

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

L'Epinefrina è una preparazione liofilizzata di adrenalina. La concentrazione del reagente ricostituito è 1 x 10⁻³M.

UTILIZZO

L'Epinefrina è destinata ad essere utilizzata negli studi di aggregazione piastrinica di routine ai fini della valutazione di disfunzioni piastriniche o di attivazione piastrinica.

PRINCIPIO

Nei casi in cui venga aggiunta a plasma ricco di piastrine, stimola le piastrine all'aggregazione. L'aggregazione indotta dall'Epinefrina è da considerarsi aggregazione primaria. Conseguentemente, le piastrine normali rispondono rilasciando ADP endogeno dai propri granuli. Il rilascio di ADP endogeno si manifesta in un'onda di aggregazione secondaria.^{8,10,11}

PRECAUZIONI D'USO

L'Epinefrina è esclusivamente destinata all'USO DIAGNOSTICO IN VITRO E NON DEVE ESSERE INIETTATA NE' INGERITA.

NOTA PER L'UTENTE: Qualsiasi incidente grave che si dovesse verificare in relazione a questo dispositivo deve essere segnalato al fabbricante e all'autorità competente dello Stato Membro in cui risiede l'utilizzatore e/o il paziente.

MATERIALE FORNITO

Epinefrina, 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 NCCLS di tipo 1) e PH 5.3 – 7.2.
3. Pipette (da 0.5 mL, 0.45 mL e 0.05 mL).
4. Barrette magnetiche monouso.
5. Provette per l' aggregometro.

STRUMENTAZIONE

L'Epinefrina fornisce le prestazioni descritte quando è utilizzata sulla maggior parte degli aggregometri con principio ottico.¹ 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.⁹

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 inaccuratezza 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 anticoagulante.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 in cui l'ematocrito del paziente sia < 30% ovvero > 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 0.11M.
3. Per mescolare, capovolgere delicatamente 4-5 volte.

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

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 l'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 agonista, 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 Epinefrina con 0.5 mL di acqua purificata.

CONSERVAZIONE DEL REAGENTE

L'Epinefrina è stabile per 30 giorni, quando è conservata a temperatura compresa tra 2°-8° C nel suo contenitore originale chiuso.

PROCEDURA

Il plasma ricco di piastrine deve essere mantenuto a temperatura ambiente per almeno 30 minuti prima di procedere al test.

1. Preparare il bianco dell'aggregometro introducendo con una pipetta 0.5 mL di plasma povero di piastrine in una provetta.
2. Introdurre con una pipetta 0.45 mL di plasma ricco di piastrine in una seconda provetta. Incubare a 37° C per 3 minuti e inserire una barretta magnetica.
3. Predisporre, ove richiesto, lo 0% e il 100% di riferimento secondo le istruzioni della ditta produttrice dell'aggregometro in uso.
4. Aggiungere direttamente 0.05 mL di Epinefrina al plasma ricco di piastrine. Evitare di far scivolare il reagente lungo le pareti della provetta. La concentrazione finale di Epinefrina nel plasma ricco di piastrine è 1 x 10⁻⁴M.
5. 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 Epinefrina sono illustrati nelle figure 1 e 2. L'Epinefrina induce due distinte onde di aggregazione in plasma normale ricco di piastrine.^{8,10,11}

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 I]	Epinefrina
Conc.Finale	2.0x10 ⁻⁵ M	500µg/mL	0.19mg/mL	1.0x10 ⁻⁴ M
Fase di Latenza [sec]	<10	<=20	<60	0
Curvatura Primaria	38-67	>20	35-67	7-34
Aggregazione Totale (%@5min)	63-89	65-90	61-99	54-101
Aggregazione Bifasica	Dipendente dalla Concentrazione	NO	NO	YES
Altro	Possono aversi cambi di forma	Non tutti i Donatori potrebbero essere conformi PLT CT~175k-300k	Non diluire	All normal Donors may not Conform

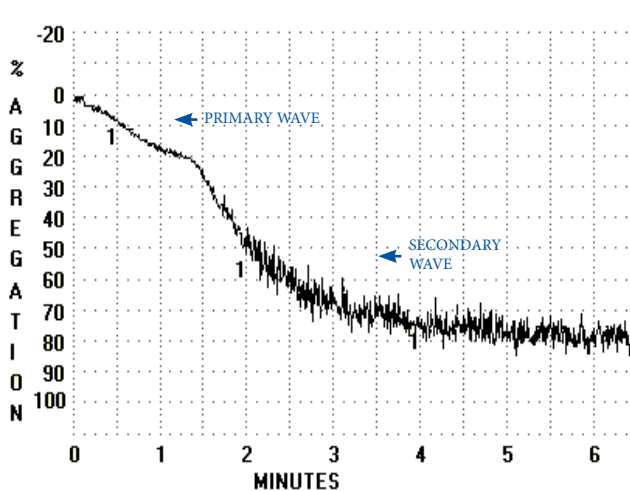


Fig. 1 Normal Aggregation

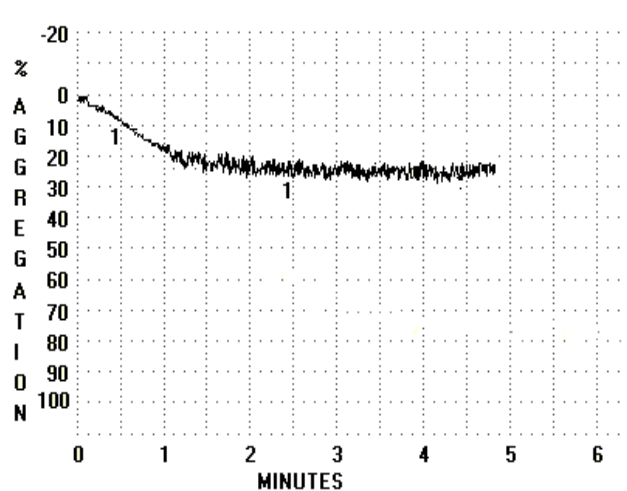


Fig. 2 Abnormal Aggregation

LEGENDA: Risultati dell'aggregazione piastrinica indotta da Epinefrina su plasma normale e anormale. La concentrazione finale di Epinefrina in PRP è $1 \times 10^{-4}M$.
Le frecce indicano l'aggiunta del reagente.

LIMITAZIONI

Risultati spurii si osservano nei casi in cui il conteggio piastrinico del plasma ricco di piastrine è inferiore a 75,000 piastrine/ μL .

Plasma ricco di piastrine che non sia stato mantenuto a temperatura ambiente per almeno 30 minuti prima di effettuare l'analisi può produrre risultati anormali.

Molti studi indicano che il plasma ricco di piastrine del 20-50% della popolazione sana mostra soltanto un'onda primaria di aggregazione in risposta all'Epinefrina.

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 d'analisi non lineare per i seguenti parametri: Fase di Latenza, Curvatura Primaria, Curvatura 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 RIPRODUCIBILITÀ

In aggregazione piastrinica, l'accuratezza può essere un parametro relativo che 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 $\pm 7.5\%$
Riproducibilità Strumento – Strumento	entro $\pm 15\%$
Variazione Lotto – Lotto	entro $\pm 10.5\%$
Variazione Laboratorio- Laboratorio (analogo sistema di analisi)	entro $\pm 12.5\%$

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 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.

Per un elenco completo dei prodotti disponibili, visitate il nostro sito web www.biodatacorp.com o contattate il servizio clienti qui di seguito.

LA LINEA DI PRODOTTI DI BIO/DATA CORPORATION COMPRENDE REAGENTI PER USO GENERALE E PROFESSIONALE IN LABORATORIO, DESTINATI A INDURRE E SEGNALARE L'ATTIVITÀ E LE RISPOSTE DELLA FUNZIONE PIASTRINICA. QUESTO PRODOTTO È GARANTITO PER LE PRESTAZIONI DESCRITTE NELL'ETICHETTATURA, COMPRESSE LE ISTRUZIONI PER L'USO. BIO/DATA CORPORATION NON RILASCIACUNA DICHIARAZIONE O GARANZIA, ESPRESSA O IMPLICITA, CIRCA LA CAPACITÀ, L'IDONEITÀ O LA COMMERCIALITÀ PER QUALSIASI ALTRO SCOPO. IN NESSUN CASO BIO/DATA CORPORATION SARÀ RESPONSABILE DI EVENTUALI DANNI CONSEGUENTI DERIVANTI DALLA SUDDETTA GARANZIA ESPRESSA



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
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

