

ARACHIDONIC ACID

Artikel-Nr.: 0203018

EDMA Nr.: 1302040100

IVD

Verwendungszweck:

ARACHIDONIC ACID ist für die Routine-Aggregationsmessung bestimmt, um Störungen der Thrombozytenfunktion zu erkennen und das therapeutische Medikamentenmonitoring durchzuführen.

Produktbeschreibung:

ARACHIDONIC ACID ist ein Natriumarachidonat-Lyophilisat. Das rekonstituierte Reagenz hat eine Konzentration von **5 mg/ml**.

Warnhinweis:

ARACHIDONIC ACID ist nur für *in vitro* Diagnostik bestimmt und darf nicht injiziert werden.

Prinzip:

Nach Zugabe zu plättchenreichem Citratplasma stimuliert **ARACHIDONIC ACID** die Thrombozyten zur Aggregation. **ARACHIDONIC ACID** ist für die Routine-Aggregationsmessung bestimmt, um Defekte durch Azetylsalizylsäure haltige Medikamente und „Storage Pool Disease“ differenziert zu diagnostizieren. Außerdem ist es geeignet, den Einfluß aspirinähnlicher Produkte auf die Plättchen Aggregation zu bewerten.

Packungsinhalt:

2 Flaschen mit jeweils 1,0 ml **ARACHIDONIC ACID** Lyophilisat
1 Gebrauchsanweisung

Lagerung des Reagenz:

Lagerung des Lyophilisats in ungeöffneten Flaschen bei 2 - 8 °C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum.

Rekonstitution des Reagenz:

Bringen Sie das **ARACHIDONIC ACID** Reagenz auf Raumtemperatur 15 - 30°C. Lösen Sie den Inhalt einer Flasche **ARACHIDONIC ACID** mit 1,0 ml bidestilliertem Wasser pH 6,8 - 7,2 auf. Legen Sie die Reagenzflasche für ca. 5 Minuten auf einen Rollen- oder Reagenzmischer um eine homogene Durchmischung zu erreichen.

Haltbarkeit des rekonstituierten Reagenz:

Das rekonstituierte **ARACHIDONIC ACID** Reagenz ist bei 2 - 8 °C in der gut verschlossenen Originalflasche 24 Stunden stabil. Für längere Lagerung kann das rekonstituierte **ARACHIDONIC ACID** Reagenz bei -20 °C eingefroren werden.

Konzentrationsdefinition:

1 M Salzlösung entspricht 1 Molekulargewicht (304,46) in 1 Liter Wasser.
16,4225 mM = 5 mg/ml

Geräte:

ARACHIDONIC ACID kann in den meisten Aggregometern eingesetzt werden. Genaue Hinweise sind den jeweiligen Betriebsanleitungen der Geräte zu entnehmen. Wir empfehlen zur Messung der Thrombozytenfunktion die Aggregationsprofiler PAP 4 und PAP 8.

Empfohlenes Material:

1. Aggregometer
2. Aggregometerküvetten
3. Rührstäbe
4. Bidestilliertes Wasser, pH 6,8 - 7,2
5. Pipetten
6. Zentrifuge

Blutentnahme und Herstellung des Citratplasmas:

Blut zur Durchführung der Plättchenaggregation muss in Spritzen oder Citratabnahmeröhrchen aus Kunststoff entnommen werden. Citratblut oder plättchenreiches Plasma darf zu keiner Zeit mit Glas in Berührung kommen.

A. Blutentnahme

Die Blutentnahme sollte mit größter Sorgfalt ausgeführt werden, um eine Hämolyse und eine Kontamination mit Gewebeflüssigkeit zu vermeiden.

1. Spritzen-Entnahme-Technik

Entnehmen Sie 9,0 ml venöses Blut mit einer Kunststoffspritze. Vermeiden Sie zu starken Sog. Entfernen Sie die Nadel von der Spritze und überführen Sie das Blut in ein Kunststoffröhrchen, in dem sich 1 ml Natrium-Citrat 0,11 M befindet. Mischen Sie das Röhrchen schonend durch vorsichtiges Schwenken.

2. Vakuum-Entnahme-Technik

Entnehmen Sie venöses Blut unter Verwendung von Citratabnahmeröhrchen, die Natrium-Citrat 0,11 M in einem Mischungsverhältnis von 1 : 9 enthalten. Mischen Sie das Röhrchen schonend durch vorsichtiges Schwenken.

B. Herstellung des plättchenreichen und plättchenarmen Plasma

1. Zentrifugieren Sie das Citratblut für 10 Minuten bei Raumtemperatur und 150 x g.
2. Befinden sich noch Erythrozyten im plättchenreichem Plasma, zentrifugieren Sie das Plasma erneut für weitere 5 Minuten.
3. Überführen Sie das plättchenreiche Plasma mit einer Kunststoffpipette in ein mit PRP beschriftetes Kunststoffröhrchen (PRP – **platelet rich plasma**). Verschließen Sie das Röhrchen luftdicht und lassen es für ca. 30 Minuten ruhig stehen, damit die Thrombozyten sich erholen können.
4. Zentrifugieren Sie das im Abnahmeröhrchen verbleibende Blut für ca. 20 Minuten bei Raumtemperatur und 1500 x g.
5. Überführen Sie das plättchenarme Plasma mit einer Kunststoffpipette in ein mit PPP beschriftetes Kunststoffröhrchen (PPP – **platelet poor plasma**). Verschließen Sie das Röhrchen.
6. Bestimmen Sie die Thrombozytenzahl des PRP mit einem Zellzähler.

Testdurchführung PAP 4 (PAP 8):

Die Analyse des plättchenreichen Plasmas muss spätestens 4 Std. nach der Blutentnahme abgeschlossen sein.

1. Stellen Sie einen Aggregometer Leerwert durch Pipettieren von 500 µl (250 µl) plättchenarmen Plasma in eine Küvette ohne Rührer her.
2. Pipettieren Sie 450 µl (225 µl) plättchenreiches Plasma in eine mit einem Rührer vorgelegte zweite Küvette. Inkubation für 3 Minuten bei 37°C.
3. Falls erforderlich, Einstellung der 0 und 100 % Grundlinie gemäß den Anweisungen des Geräteherstellers.
4. Geben Sie 50µl (25µl) **ARACHIDONIC ACID** direkt in das plättchenreiche Plasma und nicht an die Küvettenwand. Die Endkonzentration von **ARACHIDONIC ACID** im plättchenreichen Plasma beträgt **500 µg/ml**.

Achtung: Mischen Sie vor jeder Reagenzentnahme die Reagenzflasche nochmals gut auf.

5. Lassen Sie die Aggregationskurven für mindestens 6 Minuten aufzeichnen.

Ergebnisse:

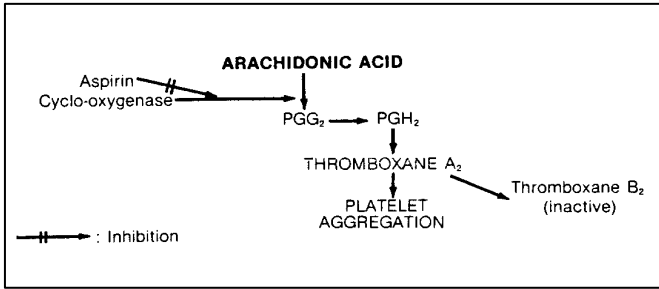
Typische **ARACHIDONIC ACID** Aggregationsmuster sind in den Abbildungen 1 - 3 dargestellt. **ARACHIDONIC ACID** mit einer Endkonzentration von **500 µg/ml** bewirkt bei normalem plättchenreichen Plasma eine große einzelne Aggregationswelle.

Erwartungswerte (Normalwerte):

Der Normalbereich für die **ARACHIDONIC ACID** Aggregation sollte von jedem Labor selbst erstellt werden. Studien haben gezeigt, dass **ARACHIDONIC ACID**, mit einer Endkonzentration von **500 µg/ml**, im normalen plättchenreichen Plasma eine Endaggregation von 60 - 90 % bewirkt.

ARACHIDONIC ACID ist als Fettsäure in den Zellkernen und Zellmembranen der humanen Thrombozyten enthalten. Sie wird von Phospholipiden gespalten und vereinigt sich in Gegenwart des Enzyms Cyclo-Oxygenase und Sauerstoff zu endoperoxiden Prostaglandin G₂ (PGG₂). Es wird schnell in Prostaglandin H₂(PGH₂) umgewandelt, welches sich in Thromboxan A₂ - einem wirkungsvollen Plättchenaggregator - verändert. Aspirin oder aspirinhaltige Medikamente verhindern die Cyclo-Oxygenase vermittelte Sauerstoffzerstörung. Somit kann eine Plättchenaggregation nicht stattfinden. Die *in vitro* Zugabe von **ARACHIDONIC ACID** zu

normalem plättchenreichem Plasma verursacht einen explosionsartigen Anstieg der Sauerstoff Radikalen, Thromboxanbildung und Plättchenaggregation.



Hinweis: Das Vorhandensein von Erythrozyten im plättchenreichem Plasma führt zu einer fälschlich verminderten Gesamtaggregation. Das Vorhandensein von Thrombozyten im plättchenarmen Plasma führt zu einer fälschlich erhöhten Gesamtaggregation.

Einschränkungen:

Falsche Ergebnisse werden beobachtet, wenn die Thrombozytenzahl im plättchenreichen Plasma unter **75.000 / µl** liegt. Plättchenreiches Plasma, das nicht mindestens 30 Minuten vor der Testdurchführung bei Raumtemperatur aufbewahrt wurde, kann abnormale Ergebnisse liefern.

Qualitätskontrolle:

Um eine täglich gleich bleibende Reagenzqualität zu gewährleisten, sollte eine Kontrollprobe wie eine Patientenprobe mitgeführt werden. Für die Kontrollprobe sollte frisches plättchenreiches Plasma von einem gesunden Spender, der während der letzten 10 Tage weder Acetylsalicylsäure (Aspirin) noch Aspirinhaltige Präparate eingenommen hat, eingesetzt werden.

Ausführungsmerkmale:

Langzeitversuche haben gezeigt, dass **ARACHIDONIC ACID** bei richtiger Lagerung einwandfreie Ergebnisse liefert.

Qualitätssicherung:

Dieses Produkt wird für **möLab** nach dem Qualitätsmanagement **DIN EN ISO 13485** hergestellt. **möLab** überwacht mit eigenem Qualitätsmanagement **DIN EN ISO 9001** und **DIN EN ISO 13485** dieses Produkt. Es unterliegt dem **EDMA** Klassifikations- und Überwachungssystem und wird gemäß der Richtlinie **98/79/EG** in Verkehr gebracht.

Literatur:

1. Moncada S. Vane JR: Arachidonic Acid metabolites and the interactions between platelets and blood vessel walls.
2. Bye A. Lewis Y. O Grady J: Effects of a single oral dose of aspirin on the platelet aggregation response on arachidonic acid.
3. Tripplert DA. et al.: Platelet Function, Laboratory evaluation and clinical application. ASCP, Chicago 1978.
4. Ingermann CM. Smith JB. Shapiro S, Sedar A, Silver MJ: Hereditary abnormality of platelet aggregation attributable to nucleotide storage pool deficiency. Blood 52: 332, 1978.
5. Williams WJ, Beutler E, Erslev AJ, Rundles RW: Hematology. McGraw Hill 1977

Legende:

Resultate der **ARACHIDONIC ACID** induzierten Aggregation im normalen und abnormalen plättchenreichen Plasma. Der Kurvenpeak bei 0% kennzeichnet die Reagenzzugabe.

Bestellhinweis

ARACHIDONIC ACID 2 x 1,0 ml

Bestell-Nr.

0203018

möLab GmbH
 Dietrich-Bonhoeffer-Straße 9
 40764 Langenfeld
 Tel.: 02173 / 26 99 00
 Fax: 02173 / 26 99 029
 E-mail: Info@moelab.de
 Internet: www.moelab.de

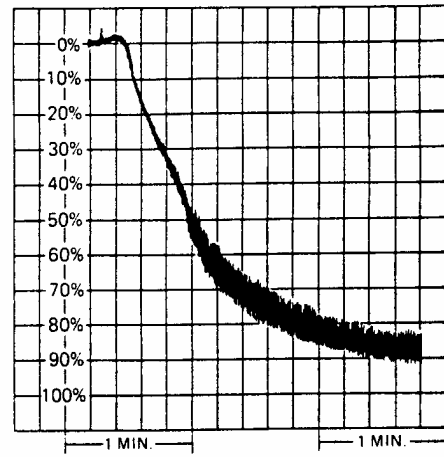


Abb. 1 normale Aggregation

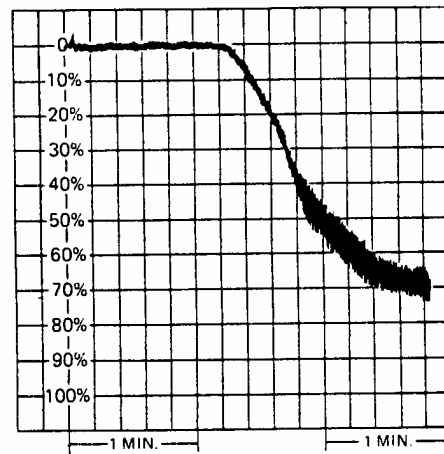


Abb. 2 abnormale Aggregation (milder Aspirineffekt 5 - 8 Tage nach Einnahme)

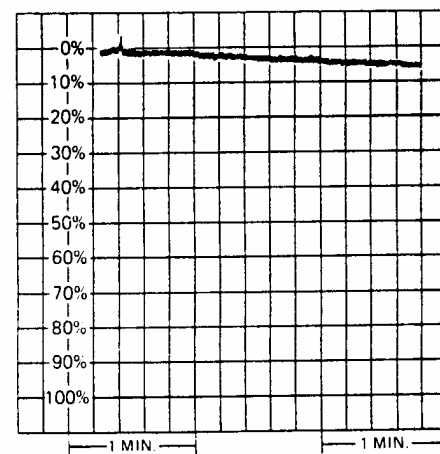


Abb. 3 abnormale Aggregation (Aspirineffekt)



Gebrauchsanweisung beachten!