

Establecimiento de los valores de referencia para las pruebas de agregación plaquetaria en el Centro de Investigación en Hematología y Trastornos Afines (CIHATA)

(Establishment of reference values for platelet aggregation tests at the Hematology and Related Disorders Research Center [CIHATA])

Mariela Solano-Vargas¹, Julio González-Morales², José Arturo Molina-Mora³

Afiliación Institucional:

¹Centro de Investigación en Hematología y Trastornos Afines, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. mariela.solano-vargas@ucr.ac.cr

 0000-0002-8019-0187

²Gestor de Calidad-Laboratorio Echandi, San José, Costa Rica. julgomo@gmail.com

 0009-0004-5186-4797

³Centro de Investigación en Hematología y Trastornos Afines, y Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica., jose.molinamora@ucr.ac.cr

 0000-0001-9764-4192

Abreviaturas:

ADP; Adenosin difosfato.
CIHATA; Centro de Investigación en Hematología y Trastornos Afines.
IR; Intervalo de referencia.
PPP; Plasma pobre en plaquetas.
PRP; Plasma rico en plaquetas.

Fuentes de apoyo: Vicerrectoría de Investigación, Universidad de Costa Rica, bajo el proyecto N° B7-332: Determinación de valores de referencia para las pruebas de agregometría y de coagulación realizada en el CIHATA, periodo 2017-2019. Laboratorio Clínico de la Universidad de Costa Rica.

Conflicto de intereses: Los autores de este estudio declaran que no tienen conflictos de intereses.

✉ mariela.solanovargas@ucr.ac.cr



Esta obra está bajo una licencia internacional: Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0.

Resumen

Objetivo: Establecer valores de referencia para las pruebas de agregación plaquetaria en una población local de Costa Rica.

Métodos: Se describe el proceso de muestreo, toma de muestras y preparación para la determinación de la agregación plaquetaria según la técnica de Born, y siguiendo los lineamientos de Cattaneo y colaboradores, publicada en el 2013. Para el análisis de datos se utilizaron métodos estadísticos robustos.

Resultados: El porcentaje de agregación plaquetaria obtenido con agonistas como Adenosina difosfato, Ristocetina, ácido araquidónico y Colágeno permitió establecer intervalos de referencia con porcentajes semejantes a los presentados en la literatura. En este sentido, el valor mínimo de agregación plaquetaria en condiciones normales ronda el 50% de agregación, mientras que otros agonistas como Epinefrina y Ácido Araquidónico presentan una variabilidad significativa, por lo que no se pudo establecer un rango mínimo normal para estos debido a su amplio intervalo de referencia.

Conclusiones: Esta investigación proporciona información relevante sobre la variabilidad de la agregación plaquetaria en una población específica, así como la aplicación de un método estadístico adecuado para establecer valores de referencia locales. Esto es fundamental para la interpretación precisa de los resultados de las pruebas de laboratorio en el contexto clínico.

Descriptores: Agregación Plaquetaria, Inhibidores de Agregación Plaquetaria, Valores de Referencia.

Abstract

Aim: To establish reference values for platelet aggregation tests in a local population of Costa Rica.

Methods: The sampling process, sample collection, and preparation for platelet aggregation determination using the Born technique are described following the guidelines of Cattaneo and colleagues, published in 2013. Robust statistical methods were used for data analysis.

Results: The percentage of platelet aggregation obtained with agonists such as Adenosine diphosphate, Ristocetin, arachidonic acid and Collagen allowed for the establishment of reference ranges with percentages similar to those presented in the literature. In this regard, the minimum value of platelet aggregation under normal conditions hovers around 50% aggregation, whereas other agonists like Epinephrine and Arachidonic Acid show significant variability, so a minimum normal range could not be established for these due to their wide reference range.

Conclusions: This research provides relevant information on the variability of platelet aggregation in a specific population, as well as the application of an appropriate statistical method to establish local reference values. This is essential for the accurate interpretation of laboratory test results in a clinical context.

Keywords: Platelet Aggregation, Platelet Aggregation Inhibitors, Reference Values.

Fecha de recibido: 08, febrero, 2024

Fecha de aceptado: 18, mayo, 2025

La hemostasia es un proceso fisiológico que permite llevar oxígeno a los tejidos al mantener la sangre en un estado fluido, pero a su vez, tiene la capacidad de detener sangrados en casos de daño en las paredes vasculares. Dicho proceso se da por la interacción de varios componentes, donde las plaquetas tienen un papel protagónico¹.

Las plaquetas se forman a partir de los megacariocitos y tienen una vida media en circulación de 7 a 10 días. En condiciones normales son las encargadas de lo que se conoce como hemostasia primaria, en la cual procesos de adhesión, activación y agregación forman un trombo inicial, mientras se desencadena una cascada de reacciones que llevan a activar otros elementos de la coagulación, los cuales finalmente forman el trombo que repara el tejido vascular dañado². En procesos patológicos, se han involucrado a las plaquetas en el desarrollo de la placa de ateroma y metástasis de células cancerosas³.

Para la evaluación de las alteraciones o efectos de medicamentos que involucran la hemostasia primaria, se debe verificar la cantidad de plaquetas y posteriormente su función. Para esta última se han desarrollado diversas metodologías como la agregación por transmisión de luz, la liberación de gránulos, impedancia, citometría de flujo entre otras⁴.

La agregación por transmisión de luz es el método más utilizado en los laboratorios de hematología especializada y se considera el estándar de oro. Sin embargo, este no es un método bien estandarizado. Cattaneo et al⁵ publicaron una guía que contempla las variables que deben tomarse en cuenta para realizar esta técnica con el fin de tener valores clínicos válidos y confiables. Dentro de las recomendaciones se menciona

la implementación de valores de referencia propios de cada laboratorio en donde se controlen dichas variables de la misma manera que cuando se procesan muestras de pacientes⁵.

El establecimiento de intervalos de referencia para pruebas de laboratorio puede realizarse utilizando el protocolo: EP28-A3c: Definiendo, Estableciendo y Verificando Intervalos de Referencia para Laboratorios Clínicos - Guía Aprobada, desarrollado por la Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). El grupo de trabajo encargado de desarrollar este protocolo, determinó que existen dos tendencias en el ambiente del laboratorio clínico con respecto a la definición de los intervalos de referencia. La primera, es el uso de intervalos de referencia definidos como límites de decisión médica, los cuales son establecidos por consenso en organismos nacionales o internacionales expertos en la materia, como ejemplo de ello los valores de referencia para las pruebas de colesterol total o la glicemia en ayunas, ambas en suero.

La segunda tendencia, es que muy pocos laboratorios clínicos desarrollan sus propios estudios de intervalos de referencia, y en su lugar adoptan intervalos suministrados por el fabricante o intervalos definidos en estudios clínicos, no obstante, esto tiene la limitación de que en ocasiones son investigaciones obsoletas y sobre poblaciones que pueden ser fisiológicamente diferentes a las que atiende el laboratorio⁶.

La definición de los intervalos de referencia representa algunos retos para los laboratorios. Uno de estos desafíos importantes es la definición de los individuos de referencia, los cuáles serán seleccionados según criterios bien definidos que permitan clasificar a dichos individuos como personas sanas. Esto se logra

con la evaluación del estatus sano a través del historial clínico, exámenes de gabinete, evaluación física, y/o, el desarrollo de cuestionarios estandarizados que permitan identificar condiciones, enfermedades y hábitos que excluyan al individuo de una condición sana según el analito cuyo intervalo de referencia se pretenda definir.

Otro desafío es el tamaño de muestra, el grupo de estudio del protocolo EP28-A3c indica un mínimo de 120 muestras provenientes de individuos calificados previamente como individuos sanos, y cuyos resultados deben ser analizados por métodos no paramétricos⁶ (CLSI, 2010), o en casos donde no se logró este número de muestras se ha recomendado la utilización de lo que se conoce como estadística robusta

Los retos antes mencionados se encuentran presentes en el establecimiento de los valores de referencia para la prueba de agregación plaquetaria por transmisión de luz. Esto ya que, obtener 120 muestras provenientes de personas que califiquen como individuos sanos para la función plaquetaria, y desarrollar la metodología de agregación por transmisión de luz, representan un desafío debido a las limitaciones y exigencias propias del método de ensayo, descritos en la metodología de este estudio. Aun así, las guías son claras en que se deben establecer, dentro de lo posible, los valores de referencia para trabajar en cada laboratorio.

Esta investigación tuvo como objetivo determinar los valores de referencia de las pruebas de agregación plaquetaria en el Centro de Investigación en Hematología y Trastornos Afines (CIHATA) a partir de muestras de individuos que asisten a las campañas de donación del laboratorio clínico de la Universidad de Costa Rica (UCR) en el período 2017-2019, utilizando un método estadístico robusto. Esto responde a la necesidad de tener datos locales, ya que los valores presentados en la literatura se han establecido con diferentes poblaciones, metodologías y en nuestro país no se ha realizado un estudio similar. Además, esta metodología de establecimiento de valores de referencia puede ser aplicada para determinaciones en los laboratorios.

Métodos

Selección de participantes

En las campañas de donación realizadas en la UCR en el período 2017-2019, se seleccionó la muestra directa *a priori* (al azar 4 individuos por campaña).

Criterios de inclusión:

- Todas las personas que asistieron a las campañas de donación de la UCR, que de manera voluntaria firmaron el consentimiento informado.

- Ser aptas para donar, posterior a la evaluación física y cuestionario aplicado por el personal a cargo de las campañas de donación.

Criterios de exclusión

- Individuos que consumieran aspirina durante los 7 días previos a la donación
- Muestras de plasma lipémicos, ictericos y hemolizados.
- Muestras de plasma que pasaran más de 4 horas desde su recolección hasta el análisis.

Toma de muestra

Se tomó la muestra sólo de 4 participantes por campaña, esta muestra debe procesarse como máximo dentro de las 4 horas posteriores. La muestra se tomó de la bolsa accesoria que tienen las bolsas de donación, de ahí, se tomaron cuatro tubos de citrato de sodio al 3.2%. Las muestras fueron transportadas a temperatura ambiente del campus Rodrigo Facio de la UCR al CIHATA, ubicado en ese momento en el Hospital San Juan de Dios.

Preparación de la muestra

Por cada muestra obtenida se tienen dos tubos: 1 tubo de Plasma rico en plaquetas (PRP) y otro de Plasma Pobre en Plaquetas (PPP).

- Centrifugado
 - o Obtención PRP: Los tubos se centrifugaron a 145 g por 10 minutos, el plasma obtenido se separó en tubos de plástico y se mantuvieron en agitación suave constante.
 - o Obtención PPP: Los mismos tubos, de los cuales se separó el PRP se centrifugaron a 1300 g durante 10 min, el PPP se separó en tubos de plástico.
- Cuantificación plaquetas: Se utilizó el contador hematológico BC5000 Myndray para la cuantificación de plaquetas en el tubo de PRP, si el número era mayor a 250.000 plaquetas/ μ L se diluía con PPP hasta este valor. Valores menores se utilizaron siempre y cuando fueran mayores a 150.000 plaquetas/ μ L.
- Agonistas analizados: durante el análisis de agregación plaquetaria se utilizaron los siguientes agonistas: Ácido araquidónico (AA), Adenosin difosfato (ADP), Colágeno (COL), Epinefrina (EPI), y Ristocetina (RISTO).

- Porcentaje de agregación: Se determinó los porcentajes de agregación plaquetaria mediante la técnica de Born, (agregación por transmisión de luz), con la utilización del equipo CHRONO-LOG modelo 490 2D7. Se utiliza el PPP en una cubeta nueva como 0% de Transmitancia de luz y el PRP sin agonista como el 100%. Se agrega la cantidad indicada de agonista a la cubeta de PRP, utilizando un volumen final de 500 µL en la cubeta de lectura. Se deja correr la curva de agregación durante al menos 8 minutos. Las cantidades y concentración de agonistas utilizadas se indican en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Volumen y concentraciones necesarios para la preparación de agonistas utilizados en las pruebas de agregometría realizadas en el CIHATA a muestras provenientes de campañas de donación durante el periodo 2017-2019				
Agonista	Cantidad µL Agonista	Cantidad µL PRP	Cn vial reconstituido	Cn Final en plasma
ADP	25 µL	475 µL	2 µM	10 µM
EPI	50 µL	450 µL	3 mM	10 µM
COL	10 µL	490 µL	100 µg/mL	2 µg/mL
RISTO	50 µL	450 µL	15 mg/mL	1.5 mg/mL
AA	15 µL	485 µL	5 mg/mL	150 µg/mL
Cn: Concentración, ADP: Adenosin difosfato, EPI: Epinefrina, COL: Colágeno, RISTO: Ristocetina, AA: Ácido Araquidónico La concentración (Cn) del vial reconstituido corresponde a la recomendación comercial de reactivo, y la Cn final en plasma a la Cn necesaria para evaluar la agregación in vitro. Para obtener esta última se debe utilizar los volúmenes de agonista y de PRP mostrados en el cuadro.				

Según el volumen obtenido de cada participante se determinó el porcentaje de agregación contra cada agonista, siguiendo la prioridad de ADP, EPI, RISTO, COL y AA.

Análisis de datos

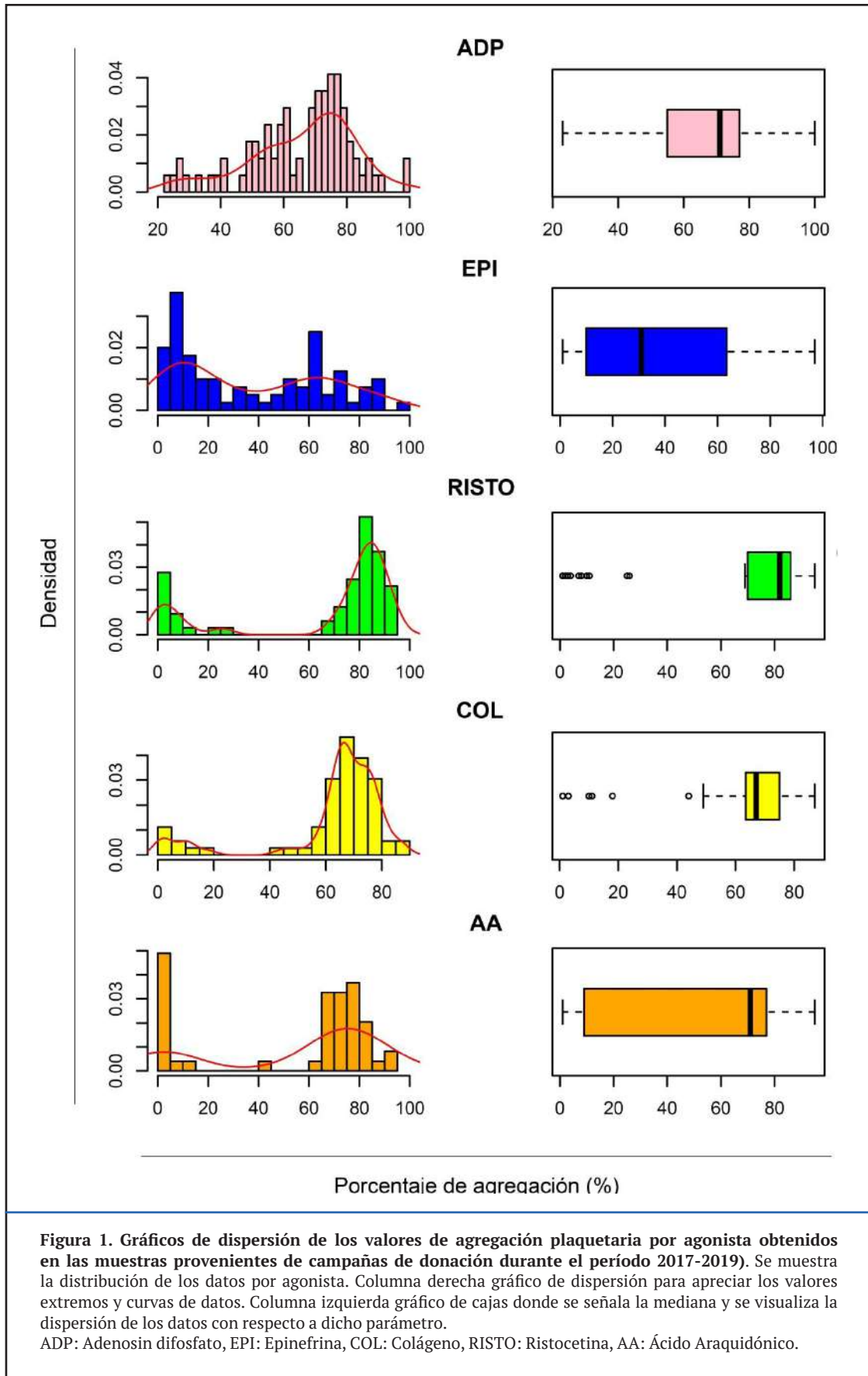
La estimación de los intervalos de referencia se realizó usando los criterios de la guía “Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory - CLSI EP28-A3c”⁶. Por la cantidad de muestras (menor a 120 para todos los agonistas), se siguió la recomendación de utilizar un método estadístico robusto y, a modo de comparación, se implementó el método no paramétrico. Todos los análisis se realizaron con Scripts usando los programas RStudio (Version 1.1.453, <https://www.rstudio.com/>) y R (Version 3.6.3, <https://www.r-project.org/>). El paquete “referenceIntervals” ([https://cran.r-project.org/web/packages/ referenceIntervals/](https://cran.r-project.org/web/packages/referenceIntervals/)) fue usado para ejecutar los métodos con los algoritmos de Cook⁸ (Cook, 1979) y Horn⁹ para detección de valores atípicos. En todos los casos se usó un nivel de confianza del 90% tanto para el intervalo de referencia como para la estimación de sus límites.

Resultados

Se recolectaron muestras de 108 participantes, de los cuales 17 fueron diferidos en el proceso de donación y 2 no pudieron ser procesados por que se extendió a más de 4 horas el tiempo de procesamiento de las muestras. Del total de muestras un 45% correspondían a hombres y un 56% a mujeres. La edad promedio de los individuos fue de 26 años.

Se realizaron diagramas de dispersión para observar el comportamiento de los datos, para cada uno de los agonistas y un gráfico de caja para observar el posicionamiento de estos con respecto al valor de la mediana (Figura 1). En todos los agonistas al menos el 50% de las muestras, presentaron porcentajes de agregación por encima del 60%, a excepción de los porcentajes de agregación con epinefrina, en donde el 50% de los datos obtuvo valores de agregación por debajo del 40%.

Con respecto a la distribución de los datos, solamente aquellos correspondientes a ADP presentaron una curva semejante a la curva normal. Todos los demás agonistas presentan una distribución de los datos con dos poblaciones de valores extremos.



La determinación de los intervalos de referencia para cada uno de los agonistas se calculó mediante la aplicación de un método robusto. Se usaron dos abordajes diferentes para la identificación y manejo de los valores atípicos ^{8,9}. Ambos se calcularon con un nivel de confianza del 90%. A manera de comparación se realizó el cálculo de los intervalos 2.5 y 97.5 con el

fin de observar de manera descriptiva que tanto varían los resultados al utilizar un método no paramétrico convencional como lo es el cálculo de percentiles, cuando se trabaja con números de nuestros menores a 120 datos. En el Cuadro 2 se observan los intervalos de referencia por agonista, según la metodología estadística utilizada y el número de muestras por agonista.

Cuadro 2. Determinación de los intervalos de referencia (IR) por agonista para las pruebas de agregación plaquetaria realizadas en el CIHATA en el período 2017-2019 con tres métodos estadísticos diferentes			
Método estadístico para calcular IR por agonista			
Agonista	Robusto		No paramétrico
	Horn	Cook	
ADP	46-92	40-98	28-92
N	78	85	85
EPI	0-86	0-87	1-90
N	79	80	80
RISTO	22-145	74-94	1-95
N	65	50	65
COL	56-84	54-84	3-85
N	64	64	72
AA	12-139	12-139	0-92
N	49	49	49
IR: Intervalo de referencia, ADP: Adenosin difosfato, EPI: Epinefrina, COL: Colágeno, RISTO: Ristocetina, AA: Ácido Araquidónico, N: número de muestras. Para cada agonista se utilizó un N independiente, con el cuál se calculó los intervalos de referencia utilizando 3 métodos estadísticos diferentes, dos de ellos utilizan estadística robusta y el otro método corresponde a una estadística no paramétrica (percentiles 2.5 (límite inferior y 97.5 límite superior))			

Para todos los agonistas se observa como el cálculo del percentil 2.5 (límite inferior) se vuelve más amplio con respecto a los resultados obtenidos por la metodología de estadística robusta, en el caso del límite superior esta diferencia no fue tan evidente.

En cuanto a los intervalos de referencia establecidos utilizando el método robusto de Cook se observa como para la mayoría de los agonistas (ADP, RISTO y COL) el porcentaje de agregación plaquetaria esperado es ma-

yor al 40%, mientras que para epinefrina y ácido araquidónico no se pudo establecer un rango mínimo normal de porcentaje de agregación plaquetaria, pues su intervalo de referencia es muy amplio, lo que no permitiría hacer inferencias del estado de agregación plaquetaria en futuras determinaciones. Se debe tomar en cuenta que no todas las muestras fueron evaluadas por todas los agonistas, por limitación de volumen, o porque el tiempo de análisis ya excedía el lapso recomendado para la técnica, de ahí que el número de muestras (N) por cada agonista es diferente.

Para la comparación de los datos obtenidos en el CIHATA con respecto a los publicados en la literatura se escogió el método de Horn⁹. En el Cuadro 3 se observan los IR obtenidos en este estudio y en otras dos investigaciones. En el trabajo de Trampuš-Bakija et al¹⁰, en la mayoría de agonistas se presentó un valor inferior que está por encima de 55%. Además, no se observa una variación tan evidente como la que se encontró en los

datos de epinefrina en el CIHATA. Se debe tomar en cuenta que en este estudio se utilizó menor cantidad de muestra y concentraciones de agonista diferentes a las utilizadas en el CIHATA. Con respecto al estudio de Mesa et al¹¹, no se indica el número de muestra, ni las concentraciones de agonistas utilizadas, en esta investigación el valor inferior para todos los agonistas fue cercano al 50%.

Cuadro 3. Comparación de los Intervalos de referencia (IR) por agonista de las pruebas de agregometría realizadas en el CIHATA en el período 2017-2019 con respecto a los valores reportados en la literatura						
Trampus et al., 2020			CIHATA met Horn		Mesa et al., 2017 P ^{95,5*}	
Agonista	Cn Final/N	IR	Cn final/N	IR	Cn Final/N	IR
ADP	2 µM/L N=44	55-87	10 µM/L N=85	40-98	NI	44-87
EPI	5,5 µM/L N=38	63-92	10 µM/L N=80	0-87	NI	51-80
RISTO	1,25 mg/mL N=43	62-91	1,5 mg/mL N=65	74-94	NI	53-92
COL	2 µg/mL N=40	65-92	2 µg/mL N=72	54-84	NI	60-86
AA	1 mmol/L N=41	62-85	150 µg/mL N=49	12-139	NI	NI
NI: No indica, P95,5: Cálculo de valores de referencia con los percentiles 5 y 95, IR: Intervalo de Referencia, Cn: Concentración, N: número de muestras, ADP: Adenosin difosfato, EPI: Epinefrina, COL: Colágeno, RISTO: Ristocetina, AA: Ácido Araquidónico. Se escoge el IR según método de Horn utilizado en este estudio y se compara con dos referencias publicadas anteriormente. Los tres estudios difieren en el N, método estadístico y variables preanalíticas utilizadas para la obtención del IR.						

Discusión

La agregación plaquetaria por transmisión de luz sigue siendo el estándar de oro para el estudio de los trastornos primarios o adquiridos que involucren el funcionamiento de las plaquetas¹². De ahí que se han hecho esfuerzos internacionales para estandarizar el procesamiento, así como guías de interpretación de los resultados¹³. Pese a ello la agregometría sigue siendo una metodología laboriosa y retardadora, normalmente relegada a los laboratorios especializados¹⁴.

Dentro de las guías se enfatiza el cuidado de las variables preanalíticas, donde se toma en cuenta el estado del paciente, los medicamentos que el paciente toma, estabilidad de la muestra post flebotomía entre otros. En el proceso analítico, se recomiendan concentraciones de agonista, la valoración no sólo del porcentaje de agregación sino también la forma de la curva de agregación¹⁵.

A nivel post-analítico y de interpretación se considera que para confirmar una sospecha clínica de mal funcionamiento plaquetario se requiere que las pruebas de agregación plaquetaria se repitan en momentos

diferentes, ya que como se ha comentado son análisis que pueden ser afectados por diversas variables.

Pese a que en cada fase del procesamiento existen retos, en la presente investigación se utilizó una metodología de laboratorio apegada a las guías internacionales, donde se describieron a detalle las variables preanalíticas y analíticas del ensayo.

Debido a la complejidad del método de ensayo (tiempo máximo para desarrollar el análisis de agregación plaquetario por transmisión de luz) y por la disponibilidad del equipo analizador, en este estudio no se logró obtener un mínimo de 120 muestras de individuos de referencia, y por lo tanto se aplicó un método estadístico robusto para el análisis de datos, según la recomendación indicada en el protocolo EP28-A3c. Lo anterior tiene su fundamento en que los métodos robustos no requieren que la distribución de los valores de referencia sea normal, y permiten el uso de una menor cantidad de datos.

Tal como se presentó en el Cuadro 3 los valores de referencia obtenidos en el CIHATA presentaron una gran variabilidad, especialmente en los agonistas de AA y EPI. Otros autores ya han reportado este comportamiento con la EPI, en donde aproximadamente un 10 % de individuos sin condiciones patológicas no agregan con este agonista¹⁵.

En los agonistas de ADP, RISTO y COL se logró establecer un valor inferior mínimo alrededor del 40% de agregación, similar al encontrado en otros estudios, como los analizados en este caso de los autores Trampuš-Bakija et al¹⁰, 2020 y Mesa et al¹¹. Cabe destacar que el análisis se centró en el valor del límite inferior, pues es la disminución de la agregación plaquetaria lo correlaciona con patologías asociadas a sangrados por disfunción de las plaquetas.

Este es el primer estudio de esta índole a nivel de país en donde se toman en cuenta las variables propias del método de agregación plaquetaria por transmisión de luz, así como la descripción de un método estadístico adecuado que respalde el establecimiento de los valores de referencia.

Utilizar valores de referencia provenientes de otros estudios como los de Trampuš-Bakija et al¹⁰, 2020 y Mesa et al¹¹ presentan la limitación de que no se utilizan las mismas variables, como concentración de agonista o cantidad de muestra, por lo que las metodologías no pueden ser estrictamente comparables.

Esta investigación además de generar una idea del comportamiento de los valores de agregación plaquetaria en una muestra sin sospecha de trastornos plaquetarios,

o normal, describe la aplicación de un método estadístico adecuado, lo cual representa un insumo importante para los laboratorios que se enfrentan al mismo reto en esta prueba o en otras pruebas de laboratorio que se relegan a laboratorios especializados y sobre las cuales no existe claridad de los IR a utilizar.

Finalmente, en conclusión, en esta investigación se establecieron valores de referencia para la prueba de agregación plaquetaria para el Laboratorio CIHATA de la Universidad de Costa Rica. Pese a la falta de estandarización, esta prueba es el estándar de oro para evaluar la función plaquetaria. Así, se logró evaluar la acción de diferentes agonistas: adenosin difosfato, ristocetina, ácido araquidónico, epinefrina y Colágeno, y su efecto en la agregación plaquetaria. Además, se logró la implementación de una prueba estadística robusta, la fue adecuada para las particularidades y condiciones del experimento en el laboratorio local. En conjunto, los resultados y su eventual uso serán un punto fundamental para la interpretación precisa de los resultados de las pruebas de laboratorio en el contexto clínico.

Agradecimientos

Personal CIHATA, y laboratorio clínico de la Universidad de Costa Rica y a los estudiantes de la Licenciatura en Microbiología de la UCR: Gabriela Sandí, Manrique Vargas, José Jiménez.

Financiamiento

Vicerrectoría de Investigación, Universidad de Costa Rica, bajo el proyecto N° b7-332: Determinación de valores de referencia para las pruebas de agregometría y de coagulación realizada en el CIHATA, periodo 2017-2019.

Condiciones éticas

Este estudio fue aprobado por el Comité Ético Científico (CEC) de la Universidad de Costa Rica, con la resolución N°48 de febrero 2017, para ser ejecutado durante el período 2017-2019.

Referencias

1. Gale AJ. Continuing Education Course #2: Current Understanding of Hemostasis. *Toxicol Pathol.* 2011;39: 273-280. DOI: 10.1177/0192623310389474.
2. Ghoshal K, Bhattacharyya M. Overview of platelet physiology: Its hemostatic and nonhemostatic role in disease pathogenesis. *Sci World J.* 2014;781857. DOI: 10.1155/2014/781857.
3. Holinstat M. Normal platelet function. *Cancer Metastasis Rev.* 2017 Jun;36(2):195-8. DOI: 10.1007/s10555-017-9677-x

4. Paniccia R, Priora R, Liotta AA, Abbate R. Platelet Function tests: A Comparative Review. *Vasc Health Risk Manag.* 2015 18;11: 133-148. DOI: 10.2147/VHRM.S44469.
5. Cattaneo M, Cerletti C, Harrison P, Hayward CPM, Kenny D, Nugent D, et al. 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;11: 1183-1189. DOI: 10.1111/jth.12231.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Third Edition. CLSI EP28-A3; 2010 Oct. 72p.
7. Born GVR. Aggregation of Blood Platelets by Adenosine Diphosphate and its Reversal. *Nature.* 1962; 9;194: 927-929. DOI: 10.1038/194927b0.
8. Cook RD. Influential observations in linear regression. *J Am Stat Assoc.* 1977; 19:15-8. DOI: 10.1080/01621459.1979.10481634
9. Horn PS, Pesce AJ, Copeland BE. Clinical Chemistry A robust approach to reference interval estimation and evaluation. 1998; 44:622–631. DOI.org/10.1093/clinchem/44.3.622
10. Trampuš-Bakija A, Jazbec J, Faganel-Kotnik B. Platelet lumiaggregation testing: Reference intervals and the effect of acetylsalicylic acid in healthy adults. *J Med Biochem.* 2020;39:422-427. DOI: 10.5937/jomb0-24690.
11. Mesa L, Castañeda M, Montero M, Mojena X, Ricardo N, Jiménez M. Estudio de agregación plaquetaria con diferentes agonistas. Valores de referencia. *Rev cubana med.* 2017;56(1):39-49. DOI: 10.1080/0034-7523.2017.12345678
12. Munnix ICA, Van Oerle R, Verhezen P, Kuijper P, Hackeng CM, Hopman-Kerkhoff HJJ, et al. Harmonizing light transmission aggregometry in the Netherlands by implementation of the SSC-ISTH guideline. *Platelets.* 2020;32:516-23. DOI: 10.1080/09537104.2020.1771549
13. Alessi MC, Sié P, Payrastré B. Strengths and Weaknesses of Light Transmission Aggregometry in Diagnosing Hereditary Platelet Function Disorders. *J Clin Med.* 2020 12;9:763. DOI: 10.3390/jcm9030763
14. Falcone M, Granero R. Intervalos de referencia para agregación plaquetaria en individuos sanos. *Acta bioquím clín latinoam.* 2012;46: 655-659.
15. Gresele P, Harrison P, Gachet C, Hayward C, Kenny D, Mezzano D, et al. Diagnosis of inherited platelet function disorders: Guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost.* 2015;13: 314-322. DOI: 10.1111/jth.12792