

DESCRIÇÃO DO PRODUTO

PAR/PAK® II é um Kit de Combinação de Reagentes para Agregação Plaquetária contendo os reagentes ADP (Adenosina-5'-Difosfato), Colágeno (Pele de Bezerro Solúvel, Tipo 1) e Epinefrina (Adrenalina).

O Reagente ADP é uma preparação liofilizada de Adenosina-5'-Difosfato. É um componente essencial na agregação plaquetária. O ADP atua como um agonista ou ativador, ligando-se aos receptores plaquetários e desencadeando uma série de eventos bioquímicos que levam à ativação e agregação das plaquetas.

O Reagente de Colágeno é uma preparação liofilizada de Colágeno (Pele de Bezerro Solúvel, Tipo 1). O Reagente de Colágeno induz a mudança de forma das plaquetas e as ativa. As plaquetas ativadas então liberam compostos trombóticos de seus grânulos, que servem para recrutar plaquetas adicionais para o local da lesão.

O Reagente de Epinefrina é uma preparação estabilizada e liofilizada de L-Adrenalina que ativa o receptor adrenérgico GP IIa, causando agregação plaquetária sem mudança de forma. Embora possa potencializar a resposta das plaquetas a outros agonistas, o Reagente de Epinefrina é um agonista fraco (reversível). Pode ou não provocar resposta em indivíduos saudáveis.

O Kit Combo PAR/PAK® II foi otimizado para uso com agregômetros de transmissão de luz. Também pode ser utilizado com outros analisadores turbidimétricos ou de impedância, bem como com citômetros de fluxo.

FINALIDADE PRETENDIDA

O Kit Combo PAR/PAK® II é um kit de conveniência que contém uma combinação de reagentes de rotina para agregação plaquetária, utilizados para induzir respostas de agregação e/ou aglutinação no Plasma Rico em Plaquetas (PRP). O kit inclui os reagentes ADP, Colágeno e Epinefrina.

DETECÇÃO / MEDIÇÃO

Os reagentes do Kit Combo PAR/PAK® II são utilizados, em conjunto com outros diluentes e amostras de controle, para medir alterações na transmissão de luz em uma amostra de teste de Plasma Rico em Plaquetas (PRP).

FUNÇÃO DO PRODUTO

O Kit Combo PAR/PAK® II fornece informações sobre diferentes aspectos da função/qualidade plaquetária. Este kit auxilia na avaliação de diversos distúrbios plaquetários adquiridos e hereditários, bem como na eficácia de terapias antiplaquetárias.

INFORMAÇÕES ESPECÍFICAS FORNECIDAS

Os reagentes do Kit Combo PAR/PAK® II não se destinam à detecção de um distúrbio, condição ou fator de risco específico.

O Reagente ADP desempenha um papel fundamental na ativação e agregação plaquetária. Quando o ADP se liga a receptores específicos na superfície das plaquetas, como P2Y1 e P2Y12, ele inicia cascatas de sinalização intracelular. Essa ativação induz rápidas mudanças na forma das plaquetas e a liberação de íons cálcio por meio dos receptores P2Y1, enquanto a ativação do P2Y12 sustenta a resposta, garantindo uma agregação estável. O Reagente ADP é utilizado para estimular a ativação e agregação plaquetária de forma precisa ao interagir com esses receptores de ADP. Ao observar a agregação plaquetária em resposta ao ADP, os profissionais podem avaliar a função/qualidade das plaquetas relacionada a anormalidades na ativação e agregação. Esse processo é essencial para compreender a dinâmica da formação de coágulos e avaliar a eficácia de terapias antiplaquetárias na prevenção de eventos trombóticos. O ADP promove a liberação de mediadores secundários, como o Tromboxano A2 (TXA2), amplificando ainda mais a ativação e agregação plaquetária.

O Reagente de Colágeno inicia a ativação e agregação plaquetária. Ao se ligar a receptores glicoproteicos na superfície das plaquetas, particularmente a glicoproteína VI (GP VI), o colágeno desencadeia cascatas de sinalização intracelular. Isso provoca rápidas mudanças na forma das plaquetas e a liberação de íons cálcio por meio dos receptores GP VI, com ativação sustentada facilitada pela integrina $\alpha 2\beta 1$, garantindo uma agregação estável. Utilizado para estimular de forma precisa a ativação e agregação plaquetária, o Reagente de Colágeno interage com esses receptores, proporcionando um meio para avaliar a função/qualidade das plaquetas e distúrbios relacionados a anormalidades na ativação plaquetária induzida por colágeno. Esse processo é essencial para compreender a dinâmica da formação de coágulos e avaliar a eficácia de terapias antiplaquetárias na inibição de eventos trombóticos. O colágeno promove a liberação de mediadores secundários, amplificando ainda mais a ativação e agregação plaquetária.

O Reagente de Epinefrina desempenha um papel fundamental na ativação e agregação plaquetária. Ao se ligar a receptores específicos na superfície das plaquetas, particularmente os receptores $\alpha 2$ -adrenérgicos, a epinefrina inicia cascatas de sinalização intracelular. Essa cascata induz rápidas mudanças na forma das plaquetas e

desencadeia a liberação de íons cálcio, mediada principalmente pela ativação dos receptores $\alpha 2$ -adrenérgicos. A resposta sustentada, essencial para uma agregação estável, também é facilitada pela ativação desses receptores. O Reagente de Epinefrina é fundamental para estimular de forma precisa a ativação e agregação plaquetária ao interagir com esses receptores adrenérgicos. A observação da agregação plaquetária em resposta ao Reagente de Epinefrina permite avaliar a função/qualidade das plaquetas e distúrbios associados a anormalidades na ativação e agregação plaquetária. Esse processo é essencial para compreender a dinâmica da formação de coágulos e avaliar a eficácia de terapias antiplaquetárias na prevenção de eventos trombóticos. A epinefrina promove a liberação de mediadores secundários, amplificando ainda mais a ativação e agregação plaquetária.

AUTOMAÇÃO

Os reagentes do Kit Combo PAR/PAK® II destinam-se ao uso em agregômetros de plaquetas por transmissão de luz, semiautomatizados e automatizados. Esses reagentes também podem ser utilizados com outros analisadores turbidimétricos ou de impedância, bem como com citômetros de fluxo.

QUALIDADE / QUANTIDADE

Não existem padrões primários para os reagentes do Kit Combo PAR/PAK® II. As respostas a esses reagentes são dependentes da concentração. Um doador normal conhecido deve ser testado com cada novo lote dos reagentes do Kit Combo PAR/PAK® II. Organizações de padronização classificam a agregação plaquetária induzida por ADP, Colágeno e Epinefrina como semiquantitativa ou quantitativa.

O Kit Combo PAR/PAK® II é fornecido contendo 2 frascos de 0,5 mL de Reagente ADP, 2 frascos de 0,5 mL de Reagente de Colágeno e 2 frascos de 0,5 mL de Reagente de Epinefrina. A concentração de trabalho do ADP é 200 μ M, do Colágeno é 1,9 mg/mL e da Epinefrina é 100 μ M.

TIPO DE AMOSTRA

A amostra de teste é preparada a partir de sangue total anticoagulado com 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, Colágeno e Epinefrina podem ser utilizados com Plasma Rico em Plaquetas (PRP) humano ou animal para testes de agregação plaquetária de rotina. Os resultados são baseados na concentração, extensão e velocidade de agregação em comparação com um branco de Plasma Pobre em Plaquetas (PPP).

POPULAÇÃO DE TESTE

- Humano: Para ADP e Colágeno, a prevalência de los trastornos plaquetarios es global y puede variar según la raza, etnia, grupo sanguíneo y otros factores. La incidencia es variable. Para la Epinefrina, la prevalencia de una agregación anormal con el Reactivo de Epinefrina es del 16–20 % en personas sanas. Es global y puede variar según la raza, etnia, grupo sanguíneo y otros factores. La incidencia es variable.
- Fármacos Antiplaquetarios: Para el ADP, la prevalencia y la incidencia son variables. El 4 % de la población mayor de 40 años toma fármacos antiplaquetarios distintos de la Aspirina. 33 % (en adultos > 40); 16 % con terapia antiplaquetaria dual (DAPT); y 8 % con terapia antiplaquetaria (APT). Para el Colágeno, la prevalencia de una agregación anormal con el Reactivo de Colágeno, dependiendo del uso estimado de Aspirina, puede alcanzar hasta un tercio de la población. Tanto el Clopidogrel como la combinación de Clopidogrel con Aspirina pueden influir en la agregación plaquetaria inducida por Colágeno. La incidencia es variable. Para la Epinefrina, la prevalencia y la incidencia son variables. Se han observado diferentes tasas de respuesta a la Epinefrina en distintas poblaciones. Los estudios han demostrado que la terapia antiplaquetaria dual y la Aspirina pueden influir en la agregación plaquetaria inducida por Epinefrina.
- Trastornos Plaquetarios Hereditarios: Para el ADP, la prevalencia y la incidencia son variables. Existen 60 tipos de trastornos plaquetarios hereditarios que afectan aproximadamente al 0,3 % de la población. Ciertos defectos plaquetarios hereditarios, como la trombostenia de Glanzmann y la enfermedad del pool de almacenamiento, no muestran respuesta a los reactivos de Colágeno. Para la Epinefrina, la prevalencia de una respuesta anormal a la epinefrina en las personas varía según el defecto. La incidencia es variable.
- Animal: Para ADP, Colágeno y Epinefrina, la prevalencia y la incidencia dependen de la especie.

DIAGNÓSTICO IN VITRO

O conteúdo do Kit Combo PAR/PAK® II consiste em reagentes de diagnóstico in vitro destinados exclusivamente ao uso profissional em laboratório. Estes reagentes não se destinam à injeção ou ingestão.

USUÁRIO PRETENDIDO

Os reagentes do Kit Combo PAR/PAK® II destinam-se ao uso profissional em laboratório por pessoal qualificado.

PRINCÍPIO DO TESTE

Quando introduzidos em uma amostra de teste de Plasma Rico em Plaquetas (PRP) sob agitação a 37 °C, reagentes exógenos como ADP, Colágeno e Epinefrina estimulam as plaquetas, levando-as a sofrer mudança de forma e a se agregarem. Essa agregação inicial é chamada de agregação primária e é reversível. No entanto, plaquetas normais possuem a capacidade de liberar ADP endógeno de seus grânulos, resultando em uma segunda onda de agregação irreversível. O agregômetro de plaquetas por transmissão de luz captura efetivamente essas alterações, exibindo parâmetros como fase de latência, mudança de forma e a taxa e extensão da agregação ao longo de um período de teste predeterminado.

Para a Epinefrina, pode ser demonstrada hiper-reatividade. Nesse caso, o Procedimento de Plaquetas Pegajosas (Sticky Platelet Procedure) deve ser seguido para confirmação. Nem todos os indivíduos saudáveis apresentam resposta ao Reagente de Epinefrina.

CALIBRADORES E CONTROLES

Não são necessários calibradores ou controles para o Kit Combo PAR/PAK® II. Uma amostra de um doador conhecido deve ser testada com cada lote dos reagentes ADP, Colágeno e Epinefrina. As respostas são dependentes da concentração.

LIMITAÇÕES DO REAGENTE

Os reagentes do Kit Combo PAR/PAK® II apresentarão desempenho conforme especificado quando as Instruções de Uso forem seguidas. Os reagentes devem ser utilizados antes da data de validade impressa em cada frasco.

REAGENTES FORNECIDOS

REF	101310:	2 viales de Reactivo de ADP (0,5 mL)
		2 viales de Reactivo de Colágeno (0,5 mL)
		2 viales de Reactivo de Epinefrina (0,5 mL)

REAGENTES E MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

- Água Purificada (Destilada, Deionizada, Grau Reagente), pH 5,3 – 7,2 para reconstituição
- Solução Salina Tamponada com TRIS (TBS) ou solução salina fisiológica a 0,85% para diluições


 **OBSERVAÇÃO: O USO DE SOLUÇÃO SALINA DE HEMOTERAPIA (BLOOD BANK) CAUSARÁ RESULTADOS ERRÔNEOS.**

MATERIAIS E ACESSÓRIOS

- Agregômetro de Plaquetas (Seguir as Instruções de Uso do Fabricante)
- Centrífuga
- Pipeta Eletrônica
- Pontas para Pipeta ②
- Tubos de Teste para Agregômetro (Siliconizados) ②
- Barras Magnéticas para Agregômetro (Revestidas com Plástico) ②
- Tubos Plásticos para Amostras e Tampas (para Diluições) ②

 **OBSERVAÇÃO: ITENS DESCARTÁVEIS, COMO TUBOS DE TESTE, BARRAS MAGNÉTICAS, TUBOS PARA AMOSTRAS E TAMPAS, SÃO PARA USO ÚNICO SOMENTE**

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE


 Os reagentes ADP, Colágeno e Epinefrina não requerem controle de temperatura durante o transporte.

 Ao serem recebidos, os reagentes ADP, Colágeno e Epinefrina devem ser armazenados entre 2–8 °C em suas embalagens originais.

 Após reconstituição, os reagentes ADP, Colágeno e Epinefrina são estáveis por 30 dias quando armazenados em seus recipientes originais, bem fechados, entre 2–8 °C.

 As diluições contendo Reagente ADP são estáveis por 2 horas à temperatura ambiente.

ESTERILIDADE


 Os reagentes do Kit Combo PAR/PAK® II não são produtos estéreis. Deve-se ter cuidado para não contaminar o produto ao pipetar os reagentes reconstituídos ou alíquotados.


AVISOS E PRECAUÇÕES

 Utilize EPI de acordo com as políticas e práticas laboratoriais ao manusear os reagentes ADP, Colágeno e Epinefrina.


 Siga as precauções padrão ao preparar amostras e espécimes de teste.

 Manuseie os reagentes ADP, Colágeno e Epinefrina com cuidado para evitar contaminação durante o uso.

 Evite a evaporação dos reagentes limitando as superfícies de troca ar-líquido.

 Para garantir resultados ótimos, uma amostra de controle de doador conhecido deve ser analisada de forma consecutiva, sem interrupção.

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

 Descarte os materiais pós-teste de acordo com os regulamentos aplicáveis e as políticas laboratoriais.

 **NOTA AO USUÁRIO: QUALQUER INCIDENTE GRAVE RELACIONADO A ESTE PRODUTO DEVE SER COMUNICADO AO FABRICANTE E À AUTORIDADE COMPETENTE DO ESTADO-MEMBRO NO QUAL O USUÁRIO E/OU PACIENTE ESTIVEREM ESTABELECIDOS**


STATUS DO MATERIAL INFECCIOSO

Os reagentes do Kit Combo PAR/PAK® II não contêm materiais infecciosos. As amostras e espécimes de teste devem ser considerados infecciosos e devem ser manuseados como se fossem capazes de transmitir infecção. Após o teste, as amostras e espécimes devem ser descartados em conformidade com os regulamentos aplicáveis e as políticas laboratoriais.

INSTALAÇÕES ESPECIAIS

Os reagentes do Kit Combo PAR/PAK® II não requerem o uso de instalações especiais no ambiente laboratorial.

PREPARO PARA USO

 **NOTA: OS REAGENTES DO KIT COMBO PAR/PAK® II DEVEM ESTAR À TEMPERATURA AMBIENTE (15–28 °C) ANTES DA RECONSTITUIÇÃO. OS REAGENTES ARMAZENADOS DEVEM SER LEVADOS À TEMPERATURA AMBIENTE ANTES DO USO.**

RECONSTITUIÇÃO

A concentração de trabalho do ADP reconstituído é 200 µM, do Colágeno é 1,9 mg/mL e da Epinefrina é 100 µM. Todas as concentrações finais são baseadas na adição de 25 µL dos reagentes ADP, Colágeno e Epinefrina a uma amostra de teste de 225 µL de Plasma Rico em Plaquetas (PRP).

- Reconstituir os reagentes ADP, Colágeno e Epinefrina com 0,5 mL de Água Purificada.
- Inverter suavemente para misturar

 **NOTA: OS REAGENTES DE ÁCIDO ARAQUIDÔNICO E EPINEFRINA PODEM APRESENTAR TURBIDEZ, MAS SE TORNARÃO CLAROS A AMARELO-PÁLIDO EM POUCOS MINUTOS.**

- Os reagentes ADP, Ácido Araquidônico, Colágeno e Epinefrina reconstituídos devem ser mantidos tampados antes do uso.

DILUIÇÕES

PARA AGREGAÇÃO BIFÁSICA

Para demonstrar a agregação bifásica induzida por ADP, o Plasma Rico em Plaquetas (PRP) pode ser testado com várias diluições do reagente. Diluições adicionais podem ser realizadas para determinar a concentração limiar. A concentração limiar é a menor concentração capaz de provocar uma resposta de agregação primária.

 **OBSERVAÇÃO: PARA DILUIÇÕES, UTILIZE SOLUÇÃO SALINA TAMPONADA COM TRIS (TBS) OU SOLUÇÃO SALINA FISIOLÓGICA A 0,85%.**

TABELA 1: TABELA DE DILUIÇÃO DO 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

PREPARO DO PACIENTE

Os pacientes devem abster-se de tomar aspirina ou utilizar medicamentos e produtos que contenham aspirina, bem como outros medicamentos, suplementos ou bebidas energéticas conhecidos por afetar a função plaquetária, por um período de 7 a 10 dias antes da coleta da amostra. A ingestão de alimentos gordurosos, laticínios e o hábito de fumar devem ser evitados por 12 horas antes da coleta da amostra.

 **OBSERVAÇÃO: A CONSULTA COM UM MÉDICO É OBRIGATÓRIA ANTES DE REALIZAR QUALQUER ALTERAÇÃO NA MEDICAÇÃO.**

COLETA DA AMOSTRA

A amostra deve ser coletada com cuidado para evitar estase, hemólise, contaminação por fluido tecidual e exposição ao vidro. As amostras devem ser mantidas à temperatura ambiente. O torniquete deve ser liberado assim que o sangue começar a fluir para o dispositivo de coleta.



ADOpte PRECAUÇÕES PADRÃO DURANTE TODO O PROCESSO DE COLETA DA AMOSTRA, PREPARO DO MATERIAL E PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS. DES-CARTE MATERIAIS PERFUOCORTANTES E RESÍDUOS BIOLÓGICOS DE ACOR-DO COM OS REGULAMENTOS APLICÁVEIS E AS POLÍTICAS DO LABORATÓRIO.

Técnica de Coleta de Amostra com Sistema a Vácuo

- Utilize um conjunto de coleta com agulha tipo “borboleta” de 21g ou 23g para a coleta da amostra.
- Colha o sangue em tubos plásticos de coleta a vácuo contendo citrato de sódio a 3,2% (0,11 M) como anticoagulante.
- Misture suavemente o tubo de coleta 4 a 5 vezes por inversão.
- Anote o horário da coleta no rótulo da amostra.
- Mantenha os tubos de coleta à temperatura ambiente.
- Misture novamente os tubos antes da centrifugação.

Técnica de Coleta com Seringa

- Utilize um conjunto de coleta com agulha tipo “borboleta” de 21g ou 23g para a punção venosa.
- Colha 9,0 mL de sangue em uma seringa plástica, evitando sucção excessiva.
- Prensione o tubo da agulha borboleta e desconecte a seringa.
- Imediatamente e cuidadosamente dispense a amostra de sangue em um tubo plástico (polipropileno) contendo 1,0 mL de citrato de sódio 0,11 M como anticoagulante. A proporção entre sangue e anticoagulante é de 9 partes de sangue para 1 parte de anticoagulante.
- Tampe o tubo plástico.
- Misture suavemente o tubo de coleta 4 a 5 vezes por inversão.
- Anote o horário da coleta no rótulo da amostra.
- Mantenha os tubos de coleta à temperatura ambiente.
- Misture novamente os tubos antes da centrifugação.



OBSERVAÇÃO: QUANDO O HEMATÓCRITO DO PACIENTE FOR INFERIOR A 30% OU SUPERIOR A 55%, A PROPORÇÃO ENTRE SANGUE E ANTICOAGULANTE DEVE SER AJUSTADA. OS TUBOS DE COLETA A VÁCUO COM TAMPAS AZULS DEVEM CONTER CITRATO DE SÓDIO A 3,2% (0,11 M), QUE É A CONCENTRAÇÃO RECOMENDADA PARA ESTUDOS DE FUNÇÃO PLAQUETÁRIA.

PREPARO DA AMOSTRA

Plasma Rico em Plaquetas (PRP)

- Centrifugue o sangue anticoagulado a 150 x g por 10 minutos à temperatura ambiente.
- Examine a camada de plasma em busca de hemácias.
- Se houver presença de hemácias, recentrifugue por mais 5 minutos.
- Utilize uma pipeta para transferir o PRP para um recipiente plástico rotulado como PRP.
- Remova o PRP a partir de um ponto logo abaixo da metade do volume do PRP, para garantir uma contagem plaquetária consistente (A PARTE SUPERIOR DO VOLUME POSSUI UMA MENOR CONCENTRAÇÃO DE PLAQUETAS E A PARTE INFERIOR É MAIS CONCENTRADA).
- Tampe o recipiente.
- Deixe o recipiente repousar à temperatura ambiente.

Plasma Pobre em Plaquetas (PPP)

- Centrifugue o restante da amostra de sangue com PRP a 2.500 x g por 20 minutos.
- Utilize uma pipeta para transferir o PPP para um recipiente plástico rotulado como PPP.
- Tampe o recipiente.
- Deixe o recipiente repousar à temperatura ambiente.

PROCEDIMENTO DO ENSAIO

Procedimento Rotineiro de Agregação



OBSERVAÇÃO: ESTE É UM PROCEDIMENTO GERAL. SIGA AS INSTRUÇÕES DE USO FORNECIDAS PELO FABRICANTE DO AGREGÔMETRO UTILIZADO.

Prepare um Branco para Cada Paciente



OBSERVAÇÃO: CADA PACIENTE DEVE TER SEU PRÓPRIO BRANCO. O BRANCO DE UM PACIENTE NÃO PODE SER UTILIZADO PARA NENHUM OUTRO PACIENTE. O BRANCO DO PACIENTE DEVE SER PREPARADO A PARTIR DA AMOSTRA DE PLASMA POBRE EM PLAQUETAS (PPP) DO PRÓPRIO PACIENTE. SE O MESMO PACIENTE ESTIVER SENDO TESTADO EM MÚLTIPLOS POÇOS DE TESTE, O MESMO BRANCO DESSE PACIENTE PODE SER UTILIZADO PARA ESSES POÇOS.

- Identifique um tubo de ensaio com a letra “B”, o número do poço de teste e a identificação do paciente para marcar o Branco.
- Pipete 250 µL de Plasma Pobre em Plaquetas (PPP) no tubo de ensaio (NÃO ADICIONE A BARRA MAGNÉTICA).
- Reserve o tubo com o Branco para uso posterior.

- Repita os passos acima para cada paciente.

Preparar as Amostras

- Identifique de um a oito tubos de ensaio novos com a identificação do paciente e o número do poço de teste.
- Coloque os tubos identificados no poço correspondente (nº 1 a 8) das cavidades de incubação com agitação.
- Adicione uma barra magnética a cada tubo de ensaio.
- Pipete 225 µL da amostra de Plasma Rico em Plaquetas (PRP) em cada tubo de ensaio nas cavidades de incubação com agitação (CERTIFIQUE-SE DE QUE NÃO HÁ BOLHAS).
- Selecione o cronômetro na tela para cada cavidade de incubação com agitação em uso; a contagem regressiva para aquecimento será iniciada.
- As amostras serão incubadas a 37 °C durante o tempo predefinido.
- Ajuste a linha de base de 100% (Branco).
- Coloque o tubo de ensaio do Branco do paciente previamente preparado no poço de teste nº 1.
- Selecione BLANK para ativar o poço de teste.
- O botão BLANK mudará para START.
- Repita os passos acima para cada poço de teste que for utilizado.

Iniciar o Teste

- Assim que o cronômetro atingir 0:00, pressione o botão do cronômetro para parar a incubação em cada cavidade de amostra com agitação.
- Transfira o tubo de ensaio da cavidade de incubação com agitação nº 1 para o poço de teste nº 1.
- Repita o passo acima para cada poço de teste, certificando-se de que todos os tubos permaneçam com o número correspondente do poço durante a transferência.
- Feche as guias da pipeta.
- Selecione START para o poço de teste nº 1.
- Pipete 25 µL do reagente diretamente no tubo de ensaio com Plasma Rico em Plaquetas (PRP) no poço de teste nº 1 (NÃO PERMITA QUE O REAGENTE ESCORRA PELA PAREDE DO TUBO DE ENSAIO NEM QUE A PONTA DA PIPETA QUEBRE A SUPERFÍCIE DA AMOSTRA).
- Selecione INJECT para o poço de teste nº 1.
- Repita os passos acima para cada poço de teste que estiver sendo utilizado.
- O teste será executado pelo tempo predefinido (OUTROS PROCEDIMENTOS DE TESTE DE FABRICANTES DIFERENTES PODEM ESPECIFICAR TEMPOS OU VOLUMES DIFERENTES).



OBSERVAÇÃO: UTILIZE UM DOADOR CONHECIDO COMO AMOSTRA CONTROLE. CADA LABORATÓRIO DEVE ESTABELECEER E VALIDAR SEU PRÓPRIO PROTOCOLO DE TESTE E VERIFICAR O DESEMPENHO RESULTANTE DO SEU SISTEMA DE TESTE (REAGENTES, INSTRUMENTO E PROTOCOLO DE TESTE).

CONTROLE DE QUALIDADE

Para estudos de agregação plaquetária, um doador conhecido deve ser testado da mesma forma que o paciente para garantir o desempenho e a consistência do sistema de teste. Um novo controle deve ser incluído em cada série de testes e, preferencialmente, com cada novo lote de reagente ou após manutenção do instrumento. Cada laboratório deve definir suas faixas aceitáveis para sua população de pacientes e verificar o desempenho esperado do sistema de teste.

RESULTADOS

Os padrões de agregação para os reagentes do Kit Combo PAR/PAK® II estão ilustrados nas Figuras 1 a 6.

REAGENTE ADP

Os padrões típicos de agregação induzidos pelo Reagente ADP estão ilustrados nas Figuras 1 e 2. Quando o Reagente ADP é utilizado em uma concentração final de 20 µM, ele induz uma grande onda única de agregação no Plasma Rico em Plaquetas (PRP) normal. Em concentrações mais baixas, variando de 2 µM a 10 µM, podem ser observadas duas ondas distintas de agregação. A onda primária é a resposta imediata ao ADP exógeno introduzido pelo reagente, enquanto a onda secundária resulta da liberação de ADP endógeno do pool de armazenamento de nucleotídeos dentro das plaquetas.

Em algumas amostras normais de PRP, pode ser observada desagregação dependente da concentração, indicando uma resposta variável a diferentes concentrações de ADP. Marcas de pico nas figuras indicam os pontos em que o reagente foi adicionado, fornecendo referências claras para o momento da introdução do reagente e seus efeitos no processo de agregação.

REAGENTE DE COLÁGENO

Os padrões típicos de agregação induzidos pelo Reagente de Colágeno estão ilustrados nas Figuras 3 e 4, fornecendo uma representação detalhada dos efeitos do reagente no Plasma Rico em Plaquetas (PRP). Após a adição do Reagente de Colágeno ao PRP, ocorre uma fase de latência inicial durante a qual não há agregação observável. Após essa fase de latência, as plaquetas normais apresentam uma mudança de forma perceptível. Em seguida à mudança de forma, observa-se uma grande onda única de agregação, demonstrando a resposta robusta das plaquetas ao Reagente de Colágeno.

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

FIGURA 1: AGREGAÇÃO NORMAL COM ADP

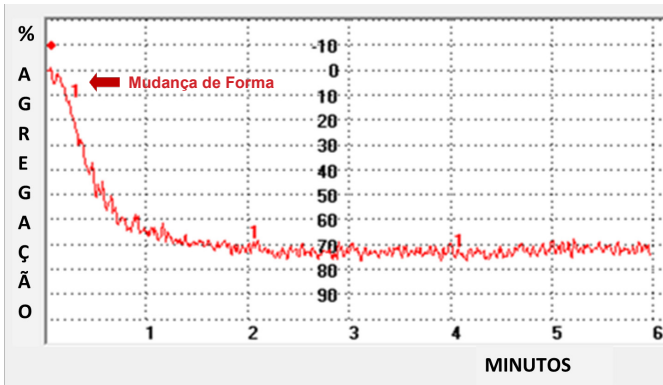


FIGURA 2: AGREGAÇÃO ANORMAL COM ADP

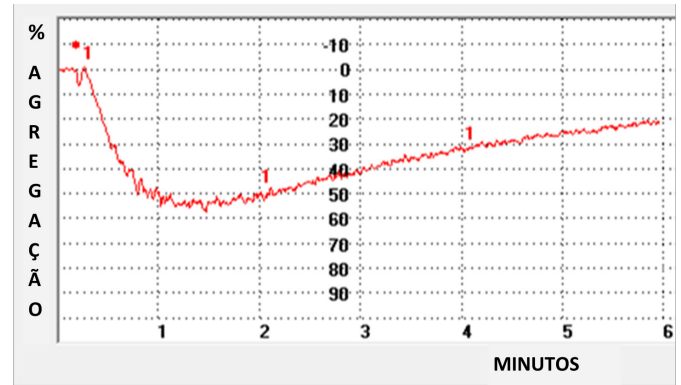


FIGURA 3: AGREGAÇÃO NORMAL COM COLÁGENO

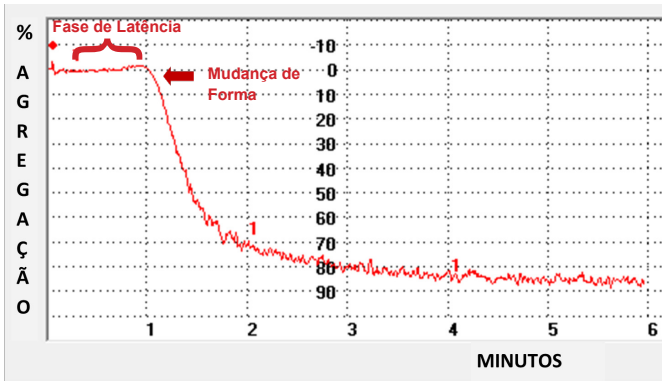


FIGURA 4: AGREGAÇÃO ANORMAL COM COLÁGENO

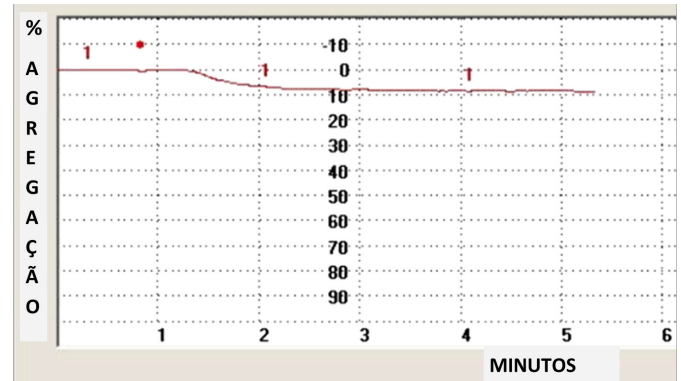


FIGURA 5: AGREGAÇÃO NORMAL COM EPINEFRINA

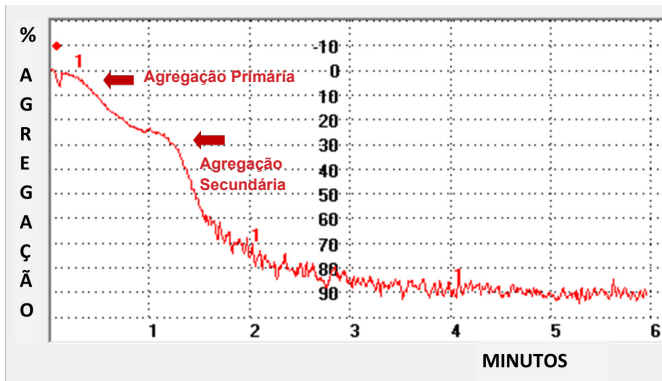
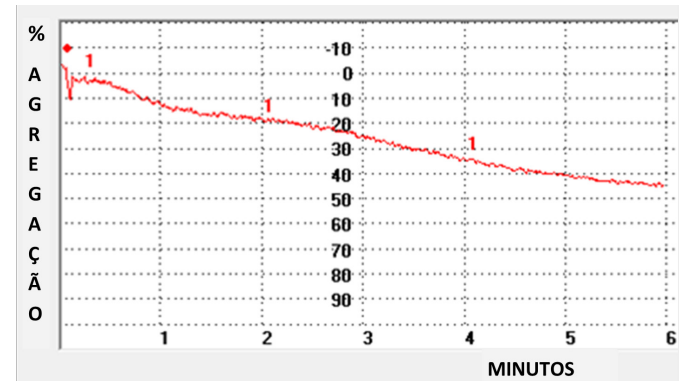


FIGURA 6: AGREGAÇÃO ANORMAL COM EPINEFRINA



REAGENTE DE EPINEFRINA

Os padrões típicos de agregação induzidos pelo Reagente de Epinefrina estão ilustrados nas Figuras 5 e 6, oferecendo uma visão abrangente de seus efeitos no Plasma Rico em Plaquetas (PRP). Quando o Reagente de Epinefrina é adicionado ao PRP normal, ele 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 resulta da liberação de agonistas plaquetários adicionais a partir dos grânulos dentro das plaquetas, amplificando ainda mais o processo de agregação.

Essa resposta bifásica é uma característica de amostras de PRP saudáveis, indicando função plaquetária normal. Por outro lado, uma agregação anormal à Epinefrina é identificada quando a agregação final é inferior a 30%, conforme mostrado na Figura 10. Essa resposta reduzida pode indicar disfunção plaquetária ou outras anormalidades hematológicas, fornecendo informações valiosas.

Indicadores de pico nas figuras marcam os pontos exatos em que o reagente é adicionado, oferecendo referências claras para o momento da introdução do reagente. Esses marcadores são essenciais para correlacionar a adição do Reagente de Epinefrina com os padrões de agregação observados, permitindo uma análise precisa de seus efeitos imediatos no processo de agregação.

VALORES ESPERADOS

Cada laboratório deve estabelecer suas próprias faixas esperadas e características de desempenho para este reagente nas concentrações utilizadas para induzir a agregação plaquetária. Essas faixas devem ser determinadas utilizando a instrumentação, os procedimentos, os intervalos de referência e a população de pacientes específicos do laboratório.

A literatura publicada relata que o Reagente ADP geralmente produz uma resposta de Agregação Final na faixa de 69–91% e uma Fase de Latência de ≥ 15 segundos, o Reagente de Colágeno geralmente produz uma resposta de Agregação Final na faixa de 66–92% e uma Fase de Latência de ≥ 61 segundos, e o Reagente de Epinefrina geralmente produz uma resposta de Agregação Final na faixa de 54–92%, sob condições de teste padrão. Essas faixas baseadas na literatura são fornecidas apenas como informação geral; os laboratórios devem verificar e estabelecer suas próprias faixas esperadas antes do uso clínico.

TABELA 2: RESULTADOS DE ADP, COLÁGENO E EPINEFRINA OBSERVADOS EM DEFEITOS DA FUNÇÃO PLAQUETÁRIA

DEFEITO	REAGENTE ADP	REAGENTE COLÁGENO	REAGENTE EPINEFRINA
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

↓ = Agregação Reduzida Resultante de uma Diminuição ou Ausência da Onda Secundária
 ↓ ↓ = Agregação Reduzida Resultante de uma Diminuição ou Ausência das Ondas Primária e Secundária
 N = Resposta Normal

LIMITAÇÕES

Na agregometria por transmissão de luz, a presença de hemácias no PRP causará redução da agregação observada. A presença de plaquetas no PPP resultará em aumento da agregação final. Resultados espúrios podem ocorrer se a contagem de plaquetas no PRP for inferior a 75.000 plaquetas/mm³. A contagem de plaquetas no PRP só pode ser realizada pelo método do hemocítmetro. Amostras comprometidas devem ser rejeitadas.

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

DESEMPENHO ANALÍTICO

A agregação plaquetária, induzida por reagentes comumente utilizados como ADP, Colágeno e Epinefrina, é um sistema de teste não linear. As respostas são baseadas na diferença na transmissão de luz entre o Plasma Rico em Plaquetas (PRP) e o Plasma Pobre em Plaquetas (PPP) do paciente e, portanto, os resultados são únicos para cada paciente. Certos parâmetros são mais suscetíveis à não linearidade do que outros, incluindo fase de latência, inclinação primária, inclinação secundária, resposta bifásica e desagregação. A não linearidade é causada por diversos fatores, como a química da reação e a instrumentação. A agregação plaquetária demonstra a taxa de resposta ou atividade e não quantifica os reagentes ou suas concentrações.

Na agregação plaquetária, a exatidão é um parâmetro relativo e depende do sistema de teste. As limitações da agregação plaquetária tornam difícil fornecer faixas típicas de precisão ou reprodutibilidade.

A variabilidade na linearidade, precisão e reprodutibilidade dos resultados em sistemas de teste baseados em reagentes de ADP, Colágeno e Epinefrina é reconhecida por diversas organizações de padronização. O coeficiente de variação (CV) comumente aceito é de $\pm 15\%$.

Reprodutibilidade entre Testes:	menor que $\pm 7,5\%$
Reprodutibilidade entre Equipamentos:	menor que $\pm 15,0\%$
Variabilidade entre Lotes de Reagente:	menor que $\pm 10,5\%$
Entre Laboratórios (Sistema a Sistema):	menor que $\pm 12,5\%$

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 EJJ, 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, Lillicrap D, Montgomery RR. Von Willebrand

Disease: Basic and Clinical Aspects. 2011.

- Gamer JS. Guideline for isolation precautions in hospitals. The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1996 Jan;17(1):53-80.
- Grainick 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 transmission 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, Toffer 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-Porrás 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

	Risco Biológico
	Número de Catálogo
	Atenção
	Produto Registrado e Marcado com CE
	Consultar as Instruções de Uso
	Representante na União Europeia
	Dispositivo de Diagnóstico In Vitro
	Fabricante
	Leitura Obrigatória
	Não Estéril
	Uso Único Apenas
	Limitações de Temperatura
	Produto Registrado e Marcado no Reino Unido
	Representante no Reino Unido

HISTÓRICO DE REVISÕES

N.º do Documento: 107757 Revisão: AA, Fevereiro de 2026

- Instruções de Teste Modificadas
- Requisitos Regulatórios do IVDR Implementados
- Reformatação e Reconfiguração para Melhorar a Usabilidade pelo Operador

Tradução do documento nº: 101314 Revisão: AA


N.º do Documento: 107757 Revisão: AB, Março de 2026

- Correções editoriais (tipográficas); nenhuma alteração no conteúdo ou nas informações regulamentares.
- Seção de Resultados Esperados atualizada: gráfico de resultados removido, adicionadas declarações de faixas baseadas na literatura para os reagentes ADP, Colágeno e Epinefrina, e esclarecido que os laboratórios devem estabelecer suas próprias faixas esperadas.

Tradução do documento nº: 101314 Revisão: AB

Para obter um catálogo completo de produtos, visite nosso site em www.biodatacorp.com ou entre em contato com nosso Departamento de Atendimento ao Cliente.

A LINHA DE PRODUTOS DA BIO/DATA CORPORATION INCLUI REAGENTES DE USO GERAL, DESTINADOS AO USO EM LABORATÓRIO PROFISSIONAL, COM A FINALIDADE DE INDUZIR E RELATAR A ATIVIDADE E AS RESPOSTAS DA FUNÇÃO PLAQUETÁRIA. ESTE PRODUTO ESTÁ GARANTIDO PARA FUNCIONAR CONFORME DESCRITO EM SUA ROTULAGEM, INCLUINDO AS INSTRUÇÕES DE USO. A BIO/DATA CORPORATION NÃO FAZ NENHUMA DECLARAÇÃO OU GARANTIA, EXPRESSA OU IMPLÍCITA, QUANTO À CAPACIDADE, ADEQUAÇÃO OU COMERCIALIZAÇÃO PARA QUALQUER OUTRO FIM. EM NENHUMA HIPÓTESE A BIO/DATA CORPORATION SERÁ RESPONSÁVEL POR QUAISQUER DANOS CONSEQUENTES DECORRENTES DA GARANTIA EXPRESSA ACIMA MENCIONADA.

 155 Gibraltar Road
Horsham, PA 19044 EUA

Telefone Internacional: +1 215-441-4000
Telefone EUA: 1-800-257-3282
Fax Internacional: +1 215-443-8820
customer.service@biodatacorp.com

©BIO/DATA CORPORATION 2026

 REF

101310



UMA EMPRESA REGISTRADA NA ISO 13485

www.biodatacorp.com

ORGULHOSAMENTE FABRICADO NOS EUA

 EU REP

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

 UK REP

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



PAR/PAK II INSTRUCTIONS FOR USE # 107757 REV AB PORTUGUESE