

**ADP** (Adenosin-5-diphosphat)

Artikel-Nr.: 0203011

EDMA Nr.: 1302040100

IVD

## Verwendungszweck:

**ADP** ist für die Routine-Aggregationsmessung bestimmt, um Störungen der Thrombozytenfunktion zu erkennen und das therapeutische Medikamentenmonitoring durchzuführen.

## Produktbeschreibung:

**ADP** ist ein Lyophilisat von Adenosin-5-diphosphat. Das rekonstituierte Reagenz hat eine Konzentration von  $2 \times 10^{-4}$  M. (siehe Tabelle)

## Warnhinweis:

**ADP** ist nur für *in vitro* Diagnostik bestimmt und darf nicht injiziert werden.

## Prinzip:

Nach Zugabe zu plättchenreichem Citratplasma stimuliert **ADP** die Thrombozyten zur Aggregation. Diese durch **ADP** hervorgerufene Aggregation entspricht der primären Aggregation. Normale Thrombozyten reagieren durch Freisetzung von endogenem ADP weiter. Freigesetztes endogenes ADP bewirkt eine zweite Welle der Aggregation, die irreversibel ist.

## Packungsinhalt:

2 Flaschen mit jeweils 1,0 ml **ADP** Lyophilisat  
1 Gebrauchsanweisung

## Lagerung des Reagenz:

Lagerung des Lyophilisats in ungeöffneten Flaschen bei 2 - 8 °C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum.

## Rekonstitution des Reagenz:

Bringen Sie das **ADP** Reagenz auf Raumtemperatur 15 - 30°C. Lösen Sie den Inhalt einer Flasche **ADP** mit 1,0 ml bidestilliertem Wasser pH 6,8 - 7,2 auf. Legen Sie die Reagenzflasche für ca. 5 Minuten auf einen Rollen- oder Reagenzmischer um eine homogene Durchmischung zu erreichen.

## Haltbarkeit des rekonstituierten Reagenz:

Das rekonstituierte **ADP** Reagenz ist bei 2 - 8 °C in der gut verschlossenen Originalflasche 30 Tage stabil. Für längere Lagerung kann das rekonstituierte **ADP** Reagenz bei -20°C eingefroren werden.

## Konzentrationsdefinition ( $2 \times 10^{-4}$ M)

1 M Salzlösung entspricht 1 Molekulargewicht (427,2) in 1 Liter Wasser.  
 $2 \times 10^{-4}$  M = 85,44 µg/ml

## Geräte:

**ADP** kann in den meisten Aggregometer eingesetzt werden. Genaue Hinweise sind den jeweiligen Betriebsanleitungen der Geräte zu entnehmen. Wir empfehlen zur Messung der Thrombozytenfunktion die Aggregationsprofiler PAP 4 und PAP 8.

## Empfohlenes Material:

1. Aggregometer
2. Aggregometerküvetten
3. Rührstäbe
4. Bidestilliertes Wasser, pH 6,8 - 7,2
5. Pipetten
6. Zentrifuge

## Blutentnahme und Herstellung des Citratplasmas:

Blut zur Durchführung der Plättchenaggregation muss in Spritzen oder Citratabnehmeröhrchen aus Kunststoff entnommen werden. Citratblut oder plättchenreiches Plasma darf zu keiner Zeit mit Glas in Berührung kommen.

### **A. Blutentnahme**

Die Blutentnahme sollte mit größter Sorgfalt ausgeführt werden, um eine Hämolyse und eine Kontamination mit Gewebeflüssigkeit zu vermeiden.

### **1. Spritzen-Entnahme-Technik**

Entnehmen Sie 9,0 ml venöses Blut mit einer Kunststoffspritze. Vermeiden Sie zu starken Sog. Entfernen Sie die Nadel von der Spritze und überführen Sie das Blut in ein Kunststoffröhrchen, in dem sich 1 ml Natrium-Citrat 0,11 M befindet. Mischen Sie das Röhrchen schonend durch vorsichtiges Schwenken.

### **2. Vakuum-Entnahme-Technik**

Entnehmen Sie venöses Blut unter Verwendung von Citratabnehmeröhrchen, die Natrium-Citrat 0,11 M in einem Mischungsverhältnis von 1 : 9 enthalten. Mischen Sie das Röhrchen schonend durch vorsichtiges Schwenken.

### **B. Herstellung des plättchenreichen und plättchenarmen Plasma**

1. Zentrifugieren Sie das Citratblut für 10 Minuten bei Raumtemperatur und 150 x g.
2. Befinden sich noch Erythrozyten im plättchenreichem Plasma, zentrifugieren Sie das Plasma erneut für weitere 5 Minuten.
3. Überführen Sie das plättchenreiche Plasma mit einer Kunststoffpipette in ein mit PRP beschriftetes Kunststoffröhrchen (PRP – **p**latelet **r**ich **p**lasma). Verschließen Sie das Röhrchen luftdicht und lassen es für ca. 30 Minuten ruhig stehen, damit die Thrombozyten sich erholen können.
4. Zentrifugieren Sie das im Abnehmeröhrchen verbleibende Blut für ca. 20 Minuten bei Raumtemperatur und 1500 x g.
5. Überführen Sie das plättchenarme Plasma mit einer Kunststoffpipette in ein mit PPP beschriftetes Kunststoffröhrchen (PPP – **p**latelet **p**oor **p**lasma). Verschließen Sie das Röhrchen.
6. Bestimmen Sie die Thrombozytenzahl des PRP mit einem Zellzähler.

### Testdurchführung PAP 4 (PAP 8):

Die Analyse des plättchenreichen Plasmas muss spätestens 4 Std. nach der Blutentnahme abgeschlossen sein.

1. Stellen Sie einen Aggregometer Leerwert durch Pipettieren von 500 µl (250 µl) plättchenarmen Plasma in eine Küvette ohne Rührer her.
2. Pipettieren Sie 450 µl (225 µl) plättchenreiches Plasma in eine mit einem Rührer vorgelegte zweite Küvette. Inkubation für 3 Minuten bei 37°C.
3. Falls erforderlich, Einstellung der 0 und 100 % Grundlinie gemäß den Anweisungen des Geräteherstellers.
4. Geben Sie 50µl (25µl) **ADP** direkt in das plättchenreiche Plasma und nicht an die Küvettenwand. Die Endkonzentration von **ADP** im plättchenreichen Plasma beträgt  $2 \times 10^{-5}$  M.

### **Achtung: Mischen Sie vor jeder Reagenzentnahme die Reagenzflasche nochmals gut auf.**

5. Lassen Sie die Aggregationskurven für mindestens 6 Minuten aufzeichnen.

### Ergebnisse:

Typische **ADP** Aggregationsmuster sind in den Abbildungen 1 - 3 dargestellt. **ADP** mit einer Endkonzentration von  $2 \times 10^{-5}$  M bewirkt bei normalem plättchenreichen Plasma eine große einzelne Aggregationswelle. Bei einer Endkonzentration von  $2 \times 10^{-6}$  M bis  $4 \times 10^{-6}$  wird bei den meisten normalen plättchenreichen Plasmen eine Zweiphasenaggregation beobachtet.

### Zweiphasen-Aggregation:

Um beide unterschiedlichen Wellen, einer „Zweiphasen“- ADP Aggregation darzustellen, sollte das plättchenreiche Plasma mit verschiedenen Reagenzverdünnungen getestet werden.

### Herstellung der ADP-Verdünnungen

1. Beschriften Sie zwei Testküvetten mit  $4 \times 10^{-5}$  M und  $2 \times 10^{-5}$  M (siehe Tabelle).
2. Pipettieren Sie 0,4 ml physiologische Kochsalzlösung (ohne Konservierungsmittel) in die mit  $4 \times 10^{-5}$  M beschriftete Küvette (siehe Tabelle).
3. Pipettieren Sie 0,2 ml physiologische Kochsalzlösung (ohne Konservierungsmittel) in die mit  $2 \times 10^{-5}$  M beschriftete Küvette (siehe Tabelle).
4. Pipettieren Sie 0,1 ml rekonstituiertes **ADP** in die mit  $4 \times 10^{-5}$  M beschriftete Küvette.

5. Überführen Sie 0,2 ml aus der  $4 \times 10^{-5}$  M Küvette in die mit  $2 \times 10^{-5}$  M beschriftete Küvette.  
 6. Wiederholen Sie die Testdurchführung wie oben beschrieben, für jede dieser Verdünnungen. Die **ADP** Endkonzentrationen im plättchenreichen Plasma sind in der folgenden Tabelle aufgelistet:

	Arbeitskonzentration	Endkonzentration
Rekonstituiert	$2 \times 10^{-4}$ M	—
Normal	$2 \times 10^{-4}$ M	$2 \times 10^{-5}$ M
Zweiphasen	$2 \times 10^{-5}$ M bis $4 \times 10^{-5}$ M	$2 \times 10^{-6}$ M bis $4 \times 10^{-6}$ M

**Erwartungswerte (Normalwerte):**

Der Normalbereich für die **ADP** Aggregation sollte von jedem Labor selbst erstellt werden. Studien haben gezeigt, dass **ADP**, mit einer Endkonzentration von  $2 \times 10^{-5}$  M, im normalen plättchenreichen Plasma eine Endaggregation von 60 - 90 % bewirkt. Eine abnormale **ADP** Aggregation in Anwesenheit von Acetylsalicylsäure wird bei bivalenten Thrombozytopathien, bei defizienter Vorratsfreigabe, bei A-Fibrinogenämie und beim Glanzmann-Syndrom beobachtet.

**Hinweis: Das Vorhandensein von Erythrozyten im plättchenreichem Plasma führt zu einer fälschlich verminderten Gesamtaggregation. Das Vorhandensein von Thrombozyten im plättchenarmen Plasma führt zu einer fälschlich erhöhten Gesamtaggregation.**

**Einschränkungen:**

Falsche Ergebnisse werden beobachtet, wenn die Thrombozytenzahl im plättchenreichen Plasma unter **75.000 / µl** liegt. Plättchenreiches Plasma, das nicht mindestens 30 Minuten vor der Testdurchführung bei Raumtemperatur aufbewahrt wurde, kann abnormale Ergebnisse liefern.

**Qualitätskontrolle:**

Um eine täglich gleich bleibende Reagenzqualität zu gewährleisten, sollte eine Kontrollprobe wie eine Patientenprobe mitgeführt werden. Für die Kontrollprobe sollte frisches plättchenreiches Plasma von einem gesunden Spender, der während der letzten 10 Tage weder Acetylsalicylsäure (Aspirin) noch Aspirinhaltige Präparate eingenommen hat, eingesetzt werden.

**Ausführungsmerkmale:**

Langzeitversuche haben gezeigt, dass **ADP** bei richtiger Lagerung einwandfreie Ergebnisse liefert.

**Qualitätssicherung:**

Dieses Produkt wird nach den Regeln der GMP mit dem Qualitätsmanagement **K510 / DIN EN ISO 9001** und **DIN EN ISO 13485** hergestellt. **möLab** überwacht mit eigenem Qualitätsmanagement **DIN EN ISO 9001** und **DIN EN ISO 13485** dieses Produkt. Es unterliegt dem **EDMA** Klassifikations- und Überwachungssystem und wird gemäß der Richtlinie **98/79/EG** in Verkehr gebracht.

**Literatur:**

- Williams WJ, Beutler E, Erslev AJ, Rundles RW: Hematology. McGraw Hill 1977
- Owen CA, Bowie EJW, Thompson JH: The Diagnosis of Bleeding Disorders. Little, Brown and Co., 1975
- Triplet 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.

**Legende:**

Resultate der ADP induzierten Aggregation im normalen und abnormalen plättchenreichen Plasma. Der Kurvenpeak bei 0 % kennzeichnet die Reagenzzugabe. Eine Auflösung der Aggregation wird bei einigen abnormalen plättchenreichen Plasmen beobachtet. Dieses Phänomen ist in Bild 3 dargestellt.

**Bestellhinweis**

**ADP** 2 x 1,0 ml

**Bestell-Nr.**

**0203011**

**möLab GmbH**  
 Dietrich-Bonhoeffer-Straße 9  
 40764 Langenfeld  
 Tel.: 02173 / 26 99 00  
 Fax: 02173 / 26 99 029  
 E-mail: [Info@moelab.de](mailto:Info@moelab.de)  
 Internet: [www.moelab.de](http://www.moelab.de)

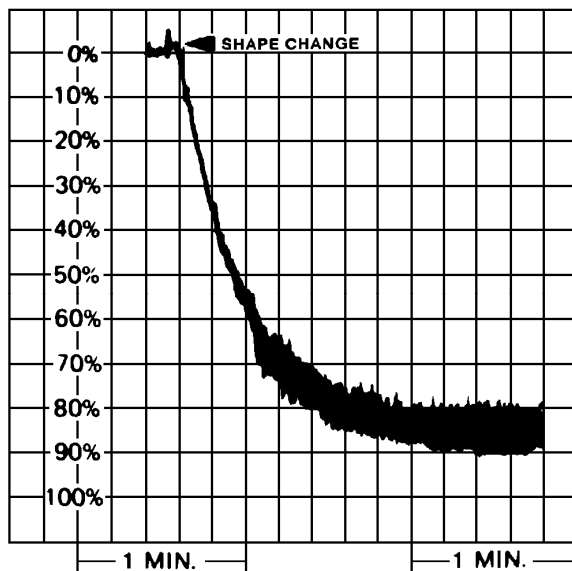


Bild 1: normale Aggregation Konzentration:  $2 \times 10^{-5}$  M

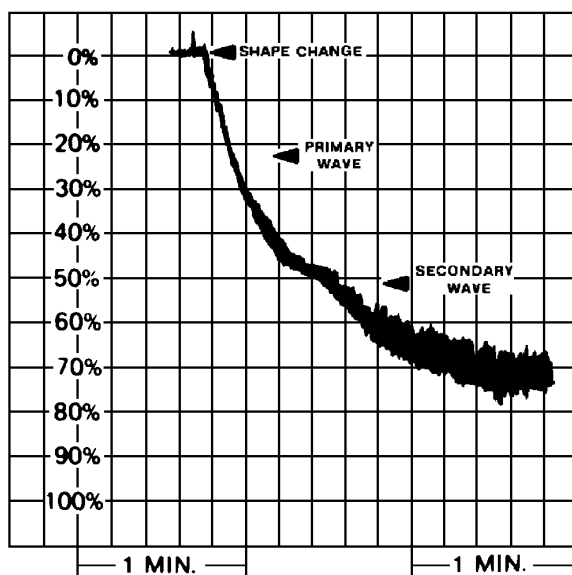


Bild 2: normale Aggregation Konzentration:  $2 \times 10^{-6}$  M

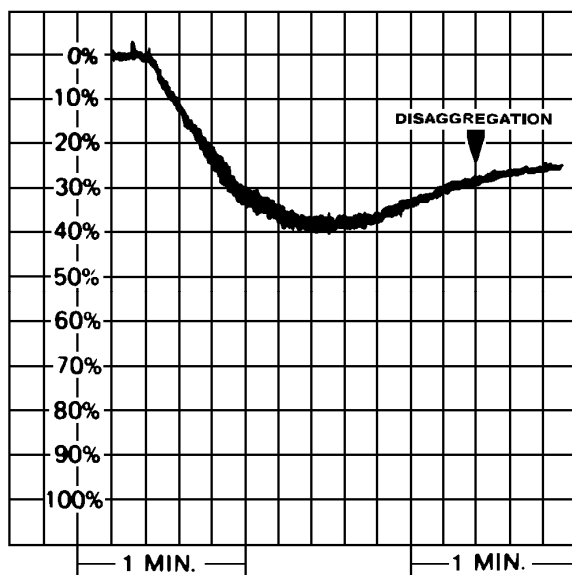


Bild 3: abnormale Aggregation Konzentration:  $2 \times 10^{-5}$  M



Gebrauchsanweisung beachten!