

ADRENALINE 5 mM

Per uso diagnostico *in Vitro*

Kit per la valutazione dell'Aggregazione Piastrinica su PRP indotta da Adrenalina

I. DESTINAZIONE D'USO

L'Adrenalina è utile negli studi di aggregazione piastrinica di routine ai fini della valutazione di disfunzioni piastriniche o di attivazione piastrinica.

II. PRINCIPIO DEL TEST

Quando l'Adrenalina viene aggiunta al plasma ricco di piastrine, essa stimola le piastrine a modificare la propria forma e ad aggregarsi. L'aggregazione indotta dall'Adrenalina è considerata aggregazione primaria. Quindi le piastrine normali rispondono rilasciando ADP endogeno dai propri granuli. Il rilascio di ADP endogeno si manifesta in una seconda onda di aggregazione.

III. REAGENTI E MATERIALI

Ogni kit contiene:

1. Adrenalina 5 mM liofila. Ogni flaconcino deve essere ricostituito con 0.5 ml di acqua bidistillata.
2. Diluent A : tampone di diluizione contenente TRIS, pH 7,3.

MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO

- Provette per il prelievo, provette da centrifuga, provette e pipette con cui si tratta il sangue prelevato e il PRP, in vetro siliconato o in plastica.
- Acqua bidistillata.
- Aggregometro

IV. CONSERVAZIONE

Conservare il kit a +2 - +8°C. Il kit è stabile fino alla data di scadenza stampata sulla confezione. Dopo ricostituzione e prelievo della quantità necessaria per i test, il flacone di adrenalina deve essere eliminato. Il Diluent A può essere usato più volte.

V. RACCOLTA DEL CAMPIONE

Raccogliere il sangue con puntura venosa atraumatica senza stasi, aspirando lentamente con la siringa ed espellendo, dopo aver rimosso l'ago, altrettanto lentamente il sangue nelle provette; evitare l'emolisi. Effettuare il prelievo con una siringa di plastica e mescolare 9 volumi di sangue con 1 volume di trisodio citrato 3,8% in una provetta di plastica o di vetro siliconato.

Centrifugare il sangue a 200 x g per 10 minuti, aspirare con cura il supernatante (PRP) e su di esso eseguire un normale conteggio piastrinico.

Ricentrifugare il rimanente sangue citratato a 2000 x g per 30 minuti e decantare il supernatante (PPP).

Diluire il PRP con il PPP in modo da ottenere un plasma contenente circa 300.000 piastrine per mm³. Mantenere il PRP a temperatura ambiente ed eseguire le determinazioni entro 4 h.

VI. PREPARAZIONE DELLA SOLUZIONE DI LAVORO

Diluire 2 aliquote da 0,1 ml di Adrenalina (precedentemente ricostituita con 0,5 mL di acqua bidistillata) con 4,9 ml e 0,9 ml di Diluent A per ottenere 2 soluzioni di lavoro a concentrazioni di Adrenalina rispettivamente 0,1 mM e 0,5 mM. Le soluzioni di lavoro sono stabili 60 minuti a TA. Per ogni flaconcino si possono eseguire circa 100 curve di aggregazione piastrinica.

VII. PROCEDURA

Per un esame di routine dei campioni eseguire il test a 2 livelli di concentrazione di Adrenalina che inducano un'aggregazione bifasica (1,0 µM) e un'aggregazione monofasica irreversibile (10 µM)

1. Preparare il PRP e il PPP come descritto nel paragrafo V.
2. Mettere in una provetta per aggregazione contenente una barretta magnetica 500 µl (250 µl) di PRP e incubare a 37°C per 3 minuti.
3. Mettere in una provetta per aggregazione senza barretta magnetica 500 µl (250 µl) di PPP.
4. Porre le cuvette negli appositi spazi dell'aggregometro e seguire le istruzioni d'uso dello strumento per la taratura.
5. Lasciare a temperatura ambiente l'Adrenalina e agitare dolcemente.
6. Aggiungere 5,0 µl (2,5 µl) di Adrenalina 0,1mM alla cuvetta con PRP per ottenere un'aggregazione bifasica. Aggiungere 10 µl (5,0 µl) di Adrenalina 0,5 mM per ottenere un'aggregazione monofasica irreversibile.
7. Registrare l'aggregazione piastrinica per almeno 5 minuti.

I volumi tra parentesi possono essere richiesti da alcuni aggregometri; avvalersi degli appositi spaziatori adesivi.

VIII. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Soggetti normali	Adrenalina - Conc. inferiori a 0,2 µM	aggregazione reversibile.
	Adrenalina - Conc comprese tra 0,2 e 5,0 µM	aggregazione bifasica con un'onda secondaria indotta da agenti aggreganti endogeni.
	Adrenalina - Conc superiori a 5,0 µM:	aggregazione monofasica irreversibile (% di aggregazione è 70-80%)

IX. CARATTERISTICHE

Il prodotto presenta le caratteristiche descritte se esso viene utilizzato entro la data di scadenza e nel rispetto delle prescrizioni relative alle procedure ed alla conservazione.

Linearità, accuratezza, precisione.

L'aggregazione piastrinica indotta dai comuni reagenti aggreganti (ADP, Acido Arachidonico, Collagene ed Adrenalina) è un sistema di analisi non lineare per alcuni 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. In aggregazione piastrinica, l'accuratezza è un parametro relativo e dipende dal sistema di analisi. Le limitazioni dell'aggregazione piastrinica rendono difficile fornire livelli di precisione o riproducibilità tipici.

X. NOTA













- E' sconsigliato usare l'adrenalina come agonista standard su campioni di sangue intero per effettuare analisi cliniche. Circa il 50% dei soggetti risponde in modo molto debole a questo agente aggregante.
- Per effettuare in simultanea il test ottico su PRP e il test di rilascio dell'ATP con la tecnica bioluminescente occorre operare su un lumi-aggregometro (Esempio 700-2). Si rinvia alla Scheda Tecnica e alle Istruzioni riportate nell'User Manual dello strumento.

CONFEZIONE

Adrenalina liofila
Diluent A
Istruzioni per l'uso

COD. 311501BL

9 x 0,5 ml
1 flacone x 50 ml
1 pezzo

 IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	 Limiti di temperatura	 LOT	Codice del lotto (LXXX)	 Fabbricante	 Mantenere asciutto	 Non sterile
	Consultare le istruzioni per l'uso	 Utilizzare entro (anno/mese)	 REF	Numero di catalogo	 Non riutilizzare	 Fragile, maneggiare con cura	 Tenere lontano dal calore

