
DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

Es un preparado liofilizado de colágeno de piel de ternera soluble (tipo I). La concentración de trabajo del reactivo reconstituido es de 1,9 mg/ml.

USO PREVISTO

El reactivo colágeno está indicado para usarse de manera rutinaria para inducir las respuestas del plasma rico en plaquetas ante la activación, la agregación y la inhibición.

PRINCIPIO

Cuando se añade colágeno al plasma rico en plaquetas, éstas últimas se adhieren al reactivo. Después de esta adhesión, las plaquetas normales cambian de forma, liberan ADP endógeno y se agregan.^{8,10,11}

PRECAUCIONES

El colágeno (tipo I) SOLO ESTÁ INDICADO PARA EL DIAGNÓSTICO IN-VITRO Y DEBE UTILIZARSE EXCLUSIVAMENTE EN LABORATORIOS PROFESIONALES; NO DEBE INYECTARSE NI INGERIRSE.

NOTA PARA EL USUARIO: Todos los incidentes graves relacionados con el dispositivo se notificarán tanto al fabricante como a la autoridad competente del Estado miembro en el que esté establecido el usuario o paciente.

MATERIALES SUMINISTRADOS

Colágeno, 3 x 0,5 ml. Consérvelo a 2-8 °C antes de reconstituirlo.

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

1. Agregómetro de plaquetas
2. Agua depurada (destilada, desionizada o de pureza analítica), con un pH de 5,3-7,2
3. Pipetas (con volúmenes de 0,5 ml y 0,45 ml)
4. Barras agitadoras desechables
5. Cubetas para el agregómetro

INSTRUMENTACIÓN

El colágeno funcionará según se ha descrito con la mayoría de los agregómetros ópticos de plaquetas. A la hora de utilizar el agregómetro, siga las instrucciones del fabricante.

OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA A ANALIZAR

Consulte la normativa APROBADA actual que se recoge en el documento H21 A2 del NCCLS para obtener instrucciones detalladas sobre la obtención y la preparación de las muestras.⁹

1. PREPARACIÓN DEL PACIENTE:

Durante los 7-10 días previos a la obtención de las muestras, los pacientes deben abstenerse de tomar aspirina o medicamentos que contengan aspirina, así como otros medicamentos y complementos alimenticios que afecten la función plaquetaria. Asimismo, los pacientes deben ayunar y evitar los alimentos grasos y los productos lácteos durante las 12 horas previas a la obtención de las muestras.⁹

2. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS:

La extracción de sangre debe realizarse con cuidado para evitar estasis, la hemólisis, la contaminación por fluidos tisulares o la exposición al vidrio. Mantenga las muestras a temperatura ambiente.⁹

Los siguientes factores pueden provocar que los resultados del análisis sean inexacto, y deben rechazarse las muestras afectadas: la hemólisis, la contaminación con eritrocitos, la lipemia, el quilo, la ictericia, la trombocitopenia (<75.000/mm³), los coágulos en la muestra y la hipofibrinogenemia. La reutilización de artículos desechables también puede provocar que los resultados del análisis sean inexactos.

Cumpla las precauciones estándares durante los procesos de obtención, preparación y análisis de las muestras.^{2,3} Deseche los residuos biológicos y los objetos punzocortantes siguiendo las normas del laboratorio.

Técnica con jeringuilla (recomendada)⁹

- Utilice una aguja con aletas para la venopunción.
- Extraiga 9,0 ml de sangre con una jeringuilla de plástico. Evite una succión excesiva.
- Retire la aguja de la jeringuilla y, de manera inmediata y cuidadosa, transfiera la sangre a un tubo de plástico [polipropileno]⁴ que contenga 1,0 ml del anticoagulante citrato de sodio a 0,11 M. La relación sangre:anticoagulante debe ser 9:1 (9 partes de sangre y 1 parte de anticoagulante).⁵
- Tape e invierta el tubo suavemente 4-5 veces para mezclar.
- Mantenga la muestra a temperatura ambiente (de 15 a 28 °C).

NOTA: Cuando el hematocrito del paciente es < 30 % o >55 %, los volúmenes de sangre:anticoagulante deben ajustarse.⁴

Técnica con tubo al vacío para la obtención de las muestras

1. Utilice una aguja con aletas para la venopunción.
2. Extraiga la sangre utilizando tubos al vacío (de plástico) que contengan el anticoagulante citrato de sodio a 0,11 M.
3. Invierta suavemente el tubo 4-5 veces para mezclar.

NOTA: Cuando utilice tubos de plástico al vacío para la obtención de las muestras, compruebe la etiqueta para verificar que la concentración del anticoagulante citrato es de 0,11 M. Las tapas coloreadas no varían en función de las distintas concentraciones de citrato. Siga las instrucciones del fabricante para la obtención de las muestras.

PREPARACIÓN DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP) Y EL PLASMA POBRE EN PLAQUETAS (PPP)

1. Prepare el plasma rico en plaquetas centrifugando la sangre anticoagulada a 150 x g durante 10 minutos a temperatura ambiente (de 15 a 28 °C).
2. Examine la capa de plasma para comprobar si contiene eritrocitos. Si hay eritrocitos, vuelva a centrifugar la sangre a 150 x g durante 5 minutos más.
3. Con una pipeta de transferencia de plástico, observe y retire con cuidado la capa de plaquetas sin disgregar la capa leucoplaquetaria ni los eritrocitos y transfiera a un envase con la etiqueta (PRP). Tape el recipiente y déjelo reposar a temperatura ambiente.
4. Prepare el plasma pobre en plaquetas centrifugando la muestra de sangre restante a 2500 x g durante 20 minutos. Examine el plasma pobre en plaquetas en busca de hemólisis; a continuación, transfíralo a un tubo de plástico con la etiqueta PPP.
5. El número de plaquetas del PRP debe ser 250.000 ± 50.000/mm³. El número de plaquetas puede verse reducido al utilizar PPP preparado a partir de la muestra.

NOTA: Si utiliza el ácido araquidónico como agonista, no ajuste el número de plaquetas.

RECONSTITUCIÓN

NOTA: Los reactivos deben estar a temperatura ambiente (de 15 a 28 °C) antes de la reconstitución. Debe poner los reactivos almacenados a temperatura ambiente antes de usarlos.

Reconstituya un vial de colágeno con 0,5 ml de agua depurada.

ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO

El colágeno reconstituido se mantiene estable durante 30 días cuando se almacena a 2-8 °C en su envase original herméticamente cerrado.

PROCEDIMIENTO DEL ANÁLISIS

El análisis debe completarse en las 4 horas posteriores a la obtención de las muestras.⁹

1. Coloque una barra agitadora en cada cubeta.
2. Prepare un blanco para el agregómetro pipeteando 0,5 ml de plasma pobre en plaquetas a una cubeta.
3. Pipeteo 0,45 ml de plasma rico en plaquetas a una segunda cubeta. Incube la muestra a 37 °C durante 2 minutos.
4. En caso de que sea necesario, establezca, los valores de referencia del 0 % y del 100 % siguiendo las instrucciones del fabricante del agregómetro en uso.
5. Añada 0,05 ml de colágeno directamente al plasma rico en plaquetas. No deje que el reactivo chorree por la pared de la cubeta.
6. Deje que se genere el patrón de agregación durante 5 minutos.

CONTROL DE CALIDAD

Los laboratorios deben seguir las prácticas de control de calidad generalmente aceptadas cuando no se disponga de ensayos de aptitud.

Para garantizar el funcionamiento adecuado del instrumento y del reactivo, debe evaluarse una muestra de control cada día que se realicen análisis. La muestra de control debe prepararse de la misma manera que la muestra a analizar. En el caso de los estudios cualitativos de agregación plaquetaria, la muestra de control debe estar compuesta de plasma fresco rico en plaquetas recogido de un donante normal (especificado y cualificado) que no haya ingerido compuestos con aspirina en los 10 días previos al análisis y que tenga un historial de función plaquetaria normal.

RESULTADOS

Los patrones típicos de agregación por colágeno se ilustran en las figuras 1 y 2. Tras añadir colágeno al plasma rico en plaquetas, se produce una fase de latencia durante la cual no se observa ninguna agregación. Las plaquetas normales mostrarán entonces un cambio de forma seguido de una única onda grande de agregación.

VALORES PREVISTOS

Cada laboratorio debe establecer los valores previstos para cada uno de los reactivos a las diferentes concentraciones utilizadas para inducir la agregación plaquetaria, (véase la tabla 2).^{4,8,9,10}

Tabla 2
RESPUESTAS TÍPICAS DE AGREGACIÓN PLAQUETARIA PARA DONANTES NORMALES CON 250,000 PLAQUETAS/mm³
 [agregación total a los 5 minutos]

| | ADP | Ácido araquidónico | Colágeno [tipo I] | Epinefrina |
|----------------------------------|---------------------------------|---|-------------------|-------------------------------------|
| Conc. final | 2.0x10 ⁻⁵ M | 500µg/mL | 0.19mg/mL | 1.0x10 ⁻⁴ M |
| Fase de retardo [seg.] | <10 | <=20 | <60 | 0 |
| Pendiente primaria | 38-67 | >20 | 35-67 | 7-34 |
| Agregación total (% a los 5 min) | 62-101 | 65-90 | 63-109 | 54-101 |
| Agregación bifásica | Dependiente de la concentración | NO | NO | SI |
| Otros | Puede mostrar cambio de forma | Puede que todos donantes normales no tengan un PLT CT~175k-300k | No diluir | Los donantes normales pueden variar |

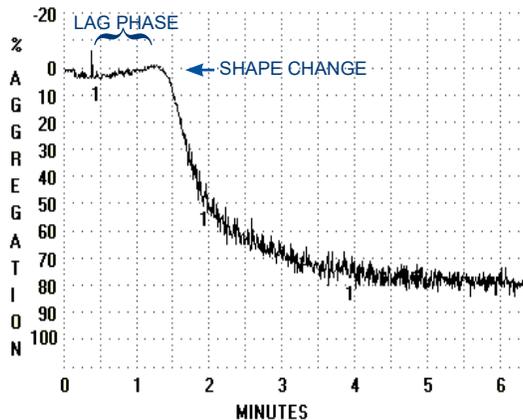


Fig. 1 Agregación normal

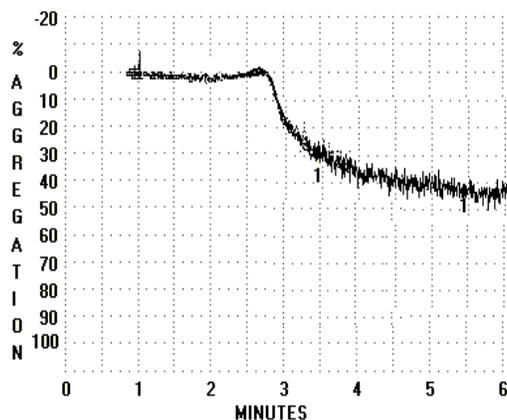


Fig. 2 Agregación anómala

LIMITACIONES

Se requiere una anamnesis detallada del paciente para hacer una interpretación exacta del análisis. Se debe preguntar a los pacientes si han ingerido algún medicamento recientemente, ya que varios fármacos de venta con receta y de venta libre pueden interferir en la agregación plaquetaria. Sustancias como la cafeína, el tabaco, los extractos (o complementos) herbarios y el alcohol pueden afectar a los resultados.^{7,8}

CARACTERÍSTICAS DE EFICACIA

Los estudios han demostrado que este producto funcionará según se ha descrito antes de su fecha de caducidad siempre que se sigan las instrucciones relativas al proceso y al almacenamiento.

Linealidad:

La agregación plaquetaria inducida por agonistas comunes (ADP, ácido araquidónico, colágeno y epinefrina) es un sistema de análisis no lineal para los siguientes parámetros: la fase de latencia, la pendiente primaria, la pendiente secundaria, la respuesta bifásica y la desagregación. La falta de linealidad se debe a muchos factores tales como la química de la reacción y la instrumentación. La agregación plaquetaria mide un índice de respuesta o una actividad que no es una medida cuantitativa de los reactantes ni de su concentración.

EXACTITUD, PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Exactitud

En la agregación plaquetaria, la exactitud es un parámetro relativo que depende del sistema de análisis.

Precisión y Reproducibilidad

Las limitaciones de la agregación plaquetaria hacen que resulte difícil proporcionar los intervalos típicos de reproducibilidad o de precisión típicos. Sin embargo, hay un consenso basado en la experiencia para estos parámetros (véase a continuación).

Cada laboratorio debe establecer sus propios límites de aceptabilidad de la prueba para los análisis.

| | |
|---|--------------------|
| Reproducibilidad entre pruebas: | menos del ± 7,5 % |
| Reproducibilidad entre instrumentos: | menos del ± 15 % |
| Variación entre lotes de reactivo: | menos del ± 10,5 % |
| Entre laboratorios (mismo sistema de análisis): | menos del ± 12,5 % |

BIBLIOGRAFÍA

1. Born, GVR and Cross, MJ. The Aggregation of Blood Platelets. J. Physiol [London] 168:178, 1963.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Isolation Precautions in Hospitals. Centers for Disease Control and Prevention. 1996; Vol 17; 1:53 - 80.
3. National Committee for Clinical Laboratory Standards. NCCLS: Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline. NCCLS document M29. Wayne, PA.
4. McCabe-White, M and Jennings, LK. Platelet protocols: Research and Clinical laboratory Procedure. Academic Press. London. 1999, p 35.
5. Newhouse, P and Clark, C. The Variability of Platelet Aggregation, in Triplet, DA, ed. Platelet Function: Laboratory Evaluation and Clinical Application. ASCP. Chicago. 1978. p 69.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. NCCLS Collection, Transport and Processing of Blood Specimens Approved Guideline- Second Edition. NCCLS Document H 18-A2. Wayne, PA.
7. Weiss HJ: Aspirin and platelets in drugs and hematologic reactions. Dimittov and Nodine (eds.). Grune and Stratton, New York, 1974.
8. Triplett DA, Harms CS, Newhouse P, Clark C: Platelet Function. Laboratory Evaluation and Clinical Application. ASCP, 1978.
9. Day HJ, Holmsen H: Laboratory tests of platelet function. Annal Clin Lab Sci, 2:63, 1972.
10. Owen CA, Bowie EJW, Thompson JH: The diagnosis of bleeding disorder. Little, Brown and Co., 1975.
11. William WJ, Beutler, E. Erslev AJ, Rundles RW: Hematology. McGraw-Hill, 1977.

Para obtener una lista completa de los productos disponibles, visite nuestro sitio web, www.biodatacorp.com, o póngase en contacto con el servicio de atención al cliente.

LA LÍNEA DE PRODUCTOS DE BIO/DATA CORPORATION INCLUYE REACTIVOS DE USO GENERAL QUE DEBEN EMPLEARSE EN LABORATORIOS PROFESIONALES PARA INDUCIR Y REGISTRAR LA ACTIVIDAD Y LAS RESPUESTAS DE LA FUNCIÓN PLAQUETARIA. SE GARANTIZA QUE ESTE PRODUCTO FUNCIONARÁ SEGÚN LO DESCRITO EN LAS ETIQUETAS Y EN LAS INSTRUCCIONES DE USO. BIO/DATA CORPORATION NO OFRECE ALEGACIONES NI GARANTÍAS, NI EXPRESAS NI IMPLÍCITAS, DE LAAPTITUD, IDONEIDAD O COMERCIALIZACIÓN DEL PRODUCTO PARA NINGÚN OTRO FIN, Y EN NINGÚN CASO BIO/DATA CORPORATION SERÁ RESPONSABLE DE NINGÚN DAÑO DERIVADO DE DICHA GARANTÍA EXPRESA.



155 Gibraltar Road, Horsham, PA 19044 EE.UU.
 Tel. para EE. UU.: +1 (800) 257-3282
 Tel. internacional: +1 (215) 441-4000
 Fax internacional: +1 (215) 443-8820
 Correo electrónico: customer.service@biodatacorp.com
 Internet: www.biodatacorp.com

Corporación con certificado ISO 13485



Alpha Laboratories Ltd, 40 Parham Drive, Eastleigh, Hampshire, SO50 4NU Reino Unido



mdi Europa GmbH, Langenhagener Str. 71, 30855 Langenhagen, Alemania

