

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

BETA/Pak® es un kit que contiene ADP (adenosina-5'-difosfato), ristocetina y colágeno soluble. Todos los reactivos están liofilizados para almacenamientos largos y para mantener la estabilidad.

USO PREVISTO

BETA/Pak está indicado para usarse en los estudios rutinarios de agregación plaquetaria en el diagnóstico diferencial de los trastornos de la función plaquetaria y el síndrome de von Willebrand.

PRINCIPIO

El ADP y el colágeno (tipo I) inducen patrones característicos de agregación plaquetaria en plasma normal rico en plaquetas. Las plaquetas de pacientes con varios trastornos plaquetarios genéticos o adquiridos muestran respuestas anómalas a estos reactivos.^{8,10,11}

En presencia de factor von Willebrand, la ristocetina induce la aglutinación de las plaquetas. Esta respuesta se ve disminuida o no ocurre en el plasma rico en plaquetas de pacientes con síndrome de von Willebrand.¹⁵

PRECAUCIONES

Los reactivos BETA/Pak son para DIAGNÓSTICO *IN-VITRO* EXCLUSIVAMENTE Y NO PARA INYECCIÓN O INGESTIÓN.

MATERIALES SUMINISTRADOS

1. ADP, 2 x 0,5 ml. Guarde a 2-8 °C antes de su reconstitución.
2. Colágeno (tipo I), 2 x 0,5 ml. Guarde a 2-8 °C antes de su reconstitución.
3. Ristocetina, 1 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 0,45 ml y 0,05 ml)
4. Barras agitadoras desechables
5. Cubetas para el agregómetro

INSTRUMENTACIÓN

Los reactivos BETA/Pak funcionarán según se ha descrito cuando se utilicen 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.⁸

Los siguientes factores pueden producir resultados incorrectos en la prueba; deben rechazarse las muestras afectadas: hemólisis, contaminación con eritrocitos, lipemia, quilo, ictericia, trombocitopenia (<75.000/mm³), 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 0,11M
3. Invierta suavemente el tubo 4-5 veces para mezclar

NOTA: Cuando se utilicen tubos de plástico para recogida de muestras por vacío, compruebe la etiqueta para verificar 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 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, transfíralo a un tubo de plástico con la etiqueta PPP.
5. Recuento de plaquetas del PRP debe ser 250.000 ± 50.000/mm³. 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 equilibrarse a temperatura ambiente antes de usarlos.

1. Reconstituya un vial de ADP con 0,5 ml de agua purificada.
2. Reconstituya un vial de colágeno con 0,5 ml de agua purificada.
3. Reconstituya la ristocetina con 0,5 ml de agua purificada.

Después de la reconstitución, mezcle bien todos los reactivos antes de usar.

ALMACENAMIENTO DE LOS REACTIVOS

El ADP y el colágeno reconstituidos son estables durante 30 días cuando se almacenan a 2-8 °C en sus envases originales herméticamente cerrados. La ristocetina reconstituida es estable durante 7 días cuando se almacena a 2-8 °C, o puede congelarse a -20 °C hasta por 8 semanas.

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. Pipete 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 reactivo al plasma rico en plaquetas. No deje que el reactivo chorree por la pared de la cubeta. La concentración final de cada reactivo en el plasma a analizar es:

ADP	2 X 10 ⁻⁵ M
Colágeno	0,19 mg/ml
Ristocetina	1,5 mg/ml
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 x 10⁻⁵ M y 2 x 10⁻⁵ M, véase tabla 1.
2. Añada 0,4 ml de solución salina en el tubo marcado 4 x 10⁻⁵ M, y 0,2ml de solución salina en el tubo marcado 2 x 10⁻⁵ M.
3. Para conseguir la concentración de 4 x 10⁻⁵ M: añada 0,1 ml de la de 2 x 10⁻⁴ M (del vial reconstituido) al tubo con la etiqueta 4 x 10⁻⁵ M. Mezcle (una dilución 1:5).
4. Para conseguir la concentración de 2 x 10⁻⁵ M: añada 0,2 ml de la de 4 x 10⁻⁵ M (del tubo de concentración 4 x 10⁻⁵ M) al tubo con la etiqueta 2 x 10⁻⁵ M. Mezcle (una dilución 1:2).
5. Pueden obtenerse diluciones adicionales utilizando las técnicas detalladas anteriormente.

Tabla 1

	Concentración de trabajo	Concentración final
Reconstituido	2 X 10 ⁻⁴ M	N / D
Normal	2 X 10 ⁻⁴ M	2 X 10 ⁻⁵ M
Bifásico	2 x 10 ⁻⁵ M hasta 4 x 10 ⁻⁵ M	2 x 10 ⁻⁶ M hasta 4 x 10 ⁻⁶ M

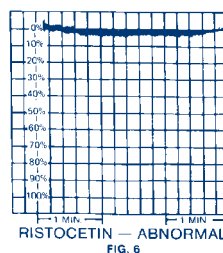
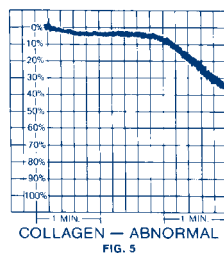
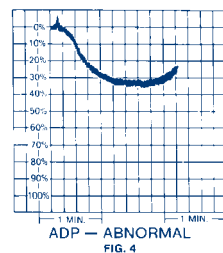
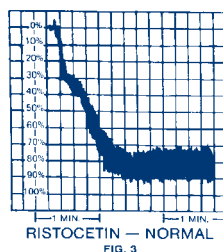
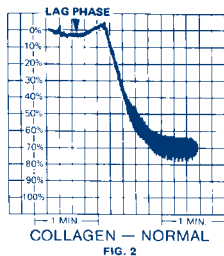
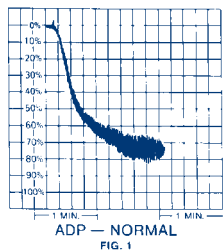
CONTROL DE CALIDAD

Los laboratorios deben seguir las prácticas de control de calidad generalmente aceptadas 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 se ilustran en las figuras 1-6.



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 a 4×10^{-6} M, pueden observarse dos ondas de agregación. 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

La agregación por colágeno se produce en una sola onda tras la fase de retardo durante la cual las plaquetas se adhieren al colágeno soluble. Durante la fase de retardo, no se observa ninguna agregación.

La agregación inducida por la ristocetina se produce como una respuesta bifásica o como una onda grande de agregación. La onda primaria se debe a la aglutinación de las plaquetas por el factor von Willebrand en presencia de ristocetina. La onda secundaria se debe a la liberación del ADP endógeno de las plaquetas.

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	$2,0 \times 10^{-5}$ M	500 µg/m	0,19 mg/ml	$1,0 \times 10^{-4}$ M
Fase de retardo [Seg.]	< 10	≤ 20	< 60	0
Pendiente primaria	38-67	65-90	61-99	54-101
Agregación total (% a los 5 min.)	63-89	65-90	61-99	54-101
Agregación bifásica	Dependiente de la concentración	NO	NO	SÍ
Otros	Puede mostrar cambio de forma	Puede que todos donantes normales no tengan un PLT CT-175K-300K	No dular	Los donantes normales pueden variar

Tabla 2: Resultados de agregación observados en los defectos de la función plaquetaria

DEFECT	REAGENT	ADP	COLLAGEN	RISTOCETIN
ASPIRIN-LIKE		▼ or N	▼	▼ or N
THROMBASTHENIA		▼▼	▼	N
STORAGE POOL DISEASE		▼	▼	▼ or N
VON WILLEBRAND SYNDROME		N	N	▼▼
BERNARD-SOULIER SYNDROME		N	N	▼▼

▼ = Disminución de la agregación debido a una disminución o ausencia de onda secundaria.

▼▼ = Disminución de la agregación debido a una disminución o ausencia de onda primaria y secundaria.

N = Respuesta normal

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 ± 7,5%
Reproducibilidad entre instrumentos:	mejor que ± 15%
Variación entre lotes de reactivo:	mejor que ± 10,5%
Entre laboratorios (mismo sistema de análisis):	mejor que ± 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 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. Annal Clin Lab Sci, 2:63, 1972.
- Owen CA, Bowie EJW, Thompson JH: The diagnosis of bleeding disorder. Little, Brown and Co., 1975.
- Marcus AJ, Zucker MB,; Physiology of blood platelets. Grune and Stratton. 1965.
- Harms CS, Triplett DA: Platelet Aggregation. Lab Mgt, Oct., 1977.
- Mills DCB, Robb IA, Roberts GCK: The release of nucleotides, 5-hydroxytryptamine, and enzymes from human blood platelets during aggregation. J. Physiol. 195:715, 1968.
- Day HJ, Holmsen H: Laboratory tests of platelet function. Annal Clin Lab Sci. 2:63, 1972
- Howard MA, Firkin BG: Ristocetin. A new tool in the investigation of platelet aggregation. Thromb Diath Haemorrh 26:362, 1971

DISPONIBILIDAD DEL PRODUCTO

PRODUCTO	CONTENIDO NETO	NÚMERO DE CATÁLOGO
BETA/Pak®		
(ADP, colágeno, ristocetina)	1 x 0,5 ml de cada uno	101580
ADP	3 x 0,5 ml	101312
Ácido araquidónico	3 x 0,5 ml	101297
Colágeno	3 x 0,5 ml	101562
Epinefrina	3 x 0,5 ml	101311
Plaquetas liofilizadas	3 x 4 ml	101595
Plaquetas liofilizadas	1 x 10 ml	101258
PAR/Pak® II		
(ADP, colágeno, epinefrina)	2 x 0,5 ml de cada uno	101310
Ristocetina		
AggRecetin® 1,5 mg/ml	15 mg	100968
AggRecetin 1,0-1,5 mg/ml	15 mg	100970
AggRecetin a granel	100 mg	101241
vW Factor Assay®	10 determinaciones	101246
Ensayo factor vW	20 determinaciones	103025
Plasma de control anómalo de vW	3 x 0,5 ml	101270
Plasma de referencia normal de vW	3 x 0,5 ml	101269

SE GARANTIZA QUE ESTE PRODUCTO FUNCIONARÁ SEGÚN LO DESCRITO EN LAS ETIQUETAS Y EN LAS PUBLICACIONES DE BIO/DATA CORPORATION. BIO/DATA CORPORATION NIEGA CUALQUIER GARANTÍA IMPLÍCITA DE COMERCIALIZACIÓN O IDONEIDAD PARA CUALQUIER OTRO FIN Y EN NINGÚN CASO BIO/DATA CORPORATION SERÁ RESPONSABLE POR NINGÚN DAÑO CONSECUCIONAL DERIVADO DE LA SUSODICHA GARANTÍA EXPRESA.



155 Gibraltar Road, PO Box 347, Horsham, PA 19044-0347 EE.UU.
 (800) 257-3282 EE.UU. (215) 441-4000 Internacional
 Fax: (215) 443-8820 Internacional
 Correo electrónico: bdc@biodatacorp.com
 Internet: www.biodatacorp.com

