



Ristocetin

REF AG004K

R 3 lahvičky x 7,5 mg



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 antideštičkových 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:³⁻⁹

Ristocetinová reagenie je navržena pro agregační testy destiček indukované Ristonetinem (RIPA). Tento test se používá ke stanovení von Willebrandovy choroby, specificky k zvýraznění zvýšené afinity von Willebrandova faktoru (vWF) pro GPIb α typ 2B a identifikaci Bernard – Soulierovy choroby.

PRINCIP TESTU:

Po přidání Ristocetinu do zdravé plazmy bohaté na destičky (PRP) se zvyšuje interakce von Willebrandova faktoru (vWF) a glykoproteinového receptoru pro vWF na destičkové membráně (GPIb α). Ristocetin-indukovaná agregace destiček (RIPA) se používá k měření odezvy plazmy bohaté na destičky (PRP) k určitým koncentracím Ristocetinu. Destičková agregace u normálních vzorků je u 1,2 mg/ml Ristocetinu. V přítomnosti kvantitativního nebo kvalitativního defektu vWF (kromě typu 2B vWF) nebo abnormální funkce GPIb α je odezva u této koncentrace jiná.⁴⁻⁶

REAGENCIE:

R Ristocetin: Přibližně 7,5 mg, lyofilizováno. Obsahuje stabilizátory.

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

UPOZORNĚNÍ A VAROVÁNÍ:

- Odpad by měl být zlikvidován podle lokálních předpisů.
- Jakékoliv závažné příhody se souvislostí na tuto reagenii 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 optimální výsledky testu doporučujeme, aby testy probíhaly jeden za druhým bez přerušování.

PŘÍPRAVA REAGENCIE:

Reagenie jsou lyofilizovány pod vakuem. Abyste zabránili ztrátě produktu, otevírejte lahvičky opatrně.

R Ristocetin

Pro použití s agregometrem:

Rozpusťte obsah lahvičky s přesně **0,5 ml destilované vody** (15mg/ml). Dobře promíchejte, dokud se obsah zcela nerozpustí. Nechte reagenii stabilizovat 30 minut za pokojové teploty (18 – 25°C), občas promíchejte. Promíchejte před použitím.

Naředte rozpuštěnou reagenii následovně (příklad pro 1ml):

Finální koncentrace v testu (mg/ml)	1,2	0,5
Připravte následující 10X roztok		
„10X“ Ristocetin příprava (mg/ml)	12	5
Ristocetin 15 mg/ml (μ l)	800	333
Fyziologický roztok (μ l)	200	667

Pro měření při 2 mg/ml rozpusťte lahvičku v přesně 0,375 ml destilované vody (20 mg/ml). Dobře promíchejte do úplného rozpuštění. Nechte reagenii stabilizovat 30 minut při pokojové teplotě (18-25°C) za občasného promíchání. Ihned použijte.

Pro použití s analyzátozem:

Rozpusťte obsah lahvičky s přesně **0,625 ml destilované vody** (12 mg/ml). Dobře promíchejte, dokud se obsah zcela nerozpustí. Nechte reagenii stabilizovat 30 minut za pokojové teploty (18 – 25°C), občas promíchejte. Promíchejte před použitím.

Naředte rozpuštěnou reagenii následovně (příklad pro 1ml):

Finální koncentrace v testu (mg/ml)	1,2	0,5
Připravte následující 8X roztok		
„8X“ Ristocetin příprava (mg/ml)	9,6	4
Ristocetin 12 mg/ml (μ l)	800	333
Fyziologický roztok (μ l)	200	667

Pro měření při 2 mg/ml rozpusťte lahvičku v přesně 0,470 ml destilované vody (16 mg/ml). Dobře promíchejte do úplného rozpuštění. Nechte reagenii stabilizovat 30 minut při pokojové teplotě (18-25°C) za občasného promíchání. Ihned použijte.

Homogenizujte reagenie před každým použitím.

SKLADOVACÍ PODMÍNKY A STABILITA:

Reagenie musí být skladovány při 2-8°C v jejich originálních obalech. Pak jsou stabilní do data expirace uvedeného na obalu.

R Stabilita reagenie po rozpuštění v originální lahvičce, pokud je předejito kontaminací nebo odpařování:

- **7 dní** při 2 – 8°C
- **24 hodin** za pokojové teploty (18 – 25°C)
- **2 měsíce** při -20°C a méně*
- **V analyzátozu: Viz aplikační protokol pro daný přístroj.**

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

REAGENCIE A MATERIÁL POTŘEBNÝ, V KITU NEPŘÍTOMNÝ:

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

ODBĚR VZORKU A PŘÍPRAVA PLAZMY

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.

PROCEDURA:

Destičkový agonista by měl být použit při 1,2 mg/ml. Pokud je agregace destiček normální, použijte nižší koncentrace Ristocetinu (0,5-0,7 mg/ml). Pokud je srážení destiček abnormální nebo nepřítomné, opakujte měření s 2 mg/ml Ristocetinu.^{1,3}

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 kvyety vložte míchadlo.
2. Stanovte 100% bod agregace s kvyetou obsahující 360 μ l PPP.
3. Napipetujte 360 μ l PRP do druhé kvyety. Inkubujte 2 minuty při 37°C a stanovte 0% agregaci s PRP.
4. Přidejte 40 μ l 10X Ristocetin roztoku přímo do kvyety s PRP dlouhou, tenkou pipetou mimo okraj kvyety.
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.

VÝSLEDEK:

- 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}
- U zdravých jedinců by agregace měla proběhnout při alespoň 1,2 mg/ml, ale ne při 0,5 mg/ml. U Bernard-Soulier syndromu a von Willebrandovy choroby typu 3 je předpokládaná agregace velmi slabá nebo žádná při všech koncentracích Ristocetinu. U pseudo von Willebrandovy choroby a vW choroby typu 2B jsou destičky hypercitlivé na Ristocetin, což vede k agregaci u nízkých koncentrací (0,5 – 0,7 mg/ml)³.
- 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 jeví známky kontaminace, by měla být vyřazena z použití.
- Vzorky neobvyklého vzhledu, nebo jeví známky aktivace, by neměly být testovány.
- Jakékoliv změny měření musí být validovány laboratoří, aby se zachoval výkon metody.
- Pokud je počet destiček menší než $150 \times 10^9/l$ nebo více než $600 \times 10^9/l$, naměřené výsledky mohou být ovlivněny. Počet destiček u PRP vzorků nemusí být upraven na standardizovanou hodnotu autologní PPP³.

OČEKÁVANÉ HODNOTY:

Stanovený referenční interval interní studie, ze vzorků zdravých jedinců s 1,2 mg/ml Ristocetinu na agregometru (n=61), na CS sérii (n=63) a na CN sérii (n=71), byl naměřen mezi 63 a 105%, mezi 71 a 92% a mezi 51 a 93% respektive (Centrální 90%, 95 percentil)¹³.

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

CHARAKTERISTKA:

Studie výkonu byly provedeny dle CLSI směrníc.

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

Matematická analýza byla provedena validovaným statistickým softwarem dle CLSI směrníc.

Pro automatické měření jsou výkonnostní data v daných aplikačních protokolech.

Agromerit

Přesnost

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

Vzorek	Opakovatelnost	
	% Max agregace	CV%
Normální	97%	4,7%
Abnormální	37%	15,0%

Interference

Nebyly zjištěny interference molekul do následujících koncentrací:

Bilirubin C	Bilirubin F	Intralipidy	Hemoglobin
30 mg/dl	30 mg/dl	310 mg/dl	250 mg/dl

Klinický výkon

Shoda		
Agonista	Referenční metoda	Shoda (n=121)
Ristocetin (1,2 mg/ml)	Helena reagent	96%

Citlivost/Specificita					
Agonista	N	Citlivost	Specificita	Prostor po křivkou (ROC)	
Ristocetin	121	97%	95%	0,981	
Agonista	N	PPV	NPV	LR+	LR-
Ristocetin	121	96%	96%	18,09	0,03

CS a CN série

Přesnost

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

CS série	Opakovatelnost	
Vzorek	% Max agregace	CV%
Normální	84%	1,6%
Abnormální	28%	14,2%
CN série	Opakovatelnost	
Vzorek	% Max agregace	CV%
Normální	79%	4,5%
Abnormální	45%	6,1%

Interference

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

Klinický výkon

Shoda					
Agonista	Referenční metoda (agregometr)	Shoda (n=119) (CS-série)			
Ristocetin	Helena reagent	96%			
Citlivost/Specificita					
Agonista	N	Citlivost	Specificita	Prostor po křivkou (ROC)	
Ristocetin	119	100%	91%	0,950	
Agonista	N	PPV	NPV	LR+	LR-
Ristocetin	119	93%	100%	10,80	0,00

PPV = Předpokládaná hodnota pozitivního výsledku

NPV = Předpokládaná hodnota negativního výsledku











LR+ = Poměr pravděpodobnosti +

LR- = Poměr pravděpodobnosti -

Klinický výkon byl definován při Ristocetinu 1,2 mg/ml pro antideštičková léčiva 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.

REF Katalogové číslo	LOT Číslo šarže	IVD In Vitro diagnostický prostředek
Rx Numerický identifikátor reagenzie 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	 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	