzvolumina genau eingehalten werden, um eine optimale Testleistung zu gewährleisten. Der Anwender ist für die Validierung jeglicher Änderungen und deren Auswirkungen auf die Ergebnisse verantwortlich.

Anleitungen für Gerinnungsautomaten sind auf Anfrage erhältlich. Die gerätespezifische Adaptionanleitung und Warnhinweise sind zu beachten.

KALIBRATION:

Der BIOPHEN™ Faktor XIII Test kann für die Messung der FXIII-Aktivität im Plasma kalibriert werden. Die nachfolgend gezeigte Kalibrationskurve (erhalten auf dem Sysmex CS-5100) dient lediglich als Beispiel. Es darf ausschließlich die für die jeweilige Analysenserie gemessene Kalibrationskurve verwendet werden.



QUALITÄTSKONTROLLE:

Die Verwendung von Qualitätskontrollplasmen 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 die Richtigkeit der Zielwerte und Akzeptanzbereiche unter den eigenen Testbedingungen überprüfen.

ERGEBNISSE:

- Mit der Sysmex CS-Serie wird die Kalibrationskurve in Lin-Lin-Skala erstellt, indem die FXIII-Konzentration (in %) auf der x-Achse gegen die korrespondierende Absorption (OD/min) auf der y-Achse aufgetragen wird.
- Sofern die Standardverdünnung verwendet wird, leitet sich die FXIII-Konzentration in der Probe direkt von der Kalibrationskurve ab.
- Die Ergebnisse sind orientiert am klinischen und biologischen Zustand des Patienten zu interpretieren.

EINSCHRÄNKUNGEN DES TESTES:

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

ERWARTETE WERTE:

Der Referenzbereich wurde bei gesunden, erwachsenen Personen (n=120) mit Sysmex CS-5100 zwischen 60 und 146% ermittelt (mittlere 90%, 95. Perzentil). Jedes Labor sollte jedoch seinen eigenen Normalbereich bestimmen.

LEISTUNGSMERKMALE:

- Die untere Nachweisgrenze ist durch das verwendete Analysesystem definiert (Sysmex CS-5100: <0,5%).
- Der Messbereich hängt vom verwendeten Analysesystem ab (bei der Sysmex CS-Serie beträgt der Messbereich 5 bis 300% FXIII, ohne Weiterverdünnung ist der Test von 5 bis 150% linear).
- Leistungsstudien wurden intern unter Einsatz einer Reagenzcharge auf dem Sysmex CS-5100 durchgeführt. Sie wurden mittels Qualitätskontrollen des Labors über einen Zeitraum von 5 Tagen ausgewertet mit 2 Testserien pro Tag und innerhalb einer Serie für jedes Kontrollniveau dreifach. Die folgenden Daten wurden erhalten:

Kontrolle	Intra-Assay				Inter-Assay			
	n	Mittelwert	VK%	SD	N	Mittelwert	VK%	SD
Normal	40	102,3	2,7	2,8	30	102,6	1,5	1,5
Abnormal	40	28,8	4,9	1,4	30	31,2	1,9	0,6

- Korrelation: Berichrom FXIII von Siemens vs. BIOPHEN™ Faktor XIII von Hyphen BioMed auf Sysmex CS-2500:

$$n = 102 \quad y = 0,90x - 5,84 \quad r = 0,989$$

- Interferenzen: Auf dem Sysmex CS-5100 wurde keine Interferenz festgestellt mit: Hämoglobin bis zu 250 mg/dL, Bilirubin (F/C) bis zu 60 mg/dL, Intralipiden bis zu 250 mg/dL, Fibrinogen von 0,8 bis 6 g/L, Heparinen (UFH/NMH) bis zu 2 IE/mL, Ammonium bis zu 0,5 mM sowie Dabigatran, Rivaroxaban, Apixaban und Edoxaban bis zu 400 ng/mL.

Es ist zusätzlich die spezifische Anwendungsanleitung des verwendeten Automaten zu beachten.

REFERENZEN:

1. Menegatti M. *et al.*, Minimal factor XIII activity level to prevent major spontaneous bleeds. J Thromb Haemost. 2017.
2. Komaromi I. *et al.*, Factor XIII, novel structural and functional aspects. J Thromb Haemost. 2011.
3. Schroeder V and Kohler HP. New developments in the area of factor XIII. J Thromb Haemost. 2013.
4. Karpati L. *et al.* A modified, optimized kinetic photometric assay for the determination of blood coagulation factor XIII activity in plasma. Clin Chem. 2000.
5. CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008.

SYMBOLE:

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

R2 H318: Verursacht schwere Augenschäden.

Änderungen im Vergleich zur Vorversion