



## EPINEPHRINE

REF AG002K

R 3 x 0,5 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: 03\_2024

### POUŽITÍ:

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

Tato metoda přispívá k diagnóze funkčních poruch destiček a měření účinnosti antideštičkových léčiv.

Pouze pro použití In Vitro v laboratoři vyškoleným personálem.

### SOUHRN:

#### Technický:<sup>1-3</sup>

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 kyvetou 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:<sup>3-8</sup>

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, P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub> inhibitory receptorů a GPIIb/IIIa inhibitory.

### PRINCIP:

Po přidání epinephrinu se destičky ve zdravé plazmě aktivují α<sub>2</sub>-adrenergickými receptory na jejich povrchu.

První vlnu agregace epinephrinem lze zvrátit<sup>5,6</sup>. Druhá vlna je způsobena uvolněním granulí destiček.

### REAGENCIE:

**R** Epinephrine: Kolem 0,5 µmol, lyofilizováno. Obsahuje Epinephrine hydrogen tartrate a stabilizátory.

**Nebezpečí!** H300: Smrtelný při požití.

### UPOZORNĚNÍ:

- Likvidujte odpad dle lokálních předpisů.
- Jakékoliv závažné příhody se souvislostí na tuto reagentii 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.
- Důkladně si přečtěte bezpečnostní list reagentie.
- P264: Důkladně si umyjte ruce po manipulaci.
- P301+310: PŘI POŽITÍ: Ihned volejte Toxikologické Středisko nebo lékaře.
- P330: Vypláchněte ústa.
- Pro zajištění optimálního výsledku testování doporučujeme testovat vzorky a kontroly bez přerušování.

### PŘÍPRAVA REAGENCIÍ:

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

#### **R** Použití pro agregometr

Rozpusťte každou lahvičku **přesně 0,5 ml destilované vody** (1mM). Míchejte, dokud nedojde k úplnému rozpuštění obsahu. Nechte stabilizovat 30 minut při pokojové teplotě (18-25°C) za občasného promíchání.

Naředte rozpuštěnou reagentii následovně (příklad pro 1ml):

Finální koncentrace v testu (µM)	10	5
Přípravte následující 10X roztok		
„10X“ Epinephrine příprava (µM)	100	50
Epinephrine 1 mM (µl)	100	50
Fyziologický roztok (µl)	900	950

### Použití pro analyzátor

Rozpusťte každou lahvičku přesně **0,625 ml destilované vody** (800µM). Promíchejte, dokud se úplně nerozpustí. Nechte stabilizovat 30 minut při pokojové teplotě (18-25°C) za občasného promíchání.

Naředte rozpuštěnou reagentii následovně (příklad pro 1ml):

Finální koncentrace v testu (µM)	10	5
Přípravte následující 8X roztok		
„8X“ Epinephrine příprava (µM)	80	40
Epinephrine 800 µM (µl)	100	50
Fyziologický roztok (µl)	900	950

Homogenizujte před 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 krabici.

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 co nejrychleji při pokojové teplotě 18-25°C, a ihned použijte.

### REAGENCIE A MATERIÁL POTŘEBNÝ, ALE V KITU NEPŘÍTOMNÝ:

- 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<sup>3, 10</sup>.

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

CLSI H58-A a studie<sup>3, 10</sup>: Měření by mělo být provedeno na čerstvé krvi maximálně 4 hodiny po odběru.

### PROVEDENÍ:

Destičkový agonista by měl být použit při 5 µM. Pokud je agregace destiček abnormální, použijte vyšší koncentrace Epinephrinu (10 µM)<sup>1, 3</sup>.

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

### Agregometr:

1. Do každé kyvety vložte míchadlo.
2. Stanovte 100% bod agregace s kyvetou obsahující 360 µl PPP.
3. Napipetujte 360 µl PRP do druhé kyvety.  
Inkubujte 2 minuty při 37°C a stanovte 0% agregaci s PRP.
4. Přidejte 40 µl 10X Epinephrin roztoku přímo do kyvety s PRP dlouhou, tenkou pipetou mimo okraj kyvety.
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 reagentii.

### 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 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.<sup>11, 12</sup>
- 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 10<sup>9</sup>/l nebo více než 600 x 10<sup>9</sup>/l, naměřené výsledky mohou být ovlivněny. Počet destiček u PRP vzorků nemusí být upraven na standardizovanou hodnotu autologní PPP<sup>3</sup>.

### OČEKÁVANÉ HODNOTY:

Stanovený referenční interval interní studie, ze vzorků zdravých jedinců s 5 μM Epinephrinu na agregometru (n=51), na CS sérii (n=50) a na CN sérii (n=66), byl naměřen mezi 70 a 103%, mezi 69 a 96% a mezi 53 a 96% respektive (Centrální 90%, 95 percentil)<sup>13</sup>.

Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní referenční rozmezí<sup>3, 10, 14</sup>.

### CHAKTERISTKA:

Studie výkonu byly provedeny dle CLSI směrníc.

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

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.

Opakovatelnost		
Vzorek	% Max agregace	CV%
Normální	89%	6,4%
Abnormální	35%	23,6%

#### 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=116)	
Epinephrine (5μM)		Helena reagent		97%	
Citlivost/Specifita					
Agonista	N	Citlivost	Specifita	Prostor po křivkou (ROC)	
Epinephrine	116	95%	100%	0,991	
Agonista	N	PPV	NPV	LR+	LR-
Epinephrine	116	100%	95%	+∞	0,055

### CS a CN série

#### Přesnost

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

Opakovatelnost		
Vzorek	% Max agregace	CV%
Normální	91%	5,4%
Abnormální	45%	14,4%
Opakovatelnost		
Vzorek	% Max agregace	CV%
Normální	90%	3,0%
Abnormální	42%	10,6%

#### 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)	
Epinephrine		Helena reagent		90%	
Citlivost/Specifita					
Agonista	N	Citlivost	Specifita	Prostor po křivkou (ROC)	
Epinephrine	114	90%	91%	0,954	
Agonista	N	PPV	NPV	LR+	LR-
Epinephrine	114	91%	90%	10,200	0,115

PPV = Předpokládaná hodnota pozitivního výsledku

NPV = Předpokládaná hodnota negativního výsledku

LR+ = Poměr pravděpodobnosti +

LR- = Poměr pravděpodobnosti -

Klinický výkon byl definován při Epinephrinu 5 μM pro antideštičková léčiva a normální vzorky, a potvrzen při 10 μM pro krvácivý syndrom, dvojitou antideštičkovou terapii 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. Gesele 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.

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