

# ADP 0,1 mM

Per uso diagnostico *in Vitro*

**Kit per la valutazione dell'Aggregazione Piastrinica su PRP indotta da ADP.**

**I. DESTINAZIONE D'USO**

L'ADP 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'ADP viene aggiunto a plasma ricco di piastrine, esso stimola le piastrine a modificare la propria forma e ad aggregarsi. L'aggregazione indotta dall'ADP esogeno è considerata aggregazione primaria ed è reversibile. Quindi le piastrine normali rispondono rilasciando ADP endogeno dai propri granuli. Il rilascio di ADP endogeno si manifesta in una seconda onda di aggregazione che è irreversibile.

**III. REAGENTI E MATERIALI**

**Ogni kit contiene:**

1. ADP liofilo
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.
- Aggregometro

**IV. CONSERVAZIONE**

Conservare ben chiuso in frigorifero (2-8°C). Il kit è stabile fino alla data di scadenza stampata sulla confezione.

**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 mm<sup>3</sup>. Mantenere il PRP a temperatura ambiente ed eseguire le determinazioni entro 4 h.

**VI. PROCEDURA**

Ricostituire ogni flacone con 0,5 ml di Diluent A. Una volta ricostituito il reattivo è stabile per un mese a temperatura inferiore a -20°C. Per evitare ripetuti congelamenti e scongelamenti si consiglia di suddividere la soluzione in aliquote da 0,1 ml e congelare. Con lo schema di lavoro qui proposto il reattivo è sufficiente per **70 curve/flacone** (in genere si riescono a testare fino a 35 pazienti / flacone).

Per un esame di routine dei campioni eseguire il test a 2 livelli di concentrazione di ADP che inducano un'aggregazione bifasica (0,8 µM) e un'aggregazione monofasica irreversibile (2 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'ADP e agitare dolcemente.
6. Aggiungere 4,0 µl (2,0 µl) di ADP alla cuvetta con PRP per ottenere un'aggregazione monofasica irreversibile. Aggiungere 10 µl (5,0 µl) di ADP per ottenere un'aggregazione bifasica.
7. Registrare l'aggregazione piastrinica per almeno 5 minuti.

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

**VII. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI**

<b>Soggetti normali</b>	ADP - Concentrazioni inferiori a 0,3 µM:	aggregazione reversibile.
	ADP - Concentrazioni comprese tra 0,3 e 1,5 µM:	aggregazione bifasica.
	ADP - Concentrazioni superiori a 1,5 µM:	aggregazione monofasica irreversibile.
	ADP - Concentrazione 5 µM:	69 – 88 %
	ADP - Concentrazione 10 µM:	71 – 88 %

**VIII. 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.

**IX. NOTA**

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**

ADP 0,1 mM  
Diluent A  
Istruzioni per l'uso

**COD. 311501A**

8 x 0,5 ml  
1 flacone x 5.0 ml  
1 pezzo

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