

CRYOcheck™ **IVD**

FAKTOR-MANGELPLASMEN

FACTOR II DEFICIENT PLASMA

Verwendungszweck

CRYOcheck Factor II Deficient Plasma dient in klinischen Laboren als Mangelplasma für die quantitative Bestimmung der Faktor-II-Aktivität in humanem Citratplasma (3,2 %) auf der Grundlage der Prothrombinzeit (PT)-Analyse. Das Produkt wird für die Ermittlung eines Faktor-II-Mangels und zur Behandlung von Hypoprothrombinämie verwendet. Für die In-vitro-Diagnostik.

Zusammenfassung und Testprinzip

Ein Mangel an Gerinnungsfaktoren kann angeboren oder erworben sein und die In-vivo-Hämostase¹ beeinträchtigen. Faktor II (Prothrombin) ist ein einkettiges Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 72 000 Da und ist sowohl für die intrinsische als auch für die extrinsische Gerinnung² wichtig. Plasmaproben mit einem Mangel an Gerinnungsfaktor II weisen eine verlängerte PT und aktivierte partielle Thromboplastinzeit (APTT) auf. Ein Faktor-II-Mangel wird in der Regel anhand eines modifizierten PT-Tests diagnostiziert. Wenn eine Patientenprobe mit Faktor-II-Mangelplasma gemischt wird, ist der Korrekturgrad der PT proportional zur Konzentration von Faktor II im Patientenplasma³.

Ein Faktor-II-Mangel, auch bekannt als Hypoprothrombinämie oder Prothrombinmangel, gehört zu den seltensten Blutgerinnungsstörungen und tritt bei etwa 1 von 1 bis 3 Millionen Menschen auf⁴. Die Hypoprothrombinämie ist durch eine dauerhaft niedrige Faktor-II-Antigenkonzentration und -aktivität gekennzeichnet. Patienten mit einer Prothrombin-Gerinnungsaktivität (Faktor-II-Aktivität) von <5 % gelten als schwer erkrankt und können unter verlängerten Blutungen nach Verletzungen, Schleimhautblutungen, Hämatomen und Hämarthrosen leiden. Die Faktor-II-Aktivitätswerte werden während der Behandlung überwacht und sollten bei 20–30 % FII-Aktivität liegen^{5,6,7}.

Reagenzien

CRYOcheck Factor II Deficient Plasma besteht aus normalem humanem Citratplasma, dem der Faktor II durch Immunadsorption entzogen wurde. Der Plasmapool wird anschließend mit HEPES-Puffer gepuffert, aliquotiert und zügig eingefroren. Faktor II wurde bei unter 1 % der Normalkonzentration sowohl mit funktionellen Methoden als auch mit Antigenmethoden analysiert. Es wurden weitere Gerinnungsfaktoren untersucht. Die Ergebnisse sind im Qualitätskontrollzertifikat zu der jeweiligen Chargennummer vermerkt.

VERSCHREIBUNGSPFLICHTIG.

Zur Verwendung durch professionelles Laborpersonal bei manuellen oder automatisierten Verfahren.

Produktbestandteile: Humanes Citratplasma, gepuffert mit 0,01 M HEPES.

Lagerung, Vorbereitung und Handhabung

Bei -40 bis -80 °C ist *CRYOcheck* Factor II Deficient Plasma bis zum Ende des auf der Verpackung angegebenen Monats stabil.

Jedes Fläschchen bei 37 °C (± 1 °C) im Wasserbad auftauen. Verwenden Sie dazu das separat erhältliche „Floatie“-Auftraugerät. Die Auftauzeiten sind wichtig und sind daher strikt einzuhalten. **Das Auftauen im Trockenbad oder auf einem Heizblock wird nicht empfohlen.** Die Verwendung einer Stoppuhr wird empfohlen. Die empfohlenen Auftauzeiten gemäß der Aliquotgröße sind der Auftautabelle zu entnehmen. Aufgetautes Plasma Raumtemperatur (18 bis 25 °C) annehmen lassen und jedes Reagenz vor Gebrauch vorsichtig schwenken.

Auftautabelle	
Aliquotgröße	Wasserbad mit 37 °C (± 1 °C)
1,0 mL	4 Minuten
1,5 mL	5 Minuten

CRYOcheck Factor II Deficient Plasma kann nach dem ersten Auftauen bis zu acht Stunden lang im Analysegerät (15 bis 19 °C) verwendet werden oder, wenn es im Original-Fläschchen verschlossen bei 2 bis 8 °C gelagert wird. Gekühltes Plasma Raumtemperatur (18 bis 25 °C) annehmen lassen und vor Gebrauch vorsichtig schwenken. **Aufgetautes Material ist nach acht Stunden zu verwerfen und darf nicht erneut eingefroren werden.**

Verfügbarkeit

Produkt	Artikelnr.	Format
<i>CRYOcheck</i> Factor II Deficient Plasma	FDP02-10	25 Fläschchen à 1,0 mL
	FDP02-15	25 Fläschchen à 1,5 mL

Geräte

Jedes Laboratorium das eigene Gerät gemäß der Gebrauchsanweisung des Geräteherstellers vorbereiten, wenn ein automatisierter Gerinnungsanalysator zur Durchführung des Tests verwendet wird.

Verfahren

Nach dem Auftauen und Vorbereiten ist *CRYOcheck* Factor II Deficient Plasma nach den üblichen Laborverfahren zur quantitativen Bestimmung von Faktor II zu verwenden.

Lieferumfang

- *CRYOcheck* Factor II Deficient Plasma

Zusätzlich erforderliches Material (nicht im Lieferumfang enthalten)

- Wasserbad mit 37 °C (± 1 °C) Dauertemperatur
- „Floatie“-Auftraugerät zum Auftauen der Fläschchen im Wasserbad
- Analyse-Reagenzien (PT-Reagens)
- Owren-Koller-Puffer oder Äquivalent

- Koagulometer oder automatisches Analysengerät (automatisierte Methode)
- Kalibrationsplasma (z. B. CRYOcheck Normal Reference Plasma)
- Material für die Qualitätskontrolle (z. B. CRYOcheck Reference Control Normal, CRYOcheck Abnormal 1 Reference Control, CRYOcheck Abnormal 2 Reference Control)
- Doppeltlogarithmisches Papier (2 Dekaden) (manuelle Methode)
- Kunststoffröhrchen (z. B. 12 × 75 mm)
- Probengefäße (automatisierte Methode)
- Kunststoff-Einmalpipetten
- Volumetrische Pipette (manuelle Methode)
- Timer (manuelle Methode)

Erstellung der Standardkurve

Die Methoden sind abhängig von den verwendeten Geräten. Empfohlene (extrinsische) Faktoranalyseprotokolle sind der Gebrauchsanweisung des Geräteherstellers zu entnehmen.

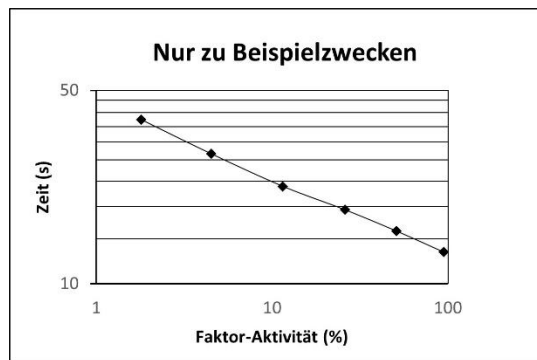
Bei der manuellen Methode erstellen Sie eine Standardkurve wie folgt:

1. Testreagenzien, Kalibrationsplasma und Puffer gemäß den Anweisungen des Herstellers vorbereiten.
2. Das Kalibrationsplasma wie folgt seriell von 1:10 bis 1:320 in Puffer verdünnen:

Röhrchen Nr.	Volumen des Puffers	Volumen des Kalibrationsplasmas	Verdünnung	Faktor (%)
1	1,8 mL	0,2 mL Kalibrationsplasma	1:10	100
2	1,0 mL	1,0 mL aus Röhrchen Nr. 1	1:20	50
3	1,0 mL	1,0 mL aus Röhrchen Nr. 2	1:40	25
4	1,0 mL	1,0 mL aus Röhrchen Nr. 3	1:80	12,5
5	1,0 mL	1,0 mL aus Röhrchen Nr. 4	1:160	6,25
6	1,0 mL	1,0 mL aus Röhrchen Nr. 5	1:320	3,12

*Hinweis: Dies ist **lediglich ein Beispiel** für eine serielle Verdünnungsreihe unter Verwendung von Kalibrationsplasma mit einer Faktor-II-Konzentration von 100 %. Es ist in jedem Fall die chargenspezifische Faktor-II-Konzentration des verwendeten Kalibrationsplasmas heranzuziehen. Bei Verwendung von CRYOcheck Normal Reference Plasma ist das chargenspezifische Test-Zertifikat zu beachten.*

3. Wärmen Sie das Thromboplastin auf 37 °C (±1 °C) vor.
4. 0,1 mL CRYOcheck Factor II Deficient Plasma, 0,1 mL aus Röhrchen Nr. 1 (100 % Faktor) in eine Reaktionsküvette geben. Gemäß den Anweisungen des Herstellers mischen und inkubieren.
5. 0,2 mL vorgewärmtes Thromboplastin zugeben und gleichzeitig den Timer starten. Gerinnung in Sekunden notieren.
6. Schritt 4 und 5 für Röhrchen Nr. 2 bis 6 wiederholen.
7. Die Gerinnungszeit auf doppeltlogarithmischem Papier in Sekunden (y-Achse) gegen die prozentuelle Faktor-II-Aktivität (x-Achse) auftragen.
8. Die Standardkurve als Ausgleichsgerade durch die erstellten Punkte konstruieren.



Probengewinnung und -vorbereitung

Die Patientenproben sind in 105 bis 109 mmol/L Natriumcitrat-Dihydrat-Antikoagulans (3,2 % w/v) im Verhältnis von 9 Teilen Blut auf 1 Teil Antikoagulans zu sammeln. Um thrombozytenarmes Plasma (<10 000 Thrombozyten/ μ L) zu erhalten, wird das Patientenplasma bei $1500 \times g$ für 15 Minuten zentrifugiert. Das Plasma ist gemäß den Richtlinien des Clinical Laboratory Standards Institute⁸ (CLSI) bei Raumtemperatur (15 bis 25 °C) aufzubewahren und innerhalb von vier Stunden nach der Gewinnung zu testen. Wenn Proben nicht innerhalb von vier Stunden getestet werden können, kann die Plasmaprobe eingefroren bei ≤ -70 °C bis zu 24 Monate aufbewahrt werden.

Testdurchführung

Manuelle Methode

1. Das Patientenplasma 1:10 in Puffer verdünnen.
2. Schritt 3 bis 5 der Erstellung der Standardkurve mit verdünntem Patientenplasma anstelle des verdünnten Kalibrationsplasmas wiederholen.
3. Die prozentuale Faktor-II-Aktivität anhand der Standardkurve ablesen. Hierzu den Schnittpunkt der Gerinnungszeit auf der Kurve ermitteln und die prozentuale Faktor-II-Aktivität an der x-Achse ablesen.
4. Zur Bestätigung des Wertes können bei Bedarf weitere Verdünnungen des Patientenplasmas hergestellt und getestet werden.

Automatisierte Methode

1. Bereiten Sie *CRYOcheck* Factor II Deficient Plasma gemäß den obigen Anweisungen zur Lagerung, Vorbereitung und Handhabung vor.
2. Bereiten Sie ein Fläschchen pro 14 Tests vor oder poolen Sie zwei Fläschchen, wenn Sie eine Kalibrierungskurve erstellen.
3. Bereiten Sie das Gerät gemäß den Gebrauchsanweisungen des Herstellers vor.
4. Bereiten Sie die Assay-Reagenzien (z. B. PT-Reagens, kalibrationsplasma, Puffer) gemäß den Anweisungen des Herstellers vor und laden Sie sie in das Gerät.
5. Laden Sie das aufgetaute *CRYOcheck* Factor II Deficient Plasma Fläschchen auf das Gerät.
6. Laden Sie Proben auf das Instrument.
7. Messen Sie die FII-Aktivität der Plasmaproben mit dem entsprechenden Instrumentenprotokoll.

Ergebnisse und Interpretation

Messwerte der Faktor-II-Aktivität unter dem Normalbereich weisen möglicherweise auf einen (kongenitalen oder erworbenen) Faktor-II-Mangel hin. Jedes Laboratorium sollte einen eigenen Normalbereich für die Faktor-II-Aktivität gemäß den CLSI-Richtlinien⁹ festlegen.

Qualitätskontrolle

Jedes Laboratorium sollte seine eigenen Qualitätskontrollbereiche (QC) festlegen, entweder anhand der vom Hersteller der Kontrollen angegebenen Zielwerte und -bereiche oder anhand des eigenen, im Laboratorium festgelegten Konfidenzniveaus. Anhand dieser QC-Bereiche lässt sich die Integrität des Testsystems¹⁰ überwachen und validieren. Das Laboratorium muss für alle Gerinnungstests mindestens zwei Kontrollstufen pro acht Betriebsstunden sowie bei jedem Reagenzwechsel einplanen¹¹.

Einschränkungen des Verfahrens

Wenn keine geeigneten Kontrollwerte erzielt werden, sind alle Komponenten des Testsystems (Reagenzien, Kontrollplasmen, Geräte und Bedienverfahren) auf ordnungsgemäße Funktionsfähigkeit zu überprüfen.

Erwartete Werte

Die erwarteten Werte sind abhängig von den eingesetzten Reagenzien, Geräten und Verfahren sowie vom Alter und von den Merkmalen der Population. Jedem Laboratorium wird empfohlen, einen eigenen Normalbereich für die Faktor-II-Aktivität festzulegen.

Eine Referenzintervallstudie wurde gemäß CLSI EP28-A3c¹² anhand von drei verschiedenen Chargen von *CRYOcheck* Factor II Deficient Plasma auf Stago Compact Max und Stago Evolution unter Verwendung von RecombiPlasTin 2G oder Neoplastine CI Plus durchgeführt. Es wurden Plasmaproben von 307 normalen, scheinbar gesunden Personen getestet. Das Referenzintervall ergab sich aus der Berechnung des nichtparametrischen 95%-Konfidenzintervalls der kombinierten Daten und wurde mit 71 bis 140 % Faktor-II-Aktivität bestimmt.

Leistungsmerkmale

Die Gerinnungsfaktorspezifikationen von *CRYOcheck* Factor II Deficient Plasma sind dem Qualitätskontrollzertifikat zu der jeweiligen Chargennummer zu entnehmen. Bei Beachtung der empfohlenen Methoden unterliegen die Ergebnisse den Einschränkungen des verwendeten Testsystems (d. h. Reagenzien, Gerät).

Methodenvergleich

Die Genauigkeit der Messung der Faktor-II-Aktivität mit *CRYOcheck* Factor II Deficient Plasma in einem modifizierten PT-Test (mit STA Neoplastine CI Plus 10 auf Stago STA-R Evolution) wurde in einer Methodenvergleichsstudie beurteilt, in der die Wiederfindung der Faktor II-Aktivität in 44 Proben mit dem Vergleichsprodukt Stago FII Def verglichen wurde. Die Ergebnisse wurden gemäß CLSI EP09c¹³ mit der gewichteten Deming-Regression analysiert. Die Regressionstabelle zeigt, dass *CRYOcheck* Factor II Deficient Plasma gleichwertige Leistungen wie die Vergleichsmethode erbringt.

N	Steigung		Schnittpunkt		Pearson-Korrelationskoeffizient (R)
	Wert	95%-KI	Wert	95%-KI	
44	0,983	0,949; 1,00	-0,132	-1,02; 2,20	0,990 (r ² = 0,979)

Die nachfolgende Tabelle zeigt die absoluten prognostizierten Bias-Werte für die medizinischen Entscheidungsstufen.

Medizinische Entscheidungsstufe (FII %)	Vorhergesagte Absolute Verzerrung (%)	Unteres KI (%)	Oberes KI (%)
5	-0,219	-1,04	1,98
10	-0,306	-1,08	1,76
50	-0,999	-1,75	-0,121
100	-1,87	-3,48	-0,701
150	-2,73	-5,93	-0,735

Präzision

Die Präzision von einer Charge von *CRYOcheck* Factor II Deficient Plasma zur quantitativen Bestimmung der Faktor-II-Aktivität wurde in Kombination mit einem PT-Reagenz auf einem Gerinnungsanalysator mit den beiden Kontrollstufen *CRYOcheck* Reference Control Normal (RCN) und *CRYOcheck* Abnormal 1 Reference Plasma (ARP1) beurteilt. Die Kontrollen wurden hierzu an 20 Tagen je doppelt in zwei Läufen pro Tag mit mehreren Bedienern analysiert. In der Analyse der resultierenden Daten gemäß CLSI EP05-A3¹⁴ wurde die Präzision jeweils innerhalb eines Laufs (Wiederholbarkeit), zwischen Läufen, zwischen Tagen sowie innerhalb einer Charge berechnet.

Die nachfolgende Tabelle zeigt die erwarteten Schätzwerte der Präzision unter Verwendung einer einzelnen, repräsentativen Charge von *CRYOcheck* Factor II Deficient Plasma. Für alle Kombinationen ergab sich eine Präzision von <10 % VK innerhalb der Charge.

HemosIL RecombiPlasTin 2G auf STA-R Evolution									
Probe	Mittelwert (%)	Innerhalb des Laufs		Zwischen Läufen		Zwischen Tagen		Innerhalb der Charge	
		SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
RCN	101	2,1	2,1	1,2	1,2	1,2	1,2	2,7	2,7
ARP1	39	0,7	1,8	0,3	0,8	0,6	1,6	1,0	2,5

Linearität

Eine Linearitätsstudie wurde gemäß CLSI EP06-Ed2¹⁵ mit drei Chargen von *CRYOcheck* Factor II Deficient Plasma durchgeführt. Plasma mit hoher Faktor-II-Aktivität (>200 %) wurde mit Faktor-II-Mangelplasma (<1 %) kombiniert, um neun Probenverdünnungen mit geschätzter Faktor-II-Aktivität im Bereich von 0 bis 239 % zu erhalten. Die Ergebnisse zeigen einen linearen Bereich von 12 bis 155 %.

Interferenzen

Interferenzstudien wurden gemäß CLSI EP07¹⁶ unter Verwendung einer einzelnen Charge von *CRYOcheck* Factor II Deficient Plasma in einem modifizierten PT-Assay durchgeführt. Plasmaproben wurden mit möglichen Störsubstanzen versetzt, und Replikate wurden zusammen mit 10 Replikaten der

entsprechenden Leerwertmatrixkontrolle getestet.. Die folgenden Substanzen zeigten bis zu den angegebenen Konzentrationen keine Interferenz.

Geprüfte Substanz	Testkonzentration
Hämoglobin	≤500 mg/dL
Intralipid	≤1000 mg/dL
Bilirubin (unkonjugiert)	30 mg/dL
Lupus-Antikoagulans	≤1,8 dRVVT-Verhältnis

Weitere Informationen zu möglichen Interferenzen sind den Anweisungen des jeweiligen PT-Reagenz zu entnehmen.. Bestimmte Antikoagulanzen wie Warfarin, Heparin, sowie direkte Thrombininhibitoren und FXa- Inhibitoren sind bekannte Störsubstanzen. Auch das Vorliegen von unspezifischen Faktor-Inhibitoren und Lupus-Antikoagulanzen beeinträchtigt bekanntermaßen einstufige Gerinnungstests⁹.

Vorsichtsmaßnahmen/Warnungen

Das Produkt nicht verwenden, wenn es bei Empfang aufgetaut ist oder, wenn es nicht unter den empfohlenen Lagerbedingungen gelagert wurde, wenn Sprünge oder Risse am Fläschchen erkennbar sind, oder wenn das Produkt beim Auftauen verklumpt ist. Ein Transfer des Materials in Behälter, die nicht aus silikonisiertem Glas oder aus Polypropylen bestehen, kann die Leistung beeinträchtigen und wird daher nicht empfohlen.

Schwerwiegende Vorkommnisse im Zusammenhang mit dem Gebrauch dieses Produkts sind dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder der Patient ansässig ist, zu melden.

Die EUDAMED-Datenbank bietet einen Kurzbericht über die Sicherheit und die klinische Leistung dieses Produkts.














Alle Blutprodukte sind als potenziell infektiös zu behandeln. Das Ausgangsmaterial für das vorliegende Produkt wurde in den aktuell vorgeschriebenen Tests auf durch Transfusion übertragbare Erkrankungen negativ getestet. Die derzeit bekannten Testverfahren sind keine vollständige Garantie, dass keine Infektionserreger über aus humanem Blut gewonnene Komponenten übertragen werden. Bei der Handhabung und Entsorgung dieser auf humanem Blut basierenden Produkte sind folglich die Empfehlungen gemäß den örtlichen Vorschriften für potenziell infektiöse humane Proben zu beachten¹⁷.

Literatur

1. Biggs R. Human blood coagulation, haemostasis and thrombosis, 3rd ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1984.
2. Halkier T. Mechanisms in blood coagulation, fibrinolysis, and the complement system. Cambridge: Cambridge University Press; 1991.
3. Triplett DA, Smith C. Routine testing in the coagulation laboratory. In: Triplett DA, editor. Laboratory evaluation of coagulation. Illinois: ASCP Press; 1982. p. 28-51.
4. Peyvandi F, Menegatti M. Treatment of rare factor deficiencies in 2016. *Hematology Am Soc Hemato Educ Program*. 2016 Dec; 2016(1):663-9.
5. Menegatti M, Peyvandi F. Treatment of rare factor deficiencies other than hemophilia. *Blood*. 2019 Jan; 133(5):415-424.
6. Schwartz, RA. Factor II Deficiency: Practice Essentials, Background, Pathophysiology. *Medscape*. 18 March 2024, <https://emedicine.medscape.com/article/209742-overview>.
7. Peyvandi F, Palla R, Menegatti M, *et al*. European Network of Rare Bleeding Disorders Group. Coagulation factor activity and clinical bleeding severity in rare bleeding disorders: results from the European Network of Rare Bleeding Disorders. *J Thromb Haemost*. 2012; 10(4):615-621.
8. CLSI. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays, 6th ed. CLSI guideline H21. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2024.
9. CLSI. Determination of Coagulation Factor Activities Using the One-Stage Clotting Assay, 2nd ed. CLSI guideline H48. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016.
10. Cembrowski GS, Carey RN. Laboratory Quality Management. Chicago: ASCP Press; 1989. p. 166-171.
11. CLIA 2004 – Code of Federal Regulations, 42CFR493.1269; 2004.
12. CLSI. Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory, 3rd ed. CLSI guideline EP28-A3c. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
13. CLSI. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples, 3rd ed. CLSI guideline EP09c. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
14. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures, 3rd ed. CLSI guideline EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
15. CLSI. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures, 2nd ed. CLSI guideline EP06. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020.
16. CLSI. Interference Testing in Clinical Chemistry, 3rd ed. CLSI guideline EP07. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
17. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 6th ed. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health; 2020.

Verwendete Symbole

	In-vitro-Diagnostikum		Hersteller
	Chargen-Code		Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft/in der Europäischen Union
	Artikelnummer		Bevollmächtigter in der Schweiz
	Verwendbar bis		Verschreibungspflichtig
	Temperaturbegrenzung		Elektronische Gebrauchsanweisung beachten
	Biogefährdung		

CE 0123



Europäischer Bevollmächtigter (nur Regulierungsangelegenheiten)
Emergo Europe—Westervoortsewijk 60, 6827 AT Arnhem, Niederlande



Schweizer Bevollmächtigter (nur Regulierungsangelegenheiten)
Endotell AG—Gewerbstrasse 25, 4123 Allschwil, Schweiz



Precision BioLogic Inc.
140 Eileen Stubbs Avenue | Dartmouth, Nova Scotia | B3B 0A9 | Canada

Tel: 1.800.267.2796/+1.902.468.6422

Fax: 1.800.267.0796/+1.902.468.6421

www.precisionbiologic.com