



ADP
REF AG001K
R 3 x 0,1 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:

ADP reagensie je destičkový agonista pro agregometrii světelné prostupnosti (LTA), určená pro automatické a poloautomatické měření agregace destiček v lidské citrátové plazmě.

Tato metoda se používá k diagnóze poruch funkce destiček, nebo jako posouzení odpovědi pacienta na léčbu. Reagensie je určena pro in vitro použití vyškoleným personálem v laboratoři.

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 květou 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, Waldeströmova 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 do plazmy bohaté na destičky (PRP) se adenosine 5'-difosfát (ADP) váže na P₂Y₁ a P₂Y₁₂ receptory na povrchu destiček a indukuje agregaci ve dvou fázích. První fáze indukovaná ADP vyvolá primární vlnu agregace a pokud je stimul dostatečně silný, následuje druhá fáze agregace, při které je z granul destiček uvolněn jejich obsah – serotonin, fibrinogen a endogenní ADP.^{7,8}

REAGENCIE:

R Adenosine-5'-difosfát (ADP) lyofilizovaný ADP, přibližně 0,1µmol. Obsahuje stabilizátory.

Produkt není klasifikován jako nebezpečný a tudíž nepodléhá značení dle EC 1272/2008 [CLP].

UPOZORNĚNÍ:

- Likvidujte odpad dle lokálních platných předpisů.
- Jakékoliv závažné příhody se souvislostí na tuto reagensii ohlašte výrobci nebo jeho zástupci ve vašem regionu.
- Shrnutí pro bezpečnost a výkon (SSP) je dostupné v Evropské databázi zdravotnických prostředků (Eudamed), nebo na žádost od výrobce.
- Pro zajištění optimálního výsledku testování doporučujeme testovat vzorky a kontroly bez přerušování.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ:

Reagensie jsou lyofilizované a uzavřené pod vakuem. Zátka odstraňuje opatrně, aby nedošlo ke ztrátě lyofilizátu.

R Pro agregometr:

Naředte každou lahvičku přesně 0,5 ml destilované vody (200µM). Míchejte, dokud nedojde k úplnému rozpuštění jejího obsahu. Nechte stabilizovat 30 minut při pokojové teplotě (18-25°C) za občasných promíchání.

Konečná koncentrace (µM)	10	5	2
Připravte následující 10x roztoky:			
10x ADP (µM)	100	50	20
ADP 200 µM (µl)	500	250	100
Fyziologický roztok (µl)	500	750	900

Použití pro analyzátor

Naředte každou lahvičku přesně 0,625 ml destilované vody (160µM). Promíchejte, dokud se úplně nerozpustí. Nechte stabilizovat 30 minut při pokojové teplotě (18-25°C) za občasných promíchání.

Naředte rozpuštěné ADP následovně (příklad pro 1ml):

Konečná koncentrace (µM)	10	5	2
Připravte následující 8x roztoky:			
8x ADP (µM)	80	40	16
ADP 160 µM (µl)	500	250	100
Fyziologický roztok (µl)	500	750	900

Homogenizujte reagensie před každým použitím.

SKLADOVACÍ PODMÍNKY A STABILITA:

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

Rozpuštěná reagensie 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 specifický aplikační protokol.

*Rozmrazujte co nejrychleji při teplotě 37°C a ihned použijte.

REAGENCIE A MATERIÁL POTŘEBNÝ, ALE V KITU NEOBSAŽENÝ:

- Laboratorní materiál.
- Fyziologický roztok (0,9% NaCl).
- SB květy (064-1041-9) a SB Set tool (063-4151-5) pro CS a CN sérii přístrojů.
- Automatické analyzátoři, např.: CS a CN série.
- Světelný agregometr.

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

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, 11}.

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

CLSI H58-A a studie^{3, 11}: Měření by mělo být provedeno na čerstvé krvi maximálně 4 hodiny po odběru.

PROVEDENÍ:

Destičkový agonista by měl být použit při 2 µM. Pokud je agregace destiček abnormální, použijte vyšší koncentrace ADP (5 nebo 10 µM)^{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 květy vložte míchadlo.
2. Stanovte 100% bod agregace s květou obsahující 360 µl PPP.
3. Napipetujte 360 µl PRP do druhé květy. Inkubujte 2 minuty při 37°C a stanovte 0% agregaci s PRP.
4. Přidejte 40 µl 10X ADP roztoku přímo do květy s PRP dlouhou, tenkou pipetou mimo okraj květy.
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 reagensií.

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 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.

VÝSLEDKY:

- Výsledky jsou vypočteny s 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.^{12, 13}
- Abnormální křivky potvrďte opakováním testu.
- Variace mezi šaržemi reagentie, 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.
- 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.
- 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 2 μM ADP na agregometru (n=51), na CS sérii (n=50) a na CN sérii (n=82), byl naměřen mezi 56 a 98%, mezi 58 a 96% a mezi 57 a 96% respektive (Centrální 90%, 95 percentil)¹⁴.

Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní referenční rozmezí^{3, 11, 15}.

CHARAKTERISTIKA:

Studie výkonu byly provedeny dle CLSI směrníc.

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

Matematická analýza byla provedena validovaným statistickým softwarem dle CLSI směrníc.

Pro automatické měření jsou výkonnostní data v daných aplikačních protokolech.

Agregomet

Přesnost

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

Vzorek	Opakovatelnost	
	% Max agregace	CV%
Normální	71%	9,7%
Abnormální	42%	10,0%

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=109)	
ADP (2μM)		Helena reagent		99%	
Citlivost/Specifická					
Agonista	N	Citlivost	Specifická	Prostor po křivkou (ROC)	
ADP	109	100%	98%	0,993	
Agonista	N	PPV	NPV	LR+	LR-
ADP	109	98%	100%	58	0

CS a CN série

Přesnost

Studie přesnosti byly provedeny na normálních a abnormálních vzorcích, 1 série, 10 opakování.

CS série		
Vzorek	Opakovatelnost	
	% Max agregace	CV / SD
Normální	88%	CV = 4,4%
Abnormální	0,51%	SD = 0,62%
CN série		
Vzorek	Opakovatelnost	
	% Max agregace	CV%
Normální	88%	6,9%
Abnormální	28%	10,7%

Interference

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

Klinický výkon

Shoda					
Agonista		Referenční metoda		Shoda (n=109)	
ADP		Helena reagent		95%	
Citlivost/Specifická					
Agonista	N	Citlivost	Specifická	Prostor po křivkou (ROC)	
ADP	108	100%	91%	0,974	
Agonista	N	PPV	NPV	LR+	LR-
ADP	108	91%	100	11,6	0

PPV = Předpokládaná hodnota pozitivního výsledku

NPV = Předpokládaná hodnota negativního výsledku










LR+ = Poměr pravděpodobnosti +

LR- = Poměr pravděpodobnosti -

Klinický výkon byl definován při ADP 2 μM pro antideštičková léčiva a normální vzorky, a potvrzen při 10 μM pro krvácivý syndrom, dvojitou antideštičkovou 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. Frelinger AL. *et al.* Subcommittee on Platelet Physiology. Laboratory monitoring of P2Y12 inhibitors: communication from the SSC of the ISTH. J Thromb Haemost. 2018.
5. Michelson AD. *et al.* How I use laboratory monitoring of antiplatelet therapy. Blood. 2017.
6. Yardumian DA. *et al.* Laboratory investigation of platelet function: a review of methodology. J Clin Pathol. 1986.
7. 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.
8. Angiolillo DJ. *et al.* Basic principles of platelet biology and clinical implications. Circ J. 2010.
9. 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.
10. McCabe White M. *et al.* Platelet protocols: research and clinical laboratory procedures. Elsevier Science. 1999.
11. 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.
12. Kaeng W.L. *et al.* Effects of Lifestyle on Hemostasis, Fibrinolysis, and Platelet Reactivity. Arch Intern Med. 2003.
13. 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.
14. CLSI Document EP28-A3c: "Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline – Third Edition". 2010.
15. Munnix *et al.*, Harmonizing light transmission aggregometry in the Netherlands by implementation of the SSC-ISTH guideline, Platelets.

REF	Katalogové číslo	LOT	Číslo šarže	IVD	In Vitro diagnostický prostředek
Rx	Numerický identifikátor reagentie Teplota		Viz návod k použití	WHO STD	WHO kód standardu
	CE značka s číslem certifikovaného orgánu		Výrobce		YYYY-MM-DD Expirace
Cx	Numerický identifikátor kontroly	→	Rekonstituční objem	CONTENTS	Obsah
EXP	Doba Expirace	i-MA	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		