

# Prueba de función plaquetaria por PFA-100

Código SCPC (Sociedad Colombiana de Patología Clínica): 16320. Código CUPS (Codificación Única de Procedimientos en salud): No aplica. Sección: Hematología. Nivel de complejidad: Alto.

Metodología: Sistema de flujo dinámico por fuerza de alta cizalladura. Sinónimos: PFA-100, prueba de agregación plaquetaria PFA-100, agregómetro PFA-100.

## Definición

El PFA-100 (del inglés *Platelet Function Analyzer-100*) es una prueba de tamizaje de la función plaquetaria, la cual es simple, no invasiva, reproducible y no requiere de personal especializado para su aplicación. Esta prueba es utilizada para determinar defectos de la hemostasia primaria, a partir de una muestra de sangre total citratada, en pacientes con sospecha de desórdenes trombocitopáticos, trombocitopenia, enfermedad de von Willebrand y en pacientes con tratamiento anti-agregante [1].

## Espectro clínico de aplicación

Las alteraciones de la función plaquetaria o trombocitopatías son defectos funcionales de las plaquetas que pueden ser de origen congénito o adquirido. Algunas de estas alteraciones se especifican en la [tabla 1](#).

Tabla 1. Principales alteraciones de la función plaquetaria	
<b>Trastornos en la adhesión</b>	
<b>Hereditarios</b>	<b>Adquiridos</b>
Enfermedad de von Willebrand Síndrome de Bernard Soulier	Uremia Enfermedad de von Willebrand adquirida
<b>Trastornos en la agregación</b>	
<b>Hereditarios</b>	<b>Adquiridos</b>
Trombastenia de Glanzmann Afibrinogenemia	Inhibición de productos de degradación de la fibrina Disproteinemias Medicamentos (ver <a href="#">tablas 3 y 4</a> )
<b>Trastornos en la liberación de gránulos</b>	
<b>Hereditarios</b>	<b>Adquiridos</b>
Albinismo oculocutáneo Deficiencia de gránulos densos (gránulos delta) Deficiencia de gránulos alfa o beta Síndrome de plaqueta gris	Puentes coronarios Enfermedades mieloproliferativas Medicamentos (ver <a href="#">tablas 3 y 4</a> )
<i>Tomado y modificado de [2]</i>	

El sistema PFA-100 permite el estudio de trastornos funcionales de las plaquetas, con mayor sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo que el tiempo de sangría, el cual, además de ser invasivo, ha pasado a ser obsoleto y no recomendado en la práctica clínica

por organizaciones como el Colegio Americano de Patología (CAP) y la Sociedad Americana de Patología Clínica (ASCP) [2].

El PFA-100 puede ser utilizado como:

- Prueba de tamizaje de disfunción plaquetaria congénita o adquirida en pacientes que serán sometidos a cirugía [3], con manifestaciones hemorrágicas [4], mujeres con problemas de sangrado menstrual abundante [5], que inician su vida sexual o los programas de anticoncepción [6], en pacientes pediátricos con sospecha de trombocitopenia congénita [7], pacientes con sospecha de enfermedad de von Willebrand [8] y en aquellos con enfermedad renal crónica que requieren diálisis [9].
- Prueba de monitoreo terapéutico de trastornos congénitos de la función plaquetaria, en particular de la enfermedad de von Willebrand, para evaluar la respuesta a la desmopresina o la aplicación de factores como el factor de von Willebrand [10].
- Prueba de diagnóstico y control en casos de resistencia a anti-agregantes plaquetarios como la aspirina y el clopidogrel, utilizados en la prevención del infarto agudo de miocardio y los accidentes cardiovasculares. La resistencia a estos medicamentos se observa en aquellos pacientes que no logran un adecuado grado de inhibición plaquetaria con el tratamiento o que presentan imposibilidad de reducir la agregación y la activación plaquetaria [11].
- Prueba de control de calidad en el banco de sangre para la selección de los donantes de plaquetas [12], el manejo de los concentrados de plaquetas y para el control postransfusional de plaquetas [13].
- Prueba médico-legal en el diagnóstico diferencial de las enfermedades hematológicas con manifestaciones hemorrágicas y el maltrato infantil [14].

## Fundamento

La prueba de función plaquetaria con PFA-100 simula *in vitro* las condiciones hemodinámicas de la adhesión y agregación de las plaquetas (hemostasia primaria) como ocurre *in vivo* tras una lesión vascular, utilizando un sistema conformado por cartuchos de reactivos que contienen un dispositivo capilar, un depósito de muestra y una membrana con actividad bioquímica con un orificio central, y un microprocesador con su respectivo software de análisis [2, 15].

La sangre total citratada es depositada en el contenedor de muestra y gracias a la fuerza de cizallamiento generada por la presión negativa ejercida por el instrumento sobre el cartucho, es aspirada a través de un dispositivo capilar en el cual es retada con varios agonistas plaquetarios (colágeno, epinefrina y adenosina difosfato (ADP)) que se encuentran recubriendo la membrana del cartucho. Durante la prueba, las plaquetas se adhieren a la mem-

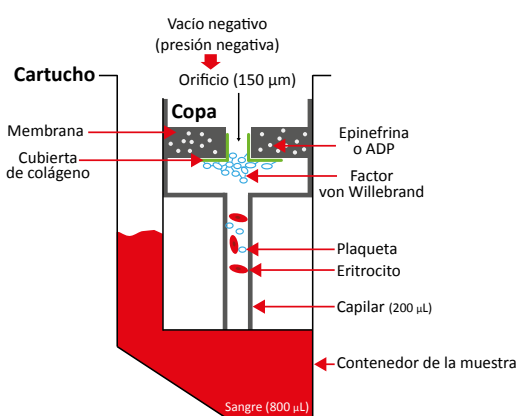


Figura 1. Esquema interno de un cartucho de PFA-100® (Siemens Healthcare Diagnostics, Inc., Deerfield, IL, USA).

brana, se activan y liberan su contenido granular, lo que produce que se agreguen. Cuando se produce una oclusión del capilar, al nivel del orificio de la membrana, como resultado de la adhesión y agregación plaquetaria, el flujo de sangre deja de pasar a través del instrumento, lo que produce un cambio en la transmisión de la luz que es detectado por el microprocesador, el cual arroja una única lectura de punto final correspondiente al tiempo que tomó obstruir el capilar, el cual se denomina «tiempo de cierre» (ver [figura 1](#)) [15, 16].

Para uso clínico se dispone de tres tipos de cartuchos, los cuales se clasifican según el tipo de agonistas que tienen asociados a la membrana de reacción, así:

- Colágeno/epinefrina (Col/EPI o CEPI)® (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Deerfield, IL, USA): la membrana está recubierta con 2 µg de colágeno tipo I y 10 µg de bitartrato de epinefrina, y se utiliza para el reconocimiento de alteraciones en la función plaquetaria por defectos intrínsecos de las plaquetas, enfermedad de von Willebrand o por la ingestión de inhibidores de la agregación plaquetaria como la aspirina [17].
- Colágeno/ADP (Col/ADP o CADP)® (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Deerfield, IL, USA): la membrana se encuentra recubierta con 2 µg de colágeno tipo I y 50 µg de adenosin-5-difosfato (ADP). Es utilizado para corroborar si los resultados anormales obtenidos con el cartucho colágeno/epinefrina están relacionados con el consumo de aspirina u otros medicamentos que la contengan [17].
- Innovance PFA-P2Y (PFA-P2Y)® (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Deerfield, IL, USA): corresponde a los cartuchos de la segunda versión del instrumento (Innovance PFA-200®). En éste, la membrana está impregnada con 20 µg de ADP, 5 ng de prostaglandina E1 y 459 µg de cloruro de calcio, y es utilizado específicamente para evaluar la anti-agregación plaquetaria con clopidogrel [18].

## Preparación del paciente y manejo de las muestras

### Preparación del paciente

- La muestra debe tomarse en ayunas, en las horas de la mañana, debido a variaciones circadianas que se pueden presentar con la prueba [2].
- Para la prueba el paciente debe abstenerse de :
  - Consumir alcohol [2].
  - Consumir medicamentos que contengan aspirina, anti-inflamatorios no esteroides u otros agentes anti-plaquetarios (ver [tabla 2](#)). Es importante tener en cuenta si el efecto de los medicamentos sobre las plaquetas es reversible y la duración, para que pueda realizarse la prueba del PFA-100 (ver [tabla 2](#)) [2].
  - Consumir alimentos y medicamentos naturistas que puedan interferir con la prueba (ver [tabla 3](#)). La suspensión por una semana es suficiente para evitar interferencia con los resultados del PFA-100 [2].
  - Consumir alimentos grasos [15].

**Tabla 2. Medicamentos que inhiben la función de las plaquetas**

Medicamentos	Efecto sobre la plaqueta	Duración
Aspirina	Irreversible	5 a 7 días
Ibuprofeno	Reversible	24 horas
Naproxeno	Reversible	Más de 4 días
Tionopiridinas	Irreversible	7 días
Dipiridamol	Reversible	Mínimo (usualmente no acarrea problemas con los procedimientos)
Dipiridamol/aspirina de larga acción	Reversible/irreversible	5 días
Cilostazol	Reversible	Mínimo (usualmente no acarrea problemas con los procedimientos)

Tomado de [2]

**Tabla 3. Alimentos y medicamentos naturistas que pueden interferir con los resultados del PFA-100****Alimento/ medicamento naturista (nombre científico)**

Arándano o mirtilo (*Vaccinium myrtillus*)

Cúrcuma (*Curcuma longa*)

Ginkgo biloba (*Ginkgo biloba*)

Ginseng asiático (*Panax ginseng*)

Ginseng americano o canadiense (*Panax quinquefolius*)

Ginseng siberiano o eleuterio (*Eleutherococcus senticosus*)

Hongo oreja de árbol (*Auricularia polytricha*)

Jengibre ó ginger (*Zingiber officinale*)

Reina de los prados (*Filipendula ulmaria*)

Sauce blanco (*Salix alba*)

Tomado de [2]

## Tipo de muestra

Sangre total tomada por venopunción con una aguja de 21G o superior (20G o 19G) directamente en un tubo al vacío de plástico o de vidrio siliconado con citrato de sodio (tapa azul) o en una jeringa que contenga 3,8% (0,129 M) o 3,2% (0,105 M) de citrato sódico tamponado en una relación 1:10 (una parte de anticoagulante por 9 partes de sangre), mezclada por inversión de tres a cuatro veces [15]. No se recomienda el uso de citrato de sodio no tamponado como anticoagulante [15].

Si durante la toma de la muestra hay problemas con la vena o el flujo de sangre se interrumpe se debe repetir la toma de la muestra en otra vena [15].

## Manejo y conservación de las muestras

- La muestra debe permanecer en reposo y a temperatura ambiente (15 °C a 25 °C) durante mínimo 10 minutos y máximo cuatro horas. No se debe procesar ni antes, ni después [1, 15].

- La muestra debe ser transportada a temperatura ambiente, no debe transportarse ni a temperatura de congelación ni de refrigeración [1].
- La muestra no debe transportarse a través de tubo neumático debido a que las plaquetas pueden activarse y dar resultados falsos negativos o falsos positivos [2].
- La muestra no debe ser centrifugada para su procesamiento, en caso de ser centrifugada no debe utilizarse a pesar de que vuelva a reconstituirse, debido a que la centrifugación genera activación de las plaquetas [1].

## Valores esperados

Los valores de referencia del PFA-100 tienen poca variación entre laboratorios, sin embargo, deben estandarizarse según la población.

Para el sistema PFA-100 los valores se expresan como «tiempo de cierre» en segundos, para cada uno de los cartuchos evaluados. En el Laboratorio Clínico Hematológico (Medellín, Colombia) los valores de referencia son [2]:

- «Tiempo de cierre» para el colágeno/epinefrina: 73 a 175 segundos.
- «Tiempo de cierre» para el colágeno/ADP: 50 a 112 segundos.

Para el Innovance PFA-P2Y el «tiempo de cierre» debe ser menor a 106 segundos.

## Interpretación de resultados

Los resultados de las pruebas con colágeno/epinefrina y colágeno/ADP deben correlacionarse con la historia clínica, los antecedentes personales, especialmente antecedentes de sangrados (quirúrgicos, odontológicos, traumas previos, entre otros), antecedentes familiares, el examen físico y la sospecha clínica [2].

Los resultados pueden ser interpretados según los diferentes escenarios clínicos (ver [tabla 4](#)), así:

- Colágeno/epinefrina y colágeno/ADP normal: es indicativo de función plaquetaria normal si la historia y el control físico del paciente son normales, o indicativo de un defecto plaquetario leve como la enfermedad de von Willebrand tipo 1 o una disfunción plaquetaria leve. También puede ser indicativo de resistencia a la aspirina en los pacientes que reciben este tratamiento [19].
- Colágeno/epinefrina levemente prolongado y colágeno/ADP normal: es indicativo de una disfunción plaquetaria inducida por medicamentos como la aspirina, un defecto plaquetario leve (enfermedad de von Willebrand tipo 1 o disfunción plaquetaria leve) o debido a valores levemente disminuidos en el hematocrito, el recuento plaquetario o en ambos. En este caso se debe revisar la medicación del paciente [19].
- Colágeno/epinefrina y colágeno/ADP levemente prolongados: es indicativo de un defecto plaquetario leve (enfermedad de von Willebrand tipo 1 o disfunción plaquetaria leve) o debido a valores levemente disminuidos en el hematocrito, el recuento plaquetario o en ambos [19].

**Tabla 4. Posibles resultados obtenidos con el PFA-100/PFA-P2Y en diferentes escenarios clínicos**

<b>Resultado PFA-100</b>			
<b>Colágeno/epinefrina</b>	<b>Colágeno/ADP</b>		
	<b>Normal</b>	<b>Levemente prolongado</b>	<b>Severamente prolongado (o sin cierre)</b>
<b>Normal</b>	Normal Defecto leve Resistencia a la aspirina (en paciente tratado)	Evento raro	No debe presentarse (repetir la prueba)
<b>Levemente prolongado</b>	Efecto de medicamento (aspirina) Defecto leve Hematocrito y/o recuento plaquetario levemente disminuido	Defecto leve Hematocrito y/o recuento plaquetario levemente disminuido	Patrón inesperado (repetir la prueba) Defecto severo
<b>Severamente prolongado</b>	Efecto de medicamento (aspirina)	Defecto moderado a severo Hematocrito y/o recuento plaquetario disminuido Efecto de medicamento (aspirina)	Defecto severo Hematocrito y/o recuento plaquetario severamente disminuido Hemólisis de la muestra
<b>Resultado PFA-P2Y</b>			
<b>Innovance PFA-P2Y</b>	<b>Normal</b>	<b>Levemente alargado</b>	<b>Alargado</b>
	Resistencia al clopidogrel	No debe presentarse	Efecto de medicamento (clopidogrel)

*Tomado y modificado de [19]*

- Colágeno/epinefrina está levemente prolongado y colágeno/ADP severamente prolongado: es indicativo de un defecto plaquetario severo como la enfermedad de von Willebrand tipo 2A, 2B, 2M o 3, o debido a una disfunción plaquetaria severa [19].
- Colágeno/epinefrina severamente prolongado y colágeno/ADP normal: es indicativo de una disfunción plaquetaria inducida por medicamentos como la aspirina. Se debe revisar la historia de medicación del paciente [19].
- Colágeno/epinefrina severamente prolongado y colágeno/ADP levemente prolongado: es indicativo de un defecto plaquetario moderado o severo (enfermedad de von Willebrand tipo 2A, 2B, 2M o 3) o de una disfunción plaquetaria severa, debido a valores anormalmente disminuidos en el hematocrito, recuento plaquetario o ambos, o al tratamiento con aspirina. Se debe revisar la medicación del paciente [19].
- Colágeno/epinefrina y colágeno/ADP severamente prolongados: es indicativo de que la función plaquetaria es anormal como en la enfermedad de von Willebrand o en los defectos plaquetario congénitos. La mayoría de pacientes con colágeno/ADP prolongado tienen anomalías en la hemostasia primaria, es decir, tienen un riesgo aumentado de sangrado en un procedimiento quirúrgico [19].

Cuando se utiliza el Innovance PFA-P2Y el patrón típico en pacientes tratados adecuadamente con clopidogrel es un «tiempo de cierre» alargado, y en el caso de resistencia a clopidogrel un «tiempo de cierre» normal [2].

## Interferentes

- Algunos medicamentos, alimentos y medicamentos naturistas consumidos por el paciente pueden interferir con los resultados de la prueba (ver tablas 3 y 4). Se recomienda la suspensión de estos productos durante una semana para que no interfieran con los resultados del PFA-100 [2].
- No se recomienda utilizar muestras de sangre hemolizadas debido a que producen resultados prolongados (falsos positivos), obstrucciones del flujo o fallas de las pruebas [20].
- La muestra debe ser tomada en las horas de la mañana debido a variaciones circadianas que se pueden presentar y que afectan la prueba [2].
- El PFA-100 no se afecta significativamente por la edad y el género, sin embargo, existen situaciones que el médico debe considerar al momento de interpretar los resultados de la prueba:
  - El «tiempo de cierre» puede ser más largo en las mujeres que en los hombres, siendo mayor en aquellas que toman anticonceptivos orales [2].
  - El «tiempo de cierre» puede encontrarse prolongado en los pacientes con grupo sanguíneo O respecto a los otros grupos [2].
  - El «tiempo de cierre» puede ser más corto en la mujer embarazada [21].
  - El «tiempo de cierre» no se afecta si el paciente es fumador [22], está tratado con heparina o hace ejercicio [21].
- Los microtrombos presentes en la muestra u otras partículas que se introduzcan desde el exterior pueden afectar la prueba por obstrucción del flujo [15].
- Las muestras de sangre con propiedades elevadas de sedimentación pueden alterar el resultado del PFA-100 [15].
- Los niveles anormalmente bajos del hematocrito (menor al 35%) y del recuento plaquetario (menor a  $150.000/\mu\text{L}$ ) pueden producir alargamiento en el «tiempo de cierre» [15].
- Algunos ácidos grasos y lípidos de la dieta pueden inhibir la función plaquetaria, por lo que se recomienda no ingerir alimentos grasos antes de la prueba [15].

## Limitaciones

Los resultados de la prueba del PFA-100 deben interpretarse siempre de acuerdo con la historia clínica del paciente, la sintomatología y otras observaciones [15].

Ante la sospecha de un desorden plaquetario o de la enfermedad de von Willebrand, además de la prueba de función plaquetaria por el PFA-100, es necesaria la realización de pruebas de agregación plaquetaria clásica, pruebas adicionales como el hemograma, recuento de plaquetas, tiempo de protrombina (TP) y tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA). En caso de sospecha de la enfermedad de von Willebrand debe incluirse pruebas de concentración de

los factores VIII y IX de la coagulación, el factor von Willebrand (antígeno), ensayo de unión a colágeno, cofactor de ristocetina y prueba con desmopresina [1].

El PFA-100 no es sensible a los defectos o deficiencias en el fibrinógeno u otros factores de la coagulación clásicos (factores VIII, IX y XI), por tanto no es útil en el diagnóstico de hipofibrinogenemia, disfibrinogenemia y hemofilia clásica (hemofilia A o B) [1].

## Bibliografía

1. **Favaloro EJ.** Clinical utility of the PFA-100. *Semin Thromb Hemost* 2008; 34: 709-733.
2. **Campuzano Maya G.** PFA-100: una nueva prueba de función plaquetaria sustituta del tiempo de sangría. *Medicina & Laboratorio* 2013; 19 (11-12): 411-448.
3. **Koscielny J, von Tempelhoff GF, Ziemer S, Radtke H, Schmutzler M, Sinha P, et al.** A practical concept for preoperative management of patients with impaired primary hemostasis. *Clin Appl Thromb Hemost* 2004; 10: 155-166.
4. **Harrison P, Mumford A.** Screening tests of platelet function: update on their appropriate uses for diagnostic testing. *Semin Thromb Hemost* 2009; 35: 150-157.
5. **Acharya S, Barraclough J, Ibrahim MS, Oxby C, Jones SE, Parapia L, et al.** The usefulness of the platelet function analyser (PFA-100) in screening for underlying bleeding disorders in women with menorrhagia. *J Obstet Gynaecol* 2008; 28: 310-314.
6. **ACOG Committee on Gynecologic Practice.** Committee Opinion: number 263, December 20001. von Willebrand's disease in gynecologic practice. *Obstet Gynecol* 2001; 98: 1185-1186.
7. **Cariappa R, Wilhite TR, Parvin CA, Luchtman-Jones L.** Comparison of PFA-100 and bleeding time testing in pediatric patients with suspected hemorrhagic problems. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003; 25: 474-479.
8. **Posan E, McBane RD, Grill DE, Motsko CL, Nichols WL.** Comparison of PFA-100 testing and bleeding time for detecting platelet hypofunction and von Willebrand disease in clinical practice. *Thromb Haemost* 2003; 90: 483-490.
9. **Kaw D, Malhotra D.** Platelet dysfunction and end-stage renal disease. *Semin Dial* 2006; 19: 317-322.
10. **van Vliet HH, Kappers-Klunne MC, Leebeek FW, Michiels JJ.** PFA-100 monitoring of von Willebrand factor (VWF) responses to desmopressin (DDAVP) and factor VIII/VWF concentrate substitution in von Willebrand disease type 1 and 2. *Thromb Haemost* 2008; 100: 462-468.
11. **Hankey GJ, Eikelboom JW.** Aspirin resistance. *Lancet* 2006; 367: 606-617.
12. **Rivera J, Lozano ML, Vicente V.** In vitro changes of platelet parameters: lessons from blood banking. *Methods Mol Biol* 2004; 273: 57-72.
13. **Beck KH.** Quality control of platelets during storage by the PFA-100: a comparison to platelet aggregation. *Transfus Apher Sci* 2002; 27: 247-253.
14. **Minford AM, Richards EM.** Excluding medical and haematological conditions as a cause of bruising in suspected non-accidental injury. *Arch Dis Child Educ Pract Ed* 2010; 95: 2-8.
15. **Siemens Healthcare Diagnostics Inc.** Dade® PFA Cartucho de Prueba Colágeno/EPI y Dade® PFA Cartucho de Prueba Colágeno/ADP. Illinois, Estados Unidos; 2012.
16. **van Werkum JW, Hackeng CM, de Korte FI, Verheugt FW, Ten Berg JM.** Point-of-care platelet function testing in patients undergoing PCI: between a rock and a hard place. *Neth Heart J* 2007; 15: 299-305.
17. **Kundu SK, Sio R, Mitu A, Ostgaard RA.** Evaluation of platelet function by PFA-100TM. *Clin Chem* 1994; 40 (9): 1827-1828.
18. **Linnemann B, Schwonberg J, Rechner AR, Mani H, Lindhoff-Last E.** Assessment of clopidogrel non-response by the PFA-100 system using the new test cartridge INNOVANCE PFA P2Y. *Ann Hematol* 2010; 89: 597-605.
19. **Favaloro EJ, Bonar R.** External quality assessment/proficiency testing and internal quality control for the PFA-100 and PFA-200: an update. *Semin Thromb Hemost* 2014; 40: 239-253.
20. **Lippi G, Fontana R, Avanzini P, Aloe R, Ippolito L, Sandei F, et al.** Influence of mechanical trauma of blood and hemolysis on PFA-100 testing. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2012; 23: 82-86.
21. **Kottke-Marchant K, Powers JB, Brooks L, Kundu S, Christie DJ.** The effect of antiplatelet drugs, heparin, and preanalytical variables on platelet function detected by the platelet function analyzer (PFA-100). *Clin Appl Thromb Hemost* 1999; 5: 122-130.
22. **Bock M, De Haan J, Beck KH, Gutensohn K, Hertfelder HJ, Karger R, et al.** Standardization of the PFA-100(R) platelet function test in 105 mmol/l buffered citrate: effect of gender, smoking, and oral contraceptives. *Br J Haematol* 1999; 106: 898-904.