

DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O Kit de Combinação BETA/PAK® é um kit de combinação de reagentes para agregação plaquetária que contém reagentes de ADP (Adenosina-5'-Difosfato), Colágeno (Pele de Bezerra Solúvel, Tipo 1) e Ristocetina (Sulfato de Ristocetina A).

O Reagente de ADP é uma preparação liofilizada de Adenosina-5'-Difosfato. É um componente essencial na agregação plaquetária. O ADP atua como agonista ou ativador, ligando-se aos receptores plaquetários e desencadeando uma série de eventos bioquímicos que levam à ativação e agregação das plaquetas.

O Reagente de Colágeno é uma preparação liofilizada de Pele de Bezerra Solúvel (Tipo 1). O Reagente de Colágeno induz a mudança de forma das plaquetas e as ativa. As plaquetas ativadas então liberam compostos trombóticos de seus grânulos, os quais servem para recrutar plaquetas adicionais para o local da lesão.

O Reagente de Ristocetina é uma preparação liofilizada de Sulfato de Ristocetina A, um glicopeptídeo de estrutura química desconhecida que foi isolado de Nocardia lurida. A Ristocetina contém mais de 90% de Ristocetina A.

O Kit de Combinação BETA/PAK® foi otimizado para uso com agregômetros plaquetários de transmissão de luz. Também pode ser utilizado com outros analisadores turbidimétricos ou de impedância, bem como com citômetros de fluxo.

FINALIDADE PRETENDIDA

O Kit de Combinação BETA/PAK® é um kit prático que contém uma combinação de reagentes de rotina para agregação plaquetária, utilizados para induzir respostas de agregação e/ou aglutinação no Plasma Rico em Plaquetas (PRP). O kit inclui ADP, Colágeno e Ristocetina.

DETECÇÃO / MEDIÇÃO

Os reagentes do Kit de Combinação BETA/PAK® são utilizados, em conjunto com outros diluentes e amostras de controle, para medir as alterações na transmissão de luz em uma amostra de Plasma Rico em Plaquetas (PRP).

FUNÇÃO DO PRODUTO

O Kit de Combinação BETA/PAK® fornece informações sobre diferentes aspectos da função/qualidade das plaquetas. Este kit auxilia na avaliação de diversas alterações plaquetárias adquiridas e hereditárias, bem como da eficácia de terapias antiplaquetárias.

INFORMAÇÕES ESPECÍFICAS FORNECIDAS

Os reagentes do Kit de Combinação BETA/PAK® não se destinam à detecção de uma condição, doença ou fator de risco específico.

O Reagente de ADP desempenha um papel fundamental na ativação e agregação plaquetária. Quando o ADP se liga a receptores específicos na superfície das plaquetas, como P2Y1 e P2Y12, inicia cascatas de sinalização intracelular. Essa ativação induz rápidas alterações na forma das plaquetas e a liberação de íons cálcio por meio dos receptores P2Y1, enquanto a ativação do P2Y12 sustenta a resposta, garantindo uma agregação estável. O Reagente de ADP é utilizado para estimular de forma precisa a ativação e agregação plaquetária por meio da interação com esses receptores. Ao observar a agregação plaquetária em resposta ao ADP, os profissionais podem avaliar a função/qualidade das plaquetas em relação a alterações na ativação e agregação. Esse processo é essencial para compreender a dinâmica da formação de coágulos e avaliar a eficácia de terapias antiplaquetárias na prevenção de eventos trombóticos. O ADP também promove a liberação de mediadores secundários, como o Tromboxano A2 (TXA2), amplificando ainda mais a ativação e agregação plaquetária.

O Reagente de Colágeno inicia a ativação e agregação plaquetária. Ao se ligar a receptores glicoproteicos na superfície das plaquetas, especialmente à glicoproteína VI (GP VI), o Colágeno desencadeia cascatas de sinalização intracelular. Isso resulta em rápidas alterações na forma das plaquetas e na liberação de íons cálcio por meio dos receptores GP VI, com ativação sustentada facilitada pela integrina $\alpha 2\beta 1$, garantindo uma agregação estável. O Reagente de Colágeno é utilizado para estimular de forma precisa a ativação e agregação plaquetária por meio da interação com esses receptores, permitindo a avaliação da função/qualidade das plaquetas e de alterações associadas à ativação induzida por colágeno. Esse processo é fundamental para compreender a dinâmica da formação de coágulos e avaliar a eficácia de terapias antiplaquetárias na inibição de eventos trombóticos. O Colágeno também promove a liberação de mediadores secundários, amplificando ainda mais a ativação e agregação plaquetária.

O Reagente de Ristocetina é um reagente plaquetário específico utilizado no contexto do teste de Agregação Plaquetária Induzida por Ristocetina (RIPA). A Ristocetina interage com o Fator de von Willebrand (vWF), uma proteína plasmática essencial envolvida nos processos de adesão e agregação plaquetária. A Ristocetina provoca

uma alteração conformacional no vWF, expondo sítios de ligação para a glicoproteína Ib (GP Ib) das plaquetas. Consequentemente, os receptores GP Ib das plaquetas se ligam ao vWF, iniciando a adesão plaquetária. Essa adesão inicial prepara as plaquetas para a agregação. Em casos de deficiência do Fator de von Willebrand (vWF) ou de distúrbios relacionados à função plaquetária, a agregação induzida por Ristocetina ocorre de forma limitada, devido à incapacidade das plaquetas de agregarem de maneira eficaz. Assim, o teste RIPA fornece informações valiosas sobre a função/qualidade das plaquetas e a atividade do vWF, auxiliando na caracterização da Doença de von Willebrand (vWD) e de distúrbios hemorrágicos associados. Este método de teste desempenha um papel importante na avaliação precisa da função/qualidade das plaquetas.

AUTOMAÇÃO

Os reagentes do Kit de Combinação BETA/PAK® destinam-se ao uso em agregômetros plaquetários de transmissão de luz semiautomatizados e automatizados. Esses reagentes também podem ser utilizados com outros analisadores turbidimétricos ou de impedância, bem como com citômetros de fluxo.

QUALIDADE / QUANTIDADE

Não existem padrões primários para os reagentes do Kit de Combinação BETA/PAK®. As respostas a esses reagentes são dependentes da concentração. Um doador normal conhecido deve ser testado com cada novo lote de reagentes do Kit de Combinação BETA/PAK®. Organizações de padronização classificam a agregação plaquetária induzida por ADP, Colágeno e Ristocetina como semi-quantitativa ou semi-qualitativa.

O Kit de Combinação BETA/PAK® é fornecido contendo 1 frasco de 0,5 mL de Reagente de ADP, 1 frasco de 0,5 mL de Reagente de Colágeno e 1 frasco de 0,5 mL de Reagente de Ristocetina. A concentração de trabalho do ADP é 200 μ M, do Colágeno é 1,9 mg/mL e da Ristocetina é 15 mg/mL.

TIPO DE AMOSTRA

A amostra de teste é preparada a partir de sangue total anticoagulado com citrato de sódio. A amostra de teste é o Plasma Rico em Plaquetas (PRP). O branco de teste é o Plasma Pobre em Plaquetas (PPP).

Os reagentes de ADP, Colágeno e Ristocetina podem ser utilizados com Plasma Rico em Plaquetas (PRP) de origem humana ou animal para testes de rotina de agregação plaquetária. Os resultados baseiam-se na concentração, extensão e taxa de agregação em comparação com um branco de Plasma Pobre em Plaquetas (PPP).

POPULAÇÃO DE TESTE

- Humano: Para ADP e Colágeno, a prevalência dos distúrbios plaquetários é global e pode variar de acordo com raça, etnia, tipo sanguíneo e outros fatores. A incidência é variável. Para a Ristocetina, a prevalência dos distúrbios plaquetários relacionados ao fator de von Willebrand é global e pode variar de acordo com raça, etnia, tipo sanguíneo e outros fatores. A incidência é de aproximadamente 2%.
- Fármacos antiplaquetários: Para o ADP, a prevalência e a incidência são variáveis. Cerca de 4% da população com mais de 40 anos utiliza fármacos antiplaquetários, além da Aspirina. 33% (em adultos > 40 anos); 16% utilizam Terapia Antiplaquetária Dupla (DAPT); e 8% Terapia Antiplaquetária (APT). Para o Colágeno, a prevalência de agregação anormal induzida pelo reagente Colágeno, dependente do uso estimado de Aspirina, pode atingir até um terço da população. Tanto o Clopidogrel quanto a combinação de Clopidogrel com Aspirina podem influenciar a agregação plaquetária induzida por Colágeno. A incidência é variável. Para a Ristocetina, a prevalência e a incidência são variáveis. Inibidores de BTK e a vancomicina são conhecidos por reduzir os resultados da RIPA. Um anticorpo monoclonal antiplaquetário recentemente desenvolvido contra a glicoproteína (GP) Ib, denominado OP-FI, juntamente com um anticorpo monoclonal anti-GPIb amplamente estudado conhecido como AP-1, eliminam completamente a aglutinação plaquetária induzida pela Ristocetina.
- Distúrbios plaquetários hereditários: Para o ADP, a prevalência e a incidência são variáveis. Existem cerca de 60 tipos; 75 genes conhecidos; frequência de 5/1000; estimada em 1–2% da população. Para o Colágeno, a prevalência e a incidência são variáveis. Existem cerca de 60 tipos de distúrbios plaquetários hereditários que afetam aproximadamente 0,3% da população. Certos defeitos plaquetários hereditários, como a trombostenia de Glanzmann e a doença do pool de armazenamento, não apresentam resposta ao reagente Colágeno. Para a Ristocetina, a prevalência e a incidência são variáveis. Plaquetas provenientes de indivíduos com Síndrome de Bernard-Soulier não se aglutinam quando expostas à Ristocetina. Em contraste com a Doença de von Willebrand, os níveis de atividade do fator de von Willebrand e do antígeno de von Willebrand permanecem dentro dos intervalos normais.
- Animal: Para ADP, Colágeno e Ristocetina, a prevalência e a incidência dependem da espécie.

DIAGNÓSTICO IN VITRO

O conteúdo do Kit de Combinação BETA/PAK® consiste em reagentes para diagnóstico in vitro destinados exclusivamente ao uso profissional em laboratório. Esses reagentes não são destinados à injeção ou ingestão.

USUÁRIO PRETENDIDO

Os reagentes do Kit de Combinação BETA/PAK® destinam-se ao uso profissional em laboratório por pessoal qualificado.

PRINCÍPIO DO TESTE

Quando introduzidos em uma amostra de Plasma Rico em Plaquetas (PRP) agitada a 37°C, reagentes exógenos como ADP, Colágeno e Ristocetina estimulam as plaquetas, levando-as a sofrer alteração de forma e a se agregarem. Essa agregação inicial é denominada agregação primária e é reversível. No entanto, plaquetas normais possuem a capacidade de liberar ADP endógeno de seus grânulos, resultando em uma segunda onda de agregação, irreversível.

O agregômetro plaquetário de transmissão de luz captura eficazmente essas alterações, exibindo parâmetros como fase de latência (lag phase), alteração de forma, bem como a taxa e a extensão da agregação ao longo de um período de teste predeterminado.

CALIBRADORES E CONTROLES

Não são necessários calibradores ou controles para o Kit de Combinação BETA/PAK®. Uma amostra de um doador conhecido deve ser testada com cada lote de reagentes de ADP, Colágeno e Ristocetina. As respostas são dependentes da concentração.

REAGENT LIMITATIONS


Os reagentes do Kit de Combinação BETA/PAK® funcionarão conforme especificado quando as Instruções de Uso forem seguidas. Os reagentes devem ser utilizados antes da data de validade impressa em cada frasco.

REAGENTES FORNECIDOS

REF	101580:	1 frasco de reagente ADP (0,5 mL)
		1 frasco de reagente Colágeno (0,5 mL)
		1 frasco de reagente Ristocetina (0,5 mL)

REAGENTES E MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

- Água Purificada (Destilada, Deionizada, Grau Reagente), pH 5,3 – 7,2 para reconstituição
- Solução Salina Tamponada com TRIS (TBS) ou solução salina fisiológica a 0,85% para diluições

 **OBSERVAÇÃO: O USO DE SOLUÇÃO SALINA DE HEMOTERAPIA (BLOOD BANK) CAUSARÁ RESULTADOS ERRÔNEOS.**


MATERIAIS E ACESSÓRIOS

- Agregômetro de Plaquetas (Seguir as Instruções de Uso do Fabricante)
- Centrífuga
- Pipeta Eletrônica
- Pontas para Pipeta ②
- Tubos de Teste para Agregômetro (Siliconizados) ②
- Barras Magnéticas para Agregômetro (Revestidas com Plástico) ②
- Tubos Plásticos para Amostras e Tampas (para Diluições) ②


 **OBSERVAÇÃO: ITENS DESCARTÁVEIS, COMO TUBOS DE TESTE, BARRAS MAGNÉTICAS, TUBOS PARA AMOSTRAS E TAMPAS, SÃO PARA USO ÚNICO SOMENTE.**

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

 Os reagentes de ADP, Colágeno e Ristocetina não requerem proteção de temperatura durante o transporte.


 Após o recebimento, os reagentes de ADP, Colágeno e Ristocetina devem ser armazenados entre 2–8 °C em sua embalagem original.

 Os reagentes de ADP e Colágeno reconstituídos são estáveis por 30 dias quando armazenados em seus recipientes originais, bem fechados, entre 2–8 °C.

 O reagente de Ristocetina reconstituído é estável por 7 dias quando armazenado em seu recipiente original, bem fechado, entre 2–8 °C.








 Diluições contendo o reagente de ADP são estáveis por 2 horas à temperatura ambiente.

ESTERILIDADE

 Os reagentes do Kit de Combinação BETA/PAK® não são produtos estéreis. Deve-se ter cuidado para não contaminar o produto ao pipetar os reagentes reconstituídos ou alíquotados.

AVISOS E PRECAUÇÕES

 Use EPI de acordo com as políticas e práticas do laboratório ao manusear os reagentes de ADP, Colágeno e Ristocetina.

-  Siga as precauções padrão ao preparar amostras e espécimes de teste.
-  Manuseie os reagentes de ADP, Colágeno e Ristocetina com cuidado para evitar contaminação durante o uso.
-  Evite a evaporação dos reagentes limitando as superfícies de troca ar-líquido.
-  Para garantir resultados de teste ideais, uma amostra de controle de um doador conhecido deve ser analisada consecutivamente, sem interrupção.
-  Para preservar a estabilidade dos reagentes, armazene os reagentes remanescentes em seus recipientes originais, bem fechados.
-  Descarte os materiais pós-teste de acordo com os regulamentos aplicáveis e as políticas do laboratório.
-  **NOTA AO USUÁRIO: QUALQUER INCIDENTE GRAVE RELACIONADO A ESTE PRODUTO DEVE SER COMUNICADO AO FABRICANTE E À AUTORIDADE COMPETENTE DO ESTADO-MEMBRO NO QUAL O USUÁRIO E/OU PACIENTE ESTIVEREM ESTABELECIDOS.**


STATUS DO MATERIAL INFECCIOSO

Os reagentes do Kit de Combinação BETA/PAK® não contêm materiais infecciosos. As amostras de teste e os espécimes devem ser considerados infecciosos e devem ser manuseados como se fossem capazes de transmitir infecção. Após o teste, as amostras e os espécimes devem ser descartados em conformidade com os regulamentos aplicáveis e as políticas do laboratório.

INSTALAÇÕES ESPECIAIS

Os reagentes do Kit de Combinação BETA/PAK® não requerem o uso de instalações especiais dentro do ambiente laboratorial.

PREPARO PARA USO

 **NOTA: OS REAGENTES DO KIT DE COMBINAÇÃO BETA/PAK® DEVEM ESTAR À TEMPERATURA AMBIENTE (15–28 °C) ANTES DA RECONSTITUIÇÃO. OS REAGENTES ARMAZENADOS DEVEM SER TRAZIDOS À TEMPERATURA AMBIENTE ANTES DO USO.**

RECONSTITUIÇÃO

A concentração de trabalho do ADP reconstituído é 200 µM, a do Colágeno é 1,9 mg/mL e a da Ristocetina é 15 mg/mL. Todas as concentrações finais baseiam-se na adição de 25 µL de reagente de ADP, Colágeno ou Ristocetina a uma amostra de 225 µL de Plasma Rico em Plaquetas (PRP).

- Reconstitua os reagentes de ADP, Colágeno e Ristocetina com 0,5 mL de água purificada.
- Inverta suavemente para misturar.
- Os reagentes de ADP, Colágeno e Ristocetina reconstituídos devem ser mantidos fechados antes do uso.

DILUIÇÕES

Para AGREGAÇÃO BIFÁSICA

Para demonstrar a agregação bifásica do ADP, o Plasma Rico em Plaquetas (PRP) pode ser testado com várias diluições do reagente. Diluições adicionais podem ser realizadas para determinar a concentração limiar. A concentração limiar é a menor concentração que provoca uma resposta de agregação primária.


 **NOTA: PARA DILUIÇÕES, UTILIZAR SOLUÇÃO SALINA TAMPONADA COM TRIS (TBS) OU SOLUÇÃO SALINA FISIOLÓGICA A 0,85%.**

TABELA 1: TABELA DE DILUIÇÃO DE ADP

REAGENTE ADP	SOLUÇÃO SALINA TRIS-TAMPONADA	CONCENTRAÇÃO DE TRABALHO	CONCENTRAÇÃO FINAL
—	—	200 µM	20 µM
125 µM	125 µM	100 µM	10 µM
62 µM	188 µM	50 µM	5 µM
25 µM	225 µM	20 µM	2 µM

PREPARO DO PACIENTE

Os pacientes devem abster-se de tomar aspirina ou utilizar medicamentos e produtos que contenham aspirina, bem como outros medicamentos, suplementos ou bebidas energéticas conhecidos por afetar a função plaquetária, por um período de 7 a 10 dias antes da coleta da amostra. A ingestão de alimentos gordurosos, laticínios e o hábito de fumar devem ser evitados por 12 horas antes da coleta da amostra.

 **OBSERVAÇÃO: A CONSULTA COM UM MÉDICO É OBRIGATORIA ANTES DE REALIZAR QUALQUER ALTERAÇÃO NA MEDICAÇÃO.**

COLETA DA AMOSTRA

A amostra deve ser coletada com cuidado para evitar estase, hemólise, contaminação por fluido tecidual e exposição ao vidro. As amostras devem ser mantidas à temperatura ambiente. O torniquete deve ser liberado assim que o sangue começar a fluir para o dispositivo de coleta.

FIGURA 1: AGREGAÇÃO NORMAL COM ADP

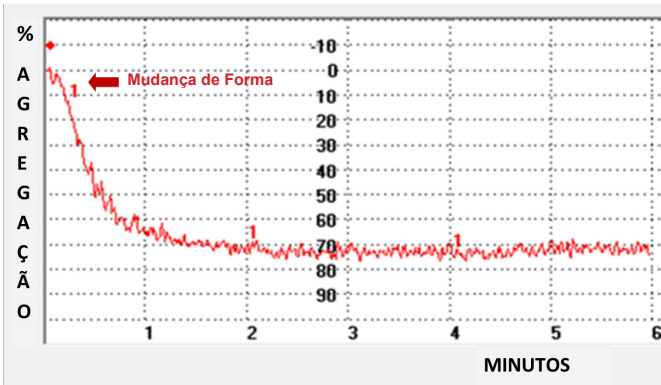


FIGURA 2: AGREGAÇÃO ANORMAL COM ADP

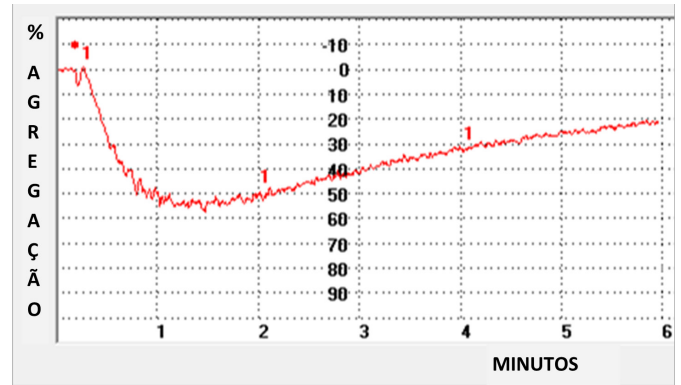


FIGURA 3: AGREGAÇÃO NORMAL COM COLÁGENO

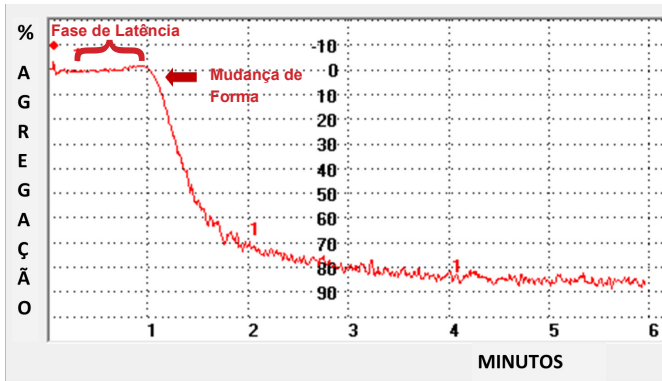


FIGURA 4: AGREGAÇÃO ANORMAL COM COLÁGENO

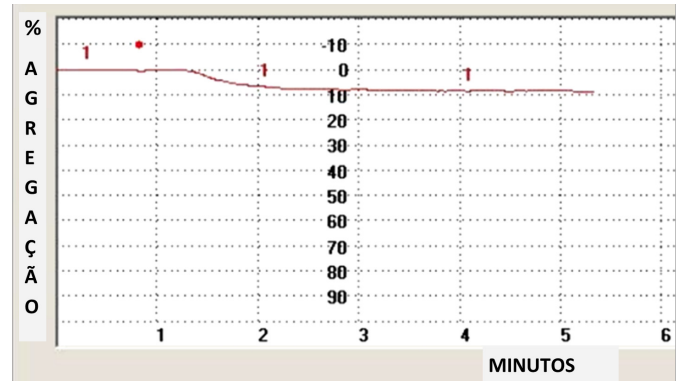


FIGURA 5: AGREGAÇÃO PLAQUETÁRIA INDUZIDA POR RISTOCETINA (RIPA) AGREGAÇÃO NORMAL

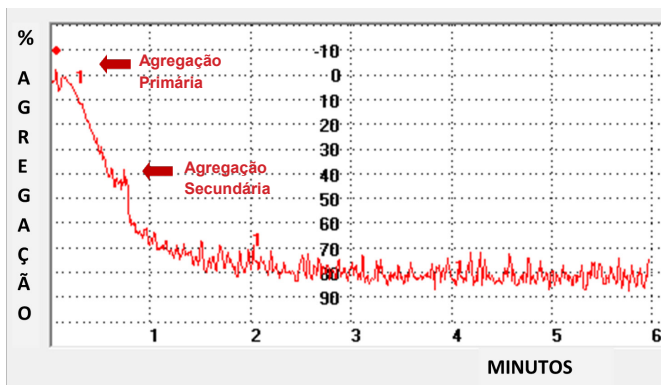
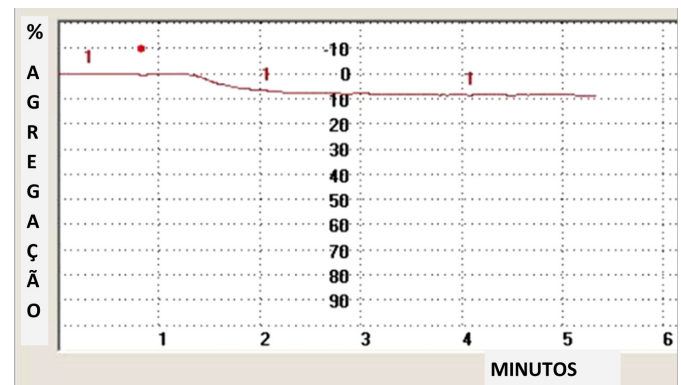


FIGURA 6: AGREGAÇÃO PLAQUETÁRIA INDUZIDA POR RISTOCETINA (RIPA) AGREGAÇÃO ANORMAL



ADOTE PRECAUÇÕES PADRÃO DURANTE TODO O PROCESSO DE COLETA DA AMOSTRA, PREPARO DO MATERIAL E PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS. DESCARTE MATERIAIS PERFUROCORCORTANTES E RESÍDUOS BIOLÓGICOS DE ACORDO COM OS REGULAMENTOS APLICÁVEIS E AS POLÍTICAS DO LABORATÓRIO.

Técnica de Coleta de Amostra com Sistema a Vácuo

- Utilize um conjunto de coleta com agulha tipo "borboleta" de 21g ou 23g para a coleta da amostra.
- Colha o sangue em tubos plásticos de coleta a vácuo contendo citrato de sódio a 3,2% (0,11 M) como anticoagulante.
- Misture suavemente o tubo de coleta 4 a 5 vezes por inversão.
- Anote o horário da coleta no rótulo da amostra.
- Mantenha os tubos de coleta à temperatura ambiente.
- Misture novamente os tubos antes da centrifugação.

Técnica de Coleta com Seringa

- Utilize um conjunto de coleta com agulha tipo "borboleta" de 21g ou 23g para a punção venosa.
- Colha 9,0 mL de sangue em uma seringa plástica, evitando sucção excessiva.
- Prensada o tubo da agulha borboleta e desconecte a seringa.
- Imediatamente e cuidadosamente dispense a amostra de sangue em um tubo plástico (polipropileno) contendo 1,0 mL de citrato de sódio 0,11 M como anticoagulante. A proporção entre sangue e anticoagulante é de 9 partes de sangue para 1 parte de anticoagulante.
- Tampe o tubo plástico.

- Misture suavemente o tubo de coleta 4 a 5 vezes por inversão.
- Anote o horário da coleta no rótulo da amostra.
- Mantenha os tubos de coleta à temperatura ambiente.
- Misture novamente os tubos antes da centrifugação.



OBSERVAÇÃO: QUANDO O HEMATÓCRITO DO PACIENTE FOR INFERIOR A 30% OU SUPERIOR A 55%, A PROPORÇÃO ENTRE SANGUE E ANTICOAGULANTE DEVE SER AJUSTADA. OS TUBOS DE COLETA A VÁCUO COM TAMPAS AZULS DEVEM CONTER CITRATO DE SÓDIO A 3,2% (0,11 M), QUE É A CONCENTRAÇÃO RECOMENDADA PARA ESTUDOS DE FUNÇÃO PLAQUETÁRIA.

PREPARO DA AMOSTRA

Plasma Rico em Plaquetas (PRP)

- Centrifugue o sangue anticoagulado a 150 x g por 10 minutos à temperatura ambiente.
- Examine a camada de plasma em busca de hemácias.
- Se houver presença de hemácias, recentrifugue por mais 5 minutos.
- Utilize uma pipeta para transferir o PRP para um recipiente plástico rotulado como PRP.
- Remova o PRP a partir de um ponto logo abaixo da metade do volume do PRP, para garantir uma contagem plaquetária consistente (A PARTE SUPERIOR DO VOLUME POSSUI UMA MENOR CONCENTRAÇÃO DE PLAQUETAS E A PARTE INFERIOR É MAIS CONCENTRADA).
- Tampe o recipiente.
- Deixe o recipiente repousar à temperatura ambiente.

Plasma Pobre em Plaquetas (PPP)


- Centrifugue o restante da amostra de sangue com PRP a 2.500 x g por 20 minutos.
- Utilize uma pipeta para transferir o PPP para um recipiente plástico rotulado como PPP.
- Tampe o recipiente.
- Deixe o recipiente repousar à temperatura ambiente.

PROCEDIMENTO DO ENSAIO

Procedimento Rotineiro de Agregação

 **OBSERVAÇÃO: ESTE É UM PROCEDIMENTO GERAL. SIGA AS INSTRUÇÕES DE USO FORNECIDAS PELO FABRICANTE DO AGREGÔMETRO UTILIZADO.**

Prepare um Branco para Cada Paciente

 **OBSERVAÇÃO: CADA PACIENTE DEVE TER SEU PRÓPRIO BRANCO. O BRANCO DE UM PACIENTE NÃO PODE SER UTILIZADO PARA NENHUM OUTRO PACIENTE. O BRANCO DO PACIENTE DEVE SER PREPARADO A PARTIR DA AMOSTRA DE PLASMA POBRE EM PLAQUETAS (PPP) DO PRÓPRIO PACIENTE. SE O MESMO PACIENTE ESTIVER SENDO TESTADO EM MÚLTIPLOS POÇOS DE TESTE, O MESMO BRANCO DESSE PACIENTE PODE SER UTILIZADO PARA ESSES POÇOS.**


- Identifique um tubo de ensaio com a letra "B", o número do poço de teste e a identificação do paciente para marcar o Branco.
- Pipete 250 µL de Plasma Pobre em Plaquetas (PPP) no tubo de ensaio (NÃO ADICIONE A BARRA MAGNÉTICA).
- Reserve o tubo com o Branco para uso posterior.
- Repita os passos acima para cada paciente.

Preparar as Amostras

- Identifique de um a oito tubos de ensaio novos com a identificação do paciente e o número do poço de teste.
- Coloque os tubos identificados no poço correspondente (nº 1 a 8) das cavidades de incubação com agitação.
- Adicione uma barra magnética a cada tubo de ensaio.
- Pipete 225 µL da amostra de Plasma Rico em Plaquetas (PRP) em cada tubo de ensaio nas cavidades de incubação com agitação (CERTIFIQUE-SE DE QUE NÃO HÁ BOLHAS).
- Selecione o cronômetro na tela para cada cavidade de incubação com agitação em uso; a contagem regressiva para aquecimento será iniciada.
- As amostras serão incubadas a 37 °C durante o tempo predefinido.
- Ajuste a linha de base de 100% (Branco).
- Coloque o tubo de ensaio do Branco do paciente previamente preparado no poço de teste nº 1.
- Selecione BLANK para ativar o poço de teste.
- O botão BLANK mudará para START.
- Repita os passos acima para cada poço de teste que for utilizado.

Iniciar o Teste

- Assim que o cronômetro atingir 0:00, pressione o botão do cronômetro para parar a incubação em cada cavidade de amostra com agitação.
- Transfira o tubo de ensaio da cavidade de incubação com agitação nº 1 para o poço de teste nº 1.
- Repita o passo acima para cada poço de teste, certificando-se de que todos os tubos permaneçam com o número correspondente do poço durante a transferência.
- Feche as guias da pipeta.
- Selecione START para o poço de teste nº 1.
- Pipete 25 µL do reagente diretamente no tubo de ensaio com Plasma Rico em Plaquetas (PRP) no poço de teste nº 1 (NÃO PERMITA QUE O REAGENTE ESCORRA PELA PAREDE DO TUBO DE ENSAIO NEM QUE A PONTA DA PIPETA QUEBRE A SUPERFÍCIE DA AMOSTRA).
- Selecione INJECT para o poço de teste nº 1.
- Repita os passos acima para cada poço de teste que estiver sendo utilizado.
- O teste será executado pelo tempo predefinido (OUTROS PROCEDIMENTOS DE TESTE DE FABRICANTES DIFERENTES PODEM ESPECIFICAR TEMPOS OU VOLUMES DIFERENTES).

 **OBSERVAÇÃO: UTILIZE UM DOADOR CONHECIDO COMO AMOSTRA CONTROLE. CADA LABORATÓRIO DEVE ESTABELECEER E VALIDAR SEU PRÓPRIO PROTOCOLO DE TESTE E VERIFICAR O DESEMPENHO RESULTANTE DO SEU SISTEMA DE TESTE (REAGENTES, INSTRUMENTO E PROTOCOLO DE TESTE).**

CONTROLE DE QUALIDADE

Para estudos de agregação plaquetária, um doador conhecido deve ser testado da mesma forma que o paciente, a fim de garantir o desempenho e a consistência do sistema de teste. Um novo controle deve ser incluído em cada série de testes e, preferencialmente, com cada novo lote de reagentes ou após a manutenção do instrumento. Cada laboratório deve definir seus intervalos aceitáveis para a população de pacientes que atende e verificar o desempenho esperado do sistema de teste.

RESULTADOS

Os padrões de agregação dos reagentes do Kit de Combinação BETA/PAK® são apresentados nas Figuras 1 a 6.

REAGENTE DE ADP

Os padrões típicos de agregação induzidos pelo Reagente de ADP são ilustrados nas Figuras 1 e 2. Quando o Reagente de ADP é utilizado em uma concentração final de

20 µM, ele induz uma grande onda única de agregação em Plasma Rico em Plaquetas (PRP) normal. Em concentrações mais baixas, variando de 2 µM a 10 µM, podem ser observadas duas ondas distintas de agregação. A onda primária é a resposta imediata ao ADP exógeno introduzido pelo reagente, enquanto a onda secundária é devida à liberação de ADP endógeno do pool de nucleotídeos armazenados nas plaquetas.

Em algumas amostras normais de PRP, pode ser observada desagregação dependente da concentração, indicando uma resposta variável a diferentes concentrações de ADP. As marcas de pico (spike marks) nas figuras indicam os pontos em que o reagente foi adicionado, fornecendo pontos de referência claros para o momento da introdução do reagente e seus efeitos no processo de agregação.

REAGENTE DE COLÁGENO

Os padrões típicos de agregação induzidos pelo Reagente de Colágeno são ilustrados nas Figuras 3 e 4, fornecendo uma representação detalhada dos efeitos do reagente no Plasma Rico em Plaquetas (PRP). Após a adição do Reagente de Colágeno ao PRP, ocorre uma fase inicial de latência (lag phase), durante a qual não se observa agregação. Após essa fase, as plaquetas normais apresentam uma alteração de forma perceptível. Em seguida, observa-se uma grande onda única de agregação, demonstrando a resposta robusta das plaquetas ao Reagente de Colágeno.

As marcas de pico (spike marks) nas figuras indicam os pontos exatos em que o reagente foi adicionado, fornecendo referências claras para o momento da introdução do reagente e seus efeitos no processo de agregação.

REAGENTE DE RISTOCETINA

Os padrões típicos de agregação induzidos pelo Reagente de Ristocetina são apresentados nas Figuras 5 e 6, fornecendo uma visão detalhada dos efeitos do reagente no Plasma Rico em Plaquetas (PRP). A agregação induzida pela Ristocetina pode se manifestar como uma resposta bifásica ou como uma única grande onda de agregação. A onda primária de agregação resulta da aglutinação das plaquetas mediada pelo Fator de von Willebrand na presença de Ristocetina. Em seguida, pode ocorrer uma onda secundária devido à liberação de ADP endógeno pelas plaquetas, contribuindo ainda mais para o processo de agregação.

Em pacientes sem distúrbio hemorrágico, a administração de uma dose elevada de Ristocetina geralmente resulta em uma forte onda única de agregação. Essa resposta robusta é indicativa de função plaquetária normal e de atividade normal do Fator de von Willebrand. Por outro lado, uma dose baixa de Ristocetina geralmente não provoca resposta nesses pacientes, pois a concentração mais baixa é insuficiente para induzir agregação plaquetária significativa.

Entretanto, uma resposta forte a uma dose baixa de Ristocetina sugere a presença de certos tipos de Doença de von Willebrand. Em contraste, indivíduos normais sem distúrbios hemorrágicos geralmente apresentam pouca ou nenhuma resposta a doses baixas de Ristocetina.

É essencial interpretar esses resultados de agregação dentro do contexto mais amplo da condição clínica do paciente. Um diagnóstico definitivo deve ser estabelecido somente após testes adicionais e uma avaliação abrangente. As figuras incluem marcas de pico (spike marks) que indicam os pontos exatos de adição do reagente, fornecendo referências claras para a compreensão do momento da introdução do reagente e de seus efeitos imediatos no processo de agregação.

TABELA 2: RESULTADOS DE ADP, COLÁGENO E RISTOCETINA OBSERVADOS EM ALTERAÇÕES DA FUNÇÃO PLAQUETÁRIA

DEFEITO	REAGENTE ADP	REAGENTE COLÁGENO	REAGENTE RISTOCETINA
DO TIPO ASPIRINA	↓ ou N	↓	↓ ou N
TROMBASTENIA	↓ ↓	↓	N
DOENÇA DE ARMAZENAMENTO	↓	↓	↓ ou N
DOENÇA DE VON WILLEBRAND	N	N	↓ ↓
SÍNDROME DE BERNARD-SOULIER	N	N	↓ ↓

↓ = Agregação Reduzida Resultante de uma Diminuição ou Ausência da Onda Secundária

↓ ↓ = Agregação Reduzida Resultante de uma Diminuição ou Ausência das Ondas Primária e Secundária

N = Resposta Normal

VALORES ESPERADOS

Cada laboratório deve estabelecer seus próprios intervalos esperados e características de desempenho para este reagente nas concentrações utilizadas para induzir a agregação plaquetária. Esses intervalos devem ser determinados utilizando a instrumentação, os procedimentos, os intervalos de referência e a população de pacientes específicos do laboratório.

A literatura publicada relata que o Reagente de ADP normalmente produz uma resposta de Agregação Final na faixa de 69–91% e uma Fase de Latência (lag phase) de ≥15 segundos; o Reagente de Colágeno normalmente produz uma resposta de Agregação Final na faixa de 66–92% e uma Fase de Latência de ≥61 segundos; e a RIPA apresenta uma resposta de Agregação Final na faixa de 67–95%, sob condições padrão de teste. Esses intervalos baseados na literatura são fornecidos apenas como

informação geral; os laboratórios devem verificar e estabelecer seus próprios intervalos esperados antes do uso clínico.

LIMITAÇÕES

Na agregometria por transmissão de luz, a presença de eritrócitos no PRP reduzirá a agregação observada. A presença de plaquetas no PPP aumentará a agregação final. Resultados espúrios podem ocorrer se a contagem de plaquetas no PRP for inferior a 75.000 plaquetas/ μ L. As contagens de plaquetas no PRP só podem ser realizadas pelo método do hemocitômetro. Amostras comprometidas devem ser rejeitadas.

Se os resultados forem anormais, o teste deve ser repetido em outra ocasião. Cada laboratório deve estabelecer intervalos de referência adequados à população que atende e às concentrações específicas de reagentes utilizadas.

DESEMPENHO ANALÍTICO

A agregação plaquetária, induzida por reagentes comumente utilizados como ADP, Colágeno e Ristocetina, é um sistema de teste não linear. As respostas baseiam-se na diferença de transmissão de luz entre o Plasma Rico em Plaquetas (PRP) e o Plasma Pobre em Plaquetas (PPP) do paciente; portanto, os resultados são únicos para cada paciente. Certos parâmetros são mais suscetíveis à não linearidade do que outros, incluindo a fase de latência (lag phase), a inclinação primária, a inclinação secundária, a resposta bifásica e a desagregação. A não linearidade é causada por diversos fatores, como a química da reação e a instrumentação. A agregação plaquetária expressa a taxa de resposta ou atividade e não quantifica os reagentes nem suas concentrações.

Na agregação plaquetária, a exatidão é um parâmetro relativo e depende do sistema de teste. As limitações da agregação plaquetária tornam difícil fornecer intervalos típicos de precisão ou reprodutibilidade.

A variabilidade na linearidade, precisão e reprodutibilidade dos resultados em sistemas de teste baseados em reagentes de ADP, Colágeno e Ristocetina é reconhecida por várias organizações de padronização. O coeficiente de variação (CV) comumente aceito é $\pm 15\%$.

Reprodutibilidade entre Testes:	menor que $\pm 7,5\%$
Reprodutibilidade entre Equipamentos:	menor que $\pm 15,0\%$
Variabilidade entre Lotes de Reagente:	menor que $\pm 10,5\%$
Entre Laboratórios (Sistema a Sistema):	menor que $\pm 12,5\%$

SÍMBOLOS



Risco Biológico



Número de Catálogo



Atenção



Produto Registrado e Marcado com CE



Consultar as Instruções de Uso



Representante na União Europeia



Dispositivo de Diagnóstico In Vitro



Fabricante



Leitura Obrigatória



Não Estéril



Uso Único Apenas



Limitações de Temperatura



Produto Registrado e Marcado no Reino Unido



Representante no Reino Unido

REFERÊNCIAS

- Allain JP, Cooper HA, Wagner RH, Brinkhous KM. Platelets fixed with paraformaldehyde: a new reagent for assay of von Willebrand factor and platelet aggregating factor. *J Lab Clin Med.* 1975 Feb;85(2):318-28.
- Angiolillo DJ, Ueno M, Goto S. Basic principles of platelet biology and clinical implications. *Circ J.* 2010 Apr;74(4):597-607.
- Born GV, Cross MJ. The Aggregation of Blood Platelets. *J Physiol.* 1963 Aug; 168(1):178-95.
- Brinkhous KM, Graham JE, Cooper HA, Allain JP, Wagner RH. Assay of von Willebrand factor in von Willebrand's disease and hemophilia: use of a macroscopic platelet aggregation test. *Thromb Res.* 1975 Mar;6(3):267-72.
- Brinkhous KM, Read MS. Preservation of platelet receptors for platelet

aggregating factor/von Willebrand factor by air drying, freezing, or lyophilization: new stable platelet preparations for von Willebrand factor assays. *Thromb Res.* 1978 Oct;13(4):591-7.

- 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.* 1979 Mar; 7(3):283-6.
- Cattaneo M, Cerletti C, Harrison P, Hayward CP, Kenny D, Nugent D, Nurden P, Rao AK, Schmaier AH, Watson SP, Lussana F, Pugliano MT, Michelson AD. Recommendations for the Standardization of Light Transmission Aggregometry: A Consensus of the Working Party from the Platelet Physiology Subcommittee of SSC/ISTH. *J Thromb Haemost.* 2013 Apr 10.
- CLSI. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline—Fourth Edition. CLSI document H18-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
- CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline - Fourth Edition. CLSI document M29-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
- CLSI. Platelet Function Testing by Aggregometry, Approved Guideline - Fourth Edition. CLSI document H58-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- CLSI. Collection, Transport and Processing for Plasma Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays, Approved Guideline - Fifth Edition. CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- CLSI. Clinical Laboratory Safety, Approved Guideline - Third Edition. CLSI document GP17-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
- Day HJ, Holmsen H. Laboratory tests of platelet function. *Ann Clin Lab Sci* (1971). 1972 Jan-Feb; 2(1):63-74.
- Day HJ, Rao AK. Evaluation of platelet function. *Semin Hematol.* 1986 Apr;23(2):89-101.
- Eichelberger, JW. Kinetic (Slope) Measurement of Platelet Aggregation. Bio/Data Corporation, Horsham, PA; 1984.
- Favaloro EJ, Gosselin RC, Pasalic L, Lippi G. Post-analytical issues in hemostasis and thrombosis testing: An update. In EJJF, RCG, editors. Hemostasis and Thrombosis: Methods and Protocols. 2nd ed. New York: Humana Press. 2023. p. 787-811. (Methods in Molecular Biology).
- Federici AB, Lee CA, Berntorp EE, Lillicrap D, Montgomery RR. Von Willebrand Disease: Basic and Clinical Aspects. 2011.
- Garner JS. Guideline for isolation precautions in hospitals. The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1996 Jan;17(1):53-80.
- Gralnick HR, Sultan Y, Collier BS. Von Willebrand's disease: combined qualitative and quantitative abnormalities. *N Engl J Med.* 1977 May 5;296(18):1024-30.
- Harmening, D. M. Clinical Hematology and Fundamentals of Hemostasis. Fifth Edition. F. A. Davis Company. 2009.
- Hoffbrand, A. V., Moss, P. A. H., & Pettit, J. E. Hoffbrand's Essential Haematology. Seventh Edition. John Wiley & Sons Ltd. 2016.
- Howard MA, Firkin BG. Ristocetin--a new tool in the investigation of platelet aggregation. *Thromb Diath Haemorrh.* 1971 Oct 31; 26(2): 362-9.
- Israels SJ, El-Ekiaby M, Quiroga T, Mezzano D. Inherited disorders of platelet function and challenges to diagnosis of mucocutaneous bleeding. *Haemophilia.* 2010 Jul;16 Suppl 5:152-9.
- Kambayashi J, Shinoki N, Nakamura T, Ariyoshi H, Kawasaki T, Sakon M, Monden M. Prevalence of impaired responsiveness to epinephrine in platelets among Japanese. *Thromb Res.* 1996 Jan 1;81(1):85-90.
- Kaushansky K, Lichtman MA, Prchal JT, Levi MM, Press OW, Burns LJ, Caligiuri M. eds. Williams Hematology, 9e. McGraw-Hill Education. 2015.
- Keohane, E. M., Smith, L. J., Walenga, J. M., & Block, D. R. Rodak's Hematology: Clinical Principles and Applications. Fifth Edition. Saunders, an imprint of Elsevier Inc. 2016.
- Levine PH. The effect of thrombocytopenia on the determination of platelet aggregation. *Am J Clin Pathol.* 1976 Jan;65(1):79-82
- Linnemann B, Schwonberg J, Mani H, Prochnow S, Lindhoff-Last E. Standardization of light transmittance aggregometry for monitoring antiplatelet therapy: an adjustment for platelet count is not necessary. *J Thromb Haemost.* 2008 Apr;6(4):677-83.
- Marcus AJ, Coleman RW, Hirsh J, Ivarder VJ, Salzman EW. Hemostasis and thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice. Vol. 472. Philadelphia: JB Lippincott Company; 1982.
- Michelson, AD. Platelets. Third Edition. Amsterdam: Academic Press; 2013.
- Miller CH, Graham JB, Goldin LR, Elston RC. Genetics of classic von Willebrand's disease. I. Phenotypic variation within families. *Blood.* 1979 Jul;54(1):117-36.
- Mills DC, Robb IA, Roberts GC. The release of nucleotides, 5-hydroxytryptamine and enzymes from human blood platelets during aggregation. *J Physiol.* 1968 Apr;195(3):715-29.
- Moncada S, Vane JR. Arachidonic acid metabolites and the interactions between platelets and blood-vessel walls. *N Engl J Med.* 1979 May 17;300(20):1142-7.
- NCCLS. Assays of von Willebrand Factor Antigen and Ristocetin Cofactor Activity; Approved Guideline. NCCLS document H51-A. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2002.
- Nilsson, I. M. and Holmberg, L.: von Willebrand's Disease Today. *Clin. Hematol.*, 8:276, 1979.
- O'Donnell CJ, Larson MG, Feng D, Sutherland PA, Lindpaintner K, Myers RH, D'Agostino RA, Levy D, Tofer GH; Framingham Heart Study. Genetic and environmental contributions to platelet aggregation: the Framingham heart study. *Circulation.* 2001 Jun 26;103(25):3051-6.
- Olson JD, Brockway WJ, Fass DN, Magnuson MA, Bowie EJ. Evaluation of

- ristocetin-Willebrand factor assay and ristocetin-induced platelet aggregation. Am J Clin Pathol. 1975 Feb;63(2):210-8.
- Owen CA Jr, Bowie EJW, Thompson JH Jr. The Diagnosis of Bleeding Disorders. 2nd ed. Little, Brown, and Company; 1975.
 - Palma-Barqueros V, Revilla N, Sánchez A, Zamora Cánovas A, Rodríguez-Alén A, Marín-Quílez A, González-Porras JR, Vicente V, Lozano ML, Bastida JM, Rivera J. Inherited Platelet Disorders: An Updated Overview. Int J Mol Sci. 2021 Apr 26;22(9):4521.
 - Ramsey R, Evatt BL. Rapid assay for von Willebrand factor activity using formalin-fixed platelets and microtitration technic. Am J Clin Pathol. 1979 Dec;72(6):996-9.
 - Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L; Health Care Infection Control Practices Advisory Committee. 2007 Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Health Care Settings. Am J Infect Control. 2007 Dec;35(10 Suppl 2):S65-164.
 - The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, Centers for disease Control and Prevention, Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services. Guideline for isolation precautions in hospitals Part II. Recommendations for isolation precautions in hospitals. American Journal of Infection Control. 1996; Vol 24, Issue 1: 32-52.
 - Triplett DA, et al. Platelet function: laboratory evaluation and clinical application. Chicago, IL: American Society for Clinical Pathology 1978.
 - Weiss HJ. Aspirin and Platelets in Drugs and Hematologic Reactions. New York, NY: Dimittov and Nodine, eds. Grune and Stratton. 1974.
 - White, M.M., and Jennings, L.K. Platelet Protocols: Research and Clinical Laboratory Procedures, Academic Press, Inc.; 1999.
 - Williams WJ, Beutler E, Erslev AJ, Rundles RW. Hematology. New York, NY: McGraw-Hill. 1977.
 - Zimmerman TS, Abildgaard CF, Meyer D. The factor VIII abnormality in severe von Willebrand's disease. N Engl J Med. 1979 Dec 13;301(24):1307-10.
 - Zuzel M, Nilsson IM, Aberg M. A method for measuring plasma ristocetin cofactor activity. Normal distribution and stability during storage. Thromb Res. 1978 May;12(5):745-54.
 - Zimmerman TS, Abildgaard CF, Meyer D. The factor VIII abnormality in severe von Willebrand's disease. N Engl J Med. 1979 Dec 13;301(24):1307-10.
 - Zuzel M, Nilsson IM, Aberg M. A method for measuring plasma ristocetin cofactor activity. Normal distribution and stability during storage. Thromb Res. 1978 May;12(5):745-54.

HISTÓRICO DE REVISÕES

Documento nº: 107763 Revisão: AA, fevereiro de 2026

- Instruções de Teste Modificadas
- Requisitos Regulatórios do IVDR Implementados
- Reformatação e Reconfiguração para Melhorar a Usabilidade pelo Operador

Tradução do documento nº: 101579 Revisão: AA


Documento nº: 107763 Revisão: AB, março de 2026

- Correções editoriais (tipográficas); sem alterações no conteúdo ou nas informações regulatórias.
- Instruções de reconstituição do Reagente de Ristocetina revisadas para melhorar a clareza; removida a abordagem separada de diluição da Ristocetina e adicionado um quadro de reconstituição da Ristocetina utilizando água purificada para preparar diretamente as concentrações de trabalho.
- Seção de Resultados Esperados atualizada: removido o gráfico de resultados, adicionada uma declaração de faixa do AggRecetin baseada na literatura e esclarecido que os laboratórios devem estabelecer seus próprios intervalos esperados.

Tradução do documento nº: 101579 Revisão: AB

Para obter um catálogo completo de produtos, visite nosso site em www.biodatacorp.com ou entre em contato com nosso Departamento de Atendimento ao Cliente.

A LINHA DE PRODUTOS DA BIO/DATA CORPORATION INCLUI REAGENTES DE USO GERAL, DESTINADOS AO USO EM LABORATÓRIO PROFISSIONAL, COM A FINALIDADE DE INDUZIR E RELATAR A ATIVIDADE E AS RESPOSTAS DA FUNÇÃO PLAQUETÁRIA. ESTE PRODUTO ESTÁ GARANTIDO PARA FUNCIONAR CONFORME DESCRITO EM SUA ROTULAGEM, INCLUINDO AS INSTRUÇÕES DE USO. A BIO/DATA CORPORATION NÃO FAZ NENHUMA DECLARAÇÃO OU GARANTIA, EXPRESSA OU IMPLÍCITA, QUANTO À CAPACIDADE, ADEQUAÇÃO OU COMERCIALIZAÇÃO PARA QUALQUER OUTRO FIM. EM NENHUMA HIPÓTESE A BIO/DATA CORPORATION SERÁ RESPONSÁVEL POR QUAISQUER DANOS CONSEQUENTES DECORRENTES DA GARANTIA EXPRESSA ACIMA MENCIONADA

 155 Gibraltar Road
Horsham, PA 19044 EUA

Telefone Internacional: +1 215-441-4000
Telefone EUA: 1-800-257-3282
Fax Internacional: +1 215-443-8820
customer.service@biodatacorp.com

©BIO/DATA CORPORATION 2026

REF
101580



UMA EMPRESA REGISTRADA NA ISO 13485

www.biodatacorp.com

ORGULHOSAMENTE FABRICADO NOS EUA

EU REP

mdi Europa GmbH
Langenhagener Str. 71
D-30855 Langenhagen ALEMANHA

UK REP

Alpha Laboratories
40 Parham Drive Eastleigh
S050 4NU Hampshire REINO UNIDO



BETA/PAK INSTRUCTIONS FOR USE # 107763 REV AB PORTUGUESE