

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](mailto:info@coachrom.com)

# CEPHEN 1 LS



REF CK521K  
R1 6x1 mL

Testkit zur aPTT Bestimmung  
Sensitiv für Lupus Antikoagulanz  
Gebrauchsfertiges Flüssigreagenz



Vertrieb und Support:  
**CoaChrom Diagnostica GmbH**  
[www.coachrom.com](http://www.coachrom.com) | [info@coachrom.com](mailto: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:

Der CEPHEN 1 LS Kit ist ein Test zur Bestimmung der Aktivierten Partiiellen Thromboplastinzeit (aPTT) in humanem Citratplasma. Der Gerinnungstest mit gebrauchsfertigen Flüssigreagenzien kann manuell, semi-automatisiert oder vollautomatisiert durchgeführt werden. Das Reagenz zeigt gute Sensitivität für Lupus Antikoagulanz und kann daher zur Untersuchung von Lupus Antikoagulanz herangezogen werden.

### ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG:

Eine verlängerte aPTT kann durch folgende Situationen hervorgerufen werden:<sup>1</sup>

- Vorliegen von gerinnungshemmender Therapie (Heparin, Hirudin, Argatroban®, Angiox®, Vitamin K-Antagonisten, ...)
- Gerinnungsfaktormängel: II, V, X (< 5 bis 10%), VIII:C, IX, XI, XII (< 20%), einschließlich hochmolekularem Kininogen (< 5%).
- Anormale Spiegel oder erworbene Mängel bei erhöhtem Verbrauch von Gerinnungsfaktoren, hepatischen Störungen, ...
- Anwesenheit von Inhibitoren wie Lupus Antikoagulanz oder Auto-Antikörpern gegen Gerinnungsfaktoren. CEPHEN LS zeigt höhere Sensitivität für Lupus Antikoagulanz als CEPHEN.

### TESTPRINZIP:

Messung der Recalcifizierungszeit von humanem Citratplasma mit standardisiertem aPTT-Reagenz (Cephalin und Aktivator) zur Bestimmung der Aktivität der intrinsischen Gerinnungsfaktoren (II, V, VIII:C, IX, X, XI, XII).

### IM KIT ENTHALTENE REAGENZIEN:

**R1** Reagenz 1: aPTT, Flüssigreagenz, gebrauchsfertig.  
6 Flaschen mit je 1 mL

Reagenz enthält kleine Mengen Natriumazid (0.9 g/L). Beachten Sie dazu die genannten Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen.

### WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN:

- Alle Produkte biologischen Ursprungs müssen mit den erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen und als potentiell infektiös behandelt werden.
- Natriumazid kann mit Blei- bzw. Kupferarmaturen unter Bildung hochexplosiver Metallazide reagieren.
- Das Reagenz kann opaleszent sein und weißlich bis gräuliche Schwebstoffe enthalten, die sich nach dem Durchmischen auflösen.
- Bei der Entsorgung sind die lokalen Richtlinien zu befolgen.
- Nur Reagenzien aus Packungen mit identischer Chargennummer verwenden.
- Die Reagenzien sind sorgfältig zu behandeln, um jegliche Kontamination während der Verwendung zu vermeiden. Um Verdunstung der Reagenzien während der Verwendung soweit wie möglich zu vermeiden, ist die Verdunstungsfläche so gering wie möglich zu halten. Verdunstung verringert die Reagenzstabilität in Analysenautomaten.
- Stabilitätsstudien für 3 Wochen bei 30°C haben gezeigt, dass die Packungen ohne Beeinträchtigung bei Raumtemperatur versendet werden können.
- Zur *in-vitro*-Diagnostik.

### VORBEREITUNG DER REAGENZIEN UND STABILITÄT:

#### FLÜSSIGREAGENZIEN

**R1** Reagenz 1: aPTT

Gebrauchsfertig. Vor Gebrauch das Reagenz für 30 Minuten bei Raumtemperatur (18-25°C) stabilisieren. Vor dem Gebrauch durchmischen.

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

- 3 Monate bei 2-8°C.
- 7 Tage bei Raumtemperatur (18-25°C).
- Nicht einfrieren.

### 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.

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

#### Reagenzien:

- Aqua dest.
- CaCl<sub>2</sub> 0,025 M (Art.Nr. AR001A/K)
- Spezifische Kontrollplasmen aPTT und LA, wie z.B.

Produkt	Art.Nr.
BIOPHEN™ Kontrollplasma Gerinnung "Normal"	223201
BIOPHEN™ Kontrollplasma Gerinnung "Abnormal"	223301
LA Kontrollplasma	SC081K / SC082K / SC083K

#### Geräte:

- elektromagnetisches Wasserbad, semi-automatisches oder automatisches Gerinnungsgerät
- Stoppuhr, geeichte Pipetten.

### PROBENGEWINNUNG:

Die Gewinnung und Lagerung der Proben hat gemäß den aktuellen lokalen Vorschriften zu erfolgen. (Vorschriften für die Probengewinnung, -handhabung und -lagerung sind im CLSI Dokument H21-A5 veröffentlicht).

**Proben:** Humanes Plasma mit Tri-Natrium Citrat als Antikoagulanz.

**Blutabnahme:** Blut (9 Volumenteile) wird vorsichtig in 0,109 M Citrat als Antikoagulanz (1 Volumenteil) abgenommen. Die Blutabnahme erfolgt durch Venenpunktion. Das erste Röhrchen ist zu verwerfen.

**Zentrifugation:** Die Herstellung von plättchenarmem Plasma hat innerhalb von 2 Stunden nach Blutabnahme gemäß einem validierten, laborspezifischen Verfahren zu erfolgen, z.B. durch Zentrifugation bei Raumtemperatur (18-25°C) für 15 Minuten bei 2500g. Das Plasma wird anschließend in ein Kunststoffröhrchen überführt.

#### Lagerung der Plasmaproben<sup>2,3</sup> (bis zu):

- 4 Stunden bei Raumtemperatur (18-25°C).
- 1 Monat tiefgefroren bei -20°C oder
- 18 Monate bei -70°C

Gefrorene Plasmaproben sollten bei 37°C aufgetaut, gut durchmischt und dann sofort getestet werden. Jegliche Ablagerungen sind durch gründliches Mischen sofort nach dem Auftauen und vor dem Testen zu resuspendieren.

### TESTDURCHFÜHRUNG:

Dieser Kit ist ein Gerinnungstest, der sowohl für manuelle als auch für automatisierte (Endpunkt-) Methoden geeignet ist. Der Test wird bei einer Temperatur von 37°C durchgeführt und die Gerinnungszeit wird, eingeleitet durch Zugabe von 0,025M Calciumchlorid, gemessen.

#### Automatisierte Methoden:

Applikationsanleitungen für verschiedene Gerinnungsautomaten sind auf Anfrage erhältlich. Die Besonderheiten der jeweiligen Anwendung und spezifische Warnhinweise für den jeweiligen Automaten sind zu beachten.

#### Testmethode:

Ein mechanischer Koagulationsindikator, z.B. eine Metallkugel, wird zur Bestimmung der Gerinnungszeit verwendet. Für den Test muss unverdünntes Plasma verwendet werden.

In ein Reaktionsröhrchen bzw. Mikrotiterplatte der werden, inkubiert bei 37°C, pipettiert:

	Volumen
• Probe oder Kontrolle unverdünnt	100 µL
• CEPHEN Reagenz	100 µL
Mischen, genau 3 Minuten bei 37°C inkubieren und dann hinzupipettieren: (Starten der Stoppuhr)	
• 0,025 M Calciumchlorid (vorgewärmt auf 37°C)	100 µL
Exakte Aufzeichnung der Gerinnungszeit in Sekunden (Stopp der Metallkugel)	

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

#### **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, 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:**

- Gerinnungszeiten können in Abhängigkeit vom Typ des verwendeten Citrat-Antikoagulanz leicht variieren.
- 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. Jedes Labor ist selbst für die Validierung aller Änderungen an diesen Gebrauchsinformationen verantwortlich.
- Jegliches Reagenz mit unüblicher Erscheinung oder Anzeichen von Kontamination muss verworfen werden.
- Jegliche verdächtige Probe oder jene mit Anzeichen für Aktivierung müssen verworfen werden.
- Plasmen, die Gerinnsel oder Anzeichen für Kontaminationen aufweisen, sind zu verworfen.
- Verschiedene Medikamente bzw. Therapien können aPTT-Resultate beeinflussen. Weiterführende Untersuchungen sollten durchgeführt werden, um den Ursprung jedes unerwarteten bzw. abnormalen Resultats zu ermitteln.
- Wiederholungsmessungen der Gerinnungszeit einer Probe können, auch bei Verwendung der gleichen Reagenzcharge, in Abhängigkeit vom verwendeten Gerinnungsgerät bzw. der Methode der Gerinnungsbestimmung und den Geräteeinstellungen (Sensitivität der Bestimmung des Gerinnungsendpunktes) leicht variieren. Jedes Labor sollte Werte für einen eigenen Normalbereich (inkl. Mittelwert und Standardabweichung) unter den gegebenen spezifischen Testbedingungen ermitteln und validieren. Auf gleiche Weise können verschiedene Einflussgrößen (z.B. Heparine unterschiedlicher Herkunft) die Ergebnisse beeinflussen. Jedes Labor sollte daher eigene Vertrauensbereiche ermitteln.
- Die Inkubationszeit von 3 Minuten sollte durchgängig eingehalten werden. Falls die Inkubationszeit für eine Geräteapplikation geändert werden muss (z.B. 4 Minuten), so muss dies für alle durchgeführten Bestimmungen angewendet werden.
- Das Reagenz zeigt gute Sensitivität für Prekallikreinpiegel < 1%, jedoch keine Sensitivität für Konzentrationen > 5%.
- Messung auf KC10 ergab keine signifikanten Störeinflüsse bis zu 0,25 mg/mL Bilirubin bzw. bis zu 5 mg/mL Hämoglobin, welches den Plasmen jeweils zugesetzt wurde.
- CEPHEN LS hat eine sehr gute Sensitivität für unfraktioniertes Heparin (UFH) im Plasma. Verlängerungen der Gerinnungszeit sind ab 0,1 IE/mL Heparin signifikant. Die Sensitivität für niedermolekulares Heparin (NMH) ist geringer.
- Die Sensitivität für Heparin fällt bei den verschiedenen am Markt befindlichen aPTT Reagenzien unterschiedlich aus. Weiters kann es auch leichte Unterschiede zwischen den Chargen eines Herstellers geben. Die Heparin-Sensitivität muss daher von jedem Labor unter den jeweiligen Arbeitsbedingungen und für die verwendete Charge des aPTT Reagenz ermittelt werden. Auch eine gleichbleibende Heparin-Konzentration im Plasma kann, insbesondere bei Intensivpatienten, zu variablen Verlängerungen der aPTT bzw. der Gerinnungszeit-Ratio Patient/ Normal Kontrolle führen.

#### **ERWARTETE WERTE:**

aPTT-Werte normaler Plasmen, die mit KC10 oder STA-R gemessen werden, liegen in der Regel im Bereich von 28 bis 37 Sekunden.

Die aPTT ist abnormal bei Gerinnungszeiten über 40 Sekunden.

Die gemessene aPTT des Patientenplasmas muss mit dem normalen Referenzbereich des jeweiligen Labors verglichen werden.

Die Gerinnungszeiten sind sowohl vom verwendeten Citrat-Antikoagulanz (0,109 bzw. 0,129 M) als auch von der Methode der Gerinnungszeitmessung (mechanisch bzw. optisch) abhängig. So sind die Gerinnungszeiten bei Verwendung von 0,109 M Citrat-Antikoagulanz bzw. einer optischen Bestimmungsmethode kürzer.

Das Reagenz kann zur Bestimmung von Lupus Antikoagulanzen verwendet werden.<sup>4,5,6</sup>

LA sind im normalen Plasma abwesend.

Der aPTT Erwartungswert normaler Plasmen liegt bei < 45 Sekunden und die normalisierte Ratio bei < 1,20 Sekunden.

Dennoch sollte jedes Labor seinen eigenen Normbereich festlegen.

#### **LEISTUNGSMERKMALE:**

Beispielhaft wurden die "üblichen" aPTT-Bereiche für humanes Citrat-Normalplasma ermittelt:

Lot 070622B	KC10	STA-R	ACL 700 (research Software) (optical mode)
<b>N</b>	30	50	30
<b>M (Mittelwert aPTT, Sek)</b>	29,9	32,0	25,5
<b>SD (Sek)</b>	2,05	2,31	1,75
<b>M ± 2SD (Sek)</b>	25,8-34,0	27,4-36,6	22,0-29,0
<b>Min-Max (Sek)</b>	27,1-34,1	27,1-37,7	22,5-30,0

Das CEPHEN aPTT LS-Reagenz zeigt gute Übereinstimmung mit den aPTT-Reagenzien STA-PTT<sup>®</sup>, gemessen auf STA-R, und CKPrest<sup>®</sup>, gemessen auf KC10:

	CEPHEN 070622B (STA-R)	STA-PTT <sup>®</sup> (STA-R)	CK Prest <sup>®</sup> (KC10)
<b>Mittelwert aPTT (Sek) (N=30 Normale)</b>	31,9	32,4	32,7
<b>Mittelwert ± 2SD</b>	26,9-36,9	28,3-36,5	28,3-37,1

Gute Sensitivität für Lupus Antikoagulanz (Gerinnungszeiten >> 50 Sek.)

Gute Sensitivität für Hirudin von 0,1 bis 0,2 µg/mL in Plasma bei Verwendung eines KC10-Gerätes.

#### **REFERENZEN:**

1. "Hémorragies et thromboses – Du diagnostic au traitement", M.M. Samama et coll., Abrégés, Masson, 2004.
2. CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008
3. Woodhams B. et al. Stability of coagulation proteins in frozen plasma. Blood coagulation and Fibrinolysis. 2001.
4. WHO Reference Panel 1st International Reference Panel for Lupus Anticoagulant NIBSC code: 13/172, 2015.
5. Kumano O. et al. Use of a lupus anticoagulant-resistant routine aPTT reagent as a convenient confirmatory test. ISTH 2016 Abstract.
6. H60-A Document: "Laboratory Testing for the Lupus Anticoagulant; Approved Guideline". 2014.

#### **SYMBOLS:**

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