


Collagen

REF AG005K

R1 3 flacons x 0.5 mg

R2 3 flacons x 12 mL


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 suspects de troubles de la fonction plaquettaire ou sous traitement antiplaquettaire. Ce dispositif de diagnostic *in vitro* est destiné à une utilisation professionnelle en laboratoire.

RESUME ET EXPLICATION:
Technique :¹⁻³

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 :³⁻⁸

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 P₂Y₁₂, les inhibiteurs de la glycoprotéine IIb/IIIa.

PRINCIPE:

Lorsque le collagène est ajouté au plasma riche en plaquettes (PRP) d'un sujet sain, l'adhésion plaquettaire est générée par l'intermédiaire du récepteur du collagène GP1a/IIa et du récepteur GPVI. Suite à l'adhésion, la libération des granules des plaquettes et la production de thromboxane A₂, l'activation des plaquettes se produit. Etant donné que l'agrégation plaquettaire induite par le collagène dépend principalement de ces médiateurs secondaires, il y a une phase de latence entre le moment où le collagène est ajouté et l'agrégation plaquettaire est observée. Le collagène présent dans l'endothélium vasculaire joue un rôle important dans l'hémostase suite à une brèche vasculaire. Le collagène est une matrice générant l'adhésion des plaquettes et est un puissant activateur des plaquettes⁵⁻⁷.

REACTIFS:

R1 Réactif Collagène : Collagène à environ 0,5 mg (collagène de tendon de cheval (type I majoritairement)), lyophilisé. Contient des stabilisants.

R2 Diluant pour Collagène, forme liquide.

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:

- Ce matériel contient des substances d'origine animale et doit être manipulé comme un porteur et un transmetteur potentiel de maladies.
- L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux réglementations locales en vigueur.
- Utiliser uniquement les réactifs d'un même lot de coffret.
- 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.

PREPARATION DES REACTIFS:

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

Pour agrégomètre :

R1 Reconstituer chaque flacon avec **exactement 0.5 mL d'eau distillée** (1 mg/mL). 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.

R2 Réactif prêt à l'emploi. Laisser stabiliser le réactif pendant 30 min à température ambiante (18-25°C).

Diluer le Collagène reconstitué comme suit (exemple pour 1 mL) :

Pour une concentration finale dans le test (µg/mL)	5	2
Préparer les solutions 10X suivantes :		
Concentration de collagène 10X (µg/mL)	50	20
Collagène 1 mg/mL (µL)	50	20
Diluant pour Collagène (µL)	950	980

Pour automate :

R1 Reconstituer chaque flacon avec **exactement 0.625 mL d'eau distillée** (800 µg/mL). 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.

R2 Réactif prêt à l'emploi, homogénéiser en évitant la formation de mousse et charger directement sur l'automate en suivant les instructions du Guide d'Application. Diluer le Collagène reconstitué comme suit (exemple pour 1 mL) :

Pour une concentration finale dans le test (µg/mL)	5	2
Préparer les solutions 8X suivantes :		
Concentration de collagène 8X (µg/mL)	40	16
Collagène 800 µg/mL (µL)	50	20
Diluant pour Collagène (µL)	950	980

Homogénéiser les réactifs 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.

R1 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).
- **Ne pas congeler.**
- **Stabilité à bord de l'automate : se référer au Guide d'Application spécifique.**

R2 La stabilité du réactif après ouverture, 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).
- **Ne pas congeler.**
- **Stabilité à bord de l'automate : se référer au Guide d'Application spécifique.**

REACTIFS ET MATERIELS REQUIS MAIS NON FOURNIS:

- Matériel de laboratoire.
- 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 PREPARATION DES ECHANTILLONS:

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^{3,10}.

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^{3,10} : 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 µg/mL. Si l'agrégation plaquettaire est anormale, des concentrations plus élevées de Collagène doivent être testées (ex : 5 µg/mL)¹⁻³.

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 :

1. Placer un agitateur dans chaque cuvette.
2. Etablir le 100% d'agrégation avec une cuvette contenant 300 µL de PPP.
3. Pipeter 285 µL de PRP dans une seconde cuvette. Incuber à 37°C pendant 2 minutes. Etablir le 0% d'agrégation avec le PRP.
4. Ajouter 15 µL de solution de Collagène 10X directement dans PRP en utilisant un embout de pipette long et fin. Ne pas injecter contre les parois de la cuvette.
5. Laisser développer le profil d'agrégation pendant 10 minutes.

Si un volume réactionnel différent 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, 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.^{11,12}
- 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 x 10⁹/L ou supérieur à 600 x 10⁹/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 autologue³.

VALEURS ATTENDUES:

L'intervalle de référence établi, dans une étude interne, sur des sujets sains adultes avec 2 µg/mL de collagen sur agrégomètre (n=53), sur CS-series (n=51) et sur CN-series (n=83), a été mesuré entre 55 et 99%, entre 69 et 99% et entre 50 et 95% respectivement (Central 90%, 95ème percentile)¹³.
Cependant, chaque laboratoire doit établir ses propres paramètres d'agrégation normale^{9,10,14}.

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 le Collagen.
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	85%	3.8%
Anormal	31%	11.8%

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 = 110)
Collagen (2µg/mL)	Helena reagent	96%

Sensibilité/Spécificité					
Agoniste	n	Sensibilité	Spécificité	Aire sous la courbe (ROC)	
Collagen	110	93%	100%	0.995	
Agoniste	n	VPP	VPN	RV+	RV-
Collagen	110	100%	93%	+ ∞	0,088

VPP : Valeur Prédicative d'un résultat Positif
VPN : Valeur Prédicative d'un résultat Négatif
RV+ : Rapport de Vraisemblance +
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%			
Normal	90%	2.8%			
Anormal	8%	16.0%			
CN-series			Répétabilité		
Echantillon	% Agrégation max.	CV%			
Normal	85%	3.1%			
Anormal	27%	7.5%			

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 = 107) (CS-series)			
Collagen	Helena reagent	95%			
Sensibilité/Spécificité					
Agoniste	n	Sensibilité	Spécificité	Aire sous la courbe (ROC)	
Collagen	107	91%	100%	0.963	
Agoniste	n	VPP	VPN	RV+	RV-
Collagen	107	100%	91%	+ ∞	0,070

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

La performance clinique a été définie à 2 µg/mL de collagène pour les médicaments antiplaquetitaires et les échantillons normaux, et confirmée à une concentration supérieure 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.
- 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.
- 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.
Pour le support client et les Guides d'Application, veuillez contacter votre fournisseur ou distributeur local (voir www.hyphen-biomed.com).

Changements par rapport à la précédente version.

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

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