

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

PAR/PAK® II 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 Epinefrina (Adrenalina).

El Reactivo de ADP es una preparación liofilizada de Adenosina-5'-Difosfato. Es un componente esencial en la agregación plaquetaria. El ADP actúa como un 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 compuestos trombóticos de sus gránulos, los cuales sirven para reclutar plaquetas adicionales al sitio de la lesión.

El Reactivo de Epinefrina es una preparación estabilizada y liofilizada de L-Adrenalina que activa el receptor adrenérgico GP IIa, provocando la agregación plaquetaria sin cambio de forma. Aunque puede potenciar la respuesta de las plaquetas a otros agonistas, el Reactivo de Epinefrina es un agonista débil (reversible). Puede o no generar una respuesta en personas sanas.

El kit combinado PAR/PAK® II ha sido optimizado para su uso con agregómetros de transmisión de luz. También puede utilizarse con otros analizadores turbidimétricos o de impedancia, y citómetros de flujo.

PROPÓSITO PREVISTO

El kit combinado PAR/PAK® II es un kit práctico que contiene una combinación de reactivos de uso rutinario para la agregación plaquetaria, utilizados para inducir respuestas de agregación y/o aglutinación en plasma rico en plaquetas (PRP). El kit incluye reactivos de ADP, Colágeno y Epinefrina.

DETECCIÓN / MEDICIÓN

Los reactivos del kit combinado PAR/PAK® II se utilizan, junto con otros diluyentes y muestras de control, para medir los cambios en la transmisión de luz en una muestra de prueba de plasma rico en plaquetas (PRP).

FUNCIÓN DEL PRODUCTO

El kit combinado PAR/PAK® II proporciona información sobre diferentes aspectos de la función/calidad plaquetaria. Este kit ayuda a evaluar diversos trastornos plaquetarios adquiridos y hereditarios, así como la eficacia de las terapias antiplaquetarias.

INFORMACIÓN ESPECÍFICA PROPORCIONADA

Los reactivos del kit combinado PAR/PAK® II 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 de ADP. Al observar la agregación plaquetaria en respuesta al ADP, los profesionales pueden evaluar la función/calidad plaquetaria relacionada con anomalías en la activación y agregación. Este proceso es crucial para comprender la dinámica de la formación del coágulo y evaluar la eficacia de las terapias antiplaquetarias en la prevención de eventos trombóticos. El ADP induce 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 los receptores de glicoproteínas 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. Utilizado para estimular con precisión la activación y agregación plaquetaria, el Reactivo de Colágeno interactúa con estos receptores, proporcionando un medio para que los profesionales evalúen la función/calidad plaquetaria y los trastornos asociados con anomalías en la activación plaquetaria inducida por colágeno. Este proceso es esencial para comprender la dinámica de la formación del coágulo y evaluar la eficacia de las terapias antiplaquetarias que inhiben eventos trombóticos. El colágeno induce la liberación de mediadores secundarios, amplificando aún más la activación y agregación plaquetaria.

El Reactivo de Epinefrina desempeña un papel fundamental en la activación y agregación plaquetaria. Al unirse a receptores específicos en la superficie de las plaquetas, particularmente los receptores $\alpha 2$ -adrenérgicos, la epinefrina inicia cascadas de señalización intracelular. Esta cascada induce cambios rápidos en la forma de las plaquetas y desencadena la liberación de iones de calcio, mediada principalmente a

través de la activación de los receptores $\alpha 2$ -adrenérgicos. La respuesta sostenida, esencial para una agregación estable, también es facilitada por la activación de estos receptores. El Reactivo de Epinefrina es fundamental para estimular con precisión la activación y agregación plaquetaria mediante la interacción con estos receptores adrenérgicos. La observación de la agregación plaquetaria en respuesta al Reactivo de Epinefrina permite a los profesionales evaluar la función/calidad plaquetaria y los trastornos asociados con anomalías en la activación y agregación plaquetaria. Este proceso es clave para comprender la dinámica de la formación del coágulo y evaluar la eficacia de las terapias antiplaquetarias en la prevención de eventos trombóticos. La epinefrina induce la liberación de mediadores secundarios, amplificando aún más la activación y agregación plaquetaria.

AUTOMATIZACIÓN

Los reactivos del kit combinado PAR/PAK® II están destinados para su uso en agregómetros plaquetarios de transmisión de luz, tanto semiautomatizados como 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 combinado PAR/PAK® II. Las respuestas a estos reactivos dependen de la concentración. Se debe analizar un donante normal conocido con cada nuevo lote de reactivos del kit combinado PAR/PAK® II. Las organizaciones de normalización clasifican la agregación plaquetaria inducida por ADP, Colágeno y Epinefrina como semicuantitativa o semicuantitativa.

El kit combinado PAR/PAK® II se presenta envasado con 2 viales de 0.5 mL de Reactivo de ADP, 2 viales de 0.5 mL de Reactivo de Colágeno y 2 viales de 0.5 mL de Reactivo de Epinefrina. La concentración de trabajo del ADP es de 200 μ M, la del Colágeno es de 1.9 mg/mL y la de la Epinefrina es de 100 μ M.

TIPO DE MUESTRA

La muestra de ensayo se prepara a partir de sangre total anticoagulada con citrato de sodio. La muestra de prueba es plasma rico en plaquetas (PRP). El blanco de la prueba es plasma pobre en plaquetas (PPP).

Los reactivos de ADP, Colágeno y Epinefrina pueden utilizarse con plasma rico en plaquetas (PRP) humano o animal para pruebas rutinarias de agregación plaquetaria. Los resultados se basan en la concentración, el grado y la velocidad de 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 de sangre y otros factores. La incidencia es variable. Para la epinefrina, la prevalencia de una agregación anormal con el reactivo de epinefrina es del 16–20 % en personas sanas. Es global y puede variar según la raza, la etnia, el tipo de sangre y otros factores. La incidencia es variable.
- 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 % recibe terapia antiplaquetaria (APT). Para el colágeno, la prevalencia de una agregación anormal con el reactivo de colágeno, en función 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 epinefrina, la prevalencia y la incidencia son variables. Se han observado tasas de respuesta variables a la epinefrina en diferentes poblaciones. Los estudios han demostrado que la terapia antiplaquetaria dual y la aspirina pueden influir en la agregación plaquetaria inducida por epinefrina.
- Trastornos plaquetarios hereditarios: Para ADP, la prevalencia y la incidencia son variables. Existen 60 tipos; 75 genes conocidos; una frecuencia de 5/1000; con una estimación del 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 a los reactivos de colágeno. Para la epinefrina, la prevalencia de una respuesta anormal a la epinefrina en las personas varía según el defecto. La incidencia es variable.
- Animal: Para ADP, colágeno y epinefrina, la prevalencia y la incidencia dependen de la especie.

DIAGNÓSTICO IN VITRO

El contenido del kit combinado PAR/PAK® II 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 combinado PAR/PAK® II están destinados para uso profesional en laboratorio por personal calificado.

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 Epinefrina estimulan a las plaquetas, provocando que experimenten un cambio de forma y se agreguen. Esta agregación inicial se denomina agregación primaria y es reversible. Sin embargo, las plaquetas normales tienen la capacidad de liberar ADP endógeno desde sus gránulos, lo que conduce a una segunda onda de agregación irreversible. El agregómetro plaquetario de transmisión de luz captura eficazmente estos cambios mostrando parámetros como la fase de latencia, el cambio de forma, y la velocidad y el grado de agregación durante un período de prueba predeterminado.

Para la Epinefrina, puede observarse hiperreactividad. En tal caso, se debe seguir el procedimiento de Plaquetas Pegajosas para su confirmación. No todas las personas sanas responderán al reactivo de Epinefrina.

CALIBRADORES Y CONTROLES

No se requieren calibradores ni controles para el kit combinado PAR/PAK® II. Se debe analizar una muestra de donante conocido con cada lote de reactivos de ADP, Colágeno y Epinefrina. Las respuestas dependen de la concentración.

LIMITACIONES DEL REACTIVO

Los reactivos del kit combinado PAR/PAK® II 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	101310:	2 viales de reactivo de ADP (0,5 mL)
		2 viales de reactivo de colágeno (0,5 mL)
		2 viales de reactivo de epinefrina (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

 Los reactivos de ADP, Colágeno y Epinefrina no requieren protección de temperatura durante el envío.

 Al recibirlos, almacene los reactivos de ADP, Colágeno y Epinefrina a 2–8 °C en su envase original.


 Los reactivos de ADP, Colágeno y Epinefrina reconstituidos son estables durante 30 días cuando se almacenan en sus recipientes originales, bien cerrados, a 2–8 °C.

 Las diluciones que contienen Reactivo de ADP son estables durante 2 horas a temperatura ambiente.


ESTERILIDAD


 Los reactivos del kit combinado PAR/PAK® II no son productos estériles. Tenga cuidado de no contaminar el producto al pipetear los reactivos reconstituidos o alícuotados.


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 Epinefrina.


 Siga las precauciones estándar al preparar las muestras y especímenes de ensayo.


 Manipule los reactivos de ADP, Colágeno y Epinefrina 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, se debe analizar una muestra de control de un donante conocido de manera 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 combinado PAR/PAK® II no contienen materiales infecciosos. Las muestras y especímenes de ensayo deben considerarse infecciosos y deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infecciones. Después de la prueba, las muestras y especímenes deben eliminarse de acuerdo con las normativas aplicables y las políticas del laboratorio.

INSTALACIONES ESPECIALES

Los reactivos del kit combinado PAR/PAK® II no requieren el uso de instalaciones especiales dentro de un entorno de laboratorio.

PREPARACIÓN PARA EL USO

 **NOTA: LOS REACTIVOS DEL KIT COMBINADO PAR/PAK® II 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 de 200 µM, la del Colágeno es de 1.9 mg/mL y la de la Epinefrina es de 100 µM. Todas las concentraciones finales se basan en la adición de 25 µL de los reactivos de ADP, Colágeno y Epinefrina a una muestra de prueba de plasma rico en plaquetas (PRP) de 225 µL.

- Reconstituya los reactivos de ADP, Colágeno y Epinefrina con 0.5 mL de agua purificada.
- Invertir suavemente para mezclar

 **NOTA: LOS REACTIVOS DE ÁCIDO ARAQUIDÓNICO Y EPINEFRINA PUEDEN APARECER TURBIOS, PERO SE VOLVERÁN CLAROS A AMARILLO PÁLIDO EN POCOS MINUTOS.**

- Ácido Araquidónico, Colágeno y Epinefrina deben mantenerse tapados antes de su uso.

DILUCIONES

Para AGREGACIÓN BIFÁSICA

Para demostrar la agregación bifásica de ADP, el PRP puede probarse con varias diluciones del reactivo. Pueden hacerse diluciones adicionales para determinar la concentración umbral. Esta es la concentración más baja que provoca una respuesta de agregación primaria.

 **NOTA: PARA DILUCIONES, USE SOLUCIÓN SALINA TAMPÓN TRIS (TBS) O SOLUCIÓN SALINA FISIOLÓGICA AL 0.85%.**

TABLA 1: GRÁFICO DE DILUCIONES 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 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.
- Pipete 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, asegurándose 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, se debe analizar un donante conocido de la misma manera que al paciente para asegurar 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 su población de pacientes y verificar el rendimiento esperado del sistema de prueba.

RESULTADOS

Los patrones de agregación para los reactivos del kit combinado PAR/PAK® II 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 el plasma rico en plaquetas (PRP) normal. A concentraciones más bajas, que oscilan 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 desde el reservorio de nucleótidos dentro de las plaquetas.

En algunas muestras de PRP normal, puede observarse desagregación dependiente de la concentración, lo que indica una respuesta variable a diferentes concentraciones de ADP. Las marcas de "spike" en las figuras indican los puntos en los que se añadió el reactivo, proporcionando referencias claras para el momento de la adición 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 de latencia inicial durante la cual no se observa agregación. Después de esta fase de latencia, las plaquetas normales presentan un cambio de forma evidente. Tras este cambio de forma, se observa una gran onda única de agregación, lo que demuestra la fuerte respuesta de las plaquetas al Reactivo de Colágeno.

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

REACTIVO DE EPINEFRINA

Los patrones típicos de agregación inducidos por el Reactivo de Epinefrina se muestran en las Figuras 5 y 6, ofreciendo una visión completa de sus efectos en el plasma rico en plaquetas (PRP). Cuando el Reactivo de Epinefrina se añade a PRP normal, induce una respuesta bifásica caracterizada por dos ondas distintas de agregación. La primera onda representa la respuesta inicial de las plaquetas al reactivo, mientras que la segunda onda se debe a la liberación de agonistas plaquetarios adicionales desde los gránulos dentro de las plaquetas, amplificando aún más el proceso de agregación.

Esta respuesta bifásica es característica de muestras de PRP sanas, indicando una función plaquetaria normal. Por el contrario, una agregación anormal con Epinefrina se identifica cuando la agregación final es inferior al 30%, como se muestra en la Figura 10. Una respuesta reducida de este tipo puede indicar disfunción plaquetaria u otras anomalías hematológicas, proporcionando información valiosa.

FIGURA 1: AGREGACIÓN NORMAL DE ADP

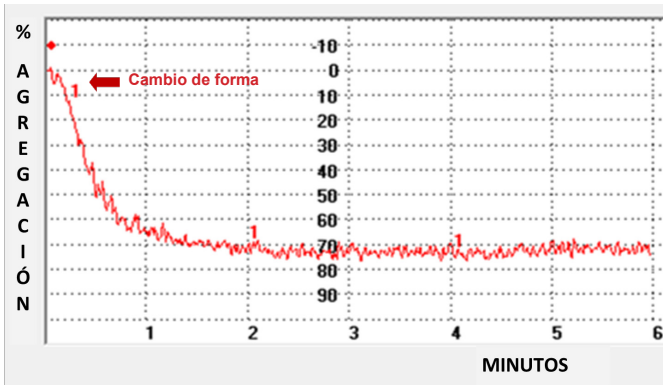


FIGURA 2: AGREGACIÓN ANORMAL DE ADP

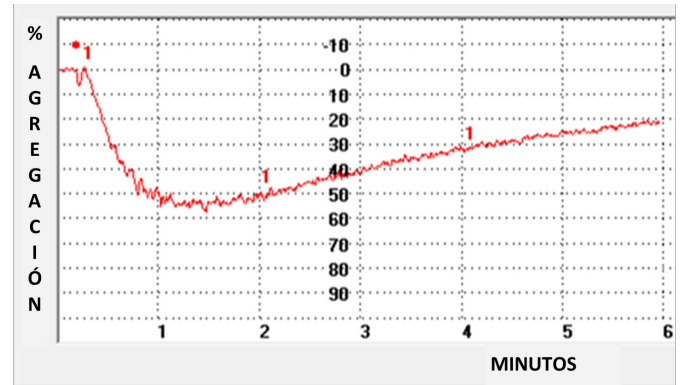


FIGURA 3: AGREGACIÓN NORMAL DE COLÁGENO

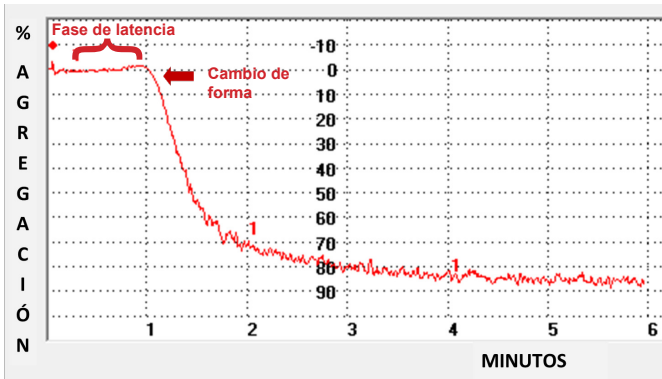


FIGURA 4: AGREGACIÓN ANORMAL DE COLÁGENO

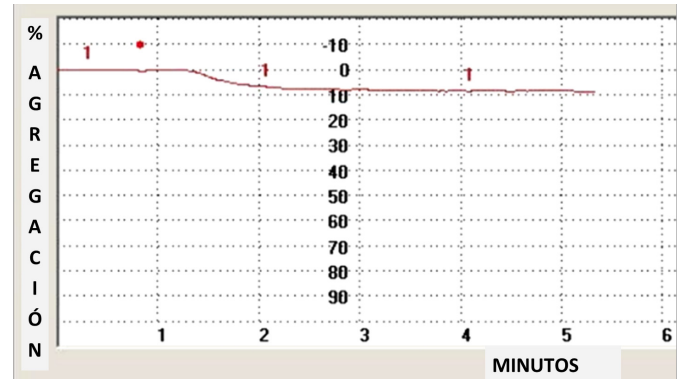


FIGURA 5: AGREGACIÓN NORMAL DE EPINEFRINA

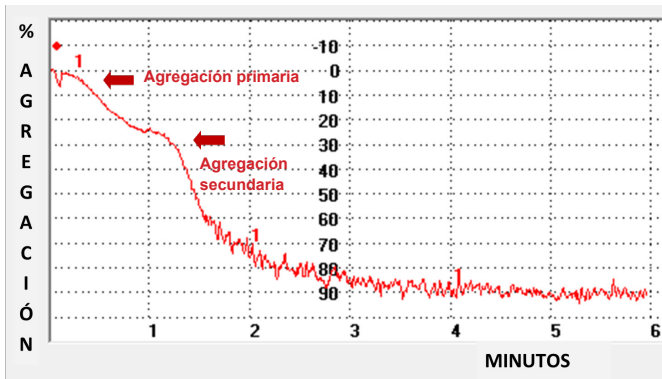
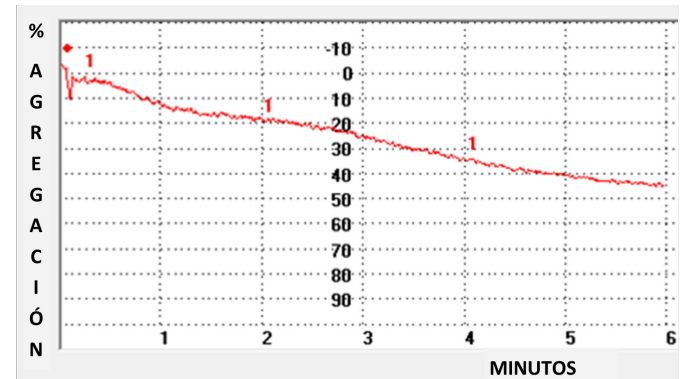


FIGURA 6: AGREGACIÓN ANORMAL DE EPINEFRINA



Los indicadores de "spike" en las figuras señalan los puntos exactos en los que se añade el reactivo, ofreciendo referencias claras para el momento de la adición. Estos marcadores son esenciales para correlacionar la adición del Reactivo de Epinefrina con los patrones de agregación observados, permitiendo un análisis preciso de sus efectos inmediatos en el proceso de agregación.

TABLA 2: RESULTADOS DE ADP, COLÁGENO Y EPINEFRINA OBSERVADOS EN DEFECTOS DE LA FUNCIÓN PLAQUETARIA

DEFECTO	ADP REACTIVO	COLÁGENO REACTIVO	EPINEFRINA REACTIVO
TIPO ASPIRINA	↓ o N	↓	↓ o N
TROMBOCITOS	↓ ↓	↓	↓ ↓
ENFERMEDAD DE ALMACENAMIENTO	↓	↓	↓
ENFERMEDAD DE VON WILLEBRAND	N	N	N
SÍNDROME DE BERNARD-SOULIER	N	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 típicamente produce una respuesta de Agregación Final en el rango de 69–91% y una Fase de Latencia de ≥ 15 segundos; el Reactivo de Colágeno típicamente produce una respuesta de Agregación Final en el rango de 66–92% y una Fase de Latencia de ≥ 61 segundos; y el Reactivo de Epinefrina típicamente produce una respuesta de Agregación Final en el rango de 54–92%, 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 de su uso clínico.

LIMITACIONES

En la agregometría por transmisión de luz, la presencia de glóbulos rojos en el PRP provocará una disminución de la agregación observada. La presencia de plaquetas en el PPP provocará un aumento de la agregación final. Pueden obtenerse resultados erróneos si el recuento plaquetario del PRP es inferior a 75,000 plaquetas/ μ L. Los recuentos plaquetarios del PRP solo pueden realizarse mediante el método de hemocitómetro. Las muestras comprometidas deben ser rechazadas.

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 Epinefrina, es un sistema de prueba no lineal. Las respuestas se basan en la diferencia en la transmisión de luz entre el plasma rico en plaquetas (PRP) y el plasma pobre en plaquetas (PPP) del paciente, por lo que los resultados son únicos para cada paciente. Algunos parámetros son más propensos a la no linealidad que otros, incluyendo la fase de latencia, la pendiente primaria, la pendiente secundaria, la respuesta bifásica y la desagregación. La no linealidad es 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, precisión y reproducibilidad de los resultados en sistemas de prueba basados en reactivos de ADP, Colágeno y Epinefrina es reconocida por múltiples organismos de normalización. El coeficiente de variación (CV) comúnmente aceptado es de $\pm 15\%$.

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 EJF, 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, 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, Toeller 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: 107758 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: 101314 Revisión: AA


N.º de documento: 107758 Revisión: AB, marzo de 2026

- Correcciones editoriales (tipográficas); sin cambios en el contenido ni en la información reglamentaria.
- Sección de Resultados Esperados actualizada: se eliminó la tabla de resultados, se añadieron declaraciones de rangos basadas en la literatura para los reactivos de ADP, Colágeno y Epinefrina, y se aclaró que los laboratorios deben establecer sus propios rangos esperados.

Traducido del documento n.º: 101314 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
101310



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
SO50 4NU Hampshire REINO UNIDO



PAR/PAK II INSTRUCTIONS FOR USE # 107758 REV AB SPANISH