



ISTRUZIONI PER L'USO

ADRENALINE 5 mM

KIT PER LA VALUTAZIONE DELL'AGGREGAZIONE PIASTRINICA SU PRP INDOTTA DA ADRENALINA

1 – SIGNIFICATO CLINICO E DESTINAZIONE D'USO

Per solo uso diagnostico *in Vitro*

Quando un vaso sanguigno viene danneggiato, le piastrine aderiscono ai bordi della ferita, aggregano, sintetizzano prostaglandine e rilasciano serotonina, ADP e ATP. La sintesi delle prostaglandine e dei prodotti di rilascio causa ulteriore aggregazione. In contemporanea inizia la cascata coagulativa, viene prodotta la trombina, si forma la fibrina e il tappo piastrinico si ancora al vaso danneggiato.

Difetti della funzione piastrinica, dovuti alla mancanza di una glicoproteina della membrana cellulare (tromboastenia di Glanzmann; sindrome di Bernard-Soulier), di granuli citoplasmatici di accumulo (scarsità del pool di deposito), di un enzima piastrinico (scarsità di cicloossigenasi) o di un fattore plasmatico (malattia di von Willebrand) provocano frequenti sanguinamenti post-traumatici, ematomi, epistassi o eccessive perdite di sangue durante le mestruazioni.

Le piastrine vanno incontro ad aggregazione in diverse condizioni ed in presenza di differenti reagenti (stimoli). Il termine "Aggregazione piastrinica" indica l'adesione di una piastrina ad un'altra. Tale fenomeno può essere indotto aggiungendo agenti aggreganti a un plasma ricco di piastrine (PRP) o al sangue intero. L'aggregazione è dipendente dalla presenza di calcio, fibrinogeno, fattori plasmatici ed un agente aggregante. La reazione di aggregazione varia in funzione dell'agente aggregante utilizzato e della sua concentrazione. Per l'aggregometria ottica (su PRP), ADP, Collagene, Epinefrina (Adrenalina) e Ristocetina vengono utilizzati a scopo di screening e sono in grado di fornire utili informazioni per formulare ipotesi diagnostiche preliminari.

La scelta di questi reagenti si basa sul loro meccanismo d'azione. ADP ed Epinefrina (adrenalina) sono contenuti nei granuli piastrinici e vengono rilasciati durante la formazione del tappo emostatico primario potenziando, in tal modo, la reazione di aggregazione. Per tale motivo, la risposta delle piastrine allo stimolo generato in vitro con questi agonisti può essere utile a riconoscere la natura dei disordini emorragici del paziente.

L'aggregazione è, al momento, il test di funzionalità piastrinica in vitro più utile. È lo strumento diagnostico che meglio può fornire una visione difficilmente ottenibile con altre tecniche e che può aiutare a formulare una diagnosi e a mettere a punto una terapia adeguata. L'utilizzo di questa tecnica da parte di personale esperto ha permesso di descrivere e diagnosticare una serie di disfunzioni piastriniche qualitative congenite e acquisite. La capacità o incapacità delle piastrine a rispondere ai diversi stimoli aggreganti è il punto di partenza per identificare il tipo di piastrinopatia cui ci si trova di fronte.

ADRENALINE 5 mM è un kit per la valutazione dell'aggregazione piastrinica su PRP indotta da adrenalina.

2 – PRINCIPIO DEL METODO

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.

3 – MATERIALI FORNITI – CONFEZIONAMENTO

Prodotto	Tipologia	REF	Confezione
ADRENALINE 5 mM	Test di aggregazione piastrinica	311501BL (9x0,5 mL)	9 vials di vetro contenenti un adrenalina liofila. Ogni flaconcino deve essere ricostituito con 0,5 mL di acqua bi distillata per avere una concentrazione di 5 mM. (9 x 0,5 mL) 1 vial di vetro contenente il Diluent A: tampone di diluizione contenente TRIS, pH 7,3 (1 x 50 mL) Imballo secondario: scatola di cartone.

Liofilo

Pericolo



H300; H318
EUH031
P305+P351+P338; P310; P264; P330
(Sodio bisolfito; Epinefrina bitartrato)

4 – MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Provette in vetro siliconato o in plastica, pipette. Acqua bidistillata. Centrifuga. Aggregometro.

5 – PRECAUZIONI E AVVERTENZE

- ADRENALINE 5 mM è un kit per l'uso diagnostico *in vitro*, per il solo uso professionale; deve essere utilizzato da personale di laboratorio qualificato e adeguatamente addestrato.
- Non utilizzare dopo la data di scadenza. La qualità dei reagenti non può essere garantita oltre la data di scadenza o se il kit è conservato in condizioni non appropriate.
- Seguire le normali precauzioni adottate per i reagenti di laboratorio. Smaltire i rifiuti in conformità alle normative vigenti a livello locale, regionale o nazionale.
- Tutte le operazioni riferite all'esecuzione del test devono essere condotte in accordo alle Buone Pratiche di Laboratorio.
- Tutti i campioni devono essere considerati potenzialmente pericolosi e manipolati nello stesso modo di agenti infettivi.
- Questo prodotto è classificato pericoloso in accordo alla Legislazione Europea vigente (consultare la scheda dati di sicurezza).
- Il Certificato di Analisi e la Scheda Dati di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito web: www.masciabrunelli.it.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.
- Comunicare a Mascia Brunelli Spa e alle Autorità competenti qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo diagnostico in vitro. complaint@masciabrunelli.it

6 – CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE E DATA DI SCADENZA

Conservare il kit a +2°C - +8°C. Il kit è stabile fino alla data di scadenza indicata nell'etichetta. 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.

7 – 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 *100-170 x g per 15 minuti*, aspirare con cura il supernatante (PRP) e *trasferirlo in una provetta di polipropilene e tappare*. Su di esso eseguire un normale conteggio piastrinico. Ricentrifugare il rimanente sangue citratato a *2000 x g per 20 minuti* e decantare il supernatante (PPP). Mantenere il PRP a temperatura ambiente ed eseguire le determinazioni entro 3 h.



**8 – 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**.

9 – PROCEDIMENTO DEL TEST

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 7.
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 pozzetti 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; se fosse necessario avvalersi degli appositi spaziatori adesivi.

10 – INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

NOTA: i seguenti intervalli normali sono stati ottenuti da vari laboratori e pubblicazioni. Dovrebbero essere usati solo come linea guida. Gli intervalli normali dovrebbero essere stabiliti per l'aggregazione in ogni singolo laboratorio.

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 78-88%) ¹

11 – 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.

12 – NOTE

- **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 **lumiaggregometro** (Esempio 700-2). Si rinvia alla Scheda Tecnica e alle Istruzioni riportate nell'User Manual dello strumento.

13 – LIMITI DEL METODO

- In uno studio su centosei pazienti con Storage Pool Disease (SPD), il 23% ha avuto risposte di aggregazione ottiche normali (PRP) a ADP, epinefrina e collagene e il 44% ha avuto anomalie di aggregazione varie. Gli autori hanno concluso che l'SPD è comune, eterogeneo e non necessariamente associato a anomalie di aggregazione ottica (PRP).²
- I test dovrebbero essere eseguiti entro 3 ore dal prelievo.
- Molti farmaci inibiscono la funzione piastrinica.^{3,4,5} A meno che lo scopo del test non sia quello di dimostrare l'inibizione indotta da farmaci, i pazienti devono essere liberi da farmaci per un periodo che vada da dieci (10) giorni a due (2) settimane prima del test.
- Ulteriori valutazioni cliniche e di laboratorio potrebbero essere necessarie per confermare la diagnosi.
- I globuli rossi nel PRP possono inibire la capacità dell'Aggregometro di rilevare i cambiamenti di intensità luminosa. Ciò potrebbe risultare in una sottostima del valore di percentuale di aggregazione piastrinica.⁵
- I lipidi nel PRP possono interferire con la lettura della trasmissione della luce e impedire la registrazione dell'aggregazione.
- La conta piastrinica inferiore a 50.000 pL/µL può causare problemi con l'impostazione della linea di base ottica, impedendo la registrazione dell'aggregazione.

14 – BIBLIOGRAFIA

1. White M MC, Jennings LK: Platelet Protocols: Research and Clinical Laboratory Procedures. Academic Press, 1999
2. Nieuwenhuis HK, Akkerman J-W N and Sixma JJ: Patients With a Prolonged Bleeding Time and Normal Aggregation Tests May Have Storage Pool Deficiency: Studies on One Hundred Six Patients. Blood 70-3 (620-623) 1987.
3. Kinlough – Rathbone RL: The effects of some other drugs on platelet function. Platelets, Drugs and Thrombosis. Edited by J. Hirsh, J.F. Cade, A.S. Gallus, et al. Basel, S. Karger, 1975, pp 124-131.
4. Packham MA, Mustard JF: Non-steroidal anti-inflammatory drugs, pyrimido-pyrimidine compounds and tricyclic compounds: effects on platelet function. Platelets, Drugs and Thrombosis. Edited by J. Hirsh, J.F. Cade, A.S. Gallus et al. Basel, S. Karger, 1975, pp 124-131.
5. CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute), Publication H58-A, Platelet Function Testing by Aggregometry; Approved Guideline; November 2008.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

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

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Istruzioni per l'uso (IFU) - Revisione 3	Aggiornamento del contenuto e del layout	2024-05

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

