

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El ácido araquidónico es un preparado liofilizado de araquidonato de sodio. La concentración de trabajo del reactivo es de 5 mg/ml.

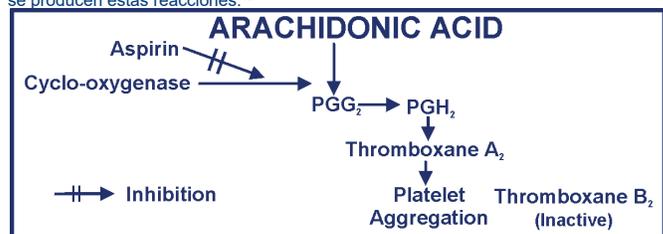
USO PREVISTO

El reactivo ácido araquidónico está indicado para usarse de manera rutinaria con el fin de demostrar la respuesta de activación del tromboxano A₂ analizando muestras de plasma rico en plaquetas.^{8,11,12}

PRINCIPIO

El ácido araquidónico es un ácido graso que está presente en los gránulos y en las membranas de las plaquetas de los humanos.¹⁶ Se libera de los fosfolípidos y, en presencia de la enzima ciclooxigenasa, incorpora oxígeno para formar endoperoxido de prostaglandina G₂ (PGG₂). La PGG₂ se transforma entonces rápidamente en prostaglandina H₂ (PGH₂) que, a su vez, se convierte en tromboxano A₂, un potente inductor de la agregación plaquetaria. La ingestión de aspirina o de compuestos que contienen aspirina inhibe el consumo de oxígeno mediado por la ciclooxigenasa, impidiendo así todos los acontecimientos posteriores que conducen a la agregación plaquetaria.^{8,11,13}

La adición in vitro de ácido araquidónico a plasma normal rico en plaquetas provoca un aumento repentino del consumo de oxígeno y da lugar a la formación de tromboxano y la agregación plaquetaria.¹³ Sin embargo, en presencia de aspirina o de compuestos que contienen aspirina, no se producen estas reacciones.¹²


PRECAUCIONES

El ácido araquidónico **SOLO ESTÁ INDICADO PARA EL DIAGNÓSTICO IN VITRO Y DEBE UTILIZARSE EXCLUSIVAMENTE EN LABORATORIOS PROFESIONALES; NO DEBE INYECTARSE NI INGERIRSE.**

NOTA PARA EL USUARIO: Todos los incidentes graves relacionados con el dispositivo se notificarán tanto al fabricante como a la autoridad competente del Estado miembro en el que esté establecido el usuario o paciente.

MATERIALES SUMINISTRADOS

Ácido araquidónico, 3 x 0,5 ml. Consérvelo a 2-8 °C antes de reconstituirlo.

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

1. Agregómetro de plaquetas
2. Agua depurada (destilada, desionizada o de pureza analítica), con un pH de 5,3-7,2
3. Pipetas (con volúmenes de 0,4 ml y 0,05 ml)
4. Barras agitadoras desechables
5. Cubetas para el agregómetro

INSTRUMENTACIÓN

El ácido araquidónico funcionará según se ha descrito con la mayoría de los agregómetros ópticos de plaquetas.¹ A la hora de utilizar el agregómetro siga las instrucciones del fabricante.

OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA A ANALIZAR

Consulte la normativa aprobada actual que se recoge en el documento H21 A2 del NCCLS para obtener instrucciones detalladas sobre la obtención y preparación de las muestras.⁶

1. PREPARACIÓN DEL PACIENTE:

Durante los 7-10 días previos a la obtención de las muestras, los pacientes deben abstenerse de tomar aspirina o medicamentos que contengan aspirina, así como otros medicamentos y complementos alimenticios que afecten a la función plaquetaria. Asimismo, los pacientes deben ayunar y evitar los alimentos grasos y los productos lácteos durante las 12 horas previas a la obtención de las muestras.⁶

2. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS:

La extracción de sangre debe realizarse con cuidado para evitar la estasis, la hemólisis, la contaminación por fluidos tisulares o la exposición al vidrio. Mantenga las muestras a temperatura ambiente.⁸

Los siguientes factores pueden provocar que los resultados del análisis sean inexactos, y deben rechazarse las muestras afectadas: la hemólisis, la contaminación con eritrocitos, la lipemia, el quilo, la ictericia, la trombocitopenia (<75.000/mm³), los coágulos en la muestra y la hipofibrinogenemia. La reutilización de artículos desechables también puede provocar que los resultados del análisis sean inexactos.

Cumpla las precauciones estándares durante los procesos de obtención, preparación y análisis de las muestras.^{2,3} Deseche los residuos biológicos y los objetos punzocortantes siguiendo las normas del laboratorio.

Técnica con jeringuilla (recomendada)⁹

- 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, de manera inmediata y cuidadosa, transfiera la sangre un tubo de plástico [polipropileno]⁴ que contenga con 1,0 ml de anticoagulante citrato de sodio a 0,11 M. La relación sangre:anticoagulante debe ser 9:1 (9 partes de sangre y 1 parte de anticoagulante).⁵
- d. Tape e invierta el tubo suavemente 4-5 veces para mezclar.
- e. Mantenga la muestra 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 al vacío para la obtención de las muestras

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

NOTA: Cuando utilice tubos de plástico al vacío para la obtención de las muestras, compruebe la etiqueta para verificar que la concentración del anticoagulante citrato es de 0,11 M. Las tapas coloreadas no varían en función de las distintas concentraciones de citrato. Siga las instrucciones del fabricante para la obtención de las 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 capa de plasma para comprobar si contiene eritrocitos. Si hay eritrocitos, vuelva a centrifugar la sangre a 150 x g durante 5 minutos más.
3. Con una pipeta de transferencia de plástico, observe y retire con cuidado la capa de plaquetas sin disgregar la capa leucoplaquetaria ni los eritrocitos y transfírela a un envase con la etiqueta PRP. Tape el recipiente y déjelo reposar 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, transfírela a un tubo de plástico con la etiqueta PPP.
5. El número de plaquetas del PRP debe ser 250.000 ± 50.000/mm³. El número de plaquetas puede verse reducido al utilizar PPP preparado a partir de la muestra.

NOTA: Si utiliza el ácido araquidónico como agonista, no ajuste el número de plaquetas.

RECONSTITUCIÓN

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

Reconstituya un vial de ácido araquidónico con 0,5 ml de agua depurada. El reactivo puede mostrarse turbio, pero se volverá transparente e incoloro al cabo de unos cuantos minutos.

ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO

CUANDO NO LO ESTÉ UTILIZANDO, MANTENGA EL ÁCIDO ARAQUIDÓNICO TAPADO EN TODO MOMENTO. Vuelva a tapar el vial inmediatamente después de retirar el reactivo. El ácido araquidónico reconstituido se mantiene estable durante 24 horas a 2-8 °C. Para un almacenamiento prolongado, congélelo a -20 °C durante un máximo de 8 semanas.

PROCEDIMIENTO DEL ANÁLISIS

El análisis debe completarse en las 3 horas posteriores a la obtención de las muestras.⁸

1. Prepare un blanco para el agregómetro pipeteando 0,5 ml de plasma pobre en plaquetas a una cubeta.
2. Pipetee 0,45 ml de plasma rico en plaquetas a una segunda cubeta. Incube la muestra a 37 °C durante 3 minutos y añada una barra agitadora.
3. En caso de que sea necesario, establezca, los valores de referencia del 0% y del 100% siguiendo las instrucciones del fabricante del agregómetro en uso.
4. Añada 0,05 ml de ácido araquidónico directamente al plasma rico en plaquetas. No deje que el reactivo chorree por la pared de la cubeta. La concentración final del ácido araquidónico en la mezcla a analizar de plasma rico en plaquetas es de 500 µg/ml.
5. Deje que se genere el patrón de agregación durante 5 minutos.

CONTROL DE CALIDAD

Los laboratorios deben seguir las prácticas de control de calidad generalmente aceptadas cuando no se disponga de ensayos de aptitud.

Para garantizar el funcionamiento adecuado del instrumento y del reactivo, debe evaluarse una muestra de control cada día que se realicen análisis. La muestra de control debe prepararse de la misma manera que la muestra a analizar. En el caso de los estudios cualitativos de agregación plaquetaria, la muestra de control debe estar compuesta 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 previos al análisis y que tenga un historial de función plaquetaria normal.

RESULTADOS

Los patrones típicos de agregación por ácido araquidónico se ilustran en las figuras 1-3. La ingestión de una única dosis (600 mg) de aspirina producirá la ausencia de agregación por ácido araquidónico durante un máximo de 5 días (fig. 2). Después de la ingestión de aspirina, se observará una respuesta prolongada (desde la adición del reactivo hasta el inicio de la agregación) durante un máximo de 8 días² (Fig.3).

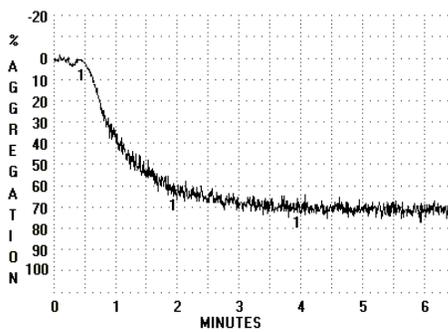


Figura 1 agregación normal

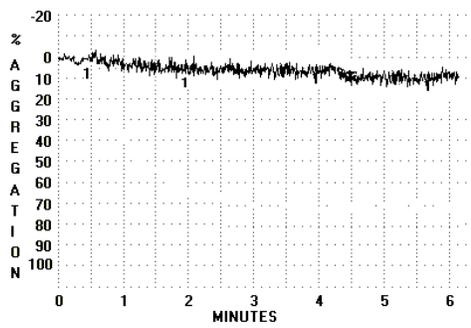


Figure 2 respuesta anómala (efecto de la aspirina)

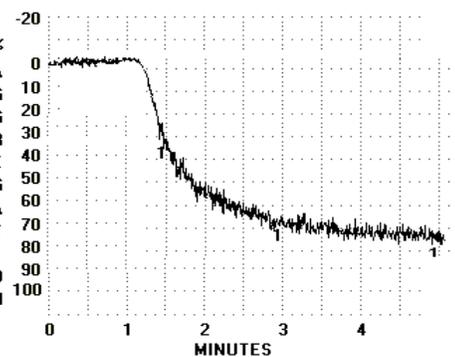


Figure 3 respuesta anómala (efecto leve de la aspirina 5-8 días después de la ingestión)

LEYENDA: Resultados de la agregación plaquetaria inducida por el ácido araquidónico en el plasma normal y en el rico en plaquetas. La concentración de trabajo del ácido araquidónico es de 5,0 mg/ml. La concentración final de PRP es de 500 µg/ml. El pico indica la adición de reactivo.

VALORES PREVISTOS

Cada laboratorio debe establecer los valores previstos 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 (tipo I) | Epinefrina |
|----------------------------------|--------------------------------|--|-------------------|-------------------------------------|
| Conc. final | 2.0x10 ⁻⁵ M | 500µg/mL | 0.19mg/ml | 1.0x10 ⁻⁴ M |
| Fase de latencia | <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 | Depende de la concentración | NO | NO | SÍ |
| Otros | Puede mostrar cambios de forma | Puede que todos los donantes normales no tengan ~175k-300k | No diluir | Los donantes normales pueden variar |

LIMITACIONES

El ácido araquidónico se oxidará si el vial se deja abierto. El reactivo oxidado se vuelve de color amarillo y no debe utilizarse. Puesto que el ácido araquidónico se une a la albúmina, la concentración necesaria para inducir la agregación en el plasma rico en plaquetas es más alta que la que se requiere para las suspensiones de plaquetas lavadas.¹⁵ Para el análisis de las plaquetas lavadas, el ácido araquidónico debe diluirse con solución fisiológica hasta alcanzar la concentración apropiada para el preparado de plaquetas que se está utilizando.

En ocasiones, se ha observado una agregación por debajo del nivel óptimo cuando se ha añadido ácido araquidónico a un plasma rico en plaquetas que se había diluido con un plasma pobre en plaquetas. Sin embargo, la agregación parecía normal cuando se analizaba el mismo plasma rico en plaquetas en su forma no diluida.

Se requiere una anamnesis detallada del paciente para hacer una interpretación exacta de la prueba. Se debe preguntar a los pacientes si han ingerido algún medicamento recientemente, ya que varios fármacos de venta con receta y de venta libre pueden interferir en la agregación plaquetaria. Sustancias como la cafeína, el tabaco, los extractos (o complementos) herbarios 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 relativas al proceso y al almacenamiento.

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: la fase de latencia, la pendiente primaria, la pendiente secundaria, la respuesta bifásica y la desagregación. La falta de linealidad se debe a muchos factores tales como la química de la reacción y la instrumentación. La agregación plaquetaria mide un índice de respuesta o una actividad que no es una medida cuantitativa de los reactantes 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 que resulta difícil proporcionar los intervalos típicos de reproducibilidad o de precisión. Sin embargo, hay un consenso basado en la experiencia para estos parámetros (véase a continuación). Cada laboratorio debe establecer sus propios límites de aceptabilidad para los análisis.

Reproducibilidad entre pruebas: menos de ± 7,5%
 Reproducibilidad entre instrumentos: menos de ± 15%
 Variación entre lotes de reactivo: menos de ± 10,5%
 Entre laboratorios (mismo sistema de análisis): menos de ± 12,5%

BIBLIOGRAFÍA

- Born, GVR and Cross, MJ. The Aggregation of Blood Platelets. J. Physiol [Londres] 8:178, 1963.
- Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades/Centers Guidelines for Isolation Precautions in Hospitals. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades/Centers. 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 y Jennings, LK. Platelet protocols: Research and Clinical laboratory Procedure. Academic Press. Londres. 1999, p 35.
- Newhouse, P y 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 y Nodine (eds.) Grune and Stratton, Nueva 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. Annal Clin Lab Sci, 2:63, 1972.
- Owen, CA, Bowie, EJW, Thompson, JH: The diagnosis of bleeding disorder. Little, Brown et al, 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, Nueva York, 1977.
- Marcus, AJ: Platelet Aggregation. In Coleman, RW, Hirsh, J, Marder, VJ, Salzman, EQ: Hemostasis and thrombosis: Basic principles and clinical practice. P 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. P 472. JB Lippencott Company, 1982.

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, PO Box 347, Horsham, PA 19044-0347 EE.UU.
 Tel. para EE. UU.: 1 (800) 257-3282
 Tel. internacional: +1 (215) 441-4000
 Fax Internacional: +1 (215) 443-8820
 Correo electrónico: customer.service@biodatacorp.com
 Internet: www.biodatacorp.com
 Corporación con certificado ISO 13485



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



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

