

Collagène

(Derme bovin soluble)

DESCRIPTION DU PRODUIT

Le collagène est une préparation lyophilisée de collagène de derme bovin soluble (Type 1). La concentration active du réactif reconstitué est de 1,9 mg/ml.

USAGE PRÉVU

Le collagène est utilisé dans les études d'agrégation plaquettaire de routine pour l'évaluation de dysfonctionnement ou d'activation plaquettaire.

PRINCIPE DU TEST

Quand le collagène est ajouté à du plasma riche en plaquettes, les plaquettes adhèrent au collagène. Après cette adhésion, les plaquettes normales changent leur forme, libèrent de l'ADP endogène et s'agglutinent.^{8,10,11}

PRÉCAUTIONS

Le collagène est destiné au DIAGNOSTIC IN VITRO UNIQUEMENT ET NE DOIT ÊTRE NI INJECTÉ OU NI INGÉRÉ.

Note à l'intention de l'utilisateur : tout incident grave lié à ce produit doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient sont établis.

MATÉRIEL FOURNI

Collagène 3 x 0,5 ml. Conserver entre 2 ° to 8 °C avant reconstitution.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

1. Agrégomètre de plaquettes
2. Eau purifiée (distillée, désionisée ou de qualité réactif), pH 5,3 – 7,2
3. Pipettes (contenances de 0,5 ml et 0,45 ml)
4. Agitateurs jetables
5. Cuvettes pour agrégomètre

INSTRUMENTATION

Le collagène fonctionnera comme décrit lorsque utilisé avec la plupart des agrégomètres de plaquettes optiques. Suivre les consignes du fabricant pour faire fonctionner l'agrégomètre utilisé.

PRÉLÈVEMENT DES SPÉCIMEN ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS A TESTER

Consulter la directive H21 A2 en vigueur, approuvée par NCCLS pour des instructions détaillées sur le prélèvement de spécimens et la préparation des échantillons.⁶

1. PRÉPARATION DU PATIENT :

Sept à 10 jours avant le prélèvement du spécimen, les patients doivent s'abstenir de prendre de l'aspirine ou des médicaments qui contiennent de l'aspirine ou tout autre médicament et supplément diététique connu pour modifier la fonction plaquettaire. Les patients doivent jeûner et éviter les nourritures grasses et les produits laitiers pendant 12 heures précédant le prélèvement du spécimen.⁶

2. PRÉLÈVEMENT DU SPÉCIMEN :

Le prélèvement sanguin doit être effectué avec soin pour éviter la stase, l'hémolyse, la contamination par des liquides tissulaires ou l'exposition au verre. Conserver les spécimens à température ambiante.⁸

Chacun des facteurs suivants peut entraîner des résultats inexacts d'analyse, et les échantillons affectés doivent être rejetés : présence d'hémolyse, de contamination par des globules rouges, de lipémie, de chyle, d'ictère, de caillots de thrombocytopenie (< 75 000 /mm³) dans le spécimen et d'hypofibrinogénémie. La réutilisation d'articles jetables peut entraîner l'inexactitude des résultats d'analyse.

Observer les précautions standard pendant le prélèvement de spécimen, la préparation de l'échantillon et le processus analytique.^{2,3} Jeter les objets tranchants et les déchets biologiques conformément au règlement du laboratoire.

Technique à la seringue (recommandée)⁸

- a. Utiliser une aiguille papillon pour ponction veineuse.
- b. Prélever 9,0 ml de sang dans une seringue en plastique. Éviter une succion excessive.
- c. Retirer l'aiguille de la seringue et transvaser immédiatement et doucement le sang dans un tube en plastique [polypropylène]⁴ contenant 1,0 ml d'anticoagulant au citrate de sodium 0,11 M. La proportion doit être de 9 parties de sang pour 1 partie d'anticoagulant.⁹
- d. Couvrir et retourner 4 - 5 fois doucement pour mélanger.
- e. Conserver à température ambiante (entre 15 ° et 28 °C).

REMARQUE : Lorsque l'hématocrite du patient est < 30 % ou > 55 %, les volumes de sang par rapport à l'anticoagulant doivent être ajustés.⁴

Technique au tube de prélèvement sous vide

1. Utiliser une aiguille papillon pour ponction veineuse.
2. Prélever le sang dans des tubes (en plastique) contenant de l'anticoagulant au citrate de sodium à 0,11 M.
3. Retourner 4 à 5 fois doucement pour mélanger.

REMARQUE : Si on utilise des tubes de prélèvement en plastique sous vide, vérifier sur l'étiquette que l'anticoagulant au citrate est bien à 0,11 M. La couleur des bouchons ne change pas avec les différentes concentrations en citrate. Suivre les consignes du fabricant pour le prélèvement des spécimens

PRÉPARATION DE PLASMA RICHE (PRP) ET PAUVRE (PPP) EN PLAQUETTES

1. Préparer un plasma riche en plaquettes en centrifugeant du sang anticoagulé à 150 x g pendant 10 minutes à température ambiante (15 ° et 28 °C).
2. Vérifier qu'il n'y a pas de globules rouges dans la couche de plasma. Si des globules rouges sont présents, recentrifuger à 150 x g pendant 5 minutes supplémentaires.
3. Au moyen d'une pipette de transfert en plastique, observer et retirer avec soin la couche de plaquettes sans déranger la couche leuco-plaquettaire ou des globules rouges, et transférer dans un récipient étiqueté (PRP). Boucher le récipient et le laisser à température ambiante.
4. Préparer le plasma pauvre en plaquettes en centrifugeant le restant du spécimen de sang à 2500 x g pendant 20 minutes. Vérifier que le plasma pauvre en plaquettes soit dépourvu d'hémolyse, puis transférer dans un tube en plastique étiqueté PPP.
5. La numération plaquettaire du PRP devrait être de 250 000 ± 50 000 /mm³. La numération plaquettaire peut être réduite par l'utilisation de PPP préparé à partir de l'échantillon.

REMARQUE : Si de l'acide arachidonique est utilisé comme agoniste, ne pas ajuster la numération plaquettaire.

RECONSTITUTION

REMARQUE : Les réactifs doivent être amenés à température ambiante (entre 15 ° et 28 °C) avant la reconstitution. Les réactifs conservés doivent être amenés à température ambiante avant d'être utilisés

Reconstituer un flacon de collagène avec 0,5 ml d'eau purifiée.

CONSERVATION DES RÉACTIFS

Le collagène reconstitué est stable pendant 30 jours lorsqu'il est conservé entre 2 ° et 8 °C dans son contenant d'origine hermétiquement fermé.

PROCÉDURE DE TEST

Le test doit être effectué dans les 4 heures qui suivent le prélèvement de l'échantillon.⁸

1. Mettre un agitateur dans chaque cuvette.
2. Préparer un contrôle d'agrégomètre en pipétant 0,5 ml de plasma pauvre en plaquettes dans une cuvette.
3. Pipeter 0,45 ml de plasma riche en plaquettes dans une seconde cuvette. Incuber à 37 °C pendant 2 minutes.
4. Au besoin, régler les références de 0 % et 100 % selon les instructions du fabricant pour l'agrégomètre utilisé.
5. Ajouter 0,05 ml de collagène directement dans le plasma riche en plaquettes. Ne pas laisser le réactif couler le long de la paroi de la cuvette.
6. Laisser l'agrégation se former pendant 5 minutes.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les laboratoires doivent suivre les pratiques du contrôle de qualité généralement acceptées lorsqu'une épreuve de compétence n'est pas disponible.

Pour assurer un fonctionnement adéquat de l'instrument et la bonne performance des réactifs, un échantillon témoin doit être évalué chaque jour où les analyses sont effectuées. L'échantillon témoin doit être préparé de la même manière que l'échantillon d'analyse. Pour effectuer des études sur l'agrégation des plaquettes, l'échantillon témoin doit être composé de plasma frais riche en plaquettes et prélevé sur un donneur normal (spécifié et qualifié) qui n'a pas ingéré de composés contenant de l'aspirine au cours des 10 jours précédant l'analyse et dont la fonction plaquettaire a toujours été normale.

RÉSULTATS

Les modèles typiques d'agrégation au collagène sont illustrés en Fig. 1 et 2. Après l'addition de collagène au plasma riche en plaquettes, une phase de latence survient pendant laquelle aucune agrégation n'est observée. Les plaquettes normales montreront un changement de forme suivi ensuite par une grande vague unique d'agrégation.

VALEURS ATTENDUES

Les intervalles de valeurs attendues pour chaque réactif aux concentrations utilisées pour produire une agrégation plaquettaire doivent être établis par chaque laboratoire, voir le tableau 2.^{4,8,9,10}

Tableau 2
RÉPONSES TYPIQUES D'AGRÉGATION PLAQUETTAIRE POUR DES DONNEURS NORMAUX à 250 000 PLAQUETTES /mm³
[agrégation totale à 5 minutes]

	ADP	Acide arachidonique	Collagène [Type I]	Épinéphrine
Concentration finale	2.0x10 ⁻⁵ M	500µg/mL	0.19mg/mL	1.0x10 ⁻⁴ M
Phase de latence [sec]	<10	<=20	<60	0
Pente primaire	38-67	>20	35-67	7-34
Agrégation totale (% @ 5min)	63-95	65-90	63-99	54-101
Agrégation biphasique	Dépendent de la concentration	NON	NON	OUI
Autre	Peut montrer un changement de forme	Tous les donneurs normaux peuvent ne pas être conformes à PLT CT~175k-300k	Ne pas diluer	Tous les donneurs normaux peuvent ne pas être conformes

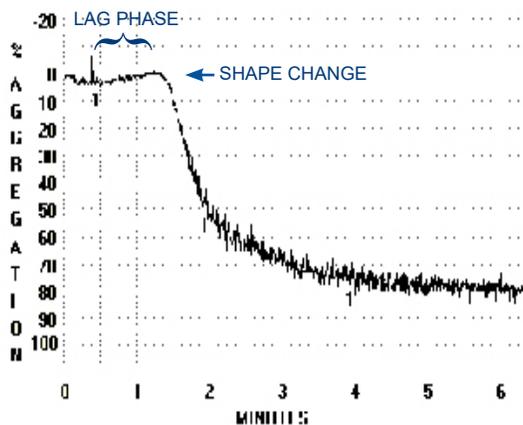


Fig. 1 Normal Aggregation

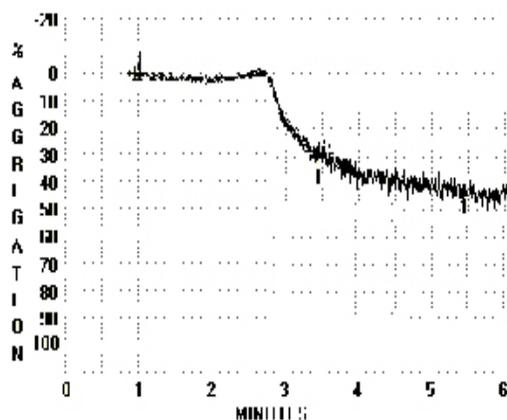


Fig. 2 Abnormal Aggregation

LIMITES

Un historique détaillé de la santé du patient est nécessaire à l'interprétation exacte des résultats. On doit demander aux patients s'ils ont récemment pris des médicaments car un bon nombre de médicaments prescrits ou non prescrits peuvent interférer avec l'agrégation plaquettaire. Des substances telles que caféine, tabac, extraits de plantes (ou compléments) et alcool peuvent affecter les résultats de l'analyse.^{7,8}

CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES

Des études ont montré que ce produit fonctionnera comme décrit avant sa date de péremption si les instructions de procédure et de conservation sont respectées.

Linéarité :

L'agrégation plaquettaire provoquée par des agonistes communs (ADP, acide arachidonique, collagène et épinéphrine) est un système d'analyse non linéaire pour les paramètres suivants : phase de latence, pente primaire, pente secondaire, réponse biphasique et désagrégation. La non linéarité est due à plusieurs facteurs tels que la chimie de la réaction et l'instrumentation. L'agrégation plaquettaire mesure un taux de réponse ou une activité qui ne constitue pas une mesure quantitative des éléments réagissant ou de leur concentration.

EXACTITUDE, PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Exactitude

Dans l'agrégation plaquettaire, l'exactitude est un paramètre relatif qui dépend du système d'analyse.

Précision et reproductibilité

Les limites que présente l'agrégation plaquettaire font qu'il est difficile de fournir une précision typique ou des intervalles de reproductibilité. Toutefois, on applique à ces paramètres un consensus fondé sur l'expérience (voir ci-dessous). Chaque laboratoire doit établir ses propres limites quant à l'acceptabilité des dosages.

Reproductibilité d'une analyse à une autre :	mieux que ± 7,5%
Reproductibilité d'un instrument à un autre :	mieux que ± 15%
Variation du réactif d'un lot à un autre :	mieux que ± 10,5%
D'un laboratoire à un autre (système d'analyse identique) :	mieux que ± 12,5%

RÉFÉRENCES

1. Born, GVR and Cross, MJ. The Aggregation of Blood Platelets. J. Physiol [London] 168:178, 1963.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Isolation Precautions in Hospitals. Centers for Disease Control and Prevention. 1996; Vol 17; 1:53 - 80.
3. National Committee for Clinical Laboratory Standards. NCCLS: Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline. NCCLS document M29. Wayne, PA.
4. McCabe-White, M and Jennings, LK. Platelet protocols: Research and Clinical laboratory Procedure. Academic Press. London. 1999, p 35.
5. Newhouse, P and Clark, C. The Variability of Platelet Aggregation., in Triplett, DA, ed. Platelet Function: Laboratory Evaluation and Clinical Application. ASCP. Chicago. 1978. p 69.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. NCCLS Collection, Transport and Processing of Blood Specimens Approved Guideline- Second Edition. NCCLS Document H 18-A2. Wayne, PA.
7. Weiss HJ: Aspirin and platelets in drugs and hematologic reactions. Dimittov and Nodine (eds.). Grune and Stratton, New York, 1974.
8. Triplett DA, Harms CS, Newhouse P, Clark C: Platelet Function. Laboratory Evaluation and Clinical Application. ASCP, 1978.
9. Day HJ, Holmsen H: Laboratory tests of platelet function. Annal Clin Lab Sci, 2:63, 1972.
10. Owen CA, Bowie EJW, Thompson JH: The diagnosis of bleeding disorder. Little, Brown and Co., 1975.
11. William WJ, Beutler, E. Erslev AJ, Rundles RW: Hematology. McGraw-Hill, 1977.

Pour une liste complète des produits disponibles s'il vous plaît aller à notre site Web ou www.biodatacorp.com contacter le service client ci-dessous.

LA GAMME DE PRODUITS BIO/DATA CORPORATION COMPREND DES RÉACTIFS À USAGE GÉNÉRAL ET PROFESSIONNEL DE LABORATOIRE DESTINÉS À INDUIRE ET À SIGNALER L'ACTIVITÉ ET LES RÉPONSES DE LA FONCTION PLAQUETTAIRE. CE PRODUIT EST GARANTI POUR FONCTIONNER COMME DÉCRIT DANS SON ÉTIQUETAGE, Y COMPRIS LES INSTRUCTIONS D'UTILISATION. BIO/DATA CORPORATION NE FAIT AUCUNE RÉCLAMATION NI NE DONNE AUCUNE GARANTIE, EXPRESSE OU IMPLICITE, QUANT À LA CAPACITÉ, L'APTITUDE OU LA QUALITÉ MARCHANDE POUR TOUT AUTRE USAGE. EN AUCUN CAS BIO/ DATA CORPORATION NE POURRA ÊTRE TENUE RESPONSABLE DE TOUT DOMMAGE CONSÉCUTIF RESULTANT DE LA GARANTIE EXPRIMÉE CI-DESSUS.



155 Gibraltar Road, Horsham, PA 19044 États-Unis
 (800) 257-3282 États-Unis (215) 441-4000 International
 Télécopie : (215) 443-8820 International
 Courriel : customer.service@biodatacorp.com
 Internet : www.biodatacorp.com

An ISO 13485 Registered Company



Alpha Laboratories Ltd, 40 Parkam Drive, Eastleigh, Hampshire, SO50 4NU United Kingdom

mdi Europa GmbH, Langenhagener Str. 71, 30855 Langenhagen, GERMANY

