

DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O ácido araquidónico é uma preparação liofilizada de araquidonato de sódio. A concentração do trabalho do reagente é 5 mg/mL.

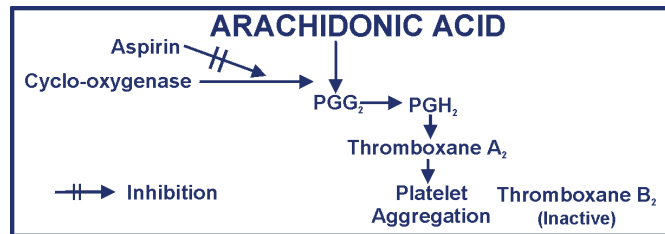
UTILIZAÇÃO PREVISTA

O reagente do ácido araquidónico é para uso rotineiro na demonstração da resposta de ativação do tromboxano A₂ em amostras de plasma rico em plaquetas.

PRINCÍPIO

O ácido araquidónico é um ácido gordo presente nos grânulos e nas membranas das plaquetas humanas.¹⁰ É libertado dos fosfolípidios e, na presença da enzima ciclo-oxigenase, incorpora oxigénio para formar o endoperóxido prostaglandina G₂ (PGG₂). A PGG₂ é então rapidamente transformada em prostaglandina H₂ (PGH₂) que por sua vez é convertida em tromboxano A₂, um potente indutor de agregação plaquetária. A ingestão de aspirina ou compostos que contêm aspirina inibe o consumo de oxigénio mediado pela ciclo-oxigenase, impedindo assim todos os eventos subsequentes que levam à agregação plaquetária.^{8,11,13}

A adição in vitro de ácido araquidónico ao plasma normal rico em plaquetas resulta num aumento súbito no consumo de oxigénio, formação de tromboxano e agregação plaquetária.¹³ No entanto, na presença de aspirina ou compostos que contêm aspirina, estas reações estão ausentes.¹²


PRECAUÇÕES

O ácido araquidónico DESTINA-SE APENAS A USO PROFISSIONAL EM LABORATÓRIO, APENAS PARA USO EM DIAGNÓSTICO IN VITRO E NÃO SE DESTINA A INJEÇÃO OU INGESTÃO.

NOTA PARA O UTILIZADOR: Qualquer incidente grave que ocorra em relação a este dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e à autoridade competente do Estado Membro em que o utilizador e/ou o paciente está estabelecido.

MATERIAIS FORNECIDOS

Ácido araquidónico, 3 X 0,5 mL. Armazenar a 2° a 8° C antes da reconstituição.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

1. Agregómetro de plaquetas
2. Água purificada (destilada, deionizada ou grau de reagente), pH 5,3 - 7,2
3. Pipetadores (volumes de 0,4 mL e 0,05 mL)
4. Barras de agitação descartáveis
5. Cubetas de agregómetros

INSTRUMENTAÇÃO

O ácido araquidónico funcionará como descrito quando usado na maioria dos agregómetros de plaquetas óticos.¹ Siga as instruções do fabricante para operar o agregómetro em uso.

COLHEITA DE AMOSTRAS E PREPARAÇÃO DA AMOSTRA DE TESTE

Consulte a atual Diretriz Aprovada NCCLS H21 A2 para obter instruções detalhadas sobre a colheita de amostras e preparação de amostras.⁶

1. PREPARAÇÃO DO PACIENTE:

Os pacientes devem abster-se de tomar aspirina ou medicamentos que contêm aspirina, outros medicamentos e suplementos dietéticos conhecidos por afetar a função plaquetária durante 7 a 10 dias antes da colheita de amostras. Os pacientes devem jejuar e evitar alimentos com gordura e laticínios durante 12 horas antes da colheita de amostras.⁶

2. COLHEITA DE AMOSTRAS:

A recolha de sangue deve ser realizada com cuidado para evitar estase, hemólise, contaminação por fluidos tecidulares ou exposição ao vidro. Mantenha as amostras à temperatura ambiente.⁸

Cada uma das seguintes ocorrências pode fazer com que os resultados do teste sejam imprecisos; e as amostras afetadas devem ser rejeitadas: hemólise, contaminação por hemácias, lipemia, ascite quilosa, icterícia, trombocitopenia (<75 000/mm³) coágulos na amostra e hipofibrinogenemia. A reutilização de itens descartáveis pode resultar em resultados de teste imprecisos.

Respeite as precauções padrão durante toda a colheita de amostras, preparação de amostras e processos analíticos.^{2,3} Descarte o material cortante e os resíduos biológicos de acordo com a política do laboratório.

Técnica da seringa (recomendada)⁸

- a. Use uma agulha tipo borboleta para a punção venosa.
- b. Colha 9,0 mL de sangue numa seringa de plástico. Evite sucção excessiva.
- c. Retire a agulha da seringa e dispense imediata e suavemente o sangue num tubo de plástico [polipropileno]⁴ contendo 1,0 mL de anticoagulante de citrato de sódio 0.11M. A proporção de sangue para anticoagulante deve ser de 9 partes de sangue para 1 parte de anticoagulante.⁵
- d. Cubra e inverta 4-5 vezes suavemente para misturar.
- e. Manter à temperatura ambiente (15° a 28 °C).

NOTA: Quando o hematócrito do paciente for < 30% ou > 55%, os volumes de sangue para anticoagulante devem ser ajustados.⁴

Técnica de tubo de colheita evacuado

1. Use uma agulha tipo borboleta para a punção venosa.
2. Recolha sangue usando tubos (plásticos) que contêm anticoagulante citrato de sódio 0.11M.
3. Inverta suavemente 4-5 vezes para misturar.

NOTA: Ao usar tubos de colheita a vácuo de plástico, certifique-se de que o anticoagulante citrato é o 0.11M, verificando o rótulo. Os topos coloridos não variam com as diferentes concentrações de citrato. Siga as instruções do fabricante para a colheita de amostras.

PREPARAÇÃO DE PLASMA RICO EM PLAQUETAS (PRP) E PLASMA POBRE EM PLAQUETAS (PPP)

1. Prepare o plasma rico em plaquetas centrifugando o sangue anticoagulado a 150 X g durante 10 minutos a temperatura ambiente (15° a 28 °C).
2. Examine a camada de plasma para glóbulos vermelhos. Se os glóbulos vermelhos estiverem presentes, centrifugar novamente a 150 X g durante mais 5 minutos.
3. Usando uma pipeta de transferência de plástico, observe e remova com cuidado a camada de plaquetas sem perturbar a camada leucocitária ou os glóbulos vermelhos e transfira para um recipiente identificado (PRP). Tampe o recipiente e deixe-o à temperatura ambiente.
4. Prepare o plasma pobre em plaquetas centrifugando a amostra de sangue restante a 2500 X g durante 20 minutos. Examine o plasma pobre em plaquetas para hemólise e, em seguida, transfira-o para um tubo de plástico identificado como PPP.
5. A contagem de plaquetas do PRP deve ser de 250 000 ± 50 000/mm³. A contagem de plaquetas pode ser reduzida usando PPP preparado a partir da amostra.

NOTA: Se estiver a usar o ácido araquidónico como agonista, não ajuste a contagem de plaquetas.

RECONSTITUIÇÃO

NOTA: Os reagentes devem estar à temperatura ambiente (15° a 28 °C) antes da reconstituição. O reagente armazenado deve ser levado à temperatura ambiente antes do uso.

Reconstitua um frasco de ácido araquidónico com 0,5 mL de água purificada. O reagente pode parecer turvo, mas ficará límpido e incolor passados poucos minutos.

ARMAZENAMENTO DE REAGENTES

O ÁCIDO ARAQUIDÓNICO DEVE SER MANTIDO COM ROLHA SEMPRE QUE NÃO ESTIVER EM USO.

Coloque a rolha no frasco imediatamente após a remoção do reagente. O ácido araquidónico reconstituído é estável durante 24 horas a 2° - 8 °C. Para armazenamento a longo prazo, congelar a -20 °C durante até 8 semanas.

PROCEDIMENTO DE TESTE

O teste deve ser concluído no prazo máximo de 3 horas após a colheita da amostra.⁸

1. Prepare um branco de agregómetro pipetando 0,5 mL de plasma pobre em plaquetas numa cubeta.
2. Pipete 0,45 mL de plasma rico em plaquetas para uma segunda cubeta. Incube a 37 °C durante 3 minutos e adicione uma barra de agitação.
3. Prepare, se necessário, as linhas de base de 0% e 100% de acordo com as instruções do fabricante para o agregómetro em uso.
4. Adicione 0,05 mL de ácido araquidónico diretamente no plasma rico em plaquetas. Não permita que o reagente escorra pela parede da cubeta. A concentração final de ácido araquidónico na mistura de teste de plasma rico em plaquetas é de 500 µg/mL.
5. Permita que o padrão de agregação seja gerado durante 5 minutos.

CONTROLO DE QUALIDADE

Os laboratórios devem seguir as práticas de controlo de qualidade normalmente aceites quando o teste de proficiência não estiver disponível.

Para garantir a operação adequada do instrumento e o desempenho do reagente, uma amostra de controlo deve ser avaliada todos os dias em que os testes são realizados. A amostra de controlo deve ser preparada da mesma forma que a amostra de teste. Para estudos qualitativos de agregação plaquetária, o controlo deve ser composto por plasma fresco rico em plaquetas colhido de um doador normal (especificado e qualificado) que não tenha ingerido compostos que contêm aspirina nos 10 dias anteriores ao teste e tenha histórico de função plaquetária normal.

RESULTADOS

Os padrões típicos de agregação de ácido araquidónico estão ilustrados nas Fig. 1-3. A ingestão de uma dose única (600 mg) de aspirina resultará na ausência de agregação de ácido araquidónico durante até 5 dias (Fig.2) Uma resposta prolongada (tempo desde a adição do reagente até ao início da agregação) será observada durante até 8 dias após a ingestão de aspirina.² (Fig.3)

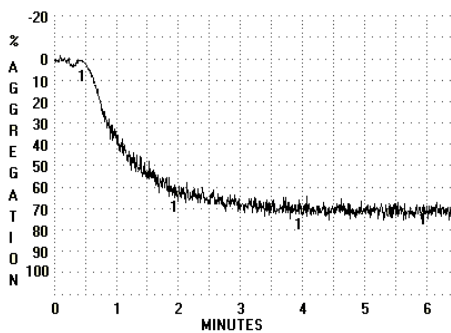


Figura 1 Agregação normal

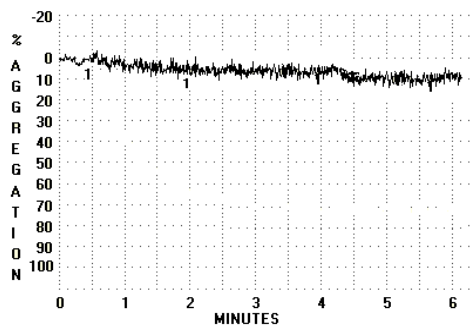


Figura 2 Resposta anormal (efeito aspirina)

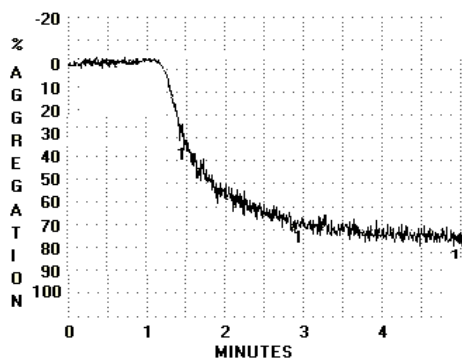


Figura 3 Resposta anormal (Efeito aspirina leve 5-8 dias após a ingestão)

LEGENDA: Resultados da agregação plaquetária induzida pelo ácido araquidônico em plasma normal e rico em plaquetas. A concentração de trabalho do ácido araquidônico é 5,0 mg/mL. A concentração final de PRP é 500 µg/mL. A marca de spike indica a adição de reagente.

VALORES ESPERADOS

Os intervalos esperados para cada reagente em várias concentrações usadas para induzir a agregação plaquetária devem ser definidos por cada laboratório, consulte a Tabela 2.4,8,9,10

Tabela 2

RESPOSTAS DE AGREGAÇÃO PLAQUETÁRIA TÍPICAS PARA DOADORES NORMAIS @ 250 000 PLAQUETAS/mm³ [agregação total em 5 minutos]

	ADP	Ácido araquidônico	Colágeno (tipo I)	Epinefrina
Conc. final	2.0x10 ⁻⁵ M	500µg/mL	0.19mg/ml	1.0x10 ⁻⁴ M
Fase de latência [seg]	<10	<=20	<60	0
Inclinação primária	38-67	>20	35-67	7-34
Agregação total (%@5min)	63-89	65-90	61-99	54-101
Agregação bifásica	Dependente da concentração	NÃO	NÃO	SIM
Outro	Pode mostrar alterações de forma	Todos os doadores normais podem não estar em conformidade PLT CT~175k-300k	Não diluir	Todos os doadores normais podem não estar em conformidade

LIMITAÇÕES

O ácido araquidônico irá oxidar se o frasco for deixado destampado. O reagente oxidado irá aparecer na cor amarela e não deverá ser usado. Como o ácido araquidônico se liga à albumina, a concentração necessária para induzir a agregação no plasma rico em plaquetas é maior do que a concentração necessária em suspensões de plaquetas lavadas. Para testar plaquetas lavadas, o ácido araquidônico deve ser diluído com soro fisiológico até uma concentração apropriada para a preparação das plaquetas em uso.

Notou-se que, ocasionalmente, ocorreu agregação subótima quando o ácido araquidônico foi adicionado ao plasma rico em plaquetas que havia sido diluído com plasma pobre em plaquetas. No entanto, a agregação parecia normal quando o mesmo plasma rico em plaquetas foi testado na forma não diluída.

Um histórico detalhado do paciente é necessário para uma interpretação precisa do teste. Os pacientes devem ser questionados sobre a ingestão recente de qualquer medicamento, pois vários medicamentos prescritos e não prescritos podem interferir na agregação plaquetária. Substâncias como cafeína, tabaco, extratos de plantas (ou suplementos) e álcool podem afetar os resultados.7,8

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Estudos mostraram que este produto funcionará conforme descrito antes do final do prazo de validade sempre que as instruções de procedimento e armazenamento forem seguidas.

Linearidade:

A agregação plaquetária induzida por agonistas comuns (ADP, ácido araquidônico, colágeno e epinefrina) é um sistema de testes não linear para os seguintes parâmetros: Fase de latência, Inclinação primária, Inclinação secundária, resposta bifásica e desagregação. A não linearidade é causada por muitos fatores, tais como a química da reação e a instrumentação. A agregação plaquetária mede uma taxa de resposta ou atividade que não é uma medida quantitativa dos reagentes ou da sua concentração.

EXATIDÃO, PRECISÃO E REPRODUTIBILIDADE

Precisão

Na agregação plaquetária, a precisão é um parâmetro relativo e depende do sistema de testes.

Precisão e reprodutibilidade

As limitações da agregação plaquetária dificultam o fornecimento de intervalos típicos de precisão ou reprodutibilidade. No entanto, existe um consenso baseado na experiência para estes parâmetros (veja abaixo). Cada laboratório deve definir os seus próprios limites para a aceitabilidade do teste.

Reprodutibilidade de teste para teste: menos de ± 7,5%
 Reprodutibilidade de instrumento para instrumento: menos de ± 15%
 Variação lote para lote de reagente: menos de ± 10,5%
 Laboratório para laboratório (mesmo sistema de testes): menos de ± 12,5%

REFERÊNCIAS

- Born, GVR and Cross, MJ. The Aggregation of Blood Platelets. J. Physiol [London] 168:178, 1963.
- Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Isolation Precautions in Hospitals. Centers for Disease Control and Prevention. 1996; Vol 17; 1:53 - 80.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. NCCLS: Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline. NCCLS document M29. Wayne, PA.
- McCabe-White, M and Jennings, LK. Platelet protocols: Research and Clinical laboratory Procedure. Academic Press. London. 1999, p 35.
- Newhouse, P and Clark, C. The Variability of Platelet Aggregation., in Triplett, DA,ed. Platelet Function: Laboratory Evaluation and Clinical Application. ASCP. Chicago. 1978. p 69.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. NCCLS Collection, Transport and Processing of Blood Specimens Approved Guideline- Second Edition. NCCLS Document H 18-A2. Wayne, PA.
- Weiss, HJ: Aspirin and platelets in drugs and hematologic reactions. Dimitov and Nodine (eds.). Grune and Stratton, New York, 1974.
- Triplett, 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. Ann Clin Lab Sci, 2:63, 1972.
- Owen, CA, Bowie, EJW, Thompson, JH: The diagnosis of bleeding disorder. Little, Brown and Co., 1975.
- 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 7a:293, 1979.
- Ingerman, CM, Smith, JB, Shiro, S, Sedar, A, Silver, A, Silver, MJ: Hereditary abnormality of platelet aggregation attributable to nucleotide storage pool deficiency, Blood 52:332, 1978.
- Moncada, S, Vane, JR: Arachidonic Acid metabolites and the interactions between platelets and blood vessel walls. N Eng J Med 300:1142, 1979.
- William, WJ, Beutler, E, Erslev, A, Rundles, RW: Hematology, Mc-Graw Hill, New York, 1977.
- Marcus, AJ: Platelet Aggregation. In Coleman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EQ: Hemostasis and thrombosis: Basic principles and clinical practice. pg 380. JB Lippencott Company, 1982.
- Marcus, AJ: Platelet Aggregation. In Coleman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EQ: Hemostasis and thrombosis: Basic principles and clinical practice. pg 472. JB Lippencott Company, 1982.

Para obter uma lista completa dos produtos disponíveis, visite o nosso site www.biodatacorp.com ou contacte o nosso 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 USO. 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
 (800) 257-3282 EUA (215) 441-4000 Mundo
 (215) 443-8820 Fax Mundo

E-mail: clientes.service@biodatacorp.com Internet: www.biodatacorp.com
 Uma empresa certificada pela norma ISO 13485



Alpha Laboratories Ltd, 40 Parham Drive, Eastleigh, Hampshire, SO50 4NU Reino Unido



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

