



ZYMUTEST™ HIA
(Heparin Induced Antibodies)
MonoStrip IgG
REF RK041A
32 Tests



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

Deutsch, Revision: 08-2025

VERWENDUNGSZWECK:

ELISA-Methode zum semiquantitativen *In-vitro*-Nachweis von Heparin-abhängigen Antikörpern (IgG) in humanem Citratplasma oder -serum mit einer manuellen Methode. Diese Methode unterstützt die Diagnose von Heparin-abhängigen Antikörpern für Patienten, bei denen der Verdacht auf Heparin-induzierte Thrombozytopenie (HIT) oder Thrombose (HIT/T) besteht. Dieses Produkt zur *In-vitro*-Diagnostik ist für die professionelle Verwendung in der Laborumgebung bestimmt.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG:

Technisch:^{1,5}
Dynamischer Immunoassay, der den Mechanismus von Heparin-abhängigen Antikörpern *in vivo* imitiert. Diese Antikörper reagieren mit Heparin-Protein-Komplexen (hauptsächlich Plättchenfaktor 4 (PF4)) auf der Zelloberfläche, insbesondere Thrombozyten oder Endothelzellen. Der Test verwendet biologisch verfügbares Heparin, das auf einer ELISA-Mikrotiterplatte immobilisiert ist. Das Heparin wird mit einer begrenzten Menge an Protaminsulfat verankert, die Mikrotiterplatte wird dann gesättigt und stabilisiert. Die Testprobe (Plasma oder Serum) wird mit Plättchenlysat in die Mikrotitervertiefung pipettiert (als Quelle von PF4 und anderen Proteinen, die Thrombozyten freisetzen können). Wenn Antikörper vorhanden sind, bilden sie Immunkomplexe mit Heparin und PF4 (oder anderen Heparin-bindenden Proteinen) an denen Thrombozyten aktiviert sind und ihren Inhalt freisetzen, wobei der *in-vivo*-Prozess imitiert wird. Dieser dynamische Immunoassay weist die Heparin-abhängigen Antikörper nach und ermöglicht die Klassifizierung von Proben als negativ, schwach positiv oder positiv.

Klinisch:¹⁻³
Heparin-abhängige Antikörper sind bei Patienten vorhanden, die eine Heparin-induzierte Thrombozytopenie (HIT) entwickeln. Diese unerwünschte Immunreaktion tritt bei bis zu 5% der Patienten auf, die Heparin-Produkten ausgesetzt sind, insbesondere bei unfraktioniertem Heparin. Sie bleibt eine wesentliche Komplikation dieser Antikoagulations-Therapie. Sie ist durch das Auftreten einer in der Regel moderaten Thrombozytopenie gekennzeichnet. Ein Drittel bis zur Hälfte der Patienten mit HIT entwickeln thromboembolische Komplikationen (HIT/T), die Inzidenz hängt vom klinischen Profil des Patienten ab: Sie ist bei einer Therapie mit niedermolekularen Heparinen (LMWH) niedriger als bei einer Therapie mit unfraktionierten Heparinen (UFH) und bei Fondaparinux ist ein Auftreten unwahrscheinlich. Grundlage von HIT ist die Entwicklung von Antikörpern gegen makromolekulare Heparin-Protein (in der Regel PF4)-Komplexe. Neben Antikörpern gegen PF4-Heparin wurde bei einigen Patienten von Antikörpern gegen andere Chemokine (wie das Neutrophil-Activating Peptide (NAP2), Interleukin-8 (IL-8)) oder Protaminsulfat berichtet. Klinische Komplikationen von HIT resultieren aus der Entwicklung von Heparin-abhängigen Antikörpern des IgG-Isotyps, insbesondere, wenn sie in hohen Konzentrationen vorliegen. Die Messung der globalen IgGAM-Isotypen (ZYMUTEST™ HIA (Heparin Induced Antibodies) MonoStrip IgGAM – RK041D) kann zur Unterstützung bei der Bewertung des Risikos einer Entwicklung von HIT-Komplikationen hilfreich sein. IgM- oder IgA-Antikörper bleiben mit einigen Ausnahmen meist asymptomatisch.

Die klinische Diagnose von HIT bleibt schwierig, insbesondere in Patientenpopulationen mit einer hohen Prävalenz von Thrombozytopenie. Die Heterogenität dieser Antikörper könnte zumindest teilweise die Unterschiede zwischen dem klinischen Verdacht auf HIT und Labortests erklären. Weitere mögliche Gründe für Thrombozytopenie sollten ausgeschlossen werden. Heparin-abhängige Antikörper, einschließlich IgG-Isotypen, sind häufig asymptomatisch, und die HIT-Diagnose muss mit funktionalen Tests bestätigt werden.

TESTPRINZIP:

Die verdünnte Probe (humanes Plasma, Serum oder andere biologische Flüssigkeiten) wird zusammen mit dem Plättchenlysat in die Vertiefungen der beschichteten Mikrotiterplatte pipettiert. Sind Heparin-abhängige Antikörper des IgG-Isotyps vorhanden, komplexieren sie mit PF4 oder den anderen im Plättchenlysat vorhandenen Heparin-bindenden Proteinen und binden an das biologisch verfügbare, unfraktionierte Heparin, das auf der Mikrotiterplatte immobilisiert ist. Nach einem ersten Waschschrift erfolgt die Zugabe des Immunkonjugats (Meerrettichperoxidase (HRP)-gekoppelte polyklonale Ziegen-Antikörper: Anti-Human IgG (Fc_γ-spezifisch)), das mit IgG-Isotypen spezifisch reagiert. Nach einem zweiten Waschschrift wird das Peroxidasesubstrat, 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin [TMB MonoStrip] in Gegenwart von Wasserstoffperoxid (H₂O₂) zugegeben und färbt sich blau. Die Färbung schlägt beim Stoppen der Reaktion mit Schwefelsäure nach Gelb um und die Extinktion wird bei 450 nm gemessen.⁹

REAGENZILIEN:

- COAT MonoStrip** ELISA-Mikrotiterplatte: **4x8** enthält 4 Mikrotiterstreifen mit je 8 Vertiefungen, beschichtet mit etwa 10 IU/ml unfraktioniertem Heparin, gesättigt, stabilisiert und mit einem Trockenmittel einzeln in einem Aluminiumbeutel verpackt. Enthält Protaminsulfat und ein Produkt tierischen Ursprungs.
- SD MonoStrip** HIA Probenverdünner: 2 Flaschen mit je 12 mL, gebrauchsfertig. Enthält ein Produkt tierischen Ursprungs, Konservierungsstoffe und Stabilisatoren.
- C+ MonoStrip IgG** HIA IgG Positivkontrolle: 4 Flaschen mit je 0,5 mL, lyophilisiert. Enthält Chimären-PF4-IgG mit einer Konzentration von etwa 4 µg/mL, bovines Serumalbumin (BSA) und Stabilisatoren.
- C- MonoStrip** Negativkontrolle: 4 Flaschen mit je 0,5 mL, lyophilisiert. Enthält verdünntes menschliches Plasma und Stabilisatoren.
- CLy MonoStrip** Plättchenlysat: 4 Flaschen mit je 0,5 mL, lyophilisiert. Enthält humanes Plättchenlysat, bovines Serumalbumin (BSA) und Stabilisatoren.
- IC ANTI-(h)-IgG MonoStrip HRP** Anti-(h)-IgG(Fc_γ)-HRP-Immunkonjugat mit einer Konzentration von etwa 0,3 µg/mL: 4 Flaschen mit 2 mL, Meerrettichperoxidase (HRP)-gekoppelte polyklonale Ziegen-Antikörper, spezifisch für das Fc_γ von humanem IgG, lyophilisiert. Enthält bovines Serumalbumin (BSA), 4-Aminobenzoesäure-Natriumsalz und Stabilisatoren.
- CD MonoStrip** Konjugatverdünner: 1 Flasche mit 10 mL, gebrauchsfertig. Enthält bovines Serumalbumin (BSA), eine Mischung aus 5-Chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-one und 2-Methyl-2H-Isothiazol-3-one (3:1), Konservierungsstoffe und Stabilisatoren.
Warnung! H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
- WS MonoStrip** Waschlösung: 2 Flaschen mit je 12 mL, **20x** 20-fach konzentriert. Enthält ein Gemisch aus 5-Chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-one und 2-Methyl-2H-Isothiazolin-3-one (3:1), Konservierungsmittel und Stabilisatoren.
Warnung! H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
- TMB MonoStrip** 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin: 1 Flasche mit 10 mL, gebrauchsfertig. Enthält Konservierungsmittel und Stabilisatoren.
- Stop MonoStrip** 0,45 M Schwefelsäure: 1 Flasche mit 3 mL, gebrauchsfertig.

Die Reaktivität der Positivkontrolle kann von einer Charge zur nächsten leicht abweichen. Die genauen Werte für den Test sind dem Datenblatt zu entnehmen, das dem verwendeten Testkit beiliegt.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN:

- Einige der in diesen Kits enthaltenen Reagenzien beinhalten Stoffe menschlichen und tierischen Ursprungs. Zur Herstellung von Reagenzien verwendetes humanes Plasma wurde mit registrierten Methoden negativ auf HIV-1-, HIV-2-, und HCV-Antikörper sowie Hepatitis-B-Oberflächenantigen getestet. Keine Testmethode kann jedoch das Vorhandensein infektiöser Stoffe vollständig ausschließen. Jedes Reagenz biologischen Ursprungs muss deshalb mit größter Sorgfalt unter Beachtung der erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen und als potenziell infektiös behandelt werden.
- Bei der Abfallentsorgung sind die lokalen Entsorgungsrichtlinien zu befolgen.
- Nur Reagenzien aus Packungen mit identischer Chargennummer verwenden.
- Jeglicher schwerwiegender Vorfall, der im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten ist, muss dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaates gemeldet werden, in dem der Anwender und/oder der Patient ansässig ist.
- Die Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung (Summary of Safety and Performance, SSP) ist in der Europäischen Datenbank für Medizinprodukte verfügbar (siehe öffentliche Eudamed-Website: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> oder auf Anfrage von HYPHEN BioMed).
- Wenn das **TMB MonoStrip**-Substrat eine Gelbfärbung aufweist, ist dies ein Zeichen von Kontamination. Es ist zu vermeiden und eine neue Flasche ist zu verwenden.
- Bitte beachten Sie** das auf www.hyphe-biomed.com abrufbare Sicherheitsdatenblatt.
- CD ELISA** | **WS**: Bei Berührung mit der Haut: Mit viel Wasser und Seife waschen, bei Hautreizung oder -ausschlag ärztlichen Rat einholen.
- Geeignete persönliche Schutzausrüstung tragen.

VORBEREITUNG DER REAGENZILIEN:

Die Mikrotiterstreifen und Reagenzien mindestens 30 Minuten vor Gebrauch auf Raumtemperatur stabilisieren lassen. Die Verschlüsse sind vorsichtig zu entfernen, um einen Verlust an Reagenz beim Öffnen zu vermeiden.

COAT MonoStrip Die Versiegelungen der für die Testserie benötigten Mikrotiterstreifen öffnen. Die Mikrotiterstreifen müssen innerhalb von 30 Minuten verwendet werden.

Den Inhalt jeder Flasche rekonstituieren mit exakt:

C+ MonoStrip IgG → 0,5 mL **SD MonoStrip**. Dadurch erhält man eine 1:100 vorverdünte gebrauchsfertige Positivkontrolle, die einem Plasma entspricht, das Heparin-abhängige Antikörper vom IgG-Isotyp enthält. Bis zur vollständigen Lösung gut durchmischen.

C- MonoStrip → 0,5 mL **SD MonoStrip**. Somit erhält man eine 1:100 vorverdünte, gebrauchsfertige Negativkontrolle, die humanem Normalplasma entspricht. Bis zur vollständigen Lösung gut durchmischen.

CLy MonoStrip → 0,5 mL **Aqua dest.** Bis zur vollständigen Lösung gut durchmischen.

IC ANTI-(h)-IgG MonoStrip HRP → 2 mL **CD MonoStrip** mindestens 15 Minuten vor Gebrauch. Der Inhalt muss vollständig gelöst sein. Zur gleichmäßigen Durchmischung der Lösung die Flasche kräftig schwenken.

SD MonoStrip | **TMB MonoStrip** | **Stop MonoStrip** | **CD MonoStrip**
Gebrauchsfertiges Reagenz.

WS MonoStrip Schütteln und die Waschlösung 1:20 mit **Aqua dest.** verdünnen (aus 12 mL Konzentrat kann nach Verdünnung 240 mL verdünnte Waschlösung hergestellt werden). Wenn nötig im Wasserbad bei 37°C bis zur vollständigen Auflösung von Feststoffen inkubieren.

LAGERUNG UND STABILITÄT:

Ungеоffnete Reagenzien müssen bei 2–8°C in der Originalverpackung gelagert werden. Unter diesen Bedingungen können sie dann bis zu dem auf der Verpackung aufgedruckten Verfallsdatum verwendet werden.

Stabilität der geschlossen gelagerten Reagenzien nach der Rekonstitution unter der Voraussetzung, dass diese nicht kontaminiert wurden und keine Verdunstung erfolgte:

C+ MonoStrip IgG | **C- MonoStrip** | **CLy MonoStrip**
→ 2 Wochen bei 2–8°C.
60 Tage bei -20°C oder weniger*

IC ANTI-(h)-IgG MonoStrip HRP
→ 4 Wochen bei 2–8°C.
24 Stunden bei 18–25°C.
60 Tage bei -20°C oder weniger*

* Nur einmal so schnell wie möglich bei 37°C auftauen und sofort verwenden.

Stabilität der geschlossen gelagerten Reagenzien nach dem Öffnen unter der Voraussetzung, dass diese nicht kontaminiert wurden und keine Verdunstung erfolgte:

SD MonoStrip | **CD MonoStrip** | **TMB MonoStrip** | **Stop MonoStrip**
→ 8 Wochen bei 2–8°C.
WS MonoStrip → 8 Wochen bei 2–8°C.
7 Tage bei 2–8°C für die auf 1:20 verdünnte Lösung.

ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERT REAGENZILIEN UND MATERIALIEN:

- Einkanalpipetten mit Pipettierolumina von 0 bis 20 µL, 20 bis 200 µL und 200 bis 1.000 µL.
- ELISA-Mikrotiterplattenleser zur Messung bei einer Wellenlänge von 450 nm.

PROBENTNAHME UND AUFBEREITUNG:

Die Entnahme, Aufbereitung und Lagerung von Proben (thrombozytenarmes Plasma (Poor Platelet Plasma; PPP) oder Serum) sollte nach Labor- oder anderen validierten Methoden erfolgen.^{9,10} Das Blut (9 Volumenteile) wird vorsichtig in 0,109 M Citrat (3,2%) als Antikoagulant (1 Volumenteil) abgenommen. Die Blutabnahme erfolgt durch Venenpunktion oder ein einem Röhrchen ohne Antikoagulant für Serum.
CLSI GP44-A4⁹ und H21-A5¹⁰.

- Das Serum/Plasma sollte nicht länger als 8 Stunden bei Raumtemperatur aufbewahrt werden.
- Wenn die Tests nicht innerhalb von 4 Stunden abgeschlossen werden können, sollte das Serum/Plasma bei -20°C oder darunter eingefroren werden.
- Serum-/Plasmaproben sollten nur einmal bei 37°C aufgetaut werden.

TESTDURCHFÜHRUNG:

Testmethode:
1. Die Kontrollen liegen bereits 1:100 vorverdünnt gebrauchsfertig vor.

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

2. Die Proben müssen wie in der nachfolgenden Tabelle beschrieben mit **[SD MonoStrip]** verdünnt werden:

Proben	Verdünnung
Plasma	1:100
Serum	1:100

3. Den für die Testreihe erforderlichen Mikrotiterstreifen aus dem Aluminiumbeutel entnehmen und in den mitgelieferten Rahmen legen. Die Reagenzien in die einzelnen Vertiefungen der ELISA-Mikrotiterplatte geben und die verschiedenen Testschritte gemäß der folgenden Tabelle durchführen:

Reagenz	Volumen	Testdurchführung
[Cly MonoStrip]	50 µL	[Cly MonoStrip] in die Vertiefungen der ELISA-Mikrotiterplatte pipettieren
[C+ MonoStrip IgG] oder [C- MonoStrip] oder 1:100 verdünnte Probe oder [SD MonoStrip] (Leerwert)	200 µL	Sofort die Verdünnungen hinzupipettieren: [C+ MonoStrip IgG] Oder [C- MonoStrip] Oder verdünnte Probe Oder [SD MonoStrip] in die Vertiefungen der ELISA-Mikrotiterplatte (a)
Für 60 Minuten bei Raumtemperatur (18–25°C) inkubieren (b, d)		
[WS MonoStrip]	300 µL	5 aufeinanderfolgende Waschschritte durchführen (c)
[IC ANTI-(h)-IgG MonoStrip HRP]	200 µL	Unmittelbar nach dem letzten Waschschritt das [IC ANTI-(h)-IgG MonoStrip HRP] in die einzelnen Vertiefungen hinzupipettieren (c)
Für 60 Minuten bei Raumtemperatur (18–25°C) inkubieren (b, d)		
[WS MonoStrip]	300 µL	5 aufeinanderfolgende Waschschritte durchführen (c)
[TMB MonoStrip]	200 µL	Unmittelbar nach dem letzten Waschschritt das [TMB MonoStrip] in die einzelnen Vertiefungen hinzupipettieren. Bitte beachten: Die Zugabe des Substrats muss Vertiefung für Vertiefung genau und mit präzisen Zeitintervallen durchgeführt werden (c, e)
Farbentwicklung für exakt 5 Minuten bei Raumtemperatur (18–25°C) ablaufen lassen (b, d)		
[Stop MonoStrip]	50 µL	In exakt den gleichen Zeitintervallen wie bei der Zugabe des Substrats Vertiefung für Vertiefung die Farbentwicklung durch Zugabe von [Stop MonoStrip] stoppen (e)
Nach 10 Minuten Wartezeit zur Stabilisierung die Extinktion bei 450 nm messen. Den Leerwert subtrahieren (falls erforderlich) (f)		

- Um eine homogene Antigenbindung zu gewährleisten, müssen die Kontrollen und Proben so schnell wie möglich (innerhalb von 10 Minuten) in die Vertiefungen der Mikrotiterstreifen pipettiert werden. Eine zu lange Verzögerung zwischen der Abgabe in die erste und die letzte Mikrotitervertiefung kann die immunologische Kinetik beeinflussen und zu falschen Ergebnissen führen.
- Während der Inkubationsphasen, insbesondere während der Farbentwicklung, dürfen die Streifen keinem direkten Sonnenlicht ausgesetzt werden.
- Die Streifen dürfen zwischen der Zugabe einzelner Reagenzien oder nach einem Waschschritt niemals vollständig austrocknen. Das folgende Reagenz muss innerhalb der nächsten 3 Minuten zugegeben werden, um das Austrocknen der Mikrotitervertiefungen zu verhindern, das zu einer Beschädigung der immobilisierten Komponenten führen und die Reaktivität der Mikrotiterplatte herabsetzen könnte. Falls erforderlich, können die Mikrotitervertiefungen mit Waschlösung gefüllt verbleiben und erst kurz vor der Zugabe des folgenden Reagenz geleert werden. Die Mikrotitervertiefungen vorsichtig waschen. Ein abruptes Entfernen der Waschlösung könnte die Beschichtung beschädigen und die Reaktivität der Mikrotiterplatte herabsetzen.
- Die Inkubationen vorzugsweise bei 20±1°C durchführen, um eine erneute Anpassung des Schwellenwerts wie im Abschnitt **ERGEBNISSE** beschrieben zu vermeiden.
- Bei der Zugabe des Substrats müssen die Zeitintervalle, Reihe für Reihe, genau festgelegt und exakt eingehalten werden. Dies gilt auch für die Zugabe der Stopplösung.
- Bei bichromatischen Messungen kann eine Referenzwellenlänge zwischen 620 nm und 690 nm verwendet werden.

QUALITÄTSKONTROLLE:

Qualitätskontrollen ermöglichen die Validierung der Methodenkonformität sowie die Gewährleistung der Homogenität von Tests für dieselbe Reagenzcharge. Gemäß guter Laborpraxis ist bei jeder Testserie eine Qualitätskontrolle durchzuführen, um die erhaltenen Testergebnisse zu überprüfen. Jedes Labor muss die Richtigkeit der Zielwerte und Vertrauensbereiche unter den eigenen Testbedingungen im Analysensystem überprüfen. Im Fall einer Automatisierung von Tests erklärt sich der Anwender einverstanden, eine vollständige Studie durchzuführen, um die analytische Leistung gemäß den geltenden Normen zu validieren.

VALIDIERUNG:

- Die im Testkit enthaltenen Kontrollen ermöglichen die Überprüfung einer korrekten Testdurchführung.
- Die für die Positivkontrolle und Negativkontrolle erwarteten Extinktionswerte (A450) können von Charge zu Charge variieren. Wenn der Test bei Raumtemperatur (18–25°C) durchgeführt wird, liegen diese Werte allerdings immer bei:

$$P = A_{450} \text{ für } C+ 1:1: \geq 1,0$$

$$N = A_{450} \text{ für Negativkontrolle: } \leq 0,25$$

Die erwarteten Werte für die Positivkontrolle (P) und Negativkontrolle (N) bei 20±1°C sind auf dem Datenblatt angegeben, das dem Testkit beiliegt. Die gemessenen A450-Werte können entsprechend der tatsächlichen Temperatur bei der Testdurchführung schwanken.

ERGEBNISSE:

- Wenn der Test bei 20±1°C durchgeführt wird, werden die A450-Ergebnisse ohne mathematischen Ansatz (Übereinstimmung) direkt wie folgt interpretiert:
Positiv: A450 > 0,50
Schwach positiv: 0,30 < A450 ≤ 0,50
Negativ: A450 ≤ 0,30
- Wenn die Temperatur außerhalb des Temperaturbereichs von 20±1°C liegt, kann dies die erhaltenen Extinktionswerte beeinflussen. In diesem Fall kann der folgende mathematische Ansatz verwendet werden: Für jede durchgeführte Testserie wird die Positivkontrolle verwendet, um den Cut-off-Wert anzupassen. Das der Packung beiliegende Datenblatt gibt den chargenspezifischen A450nm-Wert bei 20±1°C für die Positivkontrolle der verwendeten Charge von ZYMUTEST™ HIA (Heparin Induced Antibodies) sowie den Prozentsatz an, der dem Cut-Off entspricht. Die Anwendung dieses Prozentsatzes auf den A450nm-Wert der Positivkontrolle, der in der Serie gemessen wird, ergibt den angepassten Cut-off-Wert.
- Die Intervariabilität der Chargen, gemessen an 3 Chargen, beträgt: %CV ≤ 10% (Positivkontrolle).
- Die Ergebnisse sind orientiert am klinischen und biologischen Zustand des Patienten und an anderen Befunden zu interpretieren.

EINSCHRÄNKUNGEN:

- Um eine optimale Testleistung zu gewährleisten und die Spezifikationen zu erfüllen, sollten die technischen Anweisungen von HYPHEN BioMed sorgfältig beachtet werden.
- Jedliches nicht klare oder Anzeichen von Kontamination aufweisende Reagenz muss verworfen werden.
- Alle verdächtigen Proben oder Proben mit Anzeichen für eine Aktivierung müssen verworfen werden.
- Wenn die Waschschritte nicht korrekt ausgeführt werden, kann dies zu einem hohen Extinktionswert führen. Um unerwünschte Farbentwicklungen zu vermeiden, sind die Waschschritte ordnungsgemäß auszuführen.
- Anwenderdefinierte Änderungen werden von HYPHEN BioMed nicht unterstützt, da sie die Leistung und die Testergebnisse beeinträchtigen können. Der Anwender ist für die Validierung jeglicher Änderungen dieser Anweisungen oder der Verwendung der Reagenzien verantwortlich.
- Wie bei allen Autoantikörper-Tests können Proben von Patienten, die an Entzündungen, Infektionskrankheiten, zirkulierenden Immunkomplexen, Gammopathien und Autoimmunerkrankungen leiden, eine niedrige unspezifische Reaktivität im Graubereich oder schwach positiven Bereich aufweisen. In solchen Fällen sollte eine neue Probe auf das Vorliegen von Antikörpern untersucht werden.
- Fehlerhafte Ergebnisse können durch bakterielle Kontamination von Reagenzien, unzureichende Inkubationszeiten, ungenügendes Waschen der Mikrotitervertiefungen, Streulichtexposition des Substrats, Ausschluss von Testreagenzien, Inkubation bei höheren oder niedrigeren als den vorgeschriebenen Temperaturen oder Ausschluss von Testschritten entstehen.

- Obwohl eine positive Reaktion in diesem Test ein Hinweis auf Heparin-induzierte Antikörper sein kann, ist ein positiver Nachweis dieser Antikörper noch keine Bestätigung der Diagnose einer Heparin-induzierten Thrombozytopenie (HIT).
- Einige Patienten können natürlich vorkommende Antikörper gegen PF4 oder andere Chemokine aufweisen.
- Basierend auf dem Testprinzip kann eine Probe mit IgG Anti-Protaminsulfat oder Anti-Protaminsulfat-Heparin als positiv nachgewiesen werden.⁸

ERWARTETE WERTE:

Der Referenzbereich der Extinktion wurde in einer internen Studie an gesunden erwachsenen Probanden mit einer manuellen Methode (n = 149) zwischen 0,02 und 0,19 gemessen (Zentral 90%, 95. Perzentil).¹¹ Jedes Labor muss jedoch seinen eigenen Normalbereich festlegen. Für die betroffene Population ist eine Extinktion über 0,30 zu erwarten.

LEISTUNGSMERKMALE:

Leistungsstudien wurden wie in den CLSI-Leitlinien beschrieben durchgeführt. Die folgenden Leistungsdaten stellen typische Ergebnisse dar und sind nicht als Spezifikationen für ZYMUTEST™ HIA (Heparin Induced Antibodies) MonoStrip IgG anzusehen. Mathematische Analysen wurden mithilfe validierter Statistiksoftware in Übereinstimmung mit CLSI-Leitlinien durchgeführt.

Analytikleistung

Nachweisgrenze (LOD)

Eine interne Studie ergab eine LOD von 0,036 (A450nm).

Präzision

Probe	Wiederholbarkeit (n = 80)	
	Mittelwert (A450)	CV/SD
HIA IgG Positivkontrolle	1,49	CV = 2,7%
Negativkontrolle	0,04	SD = 0,005
HIT Probe IgG-positiv	0,93	CV = 3,6%
Reproduzierbarkeit (n = 75)		
Probe	Mittelwert (A450)	CV/SD
HIA IgG Positivkontrolle	1,34	CV = 5,8%
Negativkontrolle	0,05	SD = 0,01
HIT Probe IgG-positiv	0,83	CV = 9,5%

Interferierende Substanzen

Bei bis zu den folgenden Konzentrationen wurden keine Interferenzen beobachtet:

Rheumafaktor	UFH	LMWH
800 IU/mL	2,5 IU/mL	2,5 IU/mL

Klinische Leistungen

Eine klinische Studie wurde an 153 Plasma-/Serumproben von gesunden Probanden (82) und von Patienten mit HIT (71) durchgeführt.

Übereinstimmung

Isotyp	n	Referenzmethode	Übereinstimmung
IgG	153	IgG mit PF4-IgG-Test (IMMUCOR)	96,1%

Sensitivität/Spezifität

Isotyp	n	Sensitivität	Spezifität	Fläche unter der Kurve (ROC)	
IgG	153	96%	97%	0,987	
Isotyp	n	PPV	NPV	LR+	LR-
IgG	153	98%	96%	34,2	0,038

PPV: Positiver prädiktiver Wert

LR+: Likelihood Ratio +

NPV: Negativer prädiktiver Wert

LR-: Likelihood Ratio -

LITERATUR:

- Cuker A. et al. American Society of Hematology 2018 guidelines for management of venous thromboembolism: heparin-induced thrombocytopenia. Blood advances. 2018.
- Warkentin TE et al. Heparin induced thrombocytopenia in patient treated with low molecular weight heparin or unfractionated heparin. N. eng J Med 1995.
- Amiral J et al. Platelet factor 4 complexed to heparin is the target for antibodies generated in heparin induced thrombocytopenia. Thromb haemost. 1992.
- Amiral J et al. Antibodies to macromolecular platelet factor 4-heparin complexes in heparin induced thrombocytopenia: a study of 44 cases. Thromb Haemostasis 1995.
- Amiral J et al. Presence of autoantibodies to interleukin-8 or neutrophil-activating peptide-2 in patients with heparin associated thrombocytopenia. Blood. 1996.
- Amiral J. and Seghatchian J. An update on evidence based diagnostic and confirmatory testing strategies for heparin induced thrombocytopenia using combined immunological and functional assays. Elsevier. 2018.
- Marchetti M. et al. Heparin-Induced Thrombocytopenia: A Review of New Concepts in Pathogenesis, Diagnosis, and Management. Journal of Clinical Medicine. 2021.
- Panzer S. et al. Serological features of antibodies to protamine inducing thrombocytopenia and thrombosis. Clin Chem Lab Med. 2014.
- CLSI Document GP44-A4: "Procedures for the handling and processing of blood specimens for common laboratory tests".
- CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". 2008.
- CLSI Document EP28-A3c: "Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline – Third Edition". 2010.

Eine elektronische Version der Gebrauchsanweisung und das Sicherheitsdatenblatt (andere Sprachen) sind auf www.hyphe-biomed.com zu finden.

Für Kundenunterstützung wenden Sie sich bitte an Ihren örtlichen Anbieter oder Vertriebspartner (siehe www.hyphe-biomed.com).

Änderungen im Vergleich zur vorherigen Version.

Die folgenden Symbole sind auf der Produktkennzeichnung zu sehen:

REF	Katalognummer	LOT	Chargennummer	IVD	In-vitro-Diagnostikum
Rx	Numerische <x> Identifikation des Reagenz	i	Siehe Gebrauchsanweisung	WHO STD	WHO-Standardcode
CE	Temperaturgrenzwert	MA	Hersteller	YYYY-MM-DD	Verwendbar bis
XXXX	CE-Kennzeichnung der Konformität mit der ID-Nummer der benannten Stelle	→	Rekonstitutionsvolumen	CONTENTS	Inhalt
Cx	Numerische <x> Identifikation der Kontrolle	i-MA	Siehe Anweisungen im Methoden-/Applikationshandbuch	CONTAINS	Enthält
EXP	Verfallsdatum	Σ	Ausreichend für <n> Tests	UNIT	Maßeinheit
TARGET VALUE	Sollwert	☀	Vor Sonnenlicht und Wärme schützen	CALx	Numerische <x> Identifikation des Kalibrators
UDI	Eindeutige Geräteerkennung	BIO	Enthält biologisches Material tierischen Ursprungs	☹	Enthält menschliches Blut oder Plasmaderivate
DANGER	Gefahr	WARNING	Warnung	UKCA	Kennzeichnung der Konformität
CONTROL +	Positivkontrolle	CONTROL -	Negativkontrolle	☹	Biologische Risiken
ACCEPTANCE RANGE	Vertrauensbereich				