

abp

Collagen Reagent

REF ABP-COL-1 (1mg/ml x 1ml)
ABP-COL-2 (2mg/ml x 1ml)

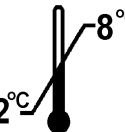
Guide to Symbols



Consult accompanying documents
Voir documents cijnoints
Siehe beigefügte, Dokumente
Véanse los documentos djuntos
Vedi documenti allegati



For *in vitro* diagnostic use
Pour usage diagnostique *in-vitro*
in-vitro diagnostikum
Para uso diagnóstico *in-vitro*
Per uso diagnostico *in-vitro*



Store at 2-8°C
Conserver à 2-8°C
Lagern bei 2-8°C
Conservar a 2-8°C
Conservare a 2-8°C



Use By
A utiliser avant le
Verw. Bis:
Utilizar antes de
Usar entro



Lot
Lot
Ch.-B.:
Lote
Lotto



American Biochemical & Pharmaceutical Ltd.
Global House
1 Ashley Avenue
Epsom, Surrey KT18 5AD, U.K.



(ABP-0396-LIT Rev 0 Jul 11)



INTENDED PURPOSE



Abp Collagen Reagent is used to diagnose platelet dysfunction, or normal platelet activity in human platelet rich plasma or whole blood.

SUMMARY

Collagen is a structural protein which is virtually ubiquitous throughout the human body. During primary haemostasis following blood vessel injury, the adhesion of platelets to exposed collagen at the site of injury plays a key role in the arrest of bleeding from this site. Any interference with the ability of platelets to interact with exposed collagen is therefore a possible cause of an unexplained bleeding tendency. Some congenital defects of platelet function, as well as some acquired and drug-induced effects can affect the aggregation of platelets stimulated by collagen. Investigation of the ability of patient platelets to aggregate to a controlled preparation of collagen fibrils is an important part of the investigation of suspected disorder of platelet function.

The reagent contains a liquid preparation of 1mg/ml or 2mg/ml of Type I (>95%) collagen fibrils from equine tendon skin with added stabilisers.

TEST PRINCIPLE

The platelet aggregation test measures the rate and degree to which dispersed platelets in a sample of platelet rich plasma (PRP) or anticoagulated whole blood forms clumps (aggregates) after the addition of a substance that normally stimulates platelet aggregation (agonist). In optical aggregometry, the clumping of the platelets causes the platelet rich plasma to become less turbid. This is measured on a platelet aggregometer, which plots the rate and maximum extent of the aggregation reaction. In whole blood aggregometry, platelets adhere to small wires suspended in the blood sample and the impedance between the wires as the platelets adhere and aggregate is measured and plotted.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

For *in-vitro* diagnostic use only.
Do not pipette by mouth. Do not smoke, eat or drink in areas where specimens or kit reagents are handled.
Wear disposable gloves when handling specimens and kit reagents, and wash hands thoroughly afterwards.

MATERIALS PROVIDED

Collagen Reagent

Ingredients: The reagent contains a liquid preparation of collagen fibrils from equine tendon collagen with added stabilisers.

Preparation for use: Each vial is ready to use and should be diluted with collagen diluent to desired concentration (e.g 10ug/ml).

Storage and stability: The product should be stored at 2...8°C and is stable until the expiry date printed on the vial label.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Platelet aggregometry system – the Hart Biologicals Collagen Reagent will perform satisfactorily when used on any aggregometer system. Follow the manufacturer's instructions for the operation of the aggregometer in use.

Purified water.

Pipette for 1.0ml

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION²

Preparation of Platelet-Rich and Platelet- Poor Plasma for Optical Aggregation

Blood for platelet aggregation testing should be collected in to plastic syringes and transferred to plastic tubes, or collected in siliconised glass evacuated blood collection tubes.

Blood (9 parts) should be mixed with 0.11M or 0.13M sodium citrate anticoagulant (1 part). Invert gently to mix. Do not shake.

- Prepare platelet rich plasma by centrifuging the anticoagulated blood at 150-200 x g for 10-15 minutes at room temperature.
- Remove the platelet rich plasma with a plastic transfer pipette and place in a plastic container (with cap) labelled 'PRP'. Cap the container and keep at room temperature.
- Prepare platelet poor plasma by centrifuging the remaining blood specimen at 2000 x g for 20 minutes.
- Remove the platelet poor plasma with a plastic transfer pipette and place in a plastic container (with cap) labelled 'PPP'. Cap the container and keep at room temperature.
- Adjust the platelet concentration in the PRP to 200-300x10⁹/L using PPP, cap and allow to stand at room temperature for 30 minutes prior to testing.
- Testing should be completed within 3 hours of blood collection.

Whole Blood Aggregation Samples

Refer to the aggregometer manufacturer recommendations for the preparation of samples for whole blood aggregometry.

TEST PROCEDURE

A) Optical Aggregometry

1. Set the 0% and 100% aggregation levels on the aggregometer using platelet poor plasma and platelet rich plasma according to the manufacturers instructions.
2. Pipette the required volume of platelet rich plasma in to an aggregation cuvette and add a stir bar.
3. Pre-warm to 37°C for 120 seconds.
4. Add the required volume of **Collagen** directly in to the cuvette. Do not allow reagent to run down the wall of the cuvette.
5. Allow the aggregation pattern to form for a minimum of 5 minutes.

B) Whole Blood Aggregometry

Refer to the manufacturers instructions for the correct performance of the test.

QUALITY CONTROL

The results of platelet aggregation studies should be interpreted against the results of aggregation profiles of a normal sample tested at the same time. The normal donor should not have ingested aspirin or aspirin containing compounds in the preceding 10 days.

EXPECTED VALUES^{3,4}

Following the addition of collagen, a lag phase occurs during which no aggregation occurs. Normal platelet then undergo shape change, and a single, large wave of aggregation occurs (60 – 80% total aggregation). Abnormal aggregation to collagen can affect the lag phase, rate of aggregation and maximum aggregation response. The expected response to collagen in the most commonly encountered defects are listed below:

Condition	Collagen Aggregation
Thrombasthenia	Absent
Bernard-Soulier syndrome	Normal
Storage Pool defect (••)	Reduced
Cyclo-oxygenase deficiency	Reduced
Thromboxane synthetase deficiency	Reduced
Aspirin ingestion	Reduced
Ehlers-Danlos syndrome	Normal
Von Willebrand disease	Normal

FURTHER TESTING

If the test results are abnormal, the test should be repeated on a separate occasion. If the results are consistently abnormal, and the patient is not taking any medication known to interfere with platelet function, additional tests should be considered⁴.

LIMITATIONS

In optical aggregometry, the presence of red blood cells in the PRP will cause the total observed aggregation to be reduced. The presence of platelets in the PPP will cause the total observed aggregation to appear increased.

Spurious results can be observed when the total platelet count of the PRP is less than 75 x 10⁹/L.

PRP tested less than 30 minutes after preparation may exhibit abnormal aggregation profiles.

Bibliography

1. Dacie & Lewis, 'Practical Haematology', Lewis, S.M., Bain, B.J. and Bates, I. (Editors); 9th Edition, Elsevier Science Ltd., 2002, pages 380-381.
2. Day, H.J. and Holmsen, H., 'Laboratory Tests of Platelet Function', Ann. Clin. Lab. Sci., 1972; 2 : 63.
3. Dacie & Lewis, 'Practical Haematology', Lewis, S.M., Bain, B.J. and Bates, I. (Editors); 9th Edition, Elsevier Science Ltd., 2002, pages 383-385.
4. Dacie & Lewis, 'Practical Haematology', Lewis, S.M., Bain, B.J. and Bates, I. (Editors); 9th Edition, Elsevier Science Ltd., 2002, pages 384-385.



ANWENDUNGSBEREICH



Das Kollagen-Reagenz von abp wird zur Diagnose von Störungen der Thrombozytenfunktion oder normaler Thrombozytenaktivität in plättchenreichem Humanplasma (PRP) oder Vollblut eingesetzt.

ZUSAMMENFASSUNG

Kollagen ist ein strukturelles Protein, das nahezu im gesamten menschlichen Körper vorzufinden ist. Während der primären Hämostase nach der Verletzung eines Blutgefäßes spielt die Adhäsion von Plättchen an exponiertes Kollagen an der Verletzungsstelle bei der Blutstillung an dieser Stelle eine Schlüsselrolle. Eine Beeinträchtigung der Fähigkeit der Plättchen, mit dem exponierten Kollagen zu interagieren, ist deshalb mögliche Ursache einer ungeklärten Blutungstendenz. Es gibt einige angeborene Störungen der Plättchenfunktion sowie einige erworbene und Arzneimittel-induzierte Wirkungen, die die durch Kollagen stimulierte Thrombozytenaggregation beeinflussen können. Die Untersuchung der Aggregationsfähigkeit der Thrombozyten eines Patienten in einer kontrollierten Kollagenfibrillenpräparation ist ein wichtiger Teil der Untersuchung bei Verdacht auf Störungen der Plättchenfunktion.

Das Reagenz enthält eine flüssige Präparation von 1mg/ml oder 2mg/ml Typ I (>95%) Kollagenfibrillen aus Pferdesehnen mit zugegebenen Stabilisatoren.

NACHWEISPRINZIP

Der Thrombozytenaggregationstest misst die Rate und das Ausmaß der Aggregation (Verklumpung) in einer plättchenreichen Plasmaprobe oder in antikoaguliertem Vollblut nach Zugabe einer Substanz, die in der Regel die Thromozytenaggregation stimuliert (Agonist). In der optischen Aggregometrie hat die Verklumpung der Thrombozyten eine Abnahme der Trübung des plättchenreichen Plasmas zur Folge. Zur Messung wird ein Thrombozyten-Aggregometer verwendet, das die Rate und das maximale Ausmaß der Aggregationsreaktion graphisch aufzeichnet. In der Vollblut-Aggregometrie lagern sich Thrombozyten an Elektroden an, die in die Blutprobe eingetaucht werden. Die Impedanz zwischen den Elektroden während der Anlagerung und Aggregation der Thrombozyten wird gemessen und graphisch aufgezeichnet.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Nur für *In-Vitro-Diagnose*.

Nicht mit dem Mund pipettieren. Das Rauchen, Essen und Trinken ist in Bereichen, in denen Proben oder Kit-Reagenzien gehandhabt werden, untersagt.

Beim Handling von Proben und Kit-Reagenzien Einweghandschuhe tragen. Anschließend Hände gründlich waschen.

MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Kollagen-Reagenz

Inhaltsstoffe: Das Reagenz enthält eine flüssige Kollagenfibrillenpräparation, die Pferdesehnenkollagen mit zugegebenen Stabilisatoren entspricht.

Reagenzpräparation: Jedes Fläschchen ist gebrauchsfertig. Mit Kollagen-Verdünnungsmittel die gewünschte Konzentration herstellen (z. B. 10ug/ml).

Lagerung und Stabilität der Reagenzien: Das Produkt ist bei 2 - 8°C zu lagern. Es ist bis zu dem aufgedruckten Verfallsdatum stabil.

NICHT MITGELIEFERTE, ABER BENÖTIGTE MATERIALIEN

Plättchenaggregometriesystem – das Kollagenreagenz von Hart Biologicals ist bei der Verwendung beliebiger Aggregometer zuverlässig. Befolgen Sie die Bedienungsanleitungen des Herstellers für das verwendete Aggregometer.

Gereinigtes Wasser

Pipetten für 1,0 ml

PROBENAHME UND PRÄPARATION²

Präparation von plättchenreichem und plättchenarmen Plasma für den optischen Aggregationstest

Das für den Thrombozytenaggregationstest benötigte Blut sollte in Kunststoffspritzen oder in Blutabnehmeröhrchen aus silikonisiertem Glas abgenommen und in Kunststoffröhrchen übertragen werden.

Das Blut (9 Anteile) mit 0.11 M oder 0.13 M Natriumcitratantikoagulans (1 Anteil) mischen. Behutsam drehen, um zu mischen. Nicht schütteln.

- Das plättchenreiche Plasma bei Raumtemperatur durch 10 – 15minütiges Zentrifugieren des antikoagulierten Blutes bei 150-200 x g präparieren.
- Das plättchenreiche Plasma mit einer Kunststoffpipette entnehmen und in einen Kunststoffbehälter (mit Stopfen) geben, der das Etikett 'PRP' trägt. Stopfen aufsetzen und Behälter auf Raumtemperatur halten.
- Das plättchenarme Plasma durch 20minütiges Zentrifugieren der restlichen Blutprobe bei 2000 x g präparieren.
- Das plättchenarme Plasma mit einer Kunststoffpipette entnehmen und in einen Kunststoffbehälter (mit Stopfen) geben, der das Etikett 'PPP' trägt. Stopfen aufsetzen und Behälter bei Raumtemperatur halten.
- Die Plättchenkonzentration im PRP-Behälter mit Hilfe des PPP auf 200-300 x 10⁹/L einstellen, Stopfen aufsetzen und vor dem Test 30 Minuten bei Raumtemperatur stehen lassen.
- Der Test sollte innerhalb von 3 Stunden nach der Blutabnahme abgeschlossen sein.

Präparation von Vollblutproben für den Aggregationstest

Bitte nehmen Sie Bezug zu den Empfehlungen des Herstellers des Aggregometers.

TESTVERFAHREN

A) Optische Aggregometrie

1. 0% und 100% Plättchen-Spiegel auf dem Aggregometer einstellen. Dazu plättchenarmes und plättchenreiches Plasma verwenden. Anweisungen des Geräteherstellers befolgen.
2. Das benötigte Volumen an plättchenreichem Plasma in eine Aggregationsküvette pipettieren und Stempel hinzufügen.
3. Das Plasma 120 Sekunden auf 37 °C vorwärmen.
4. Das benötigte Volumen **Kollagen** direkt in die Küvette geben. Vermeiden, dass das Reagenz seitlich an der Küvette herunterläuft.
5. Mindestens 5 Minuten warten, bis sich ein Aggregationsmuster gebildet hat.

B) Vollblut-Aggregometrie

Bitte nehmen Sie Bezug zu den Empfehlungen des Herstellers zur Ausführung des Tests.

QUALITÄTSKONTROLLE

Die Ergebnisse der Thrombozytenaggregationsuntersuchungen sollten mit den Ergebnissen von Aggregationsprofilen einer zur gleichen Zeit geprüften normalen Probe verglichen werden. Der normale Spender sollte in den vorausgegangenen 10 Tagen kein Aspirin bzw. aspirinhaltige Substanzen eingenommen haben.

ERWARTETE WERTE^{3,4}

Nach Zugabe von Kollagen tritt zunächst eine Lag-Phase ein, in der keine Aggregation stattfindet. Normale Plättchen ändern nach der Lag-Phase ihre Gestalt, und es ist eine einzelne, große Aggregationswelle (60 – 80% der Gesamtaggregation) zu beobachten. Eine abnormale Aggregation kann die Lag-Phase, die Aggregationsrate und das maximale Aggregationsverhalten beeinträchtigen. Die erwartete Reaktion auf Kollagen bei den am häufigsten auftretenden Krankheitsbildern ist nachstehend aufgeführt:

Erkrankung	Kollagen-Aggregation
Thrombasthenie	keine
Bernard-Soulier-Syndrom	normal
Storage-Pool-Defekt (••)	schwächer
Cyclooxygenase-Defizienz	schwächer
Thromboxan-Synthetase-Mangel	schwächer
Aspirin-Ingestion	schwächer
Ehlers-Danlos-Syndrom	normal
Von-Willebrand-Krankheit	normal

WEITERE TESTS

Bei abnormalen Testergebnissen sollte der Test separat wiederholt werden. Wenn die Ergebnisse konsistent abnormal sind und der Patient keine Medikamente einnimmt, die unseren Kenntnissen zufolge die Plättchenfunktion beeinträchtigen, ist die Durchführung zusätzlicher Tests zu erwägen¹.

EINSCHRÄNKUNGEN

Das Vorliegen von roten Blutzellen im PRP bewirkt eine Minderung der insgesamt beobachteten Aggregation. Das Vorliegen von Plättchen im PPP bewirkt eine Erhöhung der insgesamt beobachteten Aggregation.

Falsche Ergebnisse sind festzustellen, wenn die Gesamtzahl der Plättchen im PRP unter 75 x 10⁹/L liegt.

PRP, das weniger als 30 Minuten nach der Präparation getestet wird, kann abnormale Aggregationsprofile zeigen.

Literatur

1. Dacie & Lewis, 'Practical Haematology', Lewis, S.M., Bain, B.J. and Bates, I. (Editors); 9th Edition, Elsevier Science Ltd., 2002, pages 380-381.
2. Day, H.J. and Holmsen, H., 'Laboratory Tests of Platelet Function', Ann. Clin. Lab. Sci., 1972; 2 : 63.
3. Dacie & Lewis, 'Practical Haematology', Lewis, S.M., Bain, B.J. and Bates, I. (Editors); 9th Edition, Elsevier Science Ltd., 2002, pages 383-385.
4. Dacie & Lewis, 'Practical Haematology', Lewis, S.M., Bain, B.J. and Bates, I. (Editors); 9th Edition, Elsevier Science Ltd., 2002, pages 384-385.



UTILISATION

Le réactif de collagène de abp est utilisé pour diagnostiquer une dysfonction plaquettaire ou une activité plaquettaire normale dans du plasma humain riche en plaquettes ou dans du sang entier.

RÉSUMÉ

Le collagène est une protéine structurelle quasiment omniprésente à travers tout le corps humain. Pendant l'hémostase primaire qui suit toute blessure d'un vaisseau sanguin, l'adhésion des plaquettes au collagène exposé au niveau de la blessure joue un rôle essentiel pour arrêter le saignement à cet endroit. Toute interférence empêchant les plaquettes de réagir avec le collagène exposé peut donc être la cause potentielle d'une tendance à saigner inexplicue. Certaines anomalies congénitales de la fonction plaquettaire ainsi que certains effets acquis ou d'origine médicamenteuse peuvent affecter l'agrégation des plaquettes stimulée par le collagène. Étudier la capacité d'agrégation plaquettaire d'un/e patient/e dans le contexte d'une préparation contrôlée de fibrilles de collagène est un élément important de l'investigation d'un trouble suspecté de la fonction plaquettaire.

Le réactif contient une préparation liquide de 1 mg/ml ou 2 mg/ml de fibrilles de collagène de type I (>95 %) provenant de tendon équin avec stabilisateurs.

PRINCIPE DU TEST

Le test d'agrégation plaquettaire mesure la vitesse et le degré de formation d'amas de plaquettes libres (agrégation) dans un échantillon de plasma riche en plaquettes (PRP) ou de sang entier anticoagulé, après l'ajout d'une substance qui normalement, stimule l'agrégation plaquettaire (agoniste). En agrégométrie optique, le plasma riche en plaquettes devient plus limpide à la suite du regroupement des plaquettes. Ce changement de turbidité est mesuré par un agrégomètre qui produit une représentation graphique de la vitesse et de l'amplitude maximale de l'agrégation. Avec l'agrégométrie à base de sang entier, les plaquettes adhèrent à de fins conducteurs suspendus dans l'échantillon sanguin et c'est l'impédance entre ces conducteurs qui est mesurée et représentée graphiquement au fur et à mesure de l'adhésion et de l'agrégation des plaquettes.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Pour diagnostic *in vitro* uniquement.

Ne jamais pipeter à la bouche. Ne pas fumer, boire ni manger dans les zones où les échantillons ou les réactifs sont manipulés.

Porter des gants jetables pour manipuler les échantillons et les kits de réactif et se laver les mains soigneusement après toute manipulation.

MATÉRIEL FOURNI

Réactif de collagène

Ingédients : Le réactif contient une préparation liquide de fibrilles de collagène de tendon équin avec stabilisateurs.

Préparation : Chaque ampoule est prête à l'emploi et doit être diluée à la concentration désirée (ex. : 10 ug/ml) avec le diluant de collagène.

Conservation et stabilité : Le produit doit être conservé entre 2 et 8° C. Il est stable jusqu'à la date limite d'utilisation figurant sur l'étiquette de l'ampoule.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Agrégomètre : Le réactif de collagène de Hart Biologicals est parfaitement compatible avec n'importe quel agrégomètre. Suivre les instructions du fabricant pour opérer l'agrégomètre utilisé.

Eau purifiée.

Pipette de 1 ml

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS ET PRÉPARATION¹

Préparation de plasma riche en plaquettes et de plasma pauvre en plaquettes pour l'agrégation optique

Le sang destiné aux tests d'agrégation plaquettaire doit être soit prélevé dans des seringues en plastique puis être transféré dans des tubes en plastique, soit être prélevé dans des tubes de prélèvement sanguin sous vide en verre siliconé. Le sang (9 parts) doit être mélangé à 0,11 M ou 0,13 M (1 part) d'anticoagulant (citrae de sodium). Retourner doucement le tube pour mélanger. Ne pas le secouer.

- Préparer le plasma riche en plaquettes en centrifugeant le sang anticoagulé à 150-200 x g pendant 10 à 15 minutes à température ambiante.
- Retirer le plasma riche en plaquettes avec une pipette de transfert en plastique et le placer dans un récipient en plastique (avec couvercle) étiqueté « PRP ». Mettre le couvercle sur le récipient et le conserver à température ambiante.
- Préparer le plasma pauvre en plaquettes en centrifugeant le reste de l'échantillon sanguin à 2 000 x g pendant 20 minutes.
- Retirer le plasma pauvre en plaquettes avec une pipette de transfert en plastique et le placer dans un récipient en plastique (avec couvercle) étiqueté « PPP ». Mettre le couvercle sur le récipient et le conserver à température ambiante.
- Ajuster la concentration en plaquettes du PRP à 200-300x10⁹/L à l'aide du PPP. Couvrir et laisser reposer à température ambiante pendant 30 minutes avant de procéder au test.
- Le test doit être effectué dans les 3 heures suivant le prélèvement sanguin.

Échantillons pour agrégation de sang entier

Consulter les instructions du fabricant de l'agrégomètre pour la préparation d'échantillons destinés à une agrégométrie à base de sang entier.

PROCÉDURE

- A) Agrégométrie optique**
- Régler les niveaux 0 % et 100 % d'agrégation de l'agrégomètre en utilisant le plasma pauvre en plaquettes et le plasma riche en plaquettes, conformément aux instructions du fabricant.
 - Pipeter le volume de plasma riche en plaquettes requis dans une cuvette d'agrégation et ajouter un barreau d'agitateur.
 - Préchauffer à 37° C pendant 120 secondes.
 - Ajouter directement dans la cuvette le volume de collagène nécessaire. Ne pas faire couler le réactif le long des parois de la cuvette.
 - Laisser l'agrégation se faire pendant au moins 5 minutes.
- B) Agrégométrie à base de sang entier**
- Consulter les instructions du fabricant pour connaître l'exécution correcte du test.

CONTRÔLE QUALITÉ

Les résultats des examens d'agrégation plaquettaire doivent être interprétés par rapport aux résultats du profil d'agrégation d'un échantillon normal testé au même moment. Le donneur normal ne doit pas avoir pris d'aspirine ni de produits contenant de l'aspirine au cours des 10 jours précédents.

VALEURS PRÉVUES^{3,4}

Après l'ajout de collagène, une phase de latence intervient pendant laquelle aucune agrégation ne se fait. Les plaquettes saines changent ensuite de forme et une seule vague importante d'agrégation survient (60 à 80 % de l'agrégation totale). Une agrégation anormale au collagène peut affecter la phase de latence, la vitesse d'agrégation et la réaction d'agrégation maximale. Les réactions au collagène attendues dans les dysfonctionnements les plus courants sont listées ci-dessous :

Condition	Agrégation en présence de collagène
Thrombasthénie	Absente
Syndrome de Bernard-Soulier	Normale
Maladie du pool vide (□)	Réduite
Carence en cyclo-oxygénase	Réduite
Carence en thromboxane synthétase	Réduite
Ingestion d'aspirine	Réduite
Syndrome d'Ehlers-Danlos	Normale
Maladie de von Willebrand	Normale

AUTRES TESTS

Si les résultats du test sont anormaux, celui-ci devra être répété à un autre moment. Si les résultats continuent d'être anormaux et que le/la patient(e) ne prend aucun médicament connu pour interférer avec l'activité plaquettaire, il conviendra d'envisager d'autres tests⁵.

LIMITE

En agrégométrie optique, la présence de globules rouges dans le PRP entraînera une réduction de l'agrégation totale observée. En cas de présence de plaquettes dans le PPP, l'agrégation totale observée semblera plus importante.

Des résultats trompeurs peuvent être observés si la concentration plaquettaire totale du PRP est inférieure à 75 x 10⁹/L.

Les PRP testés moins de 30 minutes après préparation peuvent indiquer des profils d'agrégation anormaux.

Bibliographie

- Dacie & Lewis, 'Practical Haematology', Lewis, S.M., Bain, B.J. and Bates, I. (Editors); 9th Edition, Elsevier Science Ltd., 2002, pages 380-381.
- Day, H.J. and Holmsen, H., 'Laboratory Tests of Platelet Function', Ann. Clin. Lab. Sci., 1972; 2 : 63.
- Dacie & Lewis, 'Practical Haematology', Lewis, S.M., Bain, B.J. and Bates, I. (Editors); 9th Edition, Elsevier Science Ltd., 2002, pages 383-385.
- Dacie & Lewis, 'Practical Haematology', Lewis, S.M., Bain, B.J. and Bates, I. (Editors); 9th Edition, Elsevier Science Ltd., 2002, pages 384-385.

PRINCIPIO

Abp Collagen Reagent è usato nella diagnosi delle disfunzioni piastriniche o dell'attività piastrinica normale in plasma ricco di piastrine o sangue intero umano.

SOMMARIO

Il collagene è una proteina strutturale praticamente ubiquitaria nel corpo umano. Durante l'emostasi primaria conseguente ad una lesione di vasi sanguigni, l'adesione delle piastrine al collagene esposto nella sede della lesione gioca un ruolo chiave nell'arresto del sanguinamento da questa sede. Qualsiasi interferenza con la capacità delle piastrine di interagire con il collagene esposto è quindi una possibile causa di una tendenza inspiegata al sanguinamento. Alcuni difetti congeniti della funzione piastrinica, come anche alcuni effetti acquisiti e indotti da farmaci, possono influire sull'aggregazione delle piastrine stimolata dal collagene. L'indagine della capacità delle piastrine di un paziente di aggregare in una preparazione controllata di fibrille collagene è una parte importante dell'indagine di disordini sospetti della funzione piastrinica.

Il reattivo contiene una preparazione liquida di 1 mg/ml o 2 mg/ml fibrille collagene di tipo I (>95%) da pelle di tendine equino con l'aggiunta di stabilizzanti.

PRINCIPIO DEL TEST

Il test di aggregazione piastrinica misura la velocità e l'entità con cui le piastrine disperse in un campione di plasma ricco di piastrine (PRP) o sangue intero anticoagulato formano ammassi (aggregati) in seguito all'aggiunta di una sostanza che normalmente stimola l'aggregazione piastrinica (agonista). In aggregometria ottica, l'ammassamento delle piastrine causa una riduzione di torbidità nel plasma ricco di piastrine. Questo fenomeno è misurato su un aggregometro piastrinico che traccia un grafico della velocità e dell'entità massima della reazione di aggregazione. In aggregometria su sangue intero, le piastrine aderiscono ad elettrodi sospesi nel campione di sangue. A mano a mano che le piastrine aderiscono e formano aggregati, si misura l'impedenza fra gli elettrodi e i valori sono tracciati in un grafico.

AVVERTENTE E PRECAUZIONI

Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*.

Non pipettare i materiali con la bocca. Non fumare, bere, né mangiare nelle aree designate per l'uso dei campioni e dei reagenti del kit.

Durante la manipolazione dei campioni clinici e dei reagenti del kit si raccomanda l'utilizzo di guanti monouso. Lavarsi bene le mani al termine dell'operazione.

MATERIALI FORNITI

Reattivo a base di collagene

Ingredienti: il reattivo contiene una preparazione liquida di fibrille di collagene di tendine equino con l'aggiunta di stabilizzanti.

Preparazione per l'uso: ciascuna fiala è pronta per l'uso e deve essere diluita con diluente per collagene in base alla concentrazione desiderata (per es. 10ug/ml).

Conservazione e stabilità: il prodotto deve essere conservato a 2-8 °C ed è stabile sino alla data di scadenza stampata sull'etichetta della fiala.

MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

Sistema per aggregometria piastrinica. Hart Biologicals Collagen Reagent può essere utilizzato in modo soddisfacente su qualsiasi aggregometro. Seguire le istruzioni del fabbricante per il funzionamento dell'aggregometro in uso.

Acqua purificata.

Pipetta da 1,0 ml

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI¹

Preparazione del plasma ricco di piastrine e povero di piastrine per aggregazione ottica

Prelevare il campione di sangue per l'analisi di aggregazione piastrinica con siringhe di plastica e trasferirlo in provette in plastica, oppure usando provette idonee in vetro siliconico sotto vuoto.

Miscelare 9 parti di sangue con 1 parte di sodio citrato (anticoagulante) 0,11 M o 0,13 M. Mescolare capovolgendo delicatamente. Non agitare.

- Preparare il plasma ricco di piastrine centrifugando il sangue anticoagulato a 150-200 xg per 10-15 minuti a temperatura ambiente.
- Rimuovere il plasma ricco di piastrine con una pipetta da prelievo in plastica e trasferirlo in un contenitore in plastica (con coperchio) contrassegnato con 'PRP'. Chiudere il contenitore e mantenere a temperatura ambiente.
- Preparare il plasma povero di piastrine centrifugando il campione di sangue rimanente a 2000 xg per 20 minuti.
- Rimuovere il plasma povero di piastrine con una pipetta da prelievo in plastica e trasferirlo in un contenitore in plastica (con coperchio) contrassegnato con 'PPP'. Chiudere il contenitore e mantenere a temperatura ambiente.
- Regolare la concentrazione piastrinica nel PRP a 200-300x10⁹/L utilizzando PPP, chiudere con il coperchio e lasciare riposare a temperatura ambiente per 30 minuti prima dell'analisi.
- Completare l'analisi entro 3 ore dal prelievo di sangue.

Campioni per aggregazione su sangue intero

Fare riferimento alle raccomandazioni del fabbricante dell'aggregometro per la preparazione dei campioni per aggregometria su sangue intero.

PROCEDURA DEL TEST

- A) Aggregometria ottica**
- Impostare i livelli di aggregazione 0% e 100% sull'aggregometro utilizzando plasma povero di piastrine e plasma ricco di piastrine secondo le istruzioni del fabbricante.
 - Pipettare il volume richiesto di plasma ricco di piastrine nella cuvetta per aggregazione e aggiungere una barretta di agitazione.
 - Preriscaldare a 37 °C per 120 secondi.
 - Aggiungere il volume richiesto di collagene direttamente nella cuvetta. Evitare che il reattivo scivoli lungo le pareti della cuvetta.
 - Lasciare che si formi un pattern di aggregazione per almeno 5 minuti.
- B) Aggregometria su sangue intero**
- Fare riferimento alle istruzioni del fabbricante per la corretta esecuzione del test.

CONTROLLO DI QUALITÀ

I risultati degli studi di aggregazione piastrinica devono essere interpretati per confronto con i risultati dei profili di aggregazione di un campione normale analizzato contemporaneamente. Il donatore normale non deve avere ingerito aspirina a composti contenenti aspirina nei 10 giorni precedenti.

VALORI ATTESI^{3,4}

In seguito all'aggiunta di collagene, si manifesta una fase di latenza durante la quale non avviene alcuna aggregazione. Le piastrine normali sono quindi soggette ad un cambiamento di forma che si esplicita in un'onda di aggregazione larga singola (60-80% dell'aggregazione totale). Una aggregazione da collagene anormale può influire sulla fase di latenza, sulla rapidità di aggregazione e sulla risposta di aggregazione massima. La risposta al collagene attesa nei difetti più comunemente riscontrati sono elencati qui di seguito.

Condizione	Aggregazione da collagene
Trombastenia	Assente
Sindrome di Bernard-Soulier	Normale
Difetto di secrezione (SPD) (◻)	Ridotta
Deficienza di cicloossigenasi	Ridotta
Deficienza di trombossano sintetasi	Ridotta
Ingestione di aspirina	Ridotta
Sindrome di Ehlers-Danlos	Normale
Malattia di Von Willebrand	Normale

ULTERIORI ANALISI

In caso di risultati anomali, ripetere il test in un altro momento. Se i risultati continuano ad essere anomali, e il paziente non assume alcun farmaco di interferenza nota con la funzione piastrinica, è opportuno prendere in considerazione test aggiuntivi⁵.

LIMITAZIONI

In aggregometria ottica, la presenza di globuli rossi nel PRP causa una riduzione dell'aggregazione totale osservata. La presenza di piastrine nel PPP causa un aumento dell'aggregazione totale osservata.

Si possono osservare falsi risultati quando il conteggio totale delle piastrine nel PRP è inferiore a 75 x 10⁹/L.

Il PRP analizzato meno di 30 minuti dopo la preparazione può evidenziare profili di aggregazione anormali.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- Dacie & Lewis, 'Practical Haematology', Lewis, S.M., Bain, B.J. and Bates, I. (Editors); 9th Edition, Elsevier Science Ltd., 2002, pages 380-381.
- Day, H.J. and Holmsen, H., 'Laboratory Tests of Platelet Function', Ann. Clin. Lab. Sci., 1972; 2 : 63.
- Dacie & Lewis, 'Practical Haematology', Lewis, S.M., Bain, B.J. and Bates, I. (Editors); 9th Edition, Elsevier Science Ltd., 2002, pages 383-385.
- Dacie & Lewis, 'Practical Haematology', Lewis, S.M., Bain, B.J. and Bates, I. (Editors); 9th Edition, Elsevier Science Ltd., 2002, pages 384-385.



USO PREVISTO

El reactivo colágeno de abp se utiliza para diagnosticar la disfunción plaquetaria o la actividad plaquetaria normal en plasma humano rico en plaquetas (trombocitos) o en sangre completa.

RESUMEN

El colágeno es una proteína estructural presente en casi todo el cuerpo humano. Durante la hemostasia primaria, después de una lesión en los vasos sanguíneos, la adhesión de las plaquetas al colágeno expuesto en el lugar de la herida juega un papel clave en la supresión de la hemorragia en este sitio. Por lo tanto, toda interferencia de la capacidad de las plaquetas de interactuar con el colágeno expuesto constituye una posible causa de la tendencia a sufrir hemorragias sin explicación. Algunos defectos congénitos de la función plaquetaria, así como algunos efectos adquiridos e inducidos por medicamentos pueden afectar la agregación plaquetaria estimulada por el colágeno. La investigación de la capacidad de las plaquetas de un paciente de agregarse a un preparado controlado de fibrillas de colágeno constituye una parte importante al analizar posibles trastornos de la función plaquetaria.

El reactivo contiene un preparado líquido de 1mm µg/ml ó 2 mg/ml de fibrillas de colágeno Tipo I (>95%) de tendón equino con la adición de sustancias estabilizadoras.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

El ensayo de agregación plaquetaria mide la tasa y el grado a los cuales las plaquetas dispersas en una muestra de plasma rico en plaquetas (PRP) o de sangre completa anticoagulada forman aglutinaciones (agregados) después de la adición de una sustancia que normalmente estimula la agregación plaquetaria (agonista). En la agregometría óptica la aglutinación de las plaquetas hace que el plasma rico en plaquetas se vuelva menos turbio. Esto se mide en el agrégómetro plaquetario, que grafica la tasa y el grado máximo de la reacción de agregación. En la agregometría de sangre completa, las plaquetas se adhieren a los electrodos suspendidos en la muestra de sangre y a medida que las plaquetas se adhieren, se mide y grafica la impedancia entre los electrodos.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

No utilizar la pipeta por boca. No fumar ni consumir alimentos o bebidas en las áreas en que se manipulen especímenes o kits de reactivos.

Usar guantes desechables cuando se manipulen especímenes y kits de reactivos, y posteriormente, lavarse las manos cuidadosamente.

MATERIALES SUMINISTRADOS

Agente reactivo colágeno

Ingredientes: El reactivo contiene un preparado líquido de fibrillas de colágeno de colágeno de tendón equino con la adición de sustancias estabilizadoras.

Preparación para su uso: Cada frasco está listo para ser usado y su contenido deberá ser diluido en diluyente de colágeno a la concentración deseada (e.g. 10ug/ml).

Almacenamiento y estabilidad: El producto debe guardarse a 2 - 8°C y es estable hasta la fecha de vencimiento impresa en la etiqueta del frasco.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Sistema de agregometría plaquetaria – el reactivo colágeno de Hart Biologicals dará resultados satisfactorios en cualquier agrégómetro. Seguir las instrucciones del fabricante para la operación del agrégómetro empleado.

Agua Purificada.

Pipeta para 1,0 ml

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA²

Preparación de plasma rico en plaquetas y pobre en plaquetas para agregación óptica

Se debe recolectar la sangre para el ensayo de agregación plaquetaria en jeringas de plástico y debe ser transferida a tubos de plástico, o bien recolectada en tubos de colección de sangre evacuada de vidrio siliconado.

Se deben mezclar 9 partes de sangre con 1 parte de anticoagulante de citrato de sodio 0,11 M o 0,13 M. Invertir suavemente para mezclar. No agitar.

- Preparar el plasma rico en plaquetas centrifugando la sangre anticoagulada a 150 - 200 x g durante 10 - 15 minutos a temperatura ambiente.
- Extraer el plasma rico en plaquetas con una pipeta plástica de transferencia y colocar en un recipiente de plástico (con tapa) etiquetado como "PRP". Tapar el recipiente y mantener a temperatura ambiente.
- Preparar el plasma pobre en plaquetas centrifugando la muestra de sangre restante a 2000 x g durante 20 minutos.
- Extraer el plasma pobre en plaquetas con una pipeta plástica de transferencia y colocar en un recipiente de plástico (con tapa) etiquetado como "PPP". Tapar el recipiente y mantener a temperatura ambiente.
- Ajustar la concentración plaquetaria en el PRP a 200 - 300x10⁹/L utilizando el PPP; tapar y dejar en reposo a temperatura ambiente durante 30 minutos antes del ensayo.
- El ensayo debe completarse dentro de las 3 horas posteriores a la recolección de la muestra de sangre.

Muestras de sangre completa para agregación

Ver las recomendaciones del fabricante del agrégómetro para la preparación de muestras para agregometría de sangre completa.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

- A) Aggregometría óptica**
- Fijar los niveles de agregación 0% y 100% en el agrégómetro utilizando el plasma pobre en plaquetas y el plasma rico en plaquetas de acuerdo con las instrucciones del fabricante.
 - Extraer con pipeta el volumen necesario de plasma rico en plaquetas en una cubeta de agregación y añadir una varilla agitadora.
 - Precalentar a 37°C durante 120 segundos.
 - Añadir el volumen necesario de reactivo colágeno directamente en la cubeta. Evitar que el reactivo se corra por la pared de la cubeta.
 - Dejar que se forme el patrón de agregación durante al menos 5 minutos.
- B) Aggregometría de sangre completa**
- Ver las instrucciones del fabricante para la correcta realización del ensayo.

CONTROL DE CALIDAD

Los resultados de los estudios de agregación plaquetaria deben interpretarse con referencia los resultados de los perfiles de agregación de una muestra normal analizada al mismo tiempo. El donante normal no debe haber tomado aspirina o compuestos que contengan aspirina durante los 10 días anteriores a la prueba.

VALORES ESPERADOS^{3,4}

Luego de la adición de colágeno, se produce una fase de latencia durante la cual no se produce agregación. La plaqueta normal sufre entonces un cambio de forma, y se produce una gran oleada de agregación simple (agregación total del 60 – 80%). La agregación anormal al colágeno puede afectar la fase de latencia, la tasa de agregación y la respuesta máxima a la agregación. A continuación se lista la respuesta al colágeno esperada en las deficiencias encontradas más comúnmente:

Trastorno	Agregación de colágeno
Trombastenia	Ausente
Síndrome de Bernard-Soulier	Normal
Deficiencia de almacenamiento del Pool (◻)	Reducida
Deficiencia de ciclo-oxigenasa	Reducida
Deficiencia de tromboxano-sintetasa	Reducida
Ingestión de aspirina	Reducida
Síndrome de Ehlers-Danlos	Normal
Enfermedad de Von Willebrand	Normal

PRUEBAS ADICIONALES

Si los resultados del ensayo son anormales, se debe repetir el ensayo en otra oportunidad. Si los resultados son consistentemente anormales y el paciente no está tomando ninguna medicación reconocida por obstaculizar la función plaquetaria, se debe considerar la realización de pruebas adicionales⁵.

LIMITACIONES

En la agregometría óptica, la presencia de hematies en el PRP hará que la agregación total observada sea reducida. La presencia de plaquetas en el PPP causará que la agregación total observada parezca mayor.

Se pueden observar resultados falsos cuando el recuento plaquetario total del PRP es menor que 75 x 10⁹/L.

El PRP analizado antes de transcurridos 30 minutos después de su preparación puede presentar perfiles de agregación anormales.

BIBLIOGRAFÍA

- Dacie & Lewis, 'Practical Haematology', Lewis, S.M., Bain, B.J. and Bates, I. (Editors); 9th Edition, Elsevier Science Ltd., 2002, pages 380-381.
- Day, H.J. and Holmsen, H., 'Laboratory Tests of Platelet Function', Ann. Clin. Lab. Sci., 1972; 2 : 63.
- Dacie & Lewis, 'Practical Haematology', Lewis, S.M., Bain, B.J. and Bates, I. (Editors); 9th Edition, Elsevier Science Ltd., 2002, pages 383-385.
- Dacie & Lewis, 'Practical Haematology', Lewis, S.M., Bain, B.J. and Bates, I. (Editors); 9th Edition, Elsevier Science Ltd., 2002, pages 384-385.