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

CE 0197 UKCA

IVD

Ristocetin

REF AG004K

R 3 Flaschen x 7,5 µmol

HYPHEN BioMed

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 bei Patienten mit Verdacht auf Thrombozytenfunktionsstörungen 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:[3-9]

Das Ristocetin Reagens wird für Ristocetin-induzierte Thrombozytenaggregation (RIPA) Tests angeboten. Es dient dem Nachweis des von-Willebrand-Syndroms, dabei besonders der Untersuchung einer erhöhten Affinität des von-Willebrand-Faktors (vWF) gegenüber GPIbα bei Patienten mit dem von Willebrand Syndrom (VWS) Typ 2B und zur Bestätigung eines Bernard-Soulier-Syndroms.

TESTPRINZIP:

Wenn Ristocetin dem plättchenreichen Plasma (PRP) eines gesunden Probanden zugesetzt wird, fördert es die Interaktion zwischen dem von-Willebrand-Faktor (vWF) und dem thrombozytären Membran-Glykoprotein GPIbα, dem vWF-Rezeptor auf den Blutplättchen. Die Ristocetin-induzierte Thrombozytenaggregation (RIPA) wird zur Messung der PRP-Aggregation des Patienten in Anwesenheit verschiedener Ristocetin-Konzentrationen verwendet. Die Thrombozytenaggregation wird bei einer Ristocetinkonzentration von 1,2 mg/ml beobachtet, wenn die Thrombozytenfunktion und der vWF im Plasma normal sind. Sie wird jedoch nicht beobachtet, wenn quantitative und qualitative Defekte des vWF (außer Typ 2B vWF) vorliegen oder wenn die GPIbα-Funktion anormal ist[4-6].

REAGENZIEN:

R **Ristocetin** zu etwa 7,5 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 (15 mg/mL).

Bis zur vollständigen Auflösung gut durchmischen. Das Reagens 30 min. bei Raumtemperatur (18-25° C) äquilibrieren, dabei von Zeit zu Zeit schwenken.

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

Für die Endkonzentration im Test (mg/mL):	**1,2**	0,5
Die folgenden 10X Lösungen herstellen:		
„10X" Ristocetin Herstellung (mg/mL)	**12**	5
Ristocetin 15 mg/mL (µL)	**800**	333
Physiologische Kochsalzlösung (µL)	**200**	667

Um bei 2 mg/mL zu testen, die Flasche mit genau 0,375 mL destilliertem Wasser rekonstituieren (20 mg/mL). Bis zur vollständigen Auflösung gut durchmischen. Das Reagens 30 Min. bei Raumtemperatur (18-25° C) äquilibrieren, dabei von Zeit zu Zeit schwenken und sofort verwenden.

R **Für Analysegeräte:**

Den Inhalt jeder Flasche mit **genau 0,625 mL destilliertem Wasser** rekonstituieren (12 mg/mL).

Bis zur vollständigen Auflösung gut durchmischen. Das Reagens 30 min. bei Raumtemperatur (18-25° C) äquilibrieren, dabei von Zeit zu Zeit schwenken.

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

Für die Endkonzentration im Test (mg/mL):	**1,2**	0,5
Die folgenden 8X Lösungen herstellen:		
„8X" Ristocetin Herstellung (mg/mL)	**9,6**	4
Ristocetin 12 mg/mL (µL)	**800**	333
Physiologische Kochsalzlösung (µL)	**200**	667

Um bei 2 mg/mL zu testen, die Flasche mit genau 0,470 mL destilliertem Wasser rekonstituieren (16 mg/mL). Bis zur vollständigen Auflösung gut durchmischen. Das Reagens 30 Min. bei Raumtemperatur (18-25° C) äquilibrieren, dabei von Zeit zu Zeit schwenken und sofort verwenden.

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 geschlossen 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 MITGELIEFERTE 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.[3,10]

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[3,10]: Studien sollten an frischen Proben innerhalb von maximal 4 Stunden nach der Blutentnahme durchgeführt werden.

VERFAHREN:

Der Thrombozytenagonist sollte in einer Konzentration von 1,2 mg/mL verwendet werden. Wenn die Thrombozytenagglutination normal ist, sollten niedrigere Ristocetin-Konzentrationen getestet werden (d. h., 0,5-0,7 mg/mL). Wenn die Thrombozytenagglutination abnormal oder nicht vorhanden ist, sollte der Test mit Ristocetin 2 mg/mL wiederholt werden.[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 Ristocetin (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.

HYPHEN BioMed
155 rue d'Eragny, 95000 Neuville-sur-Oise, France

QUALITÄTSKONTROLLE:

Kommerzielle Kontrollen sind nicht verfügbar.
Die Kontrolle kann aus einer frischen Probe bestehen, die einem normalen Spender entnommen wurde, 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 [11,12].
- Bei gesunden Personen sollte die Aggregation mindestens bei 1,2 mg/mL, aber nicht bei 0,5 mg/mL stattfinden. Bei Patienten mit einem Bernard-Soulier-Syndrom oder dem von-Willebrand-Syndrom Typ 3 findet bei allen Konzentrationen eine sehr schwache oder keine Aggregation statt. Bei Patienten die an einem Pseudo (Plättchen-Typ)-von-Willebrand-Syndrom oder einem von-Willebrand-Syndrom Typ 2B leiden, reagieren die Thrombozyten hypersensibel auf Ristocetin. Dies führt bei niedrigen Ristocetin Konzentrationen (d. h. 0,5-0,7 mg/mL) zu einer vermehrten Aggregation.[3]
- 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.
- Anwenderdefinierte 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 × 10^9/L oder über 600 × 10^9/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 1,2 mg/mL Ristocetin auf dem Aggregometer (n = 61), der CS-Serie (n = 63) und der CN-Serie (n = 71) ermittelte Referenzintervall lag zwischen 63 und 105 %, zwischen 71 und 92 % bzw. zwischen 51 und 93 % (Zentral 90 %, 95. Perzentil).[13].
Jedes Labor muss jedoch seine eigenen normalen Aggregationsparameter bestimmen.[3,10, 14]

LEISTUNGSMERKMALE:

Leistungsstudien wurden wie in den CLSI-Leitlinien beschrieben durchgeführt.
Die folgenden Leistungsdaten stellen typische Ergebnisse dar und sind nicht als Spezifikationen für Ristocetin 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.

	Wiederholbarkeit	
Probe	**% Max Aggregation**	**CV%**
Normal	97 %	4,7 %
Anormal	37 %	15,0 %

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	310 mg/dL	250 mg/dL

Klinische Leistung

Übereinstimmung

Agonist	Referenzmethode	Übereinstimmung (n = 121)
Ristocetin (1,2 mg/mL)	Helena Reagens	96 %

Sensitivität/Spezifität

Agonist	n	Sensitivität	Spezifität	Fläche unter der Kurve (ROC)	
Ristocetin	121	97 %	95 %	0,981	
Agonist	**n**	**PPV**	**NPV**	**LR+**	**LR-**
Ristocetin	121	96 %	96 %	18,09	0,03

PPV: Prädiktiver Wert eines positiven Ergebnisses — LR+: Likelihood Ratio +
NPV: Prädiktiver Wert eines negativen Ergebnisses — 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.

CS-Serie	Wiederholbarkeit	
Probe	**% Max Aggregation**	**CV%**
Normal	84 %	1,6 %
Anormal	28 %	14,2 %
CN-Serie	**Wiederholbarkeit**	
Probe	**% Max Aggregation**	**CV%**
Normal	79 %	4,5 %
Anormal	45 %	6,1 %

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

Klinische Leistung

Übereinstimmung

Agonist	Referenzmethode (Aggregometer)	Übereinstimmung (n = 119) (CS-Serie)
Ristocetin	Helena Reagens	96 %

Sensitivität/Spezifität

Agonist	n	Sensitivität	Spezifität	Fläche unter der Kurve (ROC)	
Ristocetin	119	100 %	91 %	0,950	
Agonist	**n**	**PPV**	**NPV**	**LR+**	**LR-**
Ristocetin	119	93 %	100 %	10,80	0,00

PPV: Prädiktiver Wert eines positiven Ergebnisses — LR+: Likelihood Ratio +
NPV: Prädiktiver Wert eines negativen Ergebnisses — LR-: Likelihood Ratio –

Die klinische Leistungsfähigkeit wurde bei Ristocetain 1,2 mg/mL für anormale (mit weniger GPIbα) und normale Proben definiert.

LITERATURHINWEISE:

1. Le Blanc J. et al. Advances in Platelet Function Testing-Light Transmission Aggregometry and Beyond. J Clin Med. 2020.
2. Egashira M. *et al.* The Basic Evaluation of Light Transmission Platelet Aggregation Method on an Automated Coagulation Analyzer CN-6000. Sysmex Journal International. 2020.
3. Cattaneo M. *et al.* Recommendations for the Standardization of Light Transmission Aggregometry: A Consensus of the Working Party from the Platelet Physiology Subcommittee of SSC/ISTH. J Thromb Haemost. 2013.
4. Yardumian DA. *et al.* Laboratory investigation of platelet function: a review of methodology. J Clin Pathol. 1986..
5. 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.
6. Angiolillo DJ. *et al.* Basic principles of platelet biology and clinical implications. Circ J. 2010.
7. 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.
8. Just S. Laboratory Testing for von Willebrand Disease: The Past, Present, and Future State of Play for von Willebrand Factor Assays that Measure Platelet Binding Activity, with or without Ristocetin. Semin Thromb Hemost. 2017.
9. McCabe White M. *et al.* Platelet protocols: research and clinical laboratory procedures. Elsevier Science. 1999.
10. CLSI. Platelet Function Testing by Aggregometry; Approved Guideline. CLSI document H58-A (ISBN 1-56238-683-2). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087 USA 2012.
11. Kaeng W.L. *et al.* Effects of Lifestyle on Hemostasis, Fibrinolysis, and Platelet Reactivity. Arch Intern Med. 2003.
12. Olas B. and Brys M. Effects of coffee, energy drinks and their components on hemostasis: The hypothetical mechanisms of their action. Food and Chemical Toxicology. 2019. .
13. CLSI Document EP28-A3c: “Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline – Third Edition”. 2010.
14. Munnix *et al.*, Harmonizing light transmission aggregometry in the Netherlands by implementation of the SSC-ISTH guideline, Platelets. 2021.

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	JJJJ-MM-TT	Verwendbar bis
CE XXXX	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	Σ	Ausreichend für <n> Prüfungen	UNIT	Messeinheit
TARGET VALUE	Zielwert		Vor Sonnenlicht und Hitze schützen	CALx	Numerische < x > Identifikation des Kalibrators
UDI	Eindeutige Gerätekennung	BIO	Enthält biologisches Material tierischen Ursprungs		Enthält humanes Blut oder Plasmaderivate
UK CA	UKCA-Kennzeichnung der Konformität		Biologische Risiken	ACCEPTANCE RANGE	Vertrauensbereich.

HYPHEN BioMed
155 rue d'Eragny, 95000 Neuville-sur-Oise, France