

BE LTA Ris 15 Ristocetin

Reagenz zur Bestimmung der Lichttransmissionsaggregometrie in plättchenreichem Plasma

REF 057651: RE (2 x 1 mL), DIL (1 x 20 mL)

ZWECKBESTIMMUNG

Dieses Reagenz ist für die professionelle In-vitro-Diagnostik im Labor bestimmt. Es wird für die Analyse der Thrombozytenfunktion auf Basis der Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) in plättchenreichem Humanplasma verwendet.

Der Test unterstützt bei der Diagnose einer Thrombozytenfunktionsstörung und kann als Hilfsmittel bei der Behandlung von Patienten mit einer bekannten Funktionsstörung verwendet werden. Die Untersuchung und Beurteilung sollte immer mehrere Agonisten umfassen, welche im Zusammenhang betrachtet werden.

Dieser Test sollte zusammen mit anderen klinischen und diagnostischen Informationen zur Diagnose und Behandlung von Patienten verwendet werden.

TESTPRINZIP

Plättchenreiches Plasma (PRP) wird mit Ristocetin (**Ris**) versetzt. Die Aggregation der Thrombozyten (bzw. Agglutination bei Ristocetin) wird unter konstantem Mischen gemessen. Es kommt zu einer Änderung der Lichttransmission. In die Auswertung kommen (je nach Gerät) die Zeit vom Zusatz des Reagenzes bis zum Beginn des „Shape Change“ bzw. der Aggregation, die Aggregationsgeschwindigkeit (Slope) sowie die maximale Aggregation. Weitere Angaben, siehe Handbuch der Geräte oder in der Fachliteratur.

KLINISCHE SIGNIFIKANZ

Ristocetin (**Ris**), ein Antibiotikum aus *Nocardia lucida*, induziert als Cofaktor von vWF (von Willebrand Faktor) die Aggregation (bzw. die Agglutination) von Thrombozyten über den vWF-Rezeptor (GP Ib-V-IX-Komplex) der Thrombozytenmembran.

Bei Patienten mit von Willebrand Syndrom sind meist, aber nicht immer, folgende Ergebnisse zu erwarten:

VWF-Mangel Typ	Agglutination
Typ 1	Keine bzw. verminderte
Typ 2A	Keine bzw. verminderte
Typ 2B	Verstärkte
Typ 3	Keine bzw. sehr stark verminderte

Bei Patienten mit Bernard-Soulier-Syndrom bleibt die Agglutination aus oder ist stark pathologisch. Bei Storage-Pool-Defekten und Thrombasthenie Glanzmann ist meist die erste Phase der Agglutination betroffen (1)(2)(3). Defekte von Cyclooxygenase oder Thromboxan-Synthetase sowie Effekte von Azetylsalicylsäure werden nicht erfasst. Ergebnisse sind zu einem gewissen Grad von der Thrombozytenzahl abhängig.

REAGENZIEN

RE **Ris** **15 mg/ml**

Ristocetin, ein Antibiotikum, agglutiniert Thrombozyten in Gegenwart des von Willebrand-Faktors.

DIL **LTA Diluent**

Verdünnungspuffer

Weiterer Inhalt:

Silicone Caps (Verdunstungsschutz Thrombomate)
Barcodes für den Thrombomate®

VORSICHTSMASSNAHMEN

Behnk Reagenzien sind für den Gebrauch in der professionellen In-vitro-Diagnostik bestimmt. Bei der Verwendung von Reagenzien und menschlichen Proben sind gute Laborpraktiken anzuwenden. Die Materialien sind immer als potenziell infektiös anzusehen. Für weitere Informationen ist das Sicherheitsdatenblatt (MSDS) auf Anfrage erhältlich. Die Entsorgung aller Abfälle ist gemäß den lokalen Richtlinien durchzuführen.

HANDHABUNG DER REAGENZIEN

RE: Drehverschluss entfernen. Stopfen der Flasche erst vorsichtig anheben, um den produktionsbedingten Flaschenunterdruck aufzuheben, dann den Stopfen entfernen. Lyophilisat mit exakt 1 ml LTA Diluent rekonstituieren. 10 min stehen lassen, dann vorsichtig schwenken.

Aufsetzen der **Silikonkappen** bei Verwendung des Reagenzes am Thrombomate: Die Reagenzflasche und das Clean Pro mit einer Silikonkappe (*Silicone Cap*) verschließen. Vor jedem Einsetzen ins Gerät das Reagenz vorsichtig mit kreisender Bewegung schwenken.

Hinweis: Die Silikonkappen sollen über die gesamte Lebensdauer auf den Flaschen verbleiben (auch im Kühlschrank). Sie werden von der Pipettiernadel im Betrieb durchstoßen.

DIL: Gebrauchsfertig

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Lagerung bei 2-8 °C.

Die ungeöffneten Reagenzien sind bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

Aufbewahrung nach Rekonstitution

Das angesetzte Reagenz ist mit Silikonkappe verschlossen bei 2-8 °C im Originalfläschchen zu lagern. Nicht einfrieren.

Haltbarkeit nach Rekonstitution

Hersteller:
Probe & go Labordiagnostica GmbH
Lagesche Str. 15e, D-32657 Lemgo
T +49 (0) 5261 920 7120
F +49 (0) 5261 920 7122
info@probe-go.de, www.probe-go.de

Vertrieb:
Kommanditgesellschaft Behnk Elektronik GmbH & Co.
Hans-Böckler-Ring 27
22851 Norderstedt, Germany
T. +49 (0)40-529 861 0
info@behnk.de, www.behnk.de

Reagenz im Originalfläschchen, verschlossen mit Silikonkappe:

- Bei 2-8 °C 28 Tage
- Bei 15-25 °C 14 Tage
- Laborbetrieb* 21 Tage

*Laborbetrieb = 8 Std. im Gebrauch, 16 Std. im Kühlschrank.

Hinweis: Bei längerer Nichtbenutzung des Reagenzes wird empfohlen das Reagenz mit Silikonkappe verschlossen bei 2-8 °C im Originalfläschchen zu lagern.

Bei den vielen unterschiedlichen Kombinationen der Lagerungsbedingungen wird empfohlen, dass jedes Labor die Stabilität des Reagenzes, aufgrund seines eigenen Nutzungsverhalten, beobachtet. Die oben ermittelten Zeiten sind unter den angegebenen Bedingungen ermittelt und dürfen nicht überschritten werden.

Hinweis: Nach Ablauf der angegebenen Stabilität darf das Reagenz nicht mehr verwendet werden. In diesem Fall wird das Reagenz vom Thrombomate nicht angenommen.

PROBENENTNAHME UND VORBEREITUNG

Blut für die Durchführung der Aggregation sollte so schonend wie möglich in handelsübliche Entnahmeröhrchen aus Kunststoff oder Silikon-beschichtetem Glas gewonnen werden. Als **Antikoagulanzen** eignet sich Natriumzitrat (0,11 M).

Die **Blutentnahme** muss sorgfältig durch vorsichtige Venenpunktion, wenn möglich ohne Stau, erfolgen. Blut und Antikoagulanzen sofort nach Abnahme schonend durch vorsichtiges Schwenken mischen. Die Aufbewahrung erfolgt bei 15-25 °C. Ein Abkühlen des Blutes auf niedrigere Temperaturen als 15 °C während Lagerung oder Transport ist unbedingt zu vermeiden, ebenso eine mechanische Belastung durch Schütteln, da es zu einer Schädigung der Thrombozyten kommen kann. Ein Transport des Blutes über Druckluftsysteme (Rohrpost) wird nicht empfohlen, solange nicht eine sorgfältige Validierung erfolgt ist.

Probenstabilität:

- Maximal 4 h von der Blutentnahme bis zum Abschluss aller Messungen.

Zur **Herstellung von plättchenreichem Plasma (PRP)** wird das Blut bei Raumtemperatur für 10 min bei 150 x g zentrifugiert. Ggf. muss noch einmal für 5 min zentrifugiert werden, wenn sich noch Erythrozyten im Überstand befinden.

Hinweis: Automatische Bremsfunktion ausschalten.

Zur besseren Vergleichbarkeit der Messwerte sollte immer mit derselben Zentrifuge gearbeitet werden. Das PRP wird schonend mit einer Kunststoffeinmalpipette oder einer Pipette mit Kunststoffspitze in ein *Sample tube* (Thrombomate Transferröhrchen) überführt und dieses mit dem roten Durchstechstopfen verschlossen. Das PRP sollte vor der Analyse ca. 30 min ruhen. Es empfiehlt sich, die Thrombozytenzahl zu bestimmen, da eine gewisse Mindest- oder Höchstzahl von Thrombozyten für eine verlässliche Messung erforderlich ist. Eine Einstellung der Thrombozytenzahl durch Mischen von PRP mit Plasma derselben Probe wird heute allerdings außer bei extremen Thrombozytenzahlen eher kritisch gesehen. (4),(5)

Zur **Herstellung von plättchenarmen Plasma (PPP)** wird das restliche Blut (oder eine separate Probe desselben Patienten) nochmals für 20 min bei 1500 x g zentrifugiert und der Überstand schonend mit einer Kunststoffeinmalpipette oder einer Pipette mit Kunststoffspitze in ein anderes *Sample tube* (Thrombomate Transferröhrchen) überführt und markiert.

Hinweis: Blasenfrei umfüllen und nicht mehr Schwenken oder hinlegen, dies würde zur Blasenbildung führen.

EINSCHRÄNKUNGEN

Viele **präanalytische Einflüsse** (Punktion der Vene, Staubbedingungen, Kanüle, Antikoagulanzen, Typ des Röhrchens, Probentransportbedingungen, Zentrifugationsbedingungen, Restzahl von Erythrozyten im PRP, Ruhezeiten vor der PRP Analyse, Standzeit der Probe nach Abnahme u.a.m.) können zu mehr oder weniger großen Abweichungen führen. Daher sollte jedes Labor seine eigenen Referenzwerte bestimmen.

Zur Interpretation der Ergebnisse bei **Patientenproben** sollten Tests mit anderen Laborparametern (z.B. von Willebrand-Faktor, Fibrinogen, Blutbild, Aggregometrie mit anderen Reagenzien oder Konzentrationen) hinzugezogen werden. Siehe Fachliteratur für weitere Informationen.

Es ist zu beachten, dass viele diätetische oder medikamentöse Faktoren die Plättchenfunktion beeinflussen können. (6) Bei der Lichttransmissionsaggregometrie können Lipämie, Bilirubin oder Hämoglobin die Ergebnisse beeinflussen.

Ergebnisse sind zu einem gewissen Grad je nach Gerät mehr oder weniger von der Thrombozytenzahl abhängig.

Oft werden bei Thrombozytenzahlen von < 75/nl niedrigere Ergebnisse gefunden.

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE MATERIALIEN

- *BE Thrombomate XRA* oder Manuelles Gerät zur Messung der Lichttransmissionsaggregometrie.
- Allgemeine Ausrüstung für das medizinische Labor
- *Sample tubes* (REF 057400)
- *BE Clean Pro* (REF 050951)
- *BE LTA Cuvette Set* (1000 Cuvettes) (REF 057600)
- *BE X-Tray* (REF 691041; REF 691042; REF 691043; REF 691044)

TESTDURCHFÜHRUNG

Automatische Methode an Behnk Thrombomate®

Die Durchführung des Tests erfolgt vollautomatisch nach Eingabe von Reagenzien und Probe. Siehe Handbuch Thrombomate®.

Manuelle Methode

Die Durchführung des Tests erfolgt nach der Vorgabe der verschiedenen Gerätehersteller.

KALIBRATION

Nicht erforderlich

KALKULATION

Siehe Gerätehersteller.

QUALITÄTSKONTROLLE

Zur Sicherstellung der Qualität wird empfohlen, mit jeder Serie von Patientenproben frisches Blut von einem bekannten gesunden Spender ohne Einnahme von Medikamenten wie eine Patientenprobe aufzubereiten und zu untersuchen.

PERFORMANCE

Die Präzision wurde am Thrombomate® XRA im Vergleich zu PAP-8 (Manuelles System) für den Maximalwert der Aggregation (%) ermittelt.

Die Analyse der Präzision wurde durchgeführt mittels 5-fache Analyse von PRP von 5 verschiedenen Personen.

Hinweis: Alle Messungen mit PAP-8 wurden von demselben Bediener durchgeführt.

Reagenz	Testkonzentration	Thrombomate® XRA	Manuelles System
		Mean CV	Mean CV
Ris	1.2 mg/ml	2.1	1.7

Tabelle 1: Präzisionsanalyse (5-fache Bestimmung, 5 Personen).

Die Zahlen geben die CV-Werte in % an.

ERWARTETE ERGEBNISSE













Hinweis: Jedes Labor sollte für jeden Agonisten einen eigenen Normalbereich erstellen.

Erwartete Ergebnisse bei gesunden Probanden:

Reagenz	Konzentration	% Aggregation
Ris	1,2 mg/ml	>80 %
	0,6 mg/ml	<15 %

REFERENZEN

- (1) U Budde et al. Standardisierte Diagnostik des von Willebrand- Syndroms. *Hämostaseologie* 24, 12 (2004)
- (2) M. Franchini, *Advances in the diagnosis and management of von Willebrand disease. Hematology.* 11, 219 (2006)
- (3) Franchini M. *Acquired von Willebrand Syndrome: An Update. American Journal of Hematology* 82:368-375 (2007)
- (4) Linnemann B, et al. *Standardization of light transmittance aggregometry for monitoring antiplatelet therapy: an adjustment for platelet count is not necessary. J Thromb Haemost.* 2008;6:677-83
- (5) Cattaneo M, et al. *Platelet aggregation studies: autologous platelet-poor plasma inhibits platelet aggregation when added to platelet-rich plasma to normalize platelet count.* 2007;92: 694-7.
- (6) Bachmair EM, Ostertag LM, Zhang X, de Roos B. *Dietary manipulation of platelet function. Pharmacol Ther.* 2014; 144:97-113.

 Hersteller	 Verwendbar bis	 In vitro Diagnostikum	 Temperaturbegrenzung	 Bestellnummer	 Gebrauchsanweisung beachten	 Chargennummer	 Vor Sonnenlicht geschützt lagern	 Inhalt ausreichend für	 Rekonstitution	 Diluent	 IFU siehe Box Unterseite
--	--	---	--	---	---	---	--	--	--	--	--

Hersteller:
Probe & go Labordiagnostica GmbH
Lagesche Str. 15e, D-32657 Lemgo
T +49 (0) 5261 920 7120
F +49 (0) 5261 920 7122
info@probe-go.de, www.probe-go.de

Vertrieb:
Kommanditgesellschaft Behnk Elektronik GmbH & Co.
Hans-Böckler-Ring 27
22851 Norderstedt, Germany
T. +49 (0)40-529 861 0
info@behnk.de, www.behnk.de