

ACIDE ARACHIDONIQUE

DESCRIPTION DU PRODUIT

L'acide arachidonique est une préparation lyophilisée d'arachidonate de sodium. La concentration active du réactif est de 5 mg/ml.

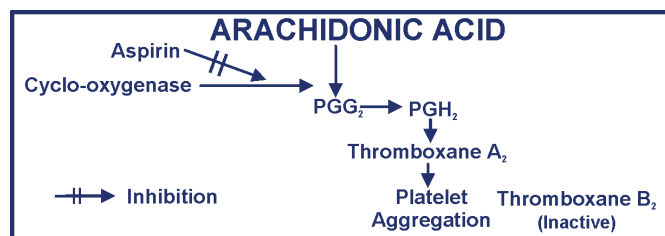
USAGE PRÉVU

L'acide arachidonique est utilisé pour des études de routine d'agrégation plaquettaire pour le diagnostic différentiel de maladie de défauts de libération semblable à l'aspirine et de pool de stockage. Il est aussi utilisé pour évaluer l'effet inhibiteur de l'aspirine sur l'agrégation des plaquettes.^{8,11,12}

PRINCIPE DU TEST

L'acide arachidonique est un acide gras présent dans les granules et les membranes des plaquettes humaines.¹⁶ Il est libéré à partir de phospholipides et, en présence de l'enzyme cyclo-oxygénase, incorpore l'oxygène pour former l'endoperoxyde prostaglandine G_2 (PGG_2). PGG_2 est ensuite transformé rapidement en prostaglandine H_2 (PGH_2) laquelle à son tour est convertie en thromboxane A_2 , un fort inducteur de l'agrégation des plaquettes. L'ingestion d'aspirine ou de composés contenant de l'aspirine inhibe la consommation d'oxygène par l'intermédiaire de la cyclo-oxygénase empêchant donc tout événement subséquent conduisant à l'agrégation plaquettaire.^{8,11,13}

L'ajout *in vitro* d'acide arachidonique à un plasma normal riche en plaquettes résulte en une explosion de la consommation d'oxygène, de formation du thromboxane et d'agrégation plaquettaire.¹³ Cependant, en présence d'aspirine ou de composés contenant de l'aspirine, ces réactions sont absentes.¹²



PRÉCAUTIONS

L'acide arachidonique est destiné au DIAGNOSTIC *IN VITRO* UNIQUEMENT ET NE DOIT ÊTRE NI INJECTÉ OU NI INGÉRÉ.

Note à l'intention de l'utilisateur : tout incident grave lié à ce produit doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient sont établis.

MATÉRIEL FOURNI

Acide arachidonique 3 x 0,5 ml conserver entre 2 ° à 8 °C avant reconstitution.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

1. Agrégomètre de plaquettes
2. Eau purifiée (distillée, désionisée ou de qualité réactif), pH 5,3 – 7,2
3. Pipettes (contenances de 0,4 ml et 0,05 ml)
4. Agitateurs jetables
5. Cuvettes pour agrégomètre

INSTRUMENTATION

L'acide arachidonique fonctionnera comme décrit lorsque utilisé avec la plupart des agrégomètres de plaquettes optiques.¹ Suivre les consignes du fabricant pour faire fonctionner l'agrégomètre utilisé.

PRÉLÈVEMENT DES SPÉCIMEN ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS A TESTER

Consulter la directive H21 A2 en vigueur, approuvée par NCCLS pour des instructions détaillées sur le prélèvement de spécimens et la préparation des échantillons.⁶

1. PRÉPARATION DU PATIENT :

Sept à 10 jours avant le prélèvement du spécimen, les patients doivent s'abstenir de prendre de l'aspirine ou des médicaments qui contiennent de l'aspirine ou tout autre médicament et supplément diététique connu pour modifier la fonction plaquettaire. Les patients doivent jeûner et éviter les nourritures grasses et les produits laitiers pendant 12 heures précédant le prélèvement du spécimen.⁶

2. PRÉLÈVEMENT DU SPÉCIMEN :

Le prélèvement sanguin doit être effectué avec soin pour éviter la stase, l'hémolyse, la contamination par des liquides tissulaires ou l'exposition au verre. Conserver les spécimens à température ambiante.⁹

Chacun des facteurs suivants peut entraîner des résultats inexacts d'analyse, et les échantillons affectés doivent être rejetés : présence d'hémolyse, de contamination par des globules rouges, de lipémie, de chyle, d'ictère, de caillots de thrombocytopenie ($< 75\ 000/mm^3$) dans le spécimen et d'hypofibrinogénémie. La réutilisation d'articles jetables peut entraîner l'inexactitude des résultats d'analyse.

Observer les précautions standard pendant le prélèvement de spécimen, la préparation de l'échantillon et le processus analytique.^{2,3} Jeter les objets tranchants et les déchets biologiques conformément au règlement du laboratoire.

Technique à la seringue (recommandée)⁸

- a. Utiliser une aiguille papillon pour ponction veineuse.
- b. Prélever 9,0 ml de sang dans une seringue en plastique. Éviter une succion excessive.

- c. Retirer l'aiguille de la seringue et transvaser immédiatement et doucement le sang dans un tube en plastique [polypropylène]4 contenant 1,0 ml d'anticoagulant au citrate de sodium 0,11 M. La proportion doit être de 9 parties de sang pour 1 partie d'anticoagulant.⁵
- d. Couvrir et retourner 4 - 5 fois doucement pour mélanger.
- e. Conserver à température ambiante (entre 15 ° et 28 °C).

REMARQUE : Lorsque l'hématocrite du patient est $< 30\%$ ou $> 55\%$, les volumes de sang par rapport à l'anticoagulant doivent être ajustés.⁴

Technique au tube de prélèvement sous vide

1. Utiliser une aiguille papillon pour ponction veineuse.
2. Prélever le sang dans des tubes (en plastique) contenant de l'anticoagulant au citrate de sodium à 0,11 M.
3. Retourner 4 à 5 fois doucement pour mélanger.

REMARQUE : Si on utilise des tubes de prélèvement en plastique sous vide, vérifier sur l'étiquette que l'anticoagulant au citrate est bien à 0,11 M. La couleur des bouchons ne change pas avec les différentes concentrations en citrate. Suivre les consignes du fabricant pour le prélèvement des spécimens

PRÉPARATION DE PLASMA RICHE (PRP) ET PAUVRE (PPP) EN PLAQUETTES

1. Préparer un plasma riche en plaquettes en centrifugeant du sang anticoagulé à 150 x g pendant 10 minutes à température ambiante (15 ° et 28 °C).
2. Vérifier qu'il n'y a pas de globules rouges dans la couche de plasma. Si des globules rouges sont présents, recentrifuger à 150 x g pendant 5 minutes supplémentaires.
3. Au moyen d'une pipette de transfert en plastique, observer et retirer avec soin la couche de plaquettes sans déranger la couche leuco-plaquettaire ou des globules rouges, et transférer dans un récipient étiqueté (PRP). Boucher le récipient et le laisser à température ambiante.
4. Préparer le plasma pauvre en plaquettes en centrifugeant le restant du spécimen de sang à 2500 x g pendant 20 minutes. Vérifier que le plasma pauvre en plaquettes soit dépourvu d'hémolyse, puis transférer dans un tube en plastique étiqueté PPP.
5. La numération plaquettaire du PRP devrait être de $250\ 000 \pm 50\ 000/mm^2$. La numération plaquettaire peut être réduite par l'utilisation de PPP préparé à partir de l'échantillon.

REMARQUE : Si de l'acide arachidonique est utilisé comme agoniste, ne pas ajuster la numération plaquettaire.

RECONSTITUTION

REMARQUE : les réactifs doivent être amenés à température ambiante (entre 15 ° et 28 °C) avant la reconstitution. Les réactifs conservés doivent être amenés à température ambiante avant d'être utilisés.

Reconstituer un flacon d'acide arachidonique avec 0,5 ml d'eau purifiée. Le réactif peut paraître nuageux, mais deviendra clair et incolore en quelques minutes.

CONSERVATION DES RÉACTIFS

L'ACIDE ARACHIDONIQUE DOIT ÊTRE GARDÉ BOUCHÉ CHAQUE FOIS QU'IL N'EST PAS UTILISÉ. Reboucher le flacon immédiatement après avoir pris du réactif. L'acide arachidonique reconstitué est stable pendant 24 heures entre 2 ° et 8 °C. Pour le stockage à long terme, congeler à -20 °C jusqu'à 8 semaines.

PROCÉDURE DE DOSAGE

Le dosage doit être effectué dans les 3 heures qui suivent le prélèvement de l'échantillon.⁹

1. Préparer un contrôle d'agrégomètre en pipétant 0,5 ml de plasma pauvre en plaquettes dans une cuvette.
2. Pipéter 0,45 ml de plasma riche en plaquettes dans une seconde cuvette. Incuber 37 °C pendant 3 minutes et ajouter un agitateur.
3. Au besoin, régler les références de 0 % et 100 % selon les instructions du fabricant pour l'agrégomètre utilisé.
4. Ajouter 0,05 ml d'acide arachidonique directement au plasma riche en plaquettes. Ne pas laisser le réactif couler le long de la paroi de la cuvette. La concentration finale en acide arachidonique dans le mélange à tester de plasma riche en plaquettes est de 500 µg/ml.
5. Laisser l'agrégation se former pendant 5 minutes.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les laboratoires doivent suivre les pratiques du contrôle de qualité généralement acceptées lorsqu'une épreuve de compétence n'est pas disponible.

Pour assurer un fonctionnement adéquat de l'instrument et la bonne performance des réactifs, un échantillon témoin doit être évalué chaque jour où les analyses sont effectuées. L'échantillon témoin doit être préparé de la même manière que l'échantillon d'analyse. Pour effectuer des études sur l'agrégation des plaquettes, l'échantillon témoin doit être composé de plasma frais riche en plaquettes et prélevé sur un donneur normal (spécifié et qualifié) qui n'a pas ingéré de composés contenant de l'aspirine au cours des 10 jours précédant l'analyse et dont la fonction plaquettaire a toujours été normale.

RÉSULTATS

Les modèles typiques d'agrégation à l'acide arachidonique sont illustrés en Fig. 1-3. L'ingestion d'une dose unique (600 mg) d'aspirine résultera en l'absence d'agrégation par acide arachidonique 5 jours durant (Fig. 2). Une réponse prolongée (temps depuis l'addition de réactif jusqu'à début de l'agrégation) sera observée jusqu'à 8 jours après l'ingestion d'aspirine.² (Fig. 3)

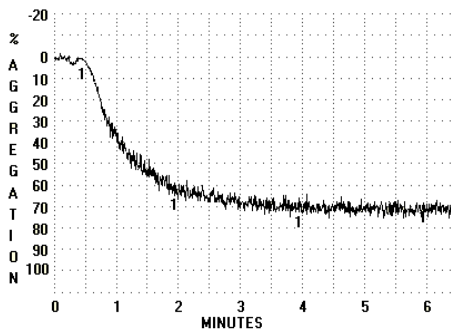


Figure 1 Normal Aggregation

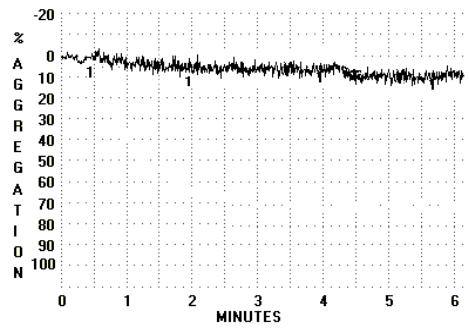


Figure 2 Abnormal Response (Aspirin Effect)

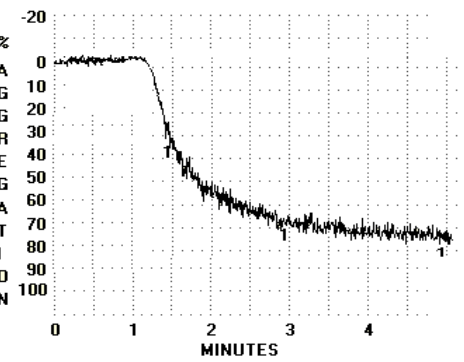


Figure 3 Abnormal Response (Mild Aspirin Effect 5-8 days post ingestion)

LÉGENDE : Résultats d'agrégation de plaquettes induite par l'acide arachidonique dans des plasmas normal et anormal riches en plaquettes. La concentration active en acide arachidonique est de 5,0 mg/ml. La concentration finale en PRP est de 500 µg/ml. La marque en pointe indique l'ajout de réactif.

VALEURS ATTENDUES

Les intervalles de valeurs attendues pour chaque réactif aux concentrations utilisées pour produire une agrégation plaquettaire doivent être établis par chaque laboratoire, voir le tableau 2.^{4,8,9,10}

Tableau 2

RÉPONSES TYPIQUES D'AGRÉGATION PLAQUETTAIRE POUR DES DONNEURS NORMAUX à 250 000 PLAQUETTES /mm³ [agrégation totale à 5 minutes]

	ADP	Acide arachidonique	Collagène [Type I]	Épinéphrine
Concentration finale	2.0x10 ⁻⁵ M	500µg/mL	0.19mg/mL	1.0x10 ⁻⁴ M
Phase de latence [sec]	<10	<=20	<60	0
Pente primaire	38-67	>20	35-67	7-34
Agrégation totale (% @ 5min)	63-89	65-90	61-99	54-101
Agrégation biphasique	Dépendent de la concentration	NON	NON	OUI
Autre	Peut montrer un changement de forme	Tous les donneurs normaux peuvent ne pas être conformes à PLT CT-175k-300k	Ne pas diluer	Tous les donneurs normaux peuvent ne pas être conformes

LIMITES

L'acide arachidonique s'oxydara si le flacon est laissé non bouché. Le réactif oxydé paraîtra de couleur jaune et ne doit pas être utilisé. Parce que l'acide arachidonique se lie à l'albumine, la concentration exigée pour induire l'agrégation dans le plasma riche en plaquettes est plus élevée que celle exigée dans les suspensions de plaquettes lavées.¹⁵ Pour tester des plaquettes lavées, l'acide arachidonique doit être dilué avec du sérum physiologique à une concentration appropriée pour l'utilisation de la préparation de plaquettes.

Il a été noté que de temps en temps, une agrégation sous optimale survient quand l'acide arachidonique est ajouté à du plasma riche en plaquettes dilué avec du plasma pauvre en plaquettes. Cependant, l'agrégation fut normale quand le même plasma riche en plaquette est testé sous forme non diluée.

Un historique détaillé de la santé du patient est nécessaire à l'interprétation exacte des résultats. On doit demander aux patients s'ils ont récemment pris des médicaments car un bon nombre de médicaments prescrits ou non prescrits peuvent interférer avec l'agrégation plaquettaire. Des substances telles que caféine, tabac, extraits de plantes (ou compléments) et alcool peuvent affecter les résultats de l'analyse.^{7,8}

CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES

Des études ont montré que ce produit fonctionnera comme décrit avant sa date de péremption si les instructions de procédure et de conservation sont respectées.

Linéarité :

L'agrégation plaquettaire provoquée par des agonistes communs (ADP, acide arachidonique, collagène et épinéphrine) est un système d'analyse non linéaire pour les paramètres suivants : phase de latence, pente primaire, pente secondaire, réponse biphasique et désagrégation. La non linéarité est due à plusieurs facteurs tels que la chimie de la réaction et l'instrumentation. L'agrégation plaquettaire mesure un taux de réponse ou une activité qui ne constitue pas une mesure quantitative des éléments réagissant ou de leur concentration.

EXACTITUDE, PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Exactitude

Dans l'agrégation plaquettaire, l'exactitude est un paramètre relatif qui dépend du système d'analyse.

Précision et reproductibilité

Les limites que présente l'agrégation plaquettaire font qu'il est difficile de fournir une précision typique ou des intervalles de reproductibilité. Toutefois, on applique à ces paramètres un consensus fondé sur l'expérience (voir ci-dessous). Chaque laboratoire doit établir ses propres limites quant à l'acceptabilité des dosages.

Reproductibilité d'une analyse à une autre :	mieux que ± 7,5 %
Reproductibilité d'un instrument à un autre :	mieux que ± 15 %
Variation du réactif d'un lot à un autre :	mieux que ± 10,5 %
D'un laboratoire à un autre (système d'analyse identique) :	mieux que ± 12,5 %

RÉFÉRENCES

- Born, GVR and Cross, MJ. The Aggregation of Blood Platelets. J. Physiol [London] 8:178, 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. Annal 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, Shipiro, 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, McGraw 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.

Pour une liste complète des produits disponibles s'il vous plaît aller à notre site Web ou www.biodatacorp.com contacter le service client ci-dessous.

LA GAMME DE PRODUITS BIO/DATA CORPORATION COMPREND DES RÉACTIFS À USAGE GÉNÉRAL ET PROFESSIONNEL DE LABORATOIRE DESTINÉS À INDUIRE ET À SIGNALER L'ACTIVITÉ ET LES RÉPONSES DE LA FONCTION PLAQUETTAIRE. CE PRODUIT EST GARANTI POUR FONCTIONNER COMME DÉCRIT DANS SON ÉTIQUETAGE, Y COMPRIS LES INSTRUCTIONS D'UTILISATION. BIO/DATA CORPORATION NE FAIT AUCUNE RÉCLAMATION NI NE DONNE AUCUNE GARANTIE, EXPRESSE OU IMPLICITE, QUANT À LA CAPACITÉ, L'APTITUDE OU LA QUALITÉ MARCHANDE POUR TOUT AUTRE USAGE. EN AUCUN CAS BIO/DATA CORPORATION NE POURRA ÊTRE TENUE RESPONSABLE DE TOUT DOMMAGE CONSECUTIF RESULTANT DE LA GARANTIE EXPRIMÉE CI-DESSUS.



155 Gibraltar Road, Horsham, PA 19044 États-Unis
(800) 257-3282 États-Unis (215) 441-4000 International
Télécopie : (215) 443-8820 International
Courriel : customer.service@biodatacorp.com
Internet : www.biodatacorp.com



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



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

