



## Faktor VIII:C, IX, XI, XII Mangelplasma

REF DP040A/K R 1x1 mL / 6x1 mL

REF DP050A/K R 1x1 mL / 6x1 mL

REF DP070A/K R 1x1 mL / 6x1 mL

REF DP080A/K R 1x1 mL / 6x1 mL

Mangelplasma zur Bestimmung von Faktor VIII:C, IX, XI, XII mit Clotting-Methode



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:

Die Faktor VIII:C, IX, XI, XII Mangelplasmen dienen der quantitativen Bestimmung der Faktor VIII:C (FVIII:C)-, Faktor IX (FIX)-, Faktor XI (FXI)- oder Faktor XII (FXII)- Aktivität in humanem Citratplasma mit Clotting-Methoden und in Gegenwart von Cephalin, Aktivator (aPTT-Reagenz) und Calcium. Sie eignen sich zur manuellen oder automatisierten Durchführung.

### ZUSAMMENFASSUNG:

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

Das intrinsische Gerinnungssystem wird durch Kontaktaktivierung von FXII eingeleitet. Diese resultiert in einer sequentiellen proteolytischen Aktivierung von FXI und FIX. Aktivierter FIX bildet dann mit seinem Kofaktor (aktiviertem FVIII) auf der Phospholipid-Oberfläche einen Tenasekomplex zur Aktivierung von FX.

#### Klinisch<sup>1,2,3</sup>:

Die meisten von einem FXII-Mangel Betroffenen sind asymptomatisch, jedoch gibt es in seltenen Fällen eine milde Blutungsneigung. Bei Patienten mit FXI-Mangel ist die hämorrhagische Tendenz, sogar bei Patienten mit homozygoter Krankheit, oft schwach und für Symptome ist nicht immer der gemessene FXI-Spiegel ursächlich. Die durch einen Mangel an FVIII oder FIX ausgelöste, angeborene Blutungsstörung nennt sich Hämophilie A bzw. B. Abhängig vom FVIII- oder FIX-Plasmaspiegel der Betroffenen wird die Hämophilie als schwer, moderat oder schwach eingestuft. Angeborene oder erworbene Mängel an Gerinnungsfaktoren im intrinsischen System bedingen eine Verlängerung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT).

### TESTPRINZIP:

Die Methode basiert auf einem Gerinnungstest, bei dem alle Gerinnungsfaktoren, mit Ausnahme des aus dem Probenplasma stammenden, zu bestimmenden Faktors durch das Mangelplasma in konstanter Menge und im Überschuss zur Verfügung gestellt werden. Der Gerinnungstest wird mit Cephalin, Aktivator (aPTT-Reagenz) und Calcium gestartet. Der zu bestimmende Gerinnungsfaktor ist der limitierende Faktor und die Gerinnungszeit ist umgekehrt proportional zur Konzentration dieses Faktors. Biologisch, dargestellt handelt es sich um einen umgekehrt linearen Zusammenhang zwischen der Konzentration des zu bestimmenden Faktors in der Probe und der korrespondierenden Gerinnungszeit.

### IM KIT ENTHALTENE REAGENZIEN:

DP Humanes Citratplasma mit einem Mangel (<1%) am zu bestimmenden Faktor, lyophilisiert in Gegenwart von Glycin und Stabilisatoren. Alle anderen Gerinnungsfaktoren liegen im Normalbereich vor (> 50%).

#### Faktor VIII:C Mangelplasma

REF DP040A → 1 Flasche mit 1 mL

REF DP040K → 6 Flaschen mit je 1 mL

#### Faktor IX Mangelplasma

REF DP050A → 1 Flasche mit 1 mL

REF DP050K → 6 Flaschen mit je 1 mL

#### Faktor XI Mangelplasma

REF DP070A → 1 Flasche mit 1 mL

REF DP070K → 6 Flaschen mit je 1 mL

#### Faktor XII Mangelplasma

REF DP080A → 1 Flasche mit 1 mL

REF DP080K → 6 Flaschen mit je 1 mL

### WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN:

- Die zur Herstellung verwendeten Humanplasmen wurden mit anerkannten Methoden getestet und als negativ für HIV-Antikörper, HBs-Ag und HCV-Antikörper eingestuft. Kein Test kann jedoch die Anwesenheit infektiöser Stoffe vollständig ausschließen. Jedes Produkt humanen Ursprungs muss mit größter Sorgfalt unter Beachtung der erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen und als potentiell infektiös behandelt werden.
- Bei der Entsorgung von Restmaterial sind die geltenden lokalen Richtlinien zu befolgen.
- Benutzen Sie nur Reagenzien, die aus ein- und derselben Charge des Testkits stammen.
- Stabilitätsstudien haben gezeigt, dass die Packungen ohne Beeinträchtigung bei Raumtemperatur versendet werden können.
- Dieses in-vitro-Diagnostikum ist für den professionellen Gebrauch im Labor vorgesehen.

### VORBEREITUNG DER REAGENZIEN:

Die Flaschen sind unter Vakuum verschlossen. Der Gummistopfen ist vorsichtig zu öffnen, um einen Verlust an Reagenz zu vermeiden.

DP Den Inhalt jeder Flasche mit exakt 1 mL aqua dest. rekonstituieren. Bis zur vollständigen Auflösung gut durchmischen und dabei Schaumbildung vermeiden, gemäß Applikationsanleitung auf den Gerinnungsautomaten laden.

Für die manuelle Methode 30 Minuten bei Raumtemperatur (18-25°C) stabilisieren lassen, vor Gebrauch homogenisieren.

### LAGERUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN:

Ungeöffnete Reagenzien müssen bei 2-8°C in der Originalverpackung gelagert werden. Sie können bis zu dem auf dem Testkit aufgedruckten Verfalldatum verwendet werden.

DP Stabilität des in der Originalflasche gelagerten Reagenzes 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.

\* Kann einmalig gefroren und aufgetaut werden. Bei 37°C so schnell wie möglich auftauen und umgehend verwenden.

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

#### Reagenzien:

- Aqua dest.
- Imidazolpuffer (Art.Nr. AR021K / AR021L)
- CaCl<sub>2</sub> (0,025 M) (Art.Nr. AR001K)
- aPTT-Reagenz (CEPHEN™, Art.Nr. CK511K, CK512K, CK515K, CK515L)
- Spezifische Kalibrations- und Kontrollplasmen mit bekannten Konzentrationen, z.B.:

Produktbezeichnung	Art.Nr.
BIOPHEN™ Kalibrationsplasma	222101
BIOPHEN™ Normal Kontrollplasma	223201
BIOPHEN™ Abnormal Kontrollplasma	223301

Siehe auch die spezifische Applikationsanleitung für das verwendete Analysegerät.

#### Geräte:

- Wasserbad, halb-automatisches oder automatisches Gerät für Clotting-Tests
- Stoppuhr, kalibrierte Pipetten, Glas- oder Kunststoffröhrchen

### GEWINNUNG UND VORBEREITUNG DER PROBEN:

Das Blut (9 Volumentteile) wird vorsichtig in 0,109 M Citrat als Antikoagulant (1 Volumentteil) abgenommen. Die Blutabnahme erfolgt durch Venenpunktion. Das erste Röhrchen ist zu verwerfen.

Herstellung und Aufbewahrung der Proben müssen in Einklang mit den gültigen örtlichen Vorschriften erfolgen (für die USA: Bitte beziehen Sie sich auf die Empfehlungen den CLSI H21-A5<sup>4</sup> für weitere Informationen über Probengewinnung, Handhabung und Aufbewahrung).

Bzgl. Plasma-Lagerung: siehe Referenzen.<sup>4,5,6</sup>

## **TESTDURCHFÜHRUNG:**

1. Die Kalibrations- und Kontrollplasma gemäß ihren jeweiligen Packungsbeilagen rekonstituieren. 2 mL eines mit Imidazolpuffer 1:10 verdünnten Citrat-Plasmapools herstellen. Diese Verdünnung entspricht per Definition einer Konzentration von 100% des zu bestimmenden Faktors. Bei Verwendung dieser Verdünnung ist die Kalibrationskurve wie folgt zu erstellen:

Verdünnung	1:160	1:80	1:40	1:20	1:10
FVIII:C, FIX, FXI oder FXII (%)	6,25*	12,5	25	50	100
Plasmapool 1:10	0,060 mL	0,125 mL	0,250 mL	0,500 mL	1,0 mL
Imidazolpuffer	0,900 mL	0,875 mL	0,750 mL	0,500 mL	0 mL

\*Diese zusätzliche Verdünnung kann verwendet werden, falls eine hohe Präzision im unteren Messbereich erforderlich ist ( $\leq 10\%$ ).

Die Kalibrationskurve kann auch mit BIOPHEN™ Kalibrationsplasma (Art.Nr. 222101) erstellt werden. Dabei ist die Aktivität des zu bestimmenden Faktors (C) zu verwenden, die für jede Charge auf dem beiliegenden Datenblatt angegeben wird. Die Kalibrationskurve ist unmittelbar vor Testdurchführung zu erstellen.

Die verdünnten Kalibratorlösungen müssen innerhalb von 2 Stunden bei Raumtemperatur verwendet werden.

2. Testplasma und Kontrollplasma müssen 1:10 mit Imidazolpuffer verdünnt werden.

3. In ein Teströhrchen oder Küvette werden zugegeben:

	Menge
Mangelplasma	100 µL
Kalibratorlösung oder, jeweils 1:10 verdünnt, Testplasma oder Kontrollen	100 µL
Mischen, bei 37°C für genau 1 Minute inkubieren, dann hinzugeben : aPTT Reagenz (Cephalin)	100 µL
Mischen, bei 37°C für genau 3 Minuten inkubieren, dann hinzugeben : (und Stoppuhr starten):	
CaCl <sub>2</sub> (0,025 M), vorinkubiert bei 37°C	100 µL
Exakte Aufzeichnung der Gerinnungszeit in Sekunden	

Die Kalibrationskurve ist zu erstellen und mittels Qualitätskontrollen zu überprüfen. Verdünnte Proben sollten, wenn sie bei Raumtemperatur (18-25°C) gelagert werden, rasch getestet werden. Die exakten chargenspezifischen Werte der Kalibratoren und Kontrollen sind einem der Packung beiliegenden Datenblatt zu entnehmen.

Der Benutzer ist für die Validierung von Modifizierungen und ihrem Einfluss auf alle Ergebnisse verantwortlich.

**Für automatisierte Methoden sind auf Anfrage Applikationsanleitungen erhältlich. Die spezifischen Applikationsanleitungen und Warnhinweise für das jeweilige Analysegerät sind zu beachten.**

## **KALIBRATION:**

Kalibrationsplasma, die den Kalibrationsbereich abdecken, sind von 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 Qualitätskontrollen ermöglicht bei Gebrauch der gleichen Reagenzchargen die Validierung der Methodenkonformität sowie die Überprüfung der Homogenität der Messungen von einer Serie zur anderen.

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:**

- Die Konzentration des zu bestimmenden Faktors in % wird auf bi-logarithmischem Millimeterpapier auf der x-Achse (Abszisse) gegen die korrespondierende Gerinnungszeit auf der y-Achse (Ordinate) aufgetragen.
- Sofern die Standardverdünnung verwendet wird, leitet sich die Konzentration des zu bestimmenden Faktors in % 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 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 bedenkliche Probe oder jene mit Anzeichen für Aktivierung müssen verworfen werden.
- Für eine bessere Präzision können Proben mit einem Ergebnis  $\leq 10\%$  auch lediglich 1:5 verdünnt gemessen werden. Die gemessenen Werte müssen dann durch 2 dividiert werden. Proben mit einem Ergebnis  $> 100\%$  (oder C%) können 1:20 verdünnt gemessen werden. Das Ergebnis wird dann mit 2 multipliziert.
- Für eine Probe mit Faktorenmangel gilt: Das Ergebnis sollte mit einer Messung der 1:5 Verdünnung (die gemessene Werte sind durch 2 zu dividieren) und/oder einer weiteren Probe und/oder einem alternativen Testsystem überprüft werden. Ein möglicher zusätzlicher Faktorenmangel muss überprüft werden.
- In der Probe vorhandene Thrombin-Inhibitoren können zu einer Unterschätzung der Konzentration des zu bestimmenden Faktors in der Probe führen.

## **ERWARTETE WERTE:**

Üblicherweise liegt die FVIII:C-Aktivität bei Erwachsenen zwischen 50 und 150% und die FIX-, FXI- und FXII-Aktivität bei  $> 60\%$ .<sup>7</sup> Jedes Labor muss jedoch seinen eigenen Normalbereich ermitteln.

## **REFERENZEN:**

1. Grover SP. And Mackman N. Intrinsic Pathway of Coagulation and Thrombosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2019
2. Winter WE. et al. Coagulation Testing in the Core Laboratory. Lab Medicine. 2017.
3. Peyvandi F. et al. Rare bleeding disorders. Haemophilia. 2008.
4. CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008
5. Woodhams B. et al. Stability of coagulation proteins in frozen plasma. Blood coagulation and Fibrinolysis. 2001.
6. Mauge L. and Alhenc-Gelas M. Stabilité pre-analytique des paramètres de la coagulation: revue des données disponibles. Ann Biol Clin. 2014.
7. Monagle P. et al. Impact for clinical haemostasis laboratories. Developmental haemostasis. 2006.

## **SYMBOLE:**

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