

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

L'Acido Arachidonico consiste in una preparazione liofilizzata di arachidonato di sodio. La concentrazione di lavoro del reagente è di 5 mg/mL.

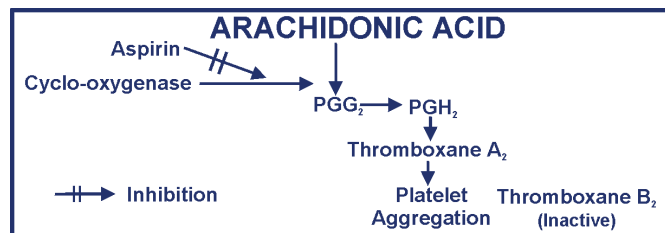
UTILIZZO PREVISTO

Il reagente per l'Acido Arachidonico è destinato all'uso di routine per dimostrare la risposta all'attivazione del trombossano A₂ nei campioni di Plasma Ricco di Piastrine.

PRINCIPIO

L'Acido Arachidonico è un acido grasso presente nei granuli e nelle membrane delle piastrine umane.¹⁶ Viene liberato dai fosfolipidi e, in presenza dell'enzima ciclo-ossigenasi, incorpora l'ossigeno per formare l'endoperossido prostaglandina G₂ (PGG₂). Il PGG₂ viene poi rapidamente trasformato in prostaglandina H₂ (PGH₂), che a sua volta viene convertita in trombossano A₂, un potente induttore dell'aggregazione piastrinica. L'assunzione di aspirina o di composti contenenti aspirina inibisce il consumo di ossigeno mediato dalla ciclo-ossigenasi, precludendo così tutti gli eventi successivi che portano all'aggregazione piastrinica.^{8,11,13}

L'aggiunta in vitro di Acido Arachidonico al plasma ricco di piastrine normali provoca un'esplosione del consumo di ossigeno, la formazione di trombossano e l'aggregazione piastrinica.¹³ Tuttavia, in presenza di aspirina o di composti contenenti aspirina, queste reazioni sono assenti.¹²


PRECAUZIONI

L'Acido Arachidonico è inteso SOLO PER USO PROFESSIONALE DI LABORATORIO, SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO E NON DEVE ESSERE INIETTATO O INGERITO.

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.

MATERIALE FORNITO

Acido Arachidonico, 3 X 0.5mL. Conservare ad una temperatura compresa tra 2° e 8° C prima della ricostituzione.

MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

1. Aggregometro piastrinico
2. Acqua purificata (distillata, deionizzata o di grado reagente), pH 5.3 - 7.2
3. Pipettatori (volumi da 0.4mL e 0.05mL)
4. Barre di Agitazione Monouso
5. Provette per Aggregometro

STRUMENTAZIONE

L'Acido Arachidonico si comporta come descritto quando viene utilizzato nella maggior parte degli aggregometri ottici per piastrine.¹ Seguire le istruzioni del produttore per il funzionamento dell'aggregometro in uso.

PRELIEVO DEI CAMPIONI E PREPARAZIONE DEL TEST

Per le istruzioni dettagliate sulla raccolta dei campioni e sulla loro preparazione, consultare le attuali linee guida H21 A2 approvate dall'NCCLS.⁶

1. PREPARAZIONE DEL PAZIENTE:

I pazienti devono astenersi dall'assunzione di aspirina o di altri medicinali contenenti aspirina, nonché di preparati o integratori alimentari che hanno effetti sulla funzionalità piastrinica durante i 7 - 10 giorni che precedono la raccolta del campione. I pazienti devono essere a digiuno ed essersi astenuti dall'assunzione di cibi grassi e latticini durante le 12 ore precedenti la raccolta del campione.⁶

2. PRELIEVO DEL CAMPIONE:

Il prelievo di sangue deve essere eseguito con attenzione per evitare stasi, emolisi, contaminazione da fluidi tissutali o esposizione al vetro. Conservare i campioni a temperatura ambiente.⁹

Ciascuno dei seguenti elementi può causare l'imprecisione dei risultati del test; e i campioni interessati devono essere scartati: emolisi, contaminazione dei globuli rossi, lipemia, chilosità, ittero, trombocitopenia (<75.000/mm³), coaguli nel campione e ipofibrinogenemia. Il riutilizzo di materiale monouso può determinare inaccuratezza dei risultati d'analisi.

Osservare le precauzioni standard durante i processi di raccolta, preparazione e analisi dei campioni.^{2,3} Smaltire gli oggetti taglienti e i rifiuti biologici in conformità alle regole di laboratorio.

Tecnica della siringa (consigliata)⁹

- a. Utilizzare un ago a farfalla per la venopuntura.
- b. Prelevare 9,0 mL di sangue in una siringa di plastica. Evitare di prelevare sangue in eccesso.

- c. Rimuovere l'ago dalla siringa e dispensare immediatamente e delicatamente il sangue in una provetta di plastica [polipropilene]⁴ contenente 1,0mL di Sodio Citrato anticoagulante 0,11M. Il rapporto tra sangue e anticoagulante deve essere di 9 parti di sangue per 1 parte di anticoagulante.⁵
- d. Chiudere la provetta e capovolgere 4-5 volte delicatamente per mescolare.
- e. Conservare a temperatura ambiente (15° - 28°C).

NOTA: Quando l'ematocrito del paziente è < 30% o > 55%, è necessario regolare i volumi di sangue - anti-coagulante.⁴

Tecnica del prelievo con provetta sottovuoto

1. Utilizzare un ago a farfalla per la venopuntura.
2. Prelevare il sangue utilizzando provette (in plastica) contenenti l'anticoagulante Sodio Citrato alla concentrazione di 0.11M.
3. Capovolgere delicatamente 4-5 volte per mescolare il contenuto.

NOTA: quando si utilizzano provette per il prelievo sottovuoto, controllare l'etichetta per accertarsi che la concentrazione del citrato anticoagulante sia 0.11M. I tappi colorati della provetta infatti non variano al variare delle concentrazioni di citrato. Seguire le istruzioni della ditta produttrice per la raccolta del campione.

PREPARAZIONE DEL PLASMA RICCO DI PIASTRINE (PRP) E DEL PLASMA POVERO DI PIASTRINE (PPP)

1. Preparare il plasma ricco di piastrine centrifugando il sangue con l'anticoagulante a 150 x g per 10 minuti a temperatura ambiente (15°-28° C).
2. Esaminare il plasma. Se sono presenti globuli rossi, ricentrifugare a 150 x g per ulteriori 5 minuti.
3. Utilizzare una pipetta in plastica, e con cura rimuovere lo strato di plasma senza entrare in contatto con i globuli rossi e trasferire il contenuto in un contenitore etichettato (PRP). Chiudere il contenitore e lasciarlo riposare a temperatura ambiente.
4. Preparare il plasma povero di piastrine centrifugando il rimanente del campione di sangue a 2500 x g per 20 minuti. Esaminare il plasma povero di piastrine per l'emolisi, e successivamente trasferire il contenuto in una provetta in plastica etichettata PPP.
5. La conta piastrinica del PRP deve essere di 250.000 ± 50.000/mm³. La conta piastrinica può essere ridotta utilizzando la PPP preparata dal campione.

NOTA: Se si utilizza l'Acido Arachidonico come agonista, non regolare la conta piastrinica.

RICOSTITUZIONE

NOTA: I reagenti devono essere portati a temperatura ambiente (da 15° a 28°C) prima della ricostituzione. I reagenti conservati devono essere anche loro portati a temperatura ambiente prima dell'uso.

Ricostituire una fiala di Acido Arachidonico con 0,5 ml di acqua purificata. Il reagente potrebbe apparire torbido, ma diventerà chiaro e incolore nel giro di pochi minuti.

CONSERVAZIONE DEL REAGENTE

L'ACIDO ARACHIDONICO DEVE ESSERE TENUTO SEMPRE CHIUSO QUANDO NON È IN USO.

Richiudere la fiala immediatamente dopo aver rimosso il reagente. L'Acido Arachidonico ricostituito è stabile per 24 ore a 2° - 8° C. Per la conservazione a lungo termine, congelare a -20°C per un massimo di 8 settimane.

PROCEDURA DEL TEST

Il test deve essere portato a termine entro 3 ore dalla raccolta del campione.⁸

1. Preparare il bianco dell'aggregometro pipettando 0,5 mL di plasma povero di piastrine in una provetta.
2. Pipettare 0.45mL di plasma ricco di piastrine in una seconda provetta. Incubare a 37°C per 3 minuti e aggiungere una barra di agitazione.
3. Impostare, se necessario, le linee di base dello 0% e del 100% secondo le istruzioni del produttore dell'aggregometro in uso.
4. Aggiungere 0,05 mL di Acido Arachidonico direttamente nel plasma ricco di piastrine. Non lasciare che il reagente coli lungo la parete della provetta. La concentrazione finale di Acido Arachidonico nella miscela di test del plasma ricco di piastrine è di 500 µg/mL.
5. Lasciare che la curva di aggregazione proceda per 5 minuti.

CONTROLLO DI QUALITÀ

I laboratori devono seguire le pratiche di controllo della qualità generalmente accettate quando non sono disponibili prove valutative.

Per garantire il corretto funzionamento dello strumento e le prestazioni dei reagenti, è necessario valutare un campione di controllo ogni giorno in cui vengono eseguiti i test. Il campione di controllo deve essere preparato nello stesso modo del campione di prova. Per gli studi qualitativi di aggregazione piastrinica, il controllo deve essere costituito da plasma fresco ricco di piastrine raccolto da un donatore normale (identificato e qualificato) che non abbia ingerito composti contenenti aspirina nei 10 giorni precedenti il test e che abbia un'anamnesi di normale funzione piastrinica.

RISULTATI

I modelli tipici di aggregazione dell'Acido Arachidonico sono illustrati nelle Figg. 1-3. L'ingestione di una singola dose (600 mg) di aspirina determina l'assenza di aggregazione dell'Acido Arachidonico per ben 5 giorni (Fig.2). Una risposta prolungata (tempo dall'aggiunta del reagente all'insorgenza dell'aggregazione) viene osservata fino a 8 giorni dopo l'ingestione di aspirina.² (Fig.3)

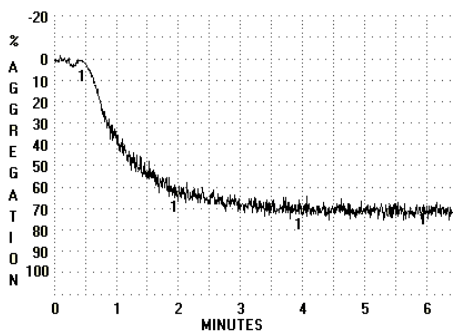


Figura 1 Aggregazione Normale

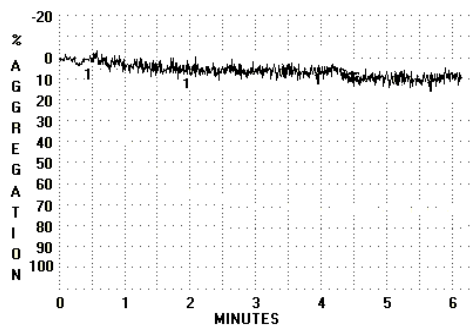


Figura 2 Risposta Anormale (Effetto dell'Aspirina)

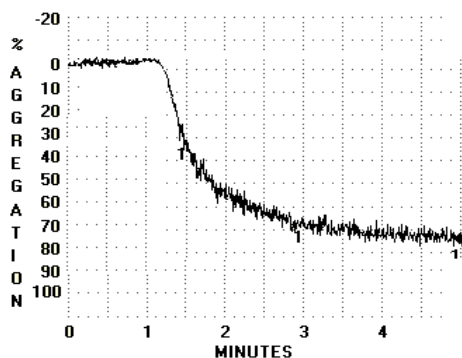


Figura 3 Risposta Anormale (Effetto Lieve dell'Aspirina 5-8 giorni dopo l'ingestione)

LEGENDA: Risultati dell'aggregazione piastrinica indotta da Acido Arachidonico su plasma normale e ricco di piastrine. La concentrazione di lavoro dell'Acido Arachidonico è di 5.0µg/mL. La concentrazione finale del PRP è di 500 µg/mL. Il picco nel grafico indica l'aggiunta del reagente.

VALORI ATTESI

Gli intervalli previsti per ciascun reagente alle varie concentrazioni utilizzate per indurre l'aggregazione piastrinica devono essere stabiliti da ciascun laboratorio, cfr. Tabella 2.4,8,9,10 Tabella 2

RISPOSTA TIPICA DI AGGREGAZIONE PIASTRINICA PER DONATORI NORMALI @ 250,000 PIASTRINE/mm3 [aggregazione totale a 5 minuti]

	ADP	Acido Arachidonico	Collagene [Tipo I]	Epinefrina
Conc.Finale	2.0x10 ⁻⁵ M	500µg/mL	0.19mg/mL	1.0x10 ⁻⁴ M
Fase di Latenza [sec]	<10	<=20	<60	0
Curva Primaria	38-67	>20	35-67	7-34
Aggregazione Totale (%@5min)	63-89	65-90	61-99	54-101
Aggregazione Bifasica	Dipendente dalla Concentrazione	NO	NO	YES
Altro	Possono aversi cambi di forma	Non tutti i Donatori potrebbero essere conformi PLT CT~175k-300k	Non diluire	All normal Donors may not Conform

LIMITAZIONI

L'Acido Arachidonico si ossida se la fiala viene lasciata senza tappo. Il reagente ossidato appare di colore giallo e non deve pertanto essere utilizzato. Poiché l'Acido Arachidonico si lega all'albumina, la concentrazione necessaria per indurre l'aggregazione nel plasma ricco di piastrine è superiore a quella richiesta nelle sospensioni piastriniche lavate. 15 Per analizzare le piastrine lavate, l'Acido Arachidonico deve essere diluito con soluzione fisiologica ad una concentrazione appropriata per la preparazione piastrinica in uso.

È stato osservato che in alcune occasioni si è verificata un'aggregazione non ottimale quando l'Acido Arachidonico è stato aggiunto al plasma ricco di piastrine che era stato diluito con plasma povero di piastrine. Tuttavia, l'aggregazione è apparsa normale quando lo stesso plasma ricco di piastrine è stato analizzato nella forma non diluita.

Per un'interpretazione accurata del test è necessaria un'anamnesi dettagliata del paziente. I pazienti devono essere interrogati sull'ingestione recente di qualsiasi farmaco, poiché numerosi farmaci con e senza prescrizione medica possono interferire con l'aggregazione piastrinica. Sostanze come caffeina, tabacco, estratti di erbe (o integratori) e alcol possono influenzare i risultati.^{7,8}

PERFORMANCE

Gli studi hanno dimostrato che questo prodotto funziona come descritto prima della data di scadenza se vengono seguite le indicazioni procedurali e di conservazione.

Linearità:

L'aggregazione piastrinica indotta da agonisti comuni (ADP, Acido Arachidonico, Collagene ed Epinefrina) è un sistema di test non lineare per i seguenti parametri: Fase di Latenza, Curva primaria, Curva secondaria, risposta bifasica e disaggregazione. La non linearità è causata da molti fattori, come la chimica della reazione e la strumentazione. L'aggregazione piastrinica misura un tasso di risposta o un'attività che non è una misura quantitativa dei reagenti o della loro concentrazione.

ACCURATEZZA, PRECISIONE E RIPRODUCIBILITÀ

Accuratezza

Nell'aggregazione piastrinica, l'accuratezza è un parametro relativo e dipende dal sistema di analisi.

Precisione e Riproducibilità

I limiti dell'aggregazione piastrinica rendono difficile fornire intervalli tipici di precisione o riproducibilità. Tuttavia, esiste un consenso basato sull'esperienza per questi parametri (vedi sotto). Ogni laboratorio deve stabilire i propri limiti di accettabilità del test.

- Riproducibilità Test - Test: entro ± 7.5%
- Riproducibilità Strumento - Strumento: entro ± 15%
- Variazione Lotto - Lotto: entro ± 10.5%
- Variazione Laboratorio - Laboratorio (analogo sistema di analisi): entro ± 12.5%

BIBLIOGRAFIA

1. Born, GVR and Cross, MJ. The Aggregation of Blood Platelets. J. Physiol [London] 168:178, 1963.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Isolation Precautions in Hospitals. Centers for Disease Control and Prevention. 1996; Vol 17; 1:53 - 80.
3. National Committee for Clinical Laboratory Standards. NCCLS: Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline. NCCLS document M29. Wayne, PA.
4. McCabe-White, M and Jennings, LK. Platelet protocols: Research and Clinical Laboratory Procedure. Academic Press, London. 1999, p 35.
5. 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.
6. 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.
7. Weiss, HJ: Aspirin and platelets in drugs and hematologic reactions. Dimittov and Nodine (eds.), Grune and Stratton, New York, 1974.
8. Triplett, DA, Harms, CS, Newhouse, P, Clark, C: Platelet Function. Laboratory Evaluation and Clinical Application. ASCP, 1978.
9. Day, HJ, Holmsen, H: Laboratory tests of platelet function. Annal Clin Lab Sci, 2:63, 1972.
10. Owen, CA, Bowie, EJW, Thompson, JH: The diagnosis of bleeding disorder. Little, Brown and Co., 1975.
11. 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 Pharmac 7a:293, 1979.
12. 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.
13. Moncada, S, Vane, JR: Arachidonic Acid metabolites and the interactions between platelets and blood vessel walls. N Eng J Med 300:1142, 1979.
14. William, WJ, Beutler, E, Erslev, A, Rundles, RW: Hematology, Mc-Graw Hill, New York, 1977.
15. 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.
16. 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.

Per un elenco completo dei prodotti disponibili, visitate il nostro sito web www.biodatacorp.com o contattate il servizio clienti qui di seguito.

LA LINEA DI PRODOTTI DI BIO/DATA CORPORATION COMPRENDE REAGENTI PER USO GENERALE E PROFESSIONALE IN LABORATORIO, DESTINATI A INDURRE E SEGNALARE L'ATTIVITÀ E LE RISPOSTE DELLA FUNZIONE PIASTRINICA. QUESTO PRODOTTO È GARANTITO PER LE PRESTAZIONI DESCRITTE NELL'ETICHETTATURA, COMPRESSE LE ISTRUZIONI PER L'USO. BIO/DATA CORPORATION NON RILASCIACUNA DICHIARAZIONE O GARANZIA, ESPRESSA O IMPLICITA, CIRCA LA CAPACITÀ, L'IDONEITÀ O LA COMMERCIALITÀ PER QUALSIASI ALTRO SCOPO. IN NESSUN CASO BIO/DATA CORPORATION SARÀ RESPONSABILE DI EVENTUALI DANNI CONSEGUENTI DERIVANTI DALLA SUDETTA GARANZIA ESPRESSA



155 Gibraltar Road, Horsham, PA 19044 U.S.A.
 (800) 257-3282 U.S.A. (215) 441-4000 Worldwide
 (215) 443-8820 Fax Worldwide
 E-mail: customer.service@biodatacorp.com
 Internet: www.biodatacorp.com
 An ISO 13485 Registered Company



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



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

