

IVD

KOLAGEN

REF AG005K



R1 3 x 0,5 mg R2 3 x 12 ml

Kolagen pro agregační testy



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: 06_2021

POUŽITÍ:

Pro In Vitro diagnostické použití. Určen pro měření agregačních schopností trombocytů

SOUHRN:

Určen pro zkoumání vrozených (např. Glanzmannova trombastenie, Syndrom šedých destiček, Storage pool disease) nebo získaných trombotií (myelodysplastické nebo myeloproliferativní sy, Waldenströmova choroba, mnohočetný myelom). Těž ke kontrole efektu antiagregační terapie léky jako jsou Aspirin, thienopyridiny, NSAID, abciximab nebo jiné inhibitory GP IIb/IIIa.

PRINCIP STANOVENÍ:

Po přidání kolagenu do plazmy bohaté na destičky (PRP) adhezuje kolagen k destičkám prostřednictvím receptorů GPIa/IIa a GPVI. GPVI je odpovědný za aktivaci destiček, která pak vede k uvolnění ADP a thromboxanu A2 a k mobilizaci Ca^(1,2,3). Agregační odpověď na kolagen je typická a je závislá na koncentraci kolagenu – lag fáze následovaná vlnou agregační odpovědi. Kolagen je silný agregační agonista.

REAGENCIE:

R1: Kolagen - Kolagen, lyofilizovaný v přítomnosti stabilizátorů. Původ kolagenu: - kolagen z kořských šlach (zejména typ I), **3 x 0,5 mg v lahvičce**

R2: Diluent pro kolagen**3 x 12 ml v lahvičce****UPOZORNĚNÍ:**

- S biologickými produkty musí být zacházeno s opatrností jako s potenciálně nebezpečným materiálem.
- Likvidujte odpad dle lokálních předpisů.
- S reagenty zacházejte opatrně, aby nedošlo během užívání ke kontaminaci. Minimalizujte možnosti odpařování reagentie během používání zmenšením kontaktního povrchu mezi reagentií a vzduchem.
- Pro uchování dobré stability uzavírejte lahvičku po použití její vlastní zátkou.
- Stabilitní studie provedené po dobu 3 týdnů při teplotě 30°C ukázaly, že reagentie může být přepravována za pokojové teploty po krátkou dobu bez poškození.
- Pro zajištění optimálního výsledku testování doporučujeme testovat vzorky a kontroly bez přerušování.
- Pro diagnostiku In Vitro.

PŘÍPRAVA A STABILITA REAGENCIÍ:

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

R1 Kolagen**Použití pro agregometr**

Naředte každou lahvičku **přesně 0,5 ml destilované vody** a mírně michejte, dokud nedojde k úplnému rozpuštění jejího obsahu. Nechte stát 30 min. při pokojové teplotě (18-25°C); za občasného promíchání. Před každým použitím obsah ještě promíchejte.

Použití pro analyzátor

Naředte každou lahvičku přesně **0,625 ml destilované vody** a opatrně promíchejte, dokud se úplně nerozpustí. Nechte stabilizovat 30 minut při pokojové teplotě (18-25°C) za občasného promíchání. Promíchejte před každým použitím.

Rozpuštěný reagent po otevření je stabilní, jak je uvedeno níže (pokud je uchováván v originální lahvičce, uzavřen originální zátkou a je zabráněno kontaminaci a odpařování):

- 4 týdny při 2-8°C
- 24 hodin při pokojové teplotě (18-25°C).
- **Nemrazte.**

R2: Diluent pro kolagen

Připraven k použití. Nechte stabilizovat 30 minut při pokojové teplotě (18-25°C). Před použitím promíchejte.

Stabilita reagentu, pokud je vyloučena kontaminace nebo odpařování a pokud je skladována ve svém originálním obalu je:

- 4 týdny při 2-8°C
- 24 hodin při pokojové teplotě (18-25°C)
- **nemrazte**

SKLADOVACÍ PODMÍNKY:

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

REAGENCIE A MATERIÁL POTŘEBNÝ, ALE V KITU NEOBSAŽENÝ:**Reagentie:**

- Destilovaná voda

Materiál:

- Světelný agregometr.
- Analyzátor Sysmex CS serie a spotřební materiál pro tyto analyzátor
- Kalibrované pipety

PŘÍPRAVA PLAZMY (ODBĚR VZORKU):

Vzorek by měl být připraven a skladován ve shodě s místními doporučeními (pro USA viz CLSI doporučení). Pro vyšetřování trombotií by neměl pacient užívat žádné léky se známým vlivem na funkci destiček (např. aspirin) alespoň 10 dní před odběrem vzorku. Dále by se měl vyvarovat tučných jídel, kávy a mléčných výrobků nejméně 12 hodin před odběrem vzorku⁴.

Vzorek:

Lidská citrátová plazma

Odběr:

Odběr krve by měl být proveden opatrně, je nutné se vyvarovat stázy, hemolýzy, kontaminace tkáňovým faktorem, ovlivnění sklem. Krev (9 objemů) musí být odebrána do 0.109 M citrátu sodného (1 objem) jako antikoagulant. Dbejte na správné naplnění zkumavky. Promíchejte převrácením (4-5x), **vzorek ponechte za pokojové teploty (18-25°C)**. Nepoužívejte zkumavky s CTAD k odběru.

Centrifugace:

Příprava plazmy bohaté PRP) a chudé na destičky (PPP):

1. připravte PRP centrifugací citrátové plně krve při 150g po dobu 10 minut za pokojové teploty (18-25°C)
2. prohlédněte vrstvu plazmy, zda neobsahuje erytrocyty. Pokud ano, centrifugujte znovu při 150g ještě 5 minut.
3. pro přenesení plazmy použijte plastové pipety a plazmu s destičkami nasávejte do pipety opatrně aby nebyl porušen buffy coat nebo vrstva erytrocytů. Přeneste do zkumavky s označením PRP. **Tuto zkumavku zazátkujte a nechte stát za pokojové teploty.**
4. připravte PPP centrifugací dalšího vzorku krve při 2000 – 2500g po dobu 15 minut. Prohlédněte plazmu, zda není hemolytická. Potom přeneste do zkumavky označené PPP, **zkumavku zazátkujte a nechte stát při pokojové teplotě.**
5. Ohledně vhodného počtu destiček v PRP plazmě se řiďte doporučením ISTH⁵.

PROVEDENÍ:**Automatizované metody:**

Aplikace pro analyzátor Sysmex CS serie je dostupná na vyžádání. Respektujte specifika jednotlivých analyzátorů

Agregometr: příprava různých ředění kolagenu:

Pro kontrolu efektu antiagregační terapie se doporučuje použití **finální koncentrace kolagenu 10 a 2 µg/ml** (finální koncentrace). Pro diagnostiku trombotií použijte **finální koncentraci 2 µg/ml**. Ve skleněné zkumavce připravte požadovaný objem naředěného kolagenu dle následující tabulky.

Koncentrace kolagenu (µg/ml)	200	40
Kolagen (µl) (conc.)	100 (1mg/ml)	100 (200µg/ml)
Diluent kolagenu (µl)	400	400
finální koncentrace v testu (µg/ml)	10	2

Protokol a výsledky:

Testování musí být provedeno do 3 hodin po odběru vzorku.

1. Do každé měřicí kyvety dejte míchadlo
2. Připravte Blank napipetováním 300 µl PPP do kyvety. Proměřte jako 100% agregace
3. Napipetujte 285 µl PRP do druhé kyvety. Inkubujte 2 minuty při 37°C a proměřte jako 0% agregace
4. Přidejte 15 µl kolagenu (40 nebo 200 µg/ml) přímo do PRP pomocí dlouhé pipetovací špičky. **Nenechejte reagent stékat po stěně kyvety.**
5. Nechte probíhat agregaci po dobu 10 minut.

Každá laboratoř si ustanoví svůj vlastní protokol a ověří očekávané výsledky za svých pracovních podmínek – kombinace reagentie, přístroj a protokol. Uživatel je odpovědný za validaci testovacího procesu, pokud provede změny v testovacím protokolu ovlivňující výsledek.

KONTROLA KVALITY:

Použití kontrol kvality ve shodě se správnou laboratorní praxí umožní validovat kombinaci homogenitu provedení pro každou serii testů a homogenost reaktivity mezi seriami, pokud je užita stejná šarže reagentie.

Kontrolní vzorek by měl být připraven stejným způsobem jako zkoumaný vzorek a měl by být odebrán zdravému dárci, který neužil lék s obsahem ASA nejméně 10 dní před odběrem a má historii normální funkce destiček.

Kontrolu kvality začleňte do každé serie testů. Vždy při změně šarže reagentie 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.

Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní přijatelné rozmezí kontrol dle vlastností konkrétního analytického systému.

VÝSLEDKY:

Pro posouzení a interpretaci výsledku je potřeba znát i anamnézu pacienta. Minimálně by měl být pacient dotázán ohledně užívání léků. Mnohá léčiva obsahují substance interferující s agregací destiček. Látky jako tabák, kofein, alkohol, vitamin C atd. mohou výsledek ovlivnit. Vždy by měly být výsledky posuzovány v kontextu s klinickým stavem pacienta.

LIMITY:

- Pro získání optimálního průběhu testu je potřeba pečlivě dodržovat všechny pracovní instrukce, které byly výrobcem Hyphen-BioMed validovány. Laboratoř odpovídá za validaci metody, pokud provede změny v tomto doporučeném postupu.
- Reagentie 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.

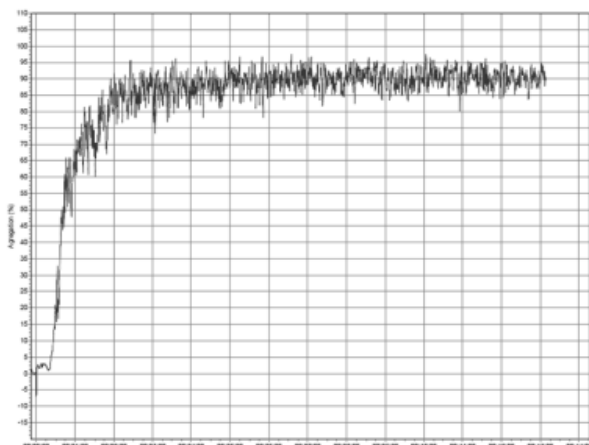
OČEKÁVANÉ HODNOTY:

Očekávané rozmezí pro každou reagentii při použití různých koncentrací pro indukci agregace, stejně tak i očekávaný průběh agregace by měl být vždy stanoven pro každou laboratoř pro její vlastní pracovní podmínky.

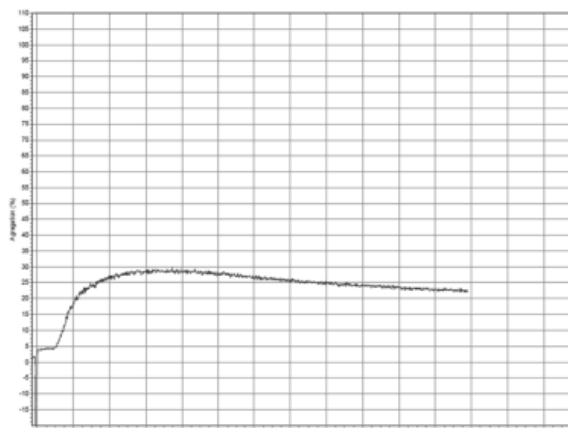
CHARAKTERISTIKA:

Příklad normální a abnormální maximální agregace (%):

	Normální vzorek	Abnormální vzorek
Maximální agregace (%)	93	29



Normální agregace s induktorem kolagen v koncentraci 2 µg/ml.



Patologická agregace s induktorem kolagen v koncentraci 2 µg/ml.

REFERENCE:

1. Yardumian et al., « Laboratory investigation of platelet function: a review of methodology ». J Clin Pathol, 39 :701-712, 1986.
2. Zhou et al., « Platelet aggregation testing in platelet-rich plasma ». AM J Clin Pathol, 123 :172-183, 2005.
3. Angiolillo et al., « Basic principles of platelet biology and clinical implications ». Circ J, 74 :597-607, 2010.
4. McCabe-White and Jennings, « Platelet protocols: research and clinical laboratory procedure ». Academic press London, p 35, 1999.
5. Recommendations for the Standardization of Light Transmission Aggregometry : A consensus of the Working Party from the Platelet Physiology Subcommittee of SSC/ISTH. 2013.

SYMBOLY:

Symboly použité v tomto příbalovém letáku jsou ve shodě s ISO 15223-1 Standard, viz dokument definice smlů.