

DESCRIÇÃO DO PRODUTO

A ADP é uma preparação liofilizada de adenosina-5'-difosfato. A concentração de trabalho do reagente reconstituído é de 200 µM, consulte a Tabela 1

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O reagente ADP destina-se a uso de rotina, na obtenção de uma ativação dependente da concentração ou resposta de agregação numa amostra de plasma rico em plaquetas.

PRINCÍPIO

Quando adicionada ao plasma rico em plaquetas, a ADP estimula as plaquetas a mudarem a sua forma e a agregarem-se. A agregação induzida por ADP exógena é referida como agregação primária e é reversível.

As plaquetas normais responderão ainda mais libertando ADP endógena dos seus grânulos. A libertação de ADP endógena resulta numa onda secundária de agregação que é irreversível.^{8,10,11}

PRECAUÇÕES

A ADP destina-se apenas a uso profissional em laboratório. A ADP destina-se a ser usada APENAS COMO REAGENTE PARA 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

ADP, 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
4. Barras de agitação descartáveis
5. Cubetas de agregómetros

INSTRUMENTAÇÃO

A ADP irá funcionar conforme descrito quando usada na maioria dos agregómetros óticos de plaquetas¹. Siga as instruções do fabricante relativas à operação do 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, quílosa, 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 com 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 plásticos de colheita a vácuo, verifique se o anticoagulante citrato de sódio 3,2% é 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.

Técnica da seringa

- 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 com 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. Mantenha na posição vertical e à temperatura ambiente (15° a 28 °C).

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

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 à temperatura ambiente (15° a 28 °C).
2. Examine a camada de plasma para detetar glóbulos vermelhos. Se os glóbulos vermelhos estiverem presentes, centrifugue 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.

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 ADP com 0,5 mL de água purificada.

ARMAZENAMENTO DE REAGENTES

A ADP reconstituída permanece estável durante 30 dias quando armazenada a 2° - 8°C no seu recipiente original hermeticamente fechado.

PROCEDIMENTO DE TESTE

O teste deve ser concluído no prazo máximo de 4 horas após a colheita da amostra.⁸

1. Coloque o número apropriado de cubetas necessárias para o teste nos poços de incubação
 - a. adicione uma barra de agitação em cada cubeta
2. Prepare um branco pipetando 0,250 mL de plasma pobre em plaquetas (PPP) numa cubeta.
 - a. não adicione uma barra de agitação.
3. Pipete 0,225 mL da amostra de plasma rico em plaquetas (PRP) numa cubeta pré-aquecida para cada paciente a ser testado.
4. Coloque a cubeta da amostra de plasma de PRP no poço de incubação.
 - a. selecione o botão de temporizador e a contagem regressiva irá ter início
 - b. incube a amostra a 37 °C durante o tempo predefinido.
5. Defina a linha de base de 100% colocando o branco no poço de teste.
 - a. selecione o botão de branco
6. Coloque a cubeta da amostra de plasma de PRP no poço de teste.
 - a. selecione iniciar
7. Adicione 0,025 mL de reagente diretamente no plasma rico em plaquetas
 - a. selecione injetar
 - i. não permita que o reagente escorra pela parede do tubo.
8. O teste será executado por um tempo pré-definido (6 min).
 - a. os procedimentos de teste de outros fabricantes podem especificar tempos diferentes.

AGREGAÇÃO BIFÁSICA

Para demonstrar 2 ondas distintas ou agregação de ADP "bifásica", o plasma rico em plaquetas pode ser testado com várias diluições do reagente.¹⁰

Prepare as concentrações diluídas de ADP da seguinte forma: Use sempre soro fisiológico 0,85% ou 0,90% para as diluições.

Tabela 1

| ADP | Soro fisiológico | Concentração de trabalho | Concentração final |
|-------------|------------------|--------------------------|--------------------|
| ----- | ----- | 200 µM | 20 µM |
| 125 µL | 125 µL | 100 µM | 10 µM |
| 62 µL | 188 µL | 50 µM* | 5 µM |
| 50 µL | 200 µL | 40 µM | 4 µM |
| 38 µL | 212 µL | 30 µM | 3 µM |
| 25 µL | 225 µL | 20 µM** | 2 µM |
| 12 µL | 238 µL | 10 µM | 1 µM |
| 25 µL of * | 225 µL | 5 µM | 0.5 µM |
| 25 µL of ** | 225 µL | 2 µM | 0.2 µM |

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, deve avaliar-se uma amostra de controlo 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 um histórico de função plaquetária normal.^{12,13,14}

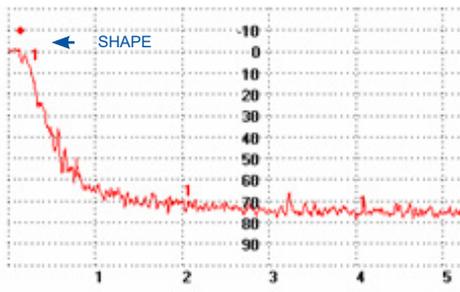


Figura 1 Agregação normal
(Concentração final 20 µM), consulte

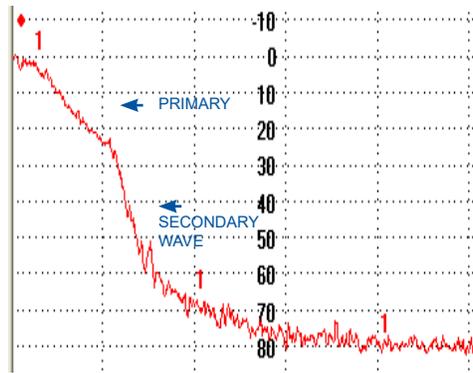


Figura 2 Agregação normal
(Concentração final 4µM), consulte a

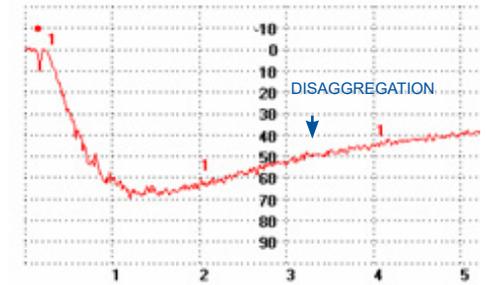


Figura 3 Agregação anormal
(Concentração final 20µM), consulte a

LEGENDA: Resultados da agregação plaquetária induzida por ADP em plasma rico em plaquetas normal e anor-

A marca de spike indica a adição de reagente. A desagregação dependente da concentração pode ser observada em alguns PRP normais. Este fenômeno é mostrado na Figura 3.

RESULTADOS

Padrões típicos de agregação de ADP são ilustrados nas figuras 1 - 3.

O ADP, na concentração final de 20 µM, induzirá uma grande onda única de agregação no plasma rico em plaquetas normal. Numa concentração final (em teste) de 2 µM a 10 µM, podem ser observadas duas ondas de agregação (veja a figura 2). A onda primária é a resposta à ADP (reagente) exógena. A onda secundária ocorre devido à liberação de ADP endógena do pool não metabólico de nucleotídeos (pool de armazenamento) contido nas plaquetas.⁹

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}

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

Tabela 2

| | ADP | Ácido araquidônico | Colagénio [tipo I] | Epinephrine |
|--------------------------|----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|--------------------|-----------------------------------------------------------|
| Conc. final | 20 µM | 500µg/mL | 0.19mg/mL | 100 µM |
| Fase de latência [seg] | <10 | <=20 | <60 | 0 |
| Inclinação primária | 38-70 | >20 | 35-67 | 7-45 |
| Agregação total (%@5min) | 62-101 | 65-90 | 63-109 | 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

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 ervas (ou suplementos) e álcool podem afetar os resultados.^{7,8}

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Estudos mostraram que este produto funcionará conforme descrito antes da sua data de validade quando as instruções de procedimento e armazenamento forem seguidas.

Linearidade:

A agregação plaquetária induzida por agonistas comuns (ADP, ácido araquidônico, colagénio 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 de lote para lote do reagente: menos de ± 10,5%
 Laboratório para laboratório (o 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.
- For Testing Plasma Based Settings, Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L, and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee, <http://www.cdc.gov/nicod/dhqp/pfd/isolation2007.pdf>
- CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third edition. CLSI Document M29-A3. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute. 2005
- 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 Triplet, DA, ed. Platelet Function: laboratory Evaluation and Clinical Application. ASCP. Chicago. 1978. p 69.
- CLSI. Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing of Plasma Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline - Fifth Edition; CLSI Document H21 A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008
- Weiss, HJ: Aspirin and platelets in drugs and hematologic reactions. Dimittov and Nodine (eds.). Grune and Stratton, New York, 1974.
- Triplet, DA, Harms, CS, Newhouse, P, Clark, C: Platelet Function. Laboratory Evaluation and Clinical Application. ASCP, 1978.
- Day, HJ, Holmsen, H: Laboratory tests of platelet function. Annal Clin Lab Sci, 2:63, 1972.
- Owen, CA, Bowie, EJW, Thompson, JH: The diagnosis of bleeding disorder. Little, Brown and Co., 1975.
- William, WJ, Beutler, E., Erslev, AJ, Rundles, RW: Hematology. McGraw-Hill, 1977.
- CLSI. Platelet Function Testing by Aggregometry; Approved Guideline. CLSI Document H58-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008
- JO Westgard, Basic QC Practices, 3rd ed. Madison, WI: Westgard QC, Inc., 2010
- CLSI. Assessment of Laboratory Tests When Proficiency Testing Is Not Available; Approved Guideline - Second Edition. CLSI Document GP 29-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008

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 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
 (800) 257-3282 EUA (215) 441-4000 Mundo
 (215) 443-8820 Fax Mundial
 E-mail: clientes.service@biodatacorp.com
 Internet: www.biodatacorp.com
 Uma empresa com certificação ISO 13485



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



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

