

PRODUKTBESCHREIBUNG

Collagen ist eine lyophilisierte Zubereitung aus löslichem Kalbshaut-Collagen (Typ 1). Die Konzentration des rekonstituierten Reagenz beträgt 1,9 mg/ml.

VERWENDUNGSZWECK

Collagen ist für die Routine-Aggregationsmessung bestimmt. In plättchenreichem Plasma führt es zur Aktivierung, Aggregation und Hemmung der Thrombozyten.

PRINZIP

Nach Zugabe von Collagen zu plättchenreichem Plasma wird die Adhäsion der Thrombozyten stimuliert. In Folge der Adhäsion kommt es zu einer Formveränderung der normalen Thrombozyten, welche endogenes ADP freisetzen und sich anhäufen (Aggregation).^{8,10,11}

WARNHINWEIS

Collagen (Typ 1) ist ausschließlich FÜR DEN EINSATZ IN LABORATORIEN UND FÜR IN-VITRO-DIAGNOSTIK VORGESEHEN. ES IST NICHT ZUR INJEKTION ODER FÜR DEN ORALEN GEBRAUCH VORGESEHEN.

HINWEIS AN DEN ANWENDER: Jedes schwerwiegende Vorkommnis, das im Zusammenhang mit diesem Produkt auftritt, ist dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedsstaates, in dem der Anwender und/oder Patient ansässig ist, zu melden.

MITGELIEFERTES MATERIAL

3 x 0,5 ml Collagen

LAGERUNGSHINWEIS

Lagerung des Lyophilisats im ungeöffneten Behältnis vor Rekonstitution bei 2 - 8° C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum.

BENÖTIGTES MATERIAL (NICHT IM LIEFERUNGSUMFANG ENTHALTEN)

1. Aggregometer
2. Gereinigtes Wasser (destilliert, deionisiert oder Reagenzqualität), pH 5,3 – 7,2
3. Pipetten (0,5 ml, 0,45ml Volumina)
4. Einweg Rührstäbchen
5. Aggregometerküvetten

GERÄTE

Collagen kann in den meisten optischen Aggregometern eingesetzt werden. Die Betriebsanweisungen des Herstellers des verwendeten Aggregometers sind zu befolgen.

PROBENENTNAHME UND PROBENVORBEREITUNG

Befolgen Sie die Anweisungen der CLSI-Richtlinie H21 A2 (ehemals NCCLS) zur Probenentnahme und Probenvorbereitung.⁶

1. PATIENTENVORBEREITUNG:

Die Patienten sollten 7 -10 Tage vor der Probenentnahme kein Aspirin oder Medikamente, die Aspirin enthalten, sowie andere Medikamente oder Nahrungsergänzungsmittel, die die Thrombozytenfunktion und Blutgerinnung beeinflussen, einnehmen. Patienten sollten darüber hinaus zum Zeitpunkt der Probenentnahme 12 Stunden nüchtern sein und in einem Zeitraum von 12 Stunden vor der Probenentnahme keine fettreichen Lebensmittel oder Milchprodukte zu sich genommen haben.⁶

2. PROBENENTNAHME:

Die Blutprobenentnahme sollte mit größter Sorgfalt erfolgen, um Stase, Hämolyse, Kontamination mit Gewebeflüssigkeiten oder Kontakt mit Glasoberflächen zu vermeiden. Die Proben sollten bei Raumtemperatur aufbewahrt werden.⁶

Folgende Faktoren und Umstände können zu falschen Testergebnissen führen und betroffene Proben sollten verworfen werden: Hämolyse, Kontamination mit Erythrozyten, Lipämie, Chylus, Ikterus, Thrombozytopenie (<75,000/mm³), Blutkoagel in der Probe sowie Hypofibrinogenämie. Die Wiederverwendung von Einwegartikeln kann zu fehlerhaften Testergebnissen führen.

Standardvorkehrungen sollten während der gesamten Probenentnahme, Probenvorbereitung und Probenverarbeitung zu Analyse Zwecken eingehalten werden.^{2,3} Scharfe Gegenstände und biologische Abfälle sind in Übereinstimmung mit der Laborrichtlinie zu entsorgen.

Spritzen-Entnahme-Technik (empfohlen)⁸

- a. Verwenden Sie eine Butterfly-Kanüle zur Venenpunktion.
- b. Entnehmen Sie 9,0 ml Blut mit einer Kunststoffspritze. Vermeiden sie zu starken Sog.
- c. Entfernen Sie die Nadel von der Spritze und überführen Sie das Blut unmittelbar und behutsam in ein Kunststoffröhrchen [Polypropylen]4 in dem sich 1 ml Natriumcitrat 11M (Antikoagulant) befindet. Das Mischungsverhältnis von Blut zu Antikoagulant sollte 9:1 betragen.⁵
- d. Schließen Sie das Röhrchen und mischen Sie es, indem Sie es 4-5 mal vorsichtig schwenken.
- e. Aufbewahrung bei Raumtemperatur (15 - 28° C).

HINWEIS: Wenn der Hämatokrit des Patienten < 30% oder > 55% liegt, muss das Mischungsverhältnis von Blut zu Antikoagulant angepasst werden.⁴

Vakuum-Entnahme-Technik

1. Verwenden Sie eine Butterfly-Kanüle zur Venenpunktion.
2. Entnehmen Sie das Blut unter Verwendung eines Kunststoffröhrchens mit Natriumcitrat 11M (Citratantahmeröhrchen).
3. Mischen Sie den Inhalt des Röhrchens, indem Sie es 4-5 mal vorsichtig schwenken.

HINWEIS: Wenn Sie Plastikvakuumröhrchen zur Probengewinnung verwenden, überprüfen Sie das Etikett und stellen Sie sicher, dass es sich um Citrat-Antikoagulant 0,11 M handelt. Farbige Deckel geben keinen Aufschluss über die Citratkonzentration. Befolgen Sie die Anweisungen des Herstellers für die Probenentnahme.

HERSTELLUNG VON PLÄTTCHENREICHEN (PRP) UND PLÄTTCHENARMEN PLASMA (PPP)

1. Zur Vorbereitung des plättchenreichen Plasmas zentrifugieren Sie das Citratblut für 10 Minuten bei Raumtemperatur (15 - 28° C) und 150 x g.
2. Überprüfen Sie das Plasma auf Vorhandensein von roten Blutkörperchen. Sollten sich noch Erythrozyten im Plasma befinden, zentrifugieren Sie es erneut für weitere 5 Minuten bei 150 x g.
3. Überführen Sie das plättchenreiche Plasma vorsichtig mit einer Kunststoffpipette, ohne den Leukozytenfilm (buffy coat) oder die Erythrozyten zu berühren, in ein mit PRP beschriftetes Kunststoffröhrchen. Verschließen Sie das Röhrchen und lassen Sie es für ca. 30 Minuten bei Raumtemperatur stehen.
4. Zentrifugieren Sie das verbleibende Blut für ca. 20 Minuten bei 2500 x g, um das plättchenarme Plasma vorzubereiten. Überprüfen Sie das plättchenarme Plasma auf Hämolyse und überführen Sie es in ein mit PPP beschriftetes Kunststoffröhrchen.
5. Die Thrombozytenzahl des PRP sollte 250,000 ± 50,000/mm³ betragen. Die Plättchenzahl kann durch die Verwendung von PPP, aus der die Probe vorbereitet wurde, reduziert sein.

HINWEIS: Wenn Arachidonsäure als Agonist verwendet wird, sollte die Thrombozytenzahl nicht angepasst werden.

REKONSTITUTION

HINWEIS: Reagenzien müssen vor der Rekonstitution auf Raumtemperatur gebracht werden (15 -28° C). Vor der Verwendung muss gelagertes Collagen-Reagenz ebenfalls auf Raumtemperatur gebracht werden.

Zur Rekonstitution mischen Sie eine Flasche Collagen mit 0,5 ml gereinigtem Wasser.

LAGERUNG DES REAGENZ

Das rekonstituierte Collagen-Reagenz ist bei 2 - 8° C im gut verschlossenen Originalbehälter für 30 Tage stabil.

TESTDURCHFÜHRUNG

Die Analyse muss innerhalb von 4 Stunden nach der Probenentnahme abgeschlossen sein.⁸

1. Legen Sie ein Rührstäbchen in jede Küvette.
2. Bereiten Sie den Aggregometer-Leerwert vor, indem Sie 0,5 ml plättchenarmes Plasma in eine Küvette pipettieren.
3. Pipettieren Sie 0,45 ml plättchenreiches Plasma in eine zweite Küvette. Inkubieren Sie für 2 Minuten bei 37° C.
4. Falls erforderlich, stellen Sie die 0 und 100% Grundlinie gemäß der Herstellerangaben des verwendeten Aggregometers ein.
5. Geben Sie 0,05 ml Collagen direkt in das plättchenreiche Plasma. Es sollte direkt hinzugegeben werden und die Küvettenwand nicht berühren.
6. Lassen Sie die Aggregationskurven für mindestens 5 Minuten aufzeichnen.

QUALITÄTSKONTROLLE

Laboratorien sollten allgemeingültige Verfahren zur Qualitätskontrolle durchführen, sofern keine Leistungsstests zur Verfügung stehen.

Um einen ordnungsgemäßen Testablauf und eine einwandfreie Reagenzienqualität zu gewährleisten, sollte an Testtagen eine Kontrollprobe mitlaufen. Die Kontrollprobe sollte in derselben Weise wie die Testproben behandelt werden. Für qualitative Aggregationsstudien sollte für die Kontrollprobe frisches plättchenreiches Plasma von einem gesunden Spender ohne Auffälligkeiten in der Thrombozytenfunktion verwendet werden. Der Spender sollte in einem Zeitraum von 10 Tagen vor der Probenentnahme keine Aspirin-haltigen Medikamente eingenommen haben.

ERGEBNISSE

Typische Collagen-Aggregationsmuster sind in den Abbildungen 1 und 2 dargestellt. Nach Zugabe von Collagen zu plättchenreichem Plasma folgt eine Verzögerungsphase, in der keine Aggregation beobachtet werden kann (LAG Phase). Normale Thrombozyten zeigen im Anschluss eine Formveränderung (shape change), gefolgt von einer einzelnen, großen Aggregationswelle.

ERWARTUNGSWERTE

Der Normalbereich der Erwartungswerte für die Collagen-Aggregation sollte für jedes Reagenz (bei unterschiedlichen Konzentrationen) von jedem Labor selbst erstellt werden, siehe Tabelle ^{2,4,8,9,10}

Tabelle 1
TYPISCHE AGGREGATIONSWERTE BEI GESUNDEN SPENDERN @ 250,000 Thrombozyten/mm³ [Gesamttaggregation nach 5 Minuten]

	ADP	Arachidonsäure	Collagen [Typ I]	Epinephrin
Endkonzentr..	2.0x10 ⁻⁶ M	500µg/mL	0.19mg/mL	1.0x10 ⁻⁴ M
Lag Phase [Sek.]	<10	<=20	<60	0
Primäranstieg	38-67	>20	35-67	7-34
Gesamttaggregation (%@ 5Min)	62-101	65-90	63-109	54-101
Biphasische Aggregation	Konzentrationsabhängig	NEIN	NEIN	JA
Andere	Formveränderungen können auftreten	Nicht alle normalen Spender erfüllen die Anforderungen PLT CT~175k-300k	Nicht Verdünnen	Nicht alle normalen Spender erfüllen die Anforderungen

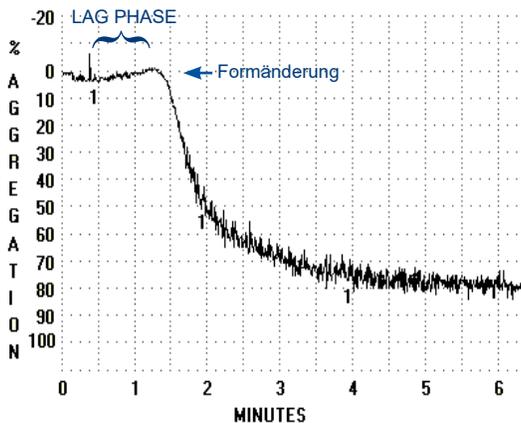


Fig. 1 Normale Aggregation

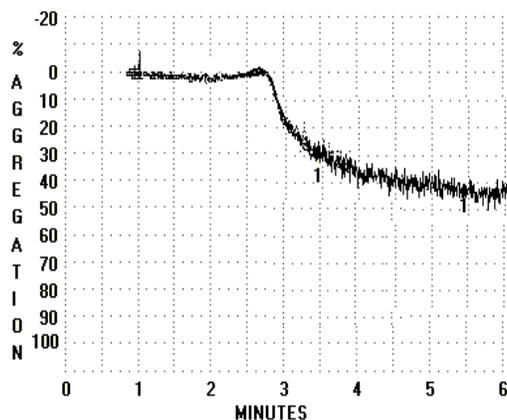


Fig. 2 Abnormale Aggregation

EINSCHRÄNKUNGEN

Zur korrekten Testdurchführung und -interpretation der Ergebnisse ist eine ausführliche Patientenanamnese erforderlich. Patienten sollten hinsichtlich der Einnahme von Medikamenten befragt werden, da eine Reihe an verschreibungspflichtigen und nicht verschreibungspflichtigen Medikamenten die Thrombozytenaggregation beeinflussen können. Stoffe wie Koffein, Tabak, Kräuterextrakte (oder Nahrungsergänzungsmittel) sowie Alkohol können die Testergebnisse zusätzlich beeinflussen.^{7,8}

AUSFÜHRUNGSMERKMALE

Langzeitversuche haben gezeigt, dass Collagen bei Einhaltung der Lagerungs- und Verwendungshinweise und bei Verwendung vor Ende des Verfallsdatums einwandfreie Ergebnisse liefert.

LINEARITÄT

Die durch übliche Agonisten induzierte Aggregation (ADP, Arachidonsäure, Collagen und Epinephrin) stellt ein nicht-lineares Testsystem für folgende Parameter dar: LAG Phase, Primäranstieg, Sekundäranstieg, biphasische Aggregation and Desaggregation. Die Nicht-Linearität ist auf verschiedene Ursachen zurückzuführen, darunter die Art der verwendeten Messgeräte und weitere, chemische Besonderheiten. Die Reaktionsrate oder Aktivität der Thrombozytenaggregation ermöglicht keine quantitativen Rückschlüsse auf die verwendeten Reagenzien oder ihre Konzentration.

GENAUIGKEIT, PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Genauigkeit

Die Genauigkeit im Zusammenhang mit Thrombozytenaggregation ist ein relativer Parameter und abhängig vom verwendeten Testverfahren.

Präzision und Wiederholbarkeit unter Vergleichsbedingungen

Mögliche Einschränkungen bei der Aggregation und Testdurchführung erschweren eine Vorhersage typischer Präzisions- oder Wiederholbarkeitswerte. Es gelten jedoch gewisse Erfahrungswerte für die genannten Parameter (siehe unten).

Normalbereiche und Referenzwerte sollten von jedem Labor selbst erstellt werden.

Variationskoeffizient Testdurchführungen:	unter $\pm 7.5\%$
Variationskoeffizient Geräte:	unter $\pm 15\%$
Abweichungen in den Reagenzien-Chargen:	unter $\pm 10.5\%$
Variationskoeffizient unterschiedlicher Labore (gleiches Testverfahren):	unter $\pm 12.5\%$

LITERATUR

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 Triplet, 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 H18-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. Ann 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.

Für eine vollständige Auflistung unserer Produkte besuchen Sie uns auf unserer Internetseite www.biodatacorp.com oder kontaktieren Sie den Kundenservice (siehe unten).

DIE PRODUKTREIHE VON BIO/DATA CORPORATION UMFASST BESTIMMTE REAGENZIEN ZUR ALLGEMEINVERWENDUNG IM PROFESSIONELLEN LABORBETRIEB, DIE DAZU DIENEN, DIE THROMBOZYTENFUNKTION ZU AKTIVIEREN UND ZU ÜBERWACHEN. ES WIRD GEWÄHRLEISTET, DASS DIESES PRODUKT GEMÄSS SEINER BESCHRIFTUNG UND GEBRAUCHSANWEISUNG EINWANDFREI ANWENDBAR IST. BIO/DATA CORPORATION ÜBERNIMMT KEINE GARANTIE ODER GEWÄHRLEISTUNG, AUSDRÜCKLICH ODER STILLSCHWEIGEND, FÜR DEN EINSATZ, DIE EIGNUNG ODER VERKÄUFLICHKEIT FÜR EINEN ANDEREN ZWECK ALS DEN VORGESEHENEN. FÜR ETWAIGE SCHÄDEN AUFGRUND EINES UNSACHGEMÄSSEN GEBRAUCHS ÜBERNIMMT BIO/DATA CORPORATION KEINE HAFTUNG.



155 Gibraltar Road, Horsham, PA 19044 U.S.A.
 (800) 257-3282 U.S.A. (215) 441-4000 Weltweit
 (215) 443-8820 Fax Weltweit
 E-Mail: customer.service@biodatacorp.com
 Internet: www.biodatacorp.com
 Ein nach ISO 13485 Zertifiziertes Unternehmen



Alpha Laboratories Ltd, 40 Parham Drive, Eastleigh, Hampshire, SO50 4NU United Kingdom
 mdi Europa GmbH, Langenhagener Str. 71, 30855 Langenhagen, GERMANY

