

**DESCRIÇÃO DO PRODUTO**

O AGG/PAK™ 5 é um kit combinado de reagentes de agregação plaquetária que contém os reagentes ADP (adenosina-5'- difosfato), ácido araquidônico (araquidonato de sódio), colagénio (pele de vítelo solúvel, tipo 1), epinefrina (adrenalina) e ristocetina (sulfato de ristocetina A).

O reagente ADP é uma preparação liofilizada de adenosina-5'-difosfato. É um componente essencial na agregação plaquetária. A ADP atua como um agonista ou ativador, ligando-se aos receptores plaquetários e desencadeando uma série de eventos bioquímicos que conduzem à ativação e a agregação plaquetárias.

O reagente ácido araquidônico é uma preparação liofilizada do sal de sódio do ácido araquidônico. É um ácido gordo essencial presente nos grânulos das plaquetas e na membrana das plaquetas. É processado em várias etapas e convertido em tromboxano A2 (TX A2). O reagente ácido araquidônico induz a ativação e agregação plaquetárias. O reagente colagénio é uma preparação liofilizada de pele de vítelo solúvel (Tipo 1). O reagente colagénio induz a alteração da forma das plaquetas e ativa-as. As plaquetas ativadas libertam então compostos trombóticos dos seus grânulos, que servem para recrutar mais plaquetas para o local da lesão.

O reagente epinefrina é uma preparação estabilizada e liofilizada de L-Adrenalina que ativa o receptor adrenérgico GP IIa, causando agregação plaquetária sem alteração da forma. Embora possa aumentar a resposta das plaquetas a outros agonistas, o reagente epinefrina é um agonista fraco (reversível). Pode ou não provocar uma reação em pessoas saudáveis.

O reagente ristocetina é uma preparação liofilizada de sulfato de ristocetina A, um glicopeptídeo de estrutura química desconhecida que foi isolado da *Nocardia lurida*. A ristocetina contém mais de 90% de ristocetina A.

O kit combinado AGG/PAK 5 foi otimizado para utilização com agregómetros de transmissão de luz. Também pode ser utilizado com outros analisadores turbidométricos ou de impedância e citómetros de fluxo.

**FINALIDADE PREVISTA**

O Kit combinado AGG/PAK 5 é um kit prático que contém uma combinação de reagentes de agregação plaquetária de rotina utilizados para provocar respostas de agregação e/ou aglutinação no plasma rico em plaquetas (PRP). O Kit inclui ADP, ácido araquidônico, colagénio, epinefrina e ristocetina.

**DETEÇÃO / MEDIÇÃO**

Os reagentes do kit combinado AGG/PAK 5 são utilizados, em conjunto com outros diluentes e amostras de controlo, para medir as alterações da transmissão da luz numa amostra de teste de plasma rico em plaquetas (PRP).

**FUNÇÃO DO PRODUTO**

O Kit combinado AGG/PAK 5 fornece informações sobre vários aspetos da função/qualidade das plaquetas. Este Kit ajuda a aceder a várias doenças plaquetárias adquiridas e hereditárias ou à eficácia das terapias antiplaquetárias.

**INFORMAÇÕES ESPECÍFICAS FORNECIDAS**

Os reagentes do Kit combinado AGG/PAK 5 não se destinam à deteção de uma doença, patologia ou fator de risco específico.

O reagente ADP desempenha um papel fundamental na ativação e agregação plaquetárias. Quando o ADP se liga a receptores específicos na superfície das plaquetas, como o P2Y1 e o P2Y12, inicia cascatas de sinalização intracelular. Esta ativação induz alterações rápidas na forma das plaquetas e a libertação de iões de cálcio através dos receptores P2Y1, enquanto a ativação P2Y12 sustenta a resposta, assegurando uma agregação estável. O reagente ADP é utilizado para estimular a ativação e a agregação plaquetárias precisamente através da interação com estes receptores ADP. Ao observar a agregação plaquetária em resposta ao ADP, os clínicos podem avaliar a função/qualidade plaquetária relacionada com anomalias na ativação e agregação plaquetárias. Este processo é fundamental para compreender a dinâmica da formação de coágulos e avaliar a eficácia das terapias antiplaquetárias na prevenção de eventos trombóticos. A ADP estimula a libertação de mediadores secundários como o tromboxano A2 (TX A2), amplificando ainda mais a ativação e a agregação plaquetárias.

O reagente ácido araquidônico inicia a ativação e a agregação plaquetárias através da via do ácido araquidônico. Ao ligar-se aos receptores de superfície das plaquetas, o ácido araquidônico sofre uma conversão enzimática em tromboxano A2 (TX A2), facilitando as cascatas de sinalização intracelular. Isto provoca alterações rápidas na forma das plaquetas e na libertação de iões de cálcio, que são fundamentais para uma agregação estável. A observação da agregação plaquetária em resposta ao reagente ácido araquidônico permite aos médicos avaliar a função/qualidade das plaquetas, as anomalias e as terapias antiplaquetárias. A indução de mediadores secundários como o tromboxano A2 (TX A2) pelo reagente ácido araquidônico amplifica a ativação plaquetária.

O reagente colagénio inicia a ativação e a agregação plaquetárias. Ao ligar-se aos receptores de glicoproteínas na superfície das plaquetas, particularmente à glicoproteína VI (GP VI), o colagénio desencadeia cascatas de sinalização intracelular. Isto desencadeia alterações rápidas na forma das plaquetas e a libertação de iões de cálcio através dos receptores GP VI, com uma ativação sustentada facilitada pela integrina  $\alpha 2\beta 1$ , assegurando uma agregação estável. Utilizado para estimular com precisão a ativação e agregação plaquetárias, o reagente colagénio interage com estes receptores, proporcionando um meio para os médicos avaliarem a função/qualidade das plaquetas e os distúrbios associados às anomalias de ativação plaquetária induzidas pelo colagénio. Este processo é essencial para compreender a dinâmica da formação de coágulos e avaliar a eficácia das terapias antiplaquetárias que inibem os eventos trombóticos. O colagénio estimula a libertação de mediadores secundários, amplificando ainda mais a ativação e a agregação plaquetárias.

O reagente epinefrina desempenha um papel fundamental na ativação e agregação plaquetárias. Ao ligar-se a receptores específicos na superfície das plaquetas, particularmente aos receptores adrenérgicos  $\alpha 2$ , a epinefrina inicia cascatas de sinalização intracelular. Esta cascata induz alterações rápidas na forma das plaquetas e desencadeia a libertação de iões de cálcio, mediada essencialmente pela ativação do receptor adrenérgico  $\alpha 2$ . A resposta sustentada, essencial para uma agregação estável, é facilitada pela ativação do receptor adrenérgico  $\alpha 2$ . O reagente epinefrina é decisivo para estimular com precisão a ativação e a agregação plaquetárias através da interação com estes receptores adrenérgicos. A observação da agregação plaquetária em resposta ao reagente epinefrina permite aos médicos avaliar a função/qualidade das plaquetas e os distúrbios associados a anomalias na ativação e agregação plaquetárias. Este processo é fundamental para compreender a dinâmica da formação de coágulos e avaliar a eficácia das terapias antiplaquetárias na prevenção de eventos trombóticos. A epinefrina estimula a libertação de mediadores secundários, amplificando ainda mais a ativação e a agregação plaquetárias.

O reagente ristocetina é um reagente plaquetário diferenciado utilizado no domínio dos testes de agregação plaquetária induzida por ristocetina (RIPA). A ristocetina interage com o Fator de von Willebrand (vWF), uma proteína plasmática essencial envolvida nos processos de adesão e agregação plaquetária. A ristocetina provoca uma alteração conformacional no vWF, expondo locais de ligação à glicoproteína Ib plaquetária (GP Ib). Consequentemente, os receptores GP Ib das plaquetas ligam-se ao vWF, iniciando a adesão das plaquetas. Esta adesão inicial prepara as plaquetas para a agregação. Em casos de ausência do Fator de von Willebrand (vWF) ou de perturbações relacionadas com a função plaquetária, a agregação plaquetária induzida por ristocetina ocorre de forma limitada devido à incapacidade das plaquetas se agregarem eficazmente. Consequentemente, o teste RIPA fornece informações valiosas sobre a função/qualidade das plaquetas e a atividade do vWF, ajudando assim na caracterização da doença de von Willebrand (vWD) e dos distúrbios hemorrágicos associados. Este método de teste desempenha um papel vital na avaliação exata da função/qualidade das plaquetas.

**AUTOMATIZAÇÃO**

Os reagentes do Kit combinado AGG/PAK 5 destinam-se a ser utilizados em agregómetros de plaquetas de transmissão de luz semiautomáticos e automáticos. Estes reagentes também podem ser utilizados com outros analisadores turbidométricos ou de impedância e citómetros de fluxo.

**QUALIDADE / QUANTIDADE**

Não existem padrões primários para os reagentes do Kit combinado AGG/PAK 5. As respostas a estes reagentes dependem da concentração. Deve testar-se um dador normal conhecido com cada novo lote de reagentes do Kit combinado AGG/PAK 5. As organizações de normalização classificam a agregação plaquetária induzida por ADP, ácido araquidônico, colagénio, epinefrina e ristocetina como semiquantitativa ou semiquantitativa.

O Kit combinado AGG/PAK 5 vem embalado em 1 frasco de 0,5 ml de reagente ADP, 1 frasco de 0,5 ml de reagente ácido araquidônico, 1 frasco de 0,5 ml de reagente colagénio, 1 frasco de 0,5 ml de reagente epinefrina e 1 frasco de 0,5 ml de reagente ristocetina. A concentração de trabalho de ADP é de 200  $\mu\text{M}$ , a de ácido araquidônico é de 5 mg / mL, a de colagénio é de 1,9 mg / mL, a de epinefrina é de 100  $\mu\text{M}$  e a de ristocetina é de 15 mg / mL.

**TIPO DE AMOSTRA**

A amostra de teste é preparada a partir de sangue total com anticoagulante e citrato de sódio. A amostra de teste é o plasma rico em plaquetas (PRP). O branco do teste é o plasma pobre em plaquetas (PPP).

Os reagentes ADP, ácido Araquidônico, colagénio, epinefrina e ristocetina podem ser utilizados com plasma rico em plaquetas (PRP) humano ou animal para testes de agregação plaquetária de rotina. Os resultados baseiam-se na concentração, extensão e taxa de agregação em comparação com um branco de plasma pobre em plaquetas (PPP).

## POPULAÇÃO DE TESTE

- Humana: Para o ADP, o ácido araquidônico e o colagénio, a prevalência de perturbações plaquetárias é global e pode variar consoante a raça, a etnia, o tipo de sangue e outros fatores. A incidência é variável. No caso da epinefrina, a prevalência de agregação anormal do reagente epinefrina é de 16 a 20% em pessoas saudáveis. É global e pode variar consoante a raça, a etnia, o tipo de sangue e outros fatores. A incidência é variável. No caso da ristocetina, a prevalência dos distúrbios plaquetários de von Willebrand é global e pode variar consoante a raça, a etnia, o tipo de sangue e outros fatores. A incidência é de ~2%.
- Medicamentos antiplaquetários: No caso da ADP, a prevalência e a incidência são variáveis. 4% da população com mais de 40 anos toma medicamentos antiplaquetários, com exceção da Aspirina. 33% (Para adultos > 40); 16% terapia antiplaquetária dupla (DAPT); e 8% terapia antiplaquetária (APT). No caso do ácido araquidônico, a prevalência da agregação anormal do reagente ácido araquidônico, dependente da estimativa de utilização de aspirina, atinge até um terço da população. Tanto o clopidogrel como a combinação de clopidogrel com aspirina podem influenciar a agregação plaquetária induzida pelo ácido araquidônico. A incidência é variável. No caso do colagénio, a prevalência de agregação anormal do reagente colagénio, dependente da estimativa de utilização de aspirina, atinge até um terço da população. Tanto o clopidogrel como a combinação de clopidogrel com aspirina podem influenciar a agregação plaquetária induzida pelo colagénio. A incidência é variável. No caso da epinefrina, a prevalência e a incidência são variáveis. As taxas de resposta variáveis à epinefrina foram registadas em diferentes populações. Estudos demonstraram que a terapia antiplaquetária dupla e a aspirina podem influenciar a agregação plaquetária induzida pela epinefrina. Relativamente à ristocetina, a prevalência e a incidência são variáveis. Sabe-se que os inibidores da BTK e a vancomicina diminuem os resultados da RIPA. Um anticorpo monoclonal (moAB) Ib antiglicoproteína plaquetária (GP) recentemente desenvolvido, denominado OP-FI, juntamente com um MoAB anti-GBIb cuidadosamente estudado, conhecido como AP-1, eliminando completamente a aglutinação plaquetária induzida pela ristocetina.
- Distúrbios hereditários das plaquetas: No caso da ADP, a prevalência e a incidência são variáveis. Existem 60 tipos; 75 genes conhecidos; frequência 5/1000; estimativa de 1-2% da população. No caso do ácido araquidônico e do colagénio, a prevalência e a incidência são variáveis. Existem 60 tipos de doenças hereditárias das plaquetas que afetam aproximadamente 0,3% da população. Alguns defeitos hereditários das plaquetas, como a trombostenia de Glanzmann e a doença do pool de armazenamento, não apresentam qualquer resposta ao ácido araquidônico ou aos reagentes colagénio. No caso da epinefrina, a prevalência de uma resposta anormal à epinefrina nas pessoas varia consoante o defeito. A incidência é variável. Relativamente à ristocetina, a prevalência e a incidência são variáveis. As plaquetas derivadas de indivíduos com Síndrome de Bernard-Soulier não se aglutinam quando expostas à ristocetina. Em contraste com a doença de von Willebrand, os níveis de atividade do fator de von Willebrand e do antigénio de von Willebrand permanecem dentro dos valores normais.
- Animal: No caso da ADP, do ácido araquidônico, do colagénio, da epinefrina e da ristocetina, a prevalência e a incidência dependem da espécie.

## DIAGNÓSTICO IN VITRO

Dentro do Kit Combinado AGG/PAK 5 encontram-se reagentes de diagnóstico in vitro destinado apenas a utilização laboratorial profissional. Estes reagentes não se destinam a ser injetados ou ingeridos.

## UTILIZADOR PREVISTO

Os reagentes do Kit combinado AGG/PAK 5 destinam-se a utilização laboratorial profissional por pessoal qualificado.

## PRINCÍPIO DE TESTE

Quando introduzidos numa amostra de teste de plasma rico em plaquetas (PRP) agitada a 37°C, os reagentes exógenos, tais como a ADP, o ácido araquidônico, o colagénio, a epinefrina e a ristocetina, estimulam as plaquetas, levando-as a mudar de forma e a agregar-se. Esta agregação inicial é designada por agregação primária e é reversível. No entanto, as plaquetas normais possuem a capacidade de libertar ADP endógena dos seus grânulos, levando a uma onda secundária e irreversível de agregação. O agregómetro de plaquetas de transmissão de luz capta eficazmente estas alterações, apresentando parâmetros como a fase de latência, a alteração da forma e a taxa e extensão da agregação durante um período de teste pré-determinado.

Para a epinefrina, pode ser demonstrada hiper-reatividade. Em caso afirmativo, o procedimento de plaquetas aderentes deve ser seguido para confirmação. Nem todas as pessoas saudáveis responderão ao reagente epinefrina.

## CALIBRADORES E CONTROLOS

Não são necessários calibradores ou controlos para o kit combinado AGG/PAK 5. Deve ser testada uma amostra de um dador conhecido com cada lote de reagentes ADP, ácido araquidônico, colagénio, epinefrina e ristocetina. As respostas dependem da concentração.

## LIMITAÇÕES DOS REAGENTES

Os reagentes do kit combinado AGG/PAK 5 irão funcionar conforme especificado se as instruções de utilização forem seguidas. Os reagentes devem ser utilizados antes do prazo de validade impresso em cada frasco.

## REAGENTES FORNECIDOS

<b>REF</b>	107650:	1 frasco de reagente ADP (0,5 mL)
		1 frasco de reagente ácido araquidônico (0,5 mL)
		1 frasco de reagente colagénio (0,5 mL)
		1 frasco de reagente epinefrina (0,5 mL)
		1 frasco de reagente ristocetina (0,5 mL)

## REAGENTES E MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

- Água purificada (destilada, desionizada, grau de reagente), pH 5,3 - 7,2 para reconstituição
- Solução salina tris-tamponada (TBS) ou solução salina fisiológica a 0,85% para diluições



**NOTA: A UTILIZAÇÃO DE SORO FISIOLÓGICO DE BANCO DE SANGUE PROVOCA RESULTADOS INCORRETOS.**

## MATERIAIS E ACESSÓRIOS

- Agregómetro de plaquetas (seguir as instruções de utilização do fabricante)
- Centrífugadora
- Pipeta eletrónica
- Pontas de pipeta ②
- Tubos de ensaio para agregómetros (siliconizados) ②
- Barras de agitação para agregómetros (revestidas a plástico) ②
- Tubos de amostra de plástico e tampas (para diluições) ②



**NOTA: OS ARTIGOS DESCARTÁVEIS, TAIS COMO TUBOS DE ENSAIO, BARRAS DE AGITAÇÃO, TUBOS DE AMOSTRA E TAMPAS, DESTINAM-SE A UMA UTILIZAÇÃO ÚNICA**

## ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE



Os reagentes de ADP, ácido araquidônico, colagénio, epinefrina e ristocetina não necessitam de proteção contra a temperatura durante o transporte.



Após a receção, armazenar os reagentes ADP, ácido araquidônico, colagénio, epinefrina e ristocetina a 2 – 8° C na sua embalagem original.



Os reagentes de ADP, ácido araquidônico, colagénio e epinefrina reconstituídos são estáveis durante 30 dias quando armazenados nas suas embalagens originais, bem fechadas, a 2 – 8° C.



O reagente ristocetina reconstituído é estável durante 7 dias, quando armazenado na sua embalagem original, bem fechada, a 2 – 8° C.

## ESTERILIDADE



Os reagentes do kit combinado AGG/PAK 5 não são produtos estéreis. Tenha cuidado para não contaminar o produto quando pipetar os reagentes reconstituídos ou alíquotados.

## AVISOS E PRECAUÇÕES



Utilizar os EPI de acordo com as políticas e práticas laboratoriais ao manusear os reagentes ADP, ácido araquidônico, colagénio, epinefrina e ristocetina.



Seguir as precauções padrão na preparação de espécimes e amostras.



Manusear os reagentes ADP, ácido araquidônico, colagénio, epinefrina e ristocetina com cuidado para evitar a contaminação durante a utilização.



Evitar a evaporação do reagente limitando as superfícies de troca ar – líquido.



Para garantir resultados ótimos deve ser analisada consecutivamente e sem interrupção, uma amostra de controlo de um dador conhecido.



Para preservar a estabilidade dos reagentes, armazene os restantes reagentes nos seus recipientes originais, bem fechados.



Eliminar os materiais pós-teste de acordo com os regulamentos aplicáveis e as políticas do laboratório.



**NOTA PARA O UTILIZADOR: QUALQUER INCIDENTE GRAVE QUE OCORRA EM RELAÇÃO A ESTE PRODUTO DEVE SER COMUNICADO AO FABRICANTE E À AUTORIDADE COMPETENTE DO ESTADO-MEMBRO EM QUE O UTILIZADOR E/OU DOENTE ESTÁ ESTABELECIDO.**

## ESTATUTO DE MATERIAL INFECIOSO

Os reagentes do kit combinado AGG/PAK 5 não contêm quaisquer materiais infecciosos. Os espécimes e as amostras devem ser considerados infecciosos e devem ser manuseados como se fossem suscetíveis de transmitir uma infeção. Após os ensaios, os espécimes e as amostras devem ser eliminados em conformidade com os regulamentos e as políticas laboratoriais aplicáveis.

## INSTALAÇÕES ESPECIAIS

Os reagentes do kit combinado AGG/PAK 5 não exigem a utilização de instalações especiais num ambiente laboratorial.

## PREPARAÇÃO PARA USO



**NOTA:** OS REAGENTES DO KIT COMBINADO AGG/PAK 5 DEVEM ESTAR À TEMPERATURA AMBIENTE (15 – 28° C) ANTES DA RECONSTITUIÇÃO. OS REAGENTES ARMAZENADOS DEVEM SER LEVADOS À TEMPERATURA AMBIENTE ANTES DE SEREM UTILIZADOS.

## RECONSTITUIÇÃO

A concentração de trabalho da ADP reconstituída é de 200 µM, a do reagente ácido araquidónico é de 5 mg / mL, a do colagénio é de 1,9 mg / mL, a da epinefrina é de 100 µM e a da ristocetina é de 15 mg / mL. Todas as concentrações finais baseiam-se na adição de 25 µL de reagentes ADP, ácido araquidónico, colagénio, epinefrina ou ristocetina a uma amostra de teste de 225 µL de plasma rico em plaquetas (PRP).

- Reconstituir os reagentes de ADP, ácido araquidónico, colagénio, epinefrina e ristocetina com 0,5 mL de água purificada
- Inverter cuidadosamente para misturar



**NOTA:** OS REAGENTES DE ÁCIDO ARAQUIDÓNICO E EPINEFRINA PODEM PARECER TURVOS, MAS IRÃO TORNAR-SE LÍMPIDOS A AMARELO-PÁLIDO EM POUCOS MINUTOS.

- Os reagentes reconstituídos ADP, ácido araquidónico, colagénio, epinefrina e ristocetina devem ser mantidos tapados antes da utilização

## DILUIÇÕES

### Para AGREGAÇÃO BIFÁSICA

Para demonstrar a agregação bifásica da ADP, o plasma rico em plaquetas (PRP) pode ser testado com várias diluições do reagente. Podem ser realizadas outras diluições para determinar a concentração limite. A concentração-limite é a concentração mais baixa que provoca uma resposta de agregação primária.



**NOTA:** PARA DILUIÇÕES, UTILIZAR SOLUÇÃO SALINA TRIS-TAMPONADA (TBS) OU SOLUÇÃO SALINA FISIOLÓGICA A 0,85%.

TABELA 1: GRÁFICO DE DILUIÇÃO DE ADP

REAGENTE ADP	SOLUÇÃO SALINA TRIS-TAMPONADA	CONCENTRAÇÃO DE TRABALHO	CONCENTRAÇÃO FINAL
—	—	200 µM	20 µM
125 µM	125 µM	100 µM	10 µM
62 µM	188 µM	50 µM	5 µM
25 µM	225 µM	20 µM	2 µM

### Para AGREGAÇÃO PLAQUETÁRIA INDUZIDA POR RISTOCETINA (RIPA)

A agregação plaquetária induzida por ristocetina (RIPA) é realizada utilizando uma dose elevada e uma dose baixa de concentrações do reagente ristocetina. O plasma rico em plaquetas (PRP) pode ser testado com várias diluições do reagente. A dose elevada é tipicamente 1,2 ou 1,0 mg / mL de ristocetina. A dose baixa é de 0,6 ou 0,5 mg / mL.



**NOTA:** PARA DILUIÇÕES, UTILIZAR SOLUÇÃO SALINA TRIS-TAMPONADA (TBS) OU SOLUÇÃO SALINA FISIOLÓGICA A 0,85%.

TABELA 2: DIAGRAMA DE DILUIÇÃO DA RISTOCETINA

REAGENTE RISTOCETINA	DILUENTE	CONCENTRAÇÃO DE TRABALHO	CONCENTRAÇÃO FINAL
15 mg	0.50 µL	15 mg / mL	1.5 mg / mL
15 mg	0.63 µL	12 mg / mL	1.2 mg / mL
15 mg	0.75 µL	10 mg / mL	1.0 mg / mL
15 mg	1.50 µL	5 mg / mL	0.5 mg / mL

## PREPARAÇÃO DO PACIENTE

Os doentes devem abster-se de tomar aspirina ou de utilizar medicamentos e produtos que contenham aspirina, bem como outros medicamentos, suplementos ou bebidas energéticas que se sabe que afetam a função plaquetária durante 7 a 10 dias antes da colheita da amostra. Deve evitar-se a ingestão de alimentos gordos, produtos lácteos e fumar durante 12 horas antes da colheita de amostras.



**NOTA:** É NECESSÁRIO CONSULTAR UM MÉDICO ANTES DE REALIZAR QUALQUER ALTERAÇÃO DA MEDICAÇÃO.

## COLHEITA DE AMOSTRAS

A amostra deve ser colhida com cuidado para evitar estase, hemólise, contaminação por fluido tecidual e exposição ao vidro. As amostras devem ser mantidas à temperatura ambiente. Solte o torniquete logo que o sangue comece a fluir para o dispositivo de colheita.



**PRATICAR PRECAUÇÕES PADRÃO DURANTE A RECOLHA DE AMOSTRAS, PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS E PROCESSOS ANALÍTICOS. ELIMINAR O MATERIAL CORTANTE E OS RESÍDUOS COM RISCO BIOLÓGICO DE ACORDO COM OS REGULAMENTOS APLICÁVEIS E AS POLÍTICAS DO LABORATÓRIO.**

### Técnica de colheita de amostras evacuadas

- Utilize um conjunto de colheita com agulha em borboleta de 21 g ou 23 g para colheita de amostras
- Colha sangue em tubos de plástico de colheita de amostras evacuados que contêm anticoagulante citrato de sódio a 3,2% (0,11 M)
- Misture cuidadosamente o tubo de colheita de amostras 4 a 5 vezes por inversão
- Escreva a hora da colheita na etiqueta da amostra
- Mantenha os tubos de colheita de amostras à temperatura ambiente
- Remisture os tubos de colheita de amostras antes da centrifugação

### Técnica de recolha com seringa

- Utilize um conjunto de colheita com agulha em borboleta de 21 g ou 23 g para a punção venosa
- Extraia 9,0 mL de sangue para uma seringa de plástico, evitando o excesso de sucção
- Prenda os tubos de agulhas em borboleta e desconecte a seringa
- Dispense imediata e suavemente a amostra de sangue para um tubo de plástico (polipropileno) com 1,0 ml de anticoagulante citrato de sódio 0,11 M. O rácio de sangue para anticoagulante é de 9 partes de sangue para 1 parte de anticoagulante
- Tape o tubo de plástico
- Misture cuidadosamente o tubo de colheita de amostras 4 a 5 vezes por inversão
- Escreva a hora da colheita na etiqueta da amostra
- Mantenha os tubos de colheita de amostras à temperatura ambiente
- Remisture os tubos de colheita de amostras antes da centrifugação



**NOTA:** QUANDO O HEMATÓCRITO DO DOENTE É INFERIOR A 30% OU SUPERIOR A 55%, O RÁCIO SANGUE-COAGULANTE TEM DE SER AJUSTADO. OS TUBOS DE COLHEITA DE AMOSTRAS EVACUADOS COM PARTE SUPERIOR AZUL DEVEM CONTER ANTICOAGULANTE CITRATO DE SÓDIO A 3,2% (0,11 M). QUE É A CONCENTRAÇÃO RECOMENDADA PARA ESTUDOS DA FUNÇÃO PLAQUETÁRIA.

## PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

### Plasma rico em plaquetas (PRP)

- Centrifugue o sangue anticoagulado a 150 x g durante 10 minutos à temperatura ambiente
- Examine a camada de plasma para glóbulos vermelhos
- Se existirem glóbulos vermelhos, volte a centrifugar durante mais 5 minutos
- Utilize uma pipeta para transferir o PRP para um recipiente de plástico com a etiqueta PRP
- Retire o PRP de um ponto imediatamente abaixo do meio do volume de PRP para obter uma contagem de plaquetas consistente (A PARTE SUPERIOR DO VOLUME TEM UMA CONTAGEM DE PLAQUETAS MAIS BAIXA E A PARTE INFERIOR É MAIS CONCENTRADA)
- Tape o recipiente
- Deixe o recipiente em repouso à temperatura ambiente

### Plasma pobre em plaquetas (PPP)

- Centrifugue a restante amostra de sangue PRP a 2500 x g durante 20 minutos
- Utilize uma pipeta para transferir o PPP para um recipiente de plástico com a etiqueta PPP
- Tape o recipiente
- Deixe o recipiente em repouso à temperatura ambiente

## PROCEDIMENTO DE ENSAIO

### Procedimento de agregação de rotina



**NOTA:** TRATA-SE DE UM PROCEDIMENTO GERAL. SIGA AS INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO FORNECIDAS PELO FABRICANTE DO AGREGÓMETRO UTILIZADO.

### Prepare um branco para cada paciente



**NOTA:** CADA PACIENTE DEVE TER O SEU PRÓPRIO BRANCO. O BRANCO DE UM PACIENTE NÃO PODE SER USADO PARA NENHUM OUTRO PACIENTE. O BRANCO DO PACIENTE DEVE SER PREPARADO A PARTIR DA AMOSTRA DE PLASMA POBRE EM PLAQUETAS (PPP) DO DOENTE. SE O MESMO PACIENTE ESTIVER A SER TESTADO EM VÁRIOS POÇOS DE TESTE, O MESMO BRANCO DO PACIENTE PODE SER USADO PARA ESSES POÇOS DE TESTE.

- Rotule um tubo de ensaio com a letra "B", o número do poço de teste e a identificação do doente para identificar o branco
- Pipete 250 µL de plasma pobre em plaquetas (PPP) para o tubo de ensaio (NÃO ADICIONAR UMA BARRA DE AGITAÇÃO)



- Coloque o branco de lado para utilização posterior
- Repita os passos acima para cada doente

#### Prepare Test Samples/Preparar amostras de teste

- Rotule um a oito tubos de ensaio novos com a identificação de cada doente e o número do poço de teste
- Coloque os tubos de ensaio etiquetados no poço correto n.º 1 - 8 dos poços de incubação de amostras agitadas
- Coloque uma barra de agitação para cada tubo de ensaio
- Pipete 225 µL de amostra de plasma rico em plaquetas (PRP) para cada tubo de ensaio nos poços de incubação de amostras agitadas (CERTIFICAR-SE DE QUE NÃO EXISTEM BOLHAS)
- Selecione o temporizador no ecrã para cada poço de incubação de amostras agitadas em utilização e a contagem decrescente do aquecimento irá ter início
- As amostras serão incubadas a 37° C durante o tempo pré-definido
- Defina a linha de base a 100% (branco)
- Coloque o tubo de ensaio com o branco do doente previamente preparado no poço de teste n.º 1
- Selecione "BLANK" (BRANCO) para ativar o poço de teste
- O botão "BLANK" (BRANCO) mudará para "START" (INICIAR)
- Repita os passos acima para cada poço de teste que está a ser utilizado para o ensaio

#### Iniciar testes

- Quando o temporizador de contagem decrescente atingir 0:00, prima o botão do temporizador para parar cada poço de incubação de amostras agitadas
- Transfira o tubo de ensaio do poço de incubação de amostras agitadas n.º 1 para o poço de teste n.º 1
- Repita o passo acima para cada poço de teste, certificando-se de que todos os tubos de ensaio permanecem com os números dos poços correspondentes durante a transferência
- Feche as guias das pipetas
- Selecione "START" (INICIAR) para o poço de teste n.º 1
- Pipete 25 µL de reagente diretamente para o tubo de ensaio de plasma rico em plaquetas (PRP) no poço de ensaio n.º 1 (NÃO PERMITIR QUE O REAGENTE ESCORRA PELA PAREDE DO TUBO DE ENSAIO NEM PERMITA QUE A PONTA DA PIPETA QUEBRE A SUPERFÍCIE DA AMOSTRA)
- Selecione "INJECT" (INICIAR) para o poço de teste n.º 1
- Repita os passos acima para cada poço de teste que está a ser utilizado para o ensaio
- O teste será agora realizado durante o tempo pré-definido (OS PROCEDIMENTOS DE TESTE DE OUTROS FABRICANTES PODEM ESPECIFICAR TEMPOS OU VOLUMES DIFERENTES)



**NOTA:** UTILIZAR UM DADOR CONHECIDO COMO UMA AMOSTRA DE CONTROLO. CADA LABORATÓRIO DEVE DEFINIR E VALIDAR O SEU PRÓPRIO PROTOCOLO DE TESTES E VERIFICAR O DESEMPENHO RESULTANTE DO SEU SISTEMA DE TESTES (REAGENTES, INSTRUMENTO E PROTOCOLO DE TESTES).

#### CONTROLO DA QUALIDADE

Para estudos de agregação plaquetária, um dador conhecido deve ser testado da mesma forma que o doente para garantir o desempenho e a consistência do sistema de testes. Deve ser incluído um novo controlo em cada série de testes e, de preferência, em cada novo lote de reagentes ou após a manutenção do instrumento. Cada laboratório deve definir os seus intervalos aceitáveis para a sua população de doentes e verificar o desempenho esperado do sistema de teste.

#### RESULTADOS

Os padrões de agregação para os reagentes do kit combinado AGG/PAK 5 estão representados nas Figuras 1 a 10.

Os padrões típicos de agregação induzidos pelo reagente ADP são ilustrados nas Figuras 1 a 2. Quando o reagente ADP é utilizado numa concentração final de 20 µM, induz uma grande onda única de agregação no plasma rico em plaquetas (PRP) normal. Em concentrações mais baixas, de 2 µM a 10 µM, podem ser observadas duas ondas distintas de agregação. A onda primária é a resposta imediata à ADP exógena introduzida pelo reagente, enquanto a onda secundária se deve à libertação de ADP endógena a partir da reserva de nucleótidos armazenada nas plaquetas. Em algumas amostras normais de PRP, pode observar-se desagregação dependente da concentração, indicando uma resposta variável a diferentes concentrações de ADP. As marcas de pico nas figuras indicam os pontos em que o reagente foi adicionado, fornecendo pontos de referência claros para o momento da introdução do reagente e os seus efeitos no processo de agregação.

Os padrões típicos de agregação induzidos pelo reagente ácido araquidónico são ilustrados nas Figuras 3 e 4. Estes padrões fornecem uma visão abrangente da forma como o reagente interage com o plasma rico em plaquetas (PRP) em diferentes condições. A ingestão de uma dose única de 600 mg de aspirina tem um impacto significativo na agregação plaquetária, resultando na ausência de agregação induzida pelo ácido araquidónico até 5 dias, como demonstrado na Figura 5. Esta ausência indica que a aspirina inibe efetivamente a resposta de agregação, o que é fundamental para a compreensão das suas propriedades anticoagulantes.

Além disso, pode observar-se um tempo de resposta prolongado até 8 dias após a

ingestão de aspirina, como é mostrado na Figura 6. Este tempo de resposta prolongado refere-se ao tempo decorrido entre a adição do reagente ácido araquidónico e o início da agregação, destacando o efeito prolongado da aspirina na função plaquetária.

As marcas de pico nas figuras indicam os pontos em que o reagente foi adicionado, fornecendo pontos de referência claros para o momento da introdução do reagente e os seus efeitos no processo de agregação.

Os padrões de agregação típicos induzidos pelo reagente colagénio são ilustrados nas Figuras 5 e 6, fornecendo uma representação detalhada dos efeitos do reagente no plasma rico em plaquetas (PRP). Após a adição do reagente colagénio ao PRP, ocorre uma fase inicial de atraso durante a qual não se observa qualquer agregação. Após esta fase de latência, as plaquetas normais exibem uma mudança de forma visível. Após a mudança de forma, observa-se uma grande e única onda de agregação, demonstrando a resposta robusta das plaquetas ao reagente colagénio.

As marcas de pico nas figuras indicam os pontos exatos em que o reagente foi adicionado, fornecendo pontos de referência claros para o momento da introdução do reagente e os seus efeitos no processo de agregação.

Os padrões de agregação típicos induzidos pelo reagente epinefrina estão representados nas Figuras 7 e 8, oferecendo uma visão abrangente dos seus efeitos no plasma rico em plaquetas (PRP). Quando o reagente epinefrina é adicionado ao PRP normal, induz uma resposta bifásica caracterizada por duas ondas distintas de agregação. A primeira onda representa a resposta inicial das plaquetas ao reagente, enquanto a segunda onda se deve à libertação de agonistas plaquetários adicionais dos grânulos dentro das plaquetas, amplificando ainda mais o processo de agregação.

Esta resposta bifásica é uma característica das amostras de PRP saudáveis, indicando uma função plaquetária normal. Por outro lado, a agregação anormal de epinefrina é identificada quando a agregação final é inferior a 30%, como se mostra na Figura 10. Uma resposta tão reduzida pode indicar disfunção plaquetária ou outras anomalias hematológicas, fornecendo informações valiosas para o diagnóstico.

Os indicadores de picos nas figuras marcam os pontos exatos em que o reagente é adicionado, fornecendo pontos de referência claros para o momento da introdução do reagente. Estes marcadores são essenciais para correlacionar a adição do reagente epinefrina com os padrões de agregação observados, permitindo uma análise precisa dos seus efeitos imediatos no processo de agregação.

Os padrões de agregação típicos induzidos pelo reagente ristocetina estão representados nas Figuras 9 e 10, proporcionando uma visão pormenorizada dos efeitos do reagente no plasma rico em plaquetas (PRP). A agregação induzida pela ristocetina pode manifestar-se como uma resposta bifásica ou como uma única e grande onda de agregação. A onda primária de agregação resulta da aglutinação das plaquetas mediada pelo fator de von Willebrand na presença de ristocetina. A seguir, pode ocorrer uma onda secundária devido à libertação de ADP endógena das plaquetas, o que contribui ainda mais para o processo de agregação.

Em doentes sem uma perturbação hemorrágica, a administração de uma dose elevada de ristocetina resulta normalmente numa onda única e forte de agregação. Esta resposta robusta é indicativa de uma função plaquetária normal e da atividade do Fator de von Willebrand. Por outro lado, uma dose baixa de ristocetina normalmente não provoca qualquer resposta nestes doentes, uma vez que a concentração mais baixa é insuficiente para induzir uma agregação plaquetária significativa.

No entanto, uma resposta forte a uma dose baixa de ristocetina sugere a presença de certos tipos de doença de von Willebrand. Em contrapartida, os indivíduos normais, sem perturbações hemorrágicas, apresentam tipicamente pouca ou nenhuma resposta a doses baixas de ristocetina.

É essencial interpretar estes resultados de agregação no contexto mais alargado da condição clínica do paciente. Um diagnóstico definitivo só deve ser realizado após a realização de mais testes e de uma avaliação exaustiva. As figuras incluem marcas de picos que indicam os pontos exatos de adição de reagente, fornecendo pontos de referência claros para compreender o momento da introdução do reagente e os seus efeitos imediatos no processo de agregação.

Figura 1: Agregação normal da ADP

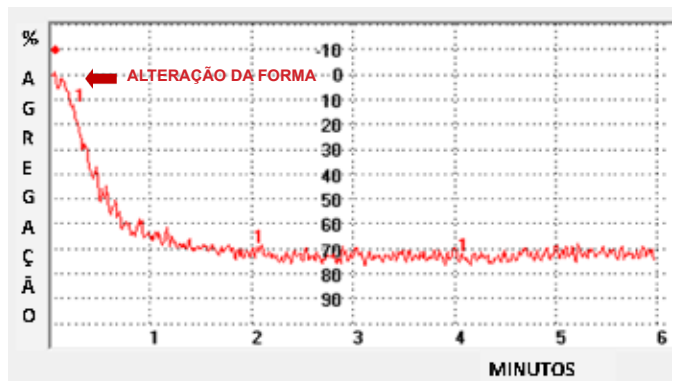


Figura 2: Agregação anormal da ADP

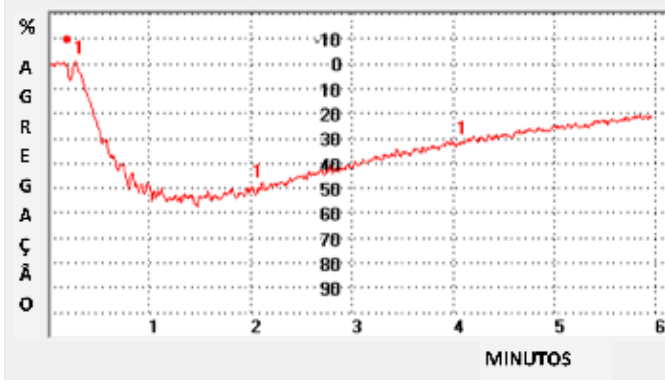


Figura 6: Agregação anormal do colagênio

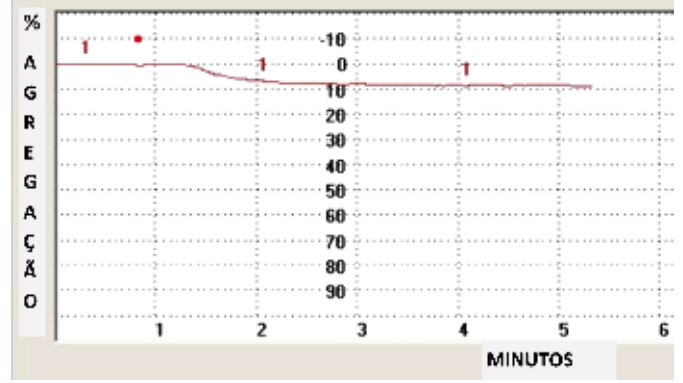


Figura 3: Agregação normal do ácido araquidônico

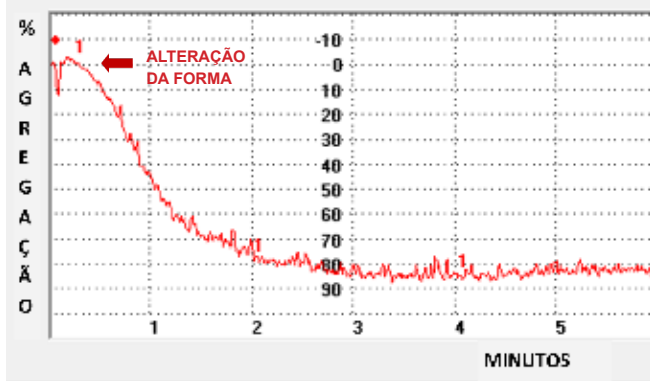


Figura 7: Agregação normal da epinefrina

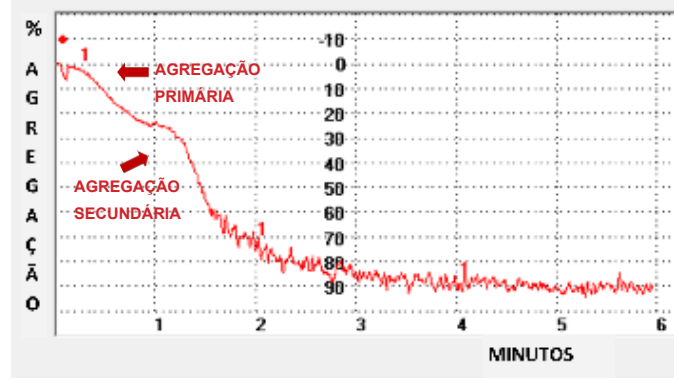


Figura 4: Resposta anormal ao ácido araquidônico (efeito da aspirina)

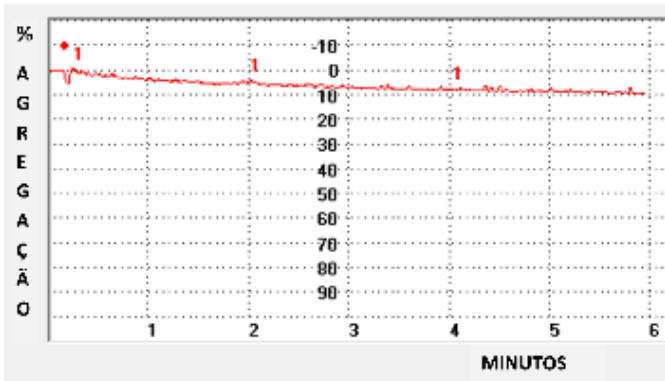


Figura 8: Agregação anormal da epinefrina

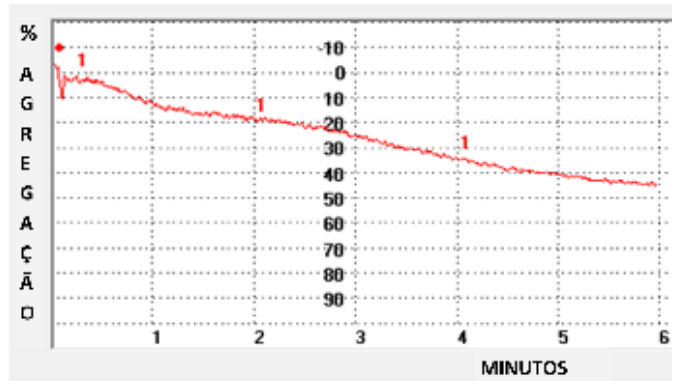


Figura 5: Agregação normal do colagênio

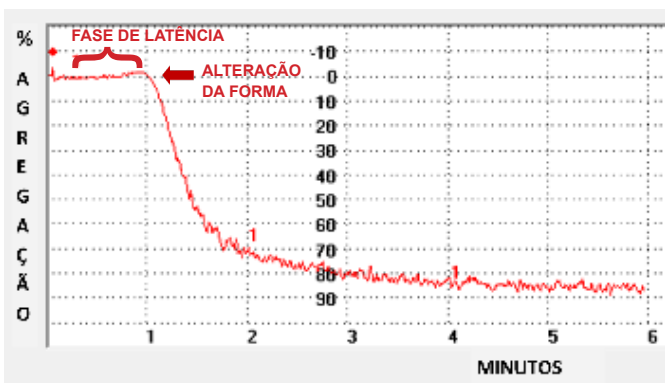


Figura 9: Agregação normal da ristocetina

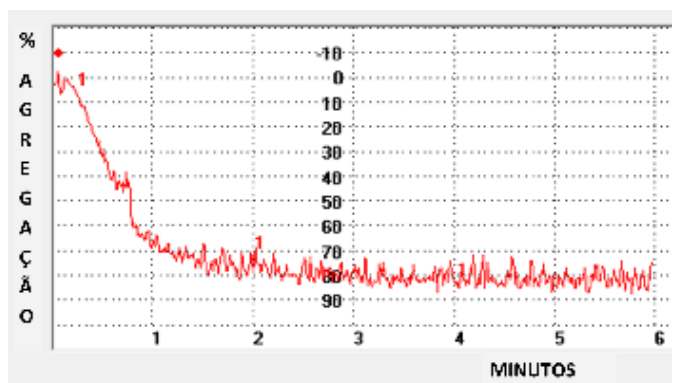


Figura 10: Agregação anormal da ristocetina

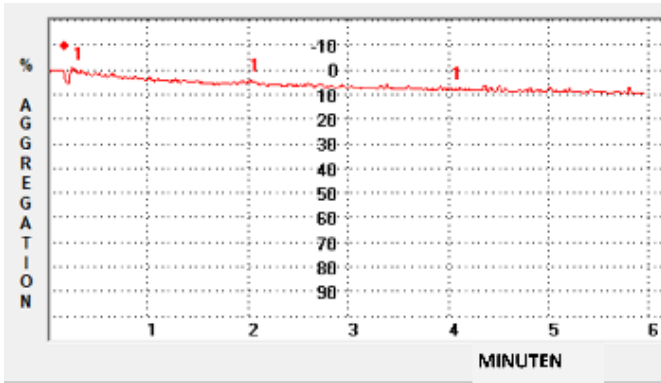


TABELA 3: RESULTADOS DA ADP, DO ÁCIDO ARAQUIDÔNICO, DO COLAGÊNIO, DA EPINEFRINA E DA RISTOCETINA OBSERVADOS EM DEFEITOS DA FUNÇÃO PLAQUETÁRIA

DEFEITO	REAGENTE ADP	ÁCIDO ARAQUIDÔNICO	REAGENTE COLAGÊNIO
DO TIPO ASPIRINA	↓ ou N	↓ ou N	↓
TROMBASTENIA	↓ ↓	↓ ↓	↓
DOENÇA DE ARMAZENAMENTO	↓	↓	↓
DOENÇA DE VON WILLEBRAND	N	N	N
SÍNDROME DE BERNARD-SOULIER	N	N	N

DEFEITO	REAGENTE EPINEFRINA	REAGENTE RISTOCETINA
DO TIPO ASPIRINA	↓ ou N	↓ ou N
TROMBASTENIA	↓ ↓	N
DOENÇA DE ARMAZENAMENTO	↓	↓ ou N
DOENÇA DE VON WILLEBRAND	N	↓ ↓
SÍNDROME DE BERNARD-SOULIER	N	↓ ↓

↓ = Agregação reduzida resultante de uma diminuição ou ausência de onda secundária  
 ↓ ↓ = Agregação reduzida resultante de uma diminuição ou ausência de onda primária e secundária  
 N = Resposta normal

**VALORES ESPERADOS**

Cada laboratório deve definir os intervalos esperados para cada reagente em várias concentrações utilizadas para induzir a agregação (Tabela 4).

TABELA 4: RESULTADOS ESPERADOS PARA AS RESPOSTAS DE AGREGAÇÃO PLAQUETÁRIA EM DADORES NORMAIS

Agregação final aos 6 minutos

AGONISTA	ADP	Ácido araquidônico	Colagênio	Epinefrina	Ristocetina
Parâmetro	Unidades	Adensidade 5'-difotofata	Pele de vitelo solúvel, ppm	Adrenalina	Sulfato de Ristocetina A
		Aracido de 5'-difotofata	mg/ml	mg/ml	mg/ml
Concentração final	20,0 μM	200,0 μg/ml	0,25 mg/ml	1,0 μg/ml	Escarceia do 2,5 μg/ml
Agregação primária (%)	0-1	0-9	0-5	0-7	0-9
Inclinação primária	5-1	5-6	5-5	5-5	5-5
Agregação secundária (bifásica) (%)	Sim	Não	Sim	Não	Sim
Inclinação secundária	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Área sob a curva	300	4,4	5,4	5,0	5,2 A
Fase de latência	Segunda	1,2	1,2	1,2	1,2 A
Desagregação (%)	Sim	0	Sim	Sim	Não
Agregação máxima (%)	0-99	0-100	0-99	0-100	0-100
Agregação final (%)	50-80	60-90	60-90	60-100	60-100

NOTA: NÃO RECOMENDAMOS O AJUSTE DA CONTAGEM DE PLAQUETAS

**LIMITAÇÕES**

Na agregometria por transmissão de luz, a presença de glóbulos vermelhos no PRP fará com que a agregação observada seja reduzida. A presença de plaquetas no PPP fará com que a agregação final seja aumentada. Podem ocorrer resultados espúrios

se a contagem de plaquetas do PRP for inferior a 75 000 plaquetas/cumm. A contagem de plaquetas PRP só pode ser realizada usando o método do hemocítometro. As amostras comprometidas devem ser rejeitadas.

Se os resultados forem anormais, o teste deve ser repetido em outra ocasião. Cada laboratório deve definir intervalos de referência adaptados à população que serve e às concentrações específicas de reagentes utilizadas.

**DESEMPENHO ANALÍTICO**

A agregação plaquetária, induzida por reagentes vulgarmente utilizados como a ADP, o ácido araquidônico, o colagênio, a epinefrina e a ristocetina, é um sistema de ensaio não linear. As respostas baseiam-se na diferença entre a transmissão de luz do plasma rico em plaquetas (PRP) e do plasma pobre em plaquetas (PPP) do doente e, por conseguinte, os resultados são exclusivos desse paciente. Determinados parâmetros são mais propensos à não linearidade do que outros. Estes incluem a fase de latência, a inclinação primária, a inclinação secundária, a resposta bifásica e a desagregação. A não linearidade é causada por muitos fatores, tais como a química da reação e a instrumentação. A agregação plaquetária mostra a taxa de resposta ou atividade e não quantifica os reagentes ou as suas concentrações.

Na agregação plaquetária, a precisão é um parâmetro relativo e depende do sistema de testes. As limitações da agregação plaquetária dificultam o fornecimento de intervalos típicos de precisão ou reprodutibilidade.

A variabilidade na linearidade, precisão e reprodutibilidade dos resultados dos sistemas de teste baseados em reagentes para ADP, ácido araquidônico, colagênio, epinefrina e ristocetina é reconhecida por várias organizações de normalização. O CV normalmente aceite é de ± 15%.

Reprodutibilidade de ensaio para ensaio: inferior a ± 7,5%  
 Reprodutibilidade de instrumento para instrumento: inferior a ± 15,0%  
 Variabilidade de lote para lote do reagente: inferior a ± 10,5%  
 Laboratório a laboratório (sistema a sistema): inferior a ± 12,5%

**REFERÊNCIAS**

- Allain JP, Cooper HA, Wagner RH, Brinkhous KM. Platelets fixed with paraformaldehyde: a new reagent for assay of von Willebrand factor and platelet aggregating factor. J Lab Clin Med. 1975 Feb;85(2):318-28.
- Angiolillo DJ, Ueno M, Goto S. Basic principles of platelet biology and clinical implications. Circ J. 2010 Apr;74(4):597-607.
- Born GV, Cross MJ. The Aggregation of Blood Platelets. J Physiol. 1963 Aug; 168(1):178-95.
- Brinkhous KM, Graham JE, Cooper HA, Allain JP, Wagner RH. Assay of von Willebrand factor in von Willebrand's disease and hemophilia: use of a macroscopic platelet aggregation test. Thromb Res. 1975 Mar;6(3):267-72.
- Brinkhous KM, Read MS. Preservation of platelet receptors for platelet aggregating factor/von Willebrand factor by air drying, freezing, or lyophilization: new stable platelet preparations for von Willebrand factor assays. Thromb Res. 1978 Oct;13(4):591-7.
- Bye A, Lewis Y, O'Grady J. Effect of a single oral dose of aspirin on the platelet aggregation response to arachidonic acid. Br J Clin Pharmacol. 1979 Mar; 7(3):283-6.
- Cattaneo M, Cerletti C, Harrison P, Hayward CP, Kenny D, Nugent D, Nurden P, Rao AK, Schmaier AH, Watson SP, Lussana F, Pugliano MT, Michelson AD. Recommendations for the Standardization of Light Transmission Aggregometry: A Consensus of the Working Party from the Platelet Physiology Subcommittee of SSC/ISTH. J Thromb Haemost. 2013 Apr 10.
- CLSI. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline—Fourth Edition. CLSI document H18-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
- CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline - Fourth Edition. CLSI document M29-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
- CLSI. Platelet Function Testing by Aggregometry, Approved Guideline - Fourth Edition. CLSI document H58-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- CLSI. Collection, Transport and Processing for Plasma Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays, Approved Guideline - Fifth Edition. CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- CLSI. Clinical Laboratory Safety, Approved Guideline - Third Edition. CLSI document GP17-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
- Day HJ, Holmsen H. Laboratory tests of platelet function. Ann Clin Lab Sci (1971). 1972 Jan-Feb; 2(1):63-74.
- Day HJ, Rao AK. Evaluation of platelet function. Semin Hematol. 1986 Apr;23(2):89-101.
- Eichelberger, JW. Kinetic (Slope) Measurement of Platelet Aggregation. Bio/Data Corporation, Horsham, PA; 1984.
- Favaloro EJ, Gosselin RC, Pasalic L, Lippi G. Post-analytical issues in hemostasis and thrombosis testing: An update. In EJF, RCG, editors, Hemostasis and Thrombosis: Methods and Protocols. 2nd ed. New York: Humana Press. 2023. p. 787-811. (Methods in Molecular Biology).
- Federici AB, Lee CA, Berntorp EE, Lillcrap D, Montgomery RR. Von Willebrand Disease: Basic and Clinical Aspects. 2011.
- Garner JS. Guideline for isolation precautions in hospitals. The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. Infect Control Hosp Epidemiol. 1996



Jan;17(1):53-80.

- Gralnick HR, Sultan Y, Collier BS. Von Willebrand's disease: combined qualitative and quantitative abnormalities. N Engl J Med. 1977 May 5;296(18):1024-30.
- Harmening, D. M. Clinical Hematology and Fundamentals of Hemostasis. Fifth Edition. F. A. Davis Company. 2009.
- Hoffbrand, A. V., Moss, P. A. H., & Pettit, J. E. Hoffbrand's Essential Haematology. Seventh Edition. John Wiley & Sons Ltd. 2016.
- Howard MA, Firkin BG. Ristocetin—a new tool in the investigation of platelet aggregation. Thromb Diath Haemorrh. 1971 Oct 31; 26(2): 362-9.
- Israels SJ, El-Ekiaby M, Quiroga T, Mezzano D. Inherited disorders of platelet function and challenges to diagnosis of mucocutaneous bleeding. Haemophilia. 2010 Jul;16 Suppl 5:152-9.
- Kambayashi J, Shinoki N, Nakamura T, Ariyoshi H, Kawasaki T, Sakon M, Monden M. Prevalence of impaired responsiveness to epinephrine in platelets among Japanese. Thromb Res. 1996 Jan 1;81(1):85-90.
- Kaushansky K, Lichtman MA, Prchal JT, Levi MM, Press OW, Burns LJ, Caligiuri M. eds. Williams Hematology, 9e. McGraw-Hill Education. 2015.
- Keohane, E. M., Smith, L. J., Walenga, J. M., & Block, D. R. Rodak's Hematology: Clinical Principles and Applications. Fifth Edition. Saunders, an imprint of Elsevier Inc. 2016.
- Levine PH. The effect of thrombocytopenia on the determination of platelet aggregation. Am J Clin Pathol. 1976 Jan;65(1):79-82
- Linnemann B, Schwonberg J, Mani H, Prochnow S, Lindhoff-Last E. Standardization of light transmittance aggregometry for monitoring antiplatelet therapy: an adjustment for platelet count is not necessary. J Thromb Haemost. 2008 Apr;6(4):677-83.
- Marcus AJ, Coleman RW, Hirsh J, Ivarer VJ, Salzman EW. Hemostasis and thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice. Vol. 472. Philadelphia: JB Lippincott Company; 1982.
- Michelson, AD. Platelets. Third Edition. Amsterdam: Academic Press; 2013.
- Miller CH, Graham JB, Goldin LR, Elston RC. Genetics of classic von Willebrand's disease. I. Phenotypic variation within families. Blood. 1979 Jul;54(1):117-36.
- Mills DC, Robb IA, Roberts GC. The release of nucleotides, 5-hydroxytryptamine and enzymes from human blood platelets during aggregation. J Physiol. 1968 Apr;195(3):715-29.
- Moncada S, Vane JR. Arachidonic acid metabolites and the interactions between platelets and blood-vessel walls. N Engl J Med. 1979 May 17;300(20):1142-7.
- NCCLS. Assays of von Willebrand Factor Antigen and Ristocetin Cofactor Activity; Approved Guideline. NCCLS document H51-A. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2002.
- Nilsson, I. M. and Holmberg, L.: von Willebrand's Disease Today. Clin. Hematol., 8:276, 1979.
- O'Donnell CJ, Larson MG, Feng D, Sutherland PA, Lindpaintner K, Myers RH, D'Agostino RA, Levy D, Toftler GH; Framingham Heart Study. Genetic and environmental contributions to platelet aggregation: the Framingham heart study. Circulation. 2001 Jun 26;103(25):3051-6.
- Olson JD, Brockway WJ, Fass DN, Magnuson MA, Bowie EJ. Evaluation of ristocetin-Willebrand factor assay and ristocetin-induced platelet aggregation. Am J Clin Pathol. 1975 Feb;63(2):210-8.
- Owen CA Jr, Bowie EJW, Thompson JH Jr. The Diagnosis of Bleeding Disorders. 2nd ed. Little, Brown, and Company; 1975.
- Palma-Barqueros V, Revilla N, Sánchez A, Zamora Cánovas A, Rodríguez-Alén A, Marín-Quílez A, González-Porras JR, Vicente V, Lozano ML, Bastida JM, Rivera J. Inherited Platelet Disorders: An Updated Overview. Int J Mol Sci. 2021 Apr 26;22(9):4521.
- Ramsey R, Evatt BL. Rapid assay for von Willebrand factor activity using formalin-fixed platelets and microtitration technic. Am J Clin Pathol. 1979 Dec;72(6):996-9.
- Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L; Health Care Infection Control Practices Advisory Committee. 2007 Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Health Care Settings. Am J Infect Control. 2007 Dec;35(10 Suppl 2):S65-164.
- The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, Centers for disease Control and Prevention, Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services. Guideline for isolation precautions in hospitals Part II. Recommendations for isolation precautions in hospitals. American Journal of Infection Control. 1996; Vol 24, Issue 1: 32-52.
- Triplett DA, et al. Platelet function: laboratory evaluation and clinical application. Chicago, IL: American Society for Clinical Pathology 1978.
- Weiss HJ. Aspirin and Platelets in Drugs and Hematologic Reactions. New York, NY: Dimittov and Nodine, eds. Grune and Stratton. 1974.
- White, M.M., and Jennings, L.K. Platelet Protocols: Research and Clinical Laboratory Procedures, Academic Press, Inc.; 1999.

- Williams WJ, Beutler E, Erslev AJ, Rundles RW. Hematology. New York, NY: McGraw-Hill. 1977.
- Zimmerman TS, Abildgaard CF, Meyer D. The factor VIII abnormality in severe von Willebrand's disease. N Engl J Med. 1979 Dec 13;301(24):1307-10.
- Zuzel M, Nilsson IM, Aberg M. A method for measuring plasma ristocetin cofactor activity. Normal distribution and stability during storage. Thromb Res. 1978 May;12(5):745-54.
- Zimmerman TS, Abildgaard CF, Meyer D. The factor VIII abnormality in severe von Willebrand's disease. N Engl J Med. 1979 Dec 13;301(24):1307-10.
- Zuzel M, Nilsson IM, Aberg M. A method for measuring plasma ristocetin cofactor activity. Normal distribution and stability during storage. Thromb Res. 1978 May;12(5):745-54.

## SÍMBOLOS



Com risco biológico



Número de catálogo



Cuidado



Produto marcado e registado CE



Consultar as instruções de utilização



Representante da União Europeia



Dispositivo de diagnóstico in vitro



Fabricante



Leitura obrigatória



Não estéril



Para utilização única apenas



Limitações de temperatura



Produto marcado e registado no Reino Unido



Representante no Reino Unido

## HISTÓRICO DE REVISÕES

N.º de documento: 107655 Revisão: AA, Março de 2025

- Kit combinado de novos produtos

Traduzido do documento n.º: 107649 Revisão: AA

**Para obter um catálogo completo de produtos, visite o nosso site em [www.biodatacorp.com](http://www.biodatacorp.com) ou contacte o nosso Departamento de Apoio ao Cliente.**

A GAMA DE PRODUTOS DA BIO/DATA CORPORATION INCLUI REAGENTES DE USO GERAL E PROFISSIONAL EM LABORATÓRIO DESTINADOS A INDUZIR E INFORMAR ATIVIDADES DE FUNÇÃO PLAQUETÁRIA E RESPOSTAS. ESTE PRODUTO TEM GARANTIA DE FUNCIONAMENTO CONFORME DESCRITO NA SUA ROTULAGEM, INCLUINDO AS INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO. A BIO/DATA CORPORATION NÃO FAZ NENHUMA REIVINDICAÇÃO OU GARANTIA, EXPRESSA OU IMPLÍCITA, DA CAPACIDADE, ADEQUAÇÃO OU COMERCIALIZAÇÃO PARA QUALQUER OUTRO FIM. EM NENHUMA CIRCUNSTÂNCIA, A BIO/DATA CORPORATION SERÁ RESPONSÁVEL POR QUAISQUER DANOS DECORRENTES DA GARANTIA EXPRESSA REFERIDA.

155 Gibraltar Road  
Horsham, PA 19044 EUA

Telefone Mundial: +1 215-441-4000  
Telefone EUA: 1-800-257-3282  
FAX em todo o mundo: +1 215-443-8820  
customer.service@biodatacorp.com

©BIO/DATA CORPORATION 2025



107650



UMA EMPRESA COM CERTIFICAÇÃO ISO 13485

[www.biodatacorp.com](http://www.biodatacorp.com)

ORGULHOSAMENTE FABRICADO NOS EUA



mdi Europa GmbH  
Langenhagener Str. 71  
D-30855 Langenhagen ALEMANHA



Alpha Laboratories  
40 Parham Drive Eastleigh  
SO50 4NU Hampshire REINO UNIDO



AGG/PAK 5 INSTRUCTIONS FOR USE # 107655 REV AA PORTUGUESE