

Épinéphrine

DESCRIPTION DU PRODUIT

L'épinéphrine est une préparation lyophilisée d'adrénaline. La concentration active du réactif reconstitué est de 1×10^{-3} M.

USAGE PRÉVU

L'épinéphrine est utilisée dans les études d'agrégation plaquettaire de routine pour l'évaluation de dysfonctionnement ou d'activation plaquettaire.

PRINCIPE DU TEST

Ajoutée au plasma riche en plaquettes, l'épinéphrine stimule l'agrégation des plaquettes. L'agrégation induite par l'épinéphrine est connue sous le nom d'agrégation primaire. Les plaquettes normales répondront en outre en libérant de l'ADP endogène de leurs granules. La libération d'ADP endogène résulte en une vague d'agrégation secondaire.^{8,10,11}

PRÉCAUTIONS

L'épinéphrine est destinée au DIAGNOSTIC *IN VITRO* UNIQUEMENT ET NE DOIT ÊTRE NI INJECTÉE OU NI INGÉRÉE.

Note à l'intention de l'utilisateur : tout incident grave lié à ce produit doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient sont établis.

MATÉRIEL FOURNI

Épinéphrine 3 x 0,5 ml. Conserver entre 2 ° à 8 °C avant reconstitution.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

1. Agrégomètre de plaquettes
2. Eau purifiée (distillée, désionisée ou de qualité réactif), pH 5,3 – 7,2
3. Pipettes (contenances de 0,5 ml, 0,45 ml, 0,05 ml)
4. Agitateurs jetables
5. Cuvettes pour agrégomètre

INSTRUMENTATION

L'épinéphrine fonctionnera comme décrit lorsque utilisée avec la plupart des agrégomètres optiques de plaquettes.¹ Suivre les consignes du fabricant pour faire fonctionner l'agrégomètre utilisé.

PRÉLÈVEMENT DES SPÉCIMENS ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS À TESTER

Consulter la directive H21 A2 approuvée par NCCLS en vigueur pour prendre connaissance des instructions détaillées.⁶

1. PRÉPARATION DU PATIENT:

Sept à 10 jours avant le prélèvement du spécimen, les patients doivent s'abstenir de prendre de l'aspirine ou des médicaments qui contiennent de l'aspirine ou tout autre médicament et supplément diététique connu pour modifier la fonction plaquettaire. Les patients doivent jeûner et éviter les nourritures grasses et les produits laitiers pendant 12 heures précédant le prélèvement du spécimen.⁶

2. PRÉLÈVEMENT DU SPÉCIMEN:

Le prélèvement sanguin doit être effectué avec soin pour éviter la stase, l'hémolyse, la contamination par des liquides tissulaires ou l'exposition au verre. Garder les spécimens à température ambiante.⁶

Chacun des facteurs suivants peut entraîner des résultats inexacts d'analyse, et les échantillons affectés doivent être rejetés : présence d'hémolyse, de contamination par des globules rouges, de lipémie, de chyle, d'ictère, de caillots de thrombocytopenie ($< 75,000 /\text{mm}^3$) dans le spécimen et de l'hypofibrinogénémié. La réutilisation d'articles jetables peut entraîner l'inexactitude des résultats d'analyse.

Suivre les précautions d'usage pendant le prélèvement des échantillons, la préparation de l'étalon et le processus d'analyse.^{2,3} Jeter les objets contondants et les déchets biologiques conformément au règlement du laboratoire.

Technique à la seringue (recommandée)⁸

- a. Utiliser une aiguille papillon pour la ponction veineuse.
- b. Prélever 9,0 ml de sang dans une seringue en plastique. Éviter une succion excessive.
- c. Retirer l'aiguille de la seringue et transvaser immédiatement et doucement le sang dans un tube en plastique [polypropylène]⁴ contenant 1,0 ml d'anticoagulant au citrate de sodium 0,11 M. La proportion doit être de 9 parties de sang pour 1 partie d'anticoagulant.⁵
- d. Couvrir et retourner 4 - 5 fois doucement pour mélanger.
- e. Conserver à température ambiante (entre 15 ° et 28 °C).

REMARQUE : lorsque l'hématocrite du patient est $< 30 \%$ ou $> 55 \%$, les volumes de sang par rapport à l'anticoagulant doivent être ajustés.⁴

Technique du tube de prélèvement sous vide

1. Utiliser une aiguille papillon pour la ponction veineuse.
2. Prélever le sang dans des tubes (en plastique) contenant l'anticoagulant au citrate de sodium 0,11 M.
3. Retourner 4 à 5 fois doucement pour mélanger.

REMARQUE : Si on utilise des tubes de prélèvement en plastique sous vide, vérifier sur l'étiquette que l'anticoagulant au citrate est bien à 0,11 M. La couleur des bouchons ne change pas avec les différentes concentrations en citrate. Suivre les consignes du fabricant pour le prélèvement des spécimens.

PRÉPARATION DE PLASMA RICHE (PRP) ET PAUVRE (PPP) EN PLAQUETTES

1. Préparer du plasma riche en plaquettes en centrifugeant du sang anticoagulé à 150 x g pendant 10 minutes à température ambiante (15 ° à 28 °C).
2. Vérifier qu'il n'y a pas de globules rouges dans la couche de plasma. Si des globules rouges sont présents, recentrifuger à 150 x g pendant 5 minutes supplémentaires.
3. Au moyen d'une pipette de transfert en plastique, observer et retirer avec soin la couche de plaquettes sans déranger la couche leuco-plaquettaire ou des globules rouges, et transférer dans un récipient étiqueté (PRP). Boucher le récipient et le laisser à température ambiante.
4. Préparer le plasma pauvre en plaquettes en centrifugeant le restant du spécimen de sang à 2500 x g pendant 20 minutes. Vérifier que le plasma pauvre en plaquettes soit dépourvu d'hémolyse, puis transférer dans un tube en plastique étiqueté PPP.
5. La numération plaquettaire du PRP doit être de $250,000 \pm 50,000 /\text{mm}^3$. La numération plaquettaire peut être réduite par l'utilisation de PPP préparé à partir de l'échantillon.

REMARQUE: Si de l'acide arachidonique est utilisé comme agoniste, ne pas ajuster la numération plaquettaire.

RECONSTITUTION

REMARQUE: Les réactifs doivent être amenés à température ambiante (entre 15 ° et 28 °C) avant la reconstitution. Les réactifs conservés doivent être amenés à température ambiante avant d'être utilisés.

Reconstituer un flacon d'épinéphrine avec 0,5 ml d'eau purifiée.

CONSERVATION DES RÉACTIFS

L'épinéphrine reconstituée est stable pendant 30 jours lorsqu'il est conservé entre 2 ° et 8 °C dans son contenant d'origine hermétiquement fermé.

PROCÉDURE DE TEST

Le plasma riche en plaquettes doit être maintenu à température ambiante pendant au moins 30 minutes avant le test.

1. Préparer un contrôle d'agrégomètre en pipétant 0,5 ml de plasma pauvre en plaquettes dans une cuvette.
2. Pipeter 0,45 ml de plasma riche en plaquettes dans une seconde cuvette. Incuber à 37 °C pendant 3 minutes et ajouter un agitateur.
3. Au besoin, régler les références de 0 % et 100 % selon les instructions du fabricant pour l'agrégomètre utilisé.
4. Ajouter 0,05 ml d'épinéphrine directement dans le plasma riche en plaquettes. Ne pas laisser le réactif couler le long de la paroi de la cuvette. La concentration finale en épinéphrine dans le plasma riche en plaquettes est de 1×10^{-3} M.
5. Laisser l'agrégation se former pendant 5 minutes.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les laboratoires doivent suivre les pratiques du contrôle de qualité généralement acceptées lorsqu'une épreuve de compétence n'est pas disponible.

Pour assurer un fonctionnement adéquat de l'instrument et la bonne performance des réactifs, un échantillon témoin doit être évalué chaque jour où les analyses sont effectuées. L'échantillon témoin doit être préparé de la même manière que l'échantillon d'analyse. Pour effectuer des études sur l'agrégation des plaquettes, l'échantillon témoin doit être composé de plasma frais riche en plaquettes et prélevé sur un donneur normal (spécifié et qualifié) qui n'a pas ingéré de composés contenant de l'aspirine au cours des 10 jours précédant l'analyse et dont la fonction plaquettaire a toujours été normale.

RÉSULTATS

Les modèles d'agrégation typiques à l'épinéphrine sont illustrés en Figures 1 et 2. L'épinéphrine induira deux vagues distinctes d'agrégation dans le plasma normal riche en plaquettes.^{8,10,11}

VALEURS ATTENDUES

Les intervalles de valeurs attendues pour chaque réactif aux concentrations utilisées pour produire une agrégation plaquettaire doivent être établis par chaque laboratoire, voir le tableau 1.^{4,8,9,10}

Tableau 1
RÉPONSES TYPIQUES D'AGRÉGATION PLAQUETTAIRE POUR DES DONNEURS NORMAUX à 250,000 PLAQUETTES /mm³ [agrégation totale à 5 minutes]

	ADP	Acide arachidonique	Collagène [Type I]	Épinéphrine
Concentration finale	$2,0 \times 10^{-5}$ M	500 µg/mL	0,19 mg/mL	$1,0 \times 10^{-4}$ M
Phase de latence [sec]	<10	<=20	<60	0
Pente primaire	38-67	>20	35-67	7-34
Agrégation totale (% @ 5min)	63-89	65-90	61-99	54-101
Agrégation biphasique	Dépendent de la concentration	NON	NON	OUI
Autre	Peut montrer un changement de forme	Tous les donneurs normaux peuvent ne pas être conformes à PLT CT~175k-300k	Ne pas diluer	Tous les donneurs normaux peuvent ne pas être conformes

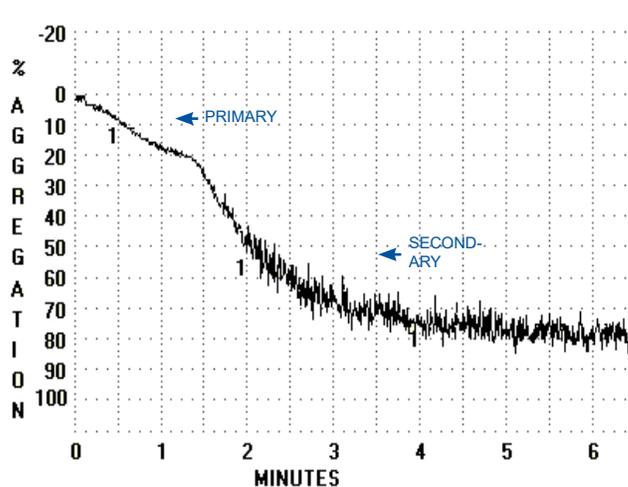


Fig. 1 Normal Aggregation

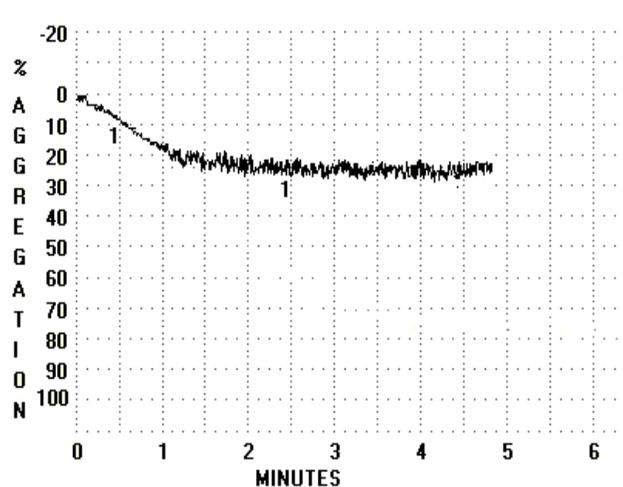


Fig. 2 Abnormal Aggregation

LÉGENDE: Résultats d'agrégation de plaquettes Induite par épinéphrine pour plasma normal et anormal.

La concentration finale en épinéphrine dans le PRP est de 1×10^{-4} M.
La marque en pointe indique l'ajout de réactif.

LIMITES DU TEST³

De faux résultats seront observés si le nombre de plaquettes du plasma riche en plaquettes est inférieur à 75,000 plaquettes /ul.

Le plasma riche en plaquettes qui n'a pas été maintenu au moins 30 minutes à température ambiante avant le test peut occasionner des résultats anormaux.

Plusieurs rapports indiquent que le plasma riche en plaquettes de 20-50% de la population normale ne donnera qu'une vague primaire d'agrégation en réponse à l'épinéphrine.

CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES

Des études ont montré que ce produit fonctionnera comme décrit avant sa date de péremption si les instructions de procédure et de conservation sont respectées.

Linéarité:

L'agrégation plaquettaire provoquée par des agonistes communs (ADP, acide arachidonique, collagène et épinéphrine) est un système d'analyse non linéaire pour les paramètres suivants: phase de latence, pente primaire, pente secondaire, réponse biphasique et désagrégation. La non linéarité est due à plusieurs facteurs tels que la chimie de la réaction et l'instrumentation. L'agrégation plaquettaire mesure un taux de réponse ou une activité qui ne constitue pas une mesure quantitative des éléments réagissant ou de leur concentration.

EXACTITUDE, PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Exactitude

Dans l'agrégation plaquettaire, l'exactitude est un paramètre relatif qui dépend du système d'analyse.

Précision et reproductibilité

Les limites que présente d'agrégation plaquettaire font qu'il est difficile de fournir une précision typique ou des intervalles de reproductibilité. Toutefois, on applique à ces paramètres un consensus fondé sur l'expérience (voir ci-dessous). Chaque laboratoire doit établir ses propres limites quant à l'acceptabilité des dosages.

Reproductibilité d'une analyse à une autre :	mieux que $\pm 7,5 \%$
Reproductibilité d'un instrument à un autre :	mieux que $\pm 15 \%$
Variation du réactif d'un lot à un autre :	mieux que $\pm 10,5 \%$
D'un laboratoire à un autre (système d'analyse identique) :	mieux que $\pm 12,5 \%$

RÉFÉRENCES

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 Triplett, 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. Williams WJ, Beutler, E. Erslev AJ, Rundles RW: Hematology. McGraw-Hill, 1977.

Pour une liste complète des produits disponibles s'il vous plaît aller à notre site Web ou www.biodatacorp.com contacter le service client ci-dessous.

LA GAMME DE PRODUITS BIO/DATA CORPORATION COMPREND DES RÉACTIFS À USAGE GÉNÉRAL ET PROFESSIONNEL DE LABORATOIRE DESTINÉS À INDUIRE ET À SIGNALER L'ACTIVITÉ ET LES RÉPONSES DE LA FONCTION PLAQUETTAIRE. CE PRODUIT EST GARANTI POUR FONCTIONNER COMME DÉCRIT DANS SON ÉTIQUETAGE, Y COMPRIS LES INSTRUCTIONS D'UTILISATION. BIO/DATA CORPORATION NE FAIT AUCUNE RÉCLAMATION NI NE DONNE AUCUNE GARANTIE, EXPRESSE OU IMPLICITE, QUANT À LA CAPACITÉ, L'APTITUDE OU LA QUALITÉ MARCHANDE POUR TOUT AUTRE USAGE. EN AUCUN CAS BIO/ DATA CORPORATION NE POURRA ETRE TENUE RESPONSABLE DE TOUT DOMMAGE CONSECUTIF RESULTANT DE LA GARANTIE EXPRIMEE CI-DESSUS.



155 Gibraltar Road, Horsham, PA 19044 États-Unis
(800) 257-3282 États-Unis (215) 441-4000 International
Télécopie : (215) 443-8820 International
Courriel : customer.service@biodatacorp.com
Internet : www.biodatacorp.com

An ISO 13485 Registered Company



Alpha Laboratories Ltd, 40 Parham Drive, Eastleigh, Hampshire, SO50 4NU United Kingdom



mdi Europa GmbH, Langenhagener Str. 71, 30855 Langenhagen, GERMANY

