

**ADP**

REF AG001K



R 3 flacons x 0,1 µmol

Français, révision : 11-2023

**UTILISATION:**

Agoniste plaquettaire pour méthode d'agrégométrie à transmission lumineuse (LTA) pour la détermination quantitative *in vitro* de l'agrégation plaquettaire, dans le plasma humain citraté, à l'aide d'une méthode automatisée ou semi-automatisée. Cette méthode est utilisée pour aider au diagnostic des troubles de la fonction plaquettaire ou pour évaluer la réponse aux médicaments antiplaquettaires chez les patients suspectés de troubles de la fonction plaquettaire ou sous traitement antiplaquettaire. Ce dispositif de diagnostic *in vitro* est destiné à une utilisation professionnelle en laboratoire.

**RÉSUMÉ ET EXPLICATION:****Technique**<sup>1,3</sup>

La fonction plaquettaire est évaluée par agrégométrie à transmission lumineuse (LTA).

LTA mesure la transmission lumineuse à travers un échantillon de plasma riche en plaquettes (PRP) en réponse à un panel d'agonistes plaquettaires. La transmission lumineuse à travers le PRP est mesurée par rapport à une cuvette de référence contenant du plasma pauvre en plaquettes (PPP). La transmission lumineuse est fixée à 100 % dans le PPP et à 0 % dans le PRP. Lorsqu'un agoniste plaquettaire est ajouté au PRP agité, les plaquettes commencent alors à s'agréger et la transmission lumineuse du PRP augmente.

**Clinique**<sup>3,8</sup>

La capacité ou l'incapacité des plaquettes à répondre à un agoniste particulier est à la base de la différenciation des dysfonctionnements plaquettaires, congénitaux (ex : thrombasthénie de Glanzmann, syndrome de Bernard-Soulier, syndrome des plaquettes grises, etc.) ou acquis (ex : médicaments, procédures, conditions médicales, maladie).

Si nécessaire, pour évaluer la réponse au traitement antiplaquettaire tel que l'acide acétylsalicylique (AAS, aspirine), les inhibiteurs du récepteur P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub>, les inhibiteurs de la glycoprotéine IIb/IIIa.

**PRINCIPE:**

Lorsque l'adénosine 5'-diphosphate (ADP) est ajouté au plasma riche en plaquettes (PRP) d'un sujet sain, il se lie aux récepteurs P<sub>2</sub>Y<sub>1</sub> et P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub> présents sur les plaquettes et induit l'agrégation plaquettaire en deux phases. Tout d'abord, l'ADP induit une première vague d'agrégation. Si le stimulus est suffisamment fort, une deuxième vague d'agrégation survient lorsque les granules de plaquettes libèrent leur contenu, tel que sérotonine, fibrinogène et ADP endogène<sup>7,8</sup>.

**REACTIFS:**

**R Adénosine-5'-diphosphate (ADP)** à environ 0.1 µmol, lyophilisé. Contient des stabilisants.

Le produit est classé non dangereux et n'est pas soumis à un étiquetage selon le règlement CE n° 1272/2008 [CLP].

**MISE EN GARDE ET AVERTISSEMENTS:**

- L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux réglementations locales en vigueur.
- Tout incident grave survenu en rapport avec le dispositif médical doit être signalé au fabricant et l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et / ou le patient est établi.
- Le résumé des caractéristiques de sécurité et des performances (SSP) est disponible sur la base de données Européenne sur les dispositifs médicaux (voir le site public Eudamed : <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> ou sur demande auprès d'HYPHEN BioMed).
- Il est recommandé de tester successivement et sans interruption les échantillons à tester et les contrôles, pour obtenir les performances optimales du test.

**PRÉPARATION DES REACTIFS:**

Retirer délicatement le bouchon de lyophilisation des réactifs, pour s'affranchir de toute perte de produit à l'ouverture du flacon.

**R Pour agrégomètre :**

Reconstituer chaque flacon avec **exactement 0.5 mL d'eau distillée** (200 µM). Agiter vigoureusement jusqu'à dissolution complète. Laisser stabiliser le réactif pendant 30 min à température ambiante (18-25°C) en agitant de temps en temps.

Diluer l'ADP reconstitué comme suit (exemple pour 1 mL) :

Pour une concentration finale dans le test (µM)	10	5	2
Préparer les solutions 10X suivantes :			
Préparation d'ADP "10X" (µM)	100	50	20
ADP 200 µM (µL)	500	250	100
Solution saline (µL)	500	750	900

**R Pour automate :**

Reconstituer chaque flacon avec **exactement 0.625 mL d'eau distillée** (160 µM).

Agiter vigoureusement jusqu'à dissolution complète. Laisser stabiliser le réactif pendant 30 min à température ambiante (18-25°C) en agitant de temps en temps.

Diluer l'ADP reconstitué comme suit (exemple pour 1 mL) :

Pour une concentration finale dans le test (µM)	10	5	2
Préparer les solutions 8X suivantes :			
Préparation d'ADP "8X" (µM)	80	40	16
ADP 160 µM (µL)	500	250	100
Solution saline (µL)	500	750	900

Homogénéiser le réactif avant chaque utilisation.

**STOCKAGE ET STABILITE:**

Les réactifs non ouverts doivent être conservés à 2-8°C dans leur emballage d'origine. Ils sont alors utilisables jusqu'à la date de péremption imprimée sur le coffret.

**R** La stabilité du réactif après reconstitution, sous réserve de toute contamination ou d'évaporation, conservé fermé est de :

- 7 jours à 2-8°C.
- 24 heures à température ambiante (18-25°C).
- 2 mois congelé à -20°C ou moins\*
- Stabilité à bord de l'automate : se référer au Guide d'Application spécifique.**

\*Décongeler une seule fois à température ambiante (18-25°C) et utiliser immédiatement.

**REACTIFS ET MATERIELS REQUIS MAIS NON FOURNIS:**

- Matériel de laboratoire.
- Solution saline (0.9% NaCl).
- SB Cuvette (064-1041-9) et SB Set tool (063-4151-5) pour CS- et CN-series
- Instrument automatique tel que : CS-series, CN-series.
- Agrégomètre à transmission lumineuse.

Veillez noter que les applications sur d'autres instruments peuvent être validées par le fabricant de l'instrument conformément aux exigences du RÈGLEMENT (UE) 2017/746 sous sa responsabilité tant que la destination et les performances ne sont pas modifiées.

**PRELEVEMENTS ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS:**

Le prélèvement, la préparation et le stockage d'échantillons frais (plasma riche en plaquettes (PRP) et plasma pauvre en plaquettes (PPP)) doivent être effectués selon les méthodes du laboratoire ou autres méthodes validées<sup>3,11</sup>.

Le sang (9 volumes) doit être soigneusement collecté sur l'anticoagulant citrate trisodique (1 volume) (0,109 M, 3,2 %) par ponction veineuse franche.

CLSI H58-A et études<sup>3,11</sup> : les études doivent être réalisées sur échantillon frais dans un délai maximum de 4 h après le prélèvement sanguin.

**PROCEDURE:**

L'agoniste plaquettaire doit être utilisé à 2 µM. Si l'agrégation plaquettaire est anormale, des concentrations plus élevées d'ADP doivent être testées (ex : 5 ou 10 µM)<sup>1,3</sup>.

HYPHEN BioMed fournit des Guides d'Application pour des familles d'instrument de coagulation définies. Les Guides d'Application contiennent des informations sur la manipulation et les performances spécifiques à l'instrument / test et complètent les informations de ces notices d'utilisation.

**Protocole sur Agrégomètre :**

- Placer un agitateur dans chaque cuvette.
- Établir le 100% d'agrégation avec une cuvette contenant 360 µL de PPP.
- Pipeter 360 µL de PRP dans une seconde cuvette. Incuber à 37°C pendant 2 minutes. Établir le 0% d'agrégation avec le PRP.
- Ajouter 40 µL de solution ADP (10X) directement dans le PRP en utilisant un embout de pipette long et fin. Ne pas injecter contre les parois de la cuvette.
- Laisser développer le profil d'agrégation pendant 5 à 10 minutes.

Si un volume réactionnel diffère de celui indiqué ci-dessus est requis pour la méthode utilisée, le rapport des volumes doit être strictement respecté afin de garantir les performances du dosage.

## CONTROLE QUALITE :

Les contrôles commerciaux ne sont pas disponibles.

Le contrôle peut être un échantillon frais prélevé sur un donneur normal n'ayant pas ingéré de médicament antiplaquettaire et avec un historique de fonction plaquettaire normale.

Inclure des échantillons contrôles, de préférence, pour chaque série d'essai, et au moins pour chaque nouveau lot de réactif ou après la maintenance de l'automate.

## RESULTATS:

- Les résultats sont évalués en examinant la courbe d'agrégation et l'agrégation maximale (%). Ces paramètres varient en fonction du type d'instrument et des valeurs normales spécifiques doivent être déterminées par chaque laboratoire.
- Les résultats doivent être interprétés sur la base de l'état clinique du patient, de la numération plaquettaire, des influences potentielles des médicaments, du mode de vie, de la nutrition et des conditions pré-analytiques.<sup>12,13</sup>
- Les courbes anormales doivent être confirmées par un nouveau test.
- La variabilité inter-lots mesurée sur 3 lots est CV% ≤ 10% (échantillon normal).

## LIMITATIONS:

- Pour obtenir les performances optimales du test et répondre aux spécifications, suivre scrupuleusement les instructions techniques validées par HYPHEN BioMed.
- Tout réactif ne présentant pas d'aspect limpide ou présentant des signes de contamination doit être rejeté.
- Tout échantillon suspect ou présentant des signes d'activation doit être rejeté.
- Les modifications définies par l'utilisateur ne sont pas prises en charge par HYPHEN BioMed car elles peuvent affecter les performances du système et les résultats des tests. Il est de la responsabilité de l'utilisateur de valider les modifications apportées à ces instructions ou l'utilisation des réactifs sur d'autres analyseurs que ceux inclus dans les Guides d'Application HYPHEN BioMed ou ces instructions d'utilisation.
- Si le nombre de plaquettes est inférieur à  $150 \times 10^9/L$  ou supérieur à  $600 \times 10^9/L$ , les résultats du test peuvent être affectés. La numération plaquettaire des échantillons de PRP ne doit pas être ajustée à une valeur standardisée avec PPP autologue<sup>3</sup>.

## VALEURS ATTENDUES:

L'intervalle de référence établi, dans une étude interne, sur des sujets sains adultes avec  $2 \mu M$  d'ADP sur agrégomètre (n=51), sur CS-series (n=50) et sur CN-series (n=82), a été mesuré entre 56 et 98%, entre 58 et 96% et entre 57 et 96% respectivement (Central 90%, 95ème percentile)<sup>14</sup>. Cependant, chaque laboratoire doit établir ses propres paramètres d'agrégation normale.<sup>3,11,15</sup>

## PERFORMANCES:

Les études de performances ont été menées conformément aux recommandations CLSI.

Les données de performance suivantes représentent des résultats typiques et ne doivent pas être considérées comme des spécifications pour l'ADP.

Les analyses mathématiques sont réalisées en utilisant un logiciel de statistique validé construit conformément aux recommandations CLSI.

Pour les tests automatisés, les performances sont documentées dans les Guides d'Application respectifs des analyseurs.

### Sur agrégomètre :

#### Performances analytiques

##### Précision

Des études de précision ont été évaluées à l'aide d'échantillons anormaux et normaux, sur 1 série et 10 répétitions.

Echantillon	Répétabilité	
	% Agrégation max.	CV%
Normal	71%	9.7%
Anormal	42%	10.0%

#### Substances interférentes

Aucune interférence n'a été observée avec les molécules et jusqu'aux concentrations suivantes :

Bilirubine C	Bilirubine L	Intralipides	Hémoglobine
30 mg/dL	30 mg/dL	360 mg/dL	250 mg/dL

#### Performances cliniques

##### Agrément

Agoniste	Méthode de référence	Agrément (n = 109)
ADP (2 $\mu M$ )	Réactif Helena	99%

##### Sensibilité/Spécificité

Agoniste	n	Sensibilité	Spécificité	Aire sous la courbe (ROC)	
ADP	109	100%	98%	0.993	

Agoniste	n	VPP	NPV	RV+	RV-
ADP	109	98%	100%	58	0

VPP : Valeur Prédicative d'un résultat Positif RV+ : Rapport de Vraisemblance +  
VPN : Valeur Prédicative d'un résultat Négatif RV- : Rapport de Vraisemblance -

### Sur CS-series / CN-series :

#### Performances analytiques

##### Précision

Des études de précision ont été évaluées à l'aide d'échantillons anormaux et normaux, sur 1 série et 30 répétitions.

CS-series		Répétabilité	
Echantillon	% Agrégation max.	CV / SD	
Normal	88%	CV = 4.4%	
Anormal	0.51%	SD = 0.62%	

CN-series		Répétabilité	
Echantillon	% Agrégation max.	CV%	
Normal	88%	6.9%	
Anormal	28%	10.7%	

#### Substances interférentes

Les interférences sont définies par le système d'analyses utilisé et sont documentées dans les Guides d'Application des instruments respectifs.

#### Performances cliniques

##### Agrément

Agoniste	Méthode de référence (agrégomètre)	Agrément (n = 108) (CS-series)
ADP	Réactif Helena	95%

##### Sensibilité/Spécificité

Agoniste	n	Sensibilité	Spécificité	Aire sous la courbe (ROC)	
ADP	108	100%	91%	0.974	

Agoniste	n	VPP	VPN	RV+	RV-
ADP	108	91%	100%	11.6	0

VPP : Valeur Prédicative d'un résultat Positif RV+ : Rapport de Vraisemblance +  
VPN : Valeur Prédicative d'un résultat Négatif RV- : Rapport de Vraisemblance -

Les performances cliniques ont été définies à ADP  $2 \mu M$  pour les médicaments antiplaquettaires et les échantillons normaux, et confirmées à  $10 \mu M$  pour le syndrome hémorragique, la bithérapie antiplaquettaire et les échantillons normaux.

## REFERENCES:

- Le Blanc J. *et al.* Advances in Platelet Function Testing-Light Transmission Aggregometry and Beyond. J Clin Med. 2020.
- Egashira M. *et al.* The Basic Evaluation of Light Transmission Platelet Aggregation Method on an Automated Coagulation Analyzer CN-6000. Sysmex Journal International. 2020.
- Cattaneo M. *et al.* Recommendations for the Standardization of Light Transmission Aggregometry: A Consensus of the Working Party from the Platelet Physiology Subcommittee of SSC/ISTH. J Thromb Haemost. 2013.
- Frelinger AL. *et al.* Subcommittee on Platelet Physiology. Laboratory monitoring of P2Y12 inhibitors: communication from the SSC of the ISTH. J Thromb Haemost. 2018.
- Michelson AD. *et al.* How I use laboratory monitoring of antiplatelet therapy. Blood. 2017.
- Yardumian DA. *et al.* Laboratory investigation of platelet function: a review of methodology. J Clin Pathol. 1986.
- Zhou L. *et al.* Platelet aggregation testing in platelet-rich plasma: description of procedures with the aim to develop standards in the field. Am J Clin Pathol. 2005.
- Angiolillo DJ. *et al.* Basic principles of platelet biology and clinical implications. Circ J. 2010.
- Gresele P. Subcommittee on Platelet Physiology of the International Society on Thrombosis and Hemostasis. Diagnosis of inherited platelet function disorders: guidance from the SSC of the ISTH. J Thromb Haemost. 2015.
- McCabe White M. *et al.* Platelet protocols: research and clinical laboratory procedures. Elsevier Science. 1999.
- CLSI. Platelet Function Testing by Aggregometry; Approved Guideline. CLSI document H58-A (ISBN 1-56238-683-2). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087 USA 2012.
- Kaeng W.L. *et al.* Effects of Lifestyle on Hemostasis, Fibrinolysis, and Platelet Reactivity. Arch Intern Med. 2003.
- Olas B. and Brys M. Effects of coffee, energy drinks and their components on hemostasis: The hypothetical mechanisms of their action. Food and Chemical Toxicology. 2019.
- CLSI Document EP28-A3c: "Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline - Third Edition". 2010.c
- Munnix *et al.*, Harmonizing light transmission aggregometry in the Netherlands by implementation of the SSC-ISTH guideline, Platelets. 2021.

Les notices (autres langues) sont disponibles sur [www.hyphen-biomed.com](http://www.hyphen-biomed.com).  
Pour le support client et les Guides d'Application, veuillez contacter votre fournisseur ou distributeur local (voir [www.hyphen-biomed.com](http://www.hyphen-biomed.com)).

Changements par rapport à la précédente version.

Les symboles suivants peuvent apparaître dans l'étiquetage du produit :

<b>REF</b>	Référence catalogue	<b>LOT</b>	Désignation du lot	<b>IVD</b>	Dispositif médical de diagnostic <i>in-vitro</i>
<b>Rx</b>	Identification numérique < x> du réactif	<b>i</b>	Lire le mode d'emploi	<b>WHO STD</b>	Code du standard OMS
<b>CE</b>	Températures limites de conservation	<b>MA</b>	Fabricant	<b>YYYY-MM-DD</b>	Utilisable jusqu'à
<b>XXXX</b>	Marquage de conformité CE avec le numéro d'identification de l'organisme notifié	<b>→</b>	Volume de reconstitution	<b>CONTENTS</b>	Contenu
<b>Cx</b>	Identification numérique < x> du contrôle	<b>i-MA</b>	Consulter les instructions fournies dans le guide d'application de la méthode	<b>CONTAINS</b>	Contient
<b>EXP</b>	Date d'expiration	<b>Σ</b>	Suffisant pour <n> tests	<b>UNIT</b>	Unité de mesure
<b>TARGET VALUE</b>	Valeur cible	<b>☀</b>	Maintenir hors de portée de la lumière du soleil et de la chaleur	<b>CALx</b>	Identification numérique < x> du calibrateur
<b>UDI</b>	Identifiant unique du dispositif	<b>BIO</b>	Contient du matériel biologique d'origine animale	<b>🩸</b>	Contient du sang ou des dérivés de plasma humain
<b>UK CA</b>	Marquage de conformité UKCA	<b>🚫</b>	Risque biologique	<b>ACCEPTANCE RANGE</b>	Intervalle d'acceptation