



# HEMOCLOT™ DTI

(Direkte Thrombin-Inhibitoren)

**REF** CK002K **R1** **R2** 3 Flaschen mit 1 mL

**REF** CK002L **R1** **R2** 3 Flaschen mit 2,5 mL



Vertrieb und Support:  
CooChrom 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:

HEMOCLOT™ DTI (Direkte Thrombin-Inhibitoren) ist ein Anti-IIa-Gerinnungstest zur quantitativen *in-vitro*-Bestimmung von direkten Thrombin-Inhibitoren (DTI) in humanem Citratplasma mit manueller oder automatisierter Methode. Die Methode dient der Überwachung von Patienten, die mit Argatroban oder Bivalirudin behandelt werden, und unterstützt bei der Diagnose des antikoagulatorischen Status (Dabigatran) bei Patienten, die mit Antikoagulanzen behandelt werden. Dieses Produkt ist zur *in-vitro*-Diagnostik in professionellem Laborgebrauch vorgesehen.

### ZUSAMMENFASSUNG:

#### Technisch:<sup>1-3</sup>

HEMOCLOT™ DTI (Direkte Thrombin-Inhibitoren) ist eine Anti-IIa-Clotting-Methode, die auf der Hemmung einer konstanten Menge an Thrombin basiert und, unter Verwendung spezifischer Kalibrationsplasmenset, der Bestimmung der Anti-IIa-Aktivität von DTIs dient.

#### Klinisch:<sup>3-7</sup>

Die Messung der DTI-Konzentration kann in einigen klinischen Situationen im Management von Patienten unter DTI-Behandlung helfen (z.B. vor einem operativen Eingriff, bei Patienten mit einem Risikofaktor für Blutungskomplikationen, bei Patienten mit Thrombose- oder Blutungsneigung oder im Falle einer Überdosierung).

### TESTPRINZIP:

HEMOCLOT™ DTI (Direkte Thrombin-Inhibitoren) ist eine Methode (verdünnte Thrombinzeit) zur Bestimmung von Dabigatran und anderer direkter Thrombin-Inhibitoren im Plasma. Die verdünnte Probe wird zunächst mit humanem, gepooltem Normalplasma versetzt. Die Gerinnung wird anschließend durch Zugabe einer konstanten Menge von humanem Thrombin in Gegenwart von Calcium ausgelöst. Die gemessene Zeit bis zur Bildung eines Gerinnsels ist proportional zur DTI-Konzentration im Testplasma.

### IM TESTKIT ENTHALTENE REAGENZIEN:

**R1** Gepooltes Normalplasma, lyophilisiert. Enthält Stabilisatoren.

**R2** Humanes Calcium-Thrombin, hochgereinigt, ca. 1 NIH/mL humanes Thrombin, lyophilisiert. Enthält BSA und Stabilisatoren.

Nötigenfalls wird die **R2** Enzymkonzentration für jede Charge angepasst, um optimale Reaktivität und Linearität des Tests zu gewährleisten.

Das Produkt ist als nicht gefährlich eingestuft und fällt somit nicht unter die Kennzeichnungspflicht gemäß EG-Verordnung Nr. 1272/2008 (CLP).

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

### VORBEREITUNG DER REAGENZIEN:

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

**R1** **R2** Den Inhalt jeder Flasche rekonstituieren mit exakt:

**REF** CK002K → 1 mL aqua dest.

**REF** CK002L → 2,5 mL aqua dest.

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

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

Dieses Plasmareagenz kann nach Rekonstitution Trübungen aufweisen. Diese entstehen durch die nach der Lyophilisierung herabgesetzte Löslichkeit der Lipide, die zur Bildung eines leichten Niederschlages führen kann. Falls erforderlich, kann die Flasche 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und vor Gebrauch vorsichtig geschwenkt werden, um den Inhalt zu 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:

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

\*Plasma kann einmalig gefroren und aufgetaut werden. Bei 37°C auftauen und umgehend verwenden.

Eine Kombination unterschiedlicher Lagerungsmethoden wird nicht empfohlen.

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

- Verdünnungspuffer: Imidazolpuffer (Art.Nr. AR021K / AR021L) oder physiologische Kochsalzlösung (0,9% NaCl). Für alle durchgeführten Tests ist derselbe Puffer zu verwenden.
- Spezifische, titrierte Kalibratoren und Kontrollen, z.B.:

Produktbezeichnung	Art.Nr.
Argatroban Kalibrationsplasmenset	SC030K
Argatroban Kontrollplasmenset	SC035K
BIOPHEN™ Dabigatran Kalibrationsplasmenset	222801
BIOPHEN™ Dabigatran Kontrollplasmenset	224701
BIOPHEN™ Dabigatran Kalibrationsplasmenset Low	222901
BIOPHEN™ Dabigatran Kontrollplasmenset Low	225001
BIOPHEN™ Bivalirudin Kalibrationsplasmenset	226701
BIOPHEN™ Bivalirudin Kontrollplasmenset	225701

- Gerinnungsautomat für Clotting-Tests, z.B. CS-Serie, STA-R®-Serie, ACL-TOP®-Serie
- Labormaterialien

### PROBENGEWINNING:

Blut (9 Volumenteile) wird vorsichtig mit 0,109 M Citrat (3,2%) als Antikoagulanzen (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-A5<sup>8</sup> veröffentlicht). In Bezug auf die Lagerung des Plasmas sind die Referenzen zu beachten.<sup>6,8</sup>

### TESTDURCHFÜHRUNG:

Der Testkit kann sowohl als manuelle als auch als automatisierte Methode durchgeführt werden. Der Test wird bei einer Temperatur von 37°C durchgeführt und es wird die Gerinnungszeit, ausgelöst durch Zugabe von **R2**, gemessen.

**Automatisierte Methoden:** Adaptionenleitungen 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. Die Kalibratoren und Kontrollen sind anhand der spezifischen Packungsbeilagen zu rekonstituieren. Die Kalibratoren werden wie unten beschrieben verdünnt:

Kalibrator	Art.Nr.	Verdünnung
BIOPHEN™ Dabigatran Kalibrationsplasmenset	222801	1:8
BIOPHEN™ Dabigatran Kalibrationsplasmenset Low	222901	1:2
Argatroban Kalibrationsplasmenset	SC030K	1:8
BIOPHEN™ Bivalirudin Kalibrationsplasmenset	226701	1:10

2. Die Proben und Kontrollen sind wie unten beschrieben in Verdünnungspuffer zu verdünnen:

Proben/Kontrollen	Art.Nr.	Verdünnung
BIOPHEN™ Dabigatran Kontrollplasmenset	224701	1:8
BIOPHEN™ Dabigatran Kontrollplasmenset Low	225001	1:2
Proben	-	1:8 (Standardbereich) 1:2 (niedriger Bereich)
Proben/Kontrollen	Art.Nr.	Verdünnung
Argatroban Kontrollplasmenset	SC035K	1:8
Proben	-	1:8
Proben/Kontrollen	Art.Nr.	Verdünnung
BIOPHEN™ Bivalirudin Kontrollplasmenset	225701	1:10
Proben	-	1:10

Die Kalibrationskurve ist zu erstellen und mit Qualitätskontrollen zu testen. Sofern sie bei Raumtemperatur (18-25°C) gelagert werden, sind die verdünnten Proben rasch zu testen.

Die exakten chargenspezifischen Werte der Kalibratoren und Kontrollen sind dem der Packung beiliegenden Datenblatt zu entnehmen.

3. In ein bei 37°C vorinkubiertes Teströhrchen wird nach folgendem Schema zugegeben:

	Menge
Verdünnte Probe, Kontrolle oder Kalibrator	50 µL
<b>[R1]</b> Gepooltes Normalplasma	100 µL
1 Minute bei 37°C inkubieren (2 Minuten für Bivalirudin), dann zugeben und die Zeitmessung starten:	
<b>[R2]</b> Humanes Calcium-Thrombin, vorinkubiert bei 37°C	100 µL
Aufzeichnung der exakten Gerinnungszeit in Sekunden	

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

#### QUALITÄTSKONTROLLE:

Die Verwendung von Kontrollplasmen ermöglicht bei Verwendung der gleichen Reagenzcharge die Validierung der Methodenkonformität und der homogenen Reaktivität des Tests.

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 unter den eigenen Testbedingungen seine Akzeptanzbereiche festlegen und die erwartete Testleistung verifizieren.

#### ERGEBNISSE:

- Bei der manuellen Endpunktmethode ist die Gerinnungszeit (in Sek.) auf der y-Achse (Ordinate) gegen die DTI-Konzentration auf der x-Achse (Ordinate) aufgetragen.
- Sofern die Standardverdünnung verwendet wird, leitet sich die DTI-Konzentration in der Probe direkt von der Kalibrationskurve ab.
- Die Ergebnisse werden für Dabigatran in ng/mL bzw. für Argatroban und Bivalirudin in µg/mL ausgedrückt.
- 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.
- Hoch konzentrierte Proben können in gepooltem Normalplasma oder Imidazolpuffer vorverdünnt werden. Die gemessene Konzentration ist dann mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor zu multiplizieren.
- 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.

#### ERWARTETE WERTE:

Anti-Ila-Präparate sind in normalem Plasma nicht vorhanden.

Für jedes Anti-Ila-Präparat sind der Normalbereich, der therapeutische Bereich und der Blutungsrisiko-Bereich gemäß aktueller lokaler Richtlinien zu definieren.

#### LEISTUNGSMERKMALE:

- Die untere Nachweisgrenze und der Messbereich hängen vom verwendeten Analysesystem ab.
- Der Kalibrationsbereich liegt für Dabigatran (niedriger Bereich) bei 0-120 ng/mL, für Dabigatran (Standardbereich) bei 0-500 ng/mL, für Argatroban bei 0-2 µg/mL und für Bivalirudin bei 0-5 µg/mL.
- HEMOCLOT™ DTI (Direkte Thrombin-Inhibitoren) enthält keine Heparinblocker. Die Anwesenheit von Heparin oder von weiteren, nicht der zu bestimmenden Substanz entsprechenden Thrombinhemmstoffen, kann die Gerinnungszeiten verlängern.
- Leistungsstudien wurden intern auf der Sysmex CS-Serie und der STA-R®-Serie durchgeführt. Die Messwerte wurden mit Qualitätskontrollen des Labors über einen Zeitraum von 5 Tagen mit 2 Serien pro Tag und 2 Wiederholungen innerhalb jeder Serie für das jeweilige Kontroll-Level ermittelt. Folgende Ergebnisse wurden erhalten:

Kontrolle	Intra Assay				Inter Assay			
	n	Mittelwert	VK%	SD	n	Mittelwert	VK%	SD
Dabigatran (niedriger Bereich)	30	80 ng/mL	3,7	3,0	20	77 ng/mL	2,1	1,6
Dabigatran	20	292 ng/mL	2,4	6,9	20	286 ng/mL	4,1	11,7
Bivalirudin	40	4,27 µg/mL	2,1	0,09	10	4,14 µg/mL	3,1	0,13
Argatroban	20	1,24 µg/mL	1,8	0,02	12	1,32 µg/mL	2,5	0,03

- Aufgrund der Testmethode ist keine von Gerinnungsfaktormangeln ausgehende Interferenz (Faktor II, V, X, AT oder niedriges Fibrinogen) zu erwarten.
- Korrelation: LCMS:MS vs. HEMOCLOT™ DTI, Dabigatran, auf Sysmex CS-2000i:  
n = 100    y = 0,926x + 10,46    r = 0,987  
Für andere Moleküle ist auch die spezifische Anwendungsanleitung des verwendeten Automaten zu beachten.
- Interferenzen: Es ist die spezifische Anwendungsanleitung des verwendeten Automaten zu beachten.

#### REFERENZEN:

- Antovic, J.P. *et al.* Evaluation of coagulation assays versus LC-MS/MS for determinations of dabigatran concentrations in plasma. *Eur J Clin Pharmacol.* 2013.
- Amiral J. *et al.* An update on laboratory measurements of Dabigatran: Smart specific and calibrated dedicated assays for measuring anti-Ila activity in plasma. *Transfusion and Apheresis Science.* 2016.
- Amiral C. *et al.* Measurement of Bivalirudin Thrombin Inhibition Activity in Plasma with Clotting or Chromogenic Assays and Dedicated Calibrators and Controls. *Thrombosis & Haemostasis: Research.* 2021.
- Van Cott EM *et al.* Laboratory Monitoring of Parenteral Direct Thrombin Inhibitors. *Semin. Thromb. Haemost.* 2017.
- Kyrle P.A. *et al.* Dabigatran :patient management in specific clinical settings. *Wien Klin Wochenschr.* 2014.
- Gosselin R.C. *et al.* International council for standardization in haematology (ICSH) recommendations for laboratory measurement of direct oral anticoagulants. *Thrombosis and Haemostasis.* 2018.
- Amiral C. *et al.* Measurement of Bivalirudin Thrombin Inhibition Activity in Plasma with Clotting or Chromogenic Assays and Dedicated Calibrators and Controls. *Thrombosis & Haemostasis: Research.* 2021
- CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline. 2008.

#### Änderungen im Vergleich zur Vorversion

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

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