

CRYOcheck™ 

FAKTOR-MANGELPLASMEN

FACTOR IX DEFICIENT PLASMA

Verwendungszweck

CRYOcheck Factor IX Deficient Plasma dient in klinischen Laboren als Mangelplasma für die quantitative Bestimmung der Faktor-IX-Aktivität in humanem Citratplasma (3,2 %) mittels der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (APTT). Das Produkt wird für die Ermittlung eines Faktor-IX-Mangels und als Hilfe für die Behandlung von Personen mit Hämophilie B verwendet. Zur In-vitro-Diagnostik.

Zusammenfassung und Testprinzip

Ein Mangel an Gerinnungsfaktoren kann angeboren oder erworben sein und kann die In-vivo-Hämostase¹ beeinträchtigen. Faktor IX (Antihämophilie B-Faktor) ist ein einkettiges Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 55 000 bis 57 000 Da und ist für die intrinsische Gerinnung² notwendig. Plasmaproben mit einem Mangel am Faktor IX weisen eine verlängerte APTT auf. Faktor-IX-Mangel (Hämophilie B) wird in der Regel anhand eines modifizierten APTT-Tests diagnostiziert. Wenn eine Patientenprobe mit Faktor-IX-Mangelplasma gemischt wird, ist der Korrekturgrad der APTT proportional zur Konzentration von Faktor IX im Patientenplasma³.

Reagenzien

CRYOcheck Factor IX Deficient Plasma besteht aus normalem humanem Citratplasma, dem der Faktor IX durch Immunadsorption entzogen wurde. Das Plasma wird mit HEPES-Puffer gepuffert, aliquotiert und zügig tiefgefroren. CRYOcheck Factor IX Deficient Plasma wurde mit funktionellen Methoden und Antigenmethoden auf eine Faktor-IX-Konzentration von weniger als 1 % der Normalkonzentration getestet. Es wurden weitere Gerinnungsfaktoren untersucht. Die Ergebnisse sind im Qualitätskontrollzertifikat zu der jeweiligen Chargennummer vermerkt.

VERSCHREIBUNGSPFLICHTIG

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

Lagerung, Vorbereitung und Handhabung

Bei -40 bis -80 °C ist CRYOcheck Factor IX 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 abhängig von der Aliquotgröße sind der Auftautabelle zu entnehmen. Aufgetautes Plasma Raumtemperatur (18 °C bis 25 °C) annehmen lassen und vor Gebrauch vorsichtig schwenken.

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

CRYOcheck Factor IX Deficient Plasma kann nach dem Auftauen bis zu acht Stunden verwendet werden, wenn es im Original-Fläschchen verschlossen bei 2 °C bis 8 °C gelagert wird. Gekühltes Plasma Raumtemperatur (18°C 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
CRYOcheck Factor IX Deficient Plasma	FDP09-10	25 Fläschchen à 1,0 mL
	FDP09-15	25 Fläschchen à 1,5 mL

Geräte

Jedes Laboratorium das eigene Gerät gemäß der Gebrauchsanweisung des Geräteherstellers vorbereiten.

Verfahren

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

Lieferumfang

- CRYOcheck Factor IX Deficient Plasma

Zusätzlich erforderliches Material (nicht im Lieferumfang enthalten)

- Wasserbad mit 37 °C (±1 °C) Dauertemperatur
- „Floatie“-Auftaugerät zum Auftauen der Fläschchen im Wasserbad
- Testreagenzien (APTT und CaCl₂)
- Owren-Koller-Puffer oder Äquivalent
- Koagulometer oder automatisches Analysengerät
- 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)
- Kunststoffröhrchen (z. B. 12 × 75 mm)
- Probengefäße
- Kunststoff-Einmalpipetten
- Volumetrische Pipette
- Stoppuhr

Erstellung der Standardkurve

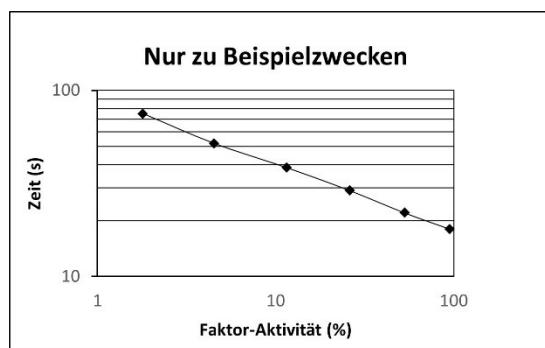
Die Methoden sind abhängig von den verwendeten Geräten. Empfohlene (intrinsische) Testprotokolle sind der Gebrauchsanweisung des Geräteherstellers zu entnehmen.

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-IX-Konzentration von 100 %. Es ist in jedem Fall die chargenspezifische Faktor-IX-Konzentration des verwendeten Kalibrationsplasmas heranzuziehen. Bei Verwendung von CRYOcheck Normal Reference Plasma ist das chargenspezifische Testzertifikat zu beachten.*

3. APTT-Reagenz und Calciumchlorid auf 37 °C (± 1 °C) vorwärmen.
4. 0,1 mL CRYOcheck Factor IX Deficient Plasma, 0,1 mL aus Röhrchen Nr. 1 (100 % Faktor) und 0,1 mL vorgewärmtes APTT-Reagenz in eine Reaktionsküvette geben. Gemäß den Anweisungen des Herstellers mischen und inkubieren.
5. 0,1 mL vorgewärmtes Calciumchlorid zugeben und gleichzeitig die Stoppuhr starten. Die Gerinnungszeit 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-IX-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 %) im Verhältnis von 9 Teilen Blut auf 1 Teil Antikoagulans zu sammeln. Um thrombozytenarmes Plasma ($< 10\,000$ Thrombozyten/ μL) zu erhalten, wird das Patientenplasma bei $1500 \times g$ für 15 Minuten zentrifugiert. Das Plasma ist gemäß den CLSI-Richtlinien⁴ bei Raumtemperatur aufzubewahren und innerhalb von vier Stunden nach der Gewinnung zu testen.

Testdurchführung

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-IX-Aktivität anhand der Standardkurve ablesen. Hierzu den Schnittpunkt der Gerinnungszeit auf der Kurve ermitteln und die prozentuale Faktor-IX-Aktivität an der x-Achse ablesen.
4. Zur Bestätigung des Wertes können bei Bedarf weitere Verdünnungen des Patientenplasmas hergestellt und getestet werden.

Ergebnisse und Interpretation

Messwerte der Faktor-IX-Aktivität unter dem Normalbereich weisen möglicherweise auf einen (kongenitalen oder erworbenen) Faktor-IX-Mangel hin. Jedes Laboratorium sollte einen eigenen Normalbereich für die Faktor-IX-Aktivität gemäß den CLSI-Richtlinien⁵ festlegen.

Qualitätskontrolle

Jedes Laboratorium muss eigene Qualitätskontrollbereiche (QC-Bereiche) mithilfe geeigneter statistischer Verfahren festlegen. Anhand dieser QC-Bereiche lässt sich die Integrität des Testsystems⁶ überwachen und validieren. Das Laboratorium muss für alle Gerinnungstests mindestens zwei Kontrollstufen pro acht Betriebsstunden sowie bei jedem Reagenzwechsel einplanen⁷.

Einschränkungen des Verfahrens

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

Übermäßig hämolytische, ikterische oder lipämische Proben dürfen nicht verwendet werden. Weitere Informationen zu möglichen Interferenzen sind den Anweisungen des jeweiligen APTT-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 Gerinnungstests⁵.

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-IX-Aktivität festzulegen.

Es wurde ein Referenzintervall anhand von drei verschiedenen Chargen von *CRYOcheck* Factor IX Deficient Plasma auf Stago Compact Max und Stago Evolution mit HemosIL APTT-SP oder STA CK Prest erstellt, wobei 60 Proben von anscheinend gesunden Personen getestet wurden. Das Referenzintervall ergab sich aus der Berechnung des nichtparametrischen 95%-Konfidenzintervalls und wurde mit 79 bis 180 % Faktor-IX-Aktivität gemäß der CLSI EP28-A3⁸ bestimmt.

Leistungsmerkmale

Die Gerinnungsfaktorspezifikationen von *CRYOcheck* Factor IX 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-IX-Aktivität mit *CRYOcheck* Factor IX Deficient Plasma im modifizierten APTT-Test (mit STA CK Prest auf STA-R Evolution) wurde in einer Methodenvergleichsstudie beurteilt, in der die Wiederfindung der FIX-Aktivität in 44 Proben mit einem Vergleichsprodukt Stago FIX DEF verglichen wurde. Die Ergebnisse wurden gemäß CLSI EP09c⁹ mit der gewichteten Deming-Regression analysiert. Die Regressionstabelle zeigt, dass *CRYOcheck* Factor IX Deficient Plasma gleichwertige Leistungen wie die Vergleichsmethode erbringt.

N	Steigung		Schnittpunkt		Pearson-Korrelationskoeffizient
	Wert	95%-KI	Wert	95%-KI	
44	1,08	1,05; 1,11	-1,69	-3,21; -0,08	0,975 ($r^2 = 0,951$)

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

Medizinische Entscheidungsstufe (FIX %)	Vorhergesagte Absolute Verzerrung (%)	Unteres KI (%)	Oberes KI (%)
5	-1,3	-2,7	-0,21
10	-0,88	-2,2	0,50
50	2,4	1,3	3,3
100	6,4	4,4	8,6
150	10,4	7,0	14,1

Präzision

Die Präzision von sechs Chargen von *CRYOcheck* Factor IX Deficient Plasma zur quantitativen Bestimmung der Faktor-IX-Aktivität wurde in Kombination mit verschiedenen APTT-Reagenzien auf verschiedenen Gerinnungsautomaten 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-A3¹⁰ 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 IX Deficient Plasma in Kombination mit verschiedenen APTT-Reagenzien und Analysegeräten. Die Ergebnisse ließen eine Präzision innerhalb einer Charge bei allen von < 10 % VK erkennen.

HemosIL APTT-SP 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	109	3,9	3,6	3,5	3,2	2,1	1,9	5,6	5,2
ARP1	42	1,8	4,3	0,2	0,5	1,5	3,5	2,3	5,5

HemosIL APTT-SP auf Compact Max									
Probe	Mittelwert (%)	Innerhalb des Laufs		Zwischen Läufen		Zwischen Tagen		Innerhalb der Charge	
		SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
RCN	104	4,8	4,7	0,0	0,0	2,9	2,8	5,6	5,4
ARP1	42	1,9	4,5	0,7	1,7	0,0	0,0	2,0	4,8

STA CK Prest 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	104	4,2	4,1	7,2	6,9	1,1	1,1	8,4	8,1
ARP1	44	1,3	2,9	3,0	6,7	1,4	3,3	3,5	8,0

Linearität

Eine Linearitätsstudie wurde gemäß der CLSI-Richtlinie EP06¹¹ mit zwei Chargen von *CRYOcheck* Factor IX Deficient Plasma in Kombination mit verschiedenen APTT-Reagenzien und Analysegeräten durchgeführt. Es wurden neun Probenlösungen vorbereitet, wobei Plasma mit hoher FIX-Aktivität (> 200 %) mit einem FIX-Mangelplasma (< 1 % FIX) kombiniert wurde. Somit war die Faktor-IX-Aktivität in einem Bereich von <1 bis ~160 % abgedeckt. Die Ergebnisse zeigen einen linearen Bereich von 0 bis 162 %.

Vorsichtsmaßnahmen/Warnungen

Das Produkt nicht verwenden, wenn es bei Empfang aufgetaut ist, 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 Garantie, dass keine Infektionserreger über aus humanem Blut gewonnene Produkte übertragen werden. Bei der Handhabung und Entsorgung dieser auf humanem Blut basierenden Produkte sind folglich die Empfehlungen für potenziell infektiöse humane Proben zu beachten¹².

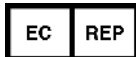
Literatur

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. 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.
5. CLSI. Determination of Coagulation Factor Activities Using the One-Stage Clotting Assay, 2nd ed. CLSI guideline H48. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016.
6. Cembrowski GS, Carey RN. Laboratory Quality Management. Chicago: ASCP Press; 1989. p. 166-171.
7. CLIA 2004 – Code of Federal Regulations, 42CFR493.1269; 2004.
8. CLSI. Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory, 3rd ed. CLSI guideline EP28-A3c. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
9. CLSI. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples, 3rd ed. CLSI guideline EP09c. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
10. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures, 3rd ed. CLSI guideline EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
11. CLSI. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures, 2nd ed. CLSI guideline EP06. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020.
12. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 6th ed. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health; 2020.

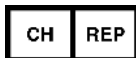
Verwendete Symbole

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

CE 0123



Europäischer Bevollmächtigter (nur Regulierungsangelegenheiten)
Emergo Europe—Westervoortsedijk 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