

# Evaluation von ProC® Ac R und Pefakit® APC-R Factor V Leiden als Ersatz für COATEST™ APC™ Resistance V

Elin Janet, Fuchs, BMA 20-23

Bildungsgang Biomedizinische Analytik HF

Inselspital Bern

Zentrum für Labormedizin (ZLM) Hämostase

## 1. Zusammenfassung

Zur koagulometrischen Detektion der durch die Faktor-V-Leiden (FVL)-Mutation verursachten Resistenz gegenüber aktiviertem Protein C (APC) verwendet das ZLM den COATEST™ APC™ Resistance V (Coatest). Der Coatest wird aber aufgrund der neuen EU-Verordnung 2017/746 über In-vitro-Diagnostika zukünftig nicht mehr hergestellt, weshalb das ZLM einen Ersatz benötigt. Dazu wurden ProC® Ac R Siemens (ProC) und Pefakit® APC-R Factor V Leiden Pentapharm (Pefakit), auf dem Atellica® COAG 360 System (Atellica) evaluiert und verglichen. Es wurde dazu die Übereinstimmung der gemessenen APC-Ratios mit den fast real-time Polymerase-Kettenreaktionen (rtPCR)-Resultaten überprüft. Eine Wildtyp-Probe wurde von ProC fälschlicherweise als heterozygote FVL-Mutation eingestuft. Die Pefakit-Resultate hingegen stimmen, ohne Ausnahme, mit den rtPCR-Resultaten überein. ProC und Pefakit sind evaluiert und erweisen sich beide als zuverlässige Tests zur APC-Resistenz und FVL-Detektion. Da die Übereinstimmung bei Pefakit jedoch besser ist, wird dieser nun als Ersatz für den Coatest eingeführt.

## 2. Einleitung

Das ZLM verwendet zur koagulometrischen Messung der APC-Resistenz, den Coatest auf dem Behring Coagulation System XP (BCS). Die Herstellung des Coatests wird jedoch auf Grund der neuen EU-Verordnung 2017/746 über In-vitro-Diagnostika demnächst eingestellt, weshalb das ZLM einen Ersatz benötigt.

FVL entsteht durch eine Punktmutation, welche dazu führt, dass aktivierter Faktor V (FVa) nur bedingt durch aktiviertes Protein C (APC) inaktiviert werden kann. Die angeborene FVL-Mutation führt deshalb zu einer APC-Resistenz. Liegt die FVL-Mutation heterozygot vor, führt dies zu einem siebenmal höheren Thromboserisiko. Sind beide Allele betroffen, liegt ein homozygotes FVL vor und das Risiko auf eine Thrombose steigert sich bis ums 80-fache. [1] [2]

## 3. Ziele und Fragestellungen

Ziel

Evaluation von ProC und Pefakit auf dem Atellica als Ersatz für Coatest auf dem BCS.

Fragestellungen

1. Korrelieren die von ProC und Pefakit auf dem Atellica gemessenen APC-Ratios mit denen vom Coatest auf dem BCS?
2. Mit welchem der neuen Tests kann zuverlässiger zwischen Wildtyp, heterozygoter und homozygoter FVL-Mutation unterschieden werden?
3. Ist eine Abhängigkeit zwischen der Konzentration von Anti-Xa und der von ProC und Pefakit gemessenen APC-Ratio erkennbar?

## Referenzen

- [1] Müller, J. (2010). Faktoren V und VIII. In B. Pötzsch, & K. Madlener (Hrsg.), Hämostaseologie (2. Auflage, S. 181-186). Springer.
- [2] Kyrle, P., Eichinger, S., Quehenberger, P., Pabinger-Fasching, I., Greinacher, A., Lubenow, N., Pötzsch, B., Madlener, K., Haas S. (2010). Pathogenese und Risikofaktoren der venösen Thrombose. In B. Pötzsch, & K. Madlener (Hrsg.), Hämostaseologie (2. Auflage, S. 392-429). Springer.
- [3] Weiss, C. (2019c). Basiswissen Medizinische Statistik (7. Auflage, S. 243-244). Springer.

## Abbildungen

- Abb. 1 Fuchs, E. (2023a). Vereinfachte Darstellung des Testprinzips von Pefakit. medi.  
Abb. 2 Fuchs, E. (2023b). Punktediagramm der Resultate inklusive Schwellenwerte. medi.

## 4. Material, Methodik, Vorgehen

Es wurden 86 gefrorene Citrat-Plasma-Proben mit vorliegendem FVL rtPCR-Resultat verwendet, um die Fragestellung zu beantworten. 50 dieser 86 stammen von Personen ohne eine FVL-Mutation. 32 Proben stammen von Personen mit einer heterozygoten FVL-Mutation und bei 4 Proben liegt eine homozygote FVL-Mutation vor. Die Proben wurden auf dem Atellica mittels ProC und Pefakit gemessen. In Abbildung 1 werden die Messprinzipien mit APC von Pefakit (links) und ProC (rechts) dargestellt. Für beide Tests wird noch je eine Messung ohne APC durchgeführt, damit die APC-Ratio berechnet werden kann.

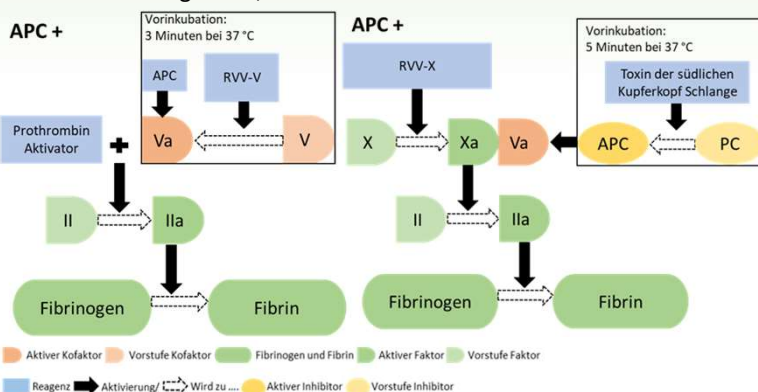


Abb. 1: Vereinfachtes Messprinzip von Pefakit (links) und ProC (rechts) (Fuchs, 2023a)

Um die Übereinstimmung zwischen der rtPCR und der APC-Ratio zu beurteilen wurde der Kappa-Koeffizient berechnet. Je näher das Resultat bei 1 ist, desto besser ist die Übereinstimmung. [3] Zuvor wurde aber ein Schwellenwert festgelegt, damit die APC-Ratio in Wildtyp, heterozygot und homozygot eingeteilt werden kann.

## 5. Ergebnisse/ Resultate

Mit dem Schwellenwert  $\leq 1.56$  für FVL heterozygot und  $\leq 1.05$  für FVL homozygot ergibt sich für ProC einen Kappa-Koeffizienten von 0.98.

Mit dem Schwellenwert  $\leq 1.7$  für FVL heterozygot und  $\leq 1.1$  für FVL homozygot ergibt sich für Pefakit einen Kappa-Koeffizienten von 1.00. In Abbildung 2 werden die Resultate inklusive der Schwellenwerte abgebildet.

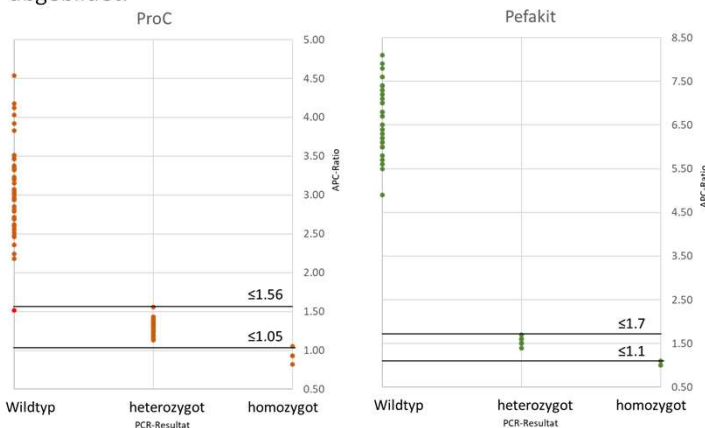


Abb. 2: Punktediagramm der Resultate inklusive Schwellenwerte (Fuchs, 2023b)

## 6. Diskussion

Die Übereinstimmung zwischen den Resultaten der rtPCR und der APC-Ratio ist bei Pefakit zuverlässiger. Grund dafür ist der bessere Kappa-Koeffizient. Zusehen ist dies auch in Abbildung 2, wo erkennbar wird, dass bei ProC ein Resultat falsch positiv ausgefallen ist.

Beide Tests sind evaluiert und Pefakit wird als Ersatz des Coatest eingeführt.