



Collagen Reagent

REF HB-5503-FG (1x1ml)
HB-5504-FG (2x1ml)

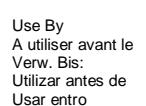
Guide to Symbols



Consult accompanying documents
Voir documents ci-joints
Siehe beigefügte Dokumente
Véanze los documentos duros
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*



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



Lot
Lot
Ch.-B.:
Lote
Lotto



Hart Biologicals Ltd,
2 Rivergreen Business Centre,
Queens Meadow,
Hartlepool TS25 2DL. UK

Tel: +44 (0) 1429-271100 Fax: +44 (0) 1429-277085
www.hartbio.com, E-mail: info@hartbio.com



(HB-0172-LIT Rev 7 Feb 16)

Collagen Reagent



INTENDED PURPOSE

Hart Biologicals 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 lyophilised preparation of 100µg/ml of Type I (>95%) collagen fibrils from equine tendon 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 anti-coagulated 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 lyophilised preparation of 100µg/ml equine tendon collagen with added stabilisers.

Preparation for use: Reconstitute each vial of Collagen reagent with 1.0ml of distilled or deionised water as indicated on the vial label. Allow to stand for 10 minutes and mix well before use.

Storage and stability: The lyophilised product should be stored at 2...8°C and is stable until the expiry date printed on the vial label. After reconstitution, the product is stable for 8 hours at room temperature (20...25°C), 2 weeks at 2.8°C or 4 weeks at -20°C.

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 of 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 anti-coagulated 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 manufacturer's 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 manufacturer's 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 and should not be on any other form of anti-platelet medication.

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

Thrombasthenia

Bernard-Soulier syndrome

Storage Pool defect (□)

Cyclooxygenase deficiency

Thromboxane synthetase deficiency

Aspirin ingestion

Ehlers-Danlos syndrome

Von Willebrand disease

Collagen Aggregation

Absent

Normal

Reduced

Reduced

Reduced

Reduced

Normal

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 considered.⁴

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.

Kollagen-Reagenz



ANWENDUNGSBEREICH
Das Kollagen-Reagenz von Hart Biologicals wird zur Diagnose von Störungen der Thrombozytenfunktion oder normaler Thrombozytentaktivität 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 Blutungsneigung. 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 lyophilisierte Präparation von 100 µg/ml Typ I (>95%) Kollagenfibrillen aus Pferdeschen-Kollagen mit zugegebenen Stabilisatoren.

NACHWEISPRINZIP

Der Thrombozytenaggregations-Test misst die Rate und das Ausmaß der Aggregation (Verklumpung) in einer plättchenreichen Plasmapröße oder in antikoaguliertem Vollblut nach Zugabe einer Substanz, die in der Regel die Thrombozytenaggregation 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 VORSICHTSMASNAHMEN

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.

MITGELEIFERTE MATERIALIEN

Kollagen-Reagenz

Inhaltsstoffe: Das Reagenz enthält eine lyophilisierte Kollagenfibrillenpräparation aus 100 µg/ml Pferdeschen-Kollagen mit zugegebenen Stabilisatoren.

Reagenzpräparation: Jedes Fläschchen mit Kollagen-Reagenz sollte, wie auf dem Flaschenetikett angegeben, mit genau 1,0 ml gereinigt oder deionisiertem Wasser rekonstituiert werden. 10 Minuten stehen lassen und vor Gebrauch gut mischen.

Lagerung und Stabilität der Reagenzien: Das lyophilisierte Produkt sollte bei 2 - 8°C gelagert werden. Es ist bis zu dem aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Nach der Rekonstitution ist das Produkt bei Raumtemperatur (20 - 25°C) für 8 Stunden, bei 2 - 8 °C für 2 Wochen oder bei -20°C für 4 Wochen

stabil.

NICHT MITGELEIFERTE, ABER BENÖTIGTE MATERIALIEN

Plättchenaggregationsystem – 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

PROBENAHLME UND PRÄPARATION²

Präparation von plättchenreichem und plättchenarmem Plasma für den optischen Aggregationstest

Das für den Thrombozytenaggregations-Test benötigte Blut sollte in Kunststoffspritzen oder in Blutabnahmehrörchen aus silikonisiertem Glas abgenommen und in Kunststoffröhren übertragen werden.

Das Blut (9 Anteile) mit 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 'PPP' 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 'PRP' trägt. Stopfen aufsetzen und Behälter auf 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.
2. Anweisungen des Gerätsherstellers befolgen.
3. Das benötigte Volumen an plättchenreichem Plasma in eine Aggregationsküvette pipettieren und Stempel hinzufügen.
4. Das Plasma 120 Sekunden auf 37 °C wärmen.
5. Mindestens

Réactif de collagène

UTILISATION

Le réactif de collagène de Hart Biologicals 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 structurellement quasiomniprésente 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 inexplicable. Certaines anomalies congénitales de la fonction plaquettaire ainsi que certains effets acquis ou d'origine médicamenteuse peuvent affecter l'agrégation des plaquettes stimulées par le collagène. Étudier la capacité d'agrégation plaquettaires d'une patiente 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 lyophilisée de 100µg/ml de fibrilles de collagène de type I (>95%) provenant 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 des fils 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

Ingrediénts: Le réactif contient une préparation lyophilisée de fibrilles de collagène de 100 µg/ml de collagène de tendon équin avec stabilisateurs.

Préparation: Reconstituer chaque ampoule de réactif de collagène avec 1 ml d'eau distillée ou déionisée conformément aux instructions figurant sur l'étiquette de l'ampoule. Laisser reposer 10 minutes puis mélanger soigneusement avant toute utilisation.

Conservation et stabilité : Le produit lyophilisé doit être stocké entre 2 et 8°C. Il est stable jusqu'à la date limite d'utilisation figurant sur l'étiquette de l'ampoule. Après reconstitution, le produit est stable pendant 8 heures à température ambiante (entre 20 et 25°C), pendant 2 semaines entre 2 et 8°C ou 4 semaines à -20°C.

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 PRÉPARATION²

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 prélevement 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 (citrate 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

1. 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.
2. Pipeter le volume de plasma riche en plaquettes requis dans une cuvette d'agrégation et ajouter un barreau d'agitateur.
3. Préchauffer à 37°C pendant 120 secondes.
4. Ajouter directement dans la cuvette le volume de collagène nécessaire. Ne pas faire couler le réactif le long des parois de la cuvette.
5. 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 ingéré d'aspirine ni de composé contenant de l'aspirine au cours des 10 jours précédents et ne doit suivre aucun autre traitement anticoagulant.

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 patient(e) ne prend aucun médicament connu pour interférer avec l'activité plaquettaire, il conviendra d'envisager d'autres tests⁴.

LIMITES

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

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.

Reattivo di collagene

I Instruzioni per l'uso

PRINCIPIO
Hart Biologicals 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 un'eventuale insorgita 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 liofilizzata di 100 µg/ml di fibrille collagene tipo I (>95%) collagene di tendine equino con 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 turbidità 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 liofilizzata di 100 µg/ml di collagene di tendine equino con aggiunta di stabilizzanti.

Preparazione per l'uso: ricostituire ciascuna fiala di reattivo a base di collagene con 1,0 ml di acqua distillata o deionizzata come indicato sull'etichetta della fiala. Lasciare riposare per 10 minuti. Miscelare bene prima dell'uso.

Conservazione e stabilità: Il prodotto liofilizzato deve essere conservato a 2-8 °C ed è stabile sino alla data di scadenza stampata sull'etichetta della fiala. Dopo la ricostituzione, il prodotto è stabile per 8 ore a temperatura ambiente (20-25 °C), 2 settimane a 2-8 °C o 4 settimane a -20 °C.

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 CAMPIONI²

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 x g 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 x g 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) Agrégométrie ottica

1. 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.
2. Pipettare il volume richiesto di plasma ricco di piastrine nella cuvetta per aggregazione e aggiungere una barretta di agitazione.
3. Preriscaldare a 37 °C per 120 secondi.
4. Aggiungere il volume richiesto di collagene direttamente nella cuvetta. Evitare che il reattivo scivoli lungo le pareti della cuvetta.
5. Lasciare che si formi un pattern di aggregazione per almeno 5 minuti.

B) Agrégométrie 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. Un normale donatore non deve aver assunto aspirina o composti contenenti aspirina nei 10 giorni precedenti e non deve essere in terapia con farmaci antiplastrinici.