

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

ADP es una preparación liofilizada de adenosina 5'-difosfato. La concentración de trabajo del reactivo reconstituido es 2×10^{-4} M, véase tabla 1.

USO PREVISTO

ADP está indicado para usarse en los estudios rutinarios de agregación plaquetaria en la evaluación de disfunciones plaquetarias o de activación plaquetaria.

PRINCIPIO

Cuando se añade a plasma rico en plaquetas, el ADP estimula el cambio de forma de las plaquetas y su agregación. La agregación inducida por ADP exógeno se llama agregación primaria y es reversible. Las plaquetas normales responderán más al liberar el ADP endógeno de sus gránulos. La liberación del ADP endógeno produce una onda secundaria de agregación que es irreversible.^{8,10,11}

PRECAUCIONES

ADP es para DIAGNÓSTICO *IN-VITRO* EXCLUSIVAMENTE Y NO PARA INYECCIÓN O INGESTIÓN.

NOTA PER L'UTENTE: Qualsiasi incidente grave che si dovesse verificare in relazione a questo dispositivo deve essere segnalato al fabbricante e all'autorità competente dello Stato Membro in cui risiede l'utilizzatore e/o il paziente.

MATERIALES SUMINISTRADOS

ADP, 3 x 0,5 ml. Guarde a 2-8 °C antes de su reconstitución.

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

1. Agregómetro de plaquetas
2. Agua purificada (destilada, desionizada o de grado reactivo), pH 5,3-7,2
3. Pipeteadores (volumen de 0,5 ml; 0,45 ml y 0,05 ml)
4. Barras agitadoras desechables
5. Cubetas para el agregómetro

INSTRUMENTACIÓN

El ADP funcionará según se ha descrito cuando se utilice en la mayoría de los agregómetros ópticos de plaquetas¹. Siga las instrucciones de funcionamiento del fabricante del agregómetro en uso.

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA A ANALIZAR

Consulte la normativa actual aprobada H21 A2 del NCCLS para obtener instrucciones detalladas sobre la recogida y la preparación de las muestras.⁶

1. PREPARACIÓN DEL PACIENTE:

Los pacientes deben abstenerse de tomar aspirina o medicamentos que contengan aspirina, otros medicamentos y complementos alimenticios conocidos por afectar la función plaquetaria durante 7-10 días antes de la recogida de muestras. Los pacientes deben ayunar y evitar los alimentos grasos y los productos lácteos durante 12 horas antes de la recogida de muestras.⁶

2. RECOGIDA DE MUESTRAS:

La recogida de sangre debe realizarse con cuidado para evitar situaciones de estasis, hemólisis, contaminación por fluidos tisulares o la exposición al vidrio. Mantenga las muestras a temperatura ambiente.⁶

Lo siguientes factores pueden producir resultados incorrectos en la prueba; deben rechazarse las muestras afectadas: hemólisis, contaminación con eritrocitos, lipemia, quilo, ictericia, trombocitopenia ($<75.000/\text{mm}^3$), coágulos en la muestra e hipofibrinogenemia. La reutilización de artículos desechables puede producir resultados incorrectos en la prueba.

Siga las precauciones estándares durante los procesos de recogida, preparación y análisis de las muestras.^{2,3} Deseche los residuos biológicos y artículos afilados siguiendo las normas del laboratorio.

Técnica con jeringuilla (recomendada)⁸

- a. Utilice una aguja con aletas para la venipunción.
- b. Extraiga 9,0 ml de sangre con una jeringuilla de plástico. Evite una succión excesiva.
- c. Retire la aguja de la jeringuilla y dispense la sangre suave e inmediatamente en un tubo de plástico [polipropileno]⁴ con 1,0 ml de anticoagulante citrato sódico 0,11 M. La relación de sangre:anticoagulante debe ser 9 partes de sangre y 1 parte de anticoagulante.⁵
- d. Tape e invierta el tubo suavemente 4-5 veces para mezclar.
- e. Mantenga a temperatura ambiente (de 15 a 28 °C)

NOTA: Cuando el hematocrito del paciente es $< 30\%$ o $> 55\%$, los volúmenes de sangre:anticoagulante deben ajustarse.⁴

Técnica con tubo evacuado para recogida de muestras.

1. Utilice una aguja con aletas para la venipunción.
2. Extraiga la sangre utilizando tubos (de plástico) con anticoagulante citrato sódico 0,11 M.
3. Invierta suavemente 4-5 veces para mezclar.

NOTA: Cuando se utilicen tubos de plástico para recogida de muestras por vacío, compruebe la etiqueta para asegurarse que la concentración del anticoagulante citrato es 0,11 M. Las tapas coloreadas no varían con concentraciones diferentes de citrato. Siga las instrucciones del fabricante para la recogida de muestras.

PREPARACIÓN DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP) Y PLASMA POBRE EN PLAQUETAS (PPP)

1. Prepare el plasma rico en plaquetas centrifugando la sangre anticoagulada a 150 x g durante 10 minutos a temperatura ambiente (de 15 a 28 °C).
2. Examine la presencia de hematíes en la capa de plasma. Si hay hematíes, vuelva a centrifugar a 150 x g durante 5 minutos más.
3. Con una pipeta plástica de transferencia, observe y retire con cuidado la capa de plaquetas sin disgregar la capa leucocítica o los hematíes y transfiera a un envase etiquetado (PRP). Tape el recipiente y déjelo en reposo a temperatura ambiente.
4. Prepare el plasma pobre en plaquetas centrifugando la muestra de sangre restante a 2500 x g durante 20 minutos. Examine el plasma pobre en plaquetas en busca de hemólisis; a continuación, transfíralo a un tubo de plástico con la etiqueta PPP.
5. El recuento de plaquetas del PRP debe ser $250.000 \pm 50.000/\text{mm}^3$. El recuento de plaquetas puede verse reducido al utilizar PPP preparado a partir de la muestra.

NOTA: Si se utiliza ácido araquidónico como un agonista, no ajuste el recuento de plaquetas.

RECONSTITUCIÓN

NOTA: Los reactivos deben estar a temperatura ambiente (de 15 a 28 °C) antes de su reconstitución. Los reactivos almacenados deben estar a temperatura ambiente antes de usarlos.

Reconstituya un vial de ADP con 0,5 ml de agua purificada.

ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO

El ADP reconstituido es estable durante 30 días cuando se almacena a 2-8 °C en su envase original herméticamente cerrado.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

El análisis debe completarse en las 3 horas siguientes a la recogida de las muestras.⁸

1. Coloque una barra agitadora en cada cubeta
2. Prepare un blanco para el agregómetro pipeteando 0,5 ml de plasma pobre en plaquetas en una cubeta.
3. Pipeteo 0,45 ml de plasma rico en plaquetas en una segunda cubeta. Incube a 37 °C durante 3 minutos.
4. Ajuste, si es necesario, los valores de referencia del 0% y del 100% siguiendo las instrucciones del fabricante del agregómetro en uso.
5. Añada directamente 0,05 ml de ADP al plasma rico en plaquetas. No deje que el reactivo chorree por la pared de la cubeta. La concentración final de ADP en la mezcla a analizar de plasma rico en plaquetas es 2×10^{-5} M. Véase tabla 1.
6. Permita que se genere el patrón de agregación durante 5 minutos.

AGREGACIÓN BIFÁSICA

Para demostrar 2 ondas distintas o agregación "bifásica" por ADP, el plasma rico en plaquetas puede analizarse con varias diluciones del reactivo.¹⁰

Prepare las concentraciones diluidas de ADP de la siguiente manera:

1. Etiquete 2 tubos de ensayo: 4×10^{-5} M y 2×10^{-5} M, véase tabla 1.
2. Añada 0,4 ml de solución salina en el tubo marcado 4×10^{-5} M, y 0,2 ml de solución salina en el tubo marcado 2×10^{-5} M.
3. Para llegar a la concentración de 4×10^{-5} M: añada 0,1 ml de 2×10^{-4} M (del vial reconstituido) al tubo con la etiqueta 4×10^{-5} M. Mezcle (dilución 1:5).
4. Para llegar a la concentración de 2×10^{-5} M: añada 0,2 ml de 4×10^{-4} M (del tubo de concentración 4×10^{-4} M) al tubo con la etiqueta 2×10^{-5} M. Mezcle (dilución 1:2).
5. Diluciones adicionales pueden ser preparadas utilizando las técnicas detalladas en 1-4 anteriormente.

Tabla 1

	Concentración de trabajo	Concentración final
Reconstituida	2×10^{-4} M	N/D
Normal	2×10^{-4} M	2×10^{-5} M
Bifásica	2×10^{-5} M up to 4×10^{-5} M	2×10^{-6} M up to 4×10^{-6} M

CONTROL DE CALIDAD

Los laboratorios deben seguir las prácticas de control de calidad aceptadas generalmente cuando no se dispone de un ensayo de aptitud.

Para garantizar el funcionamiento adecuado del instrumento y del reactivo, debe evaluarse una muestra de control cada día que se realicen los análisis. La muestra de control debe prepararse de la misma manera que la muestra a analizar. Para los estudios cualitativos de agregación plaquetaria, el control debe estar compuesto de plasma fresco rico en plaquetas recogido de un donante normal (especificado y cualificado) que no haya ingerido compuestos con aspirina en los 10 días anteriores al análisis y que tenga un historial de función plaquetaria normal.

RESULTADOS

Los patrones típicos de agregación por el ADP se ilustran en las figuras 1 - 3.

El ADP, a la concentración final de 2×10^{-5} M, inducirá una sola onda grande de agregación en plasma normal rico en plaquetas. A una concentración final (en la prueba) de 2×10^{-6} M hasta 4×10^{-6} M, pueden observarse dos ondas de agregación (véase figura 2). La onda primaria es la respuesta al ADP exógeno (reactivo). La onda secundaria se debe a la liberación del ADP endógeno del grupo no metabólico de nucleótidos (grupo de almacenamiento) contenido en las plaquetas.⁹

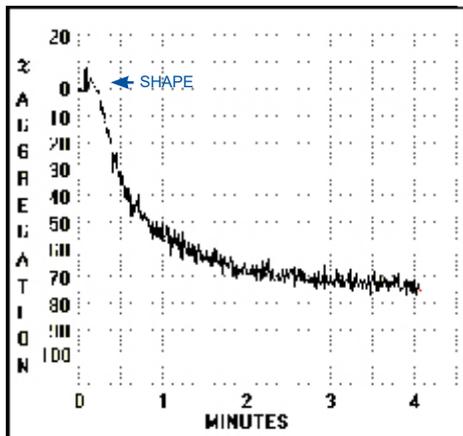


Figura 1 Agregación normal
(Concentración final 2×10^{-5} M), véase tabla 1.

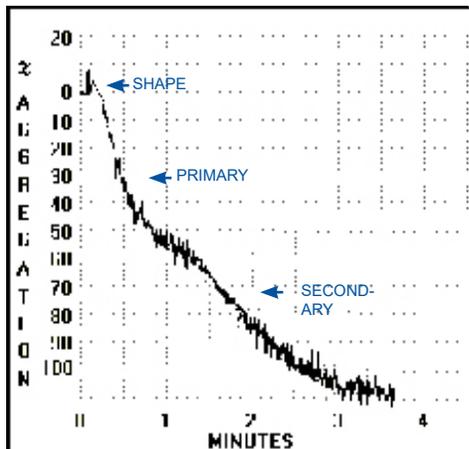


Figura 2 Agregación normal
(Concentración final 2×10^{-5} M), véase tabla 1.

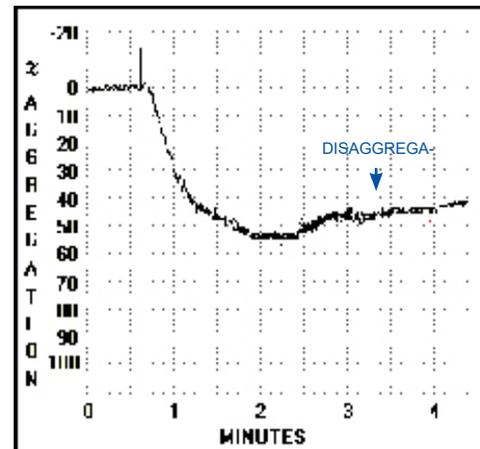


Figura 3 Agregación anómala
(Concentración final 2×10^{-5} M), véase tabla 1.

LEYENDA: Resultados de la agregación plaquetaria inducida por ADP en plasma rico en plaquetas anómalo y normal.

La marca de flecha indica la adición de reactivo. La desagregación dependiente de la concentración puede observarse en algunos PRP normales. Este fenómeno se ilustra en la figura 3.

VALORES ESPERADOS

Cada laboratorio debe establecer los intervalos esperados para cada uno de los reactivos a las diferentes concentraciones utilizadas para inducir la agregación plaquetaria, véase la tabla 2.^{4,8,9,10}

Tabla 2

RESPUESTAS TÍPICAS DE AGREGACIÓN PLAQUETARIA PARA DONANTES NORMALES a 250.000 PLAQUETAS/mm³ [agregación total a los 5 minutos]

	ADP	Ácido araquidónico	Colágeno	Epinefrina
Conc. final	2.0×10^{-5} M	500 µg/mL	0.19 mg/mL	1.0×10^{-4} M
Fase de retardo [seg.]	<10	<=20	<60	0
Pendiente primaria	38-67	>20	35-67	7-34
Agregación total (% a los 5 min)	63-89	65-90	61-99	54-101
Agregación bifásica	Dependiente de la concentración	NO	NO	SI
Otros	Puede mostrar cambio de forma	Puede que todos donantes normales no tengan un PLT CT~175k-300k	No diluir	Los donantes normales pueden variar

LIMITACIONES

Se requiere un historial detallado del paciente para hacer una interpretación exacta de la prueba. Se debe preguntar a los pacientes acerca de la ingestión reciente de cualquier medicamento, ya que varios fármacos de venta con receta y de venta libre pueden interferir con la agregación plaquetaria. Sustancias como la cafeína, el tabaco, los extractos de hierbas (o complementos) y el alcohol pueden afectar a los resultados.^{7,8}

CARACTERÍSTICAS DE EFICACIA

Los estudios han demostrado que este producto funcionará según se ha descrito antes de su fecha de caducidad siempre que se sigan las instrucciones de almacenamiento y del procedimiento.

Linealidad:

La agregación plaquetaria inducida por agonistas comunes (ADP, ácido araquidónico, colágeno y epinefrina) es un sistema de análisis no lineal para los siguientes parámetros: fase de retardo, pendiente primaria, pendiente secundaria, respuesta bifásica y desagregación. La falta de linealidad está causada por muchos factores tales como la química de la reacción y la instrumentación. La agregación plaquetaria mide un índice de respuesta o actividad que no es una medida cuantitativa de los reactivos ni de su concentración.

EXACTITUD, PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Exactitud

En la agregación plaquetaria, la exactitud es un parámetro relativo que depende del sistema de análisis.

Precisión y reproducibilidad

Las limitaciones de la agregación plaquetaria hacen difícil proporcionar los intervalos de reproducibilidad o de precisión típicos. Sin embargo, hay un consenso basado en la experiencia para estos parámetros (véase a continuación). Cada laboratorio debe establecer sus propios límites de aceptabilidad de la prueba.

Reproducibilidad entre pruebas:	mejor que $\pm 7,5\%$
Reproducibilidad entre instrumentos:	mejor que $\pm 15\%$
Variación entre lotes de reactivo:	mejor que $\pm 10,5\%$
Entre laboratorios (mismo sistema de análisis):	mejor que $\pm 12,5\%$

BIBLIOGRAFÍA

- 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 Triplet, 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.
- 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.

Para obtener una lista completa de los productos disponibles, visite nuestro sitio web www.biodatacorp.com o póngase en contacto con el servicio de atención al cliente.

LA LÍNEA DE PRODUCTOS DE BIO/DATA CORPORATION INCLUYE REACTIVOS DE USO GENERAL QUE DEBEN EMPLEARSE EN LABORATORIOS PROFESIONALES PARA INDUCIR Y REGISTRAR LA ACTIVIDAD Y LAS RESPUESTAS DE LA FUNCIÓN PLAQUETARIA. SE GARANTIZA QUE ESTE PRODUCTO FUNCIONARÁ SEGÚN LO DESCRITO EN LAS ETIQUETAS Y EN LAS INSTRUCCIONES DE USO. BIO/DATA CORPORATION NO OFRECE ALEGACIONES NI GARANTÍAS, NI EXPRESAS NI IMPLÍCITAS, DE LA APTITUD, IDONEIDAD O COMERCIALIZACIÓN DEL PRODUCTO PARA NINGÚN OTRO FIN, Y EN NINGÚN CASO BIO/DATA CORPORATION SERÁ RESPONSABLE DE NINGÚN DAÑO DERIVADO DE DICHA GARANTÍA EXPRESA.



155 Gibraltar Road, Horsham, PA 19044 U.S.A.
(800) 257-3282 U.S.A. (215) 441-4000 Intern.
(215) 443-8820 Fax Internazionale
E-mail: customer.service@biodatacorp.com
Internet: www.biodatacorp.com

Una Società Registrata ISO 13485



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



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

