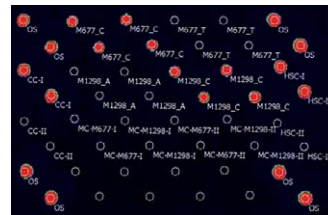
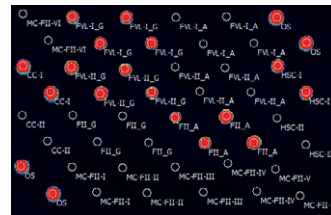




EUROArray FV / FII+ / MTHFR Direct



- **Bestimmung der wichtigsten genetischen Risikofaktoren der Thrombophilie in einem Ansatz**
- **Direkter Einsatz von EDTA-Blut: keine separate DNA-Isolierung nötig**
- **Höchste Ergebnissicherheit durch Ausschluss interferierender benachbarter Mutationen**

Technische Daten

Substrat	Einzelsträngige DNA-Sonden, Länge: 20 bis 45 Nukleotide
Testablauf	DNA-Extraktion / PCR (ca. 60 min) / Hybridisierung (60 min) / vollautomatische Auswertung Gesamt-Arbeitszeit ca. 2 min je Probe inkl. DNA-Extraktion mit Direkt-Verfahren (bei 40 Proben pro Lauf)
Reagenzien	Gebrauchsfertig
Kontrollen	DNA-Negativkontrolle und weitere integrierte Kontrollen
CE-IVD-Zertifikat	Kompletter Prozess inkl. DNA-Extraktion ist validiert
Packungsformat	5, 10 oder 20 Objektträger, jeder mit 5 Testfeldern oder 8 Objektträger jeweils mit 3 Testfeldern
Bestell-Nr.	MN 5820-0505-V, -1005-V, -2005-V, -0803-V: EUROArray FV / FII+ / MTHFR Direct
Verwandte Produkte	MN 5821-0505-V, -1005-V, -2005-V, -0803-V: EUROArray FV/FII+ Direct MN 5822-0505-V, -1005-V, -2005-V, -0803-V: EUROArray FV-Leiden Direct MN 5823-0505-V, -1005-V, -2005-V, -0803-V: EUROArray FII+ Direct MN 5824-0505-V, -1005-V, -2005-V, -0803-V: EUROArray MTHFR Direct

Klinische Bedeutung

Der EUROArray FV/FII+/MTHFR Direct dient zum molekulargenetischen Nachweis der wichtigsten genetischen Risikofaktoren der Thrombophilie.

Die Thrombophilie bezeichnet eine erhöhte Bereitschaft zur Blutgerinnung. Tiefe und oberflächliche venöse Thrombosen sowie Thromboembolien der Hirn-, Lungen- und Herzkranz-Gefäße stellen die häufigste Todesursache dar. Die wichtigsten genetischen Risikofaktoren für Thrombosen sind die Faktor-V-Leiden-Mutation (1691G>A), die Mutation 20210G>A im Faktor-II(Prothrombin)-Gen und die Polymorphismen 677C>T und 1298A>C im Methylen-Tetrahydrofolat-Reduktase(MTHFR)-Gen.

Der mutierte Faktor V kann durch aktiviertes Protein C (APC) nur unzureichend inaktiviert werden. Bedingt durch diese sogenannte APC-Resistenz entsteht eine erhöhte Thromboseneigung. Die Faktor-II(Prothrombin)-20210G>A-Mutation ist sowohl mit venösen als auch arteriellen Thrombosen assoziiert und führt durch Erhöhung der Prothrombin-Plasmakonzentration bereits bei heterozygotem Vorliegen zu einem ca. 3-fach erhöhten Risiko tiefer venöser Thrombosen. Die Varianten 677T bzw. 1298C des MTHFR-Gens führen zu einer verringerten Enzymaktivität, woraus sich ein erhöhter Homocysteinspiegel entwickeln kann (Hyperhomocysteinämie), der u. a. ein Risikofaktor für das Auftreten von Thrombosen ist.

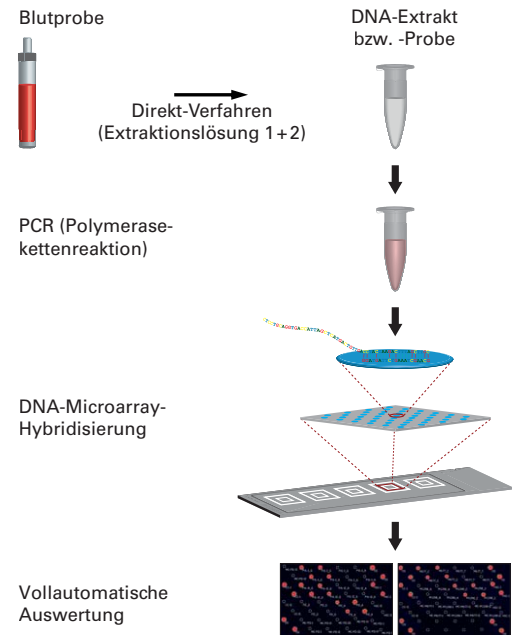
Stellenwert

Der EUROArray FV/FII+/MTHFR Direct ermöglicht eine schnell und einfach durchzuführende Bestimmung der Punktmutationen Faktor-V-Leiden (1691G>A), Faktor II(Prothrombin) 20210G>A und/oder MTHFR 677C>T und 1298A>C in einem einzigen Reaktionsansatz. Das Direkt-Verfahren ermöglicht den direkten Einsatz von Vollblutproben und macht eine zeit- und kostenaufwendige DNA-Isolierung überflüssig.



Testprinzip

Das vorliegende Testsystem dient zur molekulargenetischen In-vitro-Bestimmung von Punktmutationen bzw. Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNP, single nucleotide polymorphisms) im Faktor-V-Gen (Faktor-V-Leiden, 1691G>A, rs6025), Faktor-II(Prothrombin)-Gen (20210G>A, rs1799963) und/oder MTHFR-Gen (677C>T, rs1801133 und 1298A>C, rs1801131). Als Probenmaterial dient EDTA-Blut (Direkt-Verfahren) oder isolierte genomische DNA des Patienten. Bei Verwendung des Direkt-Verfahrens wird die genomische DNA der Blutzellen für die Polymerasekettenreaktion (PCR) zugänglich gemacht, indem das Blut mit der im Testsystem enthaltenen Extraktionslösung verdünnt und für eine Minute inkubiert wird. Im ersten Analyseschritt werden aus dem so hergestellten Extrakt bzw. alternativ einer genomischen Patienten-DNA-Probe mit Hilfe der PCR ein Abschnitt des Faktor-V-, ein Abschnitt des Faktor-II- und/oder zwei Abschnitte des MTHFR-Gens vervielfältigt. Die PCR-Produkte werden bei ihrer Entstehung mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert. Im zweiten Schritt werden die Produkte mit einem Microarray analysiert, auf dem zur vervielfältigten DNA komplementäre, allel-spezifische Sonden in Form kleiner runder Spots immobilisiert sind. Die spezifische Bindung (Hybridisierung) des fluoreszenzmarkierten PCR-Produkts an seine korrespondierende Oligonukleotid-Sonde wird mit einem speziellen Microarray-Scanner detektiert. Alle Spot-Signale werden mit der EUROArrayScan-Software automatisch ausgewertet. Der Genotyp wird für jeden Parameter aus dem Verhältnis der Signale, die an den allel-spezifischen Sonden entstehen, abgeleitet.



Testdurchführung

Bei direktem Einsatz von EDTA-Blut wird die Probe zunächst für eine Minute mit Extraktionslösung 1 inkubiert und anschließend Extraktionslösung 2 zugesetzt. Für die PCR wird ein Aliquot dieses Extrakts oder alternativ einer aufgereinigten DNA-Probe mit den vorgefertigten PCR-Reagenzien gemischt. Die PCR-Ansätze werden im Thermocycler und anschließend auf EUROArray-Objekträgern mit Microarray-BIOCHIPS unter Anwendung der TITERPLANE®-Technik inkubiert. Das Scannen und Auswerten erfolgt mit dem EUROArrayScanner (inkl. EUROArrayScan-Software). Dies ermöglicht eine vollautomatische Auswertung der EUROArray-Analysen und eine detaillierte Dokumentation der Ergebnisse.

Sensitivität und Spezifität

Das Testsystem wurde anhand molekulargenetisch vorcharakterisierten Probenmaterials überprüft.

Referenzproben	Referenzmethode	Sensitivität bezogen auf Referenzmethode	Spezifität bezogen auf Referenzmethode
109 (70 DNA- und 39 Blutproben)	molekulargenetisch	100%	100%

Robustheit

Für 127 untersuchte DNA-Proben war die Bestimmung in allen Fällen (100%) erfolgreich. Mit dem Direkt-Verfahren war für 122 untersuchte EDTA-Blutproben die Bestimmung ebenfalls in allen Fällen (100%) erfolgreich.

Literatur

- Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Clinical chemistry and molecular diagnostics. ElsevierInc (2006).
- Herrmann FH, Salazar-Sanchez L, Schröder W, Grimm R, Schuster G, Jimenez-Arce G, Chavez M, Singh JR. Prevalence of Molecular Risk Factors FV Leiden, FV HR2, FII 20210G>A and MTHFR 677C>T in Different Populations and Ethnic Groups of Germany, Costa Rica and India. IJHG 1 (2001) 33-39.
- Mannucci PM, Franchini M. Classic thrombophilic gene variants. Thromb Haemost. 2015 May 28;114(4).