

**PRODUKTBESCHREIBUNG**

ADP ist eine lyophilisierte Zubereitung von Adenosin-5'-Diphosphat. Die Arbeitskonzentration des rekonstituierten Reagenz beträgt 200 µM, siehe Tabelle 1.

**VERWENDUNGSZWECK**

Das ADP-Reagenz ist für den routinemäßigen Einsatz zum Auslösen einer konzentrationsabhängigen Aktivierungs- oder Aggregationsreaktion in einer plättchenreichen Plasmaprobe vorgesehen.

**PRINZIP**

Bei Zugabe zu plättchenreichem Plasma stimuliert ADP einen Formwandel sowie die Aggregation der Blutplättchen. Die durch exogenes ADP induzierte Aggregation wird als Primäraggregation bezeichnet und ist reversibel. Physiologische Blutplättchen reagieren weiter, indem sie endogenes ADP aus ihren Granula freisetzen. Die Freisetzung von endogenem ADP führt zu einer sekundären Aggregationswelle, welche irreversibel ist.<sup>8,10,11</sup>

**VORSICHTSMAßNAHMEN**

ADP ist ausschließlich für den professionellen Laborgebrauch bestimmt. ADP ist NUR zur Verwendung als REAGENZ ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK und NICHT ZUR INJEKTION ODER ORALEN EINNAHME vorgesehen.

**HINWEIS AN DEN ANWENDER:** Jedes schwerwiegende Vorkommnis, das im Zusammenhang mit diesem Produkt auftritt, ist dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedsstaates, in dem der Anwender und/oder Patient ansässig ist, zu melden.

**PACKUNGSINHALT UND LAGERUNGSHINWEIS**

3 x 0,5 ml ADP

Lagerung (vor Rekonstitution) bei Kühlschranktemperatur (2 - 8 °C)

**BENÖTIGTES MATERIAL (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)**

1. Aggregometer
2. Gereinigtes Wasser (destilliert, deionisiert oder Reagenzqualität), pH 5,3 – 7,2
3. Pipetten
4. Einweg Rührstäbchen
5. Aggregometerküvetten

**GERÄTE**

ADP kann in den meisten optischen Aggregometern wie hier beschrieben eingesetzt werden<sup>1</sup>. Die Betriebsanweisungen des Herstellers des verwendeten Aggregometers sind zu befolgen.

**PROBENENTNAHME UND PROBENVORBEREITUNG**

Befolgen Sie die Anweisungen der CLSI-Richtlinie H21 A2 (ehemals NCCLS) zur Probenentnahme und Probenvorbereitung<sup>6</sup>.

**1. PATIENTENVORBEREITUNG.**

Die Patienten sollten 7 - 10 Tage vor der Probenentnahme kein Aspirin oder Medikamente, die Aspirin enthalten, sowie andere Medikamente oder Nahrungsergänzungsmittel, die die Thrombozytenfunktion und Blutgerinnung beeinflussen, einnehmen. Patienten sollten darüber hinaus zum Zeitpunkt der Probenentnahme 12 Stunden nüchtern sein und in einem Zeitraum von 12 Stunden vor der Probenentnahme keine fettreichen Lebensmittel oder Milchprodukte zu sich genommen haben.<sup>6</sup>

**2. PROBENENTNAHME**

Die Blutprobenentnahme sollte mit größter Sorgfalt erfolgen, um Stase, Hämolyse, Kontamination mit Gewebeflüssigkeiten oder Kontakt mit Glasoberflächen zu vermeiden. Die Proben sollten bei Raumtemperatur gelagert werden.<sup>8</sup>

Folgende Faktoren und Umstände können zu falschen Testergebnissen führen und betroffene Proben sollten verworfen werden: Hämolyse, Kontamination mit Erythrozyten, Lipämie, Chylus, Ikterus, Thrombozytopenie (<75,000/mm<sup>3</sup>), Blutkoagel in der Probe sowie Hypofibrinogenämie. Die Wiederverwendung von Einwegartikeln kann zu fehlerhaften Testergebnissen führen.

Standardvorkehrungen sollten während der gesamten Probenentnahme, Probenvorbereitung und Probenverarbeitung zu Analyse Zwecken eingehalten werden.<sup>2,3</sup> Scharfe Gegenstände und biologische Abfälle sind in Übereinstimmung mit den Labrichtlinien zu entsorgen.

**Vakuum-Entnahme-Technik**

1. Verwenden Sie zur Venenpunktion eine Butterfly-Kanüle.
2. Entnehmen Sie das Blut unter Verwendung eines Kunststoffröhrchens mit Natriumcitrat 0,11 M (Citratabnehmeröhrchen)
3. Mischen Sie den Inhalt, indem Sie das Röhrchen 4 - 5 Mal vorsichtig schwenken.

**HINWEIS:** Wenn Sie Plastikvakuumröhrchen zur Probengewinnung verwenden, überprüfen Sie das Etikett genau und stellen Sie sicher, dass es sich um 3,2 % Natriumcitrat-Antikoagulans mit 0,11 M handelt. Farbige Deckel geben keinen Aufschluss über die Citratkonzentration. Befolgen Sie für die Probenentnahme die Anweisungen des Herstellers.

**Spritzen-Entnahme-Technik**

- a. Verwenden Sie zur Venenpunktion eine Butterfly-Kanüle.
- b. Entnehmen Sie mit einer Kunststoffspritze 9,0 ml Blut. Vermeiden sie zu starken Sog.
- c. Entfernen Sie die Nadel von der Spritze und überführen Sie das Blut unmittelbar und behutsam in ein Kunststoffröhrchen (Polypropylen4), in dem sich 1 ml Natriumcitrat 0,11 M (Antikoagulans) befindet. Das Mischungsverhältnis von Blut zu Antikoagulans sollte 9:1 betragen.<sup>5</sup>
- d. Schließen Sie das Röhrchen und mischen Sie den Inhalt, indem Sie es 4 - 5 Mal vorsichtig schwenken.
- e. Aufbewahrung in stehender Position und bei Raumtemperatur (15 - 28 °C).

**HINWEIS:** Wenn der Hämatokrit des Patienten < 30% oder > 55% liegt, muss das Mischungsverhältnis von Blut zu Antikoagulans angepasst werden.<sup>4</sup>

**HERSTELLUNG VON PLÄTTCHENREICHEM (PRP) UND PLÄTTCHENARMEN PLASMA (PAP)**

1. Zur Vorbereitung des plättchenreichen Plasmas zentrifugieren Sie das Citratblut für 10 Minuten bei Raumtemperatur (15 - 28°C) und 150 x g.
2. Überprüfen Sie das Plasma auf Vorhandensein von roten Blutkörperchen. Sollten sich noch Erythrozyten im Plasma befinden, zentrifugieren Sie es erneut für weitere 5 Minuten bei 150 x g.
3. Überführen Sie das plättchenreiche Plasma vorsichtig mit einer Kunststoffpipette, ohne den Leukozytenfilm (Buffy Coat) oder die Erythrozyten zu berühren, in ein mit PRP beschriftetes Kunststoffröhrchen. Verschließen Sie das Röhrchen und lassen Sie es bei Raumtemperatur stehen.
4. Zentrifugieren Sie das verbleibende Blut für ca. 20 Minuten bei 2500 x g, um das plättchenarme Plasma vorzubereiten. Überprüfen Sie das plättchenarme Plasma auf Hämolyse und überführen Sie es in ein mit PAP beschriftetes Kunststoffröhrchen.

**REKONSTITUTION**

**HINWEIS:** Reagenzien müssen vor der Rekonstitution auf Raumtemperatur gebracht werden (15 - 28°C). Vor der Verwendung muss kühl gelagertes ADP-Reagenz ebenfalls auf Raumtemperatur gebracht werden.

Zur Rekonstitution mischen Sie eine Flasche ADP mit 0,5 ml gereinigtem Wasser.

**LAGERUNG DES REAGENZ**

Das rekonstituierte ADP ist bei 2 - 8 °C im gut verschlossenen Originalbehälter für 30 Tage stabil.

**TESTDURCHFÜHRUNG**

Die Analyse muss innerhalb von 4 Stunden nach der Probenentnahme abgeschlossen sein.<sup>8</sup>

1. Positionieren Sie die für die Tests benötigte Anzahl an Küvetten in die Inkubationsplätze.
  - a. Legen Sie ein Rührstäbchen in jede Küvette.
2. Bereiten Sie den Aggregometer-Leerwert vor, indem Sie 0,250 ml plättchenarmes Plasma (PAP) in eine Küvette pipettieren (Leerprobe).
  - a. Fügen Sie KEIN Rührstäbchen hinzu.
3. Pipettieren Sie für jeden zu testenden Patienten jeweils 0,225 ml der Probe mit plättchenreichem Plasma (PRP) in eine vorgewärmte Küvette.
4. Stellen Sie die Küvette mit der PRP-Plasmaprobe in den Inkubationsplatz.
  - a. Drücken Sie die Timer-Taste und der Countdown beginnt.
  - b. Inkubieren Sie die Probe für die voreingestellte Zeit bei 37 °C.
5. Stellen Sie die 100 %-Grundlinie (Baseline) ein, indem Sie die Leerprobe in die Testkammer einsetzen.
  - a. Drücken Sie die Leerwert (Blank)-Taste.
6. Stellen Sie die Küvette mit der PRP-Plasmaprobe in die Testkammer.
  - a. Drücken Sie „Start“.
7. Geben Sie 0,025 ml des Reagenz direkt dem plättchenreichen Plasma hinzu.
  - a. Drücken Sie „Inject“.
  - l. Vermeiden Sie, dass das Reagenz an der Wand des Röhrchens hinterläuft.
8. Die Testung läuft nun für die voreingestellte Zeit (6 Min).
  - a. Die Testverfahren anderer Hersteller können zeitlich abweichen.

**BIPHASISCHE AGGREGATION**

Um zwei verschiedene Wellen oder eine biphasische ADP-Aggregation darzustellen, kann das plättchenreiche Plasma mit verschiedenen Verdünnungen des Reagenz getestet werden.<sup>10</sup>

Bereiten Sie die ADP-Verdünnungen folgendermaßen vor:

Nutzen Sie für die Verdünnungen stets 0,85 % oder 0,90 % Kochsalzlösung.

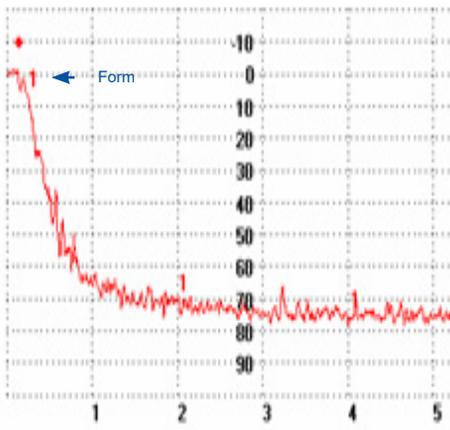
**Tabelle 1**

ADP	NaCl-Lsg.	Arbeitskonzentration	Endkonzentration
-----	-----	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

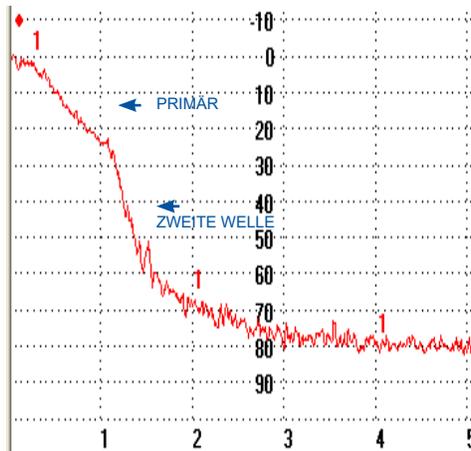
**QUALITÄTSSICHERUNG**

Laboratorien sollten allgemeingültige Verfahren zur Qualitätskontrolle durchführen, sofern keine Leistungstests zur Verfügung stehen.

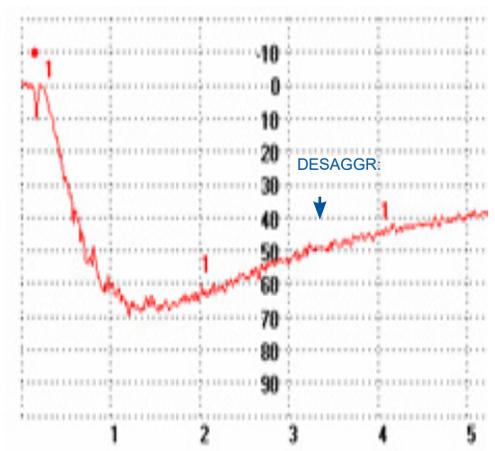
Um einen ordnungsgemäßen Testablauf und eine einwandfreie Reagenzqualität zu gewährleisten, sollte an Testtagen stets eine Kontrollprobe mitlaufen. Die Kontrollprobe sollte in derselben Weise wie die Testproben behandelt werden. Für qualitative Aggregationsstudien sollte für die Kontrollprobe frisches plättchenreiches Plasma von einem gesunden Spender (ohne vorhandene oder zurückliegende) Auffälligkeiten in der Thrombozytenfunktion verwendet werden. Der Spender sollte in einem Zeitraum von 10 Tagen vor der Probenentnahme keine Aspirin-haltigen Medikamente eingenommen haben.<sup>12,13,14</sup>



**Abb. 1 Normale Aggregation**  
(Endkonzentration 20 µM), siehe Tab. 1



**Abb. 2 Normale Aggregation**  
(Endkonzentration 4 µM), siehe Tab. 1



**Abb. 3 Abnormale Aggregation**  
(Endkonzentration 20 µM), siehe Tab. 1

**LEGENDE:** Ergebnisse der ADP-induzierten Thrombozytenaggregation in normalem und abnormalem plättchenreichem Plasma.

Die Markierung des Ausschlags zeigt die Zugabe des Reagenz an. Eine konzentrationsabhängige Desaggregation kann in einigen normalen thrombozytenreichen Plasmen (PRP) beobachtet werden. Dieses Phänomen wird in Abbildung 3 veranschaulicht.

**ERGEBNISSE**

Typische ADP-Aggregationsmuster sind in den Abbildungen 1 - 3 dargestellt.

Bei einer Endkonzentration von 20 µM induziert ADP in normalem plättchenreichem Plasma eine einzelne große Aggregationswelle. Bei einer Endkonzentration (bei Testung) von 2 µM bis 10 µM können zwei Aggregationswellen beobachtet werden (siehe Abbildung 2). Die Primärwelle ist die Reaktion auf das exogene ADP (Reagenz). Die Sekundärwelle ist auf die Freisetzung von endogenem ADP aus dem in den Blutplättchen enthaltenen, nicht-metabolischen Nukleotidpool (Speicherpool) zurückzuführen.<sup>9</sup>

**ERWARTUNGSWERTE**

Der Normalbereich der Erwartungswerte sollte für jedes Reagenz (bei unterschiedlichen Konzentrationen) von jedem Labor selbst erstellt werden, siehe Tabelle 2.<sup>4,8,9,10</sup>

**Tabelle 2**  
**TYPISCHE AGGREGATIONSWERTE BEI GESUNDEN SPENDERN @ 250,000 Thrombozyten/mm3**  
**[Gesamttaggregation nach 5 Minuten]**

	ADP	Arachidonsäure	Kollagen [Typ I]	Epinephrin
Endkonzentr.	20 µM	500µg/mL	0,19mg/mL	100 µM
Lag-Phase [Sek.]	<10	<=20	<60	0
Primäranstieg	38-70	>20	35-67	7-45
Gesamttaggregation (%@5min)	62-101	65-90	63-109	54-101
Biphasische Aggregation	Konzentrations-abhängig	NEIN	NEIN	JA
Andere	Formveränderungen können auftreten	Nicht alle gesunden Spender erfüllen die Anforderungen PLT CT~175k-300k	Nicht verdünnen	Nicht alle gesunden Spender erfüllen die Anforderungen

**EINSCHRÄNKUNGEN**

Zur korrekten Testdurchführung und -interpretation der Ergebnisse ist eine ausführliche Patientenanamnese erforderlich. Patienten sollten hinsichtlich der Einnahme von Medikamenten befragt werden, da eine Reihe an verschreibungspflichtigen und nicht verschreibungspflichtigen Medikamenten die Thrombozytenaggregation beeinflussen können. Stoffe wie Koffein, Tabak, Kräuterextrakte (oder Nahrungsergänzungsmittel) sowie Alkohol können die Testergebnisse zusätzlich beeinflussen.<sup>7,8</sup>

**AUSFÜHRUNGSMERKMALE**

Studien haben gezeigt, dass dieses Produkt bei Einhaltung der Lagerungs- und Verwendungshinweise und bei Verwendung vor Ende des Verfallsdatums einwandfreie Ergebnisse liefert.

**Linearität:**

Die durch übliche Agonisten induzierte Thrombozytenaggregation (ADP, Arachidonsäure, Kollagen und Epinephrin) stellt ein nicht-lineares Testsystem für folgende Parameter dar: LAG-Phase, Primäranstieg, Sekundäranstieg, biphasische Aggregation and Desaggregation. Die Nicht-Linearität ist auf verschiedene Ursachen zurückzuführen, darunter die Art der verwendeten Messgeräte sowie weitere, chemische Besonderheiten. Die Reaktionsrate oder Aktivität der Thrombozytenaggregation ermöglicht keine quantitativen Rückschlüsse auf die verwendeten Reagenzien oder ihre Konzentration.

**GENAUIGKEIT, PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT**

**Genauigkeit**

Im Zusammenhang mit der Thrombozytenaggregation ist die Genauigkeit ein relativer Parameter und abhängig vom verwendeten Testverfahren.

**Präzision und Wiederholbarkeit unter Vergleichsbedingungen**

Einschränkungen bei der Thrombozytenaggregation erschweren eine Vorhersage typischer Präzisions- oder Wiederholbarkeitswerte. Für die genannten Parameter gelten jedoch gewisse Erfahrungswerte (siehe unten). Normalbereiche und Referenzwerte sollten von jedem Labor selbst erstellt werden.

Variationskoeffizient Testdurchführungen:	unter ± 7,5%
Variationskoeffizient Geräte:	unter ± 15%
Abweichungen in den Reagenzien-Chargen:	unter ± 10,5%
Variationskoeffizient unterschiedlicher Labore (gleiches Testverfahren):	unter ± 12,5%

**LITERATUR**

1. Born, GVR and Cross, MJ. The Aggregation of Blood Platelets. J. Physiol [London] 168:178, 1963.
2. 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/nicodod/dhqp/pfd/isolation2007.pdf>
3. CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third edition. CLSI Document M29-A3. Wayne, PA : Clinical Laboratory Standards Institute. 2005
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 Triplet, DA, ed. Platelet Function: Laboratory Evaluation and Clinical Application. ASCP. Chicago. 1978. p 69.
6. 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
7. Weiss, HJ: Aspirin and platelets in drugs and hematologic reactions. Dimitov 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. Ann Clin Lab Sci, 2:63, 1972.
10. Owen, CA, Bowie, EJW, Thompson, JH: The diagnosis of bleeding disorder. Little, Brown and Co., 1975.
11. William, WJ, Beutler, E., Erslev, AJ, Rundles, RW: Hematology. McGraw-Hill, 1977.
12. CLSI. Platelet Function Testing by Aggregometry; Approved Guideline. CLSI Document H58-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008
13. JO Westgard, Basic QC Practices, 3rd ed. Madison, WI: Westgard QC, Inc., 2010
14. 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

Für eine vollständige Auflistung unserer Produkte besuchen Sie uns auf unserer Internetseite [www.biodatacorp.com](http://www.biodatacorp.com) oder kontaktieren Sie den Kundenservice (siehe unten).

DIE PRODUKTREIHE VON BIO/DATA CORPORATION UMFASST BESTIMMTE REAGENZIEN ZUR ALLGEMEINVERWENDUNG IM PROFESSIONELLEN LABORBETRIEB, DIE DAZU DIENEN, DIE THROMBOZYTENFUNKTION ZU AKTIVIEREN UND ZU ÜBERWACHEN. ES WIRD GEWÄHRLEISTET, DASS DIESES PRODUKT GEMÄSS SEINER BESCHRIFTUNG UND GEBRAUCHSANWEISUNG EINWANDFREI ANWENDBAR IST. BIO/DATA CORPORATION ÜBERNIMMT KEINE GARANTIE ODER GEWÄHRLEISTUNG, AUSDRÜCKLICH ODER STILLSCHWEIGEND, FÜR DEN EINSAZT, DIE EIGNUNG ODER VERKÄUFLICHKEIT FÜR EINEN ANDEREN ZWECK ALS DEN VORGESEHENEN. FÜR ETWAIGE SCHÄDEN AUFGRUND EINES UNSACHGEMÄSSEN GEBRAUCHS ÜBERNIMMT BIO/DATA CORPORATION KEINE HAFTUNG



155 Gibraltar Road, Horsham, PA 19044 U.S.A.  
(800) 257-3282 U.S.A. (215) 441-4000 Weltweit  
(215) 443-8820 Fax Weltweit  
E-Mail: [customer.service@biodatacorp.com](mailto:customer.service@biodatacorp.com)  
Internet: [www.biodatacorp.com](http://www.biodatacorp.com)  
Ein nach ISO 13485 Zertifiziertes Unternehmen



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

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

