

Der Inhalt dieses Dokuments dient lediglich als Beispiel. Die aktuellste Version finden Sie in unserem geschützten Downloadbereich unter <https://www.coachrom.com/insere>. Bei Bedarf senden wir sie Ihnen aber auch gerne zu, bitte anfordern unter: info@coachrom.com



ADP
REF AG001K
R 3 Flaschen x 0,1 µmol



Vertrieb und Support:
CoaChrom Diagnostica GmbH
www.coachrom.com | info@coachrom.com
Tel. +43-1-236 222 1 | Fax +43-1-236 222 111
Kostenfreie Nummern für Deutschland:
Tel. 0800-24 66 33-0 | Fax 0800-24 66 33-3

VERWENDUNGSZWECK:

Thrombozytenagonisten für die Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) Methode für die quantitative *in vitro* Bestimmung der Thrombozytenaggregation in humanem Citratplasma mithilfe einer automatisierten oder halb-automatisierten Methode. Diese Methode wird zur Unterstützung der Diagnose von Thrombozytenfunktionsstörungen oder zur Beurteilung des Ansprechens auf Thrombozytenaggregationshemmer bei Patienten mit Verdacht auf Thrombozytenfunktionsstörungen oder unter Thrombozytenaggregationshemmern eingesetzt. Dieses Produkt zur *In-vitro*-Diagnostik ist für die professionelle Verwendung in der Laborumgebung bestimmt.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG:

Technisch:^{1,3}

Die Thrombozytenfunktion wird durch Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) bewertet. Mit der LTA wird die Lichtdurchlässigkeit durch eine Probe plättchenreichen Plasmas (PRP) als Reaktion auf eine Reihe von Thrombozytenagonisten gemessen. Die Lichtdurchlässigkeit durch PRP wird im Verhältnis zu einer Referenzküvette mit plättchenarmem Plasma (PPP) gemessen. Die Lichtdurchlässigkeit wird im PPP auf 100 % und im PRP auf 0 % eingestellt. Wird dem gerührten PRP ein Thrombozytenagonist zugesetzt, beginnen die Thrombozyten zu aggregieren, und die Lichtdurchlässigkeit des PRP nimmt zu.

Klinisch:³⁻⁸

Die Fähigkeit oder Unfähigkeit der Thrombozyten, auf einen bestimmten Agonisten zu reagieren, ist die Grundlage für die Unterscheidung von kongenitalen (z. B.: Glanzmann-Thrombasthenie, Bernard-Soulier-Syndrom, Grey-Platelet-Syndrom usw.) oder erworbenen (z. B.: Medikamente, Verfahren, medizinische Bedingungen, hämatologische Erkrankungen) Thrombozytenfunktionsstörungen. Falls erforderlich, um das Ansprechen auf Thrombozytenaggregationshemmer wie Acetylsalicylsäure (ASS, Aspirin), P₂Y₁₂-Rezeptor-Inhibitoren und Glykoprotein-IIb/IIIa-Inhibitoren zu beurteilen.

TESTPRINZIP:

Wird dem plättchenreichen Plasma (PRP) eines gesunden Probanden Adenosin-5'-diphosphat (ADP) hinzugefügt, so bindet ADP an den P₂Y₁ und P₂Y₁₂ Rezeptor auf der Thrombozytenoberfläche und eine Thrombozytenaggregation in zwei Phasen wird ausgelöst. ADP führt zu einer ersten Aggregationswelle. Ist der Stimulus stark genug, kommt es zu einer zweiten Aggregationswelle, wenn die Thrombozytengranula ihre Inhaltsstoffe freisetzen, beispielsweise Serotonin, Fibrinogen und endogenes ADP^{7,8}.

REAGENZIEN:

R Adenosin-5'-diphosphat (ADP) zu etwa 0,1 µmol, lyophilisiert. Enthält Stabilisatoren.

Dieses Produkt ist als ungefährlich eingestuft und ist gemäß Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 [CLP] nicht kennzeichnungspflichtig.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN:

- Bei der Abfallentsorgung sind die geltenden lokalen Entsorgungsrichtlinien zu befolgen.
- Jeglicher schwerwiegende Vorfall, der im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten ist, muss dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaates gemeldet werden, in dem der Anwender und/oder der Patient seinen Wohnsitz hat.
- Die Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung (SSP) ist in der europäischen Datenbank für Medizinprodukte verfügbar (siehe öffentliche Eudamed-Website: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> oder auf Anfrage bei HYPHEN BioMed).
- Um optimale Testergebnisse zu gewährleisten, wird empfohlen, die Proben und Kontrollen nacheinander und ohne Unterbrechung zu testen.

VORBEREITUNG DER REAGENZIEN:

Die Verschlüsse sind vorsichtig zu entfernen, um einen Verlust an Reagens beim Öffnen zu vermeiden.

R Für Aggregometer:

Den Inhalt jeder Flasche mit genau 0,5 mL destilliertem Wasser rekonstituieren (200 µM). Bis zur vollständigen Auflösung gut durchmischen. Das Reagens 30 min. bei Raumtemperatur (18-25° C) äquilibrieren, dabei von Zeit zu Zeit schwenken. Rekonstituiertes ADP wie folgt verdünnen (Beispiel für 1 mL):

Für die Endkonzentration im Test (µM)	10	5	2
Die folgenden 10X Lösungen herstellen:			
„10X“ ADP Herstellung (µM)	100	50	20
ADP 200 µM (µL)	500	250	100
Physiologische Kochsalzlösung (µL)	500	750	900

R Für Analysegeräte:

Den Inhalt jeder Flasche mit genau 0,625 mL destilliertem Wasser rekonstituieren (160 µM). Bis zur vollständigen Auflösung gut durchmischen. Das Reagens 30 min. bei Raumtemperatur (18-25° C) äquilibrieren, dabei von Zeit zu Zeit schwenken.

Rekonstituiertes ADP wie folgt verdünnen (Beispiel für 1 mL):

Für die Endkonzentration im Test (µM)	10	5	2
Die folgenden 8X Lösungen herstellen:			
„8X“ ADP Herstellung (µM)	80	40	16
ADP 160 µM (µL)	500	250	100
Physiologische Kochsalzlösung (µL)	500	750	900

Das Reagens vor jeder Verwendung homogenisieren.

LAGERUNG UND STABILITÄT:

Ungeöffnete Reagenzien müssen bei 2-8° C in der Originalverpackung gelagert werden. Unter diesen Bedingungen können sie dann bis zu dem auf der Verpackung aufgedruckten Verfallsdatum verwendet werden.

R Stabilität der geschlossenen gelagerten Reagenzien nach der Rekonstitution unter der Voraussetzung, dass diese nicht kontaminiert wurden und keine Verdunstung erfolgte:

- 7 Tage bei 2-8 °C.
- 24 Stunden bei Raumtemperatur (18-25 °C).
- 2 Monate gefroren bei ≤ -20° C*
- On-Board-Stabilität: siehe spezifische Anwendungsanleitung.

*Nur einmal bei Raumtemperatur (18-25 °C) auftauen und sofort verwenden.

ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERT REAGENZIEN UND MATERIALIEN

- Labormaterial.
- Physiologische Kochsalzlösung (0,9 % NaCl).
- SB Küvette (064-1041-9) und SB Set Tool (063-4151-5) für CS- und CN-Serie.
- Automatische Analysesysteme wie z. B.: CS-Serie, CN-Serie.
- Lichttransmissionsaggregometer.

Bitte beachten Sie, dass die Anwendungen auf anderen Analysegeräten vom Instrumentenhersteller gemäß den Anforderungen der Verordnung (EU) 2017/746 unter deren Verantwortung validiert werden können, solange der Verwendungszweck nicht geändert wird.

PROBENGEWINNUNG UND -VORBEREITUNG:

Probenentnahme, Vorbereitung und Lagerung von frischen Proben (plättchenreiches Plasmas (PRP) und plättchenarmes Plasma (PPP)) sollten gemäß Laborverfahren oder anderen validierten Methoden durchgeführt werden^{3,11}. Das Blut (9 Volumenteile) wird vorsichtig in 0,109 M Citrat (3,2 %) als Antikoagulans (1 Volumenteil) abgenommen. Die Blutentnahme erfolgt durch Venenpunktion. CLSI H58-A und Studien^{3,11}: Studien sollten an frischen Proben innerhalb von maximal 4 Stunden nach der Blutentnahme durchgeführt werden.

VERFAHREN:

Der Thrombozytenagonist sollte in einer Konzentration von 2 µM verwendet werden. Wenn die Thrombozytenaggregation anormal ist, sollten höhere ADP-Konzentrationen getestet werden (z. B. 5 oder 10 µM)^{1,3}.

HYPHEN BioMed stellt Anwendungsanleitungen für definierte Gerinnungsanalysegeräte zur Verfügung. Die Anwendungsanleitungen enthalten spezifische Handhabungs- und Leistungsinformationen für Analysegeräte/Test und ergänzen die Informationen in dieser Gebrauchsanweisung.

Protokoll am Aggregometer:

1. Jede Küvette muss mit einem Rührer bestückt werden.
2. Für den 100 % Abgleich der Aggregation wird eine mit 360 µL PPP gefüllten Küvette genutzt.
3. 360 µL plättchenreiches Plasma (PRP) in eine zweite Küvette pipettieren. 2 Minuten bei 37 °C inkubieren. Dann den 0% Aggregationspunkt mit dem PRP bestimmen.
4. Mit einer langen, feinen Pipettenspitze 40 µL ADP (10X) direkt in das plättchenreiche Plasma geben. Nicht gegen die Küvettenwände pipettieren.
5. Die Aggregationskurve 5 bis 10 Minuten aufzeichnen.

Wenn ein anderes Reaktionsvolumen als das oben angegebene für die verwendete Methode erforderlich ist, muss das Volumenverhältnis strikt beachtet werden, um die Testleistung zu gewährleisten.

QUALITÄTSKONTROLLE:

Kommerzielle Kontrollen sind nicht verfügbar. Die Kontrolle kann aus einer frischen Probe bestehen, die einem normalen Spender entnommen wurde, der keine Thrombozytenaggregationshemmer erhalten hat und bei dem eine normale Thrombozytenfunktion nachgewiesen wurde. Kontrollproben sollten vorzugsweise bei jeder Testreihe, mindestens aber bei jeder neuen Reagenziencharge oder nach der Wartung des Geräts durchgeführt werden.

ERGEBNISSE:

- Die Ergebnisse werden durch Untersuchung der Aggregationskurve und der maximalen Aggregation (%) bewertet. Diese Parameter variieren je nach Gerätetyp, und die spezifischen Normalwerte sollten von jedem Labor bestimmt werden.
- Die Ergebnisse sollten auf der Grundlage des klinischen Zustands des Patienten, der Thrombozytenzahl, möglicher medikamentöser Einflüsse, des Lebensstils, der Ernährung und der präanalytischen Bedingungen interpretiert werden.^{12,13}
- Anormale Kurven sollten durch einen Wiederholungstest bestätigt werden.
- Die Intervariabilität der Chargen, gemessen an 3 Chargen, beträgt % CV ≤ 10 % (normale Probe).

EINSCHRÄNKUNGEN DES TESTS:

- Um eine optimale Testleistung zu gewährleisten und die Spezifikationen zu erfüllen, sollten die technischen Anweisungen von HYPHEN BioMed sorgfältig beachtet werden.
- Jegliches nicht klare oder Anzeichen von Kontamination aufweisende Reagens muss verworfen werden.
- Alle verdächtigen Proben oder Proben mit Anzeichen für Aktivierung müssen verworfen werden.
- Unwiderstandsfähige Änderungen werden von HYPHEN BioMed nicht unterstützt, da sie die Systemleistung und die Testergebnisse beeinträchtigen können. Der Anwender ist für die Validierung jeglicher Änderungen dieser Anweisungen oder der Verwendung der Reagenzien in anderen Analysegeräten als denen verantwortlich, die in HYPHEN Biomed Anwendungsanleitungen oder dieser Gebrauchsanweisung angegeben sind.
- Wenn die Anzahl der Blutplättchen unter 150 × 10⁹/L oder über 600 × 10⁹/L liegt, können die Testergebnisse beeinträchtigt werden. Die Thrombozytenzahl von PRP-Proben sollte nicht auf einen standardisierten Wert mit autologem PPP eingestellt werden.³

ERWARTETE WERTE:

Das in einer internen Studie an gesunden erwachsenen Probanden mit 2 µM ADP auf dem Aggregometer (n = 51), der CS-Serie (n = 50) und der CN-Serie (n = 82) ermittelte Referenzintervall lag zwischen 56 und 98 %, zwischen 58 und 96 % bzw. zwischen 57 und 96 % (Zentral 90 %, 95. Perzentil).¹⁴

Jedes Labor muss jedoch seine eigenen normalen Aggregationsparameter bestimmen.^{3,11, 15}

LEISTUNGSMERKMALE:

Leistungsstudien wurden wie in den CLSI-Leitlinien beschrieben durchgeführt. Die folgenden Leistungsdaten stellen typische Ergebnisse dar und sind nicht als Spezifikationen für ADP anzusehen. Mathematische Analysen wurden mithilfe validierter Statistiksoftware in Übereinstimmung mit CLSI-Leitlinien durchgeführt. Für automatisierte Tests werden Leistungsmerkmale in den entsprechenden Anwendungsanleitungen der Analysegeräte dokumentiert.

Am Aggregometer:

Analytikleistung

Präzision

Präzisionsstudien wurden anhand von anormalen und normalen Proben, in 1 Serie und 10 Wiederholungen beurteilt.

Probe	Wiederholbarkeit	
	% Max Aggregation	CV%
Normal	71 %	9,7 %
Anormal	42 %	10,0 %

Interferierende Substanzen

Es wurden keine Interferenzen mit den Molekülen bis zu den folgenden Konzentrationen beobachtet:

Bilirubin C	Bilirubin F	Intralipide	Hämoglobin
30 mg/dL	30 mg/dL	360 mg/dL	250 mg/dL

Klinische Leistung

Agonist	Übereinstimmung	
	Referenzmethode	Übereinstimmung (n = 109)
ADP (2 µM)	Helena Reagens	99 %

Agonist	n	Sensitivität/Spezifität			
		Sensitivität	Spezifität	Fläche unter der Kurve (ROC)	
ADP	109	100 %	98 %	0,993	
Agonist	n	PPV	NPV	LR+	LR-
ADP	109	98 %	100 %	58	0

PPV: Prädiktiver Wert eines positiven Ergebnisses

NPV: Prädiktiver Wert eines negativen Ergebnisses

LR+: Likelihood Ratio +

LR-: Likelihood Ratio -

Auf CS-Serie/CN-Serie:

Analytikleistung

Präzision

Präzisionsstudien wurden anhand von anormalen und normalen Proben, in 1 Serie und 30 Wiederholungen beurteilt.

Probe	Wiederholbarkeit	
	% Max Aggregation	CV/SD
Normal	88 %	CV = 4,4 %
Anormal	0,51 %	SD = 0,62 %

Probe	Wiederholbarkeit	
	% Max Aggregation	CV%
Normal	88 %	6,9 %
Anormal	28 %	10,7 %

Interferierende Substanzen

Interferenzen werden vom verwendeten Analysesystem definiert und in den entsprechenden Anwendungsanleitungen der Analysesysteme dokumentiert.

Klinische Leistung

Agonist	Übereinstimmung	
	Referenzmethode (Aggregometer)	Übereinstimmung (n = 108) (CS-Serie)
ADP	Helena Reagens	95 %

Agonist	n	Sensitivität/Spezifität			
		Sensitivität	Spezifität	Fläche unter der Kurve (ROC)	
ADP	108	100 %	91 %	0,974	
Agonist	n	PPV	NPV	LR+	LR-
ADP	108	91 %	100 %	11,6	0

PPV: Prädiktiver Wert eines positiven Ergebnisses

NPV: Prädiktiver Wert eines negativen Ergebnisses

LR+: Likelihood Ratio +

LR-: Likelihood Ratio -

Die klinische Leistungsfähigkeit wurde bei ADP 2µM für Thrombozytenaggregationshemmer und normale Proben definiert und bei 10 µM für Blutungssyndrom, duale Thrombozytenaggregationshemmer und normale Proben bestätigt.

LITERATURHINWEISE:

- Le Blanc J. *et al.* Advances in Platelet Function Testing-Light Transmission Aggregometry and Beyond. J Clin Med. 2020.
- Egashira M. *et al.* The Basic Evaluation of Light Transmission Platelet Aggregation Method on an Automated Coagulation Analyzer CN-6000. Sysmex Journal International. 2020.
- 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.
- Frelinger AL. *et al.* Subcommittee on Platelet Physiology. Laboratory monitoring of P2Y12 inhibitors: communication from the SSC of the ISTH. J Thromb Haemost. 2018.
- Michelson AD. *et al.* How I use laboratory monitoring of antiplatelet therapy. Blood. 2017.
- Yardumian DA. *et al.* Laboratory investigation of platelet function: a review of methodology. J Clin Pathol. 1986.
- 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.
- Angiolillo DJ. *et al.* Basic principles of platelet biology and clinical implications. Circ J. 2010.
- Gresele 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.
- McCabe White M. *et al.* Platelet protocols: research and clinical laboratory procedures. Elsevier Science. 1999.
- 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.
- Kaeng W.L. *et al.* Effects of Lifestyle on Hemostasis, Fibrinolysis, and Platelet Reactivity. Arch Intern Med. 2003.
- 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.
- CLSI Document EP28-A3c: "Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline – Third Edition". 2010.
- Munnix *et al.*, Harmonizing light transmission aggregometry in the Netherlands by implementation of the SSC-ISTH guideline, Platelets. 2021.

E-Gebrauchsanweisungen (andere Sprachen) sind verfügbar unter www.hyphen-biomed.com.

Wenden Sie sich für den Kundendienst und Anwendungsanleitungen bitte an Ihren Anbieter oder Händler vor Ort (siehe www.hyphen-biomed.com).

Änderungen im Vergleich zur vorherigen Version.

Die folgenden Symbole sind auf der Produktkennzeichnung zu sehen:

REF	Katalognummer	LOT	Chargencode	IVD	In-vitro-Diagnostikum
Rx	Numerische < x > Identifikation des Reagens		Siehe Gebrauchsanweisung	WHO STD	WHO-Standardcode
	Temperaturgrenzwert		Hersteller		Verwendbar bis
CE	CE-Kennzeichnung der Konformität mit der ID-Nummer der benannten Stelle		Rekonstitutionsvolumen	CONTENTS	Inhalt
Cx	Numerische < x > Identifikation der Kontrolle	i-MA	Siehe Anweisungen zur Methode in der Anwendungsanleitung	CONTAINS	Enthält
EXP	Verfalldatum		Ausreichend für <n> Prüfungen	UNIT	Messeinheit
TARGET VALUE	Zielwert		Vor Sonnenlicht und Hitze schützen	CALx	Numerische < x > Identifikation des Kalibrators
UDI	Eindeutige Gerätekennung		Enthält biologisches Material tierischen Ursprungs		Enthält humanes Blut oder Plasmoderivate
UK CA	UKCA-Kennzeichnung der Konformität		Biologische Risiken	ACCEPTANCE RANGE	Vertrauensbereich