

ADP (ADENOSINE-5'-DIPHOSPHATE)

DESCRIPTION DU PRODUIT

ADP est une préparation lyophilisée d'adénosine-5'-diphosphate. La concentration active du réactif reconstitué est de 200 µM, voir Tableau 1.

USAGE PRÉVU

ADP est utilisé dans les études d'agrégation plaquettaire de routine pour l'évaluation de dysfonctionnement ou d'activation plaquettaire et la thérapie antiplaquettaire.

PRINCIPE DU TEST

Ajouté au plasma riche en plaquettes, l'ADP incite celles-ci à changer de forme et à s'agréger. L'agrégation induite par l'ADP exogène est connue sous le nom d'agrégation primaire et est réversible. 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 qui est irréversible.^{8,10,11}

PRÉCAUTIONS

L'ADP est destiné au DIAGNOSTIC IN VITRO UNIQUEMENT ET NE DOIT ÊTRE NI INJECTÉ OU NI INGÉRÉ.

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

ADP 3 x 0,5 ml. Conserver entre 2 ° to 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'ADP 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.⁸

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.⁸

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 /mm³) dans le spécimen et de l'hypofibrinogénémie. 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. Prélèver 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. Prélèver 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 ± 50 000 /mm³. 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'ADP avec 0,5 ml d'eau purifiée.

CONSERVATION DES RÉACTIFS

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

PROCÉDURE DE TEST:

Les tests doivent être effectués dans les 4 heures qui suivent la collecte de l'échantillon du patient.⁸

1. Mettre le nombre de tubes nécessaires pour les tests dans la zone d'incubation et y ajouter dans chaque un barreau magnétique.
2. Préparer le blanc en pipettant 250µL de plasma pauvre en plaquettes (PPP) dans la cuvette. Attention, ne pas ajouter de barreau magnétique dans le blanc.
3. Pipetter 225 µL du plasma riche en plaquette (prp) et le mettre dans un tube préchauffé avec un barreau magnétique. Faire cela pour chaque patient à tester.
4. Laisser toujours les tubes contenant les PRP dans les position d'incubation et déclencher le chrono.
5. Faire le blanc: placer le PPP en position de test et appuyer sur 'blank'. Cela mettra la ligne de base à 100%.
6. Mettre le tube de PRP en position de test et cliquer sur start.
7. Ajouter les 25 µL d'agrégant directement dans le tube (au travers du couvercle) en évitant d'en mettre sur les bords du tube. Cliquer sur 'inject'.
8. Le test va se dérouler pendant la période définie par l'utilisateur (généralement 6 min). D'autres fournisseurs peuvent spécifier d'autres temps.

AGRÉGATION BIPHASIQUE

Afin de démontrer les 2 vagues de la courbe, le PRP peut être testé avec différentes dilutions de réactifs¹⁰.

**Préparer les différentes dilutions d'ADP comme décrit ci-dessous
Utiliser toujours 0.85% ou 0.90% pour les dilutions**

Tableau 1

ADP	Saline	Concentration active	Concentration finale
-----	-----	200 µM	20 µM
125 µL	125 µL	100 µM	10 µM
62 µL	188 µL	50 µM*	5 µM
50 µL	200 µL	40 µM	4 µM
38 µL	212 µL	30 µM	3 µM
25 µL	225 µL	20 µM**	2 µM
12 µL	238 µL	10 µM	1 µM
25 µL of *	225 µL	5 µM	0.5 µM
25 µL of **	225 µL	2 µM	0.2 µM

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^{12,13,14}.

RESULTADOS

Les modèles typiques d'agrégation ADP sont illustrés sur les Figures 1 - 3.

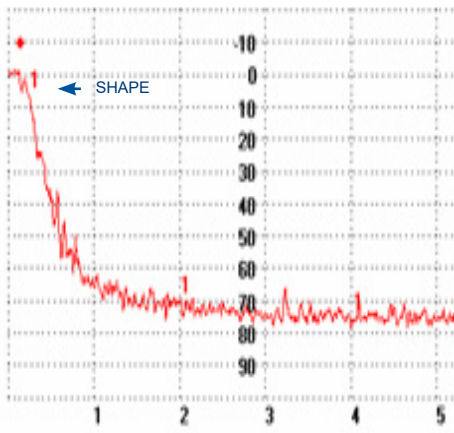


Figure 1 Agrégation normale
(Concentration finale de 200 µM), Voir Tableau 1.

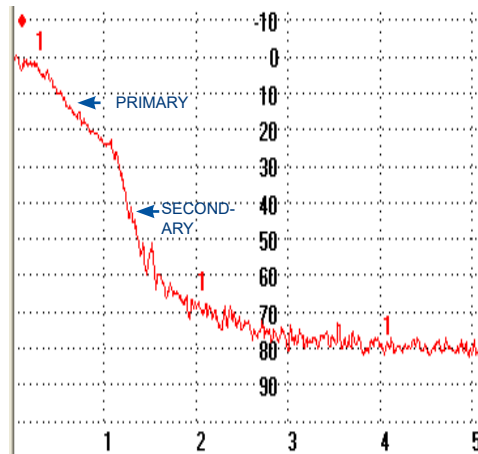


Figure 2 Agrégation normale
(Concentration finale de 4 µM), Voir Tableau 1.
LÉG

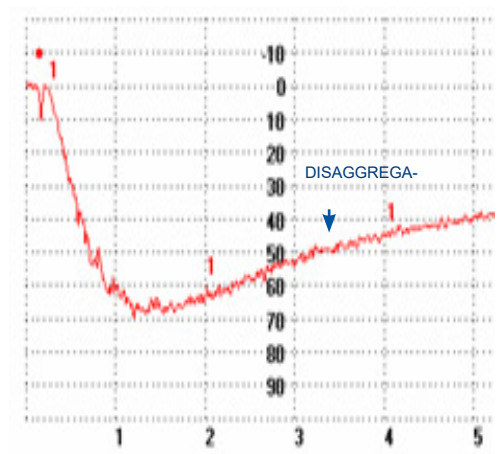


Figure 3 Agrégation anormale
(Concentration finale de 2 µM), Voir Tableau 1.

La marque en pointe indique l'ajout de réactif. La désagrégation dépendante de la concentration peut être observée avec certains PRP normaux. Ce phénomène est illustré en Figure 3.

ADP, à la concentration finale de 200 µM, induira une grande vague unique d'agrégation pour un plasma normal riche en plaquettes. À une concentration finale (sous test) de 2µM to 10µM à 4×10^{-6} M, deux vagues d'agrégation peuvent être observées (Voir Figure 2). La vague primaire est la réponse à l'ADP exogène (réactif). La vague secondaire est due à la libération d'ADP endogène du pool non-métabolique de nucléotides (pool de stockage) contenu dans les plaquettes.⁹

VALEURS ATTENDUES

Les intervalles de valeurs attendues pour chaque réactif aux diverses concentrations utilisées pour produire une agrégation plaquettaire doivent être établis par chaque laboratoire, voir le tableau 2^{4,8,9,10}

Tableau 2

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

	ADP	Acide arachidonique	Collagène [Type I]	Épinéphrine
Concentration finale	20µM	500µg/mL	0.19mg/mL	100µM
Phase de latence [sec]	<10	<=20	<60	0
Pente primaire	38-70	>20	35-67	7-45
Agrégation totale (% @ 5min)	62-101	65-90	63-1099	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

LIMITES

Un historique détaillé de la santé du patient est nécessaire à l'interprétation exacte des résultats. On doit demander aux patients s'ils ont récemment pris des médicaments car un bon nombre de médicaments prescrits ou non prescrits peuvent interférer avec l'agrégation plaquettaire. Des substances telles que caféine, tabac, extraits de plantes (ou compléments) et alcool peuvent affecter les résultats de l'analyse.^{7,8}

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

RÉFÉRENCES

- Born, GVR and Cross, MJ. The Aggregation of Blood Platelets. J. Physiol [London] 168:178, 1963.
- For Testing Plasma Based Settings, Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L, and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee, <http://www.cdc.gov/nicdod/dhqp/pfd/isolation2007.pdf>
- CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third edition. CLSI Document M29-A3. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute. 2005
- McCabe-White, M and Jennings, LK. Platelet protocols: Research and Clinical laboratory Procedure. Academic Press. London. 1999, p 35.
- 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.
- CLSI. Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing of Plasma Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline - Fifth Edition; CLSI Document H21 A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008
- Weiss, HJ: Aspirin and platelets in drugs and hematologic reactions. Dimittov and Nodine (eds.). Grune and Stratton, New York, 1974.
- Triplett, DA, Harms, CS, Newhouse, P, Clark, C: Platelet Function. Laboratory Evaluation and Clinical Application. ASCP. 1978.
- Day, HJ, Holmsen, H: Laboratory tests of platelet function. Annal Clin Lab Sci, 2:63, 1972.
- Owen, CA, Bowie, EJW, Thompson, JH: The diagnosis of bleeding disorder. Little, Brown and Co., 1975.
- William, WJ, Beutler, E., Erslev, AJ, Rundles, RW: Hematology. McGraw-Hill, 1977.
- CLSI. Platelet Function Testing by Aggregometry; Approved Guideline. CLSI Document H58-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008
- JO Westgard, Basic QC Practices, 3rd ed. Madison, WI: Westgard QC, Inc., 2010
- CLSI. Assessment of Laboratory Tests When Proficiency Testing Is Not Available; Approved Guideline - Second Edition. CLSI Document GP 29-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008

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 INDIQUER 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 ÊTRE TENUE RESPONSABLE DE TOUT DOMMAGE CONSÉCUTIF RESULTANT DE LA GARANTIE EXPRIMÉE 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

