Collagene

(solubile da pelle di vitello)

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO
Il Collagene è una preparazione liofilizzata di collagene solubile (Tipo 1) da pelle di vitello. La concentrazione del reagente ricostituito è 1.9 mg/mL.

UTILIZZO
Il Collagene è destinato ad essere utilizzato negli studi di aggregazione piastrinica di routine ai fini della valutazione di disfunzioni piastriniche o di attivazione piastrinica.

PRINCIPIO
Nei casi in cui venga aggiunto a plasma ricco di piastrine, queste aderiscono al collagene. In conseguenza a tale adesione, le piastrine modificano la propria forma, rilasciano ADP endogeno e si aggregano.[8,10,11]

PRECAUZIONI D'USO
Il Collagene è esclusivamente destinato all'USO DIAGNOSTICO IN VITRO E NON DEVE ESSERE INIETTATO NE' INGERITO.

MATERIALE FORNITO
Collagene, 3 x 0.5 mL. Conservare a temperatura compresa tra 2°-8° C prima della ricostituzione.

MATERIALI RICHIESTI MA NON INCLUSI
1. Aggregometro.
2. Acqua purificata (distillata, deionizzata, di grado reagente) e PH 5.3 – 7.2.
3. Pipette (da 0.5 mL e 0.45 mL e 0.05 mL).
4. Barrette magnetiche monouso.
5. Provette per l'aggregometro.

STRUMENTAZIONE
Il Collagene fornisce le prestazioni descritte quando è utilizzato sulla maggior parte degli aggregometri basati sul principio ottico. Seguire le istruzioni della ditta produttrice dell'aggregometro in uso.

PRELIEVO DEI CAMPIONI E PREPARAZIONE DEL TEST
Per istruzioni dettagliate sulla raccolta del campione e preparazione dei campioni, fare riferimento alle attuali linee guida H21 A2 approvate dall'NCCLS.[6]

1. PREPARAZIONE DEL PAZIENTE:
I pazienti devono astenersi dall'assunzione di aspirina o di altri medicinali contenenti aspirina, nonché di preparati o integratori alimentari che hanno effetti sulla funzionalità piastrinica durante i 7 – 10 giorni che precedono la raccolta del campione. I pazienti devono essere a digiuno ed essersi astenuti dall'assunzione di cibi grassi e latticini durante le 12 ore precedenti la raccolta del campione.[6]

2. PRELIEVO DEL CAMPIONE
Il prelievo dei campioni di sangue deve essere eseguito con cura per evitare stasi, emolisi e contaminazione da fluidi tissutali o contatto col vetro. Mantenere i campioni a temperatura ambiente.[8]

Quanto di seguito specificato può causare in- accuratezza dei risultati d'analisi; campioni contaminati non devono essere utilizzati nei casi di: emolisi, contaminazione da RBC, lipemia, chilomicroni, ittero, trombocitopenia (<75,000/mm³), coaguli nel campione e ipofibrinogenemia. Anche il riutilizzo di materiale monouso può determinare inaccuratezza dei risultati d'analisi.

Osservare le precauzioni standard previste per la raccolta dei campioni, la preparazione degli stessi e per i processi analitici.[2,3] Per lo smaltimento di prodotti biologici, devono essere predisposti appositi contenitori, in conformità alle regole del laboratorio.

Procedimento con l'uso di siringa per il prelievo (raccomandato). [8]
a. Utilizzare un ago a farfalla per la venopuntura.
b. Utilizzare una siringa in plastica per prelevare 9.0 mL di sangue. Evitare di prelevare sangue in eccesso.
c. Rimuovere l'ago dalla siringa e immediatamente e delicatamente far scorrere il sangue dentro una provetta in plastica [polipropilene][4] contenente 1.0 mL di Sodio Citrato anticoagulante alla concentrazione di 0.11 M. Il rapporto tra sangue e anti-coagulante deve essere 9 parti di sangue e una parte di anti-coagulante.[5]
d. Chiudere la provetta e delicatamente capovolgere 4-5 volte per mescolare il contenuto.
e. Conservare a temperatura ambiente (15° - 28° C).

NOTA: Nel caso l'ematocrito del paziente sia < 30% o > 55%, il rapporto tra il campione di sangue e l'anticoagulante deve essere ricalcolato di conseguenza.[4]

Tecnica del prelievo con provetta sottovuoto
1. Utilizzare un ago a farfalla per la venopuntura.
2. Estrarre il sangue utilizzando provette (in plastica) contenenti l'anticoagulante Sodio Citrato alla concentrazione di 0.11 M.
3. Per mescolare, capovolgere delicatamente 4-5 volte.

NOTA: quando si utilizzano provette per il prelievo in sottovuoto, controllare l'etichetta per accertarsi che la concentrazione del citrato anticoagulante sia 0.11 M. I tappi colorati delle provette infatti non variano al variare delle concentrazioni di citrato. Seguire le istruzioni della ditta produttrice per la raccolta dei campioni.

PREPARAZIONE DEL PLASMA RICCO DI PIASTRINE (PRP) E DEL PLASMA POVERO DI PIASTRINE (PPP)
1. Preparare il plasma ricco di piastrine centrifugando il sangue con l'anticoagulante a 150 x g per 10 minuti a temperatura ambiente (15°-28° C).
2. Esaminare il plasma. Se sono presenti globuli rossi, ricentrifugare a 150 x g per ulteriori 5 minuti.
3. Utilizzare una pipetta in plastica, con cura rimuovere lo strato di plasma senza entrare in contatto con i globuli rossi e trasferire il contenuto in un contenitore etichettato (PRP). Chiudere il contenitore e lasciarlo riposare a temperatura ambiente.
4. Preparare il plasma povero di piastrine centrifugando il rimanente del campione di sangue a 2500 x g per 20 minuti. Esaminare il plasma povero di piastrine per eventuale emolisi e successivamente trasferire il contenuto in una provetta in plastica etichettata (PPP).
5. Il conteggio piastrinico dovrebbe risultare 250,000 ± 50,000/mm³. La concentrazione può essere aggiustata usando il PPP preparato dallo stesso campione.

NOTA: Se si utilizza Acido Arachidonico come antagonista, non si può ridurre la concentrazione usando il PPP.

RICOSTITUZIONE
NOTA: I reagenti devono essere portati a temperatura ambiente prima della ricostituzione (15° - 28° C) ed anche i reagenti già ricostituiti e conservati in frigorifero devono essere riportati a temperatura ambiente prima dell'utilizzo.

Ricostituire un boccettino di Collagene con 0.5 mL di acqua purificata.

CONSERVAZIONE DEL REAGENTE
Il Collagene ricostituito è stabile per 30 giorni, quando è conservato a temperatura compresa tra 2°-8° C nel suo contenitore originale chiuso.

PROCEDURA
L'analisi deve essere completata entro 3 ore dal prelievo del campione.[8]
1. Inserire una barretta magnetica in ciascuna provetta.
2. Preparare il bianco dell'aggregometro introducendo con una pipetta 0.5 mL di plasma povero di piastrine in una provetta.
3. Introdurre con una pipetta, 0.45 mL di plasma ricco di piastrine in una seconda provetta. Incubare a 37° C per 3 minuti.
4. Predisporre, ove richiesto, lo 0% e il 100% di riferimento secondo le istruzioni della ditta produttrice dell'aggregometro in uso.
5. Aggiungere direttamente 0.05 mL di Collagene al plasma ricco di piastrine. Evitare di far scivolare il reagente lungo le pareti della provetta.
6. Lasciare che la curva di aggregazione proceda per 5 minuti.

CONTROLLO DI QUALITA'
I laboratori devono attenersi alle regole generalmente condivise nei casi in cui non siano disponibili procedure specifiche.

Per la certezza della corretta funzionalità dello strumento e delle prestazioni del reagente, un campione di controllo deve essere eseguito ogni giorno in cui si eseguono i test. Il campione di controllo deve essere preparato nello stesso modo in cui viene preparato il campione per il test.
Ai fini degli studi qualitativi sull'aggregazione piastrinica il controllo deve essere effettuato su plasma fresco ricco di piastrine, prelevato da un donatore sano (identificato e qualificato) il quale deve essersi astenuto dall'ingerire aspirina e composti che contengano salicilati, durante i dieci giorni precedenti il test. Il donatore deve avere una storia clinica attestante una normale funzionalità piastrinica.

RISULTATI
I modelli tipici di aggregazione con Collagene sono illustrati nelle figure 1 e 2. Conseguentemente all'aggiunta di Collagene al plasma ricco di piastrine, segue una fase di latenza durante la quale non si osserva alcuna aggregazione. Le piastrine normali vanno incontro ad un mutamento nella forma (shape change) cui fa seguito una singola ed ampia onda di aggregazione.

VALORI ATTESI
Le variazioni attese per ciascun reagente al variare delle concentrazioni utilizzate per indurre l'aggregazione devono essere stabilite da ciascun laboratorio, vedi Tabella 1. [4,8,9,10]

Tabella 1
RISPOSTA TIPICA DI AGGREGAZIONE PIASTRINICA PER DONATORI NORMALI@ 250,000 PIASTRINE /mm³ [aggregazione totale a 5 minuti]

	ADP	Acido Arachidonico	Collagene [Tipo 1]	Epinefrina
Conc. Finale	$2x10^{-5}$ M	500 µg/mL	0.19 mg/mL	$1.0x10^{-4}$ M
Fase di Latenza [sec]	<10	≤20	<60	0
Slope Primaria	38-67	>20	35-67	7-34
Aggreg. Totale (%@5min)	63-89	65-90	61-99	54-101
Aggreg. Bifasica	Dipendente dalla concentrazione	NO	NO	SI
Altro	Possono aversi cambi di forma	Non tutti i donatori normali potrebbero essere conformi. PLT CT~175k-300k	Non diluire	Non tutti i donatori normali potrebbero essere conformi.

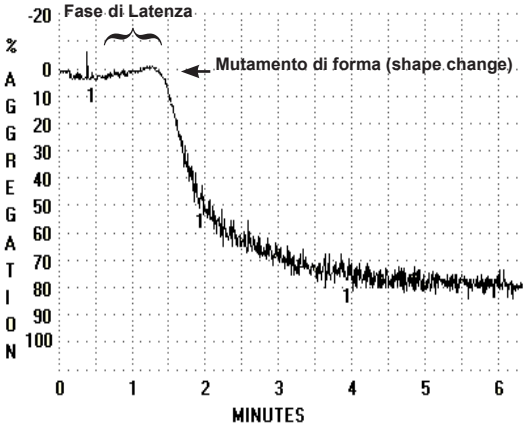

Fig. 1 Aggregazione Normale

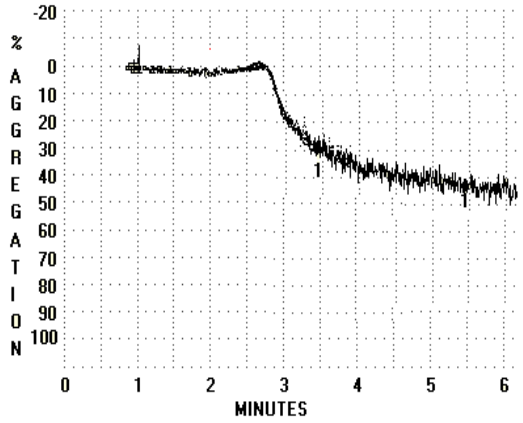

Fig. 2 Aggregazione Anormale

LIMITAZIONI
Per un'accurata interpretazione dell'analisi è necessario disporre di una dettagliata storia clinica del paziente. I pazienti devono essere interrogati in merito all'assunzione recente di medicinali, anche da banco, dato che alcuni di essi possono interferire con l'aggregazione piastrinica. Sostanze quali caffeina, tabacco, estratti d'erbe (o integratori alimentari), nonché alcol, potrebbero alterare i risultati dell'analisi.[7,8]

PERFORMANCE
Gli studi effettuati hanno evidenziato che le prestazioni del prodotto hanno le caratteristiche descritte se esso viene utilizzato entro la data di scadenza e nel rispetto delle prescrizioni relative alle procedure ed alla conservazione.

Linearità:
L'aggregazione piastrinica indotta dai comuni agonisti (ADP, Acido Arachidonico, Collagene ed Epinefrina) è un sistema di analisi non lineare per i seguenti parametri: Fase di Latenza, Slope Primaria, Slope Secondaria, Risposta Bifasica e Disaggregazione. La non-linearità è causata da molteplici fattori, tra cui le reazioni biochimiche e la strumentazione utilizzata. L'aggregazione piastrinica misura livelli di risposta o di attività che non riflettono una misura quantitativa dei reagenti o della loro concentrazione.

ACCURATEZZA, PRECISIONE E RIPRODUCIBILITA'
In aggregazione piastrinica, l'accuratezza è un parametro relativo e dipende dal sistema di analisi.

Precisione e Riproducibilità
Le limitazioni dell'aggregazione piastrinica rendono difficile fornire livelli di precisione o riproducibilità tipici. Tuttavia, c'è consenso basato sull'esperienza per i seguenti parametri (vedi sotto). Ciascun laboratorio è tenuto a stabilire i propri limiti riguardo l'accettabilità del test.

Riproducibilità Test – Test	entro ± 7.5%
Riproducibilità Strumento – Strumento	entro ± 15%
Variazione Lotto – Lotto	entro ± 10.5%
Variazione Laboratorio- Laboratorio (analogo sistema di analisi)	entro ± 12.5%

BIBLIOGRAFIA

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 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.

DISPONIBILITA' PRODOTTI

PRODOTTO	CONTENUTO	CATALOGO
Ristocetin		
AggRecetin® 1.5mg/mL	15mg	100968
AggRecetin 1.0-1.5mg/mL	15mg	100970
AggRecetin Bulk	100mg	101241
ADP	3 x 0.5mL	101312
Arachidonic Acid	3 x 0.5mL	101297
BETA/Pak®		
(ADP, Collagen, Ristocetin)	1 x 0.5mL each	101580
Collagen	3 x 0.5mL	101562
Epinephrine	3 x 0.5mL	101311
Lyophilized Platelets	3 x 4 mL	101595
Lyophilized Platelets	1 x 10 mL	101258
PAR/Pak® II		
(ADP, Collagen, Epinephrine)	2 x 0.5mL each	101310
vW Factor Assay®	10 Determinations	101246
vW Factor Assay	20 Determinations	103025
vW Abnormal Control Plasma	3 x 0.5mL	101270
vW Normal Reference Plasma	3 x 0.5mL	101269
vW Normal Control Plasma	3 x 0.5mL	106426

QUESTO PRODOTTO E' GARANTITO PER L'UTILIZZO DESCRITTO NELLE ETICHETTE E NELLE PUBBLICAZIONI DI BIO/DATA CORPORATION E BIO/DATA CORPORATION NON RICONOSCE ALCUNA GARANZIA IMPLICITA DI COMMERCIABILITA' O IDONEITA' PER ALTRI SCOPI NE' IN ALCUN CASO BIO/DATA E' DA RITENERSI RESPONSABILE PER QUALSIVOGLIA DANNO CHE POSSA DERIVARE AL DI FUORI DELLA SUDDETTA GARANZIA ESPRESSA

BIO/DATA CORPORATION
155 Gibraltar Road, Horsham, PA 19044 U.S.A.
(800) 257-3282 U.S.A. (215) 441-4000 Worldwide
(215) 443-8820 Fax Worldwide
E-mail: customer.service@biodatacorp.com
Internet: www.biodatacorp.com

CE

EC REP EMERGO EUROPE, Molenstraat 15, 2513 BH The Hague, The Netherlands

©Bio/Data Corporation 1981 - 2010

Printed in U.S.A.

Technical Bulletin No.106333 Rev. NONE