

DESCRIPTION DU PRODUIT

PAR/Pak® est un kit qui contient de l'ADP (adénosine-5'-diphosphate), de l'épinéphrine et du collagène soluble de derme bovin (Type I) lyophilisés.⁹

USAGE PRÉVU

PAR/Pak II est utilisé dans les études d'agrégation plaquettaire de routine pour l'évaluation de dysfonctionnement ou d'activation plaquettaire.

PRINCIPE DU TEST

L'ADP l'épinéphrine et le collagène induisent des modèles caractéristiques d'agrégation de plaquettes dans le plasma normal riche en plaquettes. Les plaquettes de patients avec divers désordres acquis et hérédités de la fonction plaquettaire montrent des réponses anormales à ces réactifs.^{8,10,11}

PRÉCAUTIONS

Les réactifs PAR/Pak sont destinés au DIAGNOSTIC IN VITRO UNIQUEMENT ET NE DOIVENT ÊTRE NI INJECTÉS OU NI INGÉRÉS.

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

- ADP 2 x 0,5 ml. Conserver entre 2 ° à 8 °C avant reconstitution.
- Eau purifiée 2 x 0,5 ml. Conserver entre 2 ° à 8 °C avant reconstitution.
- Collagène 2 x 0,5 ml. Conserver entre 2 ° à 8 °C avant reconstitution.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

- Agrégomètre de plaquettes
- Eau purifiée (distillée, désionisée ou de qualité réactif), pH 5,3 – 7,2
- Pipettes (contenances de 0,45 ml et 0,05 ml)
- Agitateurs jetables
- Cuvettes pour agrégomètre

INSTRUMENTATION

Les réactifs PAR/Pak II fonctionneront comme décrit lorsque utilisés avec la plupart des agrégomètres optiques de plaquettes.¹ Suivre les consignes du fabricant pour faire fonctionner l'agrégomètre utilisé.

PRÉLÈVEMENT DES SPÉCIMENS ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS À 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.⁵

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.⁵

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 de l'hypofibrinogénémie. La réutilisation d'articles jetables peut entraîner l'inexactitude des résultats d'analyse.

Suivre les précautions d'usage pendant le prélèvement des échantillons, la préparation de l'étalon et le processus d'analyse.^{2,3} Jeter les objets contondants et les déchets biologiques conformément au règlement du laboratoire.

Technique à la seringue (recommandée)⁸

- Utiliser une aiguille papillon pour la ponction veineuse.
- Prélever 9,0 ml de sang dans une seringue en plastique. Éviter une succion excessive.
- 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.⁵
- Couvrir et retourner 4 - 5 fois doucement pour mélanger.
- 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 du tube de prélèvement sous vide

- Utiliser une aiguille papillon pour la ponction veineuse.
- Prélever le sang dans des tubes (en plastique) contenant l'anticoagulant au citrate de sodium 0,11 M.
- 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 de spécimens.

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

- Préparer un plasma riche en plaquettes en centrifugeant du sang anticoagulé à 150 x g pendant 10 minutes à température ambiante (15 ° à 28 °C).
- 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.

- 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.
- 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 transvaser dans un tube en plastique étiqueté PPP.
- La numération plaquettaire du PRP doit 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 d'ADP avec 0,5 ml d'eau purifiée.
- Reconstituer un flacon d'épinéphrine avec 0,5 ml d'eau purifiée.
- Reconstituer un flacon de collagène avec 0,5 ml d'eau purifiée.

Après reconstitution, bien mélanger tous les réactifs avant de les utiliser.

CONSERVATION DES RÉACTIFS

L'ADP, l'épinéphrine et le collagène reconstitués sont stables pendant 30 jours lorsqu'ils sont conservés entre 2 ° et 8 °C dans leur récipient d'origine hermétiquement fermé.

PROCÉDURE DE DOSAGE

Le dosage doit être effectué dans les 3 heures qui suivent le prélèvement de l'échantillon.⁸

- Mettre un agitateur dans chaque cuvette.
- Préparer un contrôle d'agrégomètre en pipétant 0,5 ml de plasma pauvre en plaquettes dans une cuvette.
- Pipeter 0,45 ml de plasma riche en plaquettes dans une seconde cuvette. Incuber à 37 °C pendant 3 minutes.
- Au besoin, régler les références de 0 % et 100 % selon les instructions du fabricant pour l'agrégomètre utilisé.
- Ajouter 0,05 ml de réactif directement au plasma riche en plaquettes. Ne pas laisser le réactif couler le long de la paroi de la cuvette. La concentration finale de chaque réactif dans le plasma à tester est de :

pour ADP	2 X 10 ⁻⁵ M
l'épinéphrine	1 X 10 ⁻⁴ M
collagène	0,19 mg/ml
- Laisser l'agrégation se former pendant 5 minutes

AGRÉGATION BIPHASIQUE

Pour démontrer 2 vagues distinctes, ou agrégation ADP « biphasique », le plasma riche en plaquettes peut être testé avec plusieurs dilutions du réactif.¹⁰

Préparer les concentrations diluées d'ADP comme suit :

- Étiqueter 2 tubes à essais : 4 x 10⁻⁵ M et 2 x 10⁻⁶ M, voir Tableau 1.
- Ajouter 0,4 ml de sérum physiologique (sans agent de conservation) dans chacun des tubes précités.
- Pour arriver à 4 x 10⁻⁵ M : ajouter 0,1 ml de la solution à 2 x 10⁻⁴ M (du flacon reconstitué) au tube étiqueté 4 x 10⁻⁵ M. Mélanger (une dilution 1 pour 5).
- Pour arriver à 2 x 10⁻⁵ M : ajouter 0,2 ml de la solution à 4 x 10⁻⁵ M (du tube à 4 x 10⁻⁵ M) au tube étiqueté 2 x 10⁻⁵ M. Mélanger (une dilution 1 pour 2).
- Des dilutions supplémentaires peuvent être réalisées en utilisant des techniques comme détaillé ci-dessus.

Tableau 1

	Concentration active	Final Concentration
Reconstitué	2 x 10 ⁻⁴ M	N/A
Normal	2 x 10 ⁻⁴ M	2 x 10 ⁻⁵ M
Biphasique	2 x 10 ⁻⁵ M jusqu'à 4 x 10 ⁻⁵ M	2 x 10 ⁻⁶ M jusqu'à 4 x 10 ⁻⁶ M

CONTRÔLE DE QUALITÉ

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

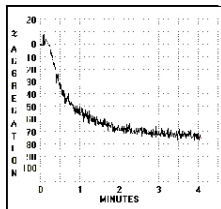
Pour assurer un fonctionnement adéquat de l'instrument et la bonne performance des réactifs, un échantillon témoin doit être évalué chaque jour où les analyses sont effectuées. L'échantillon témoin doit être préparé de la même manière que l'échantillon d'analyse. Pour effectuer des études sur l'agrégation 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

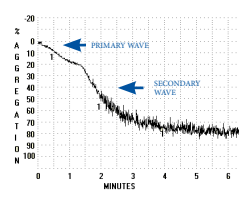
Les modèles typiques d'agrégation sont illustrés en Figures 1 - 6.

L'ADP, à la concentration finale de 2 x 10⁻⁵ M, induira une grande vague unique d'agrégation pour un plasma normal riche en plaquettes. À une concentration finale (sous test) de 2 x 10⁻⁶ M à 4 x 10⁻⁶ M, deux vagues d'agrégation peuvent être observées (Voir Figure 2). La vague primaire est la réponse à l'ADP exogène (réactif). La vague secondaire est due à la libération d'ADP endogène du pool non-métabolique de nucléotides (pool de stockage) contenu dans les plaquettes.

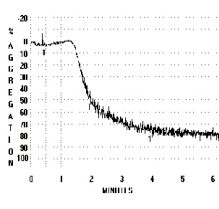
L'épinéphrine induit une agrégation biphasique pour une vaste gamme de concentrations.¹⁰ Deux vagues d'agrégation sont aisément distinguables avec la plupart des plasmas normaux



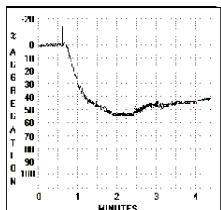
ADP - Normal Fig. 1



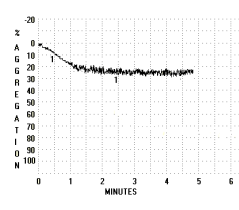
Epinephrine - Normal Fig. 2



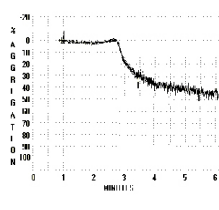
Collagen - Normal Fig. 3



ADP - Abnormal Fig. 4



Epinephrine - Abnormal Fig. 5



Collagen - Abnormal Fig. 6

riches en plaquettes.

Au moment de 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 ensuite un changement de forme suivi par une grande vague unique d'agrégation.

LES RÉSULTATS D'AGRÉGATION OBSERVÉS LORS DE DÉFAILLANCES DE LA FONCTION PLAQUETTAIRE SONT DÉCRITS EN FIGURE 7.

RÉSULTATS DE L'AGRÉGATION OBSERVÉE LORS DE DÉFAUTS DE LA FONCTION PLAQUETTAIRE

Defect	Reagent	ADP	Epinephrine	Collagen
ASPIRIN-LIKE		▼ or N	▼	▼
THROMBASTHENIA		▼▼	▼▼	▼
STORAGE POOL DISEASE		▼	▼	▼
VON WILLEBRAND SYNDROME		N	N	N
BERNARD-SOULIER SYNDROME		N	N	N
UREMIA		▼	▼	▼

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 L'AGRÉGATION DE PLAQUETTES 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 (% @ 5 min)	62-101	65-90	63-109	54-101
Agrégation biphasique	concentration dépendant	NON	NON	OUI
Autre	Peut montrer un changement de forme	Tous les donneurs normaux peuvent ne pas être conformes à PLT CT-175 k-300 k	Ne pas diluer	Tous les donneurs normaux peuvent ne pas être conformes

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 %
 (système d'analyse identique) : mieux que ± 12,5 %

RÉFÉRENCES

- Born, GVR and Cross, MJ. The Aggregation of Blood Platelets. J. Physiol [London] 168:178, 1963.
- Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Isolation Precautions in Hospitals. Centers for Disease Control and Prevention. 1996; Vol 17; 1:53 - 80.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. NCCLS: Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline. NCCLS document M29. Wayne, PA
- McCabe-White, M and Jennings, LK. Platelet protocols: Research and Clinical laboratory Procedure. Academic Press. London. 1999, p 35.
- 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.
- 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
- Weiss HJ: Aspirin and platelets in drugs and hematologic reactions. Dimittov and Nodine (eds.). Grune and Stratton, New York, 1974.
- Triplett DA, Harms CS, Newhouse P, Clark C: Platelet Function. Laboratory Evaluation and Clinical Application. ASCP, 1978.
- Day HJ, Holmsen H: Laboratory tests of platelet function. Annal Clin Lab Sci, 2:63, 1972.
- Owen CA, Bowie EJW, Thompson JH: The diagnosis of bleeding disorder. Little, Brown and Co., 1975.
- Marcus AJ, Zucker MB.: Physiology of blood platelets. Grune and Stratton. 1965.
- Harms CS, Triplett DA: Platelet Aggregation. Lab Mgt. Oct., 1977.
- Mills DCB, Robb IA, Roberts GCK: The release of nucleotides, 5-hydroxytryptamine, and enzymes from human blood platelets during aggregation. J. Physiol. 195:715, 1968.
- Day HJ, Holmsen H: Laboratory tests of platelet function. Annal Clin Lab Sci. 2:63, 1972
- Day HJ, Rao AK: Evaluation of platelet function. Sem in Hemat, Vol XXIII, 2, 89-101, 1986.

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 Parham Drive, Eastleigh, Hampshire, SO50 4NU United Kingdom



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

