



Arachidonová kyselina

REF AG003K
R 3 x 7,5 µmol



www.hyphen-biomed.com

155, rue d'Eragny
95000 NEUVILLE SUR OISE
FRANCE
Tel. : +33 (0)1 34 40 65 10
Fax : +33 (0)1 34 48 72 36
info@hyphen-biomed.com

Revize: 11_2023

POUŽITÍ:

Destičkový agonista pro světelnou agregometrii (LTA) pro in vitro kvantitativní stanovení agregace destiček v lidské citrátové plazmě automatickou nebo poloautomatickou metodou.

Tato metoda přispěje k diagnóze funkčních poruch destiček a měření účinnosti antiplateletických léčiv.

Pouze pro použití In Vitro v laboratoři vyškoleným personálem.

SOUHRN:

Technický:¹⁻³

Funkce destiček je měřena světelnou agregometrií (LTA). Metoda je založena na prostupnosti světla vzorkem plazmy bohaté na destičky (PRP). Prostupnost světla skrz PRP je porovnána s referenční kvyetou obsahující plazmu chudou na destičky (PPP). V PPP je prostupnost světla 100%, v PRP 0%.

Po přimíchání destičkového agonisty do PRP destičky agregují, a prostupnost světla vzorkem stoupá.

Klinický:³⁻⁸

Schopnost destiček reagovat na určité agonisty je základem rozlišení typů poruch funkce destiček – vrozených (Glanzmannova trombastenie, Syndrom šedých destiček, Bernard-Soulier syndrom) nebo získaných (myelodysplastické nebo myeloproliferativní, Waldeströмова choroba, mnohočetný myelom).

Těž je metoda určena ke kontrole efektu antiagregační terapie léky jako jsou Aspirin, thienopyridiny, NSAID, P₂Y₁₂ inhibitory receptorů a GPIIb/IIIa inhibitory.

PRINCIP STANOVENÍ:

Po přidání arachidonové kyseliny do zdravé plazmy bohaté na destičky (PRP) je indukována tvorba thromboxanu A₂ enzymem cyklooxygenázou a TX syntetázou. TXA₂ je silný aktivátor destiček potřebný pro agregaci po reakci na některé stimuly.⁵⁻⁷

REAGENCIE:

R Arachidonová kyselina, přibližně 7,5 µmol, lyofilizováno. Obsahuje Tert-butyl-4-methoxyphenol, Metabisulfát sodný a stabilizátory.

Varování! H319: Způsobuje vážné podráždění očí.

UPOZORNĚNÍ:

- S biologickými produkty musí být zacházeno s opatrností jako s potenciálně nebezpečným materiálem.
- Likvidujte odpad dle lokálních předpisů.
- Shrnutí pro bezpečnost a výkon (SSP) je dostupné v Evropské databázi zdravotnických prostředků (Eudamed), nebo na žádost od výrobce.
- Důkladně si přečtěte bezpečnostní list reagentie.
- P264: Důkladně si umyjte ruce po manipulaci.
- P280: Používejte ochranné prostředky – rukavice, oblečení, ochranu očí a obličej.
- P305+351+338: PŘI STYKU S OČIMA: Opatrně vypláchněte několik minut vodou. Pokud je to možné, odstraňte kontaktní čočky. Dál promývejte.
- P337+313: Při podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc.
- Držte mimo přímé sluneční světlo a teplo.
- Pro zajištění optimálního výsledku testování doporučujeme testovat vzorky a kontroly bez přerušování.
- Rekonstituovaná reagentie, která zežloutne nebo dává méně než 50% agregace s normálními destičkami, by neměla být použita.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ:

Reagentie jsou lyofilizované a uzavřené pod vakuem. Zátku odstraňte opatrně, aby nedošlo ke ztrátě lyofilizátu.

R Arachidonová kyselina

Použití pro agregometr

Nařeďte každou lahvičku **přesně 0,5 ml destilované vody** a mírně míchejte, dokud nedojde k úplnému rozpuštění jejího obsahu.

Nechte stabilizovat 30 minut při pokojové teplotě (18-25°C), občas promíchejte.

Arachidonovou kyselinu nařeďte následovně (příklad pro 1ml):

Finální koncentrace v testu (mM)	1,5	1
Připravte následující 10X roztok		
„10X“ Arachidonová kyselina příprava (mM)	15	10
Arachidonová kyselina 10 mM (µl)	1000	667
Fyziologický roztok (µl)	0	333

Homogenizujte reagentie před použitím.

Použití pro analyzátor

Nařeďte každou lahvičku přesně **0,625 ml destilované vody (10 mM)**, opatrně promíchejte, dokud se úplně nerozpustí. Nechte stabilizovat 30 minut při pokojové teplotě (18-25°C) za občasného promíchání.

Nařeďte Arachidonovou kyselinu následovně (příklad pro 1 ml):

Finální koncentrace v testu (mM)	1,5	1
Připravte následující 8X roztok		
„8X“ Arachidonová kyselina příprava (mM)	12	8
Arachidonová kyselina 12 mM (µl)	1000	667
Fyziologický roztok (µl)	0	333

Promíchejte před každým použitím.

SKLADOVACÍ PODMÍNKY A STABILITA:

Reagentie musí být skladována při teplotě 2-8°C ve svém originálním obalu. Pak je stabilní do data expirace uvedeného na krabičce.

Rozpuštěná reagentie po otevření je stabilní viz níže (pokud je uchováván v originální lahvičce, uzavřen originální zátkou a je zabráněno kontaminaci a odpařování):

- **7 dní** při 2-8°C
- **24 hodin** při pokojové teplotě (18-25°C).
- **2 měsíce** při teplotě -20°C a nižší*
- **Stabilita v analyzátoru: Viz aplikační protokol pro daný analyzátor.**

*Rozmrazujte pouze jednou, při pokojové teplotě (18-25°C) a ihned použijte.

REAGENCIE A MATERIÁL POTŘEBNÝ, ALE V KITU NEOBSAŽENÝ:

- Laboratorní materiál.
- Fyziologický roztok (0,9% NaCl).
- SB Kyvety (064-1041-9) a SB Set Tool (063-4151-5) pro CS a CN sérii.
- Automatický analyzátor, jako jsou CS a CN série.
- Světelný agregometr.

Aplikační protokoly pro ostatní analyzátory mohou být validovány výrobcem přístroje dle nařízení 2017/746 (EU), pokud není modifikován zamýšlený účel reagentie.

PŘÍPRAVA PLAZMY (ODBĚR VZORKU):

Odběr, příprava a skladování vzorků (Plazma bohatá na destičky a plazma chudá na destičky), by měli být prováděny dle laboratorních a ostatních validních řádů^{3,10}.

Krev (9 dílů) opatrně odeberte do citrátu trisodného (1 díl, 0,109M, 3,2%) přímou venepunkcí.

CLSI H58-A a studie^{3, 10}. Měření by mělo být provedeno na čerstvé krvi maximálně 4 hodiny po odběru.

PROTOKOL:

Používejte destičkové agonisty při 1 mM. Pokud je destičková agregace abnormální, použijte při měření vyšší koncentraci Arachidonové kyseliny (např.: 1,5 mM)^{1, 3}.

HYPHEN BioMed má k dispozici aplikační protokoly pro definované skupiny analyzátorů. Tyto protokoly obsahují specifické postupy a informace o výkonu a doplňují informace uvedené v tomto příbalovém letáku.

Agregometr:

1. Do každé kvety vložte míchadlo.
2. Stanovte 100% bod agregace s kvetou obsahující 360 µl PPP.
3. Napipetujte 360 µl PRP do druhé kvety. Inkubujte 2 minuty při 37°C a stanovte 0% agregaci s PRP.
4. Přidejte 40 µl 10X roztok Kyseliny Arachidonové přímo do kvety s PRP dlouhou, tenkou pipetou mimo okraj kvety.
5. Počkejte 5 až 10 minut, aby se vyvinul agregační profil vzorku. Pokud jsou zapotřebí jiné reakční objemy, než jsou uvedeny výše, zachovejte striktně poměr reagensů.

KONTROLA KVALITY:

Komerční kontroly nejsou dostupné.

Kontrolní vzorek, odebraný od zdravého pacienta bez žádné známé abnormality funkce destiček, musí být připraven stejným způsobem jako měřený vzorek.

Kontrolu kvality začleňte do každé série testů. Vždy při změně šarže reagensie by měla být provedena nová kontrola. Stejně tak po každé větší údržbě nebo opravě přístroje, nebo pokud je výsledek kontroly mimo očekávané meze – vždy je nutné zkontrolovat i ostatní parametry systému.

VÝSLEDKY:

- Výsledky jsou vypočteny z agregační křivky a z % maxima agregace. Tyto parametry závisí na použitém přístroji a normální hodnoty by měly být stanoveny laboratoří.
- Posouzení výsledků by mělo být provedeno v kontextu klinického stavu pacienta, počtu destiček, potenciálních dopadů branných léčiv a jiných, preanalytických vlivů.^{11, 12}
- Abnormální křivky potvrďte opakováním testu.
- Variace mezi šaržemi reagensie, měřena na 3 šaržích, je %CV ≤ 10% (normální vzorek).

LIMITY:

- Pro získání optimálního průběhu testu je potřeba pečlivě dodržovat všechny pracovní instrukce, které byly výrobcem Hyphen-BioMed validovány.
- Reagensie neobvyklého vzhledu, obsahující koagulum nebo jevící známky kontaminace, by měla být vyřazena z použití.
- Vzorky neobvyklého vzhledu, nebo jevící známky aktivace, by neměly být testovány.
- Jakékoliv změny měření musí být validovány laboratoří, aby se zachoval výkon metody.
- Pokud je počet destiček menší než 150 x 10⁹/l nebo více než 600 x 10⁹/l, naměřené výsledky mohou být ovlivněny. Počet destiček u PRP vzorků nemusí být upraven na standardizovanou hodnotu autologní PPP³.

OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY:

Stanovený referenční interval interní studie, ze vzorků zdravých jedinců s 1 mM Arachidonovou kyselinou na agregometru (n=50), na CS sérii (n=50) a na CN sérii (n=74), byl naměřen mezi 55 a 101%, mezi 64 a 98% a mezi 78 a 95% respektive (Centrální 90%, 95 percentil)¹³.

Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní referenční rozmezí^{3, 10, 14}.

CHARAKTERISTIKA:

Studie výkonu byly provedeny dle CLSI směrnice.

Následující získaná data ukazují typické výsledky – nejsou určeny pro specifikaci Arachidonové kyseliny.

Matematická analýza byla provedena validovaným statistickým softwarem dle CLSI směrnice.

Pro automatické měření jsou výkonnostní data v daných aplikačních protokolech.

Agregometr

Přesnost

Studie přesnosti byly provedeny s normálními a abnormálními kontrolami, 1 série, 10 opakování.

Vzorek	Opakovatelnost	
	% Max agregace	CV%
Normální	76%	9,4%
Abnormální	20%	26,8%

Interference

Nebyly zjištěny interference molekul do následujících koncentrací:

Bilirubin C	Bilirubin F	Intralipidy	Hemoglobin
30 mg/dl	30 mg/dl	360 mg/dl	250 mg/dl

Klinický výkon

Shoda					
Agonista		Referenční metoda		Shoda (n=113)	
Arachidonové kyselina (1mM)		Helena reagent		97%	
Citlivost/Specifická					
Agonista	N	Citlivost	Specifická	Prostor po křivkou (ROC)	
Arachidonová kyselina	113	96%	98%	0,998	
Agonista	N	PPV	NPV	LR+	LR-
Arachidonová kyselina	113	98%	97%	10,97	0,00

CS a CN série

Přesnost

Studie přesnosti byly provedeny na normálních a abnormálních vzorcích, 1 série, 30 opakování.

CS série	Opakovatelnost	
	% Max agregace	CV%
Normální	88%	3,0%
Abnormální	13%	15,9%
CN série	Opakovatelnost	
	% Max agregace	CV%
Normální	89%	3,7%
Abnormální	17%	12,3%

Interference

Interference jsou definovány použitým analytickým systémem a jsou vypsány v příslušném aplikačním protokolu.

Klinický výkon

Shoda					
Agonista		Referenční metoda		Shoda (n=114) (CS-série)	
Arachidonová kyselina		Helena reagent		93%	
Citlivost/Specifická					
Agonista	N	Citlivost	Specifická	Prostor po křivkou (ROC)	
Arachidonová kyselina	113	95%	91%	0,983	
Agonista	N	PPV	NPV	LR+	LR-
Arachidonová kyselina	113	91%	95%	54,96	0,04

PPV = Předpokládaná hodnota pozitivního výsledku

NPV = Předpokládaná hodnota negativního výsledku

LR+ = Poměr pravděpodobnosti +











LR- = Poměr pravděpodobnosti -

Klinický výkon byl definován při 1mM Arachidonové kyseliny pro antidestičková léčiva a normální vzorky, a potvrzen při 1,5 mM pro krvácivý syndrom, dvojitou antidestičkovou terapií a normální vzorky.

REFERENCE:

1. Le Blanc J. et al. Advances in Platelet Function Testing-Light Transmission Aggregometry and Beyond. J Clin Med. 2020.
2. Egashira M. et al. The Basic Evaluation of Light Transmission Platelet Aggregation Method on an Automated Coagulation Analyzer CN-6000. Sysmex Journal International. 2020.
3. Cattaneo M. et al. Recommendations for the Standardization of Light Transmission Aggregometry: A Consensus of the Working Party from the Platelet Physiology Subcommittee of SSC/ISTH. J Thromb Haemost. 2013.
4. Michelson AD. et al. How I use laboratory monitoring of antiplatelet therapy. Blood. 2017.

5. Yardumian DA. *et al.* Laboratory investigation of platelet function: a review of methodology. *J Clin Pathol.* 1986..
6. Zhou L. *et al.* Platelet aggregation testing in platelet-rich plasma: description of procedures with the aim to develop standards in the field. *Am J Clin Pathol.* 2005.
7. Angiolillo DJ. *et al.* Basic principles of platelet biology and clinical implications. *Circ J.* 2010.
8. Gresele P. Subcommittee on Platelet Physiology of the International Society on Thrombosis and Hemostasis. Diagnosis of inherited platelet function disorders: guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost.* 2015.
9. McCabe White M. *et al.* Platelet protocols: research and clinical laboratory procedures. Elsevier Science. 1999.
10. CLSI. Platelet Function Testing by Aggregometry; Approved Guideline. CLSI document H58-A (ISBN 1-56238-683-2). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087 USA 2012.
11. Kaeng W.L. *et al.* Effects of Lifestyle on Hemostasis, Fibrinolysis, and Platelet Reactivity. *Arch Intern Med.* 2003.
12. Olas B. and Brys M. Effects of coffee, energy drinks and their components on hemostasis: The hypothetical mechanisms of their action. *Food and Chemical Toxicology.* 2019.
13. CLSI Document EP28-A3c: "Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline – Third Edition". 2010.
14. Munnix *et al.*, Harmonizing light transmission aggregometry in the Netherlands by implementation of the SSC-ISTH guideline, *Platelets.* 2021.

REF Katalogové číslo	LOT Číslo šarže	IVD In Vitro diagnostický prostředek
Rx Numerický identifikátor reagenie Teplota	 Viz návod k použití	WHO STD WHO kód standardu Expirace
 CE značka s číslem certifikovaného orgánu	 Výrobce	 YYYY-MM-DD
Cx Numerický identifikátor kontroly	→ Rekonstituční objem	CONTENTS Obsah
EXP Doba Expirace	 Viz aplikační protokol	CONTAINS Obsahuje
TARGET VALUE Cílová hodnota	 Počet testů	UNIT Jednotky
UDI Identifikátor produktu	 Skladujte mimo sluneční světlo	CALx Numerický identifikátor kalibrátoru
DANGER Nebezpečí	 Obsahuje materiál biologického původu	 Obsahuje lidskou plazmu nebo deriváty
 Biologické riziko	WARNING Varování	UK CA UKCA značení konformity
	ACCEPTANCE RANGE Přijatelné rozmezí	