

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El Kit de Combinación BETA/PAK® es un kit de combinación de reactivos para la agregación plaquetaria que contiene reactivos de ADP (Adenosina-5'-Difosfato), Colágeno (Piel de Ternero Soluble, Tipo 1) y Ristocetina (Sulfato de Ristocetina A).

El reactivo de ADP es una preparación liofilizada de Adenosina-5'-Difosfato. Es un componente esencial en la agregación plaquetaria. El ADP actúa como agonista o activador, uniéndose a los receptores plaquetarios y desencadenando una serie de eventos bioquímicos que conducen a la activación y agregación de las plaquetas.

El reactivo de Colágeno es una preparación liofilizada de Piel de Ternero Soluble (Tipo 1). El reactivo de Colágeno induce el cambio de forma de las plaquetas y las activa. Las plaquetas activadas liberan posteriormente compuestos trombóticos desde sus gránulos, los cuales sirven para reclutar plaquetas adicionales hacia el sitio de la lesión.

El reactivo de Ristocetina es una preparación liofilizada de Sulfato de Ristocetina A, un glicopéptido de estructura química desconocida que ha sido aislado de *Nocardia lurida*. La Ristocetina contiene más del 90 % de Ristocetina A.

El Kit de Combinación BETA/PAK® ha sido optimizado para su uso con agregómetros plaquetarios de transmisión de luz. También puede utilizarse con otros analizadores turbidimétricos o de impedancia, así como con citómetros de flujo.

PROPÓSITO PREVISTO

El Kit de Combinación BETA/PAK® es un kit práctico que contiene una combinación de reactivos de rutina para la agregación plaquetaria, utilizados para inducir respuestas de agregación y/o aglutinación en Plasma Rico en Plaquetas (PRP). El kit incluye ADP, Colágeno y Ristocetina.

DETECCIÓN / MEDICIÓN

Los reactivos del Kit de Combinación BETA/PAK® se utilizan, en conjunto con otros diluyentes y muestras de control, para medir los cambios en la transmisión de luz en una muestra de Plasma Rico en Plaquetas (PRP).

FUNCIÓN DEL PRODUCTO

El Kit de Combinación BETA/PAK® proporciona información sobre diferentes aspectos de la función/calidad de las plaquetas. Este kit ayuda en la evaluación de diversos trastornos plaquetarios adquiridos y hereditarios, así como de la eficacia de las terapias antiplaquetarias.

INFORMACIÓN ESPECÍFICA PROPORCIONADA

Los reactivos del Kit de Combinación BETA/PAK® no están destinados a la detección de un trastorno, condición o factor de riesgo específico.

El reactivo de ADP desempeña un papel fundamental en la activación y agregación plaquetaria. Cuando el ADP se une a receptores específicos en la superficie de las plaquetas, como P2Y1 y P2Y12, inicia cascadas de señalización intracelular. Esta activación induce cambios rápidos en la forma de las plaquetas y la liberación de iones de calcio a través de los receptores P2Y1, mientras que la activación de P2Y12 mantiene la respuesta, asegurando una agregación estable. El reactivo de ADP se utiliza para estimular con precisión la activación y agregación plaquetaria mediante la interacción con estos receptores. Al observar la agregación plaquetaria en respuesta al ADP, los profesionales pueden evaluar la función/calidad de las plaquetas en relación con anomalías en la activación y agregación. Este proceso es crucial para comprender la dinámica de la formación de coágulos y evaluar la eficacia de las terapias antiplaquetarias en la prevención de eventos trombóticos. El ADP también promueve la liberación de mediadores secundarios como el tromboxano A2 (TXA2), amplificando aún más la activación y agregación plaquetaria.

El reactivo de Colágeno inicia la activación y agregación plaquetaria. Al unirse a receptores glicoproteicos en la superficie de las plaquetas, particularmente la glicoproteína VI (GP VI), el colágeno desencadena cascadas de señalización intracelular. Esto provoca cambios rápidos en la forma de las plaquetas y la liberación de iones de calcio a través de los receptores GP VI, con una activación sostenida facilitada por la integrina $\alpha 2\beta 1$, asegurando una agregación estable. El reactivo de Colágeno se utiliza para estimular con precisión la activación y agregación plaquetaria mediante la interacción con estos receptores, proporcionando un medio para evaluar la función/calidad de las plaquetas y los trastornos relacionados con anomalías en la activación inducida por colágeno. Este proceso es esencial para comprender la dinámica de la formación de coágulos y evaluar la eficacia de las terapias antiplaquetarias en la inhibición de eventos trombóticos. El colágeno también promueve la liberación de mediadores secundarios, amplificando aún más la activación y agregación plaquetaria.

El reactivo de Ristocetina es un reactivo plaquetario distintivo utilizado en el ámbito de la prueba de Agregación Plaquetaria Inducida por Ristocetina (RIPA). La ristocetina interactúa con el factor de von Willebrand (vWF), una proteína plasmática clave involucrada en los procesos de adhesión y agregación plaquetaria. La ristocetina provoca

un cambio conformacional en el vWF, exponiendo sitios de unión para la glicoproteína Ib (GP Ib) de las plaquetas. En consecuencia, los receptores GP Ib de las plaquetas se unen al vWF, iniciando la adhesión plaquetaria. Esta adhesión inicial prepara a las plaquetas para la agregación. En casos de ausencia del factor de von Willebrand (vWF) o de trastornos relacionados con la función plaquetaria, la agregación inducida por ristocetina ocurre de manera limitada debido a la incapacidad de las plaquetas para agregarse eficazmente. Por lo tanto, la prueba RIPA proporciona información valiosa sobre la función/calidad de las plaquetas y la actividad del vWF, ayudando en la caracterización de la enfermedad de von Willebrand (vWD) y de trastornos hemorrágicos asociados. Este método de prueba desempeña un papel importante en la evaluación precisa de la función/calidad de las plaquetas.

AUTOMATIZACIÓN

Los reactivos del Kit de Combinación BETA/PAK® están destinados para su uso en agregómetros plaquetarios de transmisión de luz semiautomatizados y automatizados. Estos reactivos también pueden utilizarse con otros analizadores turbidimétricos o de impedancia, así como con citómetros de flujo.

CALIDAD / CANTIDAD

No existen estándares primarios para los reactivos del Kit de Combinación BETA/PAK®. Las respuestas a estos reactivos dependen de la concentración. Se debe analizar una muestra de un donante normal conocido con cada nuevo lote de reactivos del Kit de Combinación BETA/PAK®. Las organizaciones de normalización clasifican la agregación plaquetaria inducida por ADP, Colágeno y Ristocetina como semicuantitativa o semicuantitativa.

El Kit de Combinación BETA/PAK® se presenta con 1 vial de 0,5 mL de Reactivo de ADP, 1 vial de 0,5 mL de Reactivo de Colágeno y 1 vial de 0,5 mL de Reactivo de Ristocetina. La concentración de trabajo del ADP es 200 μ M, la del Colágeno es 1,9 mg/mL y la de la Ristocetina es 15 mg/mL.

TIPO DE MUESTRA

La muestra de prueba se prepara a partir de sangre total anticoagulada con citrato de sodio. La muestra de ensayo es Plasma Rico en Plaquetas (PRP). El blanco de prueba es Plasma Pobre en Plaquetas (PPP).

Los reactivos de ADP, Colágeno y Ristocetina pueden utilizarse con Plasma Rico en Plaquetas (PRP) de origen humano o animal para pruebas rutinarias de agregación plaquetaria. Los resultados se basan en la concentración, la magnitud y la velocidad de la agregación en comparación con un blanco de Plasma Pobre en Plaquetas (PPP).

POBLACIÓN DE PRUEBA

- Humano: Para ADP y colágeno, la prevalencia de los trastornos plaquetarios es global y puede variar según la raza, la etnia, el tipo sanguíneo y otros factores. La incidencia es variable. Para la ristocetina, la prevalencia de los trastornos plaquetarios relacionados con el factor de von Willebrand es global y puede variar según la raza, la etnia, el tipo sanguíneo y otros factores. La incidencia es aproximadamente del 2%.
- Fármacos antiplaquetarios: Para ADP, la prevalencia y la incidencia son variables. El 4% de la población mayor de 40 años toma fármacos antiplaquetarios distintos de la aspirina. El 33% (adultos > 40 años); el 16% recibe terapia antiplaquetaria dual (DAPT); y el 8% terapia antiplaquetaria (APT). Para el colágeno, la prevalencia de una agregación anormal con el Reactivo de Colágeno, dependiendo del uso estimado de aspirina, alcanza hasta un tercio de la población. Tanto el clopidogrel como la combinación de clopidogrel con aspirina pueden influir en la agregación plaquetaria inducida por colágeno. La incidencia es variable. Para la ristocetina, la prevalencia y la incidencia son variables. Los inhibidores de BTK y la vancomicina son conocidos por disminuir los resultados de la RIPA. Un anticuerpo monoclonal antiplaquetario recientemente desarrollado contra la glicoproteína (GP) Ib, denominado OP-FI, junto con un anticuerpo monoclonal anti-GPIb ampliamente estudiado conocido como AP-1, eliminan completamente la aglutinación plaquetaria inducida por la ristocetina.
- Trastornos plaquetarios hereditarios: Para ADP, la prevalencia y la incidencia son variables. Existen 60 tipos; 75 genes conocidos; frecuencia de 5/1000; se estima que afectan al 1–2% de la población. Para el colágeno, la prevalencia y la incidencia son variables. Existen 60 tipos de trastornos plaquetarios hereditarios que afectan aproximadamente al 0,3% de la población. Ciertos defectos plaquetarios hereditarios, como la trombostenia de Glanzmann y la enfermedad del pool de almacenamiento, no muestran respuesta al Reactivo de Colágeno. Para la ristocetina, la prevalencia y la incidencia son variables. Las plaquetas derivadas de individuos con síndrome de Bernard-Soulier no se aglutinan cuando se exponen a la ristocetina. A diferencia de la enfermedad de von Willebrand, los niveles de actividad del Factor de von Willebrand y del antígeno de von Willebrand permanecen dentro de rangos normales.
- Animal: Para ADP, colágeno y ristocetina, la prevalencia y la incidencia dependen de la especie.

DIAGNÓSTICO IN VITRO

El contenido del Kit de Combinación BETA/PAK® consiste en reactivos de diagnóstico in vitro destinados exclusivamente para uso profesional en laboratorio. Estos reactivos no están destinados para inyección ni ingestión.

USUARIO PREVISTO

Los reactivos del Kit de Combinación BETA/PAK® están destinados para uso profesional en laboratorio por personal cualificado.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Cuando se introducen en una muestra de Plasma Rico en Plaquetas (PRP) agitada a 37 °C, los reactivos exógenos como ADP, Colágeno y Ristocetina estimulan las plaquetas, provocando cambios en su forma y su agregación. Esta agregación inicial se denomina agregación primaria y es reversible. Sin embargo, las plaquetas normales tienen la capacidad de liberar ADP endógeno de sus gránulos, lo que conduce a una segunda onda de agregación irreversible.

El agregómetro plaquetario de transmisión de luz capta eficazmente estos cambios al mostrar parámetros como la fase de latencia (lag phase), el cambio de forma, así como la velocidad y la magnitud de la agregación durante un período de ensayo predeterminado.

CALIBRADORES Y CONTROLES

No se requieren calibradores ni controles para el Kit de Combinación BETA/PAK®. Se debe analizar una muestra de un donante conocido con cada lote de reactivos de ADP, Colágeno y Ristocetina. Las respuestas dependen de la concentración.

LIMITACIONES DEL REACTIVO

Los reactivos del Kit de Combinación BETA/PAK® funcionarán según lo especificado cuando se sigan las Instrucciones de Uso. Los reactivos deben utilizarse antes de la fecha de caducidad impresa en cada vial.

REACTIVOS PROPORCIONADOS

REF	101580:	1 vial de Reactivo de ADP (0,5 mL)
		1 vial de Reactivo de Colágeno (0,5 mL)
		1 vial de Reactivo de Ristocetina (0,5 mL)

REACTIVOS Y MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROPORCIONADOS

- Agua purificada (destilada, desionizada, grado reactivo), pH 5,3 – 7,2 para la reconstitución
- Solución salina tamponada con TRIS (TBS) o solución salina fisiológica al 0,85% para diluciones



**NOTA: EL USO DE SALINA DE BANCO DE SANGRE CAUSARÁ RESULTADOS ER-
RÓNEOS.**

MATERIALES Y ACCESORIOS

- Agregómetro de plaquetas (seguir las Instrucciones de Uso del fabricante)
- Centrífuga
- Pipeta electrónica
- Puntas de pipeta ②
- Tubos de prueba para agregómetro (siliconizados) ②
- Barras agitadoras para agregómetro (revestidas de plástico) ②
- Tubos de muestra de plástico y tapas (para diluciones) ②



**NOTA: LOS ARTÍCULOS DESECHABLES COMO TUBOS DE PRUEBA, BARRAS
AGITADORAS, TUBOS DE MUESTRA Y TAPAS SON DE UN SOLO USO**

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

ADP, Collagen, and Ristocetin Reagents do not require temperature protection during shipment.

Upon receipt, store ADP, Collagen, and Ristocetin Reagents at 2 – 8° C in their original packaging.

Reconstituted ADP and Collagen Reagents are stable for 30 days when stored in their tightly capped, original containers at 2 – 8° C.

Reconstituted Ristocetin Reagent is stable for 7 days, when stored in its tightly capped, original container at 2 – 8° C.

Dilutions containing ADP Reagent are stable for 2 hours at room temperature.

ESTERILIDAD



Los reactivos del Kit de Combinación BETA/PAK® no son productos estériles. Tenga cuidado de no contaminar el producto al pipetear los reactivos reconstituidos o alicuotados.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES



Use equipo de protección personal (EPP) de acuerdo con las políticas y prácticas del laboratorio al manipular los reactivos de ADP, Colágeno y Ristocetina.



Siga las precauciones estándar al preparar las muestras y los especímenes de prueba.



Manipule los reactivos de ADP, Colágeno y Ristocetina con cuidado para evitar la contaminación durante su uso.



Evite la evaporación de los reactivos limitando las superficies de intercambio aire-líquido.



Para garantizar resultados óptimos, una muestra de control de un donante conocido debe analizarse de forma consecutiva, sin interrupciones.



Para preservar la estabilidad de los reactivos, almacene los reactivos restantes en sus recipientes originales, bien cerrados.



Deseche los materiales posteriores a la prueba de acuerdo con las normativas aplicables y las políticas del laboratorio.



NOTA PARA EL USUARIO: CUALQUIER INCIDENTE GRAVE RELACIONADO CON ESTE PRODUCTO DEBERÁ SER REPORTADO AL FABRICANTE Y A LA AUTORIDAD COMPETENTE DEL ESTADO MIEMBRO DONDE EL USUARIO Y/O PACIENTE ESTÉ ESTABLECIDO.

ESTADO DEL MATERIAL INFECCIOSO

Los reactivos del Kit de Combinación BETA/PAK® no contienen materiales infecciosos. Las muestras y los especímenes de prueba deben considerarse infecciosos y deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección. Después de la prueba, las muestras y los especímenes deben desecharse de acuerdo con las normativas aplicables y las políticas del laboratorio.

INSTALACIONES ESPECIALES

Los reactivos del Kit de Combinación BETA/PAK® no requieren el uso de instalaciones especiales dentro del entorno de laboratorio.

PREPARACIÓN PARA EL USO



NOTA: LOS REACTIVOS DEL KIT DE COMBINACIÓN BETA/PAK® DEBEN ESTAR A TEMPERATURA AMBIENTE (15–28 °C) ANTES DE LA RECONSTITUCIÓN. LOS REACTIVOS ALMACENADOS DEBEN LLEVARSE A TEMPERATURA AMBIENTE ANTES DE SU USO.

RECONSTITUCIÓN

La concentración de trabajo del ADP reconstituido es 200 µM, la del Colágeno es 1,9 mg/mL y la de la Ristocetina es 15 mg/mL. Todas las concentraciones finales se basan en la adición de 25 µL de reactivo de ADP, Colágeno o Ristocetina a una muestra de 225 µL de Plasma Rico en Plaquetas (PRP).

- Reconstituya los reactivos de ADP, Colágeno y Ristocetina con 0,5 mL de agua purificada.
- Invierta suavemente para mezclar.
- Los reactivos de ADP, Colágeno y Ristocetina reconstituidos deben mantenerse cerrados antes de su uso.

DILUCIONES

Para AGREGACIÓN BIFÁSICA

Para demostrar la agregación bifásica del ADP, el Plasma Rico en Plaquetas (PRP) puede analizarse con diversas diluciones del reactivo. Pueden realizarse diluciones adicionales para determinar la concentración umbral. La concentración umbral es la concentración más baja que provoca una respuesta de agregación primaria.



NOTA: PARA LAS DILUCIONES, UTILICE SOLUCIÓN SALINA TAMPONADA CON TRIS (TBS) O SOLUCIÓN SALINA FISIOLÓGICA AL 0,85 %.

TABLA 1: TABLA DE DILUCIÓN DE ADP

REACTIVO ADP	SOLUCIÓN SALINA TRIS TAMPONADA	CONCENTRACIÓN ACTIVA	CONCENTRACIÓN 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

PREPARACIÓN DEL PACIENTE

Los pacientes deben evitar tomar aspirina o productos que la contengan, así como otros medicamentos, suplementos o bebidas energéticas que afecten la función plaquetaria, durante 7–10 días antes de la recolección del espécimen. Debe evitarse el consumo de alimentos grasos, productos lácteos y fumar durante 12 horas antes de la recolección.



NOTA: SE REQUIERE CONSULTA MÉDICA ANTES DE REALIZAR CAMBIOS EN MEDICACIÓN.

RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Recolecte el espécimen con cuidado para evitar estasis, hemólisis, contaminación con líquido tisular y exposición al vidrio. Mantenga los especímenes a temperatura

FIGURA 1: AGREGACIÓN NORMAL CON ADP

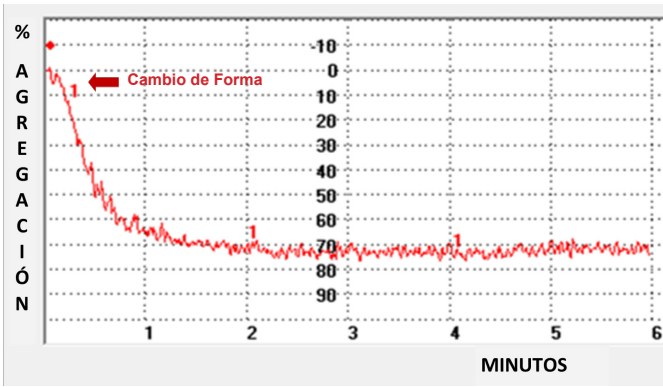


FIGURA 2: AGREGACIÓN ANORMAL CON ADP

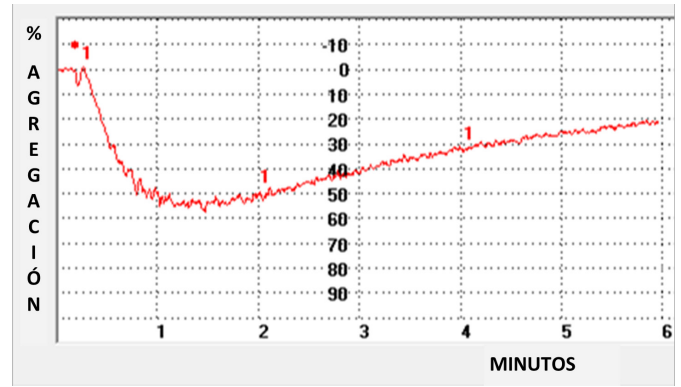


FIGURA 3: AGREGACIÓN NORMAL CON COLÁGENO

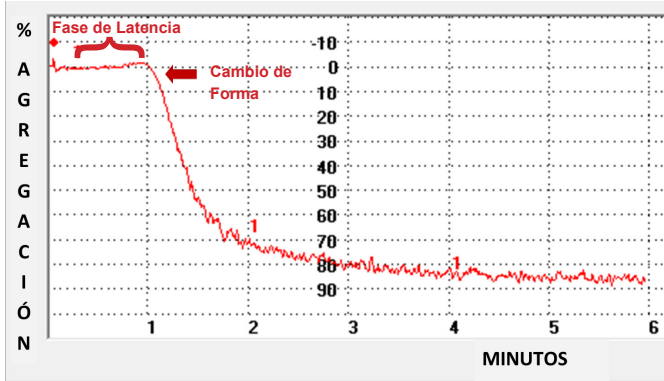


FIGURA 4: AGREGACIÓN ANORMAL CON COLÁGENO

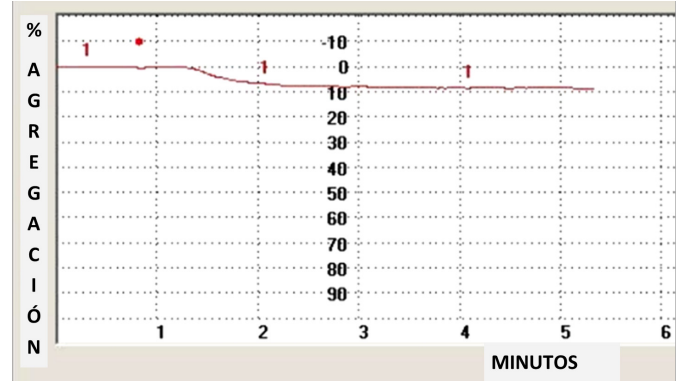


FIGURA 5: AGREGACIÓN PLAQUETARIA INDUCIDA POR RISTOCETINA (RIPA) AGREGACIÓN NORMAL

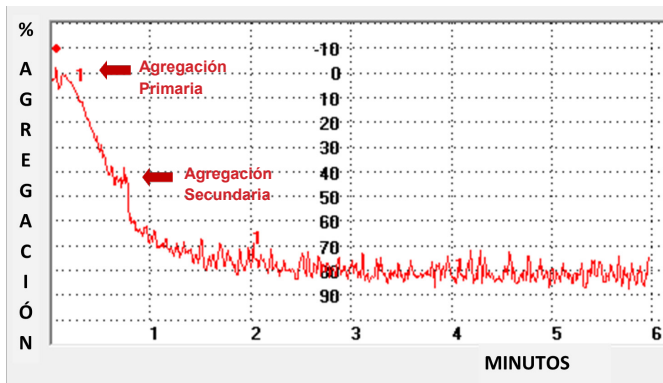
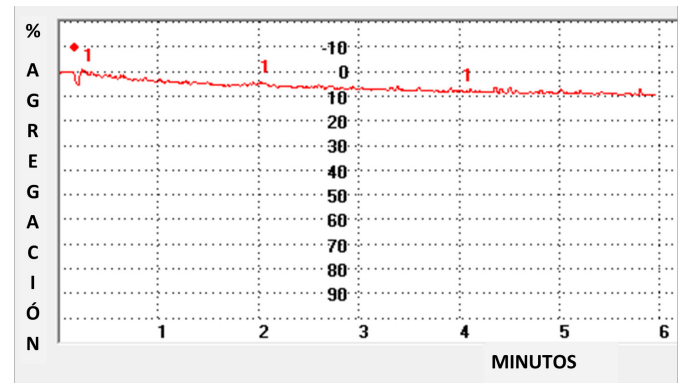


FIGURA 6: AGREGACIÓN PLAQUETARIA INDUCIDA POR RISTOCETINA (RIPA) AGREGACIÓN ANORMAL



ambiente. Libere el torniquete tan pronto como comience a fluir sangre al dispositivo de recolección.



SIGA LAS PRECAUCIONES ESTÁNDAR DURANTE TODO EL PROCESO DE RECOLECCIÓN, PREPARACIÓN DE MUESTRAS Y ANÁLISIS. DESECHE OBJETOS PUNZANTES Y RESIDUOS BIOLÓGICOS SEGÚN LAS NORMATIVAS APLICABLES.

Técnica de recolección con tubos evacuados

- Use una aguja alada 21g o 23g.
- Recoja sangre en tubos plásticos con anticoagulante citrato de sodio al 3.2% (0.11 M).
- Mezcle suavemente invirtiendo 4–5 veces.
- Escriba la hora de recolección en la etiqueta.
- Mantenga los tubos a temperatura ambiente.
- Mezcle nuevamente antes de centrifugar.

Técnica de recolección con jeringa

- Use una aguja alada 21g o 23g.
- Extraiga 9.0 mL de sangre en una jeringa plástica evitando succión excesiva.
- Sujete el tubo de la aguja y desconecte la jeringa.
- Dispense suavemente en un tubo de polipropileno con 1.0 mL de citrato de sodio 0.11 M. Relación sangre/anticoagulante 9:1.
- Tape el tubo y mezcle suavemente invirtiendo 4–5 veces.
- Escriba la hora de recolección en la etiqueta.
- Mantenga los tubos a temperatura ambiente.
- Mezcle nuevamente antes de centrifugar.



NOTA: CUANDO EL HEMATÓCRITO DEL PACIENTE ES MENOR AL 30% O MAYOR AL 55%, DEBE AJUSTARSE LA RELACIÓN SANGRE/ANTICOAGULANTE. LOS TUBOS EVACUADOS DEBEN CONTENER CITRATO DE SODIO 3.2% (0.11 M), LA CONCENTRACIÓN RECOMENDADA PARA ESTUDIOS DE FUNCIÓN PLAQUETARIA.

PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Plasma Rico en Plaquetas (PRP)

- Centrifugue la sangre anticoagulada a 150 x g por 10 minutos.
- Examine la capa de plasma para detectar eritrocitos.
- Si hay eritrocitos, centrifugue 5 minutos más.
- Transfiera el PRP con pipeta a un recipiente plástico rotulado como PRP.
- Retírelo desde un punto justo debajo del centro del volumen para consistencia.
- Tape el recipiente y déjelo a temperatura ambiente.

Plasma Pobre en Plaquetas (PPP)

- Centrifugue el resto del PRP a 2500 x g por 20 minutos.
- Transfiera con pipeta a un recipiente plástico rotulado como PPP.
- Tape el recipiente y mantenga a temperatura ambiente.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Procedimiento de agregación rutinario



NOTA: ESTE ES UN PROCEDIMIENTO GENERAL. SIGA LAS INSTRUCCIONES DEL FABRICANTE DEL AGREGÓMETRO EN USO.

Preparar un Blanco para cada paciente

⚠ *NOTA: CADA PACIENTE DEBE TENER SU PROPIO BLANCO. NO SE PUEDE USAR EL BLANCO DE OTRO PACIENTE. EL BLANCO DEBE PREPARARSE CON EL PPP DEL MISMO PACIENTE. SI EL MISMO PACIENTE TIENE MÚLTIPLES PRUEBAS, PUEDE USARSE EL MISMO BLANCO.*

- Rotule un tubo de ensayo con la letra "B", el número de pocillo y el ID del paciente.
- Pipetea 250 µL de PPP al tubo (NO AÑADA BARRA DE AGITACIÓN).
- Reserve el blanco para uso posterior.
- Repita los pasos anteriores para cada paciente.

Preparar Muestras

- Etiqueta de uno a ocho tubos de ensayo nuevos con el ID del paciente y el número de pozo de prueba.
- Coloca los tubos etiquetados en el pozo correspondiente #1 - 8 de los pozos de incubación con agitación.
- Añade una barra agitadora a cada tubo de ensayo.
- Pipetea 225 µL de Plasma Rico en Plaquetas (PRP) en cada tubo de ensayo en los pozos de incubación con agitación (ASEGÚRATE DE QUE NO HAYA BURBUJAS).
- Selecciona el temporizador en pantalla para cada pozo de incubación en uso y comenzará la cuenta regresiva de calentamiento.
- Las muestras se incubarán a 37°C durante el tiempo preestablecido.

Establecer el Blanco al 100% (Control Basal)

- Coloca el tubo de ensayo Blanco previamente preparado del paciente correspondiente en el pozo de prueba #1.
- Selecciona BLANCO para activar el pozo de prueba.
- El botón BLANCO cambiará a INICIAR.
- Repite los pasos anteriores para cada pozo de prueba que se esté utilizando.

Iniciar la Prueba

- Una vez que el temporizador llegue a 0:00, presiona el botón del temporizador para detener la incubación con agitación de cada pozo.
- Transfiere el tubo del pozo de incubación #1 al pozo de prueba #1.
- Repite el paso anterior para cada pozo, asegurándote de que todos los tubos permanezcan con su número de pozo correspondiente durante la transferencia.
- Cierra las guías de pipeteo.
- Selecciona INICIAR para el pozo de prueba #1.
- Pipetea 25 µL de reactivo directamente en el tubo de ensayo de PRP en el pozo de prueba #1 (NO PERMITAS QUE EL REACTIVO SE DESLICE POR LA PARED DEL TUBO NI QUE LA PUNTA DE LA PIPETA ROMPA LA SUPERFICIE DE LA MUESTRA).
- Selecciona INYECTAR para el pozo de prueba #1.
- Repite los pasos anteriores para cada pozo de prueba en uso.
- La prueba se ejecutará durante el tiempo preestablecido (OTROS PROCEDIMIENTOS DE PRUEBA DE FABRICANTES PUEDEN ESPECIFICAR TIEMPOS O VOLÚMENES DIFERENTES).

⚠ *NOTA: UTILIZA UN DONANTE CONOCIDO COMO MUESTRA DE CONTROL. CADA LABORATORIO DEBE ESTABLECER Y VALIDAR SU PROPIO PROTOCOLO DE PRUEBA Y VERIFICAR EL RENDIMIENTO DE SU SISTEMA DE PRUEBA (REACTIVOS, INSTRUMENTO Y PROTOCOLO DE PRUEBA).*

CONTROL DE CALIDAD

Para los estudios de agregación plaquetaria, un donante conocido debe analizarse de la misma manera que el paciente para garantizar el rendimiento y la consistencia del sistema de prueba. Se debe incluir un nuevo control con cada serie de pruebas y, preferiblemente, con cada nuevo lote de reactivos o después del mantenimiento del instrumento. Cada laboratorio debe definir sus rangos aceptables para la población de pacientes que atiende y verificar el rendimiento esperado del sistema de prueba.

RESULTADOS

Los patrones de agregación de los reactivos del Kit de Combinación BETA/PAK® se muestran en las Figuras 1 a 6.

REACTIVO DE ADP

Los patrones típicos de agregación inducidos por el Reactivo de ADP se ilustran en las Figuras 1 y 2. Cuando el Reactivo de ADP se utiliza a una concentración final de 20 µM, induce una gran onda única de agregación en Plasma Rico en Plaquetas (PRP) normal. A concentraciones más bajas, entre 2 µM y 10 µM, pueden observarse dos ondas distintas de agregación. La onda primaria es la respuesta inmediata al ADP exógeno introducido por el reactivo, mientras que la onda secundaria se debe a la liberación de ADP endógeno del pool de nucleótidos almacenados en las plaquetas.

En algunas muestras normales de PRP puede observarse desagregación dependiente de la concentración, lo que indica una respuesta variable a diferentes concentraciones de ADP. Las marcas de pico (spike marks) en las figuras indican los puntos en los que se añadió el reactivo, proporcionando puntos de referencia claros para el momento de la introducción del reactivo y sus efectos en el proceso de agregación.

REACTIVO DE COLÁGENO

Los patrones típicos de agregación inducidos por el Reactivo de Colágeno se ilustran en las Figuras 3 y 4, proporcionando una representación detallada de los efectos del reactivo en el Plasma Rico en Plaquetas (PRP). Tras la adición del Reactivo de Colágeno al PRP, se produce una fase inicial de latencia (lag phase), durante la cual

no se observa agregación. Después de esta fase, las plaquetas normales presentan un cambio de forma notable. A continuación, se observa una gran onda única de agregación, lo que demuestra la respuesta robusta de las plaquetas al Reactivo de Colágeno.

Las marcas de pico (spike marks) en las figuras indican los puntos exactos en los que se añadió el reactivo, proporcionando referencias claras para el momento de la introducción del reactivo y sus efectos en el proceso de agregación.

REACTIVO DE RISTOCETINA

Los patrones típicos de agregación inducidos por el Reactivo de Ristocetina se muestran en las Figuras 5 y 6, proporcionando una visión detallada de los efectos del reactivo en el Plasma Rico en Plaquetas (PRP). La agregación inducida por Ristocetina puede manifestarse como una respuesta bifásica o como una única gran onda de agregación. La onda primaria de agregación resulta de la aglutinación de las plaquetas mediada por el factor de von Willebrand en presencia de Ristocetina. A continuación, puede producirse una onda secundaria debido a la liberación de ADP endógeno por parte de las plaquetas, lo que contribuye aún más al proceso de agregación.

En pacientes sin trastornos hemorrágicos, la administración de una dosis alta de Ristocetina suele dar lugar a una fuerte onda única de agregación. Esta respuesta robusta es indicativa de una función plaquetaria normal y de una actividad normal del factor de von Willebrand. Por el contrario, una dosis baja de Ristocetina generalmente no provoca respuesta en estos pacientes, ya que la concentración más baja es insuficiente para inducir una agregación plaquetaria significativa.

Sin embargo, una respuesta fuerte a una dosis baja de Ristocetina sugiere la presencia de ciertos tipos de enfermedad de von Willebrand. En cambio, los individuos normales sin trastornos hemorrágicos suelen mostrar poca o ninguna respuesta a dosis bajas de Ristocetina.

Es fundamental interpretar estos resultados de agregación en el contexto más amplio de la condición clínica del paciente. Un diagnóstico definitivo solo debe establecerse tras realizar pruebas adicionales y una evaluación completa. Las figuras incluyen marcas de pico (spike marks) que indican los puntos exactos de adición del reactivo, proporcionando referencias claras para comprender el momento de la introducción del reactivo y sus efectos inmediatos en el proceso de agregación.

TABLE 2: ADP, COLLAGEN, AND RISTOCETIN RESULTS OBSERVED IN PLATELET FUNCTION DEFECTS

DEFECTO	ADP REACTIVO	COLÁGENO REACTIVO	RISTOCETINA REACTIVO
TIPO ASPIRINA	↓ ◦ N	↓	↓ ◦ N
TROMBOCITOS	↓ ↓	↓	N
ENFERMEDAD DE ALMACENAMIENTO	↓	↓	↓ ◦ N
ENFERMEDAD DE VON WILLEBRAND	N	N	↓ ↓
SÍNDROME DE BERNARD-SOULIER	N	N	↓ ↓

↓ = Agregación Reducida por Disminución o Ausencia de la Segunda Ola

↓ ↓ = Agregación Reducida por Disminución o Ausencia de la Primera y Segunda Ola

N = Respuesta Normal

VALORES ESPERADOS

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos esperados y características de rendimiento para este reactivo en las concentraciones utilizadas para inducir la agregación plaquetaria. Estos rangos deben determinarse utilizando la instrumentación, los procedimientos, los intervalos de referencia y la población de pacientes específicos del laboratorio.

La literatura publicada informa que el Reactivo de ADP generalmente produce una respuesta de Agregación Final en el rango de 69–91 % y una Fase de Latencia (lag phase) de ≥15 segundos; el Reactivo de Colágeno generalmente produce una respuesta de Agregación Final en el rango de 66–92 % y una Fase de Latencia de ≥61 segundos; y la RIPA presenta una respuesta de Agregación Final en el rango de 67–95 %, bajo condiciones estándar de ensayo. Este rango basado en la literatura se proporciona únicamente como información general; los laboratorios deben verificar y establecer sus propios rangos esperados antes del uso clínico.

LIMITACIONES

En la agregometría por transmisión de luz, la presencia de eritrocitos en el PRP reduce la agregación observada. La presencia de plaquetas en el PPP aumenta la agregación final. Pueden producirse resultados espurios si el recuento de plaquetas en el PRP es inferior a 75.000 plaquetas/µL. El recuento de plaquetas en el PRP solo puede realizarse mediante el método del hemocitómetro. Las muestras comprometidas deben rechazarse.

Si los resultados son anormales, la prueba debe repetirse en otra ocasión. Cada laboratorio debe establecer intervalos de referencia adaptados a la población que atiende y a las concentraciones específicas de reactivos utilizadas.

DESEMPEÑO ANALÍTICO

La agregación plaquetaria, inducida por reactivos de uso común como ADP, Colágeno y Ristocetina, es un sistema de prueba no lineal. Las respuestas se basan en la diferencia de transmisión de luz entre el Plasma Rico en Plaquetas (PRP) y el Plasma Pobre en Plaquetas (PPP) del paciente; por lo tanto, los resultados son únicos para cada paciente. Algunos parámetros son más propensos a la no linealidad que otros, incluidos la fase de latencia (lag phase), la pendiente primaria, la pendiente secundaria, la respuesta bifásica y la desagregación. La no linealidad está causada por múltiples factores, como la química de la reacción y la instrumentación. La agregación plaquetaria muestra la tasa de respuesta o actividad y no cuantifica los reactivos ni sus concentraciones.

En la agregación plaquetaria, la exactitud es un parámetro relativo y depende del sistema de prueba. Las limitaciones de la agregación plaquetaria dificultan proporcionar rangos típicos de precisión o reproducibilidad.

La variabilidad en la linealidad, la precisión y la reproducibilidad de los resultados en sistemas de prueba basados en reactivos de ADP, Colágeno y Ristocetina es reconocida por múltiples organizaciones de normalización. El coeficiente de variación (CV) comúnmente aceptado es $\pm 15\%$.

Reproducibilidad de prueba a prueba:	menos de $\pm 7.5\%$
Reproducibilidad entre instrumentos:	menos de $\pm 15.0\%$
Variabilidad entre lotes de reactivo:	menos de $\pm 10.5\%$
De laboratorio a laboratorio (sistema a sistema):	menos de $\pm 12.5\%$

SÍMBOLOS



Peligroso para la salud



Número de catálogo



Precaución



Producto con marcado y registro CE



Consultar instrucciones de uso



Representante de la Unión Europea



Dispositivo de diagnóstico in vitro



Fabricante



Leer obligatoriamente



No estéril



Uso único



Límites de temperatura



Producto marcado y registrado en el Reino Unido



Representante en el Reino Unido

BIBLIOGRAFÍA

- 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 Euf, 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, Lillcrap 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.
- Grainick 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, Ivarer VJ, Salzman EW. Hemostasis and thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice. Vol. 472. Philadelphia: JB Lippincott Company; 1982.
- Michelton, 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, Tofler 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.

HISTORIAL DE REVISIONES

N.º de Documento: 107764 Revisión: AA, febrero de 2026

- Instrucciones de prueba modificadas
- Implementación de requisitos regulatorios IVDR
- Reformateado y reconfigurado para mejorar el uso por parte del operador

Traducido del documento n.º: 101579 Revisión: AA


N.º de Documento: 107764 Revisión: AB, marzo de 2026

- Correcciones editoriales (tipográficas); sin cambios en el contenido ni en la información regulatoria.
- Instrucciones de reconstitución del reactivo de ristocetina revisadas para mejorar la claridad; se eliminó el enfoque de dilución separado de la ristocetina y se añadió una tabla de reconstitución de ristocetina utilizando agua purificada para preparar directamente las concentraciones de trabajo.
- Sección de Resultados Esperados actualizada: se eliminó el gráfico de resultados, se añadió una declaración de rango de AggRecetin basada en la literatura y se aclaró que los laboratorios deben establecer sus propios rangos esperados.

Traducido del documento n.º: 101579 Revisión: AB

Para obtener un catálogo completo de productos, visite nuestro sitio web en www.biodatacorp.com o comuníquese con nuestro Departamento de Atención al Cliente.

LA LÍNEA DE PRODUCTOS DE BIO/DATA CORPORATION INCLUYE REACTIVOS DE USO GENERAL Y PROFESIONAL DE LABORATORIO, DISEÑADOS PARA INDUCIR Y REPORTAR LA ACTIVIDAD Y RESPUESTAS DE LA FUNCIÓN PLAQUETARIA. ESTE PRODUCTO ESTÁ GARANTIZADO PARA FUNCIONAR SEGÚN LO DESCRITO EN SU ETIQUETADO, INCLUYENDO LAS INSTRUCCIONES DE USO. BIO/DATA CORPORATION NO HACE NINGUNA DECLARACIÓN NI OTORGA GARANTÍA, EXPRESA O IMPLÍCITA, SOBRE SU CAPACIDAD, IDONEIDAD O COMERCIALIZACIÓN PARA NINGÚN OTRO PROPÓSITO. EN NINGÚN CASO BIO/DATA CORPORATION SERÁ RESPONSABLE DE DAÑOS CONSECUENTES DERIVADOS DE LA GARANTÍA EXPRESA ANTERIORMENTE MENCIONADA.

 155 Gibraltar Road
Horsham, PA 19044 EE. UU.

Teléfono mundial: +1 215-441-4000
Teléfono EE.UU.: 1-800-257-3282
FAX EE.UU.: +1 215-443-8820
customer.service@biodatacorp.com

©BIO/DATA CORPORATION 2026

REF
101580



UNA EMPRESA REGISTRADA BAJO LA
NORMA ISO 13485

www.biodatacorp.com

FABRICADO CON ORGULLO EN EE. UU.

EU REP

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

UK REP

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



BETA/PAK INSTRUCTIONS FOR USE # 107764 REV AB SPANISH