



EPINEPHRINE

REF AG002K

R1 3 x 0,5 µmol

Epinephrine 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

POUŽITÍ:

Pouze pro použití In Vitro. Určen ke stanovení agregace trombocytů.

SOUHRN:

Určen pro zkoumání vrozených (např. Glanzmannova trombastenie, Syndrom šedých destiček, Storage pool disease...), nebo získaných trombopatií (myelodysplastické nebo myeloproliferativní sy, Waldenströmova choroba, mnohočetný myelom, jaterní nebo renální selhání apod..).

Též ke kontrole efektu antiagregační terapie léky jako jsou Aspirin, thienopyridiny, NSAID, abciximab nebo jiné inhibitory GP IIb/IIIa.

PRINCIP:

Po přidání kolagenu do plazmy bohaté na destičky (PRP) se epinephrine váže na α_2 -adrenergní receptory na povrchu destiček. Primární interakce destičky s epinephrinem indukuje reversibilní agregaci vyvolanou expresí receptorů pro fibrinogen a inhibicí adenylátcyklázové aktivity. Druhá vlna agregace, jasně odlišená od primární vlny, je zprostředkována uvolněním ADP z δ -granul a jím vyvolanou syntézou thromboxanu A_2 . Epinephrine je znám jako slabý agonista a jím vyvolaná agregace je závislá na jeho sekreci a je parciálně reversibilní ^(1,2).

REAGENCIE:

R1 Epinephrine: lyofilizovaný, obsahuje Tris pufr, epinephrinovou bitartrátovou sůl, stabilizátory.

3 x 0,5 µmol v lahvičce

UPOZORNĚNÍ:

- S biologickými produkty musí být zacházeno s opatností jako s potenciálně nebezpečným materiálem.
- Likvidujte odpad dle lokálních předpisů.
- S reagií zacházejte opatrně, aby nedošlo během užívání ke kontaminaci. Minimalizujte možnosti odpařování reagentie během používání zmenšením kontaktního povrchu mezi reagií a vzduchem.
- Pro uchování dobré stability uzavírejte lahvičku po použití její vlastní zátkou.
- Studie stability 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.
- Toxický produkt. S tímto produktem musí být zacházeno se všemi opatřeními – ochranný oděv, bezpečnostní brýle a rukavice. Je nutné se vyvarovat kontaktu produktu s pokožkou nebo jeho požití. Podrobnější informace v bezpečnostním listu.
- Pro diagnostiku In Vitro.

PŘÍPRAVA A STABILITA REAGENCIÍ:

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

R1 Epinephrine

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**, opatrně promíchejte dokud se úplně nerozpustí. Nechte stabilizovat 30 minut při pokojové teplotě (18-25°C) za občasného promíchání. Promíchejte před každým použitím.

Revize: 06_2021

Rozpuštěná reagentie po otevření je stabilní, viz níže (pokud je uchována 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.

Rozmrazujte co nejrychleji při teplotě 37°C, dobu upravte dle objemu rozmrazované reagentie. Stabilita rozmražené reagentie by měla být posouzena dle konkrétních laboratorních podmínek.

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

SKLADOVACÍ PODMÍNKY:

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

PŘÍPRAVA PLAZMY (ODBĚR VZORKU):

Vzorek by měl být připraven a skladován ve shodě s místními doporučeními (pro USA viz CLSI doporučení). Pro vyšetřování trombopatií 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

Distributor: Diagnostica s.r.o., Za Trati 686, Praha 9, Česká republika, tel.+420 266 315 909, Fax.+420 266 316 000, e-mail: info@diagnostica.cz, www.diagnostica.cz



Agregometr: ředění Epinephrinu:

Pro zjištění agregační odpovědi destiček po indukci epinephrinem se používají různé koncentrace epinephrinu v rozmezí od 1 do 10 μ M (finální koncentrace v testu). Připravte dostatečný objem následujících „10x koncentrovaných“ ředění a testujte dle následujícího protokolu. Začněte s nejvyšší koncentrací.

Epinephrine μ M „10x konc“	100	50	20	10
Epinephrine (μ l) konc	100(1mM)	50(1mM)	200(100 μ M)	100(100 μ M)
Fyziol.roztok (μ l)	900	950	800	900
Finální koncentrace v testu (μ M)	10	5	2	1

PROTOKOL:

Testování musí být provedeno do 3 hodin po odběru vzorku.

1. Do každé měřicí kyvety dejte míchadlo
2. Připravte Blank napipetováním 360 μ l PPP do kyvety. Proměřte jako 100% agregace
3. Napipetujte 360 μ l PRP do druhé kyvety. Inkubujte 2 minuty při 37°C a proměřte jako 0% agregace
4. Přidejte 40 μ l epinephrinu (10x) přímo do PRP. Nenechte reagent stékat po stěně kyvety.
5. Nechte probíhat agregaci po dobu 5 až 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.

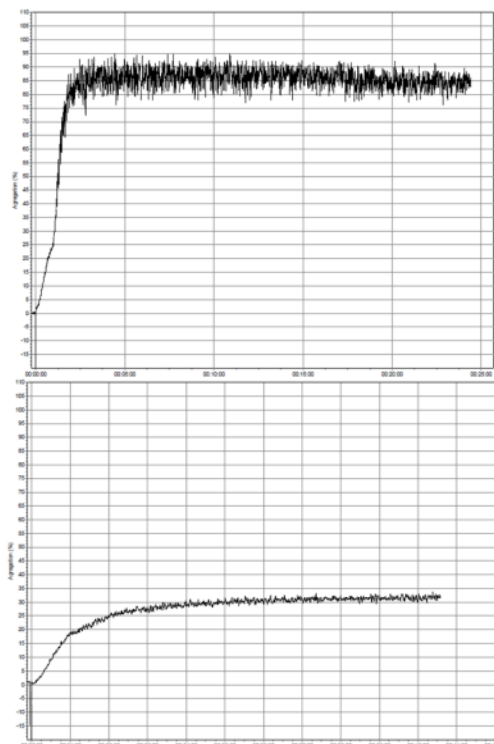
OČEKÁVANÉ HODNOTY:

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.

CHAKTERISTKA:

Příklad normální a abnormální agregace (%).

	Normální	Abnormal
Maximální agregace (%)	92	32



Příklad normální agregace a abnormální s induktorem epinephrine (10 μ M).

REFERENCE:

- Yardumian et al., « Laboratory investigation of platelet function: a review of methodology ». J Clin Pathol, 39 :701-712, 1986.
- Zhou et al., « Platelet aggregation testing in platelet-rich plasma ». AM J Clin Pathol, 123 :172-183, 2005.
- Angiolillo et al., « Basic principles of platelet biology and clinical implications ». Circ J, 74 :597-607, 2010.
- McCabe-White and Jennings, « Platelet protocols: research and clinical laboratory procedure ». Academic press London, p 35, 1999.
- 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 příbalovém letáku jsou dle ISO 15223-1, viz dokument definice symbolů.