



BIOPHEN™ Faktor VIII (bovines Reagenz R1)

REF 227102

R1 **R2** **R3** 2 Flaschen mit je 2,5 mL

R4 4 Flaschen mit je 20 mL



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 VIII (bovines Reagenz 1) ist ein chromogener Testkit zur quantitativen *in-vitro*-Bestimmung der Faktor VIII (FVIII)-Aktivität in humanem Citratplasma oder FVIII-Konzentraten mit automatisierter Methode. Er dient dem Nachweis eines FVIII-Mangels, der Überwachung einer Ersatztherapie (bis auf Emicizumab) bei Patienten mit einem Verdacht auf angeborenen oder erworbenen FVIII-Mangel sowie der Einschätzung der Wirksamkeit von FVIII-Konzentraten. Dieses Produkt ist zur *in-vitro*-Diagnostik in professionellem Laborgebrauch vorgesehen.

ZUSAMMENFASSUNG:

Technisch¹⁻⁶:

FVIII ist ein heterodimerisches Glykoprotein, das aus einer Metallionen-gebundenen leichten Kette und einer schweren Kette besteht und im Plasma in einer Konzentration von ca. 200 ng/mL vorliegt. FVIII wird durch die Komplexbildung mit von Willebrand Faktor (vWF), die seine Halbwertszeit im Blutkreislauf stark erhöht, stabilisiert. Aktivierter FVIII verstärkt die Aktivierung von Faktor X in Anwesenheit von Faktor IXa, Phospholipiden und Calciumionen mehr als 100.000-fach.

Klinisch⁵⁻¹¹:

Hämophilie A ist eine X-chromosomal-rezessive Störung, die zu einem Mangel an funktionalem FVIII führt. Die Blutungsneigung ist direkt von der FVIII-Aktivität abhängig. Ein Mangel wird als leicht (5% bis 40% FVIII), moderat (1% bis 5% FVIII) oder stark (<1% FVIII) klassifiziert. Zur Behandlung der Hämophilie A wird FVIII fortlaufend (prophylaktisch) oder episodisch (bei Bedarf) ersetzt. Niedrige FVIII-Spiegel liegen beim von Willbrand-Syndrom, im Falle einer disseminierten intravasalen Gerinnung (DIC) oder eines erworbenen FVIII-Inhibitors vor. Erhöhte Spiegel werden bei Entzündungs- und Lebererkrankungen beobachtet und stellen einen Risikofaktor für venöse Thrombosen dar.

TESTPRINZIP:

BIOPHEN™ Faktor VIII (bovines Reagenz 1) ist ein Testkit zur chromogenen Bestimmung der Cofaktor-Aktivität von FVIII. Thrombin-aktivierter FVIII (FVIIIa) bildet einen Enzymkomplex mit Faktor IXa (FIXa), der in konstanter und überschüssiger Menge zugegeben wird. In Gegenwart von Phospholipiden (PLPs) und Calcium (Ca²⁺) aktiviert dieser Enzymkomplex ebenfalls in konstanter und überschüssiger Menge zugesetzten Faktor X (FX) zu Faktor Xa (FXa), der in der Folge das FXa-spezifische chromogene Substrat Sxa-11 spaltet. Die aus diesem Substrat freigesetzte Menge an para-Nitroanilin (pNA) ist direkt proportional zur FVIII-Aktivität in der Probe und wird durch Messung der Absorption bei 405 nm bestimmt. Der Testkit BIOPHEN™ Faktor VIII (bovines Reagenz 1) ist eine Variante des BIOPHEN™ Faktor VIII (Art.Nr. 221402/221406) und enthält Faktor X-Reagenz bovines Ursprungs, das insensitiv auf Emicizumab ist.

IM TESTKIT ENTHALTENE REAGENZIEN:

- R1** Boviner Faktor X, ca. 7,5 µg/mL, lyophilisiert. Enthält einen Fibrin-Polymerisations-Inhibitor, BSA und Stabilisatoren.
- R2** Aktivierungsreagenz, humaner Faktor IIa (ca. 1 NIH/mL), humaner Faktor IXa (ca. 2 µg/mL), synthetische Phospholipide (1:40 Verdünnung), lyophilisiert. Enthält BSA, Calciumchlorid Dihydrat, und Stabilisatoren.
- R3** Chromogenes Substrat Sxa-11, Faktor Xa-spezifisches chromogenes Substrat (CS-11(32)), ca. 6 mg/mL, lyophilisiert. Enthält Stabilisatoren und EDTA-Dinatrium-Salz. H373: Kann die Organe schädigen bei längerer oder wiederholter Exposition.
- R4** Tris-BSA-Puffer, flüssig. Enthält BSA, Alpha-1-Glykoprotein (AGP), Stabilisatoren und Konservierungsmittel.

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.
- Bei Entsorgung sind die lokalen Richtlinien zu befolgen.
- Nur Reagenzien aus Packungen mit identischer Chargennummer verwenden.

VORBEREITUNG DER REAGENZIEN:

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

- R1** **R2** **R3** Den Inhalt jeder Flasche mit exakt 2,5 mL aqua dest. rekonstituieren.

Bis zur **vollständigen Auflösung** des Inhalts gut durchmischen und dabei Schaumbildung vermeiden, gemäß Applikationsanleitung auf den Gerinnungsautomaten laden. Es ist zu prüfen, ob sich keine Feststoffe mehr am Flaschenboden von **R3** befinden. Falls nötig, ist das Substrat mindestens 15 Minuten bei 37°C zu inkubieren, dabei gelegentlich zu schütteln und vor Gebrauch zu homogenisieren.

R4 Gebrauchsfertig. Durchmischen und dabei Schaumbildung vermeiden, gemäß Applikationsanleitung auf den Gerinnungsautomaten laden.

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** **R3** **R4** Stabilität des geschlossen gelagerten Reagenz nach Rekonstitution unter der Voraussetzung, dass dieses nicht kontaminiert wurde und keine Verdunstung erfolgte:

- **72 Stunden** bei 2-8°C
- **2 Monate** bei ≤ -20°C
- **On Board-Stabilität – siehe gerätespezifische Applikation**

Eine Kombination unterschiedlicher Lagerungsmethoden wird nicht empfohlen.

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

ERFORDERLICHE MATERIALIEN, DIE NICHT IM TESTKIT ENTHALTEN SIND:

- Kalibrationsplasma (z.B. BIOPHEN™ Kalibrationsplasma, Art.Nr. 222101)
- Normal- und Abnormalkontrollplasmen (z.B. BIOPHEN™ Normal Kontrollplasma, Art.Nr. 223201, und BIOPHEN™ Abnormal Kontrollplasma, Art.Nr. 223301)
- Für eine Kalibration im niedrigen Bereich ist der Kalibrator mit FVIII-Mangelplasma zu verdünnen (Art.Nr. DP040A / DP040K).
- Gerinnungsautomat für chromogene Tests, z.B. Sysmex CS-Serie
- Labormaterialien

PROBENGEWINNUNG:

Blut (9 Volumenteile) wird vorsichtig mit 0,109 M Citrat (3,2%) als Antikoagulant (1 Volumenteil) durch Venenpunktion abgenommen. 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-A5¹² veröffentlicht). In Bezug auf die Lagerung des Plasmas sind die Referenzen zu beachten.^{12,13,14}

TESTDURCHFÜHRUNG:

Für den niedrigen Bereich sind die 6 Kalibrationspunkte mit FVIII-Mangelplasma vorzuverdünnen, um vor dem Laden der Reagenzien auf den Automaten den Kalibrationsbereich von ca. 0,9% bis 28% zu erhalten.

HYPHEN BioMed stellt Applikationsanleitungen für Gerinnungsautomaten zur Verfügung. Diese enthalten automaten- und testspezifische Informationen zu Anwendung und Testleistung, welchen Vorrang vor den Informationen in dieser Gebrauchsanleitung einzuräumen ist.

Bei FVIII-Konzentraten ist die Probe (hoher Bereich) mit **R4** vorzuverdünnen.

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:

- Sofern die Standardverdünnung verwendet wird, leitet sich die FVIII-Konzentration in % in der Probe direkt von der Kalibrationskurve ab.
- Bei FVIII-Konzentraten wird die gemessene Konzentration mit dem entsprechenden Vorverdünnungsfaktor multipliziert.
- Inter-Chargen-Variation für 3 untersuchte Chargen: VK ≤ 10%
- 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.
- Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, Modifikationen in Bezug auf diese Gebrauchsanweisung oder eine Verwendung der Reagenzien auf Gerinnungsautomaten, die von dieser Gebrauchsanweisung oder der von HYPHEN BioMed zur Verfügung gestellten Applikationsanleitung abweicht, zu validieren.
- Der FVIII-Test ist sensitiv auf direkte Anti-Xa-Substanzen.
- Abhängig von der Variante und dem Konzentrat wird von einer Diskrepanz zwischen chromogenen Tests und Clotting-Tests berichtet^{5,6,9,16}.

ERWARTETE WERTE:

Jedes Labor sollte seinen eigenen Normbereich festlegen.

LEISTUNGSMERKMALE:

Mathematische Analysen werden unter Verwendung einer validierten Statistik-Software durchgeführt, die den Anforderungen der CLSI-Guidelines entspricht.

Die Leistungsstudien wurden wie in den CLSI-Guidelines beschrieben durchgeführt.

Die folgenden Leistungsdaten stellen typische Ergebnisse dar und sollten nicht als Spezifikationen für BIOPHEN™ Faktor VIII (bovines Reagenz R1) betrachtet werden.

Analytische Leistung

Messbereich

Der Messbereich hängt vom verwendeten Analysesystem ab und ist in der entsprechenden Applikationsanleitung für den jeweiligen Gerinnungsautomaten dokumentiert.

Präzision

Präzisionsstudien wurden mit Qualitätskontrollen des Labors und gepoolten Plasmen über 5 Tage durchgeführt, 2 Läufe pro Tag und 2 Wiederholungen pro Lauf für jedes Probenlevel. Der Variationskoeffizient (VK) lag bei allen Proben unter 10% und ist in der entsprechenden Applikationsanleitung für den jeweiligen Gerinnungsautomaten dokumentiert.

Interferenzen

Interferenzen hängen vom verwendeten Analysesystem ab und sind in der entsprechenden Applikationsanleitung für den jeweiligen Gerinnungsautomaten dokumentiert. Dieser FVIII-Test ist insensitiv auf Emicizumab¹⁵.

Klinische Leistung

Übereinstimmung

Sysmex CS-Serie (n=93)			
Analyt	Lineare Regression	r	Referenz-/ Vergleichsmethode
Faktor VIII	Y = 0,96x + 0,31	0,999	Chromogener FVIII-Test (Siemens)

Sensitivität / Spezifität

Sysmex CS-Serie (n=93)			
Analyt	Sensitivität	Spezifität	Fläche unter der Kurve
Faktor VIII	0,939	0,955	0,968

REFERENZEN:

1. Wagenvoort RJ *et al.* Development of a simple chromogenic factor VIII assay for clinical use. Haemostasis. 1989.
2. Hubbard AR. *et al.* Potency estimation of recombinant factor VIII: effect of assay method and standard. Br J Haematol. 2001.
3. Raut S. *et al.* A collaborative study to establish the 6th International Standard for factor VIII concentrate. Thromb Haemost. 2001.
4. Mazurkiewicz-Pisarek A. *et al.* The factor VIII protein and its function. Acta Biochimica Polonica. 2016.
5. Ovanesov M.V. *et al.* Summary of the WHO hearing on the development of product-specific reference materials for coagulation factor VIII and factor IX products. Biologicals. 2020.
6. Peyvandi F. *et al.* A critical appraisal of one-stage and chromogenic assays of factor VIII activity. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2016.
7. Sommer J.M. *et al.* Comparative field study evaluating the activity of recombinant factor VIII Fc fusion protein in plasma samples at clinical haemostasis laboratories. Haemophilia. 2014.
8. Vince Jenkins P. *et al.* Elevated factor VIII levels and risk of venous thrombosis. British Journal of Haematology. 2012.
9. Bowyer A.E. *et al.* Role of chromogenic assays in haemophilia A and B diagnosis. Haemophilia. 2018.
10. Kitchen S. *et al.* A computer-based model to assess costs associated with the use of factor VIII and factor IX one-stage and chromogenic activity assays. J Thromb Haemost. 2016.
11. Srivastava A. *et al.* WFH Guidelines for the Management of Hemophilia 3rd edition. Haemophilia. 2020.
12. CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008
13. Woodhams B. *et al.* Stability of coagulation proteins in frozen plasma. Blood Coagulation and Fibrinolysis. 2001.
14. Mauge L. and Alhenc-Gelas M. Stabilité pré-analytique des paramètres de la coagulation: revue des données disponibles. Ann Biol Clin. 2014.
15. Schmitt C. *et al.* Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Emicizumab in Persons with Hemophilia A with Factor VIII Inhibitors: HAVEN 1 Study. Emicizumab Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. 2020.
16. Van Moort I. *et al.* Analytical variation in factor VIII one-stage and chromogenic assays: Experiences from the ECAT external quality assessment programme. WILEY Hemophilia. 2018.

Auf der Kennzeichnung des Produkts können sich die folgenden Symbole befinden:

REF	Catalogue number	LOT	Batch code	IVD	In-vitro diagnostic medical device
Rx	Numerical < x > identification of reagent		See instructions for use	WHO STD	WHO standard code
	Temperature limitation		Manufacturer		Use by YYYY-MM-DD
CE	CE marking of conformity		Reconstitution volume	CONTENTS	Contents
Cx	Numerical < x > identification of control		See instructions in Method Application guide	CONTAINS	Contains
EXP	Expiration date		Contains sufficient for <n> tests	UNIT	Measurement unit
TARGET VALUE	Target Value		Keep away from sunlight and heat	CALx	Numerical < x > identification of calibrator
ACCEPTANCE RANGE	Acceptance range				Biological risks