

# 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.

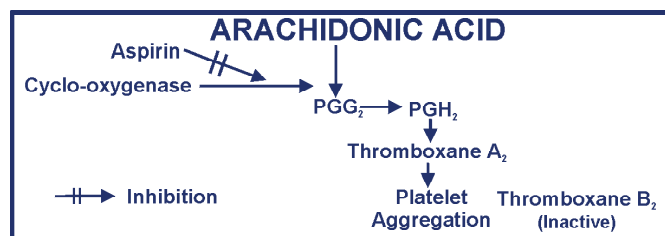
## USAGE PRÉVU

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.<sup>8,11,12</sup>

## PRINCIPE DU TEST

L'acide arachidonique est un acide gras présent dans les granules et les membranes des plaquettes humaines.<sup>16</sup> Il est libéré à partir de phospholipides et, en présence de l'enzyme cyclo-oxygénase, incorpore l'oxygène pour former l'endoperoxyde prostaglandine G<sub>2</sub> (PGG<sub>2</sub>). PGG<sub>2</sub> est ensuite transformé rapidement en prostaglandine H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>) laquelle à son tour est convertie en thromboxane A<sub>2</sub>, 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.<sup>8,11,13</sup>

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.<sup>13</sup> Cependant, en présence d'aspirine ou de composés contenant de l'aspirine, ces réactions sont absentes.<sup>12</sup>



## PRÉCAUTIONS

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

## MATÉRIEL FOURNI

Acide arachidonique 3 x 0,5 ml conserver entre 2 ° et 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.<sup>1</sup> 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.<sup>6</sup>

### 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.<sup>6</sup>

### 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.<sup>9</sup>

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<sup>3</sup>) 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.<sup>2,3</sup> Jeter les objets tranchants et les déchets biologiques conformément au règlement du laboratoire.

#### Technique à la seringue (recommandée)<sup>8</sup>

- 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.<sup>5</sup>
- 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.<sup>4</sup>

#### 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 ± 50 000 /mm<sup>3</sup>. 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.<sup>9</sup>

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'au début de l'agrégation) sera observée jusqu'à 8 jours après l'ingestion d'aspirine.<sup>2</sup> (Fig. 3)

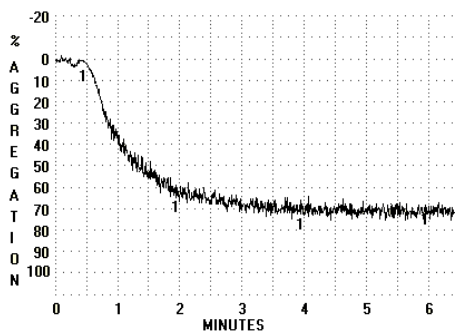


Figure 1 Normal Aggregation

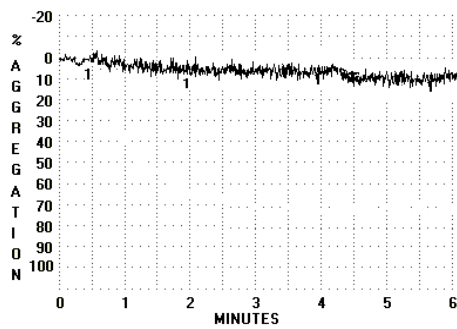


Figure 2 Abnormal Response (Aspirin Effect)

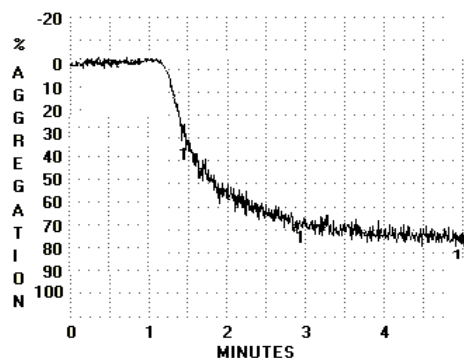


Figure 3 Abnormal Response (Mild Aspirin Effect 5-8 days post ingestion)

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.<sup>4,8,9,10</sup>

Tableau 2

#### RÉPONSES TYPIQUES D'AGRÉGATION PLAQUETTAIRE POUR DES DONNEURS NORMAUX à 250 000 PLAQUETTES /mm<sup>3</sup> [agrégation totale à 5 minutes]

	ADP	Acide arachidonique	Collagène [Type I]	Épinéphrine
Concentration finale	2.0x10 <sup>-5</sup> M	500µg/mL	0.19mg/mL	1.0x10 <sup>-4</sup> 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'oxydéra 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.<sup>15</sup> 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.<sup>7,8</sup>

#### 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. Dimittov 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, 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, 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.

#### DISPONIBILITÉ DES PRODUITS

PRODUIT	CONTENU NET	NUMÉRO CATALOGUE
Acide arachidonique	3 x 0,5 ml	101297
ADP	3 x 0,5 ml	101312
BETA/Pak®		
(ADP, collagène, ristocétine)	1 x 0,5 ml chacun	101580
Collagène	3 x 0,5 ml	101562
Épinéphrine	3 x 0,5 ml	101311
Plaquettes lyophilisées	3 x 4 ml	101595
Plaquettes lyophilisées	1 x 10 ml	101258
PAR/Pak® II		
(ADP, collagène, épinéphrine)	2 x 0,5 ml chacun	101310
Ristocétine		
AggRecetin® 1,5 mg/ml	15 mg	100968
AggRecetin 1,0-1,5 mg/ml	15 mg	100970
AggRecetin Brut	100 mg	101241
vW Factor Assay®	10 déterminations	101246
vW Factor Assay	20 déterminations	103025
Plasma témoin anormal pour vW	3 x 0,5 ml	101270
Plasma normal de référence pour vW	3 x 0,5 ml	101269
Plasma témoin normal pour vW	3 x 0,5 ml	106426

CE PRODUIT EST GARANTI POUR FONCTIONNER SELON LES TERMES ÉNONCÉS SUR L'ÉTIQUETAGE ET LA DOCUMENTATION DE BIO/DATA CORPORATION ET BIO/DATA CORPORATION RENIE TOUTE GARANTIE DE QUALITÉ MARCHANDE IMPLICITE OU D'ADAPTATION À TOUT AUTRE FIN ; ET EN AUCUN CAS BIO/DATA NE SERA RESPONSABLE DE TOUT DOMMAGE CONSÉCUTIF SURVENANT EN DEHORS DE LA GARANTIE EXPRESSE SUSMENTIONNÉE.



155 Gibraltar Road, PO Box 347, Horsham, PA 19044-0347 États-Unis  
 (800) 257-3282 États-Unis (215) 441-4000 International  
 Télécopie : (215) 443-8820 International  
 Courriel : bdc@biodatacorp.com  
 Internet : www.biodatacorp.com



EMERGO EUROPE, Molenstraat 15, 2513 BH, La Hague, Pays-Bas