

TRAP-6 Reagent (1 mM)

Thrombin Receptor Activator Peptide-6



Ref#: TRA-1010A/B
Store at +2 to +8°C
For *in vitro* use only
For research use only

Thrombin Receptor Activator Peptide-6 (TRAP-6) Reagent is used to study platelet dysfunction, or normal platelet activity in human platelet rich plasma or whole blood.

SUMMARY

TRAP-6 is a synthetic hexapeptide that activates the thrombin receptor independent of receptor cleavage. It corresponds to amino acids 42 to 47 of the thrombin receptor and mimics the effects of thrombin. Thrombin is a very potent platelet activator. Its action is not blocked by anti-platelet drugs such as Aspirin or Clopidogrel. TRAP-6 can be used as an alternative to Thrombin as a platelet activator, as it is easily standardized and more stable than thrombin. TRAP-6 can be used to detect the action of GpIIb/IIIa antagonists.

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 clump (aggregate) 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* use only. For research use only.
Wear disposable gloves when handling specimens and kit reagents, and wash hands thoroughly afterwards.

REAGENT

TRAP-6 Reagent Ingredients: The reagent contains a lyophilized preparation of 1mM TRAP-6 with added buffer and stabilizers. Preparation for use: Reconstitute each vial of TRAP-6 reagent with 1.0 mL of distilled or deionized water. Allow to stand for 10 minutes and mix well before use.

Storage and stability: The lyophilized 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, 2 weeks at 2-8°C or 4 weeks at -20°C.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Platelet aggregometry system. Follow the manufacturer's instructions for the operation of the aggregometer in use.
Purified water.
Pipettes

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

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

Blood for platelet aggregation testing should be collected into plastic syringes and transferred to plastic tubes, or collected in siliconized 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 it 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 it at room temperature. Adjust the platelet concentration in the PRP to 200-300 x 10⁹/L using PPP, cap and allow to stand at room temperature for 30 minutes prior to testing. Testing should be completed within 3 hours after 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 into an aggregation cuvette and add a stir bar.
3. Pre-warm to 37°C for 120 seconds.
4. Add the required volume of TRAP-6 reagent directly into 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

TRAP-6 can be used for research as part of a series of aggregation tests to study anti-platelet drugs:

Drug Aggregation Response
Aspirin Normal
Clopidogrel Normal
Aggrastat Reduced or absent
Reopro Reduced or absent
Integrilin Reduced or absent

FURTHER TESTING

If the test results are abnormal, the test should be repeated on a separate occasion

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.

TRAP-6-Reagenz wird zur Erforschung von Störungen der Thrombozytenfunktion oder normaler Thrombozytenaktivität in plättchenreichem Humanplasma (PRP) oder Vollblut eingesetzt.

ZUSAMMENFASSUNG

TRAP-6 (TRAP: thrombin receptor activator peptide) ist ein synthetisches Hexapeptid, das den Thrombinrezeptor unabhängig von der Rezepterspaltung aktiviert. Es passt zu den Aminosäuren 42 bis 47 des Thrombinrezeptors und ahmt die Wirkung von Thrombin nach. Thrombin ist ein sehr wirksamer Plättchenaktivator, seine Wirkung wird durch plättchenhemmende Medikamente wie Aspirin oder Clopidogrel nicht blockiert. TRAP-6 kann als Alternative zu Thrombin als Plättchenaktivator eingesetzt werden, da es leicht einzustellen und stabiler als Thrombin ist. TRAP-6 kann zur Erfassung der Wirkung von GpIIb/IIIa Antagonisten eingesetzt werden.

NACHWEISPRINZIP

Der Thrombozytenaggregationstest misst die Rate und das Ausmaß der Aggregation in einer plättchenreichen Plasmaprobe 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, welches 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 zur *In-vitro*-Diagnostik. Nur für Forschungszwecke.
Einweghandschuhe tragen. Hände immer gründlich waschen.

REAGENZ

TRAP-6-Reagenz Inhaltsstoffe: Das Reagenz enthält eine 1mM lyophilisierte TRAP-6-Präparation mit Puffer und Stabilisatoren. Reagenzpräparation: Jedes Fläschchen mit TRAP-6-Reagenz sollte mit genau 1,0 mL gereinigtem oder deionisiertem Wasser rekonstituiert werden. 10 Minuten stehen lassen und vor Gebrauch gut durchmischen.

Lagerung und Stabilität:

Das lyophilisierte Produkt bei 2-8°C lagern. Es ist bis zu dem aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Nach der Rekonstitution ist das Produkt bei Raumtemperatur für 8 Stunden oder bei 2-8°C für 2 Wochen oder bei -20°C für 4 Wochen stabil.

NICHT MITGELIEFERT, ABER BENÖTIGTE MATERIALIEN

Plättchenaggregometer
Befolgen Sie die Bedienungsanleitungen des Herstellers für das verwendete Aggregometer.
Gereinigtes Wasser
Pipetten

PROBENAHE UND PRÄPARATION

Präparation von plättchenreichem und plättchenarmen Plasma für den optischen Aggregationstest

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

Das Blut (9 Anteile) mit 0,11 M oder 0,13 M Natriumcitrat Antikoagulans (1 Anteil) mischen. Behutsam drehen, um zu mischen. Nicht schütteln. Das plättchenreiche Plasma bei Raumtemperatur durch 10-15-minütiges 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 beachten Sie die Empfehlungen des Herstellers des Aggregometers.

TESTVERFAHREN

A) Optische Aggregometrie

- 0% und 100% Plättchen-Spiegel auf dem Aggregometer einstellen. Dazu plättchenarmes und plättchenreiches Plasma verwenden. Anweisungen des Geräteherstellers befolgen.
- Das benötigte Volumen an plättchenreichem Plasma in eine Aggregationsküvette pipettieren und Stempel hinzufügen.
- Das Plasma 120 Sekunden auf 37°C vorwärmen.
- Das benötigte Volumen TRAP-6-Reagenz direkt in die Küvette geben. Vermeiden, dass das Reagenz seitlich an der Küvette herunterläuft.
- Mindestens 5 Minuten warten, bis sich ein Aggregationsmuster gebildet hat.

B) Vollblut-Aggregometrie

Bitte beachten Sie die 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 oder aspirinhaltige Substanzen zu sich genommen haben. Ferner sollte er keine andere Medikation gegen Plättchenaggregation erhalten haben bzw. erhalten.

ERWARTETE ERGEBNISSE

TRAP-6 kann im Rahmen einer Serie von Aggregationstests zur Erforschung von plättchenhemmenden Medikamenten verwendet werden:

Arzneimittel Aggregationsreaktion
Aspirin normal
Clopidogrel normal
Aggrastat schwächer oder tritt nicht ein
Reopro schwächer oder tritt nicht ein
Integrilin schwächer oder tritt nicht ein

WEITERE TESTS

Bei abnormalen Testergebnissen sollte der Test separat wiederholt werden. Wenn die Ergebnisse konsistent abnormal sind und die Probe keine Medikamente aufweist, welche die Plättchenfunktion beeinträchtigen, ist die Durchführung zusätzlicher Tests zu erwägen.

EINSCHRÄNKUNGEN

Bei der optischen Aggregometrie bewirkt das Vorliegen von roten Blutzellen im PRP 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.