

República de Cuba

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE CAMAGÜEY

**Procedimiento para la obtención del plasma
rico en plaquetas autólogo en técnica abierta
ambulatoria**

**Tesis en opción al título de Doctor en Ciencias
Médicas**

Por:

Autor: MSc. Lidyce Quesada Leyva

Camagüey

2023

República de Cuba

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE CAMAGÜEY
CENTRO DE INMUNOLGÍA Y PRODUCTOS
BIOLÓGICOS**

**Procedimiento para la obtención del plasma
rico en plaquetas autólogo en técnica abierta
ambulatoria**

**Tesis en opción al título de Doctor en Ciencias
Médicas**

Por

Autor: MSc. Lidyce Quesada Leyva

Tutor: Dra. C. Zaily Fuentes Díaz

Camagüey, 2023

AGRADECIMIENTOS

Quiero de manera especial, agradecer a mis padres, por su amor y colaboración brindada en todo momento.

A mi esposo, Luis Alberto Toledo Hernández, a quien doy las gracias por poder contar con él siempre.

A mi hijo Alberto Enrique Toledo Quesada, por estar junto a mí cuando lo necesité.

A toda mi familia por estar a mi lado y cuyo amor contribuyó a lograr mis objetivos, proporcionarme seguridad, apoyo y contribuir en conjunto a que esta tesis fluyera y se viera materializada hoy.

Gracias a, Dr.C Zaily Fuentes Díaz por haberme acogido y guiado brindándome sus conocimientos y amistad.

Muy especial agradecimiento y amor para todas aquellas personas excepcionales, quienes cuidaron, ayudaron y dieron desinteresadamente lo mejor de sí.

Quiero dar las gracias en especial a MSc. Elizabeth Nicolau Pestana y al imprescindible grupo de trabajadores del Centro de Inmunología y Productos Biológicos y a todos lo que una forma u otra han contribuido al desarrollo de esta tesis.

Gratitud a todos los profesores de la Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey, ya que me han inculcado y alimentado el amor por esta gran Profesión que es la docencia y la investigación.

En fin, agradezco a todas las personas, amigos y compañeros, que han hecho posible que este proyecto sea una realidad y vea la luz.

Gracias a todos.

DEDICATORIA

A mis padres por enseñarme el camino a seguir y por su infinito amor

A Luis Toledo Hernández por ser mi soporte, mi amor

A mi hijo Alberto Toledo por ser lo mejor de mi vida

SÍNTESIS

El plasma rico en plaquetas es un producto biológico autólogo derivado de la sangre. El objetivo fue evaluar un procedimiento para la obtención del plasma rico en plaquetas autólogo por técnica abierta ambulatoria. Se realizó una investigación de innovación desarrollo con un estudio cuasi-experimental en un grupo de sujetos sanos de la Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey, de enero 2020 a diciembre 2022. Para la evaluación del procedimiento se utilizó el criterio de concordancia de expertos. Se optimizó el proceso de obtención del plasma rico en plaquetas con la modificación del tiempo y la fuerza de centrifugación. Se determinó la estabilidad biológica, incluido las características físico-químicas y microbiológicas. Se realizó un estudio de factibilidad económica. Con la modificación del tiempo y la fuerza de centrifugación se obtuvo un incremento de la concentración de plaquetas respecto al valor basal a los 10 minutos y 726 g, el promedio de valores de concentración de plaquetas fue de $610 \times 10^9/L$ y se demostró funcionalidad plaquetaria con un nivel de significación menor de 0,05. El procedimiento elaborado fue considerado como una técnica sencilla, económica, segura y reproducible (Kendall 0,731). El estudio de estabilidad demostró que el producto obtenido es seguro e idóneo para ser utilizado en centros asistenciales de la Atención Primaria de Salud. El procedimiento constituye una herramienta que garantiza el cumplimiento de los estándares de la calidad para la producción de biológicos, permite el control del proceso y la obtención de un producto seguro.

Tabla de contenido	Pág
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Antecedentes.....	1
1.2. Justificación del estudio.....	4
1.3. Problema de investigación.....	6
1.4. Objetivo general.....	6
1.4.1. Objetivos específicos.....	6
1.5. Hipótesis de la investigación.....	7
1.6. Diseño metodológico de la investigación.....	7
1.7. Novedad científica.....	8
1.8. Beneficios esperados.....	9
1.9. Límites del alcance de la investigación.....	9
2. DESARROLLO.....	10
2.1. CAPÍTULO 1. Fundamento del soporte teórico de la investigación acerca de la obtención del plasma rico en plaquetas autólogo.....	10
2.1.2. Objetivos del capítulo.....	10
2.2.1. Plaquetas. Plasma rico en plaquetas.....	10
2.2.2. Nomenclatura y clasificación del plasma rico en plaquetas.....	14
2.2.3. Técnica de obtención. Activación plaquetaria.....	17
2.2.4. Protocolos de obtención del plasma rico en plaquetas.....	20
2.2.5. Buenas prácticas de fabricación del plasma rico en plaquetas como producto biológico.....	27
2.2.6. Estabilidad para los productos biológicos.....	31
2.2.7. Estudio de costos y factibilidad económica.....	34
2.2.8. Conclusiones del capítulo.....	36
2.3. CAPÍTULO II. Elaboración del procedimiento de obtención del plasma rico en plaquetas autólogo en técnica abierta ambulatoria.....	38
2.3.1. Objetivos del capítulo.....	38
2.3.2. Diseño del estudio.....	41
2.3.3. Operacionalización de las variables.....	41
2.3.4. Métodos.....	44
2.3.5. Resultados y discusión.....	49
2.3.5.1. Procedimiento de obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria.....	49
2.3.5.2. Análisis de la factibilidad del procedimiento de obtención plasma rico en plaquetas autólogo en técnica abierta ambulatoria.....	54

2.3.6. Conclusiones del capítulo	59
2.4. CAPÍTULO III. Validación del procedimiento de obtención del plasma rico en plaquetas autólogo en técnica abierta ambulatoria.....	60
2.4.1. Objetivos del capítulo.....	60
2.4.2. Diseño del estudio	65
2.4.2.1. Método de consulta a expertos	66
2.4.2.2. Validación analítica	67
2.4.3. Operacionalización de las variables	69
2.5. Resultados y la discusión	72
2.5.1. Evaluación por criterio de expertos	72
2.5.2. Validación analítica	75
2.5.3. Conclusiones del capítulo	87
3. CONCLUSIONES	89
4. RECOMENDACIONES.....	91
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93
6. ANEXOS.....	124

1. INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

En los últimos años se observa el avance en el estudio de las terapias celulares y su aplicación en medicina regenerativa.¹ Esta se fundamenta en la administración de células o moléculas activas para reparar órganos y tejidos dañados e incluso la implantación de células aisladas de tejido adulto regeneran la estructura del tejido u órgano.

Fundamentado en la terapia celular se asume en la investigación la definición de Fernández et al.,² "...el PRP es un volumen biológico autólogo que se deriva de la sangre y se obtiene después de la centrifugación, con niveles de concentraciones de plaquetas superiores al basal con fracción plaquetaria de tres a ocho veces la concentración fisiológica ..."

Para el tratamiento regenerativo de enfermedades, existen varios tipos de células y fuentes celulares, las células madre estromales mesenquimales y las células hematopoyéticas.³

Las cuales se utilizan en una variedad de procedimientos médicos, desde la administración de suero autólogo hasta el uso de plasma rico en plaquetas (PRP), con objetivos dirigidos a la prevención, curación y rehabilitación de los sujetos.^{4,5}

Las regulaciones del Parlamento Europeo con la Organización Panamericana de la Salud (OPS) argumentan,⁶ que los avances en la eficacia y calidad del PRP, están dados por el aumento en la concentración de factores de crecimiento (FC) y plaquetas con intervención de factores técnicos y biológicos. La Unión Europea, establece estándares de calidad y seguridad para la recolección, análisis, manipulación, almacenamiento y distribución de sangre

humana y sus componentes; pero a pesar de esto, cada estado tiene la potestad de regular el uso clínico del PRP.⁷

Sin embargo, la eficiencia clínica del PRP a menudo es difícil de evaluar, por la variabilidad en los protocolos de obtención y la falta de una metodología que proporcione mejores resultados,⁸ sustentados en la seguridad del procedimiento para el PRP autólogo en entornos clínicos que controle el riesgo de enfermedades transmisibles y reacciones adversa, lo que hace que sea aplicable a una amplia gama de pacientes.⁸

El PRP se obtiene de forma segura en el laboratorio clínico en condiciones controladas, instrucciones de trabajo, con personal acorde a las normas establecidas.⁵ En relación con el uso y los fines terapéuticos, la normativa tiene en cuenta las características del donante, el dispositivo de extracción de sangre, el procesamiento de la muestra y el procedimiento de activación cuando corresponda.⁹

El informe de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) describe los medicamentos que se elaboran en base celular con las garantías mínimas de calidad en la obtención de PRP. La calidad del producto es responsabilidad del profesional sanitario que los prescribe, incluso aunque la elaboración sea realizada por un tercero, y establece las especificidades necesarias para el uso del PRP en España.⁵

Se describen amplias variaciones de protocolos que se publican para la preparación de PRP que conducen a composiciones variables e inducen diferentes respuestas biológicas. Estos mismos se rigen por marcos normativos para la fiscalización de productos que se derivan de células y de tejidos con fines terapéuticos, que aseguran las garantías de buenas prácticas de

laboratorio (BPL) y el cumplimiento de las medidas de bioseguridad que garantizan la calidad del PRP a lo largo de todo el procedimiento.^{10,11}

La elaboración de productos biológicos y hemoderivados en Cuba, se rigen por las buenas prácticas (BP) de productos biológicos y buenas prácticas de fabricación (BPF) de productos farmacéuticos en bancos de sangre y medicina transfusional.¹² De modo similar los requisitos de calidad necesarios para la sangre humana obtenida por donación manual o automática y para los componentes que se fabrican a partir de esta están regulados por el centro de Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos de Cuba (Cecmed).¹³

Publicaciones en Cuba muestran poca evidencia de procedimientos para la obtención de PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria, en el Congreso de Hematología 2023, del programa de Medicina Regenerativa se abordaron algunos temas sobre la obtención del PRP autólogo en centros asistenciales del nivel secundario de salud, en los que avalan dicho proceder, los que son poco operativo para el nivel primario.¹⁴

En la provincia de Camagüey, se observa la aplicabilidad del PRP autólogo en diversas especialidades médicas como en la Dermatología, Ortopedia y Traumatología Anestesiología, Cirugía Plástica y Caumatología en la atención secundaria de salud,¹⁵ para tratamiento de diferentes enfermedades que representan un problema de salud para la población, sin embargo, se evidencia en la atención primaria de salud la inexistencia de procedimientos de obtención del PRP autólogo que garantice la seguridad del producto.

El PRP autólogo desde décadas se desarrollan nuevos métodos para su obtención con mayor eficacia y precisión.¹⁶ Estos métodos incluyen el uso de

sistemas simple y doble centrifugación, que permiten separar las capas de la sangre con mayor precisión y obtener una concentración más alta de plaquetas y factores de crecimiento.¹⁷

Anitua,¹⁸ explica el proceso de obtención del PRP de forma ambulatoria con una centrífuga estándar de laboratorio, sin necesidad de utilizar instalaciones complicadas ni gran volumen de sangre con obtención de plaquetas con factores de crecimiento posterior a la centrifugación. En este sentido Bos et al.,¹⁹ refieren que el PRP se realiza mediante una técnica que se acepta y se prescribe desde hace muchos años, aunque carece de ficha técnica el procedimiento como herramienta de calidad y seguridad del producto.

Como resultados de la investigación una vez identificada la necesidad de obtención del PRP autólogo de forma ambulatoria, se diseña un proyecto de investigación que se encamina a la obtención del PRP autólogo en óptimas condiciones y simple de preparación con los recursos disponibles.

El Centro de Inmunología y Productos Biológicos (Cenipbi), desarrolla un procedimiento que garantiza la preparación del PRP autólogo a partir de la modificación descrita por Anitua,¹⁸ en técnica abierta ambulatoria reproducible, estandarizada y con cumplimiento de los requisitos de BPF que avalan la calidad del producto en los centros asistenciales del nivel primario del salud.

1.2. Justificación del estudio

El PRP presenta características y factores de crecimiento que promueven la neoformación de componentes intercelulares. El proceso de obtención se realiza mediante procesos de centrifugación, separación y posterior formación, estos procesos son sensibles a la manipulación e intervienen en la viabilidad de

las plaquetas,^{20,21} por lo que la acumulación de estos elementos afectan la cantidad de factores de crecimiento después del proceso.²²

Se reportan protocolos complejos y costosos en estudios clínicos de preparación de PRP,²³ que emplean diversos métodos en los que se utilizan diferentes fuerzas centrífugas y número de giros, con métodos estándar para evaluar la calidad del PRP con fines de reproducibilidad, recolección y preparación del concentrado, pero estos no brindan información suficiente que permita la repetitividad de la técnica de obtención.^{24,25}

La optimización del procedimiento de obtención del PRP, se establece por técnicas cerradas que usan materiales desechables, equipos específicos para la obtención, procesamiento de la muestra con elevados costos y resulta no funcional en todos los centros asistenciales. Por otra parte, está la técnica abierta que se utiliza en diferentes escenarios clínicos con equipos y materiales económicos lo que permite la extracción de una cantidad significativa de plaquetas del propio paciente.²⁶

En Camagüey son insuficientes las publicaciones que describen el procedimiento de obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria, no obstante, la tendencia es de aplicarla por los beneficios de sus propiedades en diferentes enfermedades en la Atención Secundaria de Salud (ASS).²⁷ Por consiguiente es necesario investigar y desarrollar nuevos métodos que mejoren la seguridad y eficiencia de este procedimiento, para evaluar los riesgos y beneficios asociados y garantizar la seguridad de los pacientes.

Todo lo expuesto confirma que para obtener el PRP autólogo de manera efectiva y segura, es necesario seguir un procedimiento que garantice la calidad y la concentración adecuada de plaquetas en el producto final. Por lo

tanto, es importante evaluar un procedimiento de obtención del PRP autólogo ambulatoria en técnica abierta que sea fácil de seguir, reproducible y que permita obtener un producto con las características requeridas.

En consecuencia, se requiere de un procedimiento para la obtención de PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria que valide el proceso de forma segura, viable, ordenada y económica para su contribución a la reproducibilidad y generalización en entornos asistenciales de la Atención Primaria de Salud.

1.3. Problema de investigación

¿Cómo evaluar un procedimiento para la obtención del plasma rico en plaquetas autólogo en técnica abierta ambulatoria, que contribuya al perfeccionamiento de las buenas prácticas de fabricación en la Atención Primaria de Salud?

1.4. Objetivo general

Evaluar el procedimiento para la obtención del plasma rico en plaquetas autólogo en técnica abierta ambulatoria.

1.4.1. Objetivos específicos

1. Fundamentar el soporte teórico de obtención del plasma rico en plaquetas autólogo en técnica abierta ambulatoria.
2. Elaborar el procedimiento para la obtención del plasma rico en plaquetas autólogo en técnica abierta ambulatoria.
3. Validar el procedimiento para la obtención del plasma rico en plaquetas autólogo en técnica abierta ambulatoria.

1.5. Hipótesis de la investigación

La evaluación del procedimiento para la obtención del plasma rico en plaquetas autólogo en técnica abierta ambulatoria contribuirá en la Atención Primaria de Salud al establecimiento de las buenas prácticas de fabricación.

1.6. Diseño metodológico de la investigación

Estructura general de la investigación: Se estructuró en tres etapas.

Primera etapa

La revisión de la literatura permitió establecer el marco teórico, se realizó una estrategia de búsqueda para precisar la contextualización del tema y marcarlo como novedad, el contenido fue indizado a través del DeCS, se encuentran los siguientes términos: plasma rico en plaquetas, plasma y Cuba y como alternativos se utilizaron plasma fresco congelado y plasma sanguíneo.

Así como Cumed la cual mostró seis pantallas con 10 registros para un total de 60 documentos. Por lo que, se manipuló el Google avanzado de donde se sacaron los documentos a texto completo. De modo similar en SciELO Cuba se localizaron 30 pantallas con 10 documentos a texto completo, lo que enmarcó un total de 3 060 registros; la información fue tratada, de manera reflexiva mediante el análisis crítico en su contenido. (Objetivo 1).

Segunda etapa

Se efectuó una investigación de innovación desarrollo con un estudio cuasi experimental en un grupo de sujetos sanos. Se diseñó el procedimiento para la obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria y se realiza un análisis económico-social, a través del cálculo de costos del procedimiento para la obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria (Objetivo 2).

Tercera etapa

Se desarrolló la validación del procedimiento de obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria se estableció a través de la opinión de los expertos con las exigencias necesarias para la evaluación del producto y métodos analíticos (estudios de estabilidad y agregabilidad plaquetaria) (Objetivo 3).

Los análisis estadísticos se realizaron en SPSS v26.0 (del inglés *Statistical Package for the Social Sciences, Inc., Chicago, EE.UU.*).

Los distintos métodos y técnicas empleados están descritos en detalle en los capítulos correspondientes.

1.7. Novedad científica

Se optimizó la eficiencia del proceso de obtención de concentrados plaquetarios con la modificación en la elaboración del producto en cuanto a la estandarización del tiempo y la fuerza de centrifugación.

Las pruebas de estabilidad que incluyó los estudios de las características físico-químicas, microbiológicas y de funcionabilidad, contribuyeron a la obtención de un producto seguro e idóneo para el uso. El estudio de costos demostró la factibilidad económica del procediendo.

La herramienta describe de forma detallada el proceso para la obtención del plasma rico en plaquetas autólogo en técnica abierta ambulatoria, con el fin de garantizar el cumplimiento de los estándares de la calidad, además de desempeñar su función como instrumento de control del proceso, en la Atención Primaria de Salud.

1.8. Beneficios esperados

Conocimiento científico: establecimiento de un procedimiento de obtención estándar con calidad y seguridad en el proceso, que aseguren las buenas prácticas en las diferentes aplicaciones terapéuticas.

Social: genera un impacto positivo al permitir la generalización de un procedimiento basado en terapia regenerativas personalizadas, con disminución del costo en la obtención del producto que garantiza su rentabilidad.

Económico: la obtención del plasma rico en plaquetas autólogo por técnica abierta ambulatoria de bajo costo, lo que reduce los gastos por concepto de tratamiento, lo cual permite la factibilidad, reproducibilidad y generalización en las instituciones de salud.

1.9. Límites del alcance de la investigación

En un primer momento la obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria se desarrolló en los laboratorios del Cenipbi con los recursos disponibles y para la generalización del procedimiento se tendrán en cuenta la disponibilidad de recursos materiales de cada unidad asistencial en la Atención Primaria de Salud.

2. DESARROLLO

2. DESARROLLO

2.1. CAPÍTULO 1. Fundamento del soporte teórico de la investigación acerca de la obtención del plasma rico en plaquetas autólogo.

En este capítulo se muestra el soporte teórico de la investigación acerca del método de obtención del PRP autólogo. Además, se fundamenta sobre las buenas prácticas de fabricación del PRP, normas, requisitos y regulaciones, estudios de estabilidad de igual manera los diferentes protocolos de obtención.

2.1.2. Objetivos del capítulo

Objetivo general

Fundamentar el soporte teórico de obtención del plasma rico en plaquetas autólogo.

Objetivos específicos

1. Describir las características y diferentes protocolos para la obtención de plasma rico en plaquetas.
2. Referir las buenas prácticas de fabricación para el plasma rico en plaquetas, requisitos y estudios de estabilidad.
3. Reseñar sobre los estudios de costos y prefactibilidad económica

2.2.1. Plaquetas. Plasma rico en plaquetas.

Las plaquetas tienen forma discoidea de tamaño heterogéneo y tienen la menor densidad y menor tamaño que el resto de las células sanguíneas, unas dos micras de diámetro frente a los leucocitos que tiene unas 20 micras, los más pequeños son los linfocitos con unas nueve micras de diámetro. Son anucleadas y se originan en la médula ósea, a partir del megacariocito. Las llamadas pro-plaquetas se fragmentan en plaquetas individuales y son liberadas en el torrente sanguíneo donde viajan entre siete a diez días.²

Del mismo modo las plaquetas son consideradas por su función como agentes hemostáticos, porque impiden el sangrado. Sin embargo, a medida que avanzan las investigaciones y el conocimiento sobre la biología plaquetaria, se identifican como pequeñas partículas inertes, con una extraordinaria complejidad estructural y bioquímica que se expresa en la gran variedad de funciones. Se utilizan como modelos para el funcionamiento de neuronas, debido a su capacidad de liberar y captar serotonina y otros neurotransmisores.²

Se sustenta que las plaquetas presentan en su morfología elementos discoides biconvexos de forma elipsoide con un diámetro 2,9 a 4,2 μm y grosor de 0,6 a 1,2 μm , la producción media de plaquetas es de alrededor 1×10^{11} plaquetas diarias, que contiene un alto nivel de plaquetas y distintos tipos de gránulos los densos y alfa; los primeros contienen variedad de moléculas pequeñas mientras que los gránulos alfa almacenan las proteínas de señalización y factores de crecimiento.²⁸

La autora hace referencia a lo que sustenta la literatura sobre la importancia de la vida media de las plaquetas, así como la función de las plaquetas en la hemostasia primaria, coagulación y fibrinólisis, su participación en la respuesta inflamatoria e inmunitaria, en el mantenimiento de la integridad vascular y la cicatrización de heridas, además que se reconoce su capacidad de síntesis proteica, a pesar de la ausencia de núcleo.²

En el caso de la membrana plasmática en la plaqueta, median las interacciones con el medio externo y ocupa un papel central en su fisiología con un contenido particular en determinados fosfolípidos y glicoproteínas. Los fosfolípidos son ricos en ácido araquidónico, el ácido graso precursor de la síntesis de

eicosanoides y sustancias implicadas en la transmisión de las señales recibidas en la membrana.²⁹

En este sentido los fosfolípidos son asimétricos y se distribuyen en la bicapa, por consiguiente, los que poseen carga negativa, tales como el fosfatidilinositol, fosfatidilserina y fosfatidiletanolamina se localizan en la capa interna. Esta distribución tiene, un significado funcional, sirven como sustratos para enzimas intracelulares durante la activación plaquetaria, de igual modo, algunos fosfolípidos tienen propiedades agregantes con el factor activador de plaquetas (PAF) y procoagulante como el factor plaquetario 3 (PF3).³⁰

También las glicoproteínas están presentes en gran medida en la membrana plaquetaria, contiene cadenas ramificadas de polisacáridos, que forman una cubierta exterior o glicocálix, que le confiere una carga negativa a la superficie de la plaqueta. Por otro lado, en el interior plaquetario se encuentra el organelo y el citoesqueleto que mantiene la forma e integridad plaquetaria.²⁹

Las plaqueta en su contenido interior presentan: mitocondrias, un número escaso de ribosomas, pocos retículos endoplasmático rugoso, vesículas de Golgi y un número de gránulos, dentro de estos los alfa que constituyen la mayoría de estas estructuras, los que tienen presente en su contenido las quimiocinas, interleucina 1, interleucina 8, inmunoglobulinas, factores de la coagulación (V y VIII), inhibidores del activador de plasminógeno y P-selectina, factores de von Willerbrand y los factores de crecimientos.³¹

En relación a los factores de crecimiento Varela,³² describe los diferentes factores en el PRP, como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), estos factores promueven la angiogénesis a través de los macrófagos. González et al.,³³ hacen referencia al factor de crecimiento transformante β

(TGF- β) encargado de la quimiotaxis, síntesis de colágeno por los osteoblastos, proliferación y diferenciación de las células mesenquimales.

También el factor de crecimiento epidérmico (EGF) es descrito por Hernández et al.,³⁴ los que mencionan el efecto mitogénico, quimiotáctico en fibroblastos, células epiteliales, proosteoblastos y precondrocitos, asimismo destacan el factor de crecimiento fibroblástico (FCF) con la función de la estimulación y coordinación de la mitogénesis de células mesenquimales como los fibroblastos, los osteoblastos, condrocitos, células musculares lisas y mioblastos esqueléticos.³⁵

En este sentido Cuadros et al.,³⁶ señalan al factor de crecimiento insulina-like (IGF) en función de la proliferación y diferenciación de células mesenquimales y de revestimiento, así como describen al factor de crecimiento vascular endotelial (FCEV) los cuales inducen la quimiotaxis y proliferación de las células endoteliales, lo que provoca una hiperpermeabilidad de los vasos sanguíneos.

De este modo, se considera enfatizar la contribución de las plaquetas en función del restablecimiento y regeneración de los tejidos de forma general por las propiedades y factores de crecimiento contenidas en las plaquetas,³⁷ sin embargo, la calidad en su obtención depende de métodos que garanticen sus características en el producto final, por lo que se debe tener en cuenta procedimientos de obtención que avalen su seguridad y eficacia.

En este sentido, investigaciones en el área del PRP como lo es la biotecnología terapéutica, Fernández et al.,² reconocen la importancia del PRP como producto biológico autólogo en la angiogénesis y restauración en distintos tejidos músculo esqueléticos y órganos lesionados, que está en dependencia

en la muestra de sangre, centrifugación y separación de los componentes de la sangre.

Por lo que respecta a la precisión de lo qué es PRP, en la literatura consultada son diversas las definiciones. La AEMPS,⁵ define el PRP como un volumen de plasma autólogo que contiene una concentración de plaquetas superior al nivel basal (150.000-350.000/ μ L). A juicio de Fernández et al.,² refieren que el PRP es la fracción con concentraciones en plaquetas de tres a ocho veces superior al nivel normal y de acuerdo con Conde et al.,²⁵ lo caracteriza como una fracción de plasma obtenido de sangre autóloga que tiene una concentración de plaquetas superior a la del plasma en condiciones basales (150-400x10⁹/L) después de la centrifugación.

La autora coincide con lo referido en la literatura, y asume la definición de Fernández et al.,² los que plantean que el PRP es un volumen biológico autólogo que se deriva de la sangre y se obtiene después de la centrifugación, con niveles de concentraciones de plaquetas superiores al basal.

2.2.2. Nomenclatura y clasificación del plasma rico en plaquetas.

Dentro de las dos formulaciones diferenciadas se establecen el plasma rico en plaquetas con leucocitos y plasma rico en plaquetas sin leucocitos.³⁸ La autora coincide con Sharun et al.,³⁹ los que abordan la nomenclatura PRP en relación a las diferentes fracciones que se obtienen en función del método empleado en el preparado: plasma rico en factores de crecimiento (PRFC), plasma rico en plaquetas y factores de crecimiento (PRPFC), plasma rico en plaquetas (PRP), plasma pobre en plaquetas (PPP), plasma rico en plaquetas y rico en leucocitos (PRP- RL) y plasma rico en plaqueta y pobre en leucocitos (PRP- PL).

Con respecto a la clasificación Lana et al.,⁴⁰ describen la clasificación MARSPILL, que tienen en cuenta el método de preparación (M), el uso o la falta de un activador exógeno (A), la presencia o ausencia de eritrocitos (R), la velocidad de centrifugación (S), la concentración de plaquetas alcanzada con respecto a la concentración basal (P), la guía por imágenes para la correcta aplicación del PRP, cuando corresponda (I), la presencia o ausencia de leucocitos (L) y el uso de activación de luz (L).

Sharun et al.,³⁹ describen diferentes clasificaciones de las soluciones de PRP para su uso en medicina deportiva. En estas clasificaciones tienen en cuenta la concentración de plaquetas y de leucocitos junto con el uso de activación. De este modo, establecen cuatro tipos de PRP en dependencia de la presencia o ausencia de leucocitos y la activación o no de PRP.

En tal sentido Delong et al., citado por Sharun et al.,³⁹ clasifican las preparaciones respecto a la concentración basal de plaquetas, este concepto se abandonó porque la concentración depende del volumen de suero utilizado, también refieren el sistema de clasificación en el análisis de las preparaciones en grupos homogéneos en cuanto a su composición, clasificación PAW (acrónimo de plaquetas, activación y glóbulos blancos).

En consecuencia, Kon et al.,⁴¹ para clasificar la obtención del PRP, tienen en cuenta aspecto como el análisis celular y el protocolo de aplicación. Además, describen la codificación que representa un avance en la información sobre la composición del producto. De igual forma muestra las características del PRP en los estudios *in vitro*, en animales y en ensayos clínicos, destacan la complejidad de la clasificación de un producto biológico, e indica una

descripción en relación con el producto biológico empleado, obtención, composición y aplicación.

Por otra parte, Magalon et al.,⁴² plantean la clasificación DEPA (dosis de plaquetas inyectadas, eficiencia de producción, purificación de PRP, activación del PRP). Tienen en cuenta la dosis inyectada de plaquetas (en número absoluto), la eficiencia de producción porcentaje de plaquetas obtenidas de la sangre periférica), la pureza del PRP (composición relativa de plaquetas, leucocitos y glóbulos rojos), y la activación (cloruro cálcico vs trombina). Aportan a cada término una letra en función de la cuantificación del parámetro a determinar y obtienen una puntuación final.

En relación a la activación del PRP Chen et al.,⁴³ describen el conocimiento de la concentración y el cociente de concentración de plaquetas, la pureza del PRP, la concentración de leucocitos, si la activación del PRP es endógena o si el PRP se activa antes. En este sentido, es criterio de la autora la no activación del PRP ya que la activación plaquetaria es inducida debido a la exposición al colágeno dérmico y trombina una vez que se inyecta.

Se considera que la necesidad de activación exógena afecta la forma física del producto final y también influyen en los factores de crecimiento. Una de las principales cuestiones que intervienen el resultado de los procesos de elaboración PRP es la proporción relativa de plaquetas, leucocitos, glóbulos rojos y factores de crecimiento, cada uno de estos componentes juega un papel fundamental en el resultado final,⁴³ además las preparaciones PRP deben estandarizarse en cuanto al método de obtención para que el proceso de la toma de muestra, centrifugación y posterior separación certifique la calidad y seguridad del producto.

2.2.3. Técnica de obtención. Activación plaquetaria.

El procedimiento básico para la obtención del PRP se caracteriza por la extracción de sangre periférica, la centrifugación, la obtención de la fracción rica en plaquetas y la activación. Una vez centrifugada la sangre periférica se obtienen tres capas en función de la densidad celular, capa superficial de plasma, intermedia de leucocitos y profunda de glóbulos rojos. Se selecciona la capa superficial e intermedia según el material de preparación y se activa.⁴⁴

Los métodos de preparación se diferencian en la obtención de la fracción rica en técnica abierta y cerrada, la velocidad de centrifugación, la cantidad de sangre requerida, la presencia o ausencia de leucocitos y la activación plaquetaria. Existen más de 20 materiales comerciales diferentes que se caracterizan por velocidades de centrifugación y sistemas de activación específicos.⁵

En la técnica cerrada, se emplean materiales comerciales desechables que incorporan todo el material que se requiere para la producción del PRP. En este caso, la muestra en ningún momento tiene contacto con el exterior, por lo que no es necesario que las autoridades competentes emitan un certificado de las instalaciones y de los procedimientos efectuados, siempre y cuando se sigan las instrucciones del sistema comercial empleado.⁷

En la técnica abierta, la muestra sí tiene contacto con el exterior, el método empleado es evaluado por las autoridades competentes. Estas se avalan en instalaciones donde se desarrolle la actividad, se toma como referencia las normas de correcta fabricación de la Unión Europea, el procedimiento utilizado para la producción del PRP y los controles de calidad establecidos.⁷ La autora coincide con lo expuesto en la literatura consultada sobre la necesidad de

asumir los criterios técnicos de inspección que cumplen las instalaciones en las que se obtenga plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados mediante técnica abierta.

Por tanto, se considera que la introducción de la técnica abierta ambulatoria para la obtención del PRP autólogo con un procedimiento que asegure su aplicabilidad y eficacia, se puede realizar en diferentes escenarios clínicos sin la necesidad de instalaciones complejas, así como el uso de materiales costosos.

La técnica descrita por Villanova,³¹ se basa desde la extracción sanguínea, con la sangre recolectada en tubos con citrato dextrosa (ACD) o ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), de la misma manera refiere que los anticoagulantes más utilizados para las preparaciones de PRP son los basados en citrato, en los bancos de sangre el anticoagulante ácido cítrico dextrosa (ACD) es el más usado por su contenido en dextrosa y el citrato.

En este sentido, se considera que no se encontraron evidencias en la literatura consultada acerca de efectos negativos con el uso del citrato sódico, el mismo en el PRP controla los niveles de pH del medio y garantiza la viabilidad plaquetaria, sin embargo, el EDTA produce un aumento de volumen plaquetario medio después de la centrifugación, lo que es un indicador del cambio en la morfología de las plaquetas.

Como señala García,⁴⁵ en la sangre anticoagulada después de la centrifugación se forman tres capas determinadas: la capa inferior y superior compuesta por plasma, en relación a la fase plasmática presentan tres fracciones en función de la cantidad de plaquetas presentes, una fracción pobre en plaquetas, una concentración media de plaquetas y la fracción rica en

plaquetas. Así mismo, Croisé et al.,⁴⁶ hacen alusión que esta división de la fase plasmática no es detectable a simple vista por lo que se establece como 1/3 superior, inferior y medio del volumen obtenido.

En cuanto a la activación plaquetaria Gómez et al.,⁴⁷ comentan que se sustenta en la presencia de las plaquetas en el torrente circulatorio no activadas. Al recibir un estímulo físico, químico o combinación de ambos produce que las proteínas de membranas inicien su activación. La interacción con otros tejidos y con otras plaquetas tiene lugar gracias a su cambio morfológico producido por el citoesqueleto.

También tras desencadenarse la interacción de las proteínas e iniciarse la cascada de calcio Zaninetti et al.,²⁹ refieren que los gránulos alfa los gránulos densos y lisosomas se activan o degranulan, es decir, produce una fusión de los gránulos con la membrana, la exocitosis de su contenido y los factores de crecimiento liberados inician y modulan los procesos de reparación tisular.

Para la activación plaquetaria Theofilis et al.,⁴⁸ consideran que el uso del cloruro cálcico o la activación endógena de igual forma refiere el uso de trombina como activador, dado el riesgo de la producción de anticuerpos contra los factores de coagulación.

La autora, de acuerdo con lo referido en la literatura describen los factores que activan a las plaquetas incluyen la trombina, colágeno, fibronectina, epinefrina, fibronectina, adenosina difosfato o contacto con superficies cargadas en negativo, así mismo refieren que la aplicación de trombina de origen bovino produce respuestas autoinmunes cruzadas con creación de anticuerpos reactivos contra la trombina autóloga, protombina y factor V acelerando a la activación de las plaquetas.⁴⁹

2.2.4. Protocolos de obtención del plasma rico en plaquetas.

Existe una elevada variabilidad en los protocolos de centrifugación de PRP, algunos difieren en los tiempos de centrifugación, las velocidades, las temperaturas y los ciclos de centrifugación, parámetros que determinan el contenido celular de las soluciones. La concentración plaquetaria que se obtiene durante el proceso varía desde cinco a nueve veces la concentración en sangre periférica lo que supone un rango $>150-400 \times 10^9/L$. Los sistemas de preparación de PRP se dividen en soluciones de PRP de doble centrifugación o centrifugación simple.⁵⁰

En la relación centrifugación simple Machado et al.,⁵⁰ abordan objetivos de la separación de la fracción hemática del plasma y las plaquetas, reseñan que se realiza a una velocidad baja para separar los componentes sanguíneos en tres capas: capa superior de plasma, capa intermedia que contiene los leucocitos y capa inferior donde se encuentran las células rojas.

Caracterizan la doble centrifugación con hiperconcentración plaquetaria mediante dos centrifugaciones, la primera parte del proceso es idéntica a la centrifugación simple, una vez finalizada se realiza una segunda centrifugación a alta velocidad que tiene como objetivo separar las plaquetas del plasma con la fracción de PRP y PPP que se desecha.⁵⁰ Gómez et al.,⁴⁷ reseñan que las fuerzas de centrifugación muy elevadas activan las plaquetas, se desgranulan y los factores de crecimiento se liberan en el sobrenadante.

En el mismo sentido se hace referencia a cuál es el sistema de preparación ideal de PRP, ya que el aumento de la velocidad de rotación permite el aumento de concentración plaquetaria, sin embargo, este aumento no siempre asegura una alta concentración de factores de crecimiento en el producto

final.^{50, 47} De ahí que, se justifique el creciente interés en la protocolización del procedimiento de obtención del PRP para determinar los resultados biológicos más favorables.

Por otro lado, Conde²¹ describe que el tiempo, la velocidad y el número de veces que se centrifuga dependen del método que se usa, de este modo, los requisitos anteriores evitan la fragmentación de las plaquetas con la consiguiente liberación precoz de las proteínas secretadas, por ende, se recomiendan velocidades de centrifugación bajas.

Pérez et al.,⁵¹ refieren cuatro estudios comparativos en la obtención de PRP, lo que evidencia la existencia de varios protocolos por centrifugación simple que demuestran mejores resultados a bajas velocidades y por cortos periodos a 100 g / ocho minutos con el mínimo de plaquetas requerido para considerarse PRP.

De hecho, Valadez et al.,⁵² utilizaron tres protocolos para la obtención de PRP en el servicio de clínica del dolor, descritos en rpm: protocolo de 1 200 rpm con dos ciclos de centrifugación de ocho minutos cada uno; protocolo de 1 200 rpm durante un ciclo de centrifugación por 8 min y protocolo de 1 200 rpm un ciclo de centrifugado por 10 minutos. Estos autores encontraron que se obtuvo una ganancia del valor basal con el protocolo de 1 200 rpm, dos ciclos de centrifugación de 8 min cada uno.

Por otro lado, con respecto al rendimiento en el estudio se observó que con el protocolo uno (1 200 rpm con dos ciclos de centrifugación/ 8 min) se incrementó 255.2 ± 57.6 % respecto al valor basal. Con el protocolo dos (1 200 rpm durante un ciclo de centrifugado por 8 min) fue de 149.3 ± 24.6 ; y para el

protocolo tres (1 200 rpm un ciclo de centrifugado por 10 min), el rendimiento solo fue del $13.3 \pm 11.6 \%$.⁵²

Se considera que en los estudios analizados se llevaron a cabo dos métodos de una sola centrifugación, lo que mostró ser una técnica de obtención de plasma pobre en plaquetas (PPP), el método óptimo fue el de doble centrifugado, no obstante, no se sugiere su uso por la inseguridad de excesiva manipulación, con riesgo de contaminación del producto y activación de las plaquetas.

García,⁵³ describe cuatro protocolos de obtención del PRP según centrifugación descritos en rpm: el primero propuesto a 2 000 a 1 800 rpm / 8 min; el segundo a 600 rpm / 6 min; el tercero a 2 400 rpm durante 10 min, seguido de otro centrifugado del plasma aislado de 3 600 rpm 15 minutos. El mayor número de plaquetas contabilizado estuvo en el tercer protocolo donde utilizan un doble centrifugado, seguido por el primer protocolo de un simple centrifugado con posterioridad los demás de doble centrifugación.

En tal sentido, Fariña et al.,⁵⁴ realizaron la evaluación de cinco protocolos estándar para la obtención de PRP en caninos. Estos se guiaron por diferentes protocolos descritos rpm y la literatura internacional recomienda utilización de g fuerza centrífuga: el protocolo A: 3 000 rpm / 4 min la primera centrifugación y la segunda centrifugación a 3 000 rpm / 13 min. El protocolo B: 1 200 rpm / 8 min las dos centrifugaciones. El protocolo C: 1 000 rpm / 8 min solo una centrifugación. El protocolo D: 1 500 rpm / 10 min la primera centrifugación y a 2 000 rpm / 20 minutos la segunda centrifugación. El protocolo E: 2 000 rpm / 10 min las dos centrifugaciones.

En este sentido, el mayor número de plaquetas contabilizado se obtiene del protocolo C con una sola centrifugación, 496 200/ μl lo que representó un 63,3 %, seguido por el protocolo B 291 800/ μL , que logró un 3,9 % menos, luego el protocolo D, E y A con un conteo promedio de 19 400/ μL , 26400/uL y 17 000/ μL comparado con el conteo inicial.⁵⁴

En lo referente a la centrifugación la autora concuerda con lo referido en la literatura en relación directa con la fuerza de gravedad que reduce o aumenta la concentración de PRP, la fuerza de la centrifugación tiene influencia sobre las plaquetas, las destruyen o las favorecen y contribuye a la liberación temprana de los factores de crecimiento.^{37, 38,44}

Por lo tanto, el procedimiento de obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria con estandarización en cuanto a centrifugación y tiempo, a través del cumplimiento de las BPF, BPL y las garantías de calidad, seguridad y reproducibilidad hace que se obtenga un concentrado plaquetario apto para la asistencia médica en la atención primaria de salud.

La AEMPS publicó en mayo de 2013 un informe que establece un marco para el uso del PRP en España, las obligaciones de los fabricantes, así como consideraciones necesarias de la realización de la prueba de estabilidad, esterilidad y rastreabilidad del producto, además del seguimiento al paciente. Este mismo establece las garantías exigibles para la utilización de PRP en España y se cumplen por los facultativos prescriptores. Estas garantías son: calidad, eficacia, trazabilidad, farmacovigilancia e información.⁴

En el método de obtención PRP manual, se evalúa la calidad por parte de las autoridades competentes, desde la verificación de las instalaciones, las actividades de producción y de control de calidad, se toman como referencia lo

establecido en las normas de correcta fabricación de la Unión Europea.⁴ Según lo establecido por las regulaciones internacionales la autora reseña que las autoridades en España y la AEMPS establecen criterios de cumplimiento de las instalaciones en las que se obtiene plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados mediante técnica abierta.

La calidad de los concentrados plaquetarios en Cuba, se puede constatar que esta se encuentra avalada por un conjunto de normas y principios que garantizan la consistencia y reproducibilidad de los procesos que involucran, en el caso de los establecimientos de sangre, la obtención, procesamiento, control, almacenamiento, distribución y uso de los componentes sanguíneos, contribuye a minimizar los riesgos inherentes al uso de la sangre y sus derivados, mediante la aplicación de los principios de gestión de riesgos.¹²

El Cecmed en Cuba hace referencia sobre la regulación de requisitos de calidad aceptables y necesarios para la sangre humana y para los componentes elaborados a partir de ella, donde establece todos los procesos de producción y control para garantizar la calidad uniforme y satisfactoria de los productos, dentro de los límites internacionales aceptados y vigentes para cada uno de ellos.¹³

Se tienen en cuenta las directrices sobre las BPF con lineamientos y actividades relacionadas entre sí, destinadas a garantizar que los productos biológicos elaborados, tengan y mantengan la identidad, pureza, concentración, potencia e inocuidad requerida para su uso.¹²

En Cuba el órgano regulador el Cecmed, dispone de regulaciones que se encaminan a las BPF para productos biológicos en el nivel secundario de salud en unidades de medicina transfusional, banco de sangre e instituciones

avaladas para dicho proceder. Sin embargo, se considera que es limitada e insuficiente la bibliografía y normas donde se reseñen procedimientos de preparación en técnica abierta ambulatoria para nivel primario de salud en relación a la obtención de concentrados plaquetarios para la terapia celular.

A propósito, Kawase y Okuda,⁵⁵ asocian a la calidad del concentrado plaquetario (CP): el calibre de la aguja estrecho y largo pues activan a las plaquetas, el diámetro, la longitud, el material, la distancia de retardo entre el espacio de recogida de sangre y la centrífuga, centrifugación giro o ángulo del rotor, protocolo de centrifugación, cristalería, técnica de pipeteado, anticoagulante y la recogida de sangre.

Así mismo, Nicolae et al.,⁵⁶ hacen referencia sobre la obtención del PRP a diferentes parámetros biológicos de calidad que se evalúan para el análisis adecuado en las preparaciones de este como el volumen. Esto debe especificarse ya que se afecta la concentración y el factor de aumento de las plaquetas. Estos investigadores se refieren al aumento de la CP en el producto en comparación con la sangre periférica nativa, y agregan que influyen en la eficacia del PRP.

Se considera que en las elaboraciones de PRP se correlaciona el elevado aumento de las plaquetas con mayor eficacia del producto. Una concentración de plaquetas en PRP menor que en la sangre periférica es ineficaz. No obstante, las concentraciones de plaquetas altas es decir seis veces superior a la línea de base inducen un efecto inhibitor sobre los osteoblastos y procesos de curación.

En cuanto, al factor de aumento de leucocitos referido por Bennardo et al.,⁵⁷ abordan el concepto de PRP rico en leucocitos. (PRP-LR), los ensayos

sugieren que PRP-LR es eficaz para la cicatrización. Una revisión sistemática reciente⁴⁹ y un meta-análisis de los estudios sobre el tratamiento con indicaciones LR-PRP refieren que tienen más propiedades proinflamatorias que el PRP pobre en leucocitos PRP –LP.

La composición global y relativa del PRP se refiere a la caracterización de las preparaciones por su concentración de leucocitos y glóbulos rojos. Collins et al.,⁵⁸ reseñan como una de las preocupaciones en la calidad del PRP la recuperación de todas las plaquetas de la sangre. Este parámetro se refiere al porcentaje de leucocitos en el PRP de sangre total inicial. No se correlaciona con la eficacia clínica, pero indica el desempeño de la preparación de PRP.

El proceso de activación es necesario para la degranulación plaquetaria y la liberación de moléculas bioactivas,²⁰ en este sentido, se considera que antes de inyectar PRP en el tejido diana se agregan activadores plaquetarios exógenos. Además, la activación plaquetaria es inducida debido a la exposición al colágeno dérmico y trombina una vez que se inyecta, por lo que la activación exógena afecta la forma física del PRP final e interviene en los factores de crecimiento.

El Cecmed considera necesarios para la sangre y sus componentes en los bancos de sangres y de medicina transfusional que se obtengan, procesen, controlen, liberen, almacenen y distribuyan de acuerdo con los estándares de calidad exigibles. Los estándares de calidad para la obtención de componentes sanguíneos en bancos de sangre, centros de extracción y centros de plasmaféresis productiva para la obtención de plasma para la industria biofarmacéutica están puntualizados en la regulación de buenas prácticas para bancos de sangre.⁵⁹

De igual modo la regulación proporciona requisitos técnicos específicos sobre aspectos relacionados con el empleo de la sangre humana como los requisitos de selección de donantes de sangre, las especificaciones de calidad de la sangre y los componentes sanguíneos y su aplicación en la hemoterapia y medicina transfusional.⁵⁹

Se considera que el PRP para su elaboración requiere de requisitos y regulaciones necesarias para ofrecer un servicio de calidad, auditable en base a normas establecidas. La obtención del PRP depende de la calidad de sus propiedades y de la observancia en la obtención, el cumplimiento de las especificaciones o requisitos que indican la idoneidad de este.

2.2.5. Buenas prácticas de fabricación del plasma rico en plaquetas como producto biológico.

Las BPF, es la parte de garantía de la calidad que asegura que los hemoderivados se producen y se controlan con las normas de calidad, especificaciones predefinidas por la autorización de comercialización, para los establecimientos de sangre, describen el objetivo principal en la disminución de los riesgos inherentes a cualquier operación en un centro de procesamiento de sangre.^{60,61}

Las BPF en la unión europea abarcan tanto la producción como el control de la calidad, los requisitos básicos describen a todos los procesos de fabricación definidos por políticas, estándares, procedimientos operativos, experiencia y capacidad en la fabricación de productos con la calidad requerida que cumplan con sus especificaciones. Así como la cuantificación de equipos, reactivos, validación de procesos y los métodos que se realizan antes de su uso en la fabricación de productos destinado a transfusiones o fabricación posterior.⁶¹

Se considera que las BPF en la obtención de los productos biológicos seguros, es la garantía de la calidad; las regulaciones para la producción a nivel internacional según la norma europea amplían los principios de estas BP. Se evidencia la introducción en las normas regulatorias de los nuevos productos biológicos derivados de la terapia transgénica, la terapia celular somática y productos de plantas y animales transgénicos.

Haddock et al.,⁶² consideran que los productos de base celular deben prepararse en instalaciones autorizadas de acuerdo con los procedimientos operativos estándar basados en los conceptos de BPF. En este sentido Oeller, et al.,⁶³ valoran que la determinación de una estrategia específica para la creación de una instalación en BPF dependerá en gran medida del método de obtención apropiado y del tipo de producto celular.

De la misma manera abordan, que el principal punto de atención, es un lugar de obtención regional o un área de fabricación centralizada, lo que se decide en función de las necesidades de los pacientes, opciones de transporte y almacenamiento, costo y flexibilidad del producto. Además, las instalaciones de obtención clínica, necesitan de infraestructura para llevar a cabo las BPF, lo que garantizará la verificación, validación de productos y procesos, así como la simulación del flujo de trabajo.⁶³

Kawase et al.,⁶⁴ hacen referencia de algunos indicadores de evaluación para concentrados plaquetarios (CP) autólogo. Unos de los indicadores de calidad comienzan a partir de muestras de sangre completa autólogas de acuerdo con los procedimientos operativos estándar autorizados. No obstante, la seguridad de los CP autólogo está respaldada por factores que describe que no presentan peligro de alergia, hipersensibilidad o reacciones a cuerpos extraños,

así como preocupaciones sobre la transmisión de enfermedades infecciosas, células neoplásicas u otros factores desconocidos.

Los autores antes expuestos refieren que los CP independiente del origen, sus principales componentes celulares son las plaquetas con alta estabilidad, sujetas solo a un fraccionamiento y activación basados en la gravedad, y con manipulaciones mínimas.

Los resultados de Kawase et al,⁶⁴ recomiendan recuento de plaquetas en los CP preparados como un punto de control mínimo para garantizar la eficacia, al igual que los recuentos bacterianos. Asimismo consideran que la garantía de calidad de las preparaciones de CP clasifica por los tipos de protocolos de preparación con criterios al recuento y activación de plaquetas, así como, los factores de crecimiento almacenados en las plaquetas como principales factores de la capacidad regenerativa del PRP unido con los procesos de obtención en el laboratorio.

En este sentido el Cecmed en Cuba señala que la fabricación de los productos biológicos requiere consideraciones especiales con la naturaleza de dichos productos y de los procesos involucrados. Las regulaciones en el ámbito de las BPF hacen referencia a las buenas prácticas encaminadas a garantizar que estos sean desarrollados, producidos, controlados y distribuidos de acuerdo con estándares de calidad que permitan asegurarla.¹³

Como parte de la guía elaborada para las BPF, surgió el concepto de buenas prácticas de laboratorio (BPL). En un capítulo de la citada guía se establecen los elementos que aseguran que los resultados se mantengan con la confiabilidad en el laboratorio. Las BPL es un sistema de garantía de calidad, relativo al modo de organización de los estudios de seguridad no clínicos

referentes a la salud y al medio ambiente en materia de planificación, se ejecutan, se controlan, se registran, se archivan y se difunden.⁶⁵

La regulación D 03-21 de las buenas prácticas de laboratorio clínico, describe procedimientos e investigaciones para las actividades analíticas con el propósito de certificar los resultados basados en el criterio de calidad.⁶⁶ El laboratorio clínico es una entidad especializada que monitoriza la calidad de los procesos, resultados y se sustenta por la eficacia de sus servicios.^{67, 68}

Se considera que el laboratorio clínico juega un papel importante en la terapia con PRP en el aporte de la seguridad del protocolo, los medios de proceso y preparación de la muestra, así como la realización de pruebas para evaluar la calidad del mismo a lo largo del procedimiento de obtención.

Guevara et al,⁶⁵ describen la realización de los estudios en el laboratorio en relación a los concentrados plaquetarios que facilitan la disminución de errores ya que cuenta con controles de calidad tanto internos como externos. Se representa desde la correcta preparación del paciente, los cuidados para la toma de la muestra, el análisis y la validación de los resultados.

Suardíaz et al,⁶⁸ refiere la realización de estudios en la fase pre analítica (fase menos automatizada), con la participación de personal de la salud de diversas áreas, que, si no es consciente de los requisitos mínimos que deben tener las muestras, pueden influir en la toma de estas. Además, Guevara et al.,⁶⁵ y Pinto,⁶⁹ abordan sobre el aseguramiento de la calidad y competencia técnica en el laboratorio clínico basado en las normas técnicas de certificación que incluye desde la revisión de los resultados hasta su entrega.

Se considera que las BPL unidas con los requisitos de calidad en la obtención de los CP se sustentan en las fases pre analítica, analítica y post analítica, las

cuales presentan componentes importantes en los procesos operacionales realizados en los laboratorios clínicos. Se afirma que las BPL provistas de un procedimiento para la obtención de PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria garantiza el aseguramiento y la eficacia del producto obtenido como producto biológico.

2.2.6. Estabilidad para los productos biológicos.

Los estudios de estabilidad para los productos biológicos son fundamentales en el proceso de investigación y desarrollo previo a la obtención del producto a disposición de la población, para la determinación del tiempo durante el cual mantiene sus especificaciones de calidad. La norma cubana de dispositivos médicos in vitro para la evaluación de la estabilidad, exponen que el propósito de los estudios de estabilidad es proveer evidencia sobre la variación en la calidad de una sustancia o producto farmacéutico.⁷⁰

Dentro de las variables a medir en el estudio de estabilidad está la temperatura, humedad e iluminación. Entre los factores relacionados con el producto sobresalen las propiedades físico-químicas del principio activo, la forma farmacéutica, su composición para el establecimiento del período de validez de un producto y sus condiciones de almacenamiento.⁷¹

Se considera que los productos que están sometidos a evaluaciones de calidad, se les garanticen el perfil de estabilidad del producto sin cambios significativos, seguridad y eficacia en relación con el producto objeto que se comercialice. Estos estudios son consistentes y evaluables durante las etapas.

La evaluación del concentrado plaquetario en Cuba se realiza a nivel secundario de salud en bancos de sangre en las diferentes producciones como plasma aféresis y lisado plaquetario, Quesada et al,⁷² hacen referencia de la

estabilidad del PRP en sistema abierto a diferentes temperaturas y tiempo, donde señalan las pautas de procesamiento y almacenamiento con el fin de determinar la calidad del PRP autólogo y seguridad del procedimiento de obtención.

El Cecmed regulación M 116- 23,⁷³ sobre los estudios de estabilidad aborda la seguridad de los productos influenciada no sólo por sus propiedades intrínsecas sino por la estabilidad que presentan. Sobre estas premisas los fabricantes y la autoridad reguladora trabajan de manera mancomunada para que todo producto farmacéutico puesto a circular en el mercado disponga del estudio de estabilidad mediante el cual se establezca su periodo de validez.

De igual forma en la NC ISO 23640:2018 sobre la evaluación de la estabilidad de los reactivos para diagnóstico, se describe que es responsabilidad del fabricante, como parte del desarrollo de un producto farmacéutico, el diseño y la realización de estudios en la estabilidad que permitan la obtención de información segura y que demuestren la variación de la calidad con la formulación, envase determinado durante el tiempo y bajo la influencia de las condiciones de almacenamiento a que es sometido.⁷⁰

El Cecmed, en los requerimientos de los estudios de estabilidad para el registro de productos biológicos y biotecnológicos, describen distintos tipos de como: la estabilidad acelerada diseñada desde el incremento de la velocidad de degradación química y los cambios físicos de la sustancia mediante condiciones de almacenamiento extremas o exageradas con el propósito de monitorear las reacciones de degradación y predecir el periodo de validez bajo condiciones normales de almacenamiento.⁷³

También se representa el estudio en tiempo real a largo plazo que se refiere a las características físicas, químicas, microbiológicas y biofarmacéuticas de un producto durante el periodo de validez propuesto y en las condiciones de almacenamiento. Por otro lado, abordan estudios para aquellos productos que se diluyen o reconstituyen antes de su utilización.⁷¹

Dentro de los requerimientos aparecen el periodo de validez o vida útil donde se representa el periodo de tiempo durante el cual un medicamento, si se almacena en correcto estado, cumple con las especificaciones establecidas y se determina mediante el correspondiente estudio de estabilidad.^{74, 75}

Se considera que los objetivos de los estudios de estabilidad se basan en la determinación del periodo de validez provisional y condiciones de almacenamiento, para la confirmación del periodo de validez provisional, verificación de la estabilidad por cambios mayores en la formulación de envase. La norma técnica número 129 de la guía de estabilidad de productos farmacéuticos en Chile,⁷⁶ explican los tipos de estabilidad, en los que se encuentra la química basada en la degradación, pérdida de eficacia terapéutica, productos de degradación; alteración de propiedades mecánicas y aspecto de las formas de dosificación; la biofarmacéutica con cambios en la biodisponibilidad y la biológica con el desarrollo microbiano.

Se fundamenta lo antes expuesto en las condiciones de almacenamiento como la temperatura, humedad y protección de la luz. Su descripción e interpretación recomendadas, de acuerdo a la definición de la Organización Mundial de la Salud (OMS), está implícita la temperatura rotulada con la interpretación recomendada en -5 a -20 °C en congelación, por debajo de - 18 °C congelación extrema.⁷¹

Está implícita la refrigeración de 2 a 8 °C, la no-congelación por debajo de 8 °C. El aire acondicionado por debajo de 25 °C, no almacenar por encima de 30 °C. También la humedad rotulada con interpretación recomendada desde no más de 60 % de humedad relativa. Además, se rotula la recomendación de protección de la luz en envase resistente.^{71, 74}

La autora considera que los estudios de estabilidad para los productos biológicos como el PRP autólogo, brindan bioseguridad en el proceso de obtención y validación del producto, con información veraz y segura de las características de este.

2.2.7. Estudio de costos y factibilidad económica.

El estudio de costos y factibilidad económica es una tarea que suele estar organizada y realizada por los investigadores. Estos consumen entre un 5 % y un 10 % del costo estimado total del proyecto, y el período de elaboración del mismo varía en dependencia del tamaño y tipo de sistema a desarrollar. La preparación de proyectos permite establecer los estudios de viabilidad técnica, económica, financiera, social, ambiental.⁷⁷

De igual manera comprende el análisis técnico - económico de las alternativas de inversión que dan solución al problema planteado. La factibilidad indica la competencia y desempeño en los métodos, procedimientos y funciones requeridas para el desarrollo e implantación del proyecto. Además, indica la disposición del equipo y herramientas para llevarlo a cabo, con la posibilidad de generarlos o crearlos en el tiempo requerido por el proyecto.⁷⁷

Por otro lado, un estudio de costo permite con los procedimientos técnicos, administrativos y contables determinar el costo de sus operaciones en sus diversas fases, sectores, departamentos, actividades de manera de utilizarlo

para fines de información contable; control de gestión y base para la toma de decisiones.⁷⁸

Machado et al.,⁷⁷ abordan que más allá de calcular la rentabilidad del estudio, se sustenta la viabilidad en los diferentes ámbitos que se detallan con anterioridad, se basa en información existente. Se efectúa un bosquejo investigativo y confiable en el aspecto financiero, solo se presentan estimaciones globales de las inversiones, ingresos, costos y gastos.

En este sentido la autora señala que para los estudios de la prefactibilidad la clasificación, análisis, acumulación, control y asignación de los costos a los procesos y actividades se llevan a cabo en salud y refiere que no se trata solo de la determinación de cuánto cuesta algo, sino de una comprensión de los factores que generan costos como son el de calidad, el ciclo de vida de los productos. El análisis de costo es la base para la toma de decisiones en la obtención, aplicación y generalización de la investigación.⁷⁸

Machado et al.,⁷⁷ presentan al costo de la producción como uno de los indicadores cualitativos de la investigación. Al no estar contemplado este indicador en los parámetros de la economía planificada su importancia no se reduce, en primer lugar expresa de forma considerable los resultados de toda la actividad productiva y económica del servicio, en segundo lugar, forma la base del precio de cualquier tipo de mercancía, en tercer lugar, sirve de elementos fundamental que determina la magnitud de la ganancia y el nivel de la rentabilidad de la producción. En la evaluación de este indicador la autora considera que es determinante el estudio de factibilidad y la estimación del costo en toda la investigación.

Los costos en la investigación permiten la comparación de los resultados obtenidos en distintos períodos y facilita el uso racional y óptimo de los recursos productivos, de una forma planificada y encaminada a garantizar la reproducción ampliada ,condicionada por la necesidad de dar cumplimiento a la ley económica fundamental que expresa: el aseguramiento del completo bienestar y libre desarrollo universal de todos los miembros de la sociedad por la vía del crecimiento y perfeccionamiento constante de la producción social.⁷⁹

Se coincide con la literatura en lo referente a los recursos empleados en las investigaciones de Cardoso et al.,⁸⁰ que hacen referencia a la cuantía a invertir y su financiamiento, así como, analiza los principales indicadores de rentabilidad y la importancia que representa en cuanto a su impacto social.

Los estudios de costos son importantes porque permiten evaluar la viabilidad económica, obtener valores cuantitativos de los costos en que se incurre, determinar el comportamiento de los mismos, clasificarlos, proyectar vías de minimización para la implementación de un procedimiento en un centro determinado, con ello la ampliación de la cobertura en el servicio de la población.

2.2.8. Conclusiones del capítulo

- Al valorar los fundamentos teóricos de la investigación en la obtención del PRP autólogo, se evidenció la importancia de la proporción relativa de los CP en el resultado final, y se define la estandarización de un método de obtención que certifique la calidad y seguridad del producto.
- En el análisis de los diferentes protocolos de obtención de PRP se demuestra la necesidad de un procedimiento para la determinación de la

seguridad y eficiencia en los laboratorios clínicos en la atención primaria de salud.

- Los estudios de estabilidad para los productos biológicos se especifican con la validación del proceso que garantiza la implementación y reproducibilidad.
- La evaluación de los costos validan la implementación del procedimiento y su sustentabilidad, así como la eficiencia y factibilidad de las investigaciones.

2.3. CAPÍTULO II. Elaboración del procedimiento de obtención del plasma rico en plaquetas autólogo en técnica abierta ambulatoria

En este capítulo se diseña el procedimiento para la obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria en el Cenipbi, de la Universidad de Ciencias Médicas.

2.3.1. Objetivos del capítulo

Objetivos general

Elaborar el procedimiento de obtención del plasma rico en plaquetas autólogo en técnica abierta ambulatoria.

Objetivo específico

1. Demostrar la factibilidad del PRP autólogo en el procedimiento de obtención.

Diversos protocolos de obtención del PRP se describen a partir de sangre del propio paciente con anticoagulante, en el cual se procesan de manera usual como máximo una hora antes de ser administrados, los pasos más comunes es la centrifugación inicial de la sangre, cuyo objetivo es obtener diferentes fracciones.²⁶

Por otra parte, para la preparación de PRP mediante dispositivos médicos, se caracteriza por la categoría de riesgo, debido a la heterogeneidad de las instrucciones de fabricación, operación y montaje, por lo tanto, requieren de aprobación y vías regulatorias para su utilización.^{81,82}

En resultados preliminares en la preparación del PRP Anitua,¹⁸ describe los pasos de (velocidad y tiempo) según lo propuesto por las normas del proveedor, refiere que toda la manipulación de los dispositivos se realiza según

los protocolos de operación aséptica de cada centro de trabajo, para minimizar las posibilidades de contaminar las fracciones de plasma, de la misma forma sugiere la utilidad de una cabina de flujo laminar, por la disminución del riesgo de contaminación microbiológica.

De este modo, el PRP se obtiene de forma manual mediante técnica abierta o cerrada, en el caso de la obtención por técnica cerrada, el método debe seguir las instrucciones descritas en cada sistema comercial, citar como ejemplos los sistemas de extracción de plaquetas GPS III[®], de BIOMET[®], y de BTI[®], aunque con pequeñas variaciones los pasos son los siguientes: extraer la sangre del paciente y disponerla en tubos aptos para una centrifugación; la sangre se centrifuga sin refrigeración.^{6,9}

La técnica abierta descrita por Anitua,¹⁸ parte de menores volúmenes de sangre y un equipamiento sencillo, con una pipeta de 500 μ L, el tubo se divide en tres fracciones la más cerca de la línea leucocitaria es la fracción del plasma rico en factor de crecimiento se aspira la fracción con cuidado, cada fracción se traslada a tubos estériles y etiquetado, el proceso se repite con todos los tubos procedentes de la centrifugación.

Por consiguiente, el proceso final contiene un plasma con una concentración de plaquetas similar a sangre periférica, una fracción de plasma rico en factor de crecimiento y el resto plasma pobre con factor de crecimiento.¹⁸

El uso de los preparados de PRP, varían en su eficacia clínica y depende de variables como: concentración de plaquetas, técnica de elaboración de PRP, manejo de las muestras y aplicación práctica.¹⁹ Existen múltiples sistemas comercializados para obtener PRP, basado en dos procedimientos físicos: aféresis o filtración y separación gravitacional o centrifugación, en tal sentido

los dispositivos existentes en el mercado también pueden clasificarse en semiautomáticos, o en totalidad automáticos, en función de si todo el proceso puede ser realizado o no por la máquina.⁸³

Uno de los problemas asociados a cualquier procedimiento de separación es prevenir la lisis plaquetaria esto podría conllevar a la liberación temprana de los factores de crecimiento y citoquinas por lo que compromete la actividad biológica del PRP. Los diferentes métodos de obtención del PRP se valora por su capacidad de enriquecimiento plaquetario, como la proporción de plaquetas concentradas en el preparado respecto a su concentración en sangre periférica.⁸⁴

Dentro de los estándares de calidad del PRP se considera cómo se obtienen los componentes sanguíneos, el procesamiento, los equipos empleados, la capacitación del personal involucrado y el almacenamiento de los productos, para garantizar confiabilidad del producto biológico que se elabora.⁸⁵

Las plaquetas autólogas, por tratarse de un producto del propio paciente, no tienen efectos secundarios, reacciones inmunoalérgicas, ni transmisión de enfermedades. La extracción de sangre es proporcional a la cantidad necesaria de plasma rico en plaquetas, no se afecta la volemia del paciente. La toma de muestra y la obtención del producto final depende de la práctica y experiencia del personal que realice el procedimiento.⁶

La realización de todo el procedimiento en el laboratorio implica un conjunto de medidas encaminadas a lograr una adecuada confiabilidad de los resultados,⁶ asimismo la garantía de calidad del producto establece el control y especificaciones del proceso.¹³

Se analiza que todo el procedimiento para la elaboración del PRP debe estar descrito de manera detallada, para garantizar el cumplimiento de los estándares de calidad del producto, así como, permite utilizar sus funciones como una herramienta de control para el desempeño normativo del proceso de fabricación.

El análisis de los costos permite medir el comportamiento de los gastos de una producción o realización de un servicio determinado, mediante el análisis de las series históricas y el aprovechamiento de las capacidades productivas. La obtención del PRP es un proceso eficiente que no se limita a fabricar un producto o generar un servicio.

2.3.2. Diseño del estudio

Se realizó un estudio cuasi experimental para un grupo de sujetos sanos de la Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey en el período de enero de 2020 a diciembre de 2022.

La población objeto de estudio se constituyó por 156 sujetos que participaron por voluntad a la convocatoria de la investigación, que cumplieron el criterio de inclusión de sujetos sanos de 19 años y más con rango normal de plaqueta.

2.3.3. Operacionalización de las variables

Variables	Tipo	Escala	Descripción	Indicador
Conteo inicial de plaquetas	Cuantitativa continua	(150-450 x 10 ⁹ /L)	Valores que se corresponda con los parámetros normales	Media y Desviación Estándar

Concentración de PRP	Cuantitativa continua	> (150-450 x 10 ⁹ /L)	Valores que se correspondan tres veces por encima del valor basal	Media y Desviación Estándar
Gastos directos	Cuantitativa continua	\$ CUP	La suma de los costos de la categoría recursos materiales y gastos en salarios	Total de la suma
Gastos indirectos	Cuantitativa continua	\$ CUP	La suma de los costos de materiales y recursos que se utilizan de forma indirecta en la producción.	Total de la suma

Consideraciones éticas: se cumplieron los principios estipulados en el Código de Nuremberg (1947) y la Declaración de Helsinki (1964, 1975, 1983, 1989,1996, 2000, 2002, 2004, 2008 y 2013).⁸⁶ Su contenido en distintas versiones hasta la fecha actual abarca las recomendaciones a los médicos en la Investigación Biomédica en seres humanos y al cumplir con los principios de

la ética médica, el protocolo fue aprobado por los Comités Científico y de Ética de la investigación del Centro de Inmunología y Productos Biológicos y de la Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey.

A todos los sujetos se les solicitó un consentimiento informado (anexo 1), después de explicársele las características del estudio, así como se les comunicó la posibilidad de retirarse del estudio en cualquier momento que lo consideraran oportuno sin consecuencias.

Cada sujeto recibió la información adecuada sobre los objetivos, métodos, fuentes de financiamiento, posible conflictos de intereses, afiliaciones institucionales del investigador, beneficios calculados. Se les explicó en detalles el procedimiento y el mecanismo establecido en la investigación para formar parte de esta.

Se garantizó en todo momento la integridad de los sujetos y la confidencialidad de la información, pues no se dieron a conocer datos personales involucrados en el estudio. Estos datos fueron de uso exclusivo del equipo de investigadores.

Técnicas y procedimientos de obtención de la información

Se realiza la modificación de la técnica de obtención de Anitua,¹⁸ se aplica el protocolo de una centrifugación, se establece una comparación en diferentes fuerzas y tiempo, para determinar el procedimiento con mejores resultados en relación al porcentaje de CP al inicio y final del proceso. Se incluyeron fuerza centrífuga de 160 g, 500 g, 726 g, 950 g y en tiempos de 6 y 10 min para todas las velocidades.

2.3.4. Métodos

Procedimiento de obtención del PRP autólogo

Un procedimiento es un método para estructurar de manera ordenadas acciones. Según la ISO 15189,⁸⁷ se define como un procedimiento normalizado operacional a un conjunto de instrucciones enfocados a la seguridad y calidad, incluyen instrucciones paso a paso de las técnicas utilizadas para completar las tareas de manera segura y desarrollar acciones, para cumplir con un objetivo a través del cual se llevan a cabo ciertas funciones determinadas que forman parte de un mismo proceso.

Teniendo en cuenta lo referido se sigue durante toda la investigación la utilización del término: procedimiento para la obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria.

El procedimiento para la obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria, implica diferentes pasos (anexo 2).

Toma de la muestra

Se realiza una toma de muestra de sangre periférica para la medición de concentración de plaquetas.¹¹ El número de plaquetas se mide en sangre total anticoagulada. Se utilizan como anticoagulantes: sal disódica, dipotásica o tripotásica del ácido etilendiamino tetraacético (EDTA) a una concentración de 1,5 mg/mL de sangre.⁸⁸

El conteo se realiza con una cámara contadora de células con rayado de Neubauer modificado en un microscopio, previa dilución de la sangre 1/100 en oxalato de amonio al 1 %. Se llena la cámara y después de un tiempo en reposo, se realiza el recuento de las células en los cuadrados centrales de

ambos lados de la cámara. El número total de células contadas se divide entre dos y el resultado es el número de plaquetas multiplicado por $10^9/L$.⁸⁸

Procesamiento de la muestra:

En el procesado de la sangre para obtener PRP mediante la técnica abierta se debe evitar la contaminación del producto durante su manipulación, por estar expuesto al ambiente de la zona de trabajo y entrar en contacto con diferentes materiales necesario para la obtención como son: pipetas o tubos de recogida del producto. Así mismo, a fin de evitar una contaminación cruzada en el proceso de las muestras se debe seguir la premisa de una única muestra en el mismo espacio y tiempo.

Existen diferentes métodos que garantizan que el producto se obtenga con la asepsia requerida, disponibles para instituciones y niveles avalados para dichos proceder, el procedimiento que se describe proporciona una método para obtener un producto con las especificidades según los requerimientos de BPL, se realiza fuera de la cabina de seguridad donde se cumplieron con las medidas de bioseguridad y así se garantizó la reproducibilidad del procedimiento al nivel primario de salud, ya que disponer de estos recursos requieren de equipamiento sofisticados y cotosos.

Después de depositada la sangre por las paredes del tubo de centrifuga graduado hasta 10mL (para evitar hemólisis o formación de espuma) se procede a la centrifugación.

Separación del PRP autólogo:

1. Coloque los tubos de centrifuga graduados con sangre dentro de la centrifuga, calibrados uno frente al otro.

2. Tape la centrifuga y proceda a la centrifugación 726 g (1 800 rpm) ⁸⁹ por 10 min.
3. Retire los tubos de la centrifuga con cuidado de no mezclar el paquete de glóbulos con el plasma.
4. Separación del plasma pobre en plaquetas (PPP) y del PRP.
5. Identifica con un marcador los tubos de ensayo de 12x75 mm, uno con PRP y el otro con PPP.
6. Coloca el pipeto en la pipeta Pasteur.
7. Destapa los tubos de centrifuga graduados.
8. Extrae la primera porción del plasma que corresponde al PPP con un aproximado de 2-3 mL.
9. Tapa el tubo de centrifuga graduado con la muestra.
10. Deposita lo extraído en el tubo de ensayo de 12x75 mm identificado como PPP.
11. Tapa el tubo de ensayo de 12x75 mm con el PPP extraído.
12. Extrae el plasma restante (más próximo a la capa de leucocitos) que corresponde al PRP con un aproximado de 2-3 mL. Deposita en el tubo de ensayo de 12x75 mm identificado como PRP.
13. Tapa el tubo de ensayo de 12x75 mm con el PRP extraído. Así queda de esa forma aislado el PRP (plasma autólogo con concentración $>150-450 \times 10^9/L$).

Factibilidad de obtención del PRP autólogo

Factibilidad se refiere a la disponibilidad de los recursos necesarios para llevar a cabo los objetivos o metas señaladas, se toma en cuenta los recursos con los que se cuenta para su realización, así como dispone de los conocimientos y

habilidades en el manejo de métodos, procedimientos y funciones requeridas para el desarrollo e implantación del proyecto, también incluyen análisis de costos y beneficios asociados con cada alternativa de la investigación.⁸⁰

Por consiguiente, los gastos directos en la investigación intervienen de forma directa en la actividad y están constituidos por los gastos del personal y suministros, en el caso de gastos del personal se encuentran involucrado técnicos, tecnólogos y profesionales, mediante el cual el costo corresponde al valor de la fracción o cantidad empleada en la prestación que incluyen cargo, contratación, el tiempo dedicado a la actividad y la remuneración.⁹⁰

Los suministros comprenden:

1. Pipetas Pasteur de vidrio.
2. Bomba de pipeta de laboratorio.
3. Tubos de ensayo 12x75 mm.
4. Lápiz cristalográfico.
5. Pipeta serológica.
6. Citrato de sodio 1,29 mol/l.
7. Solución salina 0,9 %.
8. Ligadura de látex.
9. Torundas de algodón.
10. Alcohol isopropílico.
11. Guantes de procedimiento.
12. Tubos d/centrifuga 25 ml.
13. Jeringuilla aguja múltiple vacutainer 21 G.

14. Hipoclorito 0,5 %.

Los costos indirectos contribuyen de forma indirecta al logro de la producción entre los cuales se encuentran los equipos, el agua, la electricidad y otros recursos. Se debe tener en cuenta la depreciación, por su significado en la distribución sistemática del importe depreciable de un activo a lo largo de su vida útil.^{91, 92}

Dentro de los costos indirectos en la investigación se presenta la depreciación de la autocable y microscopio olympus, ambos equipos con entrada en el año (1985 precio \$485,00 CUP con código 16860 y 2006 precio \$866,33 CUP con código 29886), el método escogido es de línea recta (anexo 3), en este se dividió el precio de compra del equipo entre el tiempo estimado de vida, lo que disminuyen el valor por el uso, al paso del tiempo o a la obsolescencia.

Estos equipos son activos de manera total depreciados, pero aún se encuentra en uso, por lo que se reconoce el estado de uso por razones de materialidad y costo-beneficio, por consiguiente, debe argumentarse este hecho según la norma cubana de contabilidad № 7 activos fijos tangibles armonizada en la norma internacional NIC 16 en el párrafo 79(b).^{91,92}

Por otro lado, en relación a la centrifuga Kubota con entrada en el año 2018 precio \$7686,67 CUP con código 18017, presenta una depreciación anual del 15 % con un valor de \$115, 30 CUP, por consiguiente, la estimación de su uso diario es de \$ 0, 31 CUP, (anexo 3).

Para la estimación del costo se realizó el procesamiento de la muestra en un día de trabajo por hora del salario del profesional multiplicado por el tiempo consumido en minutos.

La investigación utilizó los precios referentes a los recursos materiales a través de la lista de precios del organismo del Ministerio de Salud Pública (Minsap), mediante la empresa de suministros médicos de Camagüey para la medición del costo en la obtención del PRP autólogo (anexo 4).

Técnicas de análisis y procesamiento

Estadísticos:

Se empleó la prueba *t de Student* para muestras pareadas donde se comparó la media para la obtención de la probabilidad asociada menor de 0,05 con confiabilidad del 95 %.

Los análisis estadísticos se realizaron en SPSS v 26.0 (*del inglés Statistical Package for the Social Sciences, Inc., Chicago, EE.UU.*).

Matemáticos:

La fórmula de cálculo del costo

Costos directos = gastos de materiales + gasto en salario

Costo total = costos directos + costos indirectos

2.3.5. Resultados y discusión

2.3.5.1. Procedimiento de obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria.

La concentración inicial y final según fuerza centrífuga y tiempo del CP en el procedimiento de obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria se muestra en la tabla 1, se observa mayor concentración de plaquetas con una media de 610,7 y 603, 7 x 10⁹/L a los 10 y 6 min a 726 g, se obtienen concentraciones finales de plaquetas mayores que el recuento de plaquetas de la muestra de sangre inicial y se evidencia la velocidad y tiempo con mejores resultados en la investigación.

Tabla 1 Media y desviación estándar de la fuerza centrífuga relativa por minutos del procedimiento de obtención del plasma rico en plaquetas autólogo acorde al recuento plaquetario.

Fuerza centrífuga	Rec. inicial		6 min		10 min	
	\bar{x}	DE	\bar{x}	DE	\bar{x}	DE
160 g	293,8	58,5	534, 5	85,5	550, 8	74, 6
500 g	276, 7	75,1	481, 2	85,4	527,9	82,4
726 g	385, 7	59, 6	603, 7	53,6	610,7	48,9
950 g	284, 9	68,9	487, 8	85,9	411,3	62,5

* Los recuentos se expresan como número (150-450 x 10⁹/L) en cámara contadora con rayado de *Neubauer*

Estos resultados se corresponden con lo descrito por Fariña et al.,⁵⁴ en la evaluación de cinco protocolos para la obtención de PRP en caninos, en diferentes centrifugaciones y minutos la concentración final de las plaquetas fue mayor que el recuento de plaquetas de la muestra de sangre inicial. Gomri et al.,⁹³ resaltan que la preparación de una sola centrifugación separa las capas de plasma y aumenta la producción de plaquetas, también la estimación del rendimiento de plaquetas es factible a partir de un recuento de plaquetas de referencia para los métodos.

La autora coincide con lo referido por Gomri et al,⁹³ hacen referencia que la centrifugación y recuento plaquetario como unos de los factores claves para estandarizar los estudios de elaboración de PRP. Además la velocidad y el

tiempo, son parámetros importantes que influyen en el rendimiento de plaquetas por concepto de tiempo.⁹³ Se constata que con el procedimiento de obtención del PRP autólogo se logran fracciones del plasma con una CP superior a la basal tras una centrifugación, coinciden con Mota et al.,⁹⁴ que describen un promedio de plaquetas $694,2 \times 10^9$ / L tres veces por encima del valor al conteo inicial.

Miguel et al.,⁹⁵ en la evaluación de un protocolo estandarizado para obtener plasma rico en factores de crecimiento, alcanzan CP superiores a la centrifugación basal en diferentes velocidades sin diferencias estadísticas entre ellos. En correspondencia en el protocolo para obtener PRP con centrifugación 280 g / 15 min Akhundov et al.,²⁶ logran muestras con una correcta separación de los componentes sanguíneos y CP superiores a la línea base, además refieren que el volumen obtenido depende de la concentración con un volumen de 2 a 4 mL.

De acuerdo con lo descrito por Anitua,¹⁸ se recomienda que los CP contenga una concentración que oscile entre 550.000 a 1.000.000 plaquetas/ μ l, destacan que una concentración de 300.000 plaquetas/ μ l sería suficiente para producir un efecto terapéutico óptimo, en la investigación con las diferentes centrifugaciones y tiempo a 726 g a los 10 min se alcanza mejores resultados en el aumento de CP al final del proceder y garantiza una fuente segura de CP en la preparación.

Los resultados obtenidos en relación al recuento plaquetario después de la centrifugación coinciden con Bauset et al.,⁹⁶ a partir de la obtención de 2,0 mL de PRP con concentraciones de plaquetas de 3,47 veces superior al valor inicial después de la centrifugación de 8,5 mL de sangre total, hacen referencia

a la centrifugación de 130 g o 250 g durante 15 min para dos centrifugados la cual fue óptima para el procedimiento de dos centrifugaciones.

Claudio et al.,⁹⁷ en la obtención de PRP en el laboratorio de terapia celular para uso como herramienta terapéutica en medicina regenerativa, las muestras fueron sometidas a dos centrifugaciones a diferentes velocidades, el resultado reveló que el procedimiento aumentó $6,4 \pm 1.1$ veces la CP comparado a la concentración en sangre periférica. Valadez et al.,⁵² en el método óptimo para la obtención del PRP utilizaron tres protocolos con diferentes ciclos de centrifugación, se observó que la doble centrifugación presentó un incremento respecto al valor basal.

Al margen de los resultados mostrados la autora refiere que el procedimiento de obtención del PRP autólogo con centrifugación a 726 g durante 10 min se representa un aumento del CP final después de la centrifugación, además la simple centrifugación de la sangre total con un régimen de revoluciones permite capas en la que se pueden distinguir tres niveles, de este modo, se consigue un máximo rendimiento en la obtención y recuperación de CP. He et al.,⁹⁸ analizaron dos pasos de centrifugación con influencia de la aceleración centrífuga, se caracterizó con integridad y viabilidad plaquetaria en diferentes tiempos y centrifugaciones.

Por otro lado, Malavolta et al.,⁸³ en el método para la obtención de PRP mediante centrifugación y aféresis, obtienen un aproximado de 30 mL de PRP. Estos resultados no se constataron en la investigación por la diferencia en el método de obtención. La autora reconoce que la aféresis, aunque genera concentraciones más altas de plaquetas en comparación con la centrifugación, tiene una alta repetibilidad con un menor riesgo de contaminación, es costosa y

poco práctica para entornos clínicos ambulatorias, ya que requiere de equipo especializado que dificulta la reproducibilidad de la técnica.

Muthu et al.,⁹⁹ en la estandarización y validación de un protocolo convencional de preparación de plasma rico en plaquetas encontraron que el PRP producido con un aumento en el tiempo de centrifugación resultó en una liberación representativa mayor de FC. Por otro lado, Apakupakul et al.,¹⁰⁰ reseñan los métodos convencionales que utilizan la preparación de PRP con doble centrifugación aumentan el riesgo de contaminación bacteriana ambiental, durante la transferencia del producto entre los tubos en el primer paso de la preparación.

Al respecto la autora opina que el PRP autólogo cuando se obtiene con una sola centrifugación, este proceso elimina el paso de transferencia de varios tubos; por lo tanto, el riesgo de contaminación bacteriana se reduce, también señala que el objetivo de todo el proceso es la obtención del producto con asepsia para garantizar su seguridad y alcanzar un volumen de CP sin la rotura de estas, ya que cualquier alteración en la centrifugación puede producir daños estructurales en las células sanguíneas.

En el recuento de CP en el estudio se corresponde con los resultados descrito por Kivrak y Ulusoy,¹⁰¹ que hacen referencia a muestras con centrifugación a 1800 rpm en 8 min a temperatura ambiente, que mostraron un recuento de plaquetas de 2,5 veces mayor que el número de plaquetas en la sangre periférica, recuentos por encima de 3 00.000 plaquetas/ μ L. La autora considera que el procedimiento de obtención del PRP en técnica abierta ambulatoria con los requerimientos de BPL, BPF y bioseguridad refleja su validez con el método

de centrifugación simple para la práctica clínica, con una calidad comparable a los materiales comerciales disponibles.

2.3.5.2. Análisis de la factibilidad del procedimiento de obtención plasma rico en plaquetas autólogo en técnica abierta ambulatoria.

El análisis de la factibilidad en la investigación se refiere a la disponibilidad de los recursos y las posibilidades para llevar a cabo los objetivos a partir de la evaluación de sus aspectos técnicos y económicos.

En este sentido, se muestra el establecimiento del gasto unitario de los procesos directos en la obtención del PRP autólogo mediante la técnica abierta ambulatoria con un gasto total de \$ 691,75 CUP, incluyen la categoría recursos humanos y recursos materiales en la (tabla 2).

Tabla 2 Costo unitario de los procesos directos.

Costos directos	Unidad	Cantidad	Precio	Importe
Lápiz cristalográfico	U	1	\$0,68	\$0,68
Pipeta serológica	U	1	\$0,30	\$0,30
Citrato de sodio 1,29mol/L	mL	1	\$0,54	\$0,54
Cloruro de sodio al 0.9%.	Bolsas	1	\$1,68	\$1,68
Ligadura de látex	mL	1	\$1,00	\$1,00
Torundas de algodón	1	1	\$0,05	\$0,10
Alcohol isopropílico,	1	4	\$0,09	\$0,18
Guantes de procedimiento	par	2	\$68,80	\$137,60
Tubos d/centrifuga 25 mL	par	2	\$136,00	\$272,00
Jeringuilla aguja múltiple vacutainer 21G	U	2	\$2,52	\$5,04

Pipetas Pasteur de vidrio	U	2	\$0,24	\$0,48
Lámina porta objeto 25 X 76	U	2	1,14	\$2,28
Gradilla plástica. p/ tubo de ensayos	U	1	\$1.56	\$1.56
Bomba de pipeta de laboratorio	U	1	\$3,14	\$3,14
Tubos de ensayo 12x75mm	U	2	\$21,96	\$43,92
Recursos humanos	HORAS	1 días	\$221,25	\$221,25
Costo total		Por paciente		\$691,75

Los costos unitarios de los procesos indirectos para la obtención del PRP autólogo se comportó con un gasto total de \$ 22,63 CUP, se tuvo en cuenta la depreciación de diferentes equipos y recursos materiales utilizados para la ejecución (tabla 3).

Tabla 3 Costos unitario de los procesos indirectos.

Costos indirectos	Unidad	Cantidad	Precio	Importe
Agua por hora en el laboratorio	Lt	4 hora	\$7,42	\$7,42
Electricidad	KW	KW/día	\$1,38	\$1,38
kw /hora por centrifugación	KW/H	220 KW	\$3,00	\$6.60
Centrifuga Kubota	15 % a \$768,66 Anual	24 Hora	\$115,30	\$0,31
Lápiz con gomas	U	1	\$ 5,00	\$ 5,00
Libretas de nota	U	1	\$ 1,92	\$ 1,92

Costo total	\$ 22,63
-------------	----------

Lo expuesto en la (tabla 2 y 3) permitió corroborar similares resultados Leite y Renaud,¹⁰² en un estudio en Brasil sobre el costo de la producción del gel de plasma rico en plaquetas autólogo, donde abordan la evaluación de costos de la producción en las categorías: recursos materiales, recursos humanos y centrifugación con un costo de obtención de US \$ 29,31. Por otro lado, señalan que los materiales para la preparación del PRP en sistema cerrado con la centrifuga y el material para la preparación de hasta 100 PRP varía entre US \$ 811,35 a US \$ 929,95 en el mercado.

La autora hace referencia que no se evidencian estudios a nivel nacional sobre el costo del procedimiento de obtención del PRP autólogo, lo que le permite a la investigación incorporar un aporte, la no existencia de un estudio contextualizado.

El costo para la producción del PRP se consideró en un precio total de \$ 714,38 CUP (tabla 4).

Tabla 4 Costo total para la obtención de PRP autólogo obtenido en técnica abierta ambulatoria.

Costos	Importe
Directos	\$691,75
Indirectos	\$22,63
Costo total	\$714,38

En consecuencia, existen pocos estudios en la literatura que reporten sobre el costo de obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria, el precio

medio en el estudio fue de \$ 714,38 CUP según tasa de cambio en Cuba es de \$ 123,60, conversión US \$ 5,77 que, es menos que los costos estimados reportados en tres estudios previos que informó un precio por el uso de la terapia PRP de \$ 834 (rango, \$ 500-1500) y \$ 750 (rango, \$ 500-1500).¹⁰³

En Malasia, Shariff, ¹⁰⁴ evaluó la rentabilidad de la técnica de preparación de PRP para uso clínico, el costo total de los materiales que se utilizaron en el proceso sin incluir los costos indirectos fue en dólar malasio (MYR) 30,00 en conversión US: \$ 7,02, muestra un proceso económico en comparación con los sistemas comerciales de PRP disponibles en Malasia,¹⁰⁴ concuerdan con la investigación donde el costo de obtención fue de \$ 123,60, conversión US \$ 5,61 evidencian un procedimiento sencillo y a bajo costo.

Observaciones en diferentes estudios refieren la utilización del PRP con materiales comerciales con un costo que depende del proveedor,^{105,106} en Malasia, un sistema PRP comercial cuesta entre MYR 500 y 2 000 (USD: \$116,95–\$467,80; euro: €97,85–€391,40), por lo que hay que tener en cuenta el método de preparación en correspondencia de la utilidad clínica.¹⁰⁴

Chahla et al, ¹⁰⁷ describen otros sistemas cerrados basados en materiales de PRP, disponibles a un precio que oscila entre 300,00 y 1 500,00 dólares americanos. En la investigación se describe la técnica abierta asequible con la disponibilidad en la atención primaria de salud, con la ventaja de elaborarse en un sistema abierto con menor costo y bajo riesgo de contaminación.

Al corroborar lo expuesto, el control de costos es una función básica para la determinación del servicio científico técnico para la obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria, es una función que vale la pena integrar dentro de las funciones operativas de la prestación de servicio, la reducción del precio

de producción es un objetivo de cada eslabón de la producción y la premisa indispensable para la elevación de su nivel de eficiencia; este objetivo implica el establecimiento de un efectivo régimen de economías, dirigido al ahorro del tiempo de trabajo, medios materiales y recursos monetarios.

El PRP constituye una innovación tecnológica basada en la obtención de procesos de producción con mejoras sustanciales. De acuerdo con el manual de Oslo, la innovación de producto es la introducción de un bien o servicio nuevo o significativo y mejorado en sus características o en usos posibles. Este tipo de innovación incluye mejoras significativas en las especificaciones técnicas, los componentes o materiales.^{108, 109}

Por consiguiente, el PRP implica la aparición de un producto nuevo, por la aplicación de nuevos conocimientos, tecnologías, usos y combinación de nuevos y antiguos conocimientos y tecnologías. Estos originan bienes y servicios que se diferencian de forma significativa de los existentes, bien por sus características y usos, con introducción de mejoras en los existentes, con cambios en sus especificaciones técnicas.

El procedimiento de obtención del PRP adquiere una importancia significativa en este tipo de innovación de producto. De acuerdo con el manual de Oslo, la innovación de proceso es la introducción de un método de producción o de un método de distribución nuevo o significativo mejorado que incluye mejoras técnicas.¹⁰⁹

Es aporte de la investigación la innovación en la obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria, que implica que los servicios de salud introduzcan en la asistencia una nueva tecnología con productos, procesos y métodos. Para lo cual tienen la capacidad de adelantarse a las necesidades del propio

sistema de salud y, por tanto, conlleva desde realizar una selección de personal competente, actualizar los cambios tecnológicos y las técnicas empleadas.

La autora refiere que el PRP autólogo, como innovación de producto y del proceso de obtención, implica mejoras significativas tanto en los métodos, equipo o conocimientos utilizados para optimizar la prestación del servicio.¹¹⁰

Desde el punto de vista social la introducción del procedimiento para la obtención del PRP autólogo ambulatoria de bajo costo, sin peligro de contaminación, permitirá la reproducción de la técnica a unidades asistenciales de la atención primaria de salud.

2.3.6. Conclusiones del capítulo

- Se diseñó un procedimiento para la obtención de PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria, factible, reproducible, mediante el método de centrifugación simple, a 726 g por 10 min. Se logró tres veces por encima del recuento de plaquetas en comparación con la cantidad inicial de plaquetas en la sangre periférica, lo que aseguró la eficiencia de la elaboración.
- El proceso para la elaboración del PRR autólogo en técnica abierta ambulatoria se llevó a cabo de forma controlada, segura y a bajo costo, de esta manera puede ser un producto factible para Atención Primaria de Salud.

2.4. CAPÍTULO III. Validación del procedimiento para la obtención del plasma rico en plaquetas autólogo en técnica abierta ambulatoria

En esta etapa se realizó la validación del procedimiento para la obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria, se utilizó la opinión de los expertos y el método analítico, la misma se llevó a cabo en el Cenipbi de la Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey.

2.4.1. Objetivos del capítulo

Objetivo general

Validar el procedimiento para la obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria.

Objetivos específicos:

1. Evaluar el procedimiento de obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria por método en consulta de experto y validación analítica.
2. Comprobar la funcionalidad del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria con el estudio de agregación plaquetaria con epinefrina.

La técnica Delphi facilita el diseño y validación de resultados tecnológicos, son utilizados en las investigaciones del área de la salud pública y permite corroborar las ideas a las que ha arribado un investigador, por sus indagaciones o investigaciones preliminares, con un grupo de expertos seleccionados con anterioridad, así como al asumir que su empleo contribuye a reducir al mínimo el riesgo de fracasar durante la puesta en práctica de una innovación tecnológica a la que se ha llegado como resultado científico.¹¹¹

La investigación se guía por la variante de Delphi en la evaluación de criterios o alternativas por parte de los expertos, la cual se sustenta en estudios que la

utilizan para estos dos fines como un proceso iterativo, diseñado para combinar la opinión de un grupo de expertos dentro de un consenso.¹¹¹ Se trata de una metodología estructurada para recolectar de manera sistemática juicios de expertos acerca de un problema, procesar la información y construir un acuerdo general de grupo.¹¹²

Además, durante la evaluación en los laboratorios clínicos, la demostración de la validación y verificación de los procedimientos analíticos requiere la aplicación de criterios técnicos uniformes y consistentes, debido que la información que transmite le permite brindar servicios con la calidad y confiabilidad. En consecuencia, validar un procedimiento de análisis es demostrar que conduce a un grado de seguridad en la obtención de resultados conformes a los requisitos establecidos, para las aplicaciones analíticas previstas.¹¹³

Por otra parte, en el proceso de validación se debe asignar a un responsable para realizar dicha tarea, de manera que, se efectúe en forma metódica, ordenada, trazable y confiable. En cada laboratorio, antes de iniciar la validación, debe quedar claro los requerimientos del método para establecer el alcance de la validación, es esencial entonces, conocer el método a validar y su aplicabilidad, es decir, la concentración aproximada del analito a medir.¹¹³

En un laboratorio se deben validar:

1. Métodos no normalizados: corresponden a métodos desarrollados por el laboratorio como es el caso de la investigación o método nuevo, (ejemplo: publicado en revista científica), o bien, a métodos que de manera tradicional se han utilizado en el laboratorio, pero no están normalizados.
2. Método normalizados con una modificación significativa.

La investigación se acoge al documento que rige las buenas prácticas para laboratorio de control de medicamentos y validación de métodos analíticos,¹¹¹ este provee las pautas generales sobre cómo diseñar y acometer la validación de un método analítico, por los requisitos para los estudios de estabilidad de productos farmacéuticos terminados, nuevos, conocidos y con el complemento de los requerimientos que se describen en la regulación No. 25-2000,79 de los estudios de estabilidad para el registro de productos biológicos y biotecnológicos, donde se analiza durante un período específico en el cual se demuestre la estabilidad aceptable de la muestra.¹¹⁴

Esta regulación establece los requisitos mínimos, definidos en las guías internacionales, como la Conferencia Internacional de Armonización (ICH), la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) y la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA) que deben ser adoptados por los laboratorios para el desarrollo de las validaciones de sus métodos analíticos. Es aplicable a los laboratorios de control de medicamentos para métodos físicos, químicos, biológicos y microbiológicos (los incluyen a laboratorios de control de proceso), pero en términos generales es extensible a los laboratorios clínicos.¹¹³

Con respecto al método analítico presenta aspecto de interés en cuanto a las categorías:¹¹³

a) Métodos oficiales: se consideran los métodos descritos en series de informes técnicos y manuales de métodos de la organización mundial de la salud (OMS), además de otras normas y manuales de métodos de aceptación internacional.

b) Métodos estandarizados: son derivados de estudios colaborativos internacionales cuyos resultados son publicados y se encuentran en fase de aceptación por entidades reguladoras internacionales y nacionales.

c) Métodos modificados refieren a los métodos normalizados o estandarizados con variaciones de mayor o menor relevancia (cambios en su ejecución, utilización fuera del alcance, y otros).

d) Métodos desarrollados en el laboratorio representan los métodos de ensayo generados por el propio laboratorio como alternativa a los métodos normalizados y estandarizados.

e) Métodos alternativos: categoría especial que solo incluye los métodos de ensayo diseñados con el propósito de reemplazar, refinar o reducir la utilización de animales de experimentación en los ensayos.

f) Métodos para el control del producto en proceso: los ensayos que generan informaciones adicionales, pero no son usados para apoyar una decisión de proceso por ejemplo electroforéticos, bioensayos, con los cuales no se determinan especificaciones para los productos intermedios, requieren de la estandarización para demostrar que los componentes de la muestra no invalidan los resultados.

Por tanto, en el procedimiento normalizado operacional de la obtención del PRP se utiliza la evaluación del método modificado basado en implementar el procedimiento normalizado de operación para verificar el desempeño analítico en el procedimiento de obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria y medir los indicadores del desempeño analítico mediante los estudios de estabilidad de las Buenas Prácticas para Laboratorio de Control de

Medicamentos del Ministerio de Salud Pública de Cuba, validación de métodos analíticos.¹¹³

Para la evaluación de la calidad del producto biológico se establecen garantías mediante los estudios de estabilidad. Los cuales determinan la capacidad que tiene un producto de conservar sus propiedades biológicas necesarias para ejercer en el organismo el efecto para el cual se diseña. Los estudios de estabilidad en condiciones de estrés aportan información sobre parámetros de ensayos específicos que constituyen indicadores de la estabilidad, comportamiento del producto ante períodos cortos fuera de las condiciones de almacenamiento establecidas.^{70,115}

Los productos biológicos como el plasma son sensibles a los cambios de temperatura, por consiguiente los CP cambian según el protocolo utilizado en la preparación; así como, la variabilidad en la nomenclatura de productos PRP, por lo tanto, para la obtención de PRP autólogo como producto biológico se necesitan condiciones para su conservación.^{70,114} Desde los estudios que sustentan la simulación de transporte, debe fundamentarse a través de las siguientes condiciones: la duración, la temperatura y la humedad. Se tiene especial cuidado con el control de las condiciones y verificar la estabilidad a lo largo de la cadena de transportación.⁷⁰

No obstante, se refiere a las pruebas de función plaquetaria, que simulan la fisiología de la adhesión y agregación, de forma que permiten la cuantificación de la respuesta plaquetaria y la identificación de una función anormal. Una de las pruebas utilizadas en la evaluación de la función plaquetaria es la agregometría por transmisión de luz. En 1962 Born et al.,¹¹⁶ desarrollan un

método turbidimétrico para la medición de la agregación, donde se simula las condiciones fisiológicas.

En consecuencia, la técnica se basa en la medición por espectrofotometría del cambio turbidimétrico que se produce a medida que las plaquetas se agregan ante el estímulo de un agonista o sustancia proagregante, que promueve la activación de algunos factores de la coagulación, que incluyen la protrombina y el factor X, los cuales liberan inhibidores de la fibrinólisis y retrasan la destrucción de las mallas de fibrina por las enzimas fibrinolíticas.¹¹⁷

Cuando a una muestra de PRP se le adiciona un agonista, las plaquetas se agregan y la muestra se vuelve menos turbia, lo que permite mayor paso de luz y disminuye la densidad óptica, como resultado se obtienen las curvas de agregación en función del tiempo y la señal es detectada por el espectrofotómetro.¹¹⁸

A través de la adhesión al endotelio vascular cuando sufre algún tipo de lesión, para la formación del tapón y de la liberación de factores que participan en la cascada de la coagulación, así como las plaquetas están provistas de glicoproteínas de superficie que favorecen la formación del tapón hemostático, las cuales permiten la interacción con otras plaquetas y con el endotelio vascular.^{117,118} En concordancia la autora consideró que las plaquetas tienen como función principal la participación en la hemostasia.

2.4.2. Diseño del estudio

Se realizó la validación del procedimiento de obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria, mediante la consulta de expertos y validación analítica de los parámetros intrínsecos del ensayo con el estudio estabilidad en tiempo real y agregabilidad plaquetaria en el Cenipbi de la Universidad de

Ciencias Médicas de Camagüey en el período de enero de 2020 a diciembre de 2022.

2.4.2.1. Método de consulta a expertos

De los 40 expertos evaluados para establecer el criterio con respecto al procedimiento para la obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria, el comité de consenso quedó integrado por 30 expertos en total, escogidos a través del método Delphi,^{111,112} (anexo 5). Los que se contactaron en el Congreso Internacional de Anestesiología en la Reanimación y Dolor que se realizó en noviembre 2022 en La Habana. El intercambio de dos consultas se estableció mediante la Red de Infomed.

Con el objetivo de aumentar la calidad en la evaluación se seleccionaron doctores en ciencias médicas, especialistas de segundo grado, profesores auxiliares, consultantes y titulares. Profesionales con más de 15 años de experiencia médica, relacionados con el tema a través de la especialidad de hematología, rehabilitación física, inmunología, anestesiología y reanimación, en ejercicio activo de la profesión, juicio autocrítico, ética en la discusión, creatividad y disposición en la solución del problema.

En el procedimiento para la obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria, los parámetros establecidos superaron los 0,9 con un nivel alto para la evaluación (anexo 6).

El análisis del procedimiento para la obtención del PRP se utilizó para pronóstico cualitativo; mientras que el análisis de la concordancia fue para la valoración de aspectos, se llevo a cabo a través del coeficiente de Kendall.

Sobre la base de las sugerencias de los expertos con respecto a las fortalezas e insuficiencias de técnicas de procedimientos útiles en la evaluación para

obtener PRP autólogo propuesto como técnica alternativa para las instituciones de salud, se operacionalizaron las variables de la investigación y se elaboró el procedimiento de obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria.

2.4.2.2. Validación analítica

En la validación por método modificado, se analiza la precisión en el procedimiento de obtención del PRP autólogo, se realizó por intraensayo en la evaluación de la repetibilidad.

La validación de los parámetros intrínsecos del ensayo de disolución se realizó por los estudios de estabilidad de las soluciones analíticas.

El estudio de estabilidad quedó diseñado para tres lotes en tres días y cuatro determinaciones por lote, para un número total de muestra $n=76$. Donde la estabilidad del producto se estudió a largo plazo bajo condiciones controladas de almacenamiento y una frecuencia de ensayo en las horas 0, 4, 8, 12, 24, 48 y 72.

Las muestras fueron conservadas a temperaturas 37 °C temperatura ambiente, 4 °C refrigeración y - 20 °C congelación por tres días. Se realizó el estudio de estabilidad en transportación, para el incremento de los cambios físicos de la sustancia, con predicción del periodo de validez bajo condiciones de almacenamiento, se midieron el pH, características organolépticas, concentración y volumen en el cual se tuvo en cuenta la exigua literatura sobre determinación en preparación PRP; para lo cual la autora utiliza un tubo de ensayo graduado de 2 mL y establece 1,8 mL cuando la muestra se mantiene constante.

Para determinar la esterilidad: se realizó siembra en medio líquido para cultivo microbiano en tioglicolato de sodio dada en los siguientes intervalos de unidades formadoras de colonias (UFC).

En relación con las condiciones ambientales establecidas para estudios de estabilidad, aplicados a productos no refrigerados ni congelados, se considera que el almacenamiento durante todo el ciclo de vida del PRP, incluido transporte es óptimo si se produce en las condiciones ambientales para ensayos de estabilidad a largo plazo.

El estudio de trasportación verificó las condiciones de transporte detalladas que no afectaron a la fecha de caducidad del producto. El estudio se realizó a una temperatura de 4 °C y comprobado de no contaminación en el tiempo de la investigación diseñado para la determinación de los cambios físicos de la sustancia mediante diferentes movimientos en agitación, reposo, posición normal e invertida, que predicen el periodo de validez bajo condiciones de trasportación.

El estudio de la agregación plaquetaria se basó en la tecnología del lector de microplacas 2100-C con densidad óptica (DO) 530 nm, para la evaluación de la agregación, se utilizó como agonista la epinefrina con concentración $2,5 \times 10^{-5}$ molar de manera cuantitativa. El propósito principal de este estudio fue evaluar la funcionalidad de las plaquetas contenidas en preparaciones individuales de PRP autólogo.

Se realizó la lectura a través del lector de microplacas después de agregar la epinefrina en los diferentes tiempos: 0, 1, 3 min y en diferentes temperaturas a 4 °C, 37 °C y -20 °C.

2.4.3. Operacionalización de las variables

Variabes	Tipo	Escala	Descripción	Indicador
Concentración de PRP	Cuantitativa continua	(>150-450 x 10 ⁹ /L)	Concentraciones de tres veces el valor basal. Eficacia del proceso de obtención.	Media y Desviación Estándar
Esterilidad del producto	Cualitativa nominal dicotómica	NC: no crecimiento C: crecimiento	Intervalos UFC (unidades formadoras de colonias) siembra en medio líquido para cultivo microbiano en tioglicolato de sodio.	Frecuencias absolutas y por ciento
Determinación del pH	Cuantitativa continua	Bajo óptimo Alto	Medir el equilibrio ácido –base. Influencia del pH en la calidad del PRP, grado de acidez y alcalinidad.	Media y Desviación Estándar

Características organolépticas	Cualitativa nominal dicotómica	SV: sin variación CV: con variación	Evaluación del color se analizarán mediante la evaluación sensorial de la apariencia.	Frecuencias absolutas y por ciento
Medición del volumen	Cuantitativa continua	VC: volumen constante V: variación	Cantidad de volumen del producto (mL), nivel de evaporización del PRP.	Media y Desviación Estándar
Medición de la temperatura de almacenamiento	Cuantitativa continua	37 °C 4 °C -20 °C	Evaluación de la temperatura de conservación temperatura ideal para la conservación del PRP.	Media y Desviación Estándar
Medición en condiciones de movimiento	Cuantitativa continua	Varia No varia	Simulación de transporte (predice el periodo de validez bajo condiciones de	Medida

			transportación).	
Agregación de las plaquetas	Cuantitativa continua	Disminuye No disminuye	Funcionalidad plaquetaria según utilización del agonista (epinefrina).	Media y Desviación Estándar

Definiciones operacionales

Esterilidad del producto.

NC: no crecimiento de microorganismo (UFC) presentes en una muestra sembrado en medio de cultivo.

C: crecimiento de microorganismo (UFC) presentes en una muestra sembrado en medio de cultivo.

Determinación del pH.

Bajo: pH menor de 6,2.

Óptimo: pH en el rango normal (6,2 –7,4).

Alto: pH mayor de 7,4.

Características organolépticas

SV: sin variación (plasma de color amarillo transparente)

CV: con variación (si no cumple con la condición anterior)

Medición del volumen

VC: volumen constante (no varía la muestra cuando se mantiene 1,8 mL).

V: variación (el valor anterior disminuye).

Medición de la temperatura de almacenamiento

37 °C (temperatura ambiente)

4 °C (refrigeración)

-20 °C (congelación)

Medición en condiciones de movimiento

Varía: si existe modificación en cuanto a las demás variables observadas.

No varía: si bajo la condición de movimiento, no se modifican las variables anteriores.

Agregación de las plaquetas

Disminuye: cuando varía la densidad óptica (530 nm) en tiempo y temperatura.

No disminuye: no varía la densidad óptica (530 nm) en tiempo y temperatura.

Técnicas de análisis y procesamiento

Estadísticos:

Se calcularon la media, desviación estándar para determinar el coeficiente de variación, para las variables cuantitativas en la determinación de la precisión.

Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) en bloques al azar para comparar los parámetros cuantitativos entre los lotes en estudio. Para comparar las medias de las muestras en los tres tiempos, en cada uno de los días y para cada temperatura se empleó el test no paramétrico de Friedman. Los análisis se realizaron en SPSS v 26.0 (SPSS Inc., Chicago, EE.UU.).

2.5. Resultados y la discusión

2.5.1. Evaluación por criterio de expertos

Se presenta la distribución de criterio de experto según los ítems sobre el procedimiento de obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria, en la investigación se utiliza el método Delphi desde un conjunto de opiniones individuales de 30 expertos, lo que reduce el margen de error al 1 % con

retroalimentación controlada en dos vueltas y verificación de la concordancia. Se eliminaron las columnas en: desacuerdo definitivo, en desacuerdo y ni de acuerdo, ni en desacuerdo ya que fue cero la respuesta de los expertos. La totalidad de los expertos mostraron acuerdo definitivo en la generalidad del procedimiento de obtención (tabla 5).

Tabla 5 Distribución del criterio de experto según los ítems.

Ítem	De acuerdo	Acuerdo definitivo
Toma de muestra conteo inicial (cifras normales de plaquetas)	24	4
Asepsia y antisepsia		30
Toma de muestra por venopunción de sangre periférica		30
Obtener PRP mediante la técnica abierta		30
Técnica de una sola centrifugación	1	29
Colocar los tubos de centrifuga graduados con sangre dentro de la centrífuga, calibrados uno frente al otro		30
Centrifugación 726 g (1 800 rpm) por 10 minutos)	2	28
Retirar los tubos de la centrífuga sin mezclar el paquete de glóbulos con el plasma		30
Premisa de una única muestra en el mismo espacio y al mismo tiempo	1	29
Identificar los tubos de ensayo con el plasma obtenido		30
Separación del plasma pobre en plaquetas y plasma rico en plaquetas		30

Extrae la primera porción del plasma pobre en plaquetas	25	5
Extrae la segunda porción(más próximo a la capa de leucocitos) plasma rico en plaquetas	2	28
Conteo final (>150 – 450 x 10 ⁹ /L).	1	29
Medidas de bioseguridad		30

Caracterizan al método Delphi Cruz Ramírez y Rúa Vásquez ¹¹⁹ con sus cuatro características definitorias del método en su versión clásica: el anonimato de un panel de expertos, el suministro iterativo de test, la retroalimentación controlada, y la respuesta estadística de grupo. Sin embargo, con el decurso del tiempo, este método ha sido objeto de numerosas modificaciones, tanto estructurales como funcionales, como útil, flexible que permite que se alcance el consenso en un área de incertidumbre, lo que sugiere que las fortalezas exceden a las limitaciones.

El coeficiente de concordancia de Kendall obtenido del análisis de los 15 ítems por los 30 expertos fue 0,731 con una significación de 0,000. Un valor de Kendall alto, es decir próximo a 1, indica consenso en el proceso de clasificación de puntajes entre los expertos. La significación inferior a 0,05 concluye que el resultado obtenido es significativo, hay concordancia entre los rangos asignados por los jueces (tabla 6).

Tabla 6 Distribución del coeficiente de concordancia de Kendall obtenido del análisis de los 15 ítems por los 30 expertos.

N	30
W de Kendall*	0,731
Grados de libertad	14
Significación asintótica	0,000

* Coeficiente de concordancia de Kendall

Entre las limitaciones del procedimiento de obtención del PRP autólogo seleccionadas por los expertos se destaca la exigua bibliografía en el contexto que trate sobre este procedimiento para nivel primario de salud, por lo que la investigación apoyada en el criterio de los expertos tiene como novedad el diseño de un procedimiento de obtención de PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria en el contexto.

El procedimiento descrito permite obtener CP viables y seguros con concentraciones superiores a la línea base, además es un proceder sencillo, de bajo costo efectivo y reproducible para la práctica médica. A través del método Delphi se unifica el criterio con respecto al procedimiento de obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria.

2.5.2. Validación analítica

La validación analítica del procedimiento de obtención del PRP autólogo se presenta mediante la precisión a través del estudio de la repetibilidad de las determinaciones de una mezcla homogénea del producto, en las mismas condiciones, sobre la misma muestra, por un mismo analista, en el mismo laboratorio con los mismos equipos y reactivos; en un corto intervalo de tiempo,

en el cual se evaluó la variabilidad intrínseca del proceso, por consiguiente la muestra se percibió homogénea a partir de los resultados de la variación de sus medias con respecto a sus desviaciones estándares de la fuerza de centrifugación y tiempo de los cuales se obtuvieron (24,2; 17,6 y 15,2 %), los cuales alcanzaron coeficientes de variación menor de 30 %.

En este particular se refieren estudios similares donde se evaluaron parámetros de repetibilidad en el método de valoración biológica de gonadotrofina coriónica humana, en la evaluación se alcanzaron coeficientes de variación menor del 50 %, ¹²⁰ lo cual demuestra la buena precisión del método según el límite para ensayos biológicos, concuerdan con la investigación en relación a la validación analítica con respecto a la precisión en función de la repetibilidad, donde el coeficiente de variación presenta un valor menor al 30 %.

Por consiguiente, el resultado proporciona un alto grado de confianza y seguridad del método analítico, así como también en la calidad, esto se traduce en la disminución de número de fallos y repeticiones con el consiguiente ahorro de los costos asociados y en la mejora del método para su practicabilidad y asegurar que el procedimiento analítico seleccionado dará resultados reproducibles y confiables que sean adecuados para el propósito previsto.

El estudio a largo plazo bajo condiciones controladas muestra las variaciones de las concentraciones de PRP autólogo según tiempo y temperaturas, la prueba estadística arrojó una significación mayor de 0,05, lo que se traduce que la concentración de PRP no varía en función del tiempo y las temperaturas con una confiabilidad del 95 %, tabla 7.

Tabla 7 Variaciones de las concentraciones de Plasma Rico Plaquetas autólogo según tiempo y temperaturas.

Horas	Concentración PRP en tiempo real acelerado					
	37°C		4°C		-20°C	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE
0	809,0	50,8	775,0	44,0	735,0	52,2
4	767,0	53,0	755,0	31,3	798,0	60,1
8	653,0	25,0	796,0	46,9	761,0	54,6
12	305,2	33,6	725,5	23,6	761,8	59,9
24	309,1	80,2	710,3	44,7	762,7	48,8
48	329,9	81,2	660,8	56,2	713,7	42,7
72	255,4	101,1	665,2	62,1	708,8	73,8

p=0,065

* Los recuentos se expresan como número (150-450 x 10⁹/L) en cámara contadora con rayado de *Neubauer*

* Cuatro determinaciones por lote, para un número total de muestra n=76.

Sobre la base de los resultados del estudio referido por Hauschild et al.,¹²¹ en la estabilidad de almacenamiento a corto plazo a temperatura ambiente de dos preparaciones diferentes de PRP de donantes equinos, son aplicables durante un período de al menos seis horas a temperatura ambiente sin pérdida del contenido en concentración del PRP, estos resultados se corresponden con el estudio la concentración de forma general no varía a 37 °C de temperatura antes las ocho horas de almacenamiento con una confiabilidad del 95 % y coincide con la estabilidad biológica del colirio de PRGF-Endoret® durante 72 horas refrigerado y a temperatura ambiente.¹²²

El comportamiento del 100 % de las muestras estudiadas no presentó variación en relación a las características organolépticas, esterilidad y el volumen. La

prueba estadística no se realiza por considerar un uso irreflexivo dado el resultado del análisis. Se demuestra la estabilidad en relación a estos parámetros.

Al respecto la autora opina que los parámetros estudiados en la investigación mantienen estabilidad de las propiedades fisicoquímicas y biológicas después de tres días de almacenamiento, coincide con los resultados de la validación galénica del colirio de plasma rico en factores de crecimiento (PRGF-Endoret®) que muestra que el proceso de obtención del PRP es aséptico, tanto si se realiza en campana de flujo laminar como si se ejecuta fuera de ésta.¹²²

El comportamiento de los parámetros físico químicos correspondientes a cada uno de los lotes a lo largo del análisis estadístico dentro de los límites de aceptación, como se observa en la tabla 8 en correspondencia con el pH, se muestra la variación según el tiempo y las diferentes temperaturas en el estudio.

Como se observó no existió diferencias en la media del pH para las diferentes temperaturas y horarios, este osciló en la mayor parte de las observaciones entre 7,3 y 7,4 con el rango establecido como normal, solo a 37⁰C después de las 24 horas se constató un ligero incremento del pH a 7,5. Se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) en bloques al azar para comparar la diferencias entre medias de pH. Se utilizó un valor de p <0,05 como punto de corte para la significación estadística.

Tabla 8 Variación del pH según tiempo y temperaturas.

Horas	37°C		4°C		-20°C	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE

0 horas	7,3	0,06	7,2	0,21	7,3	0,08
4	7,4	0,06	7,3	0,13	7,3	0,07
12	7,4	0,05	7,1	0,20	7,4	0
24	7,5	0,09	7,4	0,04	7,3	0,02
48	7,5	0,08	7,3	0,10	7,3	0,10
72	7,5	0,09	7,3	0,05	7,3	0,10

p=0,73

pH =rango normal (6,4 a 7,4)

* Cuatro determinaciones por lote, para un número total de muestra n=76.

En el 100 % en los lotes ensayados se le aplicó un análisis de varianza en el que la determinación de la probabilidad asociada al estadígrafo T de Student es mayor que el nivel de significación 0,05, por tanto se acepta la hipótesis nula de que no existen diferencias significativas en las muestras analizadas, lo que permite plantear con un 95 % de confiabilidad que el pH se mantiene estable pese al tiempo y la temperatura.

El comportamiento del pH en la investigación se corresponde con lo descrito por Anitua et al.,¹²² que hace referencia a la estabilidad del pH del colirio PRGF-Endoret® almacenado a -20°C durante tres meses y seis meses, de igual modo se mantuvo estable a las 72 horas en refrigeración y temperatura ambiente, en el que mostró la estabilidad biológica durante el período evidencian los valores de pH en el rango establecido.

En los estudios de movimientos y horas en la simulación de transporte se observó en la tabla 9, en la variación del pH no existió diferencias en la media del pH, este osciló en el mayor parte de las observaciones entre 7 y 7,4 correspondiéndose con el rango establecido como normal. La prueba

estadística de la varianza Anova para comparar medias en la variación del pH, expresó una probabilidad asociada al estadígrafo mayor de 0,05 lo que permite plantear con un 95 % de confiabilidad que no existen suficientes evidencias que demuestren variaciones en estos parámetros o sea el pH se mantiene estable pese al tipo de movimiento y el tiempo.

Tabla 9 Media de los valores del pH según tipo de movimiento y horas a 4 °C.

Movimientos	Horas			p
	0	4	8	
	Media	Media	Media	
Agitación	7,4	7,1	7,2	0,367
Reposo	7,0	7,0	7,0	0,378
Posición Normal	7,0	7,0	7,0	0,368
Posición invertida	7,0	7,0	7,0	0,387

pH =rango normal (6.4 a 7.4)

*la desviación estándar no fue calculada dado que la dispersión esta en rango de normalidad.

* Tres determinaciones por lote, para un número total de muestra n=27.

La autora considera que la modelación o simulación del transporte permite estimar y predecir un fenómeno o proceso con la finalidad de su comportamiento y concuerda con Sykes,¹²³ quien refiere que los productos sensibles a las condiciones de transporte necesitan un cuidado especial para garantizar la calidad en las operaciones de transportación. El fabricante se verá obligado a utilizar condiciones de transporte y distribución protectoras para el producto o cualquier otra condición en la que se haya demostrado la estabilidad durante el período de tiempo necesario.

La autora refiere que la estabilidad en simulación de transporte en cuanto al pH están en función de los cambios que pueda alterar la composición del PRP autólogo, como cambios en la acidez o alcalinidad del producto lo cual pueda afectar su estabilidad y propiedades.

Por consiguiente, el 100 % de las muestras en el estudio, no presentó variación en relación a las características organolépticas, volumen y la esterilidad según el tipo de movimiento y las horas para el estudio de simulación de transporte, la prueba estadística no se realiza dado el resultado del análisis. Se demuestra la estabilidad en relación a estos parámetros.

Se muestra las variaciones de las concentraciones de PRP según el tipo de movimiento y las diferentes horas se tuvo en cuenta en el estudio de simulación de transporte (tabla 10).

Se observó que la concentración tiende a mantenerse estable a las diferentes horas para cada tipo de movimiento, en relación a la media las probabilidades asociadas al estadígrafo de prueba para cada tipo de movimiento en relación al tiempo muestran valores superiores a 0,05, lo que se traduce en que no hay suficientes evidencias para plantear que la concentración de PRP se modificó en función del tipo de movimiento y el tiempo con una confiabilidad del 95 %.

Tabla 10 Variaciones de las concentraciones de plasma rico en plaquetas según tipo de movimientos y horas.

Movimientos	Horas						p
	0		4		8		
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	
Agitación	736,3	126,3	774	85,5	759,7	117,5	0,368
Reposo	772,3	65,7	765,3	70	764	107,6	0,368

Posición Normal	666,3	63,1	695,3	41,1	697,7	47	0,368
Posición invertida	735	88,4	749,7	54,2	756,3	94,1	0,368

* Los recuentos se expresan como número ($150-450 \times 10^9/L$) en cámara contadora con rayado de *Neubauer*

* Tres lotes y tres determinaciones por lote, para un número total de muestra $n=27$.

La determinación del tiempo y la temperatura de almacenamiento óptimos para realizar ensayos de función plaquetaria y ensayos de coagulación global, Denessen et al.,¹²⁴ demuestran que las muestras de los recuentos de plaquetarios se almacenaron a temperaturas a 4°C y 37°C en tiempo en horas 1, 3, 6 y 24, coinciden con algunos parámetros del estudio relacionado con el tiempo de almacenamiento y hora.

El almacenamiento de las muestras a lo largo del tiempo mostró diferencias significativas entre la mediana del porcentaje de agregación del valor de referencia en comparación con la mediana del porcentaje de agregación de 24 horas de almacenamiento tanto para 4 °C como a 37°C. El almacenamiento a 4 °C dio como resultado que una muestra excediera el valor de referencia inferior después de 3 y 6 horas de almacenamiento y dos muestras excedieran el valor de referencia inferior después de 24 horas de almacenamiento.¹²⁴

En relación al tiempo de almacenamiento para los CP Hauschild et al.,¹²¹ hacen referencias que varía según la función de los ensayos. Por otro lado, se hace necesario crear protocolos estandarizados que pueda usarse y tengan en cuenta las variables preanalíticas y que faciliten el muestreo del transporte de muestras de sangre para los ensayos de función plaquetaria.¹²⁴

Los resultados del estudio realizado por la autora permiten referir al transporte simulado como una técnica apreciable para la determinación de la estabilidad física del producto, incluidas vacunas, anticuerpos monoclonales, conjugados de anticuerpos, fármacos y terapias génicas, estos estudios de simulación de transporte en tiempo real permite la exposición simultánea del producto a la temperatura, presión, impacto, humedad y vibración a medida que ocurren en el suministro de la cadena de transporte.¹²³

La autora, en lo referente al recuento plaquetario, está de acuerdo con Mukti y Tambuna ,¹²⁵ cuando consideran la no existencia de cambios significativos en el recuento de plaquetas en el día uno, tres y cinco días con aumento significativo en el volumen plaquetario medio, los parámetros de estabilidad estudiados en relación a los CP se mantienen estables durante las 72 horas de almacenamiento y concuerdan con la investigación de Mukti y Tambuna los cuales brindan como resultado un almacenamiento del CP durante cinco días que no provocó una disminución en el número de plaquetas. ¹²⁵

Al margen de los resultados mostrados en esta serie, la autora considera que los estudios de almacenamiento a diferentes temperaturas en el PPR autólogo brindan ventajas ya que permite identificar las condiciones ideales para conservar el producto sin que se vea comprometida su calidad y al aumento de la capacidad de respuesta de las plaquetas.

La agregación plaquetaria inducida por la epinefrina como agonista se observa en la tabla 11 con las muestras con y sin el agonista en tres tiempos y para tres temperaturas. Las probabilidades asociadas al estadígrafo de Friedman para comparar las medias de la densidad óptica arrojaron diferencias significativas para las muestras donde se empleó el agonista plaquetario, no así en aquellas

donde no se empleó. En el caso específico del día dos no se contó con suficiente evidencia para probar diferencias entre las medias de la densidad óptica a -20°C de temperatura con el uso del agonista

En las investigaciones realizadas por Mesa et al.,¹²⁶ reseñan que existen diversos factores que afectan la agregación plaquetaria como la temperatura, la lipemia, la toma de la muestra, el intervalo desde la venopunción y la preparación del plasma rico en plaquetas. Gómez et al.,⁴⁷ describen que una vez que se le agrega un agonista plaquetario, como epinefrina, ADP, colágena, ácido araquidónico, trombina y ristocetina estimulan la agregación y registra como una función de tiempo posterior a la adición del agonista.

Por lo cual abordan que, a mayor agregación plaquetaria, mayor transmisión de la luz y viceversa. Estos cambios de luminiscencia o turbidez son el reflejo de la formación de agregados plaquetarios, derivados de microagregados,⁴⁷ la autora resume que estos resultados concuerdan con la presente investigación donde la agregación plaquetaria en el PRP con epinefrina permite el paso de la luz con una significación de 0,02 - 0,05.

Tabla 11 Densidad óptica con el uso o no de epinefrina como agonista para cada temperatura en tres tiempos en muestras de plasma rico en plaquetas autólogo.

Días Agonista		Temperaturas																				
		37 °C						(p) *	4 °C						(p) *	-20 °C						(p) *
		Tiempo							Tiempo							Tiempo						
		0 min		1 min		3 min			0 min		1 min		3 min			0 min		1 min		3 min		
Ā	DE	Ā	DE	Ā	DE	Ā	DE	Ā	DE	Ā	DE	Ā	DE	Ā	DE	Ā	DE					
1	No	0,6	0,11	0,6	0,12	0,6	0,14	0,06	0,6	0,17	0,6	0,18	0,6	0,16	0,09	0,6	0,16	0,6	0,17	0,5	0,17	0,08
	Si	0,5	0,02	0,5	0,01	0,4	0,02	0,03	0,5	0,06	0,4	0,06	0,3	0,05	0,05	0,4	0,01	0,4	0,02	0,3	0,02	0,05
2	No	0,5	0,11	0,5	0,11	0,5	0,11	0,72	0,5	0,10	0,5	0,10	0,5	0,12	0,44	0,5	0,11	0,5	0,11	0,5	0,11	0,49
	Si	0,5	0,03	0,5	0,03	0,4	0,03	0,02	0,6	0,02	0,5	0,03	0,5	0,02	0,05	0,6	0,02	0,6	0,02	0,5	0,02	0,06
3	No	0,7	0,02	0,7	0,03	0,7	0,02	0,37	0,7	0,03	0,7	0,02	0,7	0,02	0,26	0,7	0,04	0,7	0,04	0,7	0,05	0,15
	Si	0,5	0,07	0,5	0,06	0,4	0,06	0,04	0,6	0,02	0,5	0,02	0,5	0,01	0,04	0,6	0,03	0,6	0,03	0,5	0,02	0,05

* Significación estadística de la prueba de Friedman para comparar las muestras con uso o no de epinefrina para cada temperatura y en los tres tiempos.

De acuerdo con lo referido por Gómez Gómez et al,⁴⁷ se considera que la agregabilidad inducida por agonistas *in vitro* con epinefrina en diferentes condiciones de almacenamiento, provoca una respuesta en la función plaquetaria e inducen la agregación, estos resultados sugieren que las plaquetas mantienen su forma discoide y lo suficiente estable como para reaccionar con los agonistas.

Por otra parte, Sachs et al.,¹²⁷ abordan en el estudio sobre agregometría de transmisión de luz automatizada con y sin PPP, una comparación de métodos, en relación a los agonistas en el estudio del uso de la epinefrina presenta la distribución normal, los resultados de la investigación difieren de los descrito ya que la epinefrina tuvo una distribución no homogénea.

Platton et al.,¹²⁸ en el estudio multicéntrico para evaluar la agregación de plaquetas automatizada en los analizadores de coagulación de la serie CS de Sysmex, establecen rangos de referencia y un régimen de prueba ideal, utilizan como agonistas ADP, ácido araquidónico, colágeno, ristocetina, epinefrina y salino, la agregación máxima se alcanzó a los cinco minutos con ADP, colágeno, ristocetina, los demás agonistas requirieron 10 minutos.

Desde el punto de vista de la autora los resultados mostrados, difieren con lo descrito ya que en la investigación se obtuvo la máxima agregación a los tres minutos con la epinefrina. Además, hace referencia que el resultado de la DO de cada muestra que se analizó está en dependencia del tiempo y concentración de plaquetas, aunque en las revisiones se sugiere tiempo de agregación de 10 minutos en dependencia del agonista.¹²⁸

En los agonistas las concentraciones y valores normales de la agregometría para la epinefrina es de 11×10^{-6} mol/L - 1.1×10^{-6} mol/L, son patrones de

referencia para el diagnóstico de múltiples trastornos funcionales plaquetarios primarios o adquiridos, se recomienda el uso de una concentración inicial de epinefrina de 5 μ M y de una dosis más alta en muestras alteradas. Se usan dosis bajas de epinefrina para la detección de dosis mínima que induce la agregación secundaria.⁴⁷

Al margen de los resultados descritos en la bibliografía la autora hace referencia a la epinefrina como agonista en el comportamiento de la agregación, considera que permite investigar los mecanismos de acción involucrados en este proceso, esto puede ayudar a comprender la fisiología y la regulación de la agregación plaquetaria, de esta se puede evaluar su capacidad para formar agregados.

2.5.3. Conclusiones del capítulo

- En la validación de los parámetros intrínsecos del ensayo mediante los estudios de estabilidad se determinó que el proceso de elaboración del procedimiento para el plasma rico en plaqueta autólogo en técnica abierta ambulatoria se lleva a cabo de forma controlada, segura, a bajo costo sin peligro de contaminación, y evaluada por expertos.
- Del mismo modo se comprobó la funcionalidad del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria con estudio de agregación plaquetaria, estos resultados permiten tener una visión completa y general sobre la estabilidad del PRP.

3. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- En el procedimiento para la obtención de plasma rico en plaqueta autólogo en técnica abierta ambulatoria, con estandarización de la centrifugación y tiempo, asegura la eficiencia y factibilidad en la elaboración, del mismo modo, se obtengan concentrados plaquetarios idóneos para la asistencia médica en la Atención Primaria de Salud.
- Los criterios de los expertos sobre el procedimiento para la obtención del plasma rico en plaqueta autólogo en técnica abierta ambulatoria, mostraron consenso en relación a que el método constituye un aporte en la obtención de concentraciones adecuadas de plaquetas en el producto final estandarizado para la Atención Primaria de Salud.
- La validación analítica del procedimiento de obtención del plasma rico en plaqueta autólogo en técnica abierta ambulatoria, demostró estabilidad y funcionalidad del proceso y evidenció la reproducibilidad.
- El procedimiento para la obtención del plasma rico en plaqueta autólogo en técnica abierta ambulatoria constituyó una herramienta, que garantiza el cumplimiento de estándares de calidad y eficiencia, para el control de la ejecución del proceso en la Atención Primaria de Salud.

4. RECOMENDACIONES

RECONENDACIONES

- Se recomienda la validación clínica del plasma rico en plaquetas autólogo, mediante el procedimiento descrito en la Atención Primaria de Salud.
- Desarrollar estudios comparativos de la utilización del plasma pobre en plaquetas y plasma rico en plaquetas autólogo en diversas enfermedades como tratamientos alternativos en la Atención Primaria de Salud.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Referencias bibliográficas

1. Aly RM. Current state of stem cell-based therapies: an overview. Stem Cell Investing [Internet]. 2020 May 15 [cited 2023 Apr 12];7:[about 8 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7367472/pdf/sci-07-2020-001.pdf>
2. Fernández–Delgado N, Hernández Ramírez P, Forrellat Barrios M. Espectro funcional de las plaquetas: de la hemostasia a la medicina regenerativa. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [Internet]. Sep 2012 [citado 16 Feb 2023];28(3):[aprox. 16 p.]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/hih/v28n3/hih02312.pdf>
3. Quesada Leyva L, León Ramentol CC, Fernández Torres S, Nicolau Pestana E. Células madre: una revolución en la medicina regenerativa. MEDISAN [Internet]. 2017 [citado 10 Oct 2023];21(5):[aprox. 593 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192017000500009&lng=es
4. Gilbertie JM, Schaer TP, Schubert AG, Jacob ME, Menegatti S, Ashton Lavoie R, et al. Platelet-rich plasma lysate displays antibiofilm properties and restores antimicrobial activity against synovial fluid biofilms in vitro. J Orth Res [Internet]. 2020 [citado 2023 Apr 10];38(6):[about 10 p.]. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8018705/pdf/nihms-1676840.pdf>

5. Informe de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios sobre el uso de Plasma Rico en Plaquetas [Internet]. España: Agencia Española de Medicamentos y Productos; 2013 [citado 13 Abr 2023]. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/medicamentosUsoHumano/medSituacionesEspeciales/docs/PRP-AEMPS-DEF-mayo13.pdf>
6. OPS. La regulación de productos de terapias avanzadas con fines terapéuticos: nota conceptual y recomendaciones. IX Conferencia de la Red Panamericana para la Armonización de la Reglamentación Farmacéutica (Red PARF) 2018 Oct [Internet]. San Salvador: Washington; 2019 [citado 27 Mar 2023]. Disponible en: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51557/opshss19004_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
7. Garantías mínimas de calidad en la producción de Plasma Rico en Plaquetas (PRP) [Internet]. España: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios; 2014 [citado 26 Abr 2023]. Disponible en: <https://docplayer.es/16209089-Garantias-minimas-de-calidad-en-la-produccion-de-plasma-rico-en-plaquetas-prp.html>
8. Abdin R, Zhang Y, Jimenez JJ. Treatment of Androgenetic Alopecia Using PRP to Target Dysregulated Mechanisms and Pathways. Front Med (Lausanne) [Internet]. 2022 Mar [cited 2023 Mar 30];9:[about 1 p.]. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8965895/pdf/fmed-09-843127.pdf>

9. Teng-Huang T, Thai-Yen L, Chung-Hsi L. Adoption of regulations for cell therapy development: linkage between Taiwan and Japan. Clin Tran Sci [Internet]. 2020 [cited 2023 Mar 20];13(6):[about 3 p.]. Available from: <https://ascpt.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/cts.12813>
10. Lamas-Díaz MJ, Hernández-García C. Terapias avanzadas. Farm Hosp [Internet]. Feb 2020 [citado 18 Dic 2021];44(1):[aprox. 2 p.]. Disponible en: https://scielo.isciii.es/pdf/fh/v44n1/es_2171-8695-fh-44-01-1.pdf
11. Ministerio de Salud Pública. Manual de procedimientos técnicos de laboratorio clínico del primer nivel de atención [Internet]. El Salvador: Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social a través de la Dirección de Vigilancia de la Salud y a iniciativa del Laboratorio Central Dr. Max Bloch; 2007 [citado 30 Mar 2023]. Disponible en: http://asp.salud.gob.sv/regulacion/pdf/manual/Manual_procedimientos_lab_clinico.pdf
12. Cuba. Ministerio de Salud Pública. Buenas Prácticas Farmacéuticas Sistema Regulator en Cuba. 2ed [Internet]. La Habana: CECMED; 2017 [citado 13 Abr 2023]. Disponible en: https://www.cecmecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/DocsLicencias/bfarmaceuticas_0.pdf
13. Resolución No. 99/2020. Buenas prácticas para la fabricación de productos biológicos Segunda Edición del Anexo No. 10 de la

Regulación No. 16-2012 [Internet]. La Habana: CECMED; 2021

[citado 26 Abr 2023]. Disponible en:

<https://www.cecmecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/ResRegBPFpb.pdf>

14. Congreso de hematología 2023. Temática Medicina regenerativa

[Internet]. La Habana: Instituto de Hematología e Inmunología;

2023 [citado 19 Jun 2023]. Disponible en:

<https://eventoshematologia.sld.cu/index.php/hematologia23/2023/schedConf/presentations?searchField=&searchMatch=&search=&track=7>

15. Rodríguez-Salazar OB, Lebron-Matéo F, Fuentes-Díaz Z, Rodríguez-

Hernández O. Evaluación del plasma rico en plaquetas para la

cicatrización de los pacientes con quemaduras dérmicas. Arch Med

Camagüey [Internet]. Jun 2022 [citado 22 Jun 2023];26:[aprox.

8818 p.]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/pdf/amc/v26/1025-0255-](http://scielo.sld.cu/pdf/amc/v26/1025-0255-amc-26-8818.pdf)

[amc-26-8818.pdf](http://scielo.sld.cu/pdf/amc/v26/1025-0255-amc-26-8818.pdf)

16. Ramos Román GM. Biotecnología del plasma rico en plaquetas (PRP)

aplicada a la regeneración tisular Humana [Internet]. Zaragoza,

España: Universidad de Zaragoza; 2021 [citado 19 Jun 2023].

Disponible en: [https://zaguan.unizar.es/record/108884/files/TAZ-](https://zaguan.unizar.es/record/108884/files/TAZ-TFG-2021-3067.pdf)

[TFG-2021-3067.pdf](https://zaguan.unizar.es/record/108884/files/TAZ-TFG-2021-3067.pdf)

17. Lazo Betetta MAG. Medición del factor de crecimiento endotelial

vascular del plasma rico en plaquetas según diferentes

concentraciones de gluconato de calcio variando el tiempo y fuerza

gravitacional de centrifugación [Internet]. Perú: Universidad

Peruana Cayetano Heredia; 2022 [citado 19 Jun 2023]. Disponible en:

https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/12206/Medicion_LazoBetetta_Marie.pdf?sequence=1

18. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* [Internet]. 1999 [cited 2022 Jun 13];14(4):[about 7 p.].

Available from:

http://medlib.yu.ac.kr/eur_j_oph/ijom/IJOMI/ijomi_14_529.pdf

19. Bos-Mikich A, Oliveira R de, Frantz N. Platelet-rich plasma therapy and reproductive medicine. *J Assist Reprod Genet* [Internet]. 2018 May [cited 2022 Jun 13];35(5):[about 4 p.]. Available from:

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5984895/pdf/10815_2018_Article_1159.pdf

20. Castro-Piedra SE, Arias-Varela KA. Actualización en plasma rico en plaquetas. *Acta méd costarric* [Internet]. Dic 2019 [citado 13 Jun 2022];61(4):[aprox. 10 p.]. Disponible en:

<https://www.scielo.sa.cr/pdf/amc/v61n4/0001-6002-amc-61-04-142.pdf>

21. Zhang W, Guo Y, Kuss M, Shi W, Aldrich AL, Untrauer J, et al. Platelet-Rich Plasma for the Treatment of Tissue Infection: Preparation and Clinical Evaluation. *Tissue Eng Part B Rev* [Internet]. 2019 Jun [cited 2022 Jun 13];25(3):[about 12 p.]. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6589492/pdf/ten.teb.2018.0309.pdf>

22. Conde Montero E. Validación de un nuevo método de obtención de plasma rico en plaquetas para su aplicación en úlceras cutáneas crónicas. [Internet]. Madrid, España: Universidad Complutense de Madrid Facultad de Medicina; 2017 [citado 30 Mar 2023].
Disponible en: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/44375/1/T39180.pdf>
23. Silva Machado E, Renata Leite R, Cichowski dos Santos C, Lazzari Artuso G, Gluszczak F, Giovani de Jesus L, et al. Turn down - turn up: a simple and low-cost protocol for preparing platelet-rich plasma. *Clínicas* [Internet]. 2019 [cited 2023 Apr 12];74:[about 8 p.]. Available from: <https://www.elsevier.es/en-revista-clinics-22-articulo-turn-down-turn-up-S1807593222007098>
24. Sebbagh P, Hirt-Burri N, Scaletta C, Abdel-Sayed P, Raffoul W, Gremeaux V, et al. Process Optimization and Efficacy Assessment of Standardized PRP for Tendinopathies in Sports Medicine: Retrospective Study of Clinical Files and GMP Manufacturing Records in a Swiss University Hospital. *Bioengineering* [Internet]. 2023 Mar [cited 2023 Jun 26];10:[about 409 p.]. Available from: <https://www.mdpi.com/2306-5354/10/4/409>
25. Conde Montero E, Fernández Santos ME, Suárez Fernández R. Plasma rico en plaquetas: aplicaciones en dermatología. *Actas Dermosifiliogr* [Internet]. 2015 [citado 16 Feb 2023];106(2):[aprox. 8 p.]. Disponible en: <https://www.actasdermo.org/es-pdf-S0001731014001793>
26. Akhundov K, Pietramaggiore G, Waselle L, Darwiche S, Guerid S, Scaletta C, et al. Development of a cost-effective method for

- platelet-rich plasma (PRP) preparation for topical wound healing. Ann Burns Fire Disasters [Internet]. 2012 Dec [cited 2023 Jun 26];25(4):[about 7 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3664531/pdf/Ann-Burns-and-Fire-Disasters-25-207.pdf>
27. Vilató de Varona OL. La cosmética en consulta [Internet]. Camagüey, Cuba: Adelante; 2020 [citado 23 Jun 2023]. Disponible en: <http://www.adelante.cu/index.php/es/consultas-medicas/21736-la-cosmetica-en-consulta-camaguey>
28. Flores Jordi R, Palomar Gallego MA, García-Denche JT. Plasma rico en plaquetas: fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía maxilofacial y estética facial. Rev Esp Cirug Oral y Maxilofac [Internet]. Mar 2012 [citado 25 Jun 2022];34(1):[aprox. 10 p.]. Disponible en: <https://scielo.isciii.es/pdf/maxi/v34n1/original2.pdf>
29. Zaninetti C, Sachs L, Palankar R. Role of platelet cytoskeleton in platelet biomechanics: current and emerging methodologies and their potential relevance for the investigation of inherited platelet disorders. Hamostaseologie [Internet]. 2020 Apr [cited 2023 Apr 7];40(3):[about 11 p.]. Available from: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/pdf/10.1055/a-1175-6783.pdf>
30. Kim OV, Litvinov RI, Mordakhanova ER, Bi E, Vagin O, Weisel JW. Contribution of septins to human platelet structure and function. Iscience [Internet]. 2022. [cited 2023 Apr 10];25(7):[about 104654 p.]. Available from: <https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S2589-0042%2822%2900926-9>

31. Villanova López M del M. Evaluación del uso de plasma rico en plaquetas frente a ácido hialurónico en coxartrosis. Departamento de Biología Molecular, Bomedicina e Investigación Clínica [Internet]. Sevilla, España: Universidad de Sevilla; 2019 [citado 25 Jun 2022]. Disponible en: <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/89850/TD%20M.VILLANOVA%20PDF.pdf?sequence=1>
32. Varela de Seijas SM. Factores de crecimiento en concentrados de plaquetas [Internet]. Madrid, España: Universidad Complutense de Madrid; 2019 [citado 25 Jun 2022]. Disponible en: <https://docta.ucm.es/rest/api/core/bitstreams/5c770cba-bb2d-43eb-84ee-bd54aca4a6b8/content>
33. González Rincón M, Curiel G, Barreto K, Ruiz A, Quintero J, Sánchez MP, et al. Factores de crecimiento en plasma rico en plaquetas de individuos sanos tratados con agentes antiplaquetarios. Facsalud [Internet]. Jun 2022 [citado 23 Jun 2023];6(10):[aprox. 58 p.]. Disponible en: <https://ojs.unemi.edu.ec/index.php/facsalud-unemi/article/view/1579>
34. Hernández-Ramírez H, Zarate-Flores LM, Peralta-Pedrero ML, Medina-Bojórquez A, Jurado-Santa Cruz F, Morales-Sánchez MA. Eficacia y seguridad del plasma rico en plaquetas intralesional comparado con minoxidil al 5 % tópico en el tratamiento de la alopecia androgenética masculina con afectación en vértex. Rev Cent Dermatol Pascua [Internet] 2022 [citado 10 May 2023];31(1-

2):[aprox. 15 p.]. Disponible en:

<https://www.medigraphic.com/pdfs/derma/cd-2022/cd221b.pdf>

35. Sánchez Cedeño AF, Aguilar Caivinagua AS, Castillo Hidalgo EP.

Plasma rico en plaquetas y plasma gel en cicatrización por segunda intención en conejos. AD [Internet]. 2023 [citado 23 Jun 2023];6(2):[aprox. 64 p.]. Disponible en:

<https://cienciadigital.org/metaflip/index.php?pdf=https://cienciadigital.org/revistacienciadigital2/index.php/AnatomiaDigital/article/download/2535/6196/>.

36. Cuadros Corredor YL, Siabato-Moreno JC, Roque-Rodriguez A. Uso de

los factores de crecimiento presentes en el plasma rico en plaquetas como un tratamiento alternativo de lesiones músculo esqueléticas en animales. Orinoquia [Internet]. 2021 [citado 23 Jun 2023];25(1):[aprox. 64 p.]. Disponible en:

<https://orinoquia.unillanos.edu.co/index.php/orinoquia/article/view/655/184>

37. Verma R, Kumar S, Garg P, Kumar Verma Y. Platelet-rich plasma: a comparative and economical therapy for wound healing and tissue regeneration. Cell Tissue Bank [Internet] 2023 Oct [citado 5 Jul 2023];24:[aprox. 21 p.]. Available from:

<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10561-022-10039-z.pdf?pdf=button>

38. Everts P, Onishi K, Jayaram P, Lana JF, Mautner K. Platelet-rich

plasma: new performance understandings and therapeutic considerations in 2020. Int j mol scien [Internet]. 2020 Mar [cited

2023 Mar 25];21(20):[about 1 p.]. Available from:

<https://www.mdpi.com/1422-0067/21/20/7794>

39. Sharun K, Pawde AM, Pal A. Platelet-rich plasma (PRP) for skin graft enrichment: The need for a universal PRP classification system. *Int Wound J* [Internet]. 2020 Dec [cited 2023 Mar 25];17(6):[about 2 p.]. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7949253/pdf/IWJ-17-2038.pdf>

40. Lana S, Cares S, Purita J, Tambeeli C, Silva G, Paulus C, et al.

Contributions for classification of platelet rich plasma—proposal of a new classification: MARSPILL. *Reg med* [Internet]. 2017 [cited 2023 Mar 25];12(5):[about 10 p.]. Available from:

<https://www.futuremedicine.com/doi/epub/10.2217/rme-2017-0042>

41. Kon E, Di Matteo B, Delgado D, Cole BJ, Dorotei A, Dragoo JL, et al.

Platelet-rich plasma for the treatment of knee osteoarthritis: an expert opinion and proposal for a novel classification and coding system. *Exp Opin Biol Ther* [Internet]. 2020 [cited 2023 May 10];20(12):[about 11 p.]. Available from: [https://setrade.org/wp-](https://setrade.org/wp-content/uploads/2021/01/Platelet-rich-plasma-for-the-treatment-of-knee-osteoarthritis-an-expert-opinion-and-proposal-for-a-novel-classification-and-coding-system.pdf)

[content/uploads/2021/01/Platelet-rich-plasma-for-the-treatment-of-knee-osteoarthritis-an-expert-opinion-and-proposal-for-a-novel-classification-and-coding-system.pdf](https://setrade.org/wp-content/uploads/2021/01/Platelet-rich-plasma-for-the-treatment-of-knee-osteoarthritis-an-expert-opinion-and-proposal-for-a-novel-classification-and-coding-system.pdf)

42. Magalon J, Chateau AL, Bertrand B, Louis ML, Silvestre A, Giraudo L, et al. DEPA classification: a proposal for standardising PRP use and a retrospective application of available devices. *BMJ Open Sport Exerc Med* [Internet]. 2016 [cited 2023 Mar 25];2(1):[about e000060

p.]. Available from:

<https://bmjopensem.bmj.com/content/bmjosem/2/1/e000060.full.pdf>

43. Chen L, Jin S, Yao Y, He S, He J. Comparison of clinical efficiency between intra-articular injection of platelet-rich plasma and hyaluronic acid for osteoarthritis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Ther Adv Musculoskelet Dis* [Internet] 2023 [cited 2023 May 10];15:[about 16 p.]. Available from:
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10026092/pdf/10.1177_1759720X231157043.pdf
44. Gentile P, Calabrese C, De Angelis B, Dionisi L, Pizzicannella J, Kothari A, et al. Impact of the different preparation methods to obtain autologous non-activated platelet-rich plasma (A-PRP) and activated platelet-rich plasma (AA-PRP) in plastic surgery: wound healing and hair regrowth evaluation. *Int j molec scien* [Internet]. 2020 [cited 2023 Mar 20];21(22):[about 1 p.]. Available from:
<https://www.mdpi.com/1422-0067/21/2/431>
45. García Sánchez JM. Estudio sobre la cicatrización de la zona donante de injerto de piel parcial en pacientes quemados tras aplicación de plasma rico en plaquetas o plasma rico en factores de crecimiento frente a la forma terapéutica habitual [Internet]. Valencia, España: Universidad de Valencia, Medicina Departamento de Patología; 2019 [citado 16 Jun 2023]. Disponible en:
<https://roderic.uv.es/bitstream/handle/10550/70874/TESIS%20JOS%20MAR%c3%8dA%20GARC%c3%8dA%20S%c3%81NCHEZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

46. Croisé B, Paré A, Joly A, Louisy A, Laure B, Goga D. Optimized centrifugation preparation of the platelet rich plasma: Literature review. *Jo Stomat Oral Max Surg* [Internet]. 2020 [cited 2023 May 6];121(2):[about 5 p.]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S246878551930165X>
47. Gómez Gómez B, Rodríguez-Weber FL, Díaz-Greene EJ. Fisiología plaquetaria, agregometría plaquetaria y su utilidad clínica. *Med interna Méx* [Internet]. 2018 [citado 8 May 2023];34(2):[aprox. 19 p.]. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-48662018000200007&lng=es
48. Theofilis P, Sagris M, Oikonomou E, Antonopoulos AS, Tsioufis K, Tousoulis D. Factors Associated with Platelet Activation-Recent Pharmaceutical Approaches. *Int J Mol Scienc* [Internet] 2022 [cited 2023 Jul 3];23(6):[about 3301 p.]. Available from: [https://www.jaad.org/article/S0190-9622\(19\)30629-2/fulltext](https://www.jaad.org/article/S0190-9622(19)30629-2/fulltext)
49. Scridon A. Platelets and Their Role in Hemostasis and Thrombosis- From Physiology to Pathophysiology and Therapeutic Implications. *Int J Mol Scienc* [Internet]. 2022 [cited 2023 Jul 15];23(21):[about 12772 p.]. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/21/12772>
50. Machado ES, Soares FP, Yamaguchi RS, William KF, Robert M, Tais Amara C, et al. A Simple Double-Spin Closed Method for Preparing Platelet-Rich Plasma. *Cureus* [Internet]. 2022 [cited 2023 May

6];14(1):[about e20899 p.]. Available from:

https://assets.cureus.com/uploads/original_article/pdf/81542/20220202-32075-hdhca6.pdf

51. Pérez-Montesinos G, Medina-Bojórquez A, Hernández-Ramírez H, Martha Morales-Sánchez A, Peralta-Pedrero ML, Jurado-Santa Cruz F. Plasma rico en plaquetas: estudio comparativo de cuatro protocolos para su obtención. Rev Cent Dermatol Pascua [Internet]. 2017 [citado 6 May 2023];26(2):[aprox. 4 p.]. Disponible en:
<https://www.medigraphic.com/pdfs/derma/cd-2017/cd172a.pdf>
52. Valadez Báez XL, Hernández Santos JR, Torres Huerta C, Tenopala Villegas S, Canseco Aguilar CP. Método óptimo para la obtención de plasma rico en plaquetas en el Servicio de Clínica del Dolor del CMN 20 de noviembre ISSSTE. Rev Soc Esp Dolor [Internet]. 2016 [citado 30 May 2022];23(4):[aprox. 6 p.]. Disponible en:
<https://scielo.isciii.es/pdf/dolor/v23n4/original2.pdf>
53. García Ruiz LA. Estudio comparativo de 4 protocolos para la obtención de plasma rico en plaquetas (PRP) [Internet]. Caracas, Venezuela: Universidad Santa María; 2020 [citado 5 May 2023]. Disponible en:
<https://ons.pe/intranet/20/20.pdf>
54. Fariña Sirandoni PA, Pulgar Aguila RA, Molina Cofré AI. Evaluación de cinco protocolos estándar para la obtención de plasma rico en plaquetas en caninos. Spei Domus [Internet]. 2020 [citado 4 May 2023];16(1):[aprox. 16 p.]. Disponible en:
<https://revistas.ucc.edu.co/index.php/sp/article/view/3553/3046>

55. Kawase T, Okuda K. Comprehensive Quality Control of the Regenerative Therapy Using Platelet Concentrates: The Current Situation and Prospects in Japan. *Bio Med Research International* [Internet]. 2018 [cited 2023 May 5];(10):[about 2 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1155/2018/6389157>
56. Nicolae Popescu M, Gabriela Iliescu M, Beiu C, Gabriela Popa L, Mădălina Mihai M, Mirela Ionescu A, et al. Autologous Platelet-Rich Plasma Efficacy in the Field of Regenerative Medicine: Product and Quality Control. *Bio Med Research International* [Internet]. 2021 [cited 2023 May 5];2021:[about 6 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1155/2021/4672959>
57. Bennardo F, Gallelli L, Palleria C, Colosimo M, Fortunato L, De Sarro G, et al. Can platelet-rich fibrin act as a natural carrier for antibiotics delivery? A proof-of-concept study for oral surgical procedures. *BMC Oral Health* [Internet]. 2023 [cited 2023 May 5];23(1):[about 10 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9996939/>.
58. Collins T, Alexander D, Barkatali B. Platelet-rich plasma: a narrative review. *EFORT Open Rev* [Internet]. 2021 [cited 2023 May 5];6(4):[about 11 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8142058/pdf/eor-6-225.pdf>
59. Regulación No. M 74-1 Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de sangre. Cuba [Internet]. La Habana: CECMED; 2014 [citado 5 May 2023]. Disponible en:

https://www.cecmecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/res_no_153_la_regulacion.pdf

60. Yáñez Chamizo B, Yanelis Martínez P, González Cabeza Y, Figueroa Pérez R, Pérez Gutiérrez J, Hechavarría Miláet JA, et al. Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos (CECMED) Administración de Riesgo a la Calidad. Su enfoque regulador en las Buenas Prácticas de Fabricación [Internet]. La Habana: CECMED; 2017 [citado 7 May 2023].

Disponible en:

https://www.cecmecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/DocsLicencias/bfarmaceuticas_0.pdf

61. Guidelines. The Rules Governing Medicinal Products in the European Union Volume 4 EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use [Internet].

Brussels: European Commission; 2022 [cited 2023 May 5]. Available from: [https://health.ec.europa.eu/system/files/2022-](https://health.ec.europa.eu/system/files/2022-03/vol4_annex21_en.pdf)

[03/vol4_annex21_en.pdf](https://health.ec.europa.eu/system/files/2022-03/vol4_annex21_en.pdf)

62. Haddock R, Lin-Gibson S, Lumelsky N. Manufacturing cell therapies: the paradigm shift in health care of this century [Internet].

Washington, DC: The National Academies Press; 2017 [cited 2023 May 8]. Available from: [https://nam.edu/wp-](https://nam.edu/wp-content/uploads/2017/06/Manufacturing-Cell-Therapies.pdf)

[content/uploads/2017/06/Manufacturing-Cell-Therapies.pdf](https://nam.edu/wp-content/uploads/2017/06/Manufacturing-Cell-Therapies.pdf)

63. Oeller M, Laner-Plamberger S, Krisch L, Rohde E, Strunk D,

Schallmoser K. Human Platelet Lysate for Good Manufacturing Practice-Compliant Cell Production. Int J Mol Sci [Internet].

2021 [cited 2023 May 7];22(10):[about 1 p.]. Available from:

<http://dx.doi.org/10.3390/ijms22105178>

64. Kawase T, Takahashi A, Watanabe T, Tsujino T. Proposal for point of care testing of platelet rich plasma quality. Int J Growth Factors Stem Cells Dent [Internet]. 2018 Jan [cited 2023 May 7];2(1):[about 8 p.]. Available from:

https://www.imbiodent.com/articulos/imagenes/articulos/pdfs/90/61.-intjgrowthfactorsstemcellsdent000-4785225_131732.pdf

65. Guevara Arismendy NM, Tangarife-Castaño VJ. Fase preanalítica: punto crítico en las pruebas de diagnóstico hematológico. Med Lab [Internet]. 2016 [citado 15 Ene 2022];22(9-10):[aprox. 35 p.].

Disponible en:

<https://medicinaylaboratorio.com/index.php/myl/article/view/91/78>

66. Resolución No. 111/2021. Regulación D 03-21 Buenas Prácticas De Laboratorio Clínico [Internet]. La Habana: CECMED; 2021 [citado 26 Abr 2023]. Disponible en:

<https://www.cecmecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/ResRegBPLC%20firmada.pdf>

67. Díaz Padilla D, Santoyo Pérez M. El Laboratorio Clínico en la mejoría continúa de la calidad. Rev Ciencias Médicas [Internet]. Jun 2019 [citado 3 May 2023];23(3):[aprox. 3 p.]. Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S156131942019000300357&lng=es

68. Suardiáz Espinosa ME, Aguirre Guillot J, Garciarena Peñate I, Alonso Rodríguezn CA. Importancia de la fase preanalítica para el

laboratorio clínico. Acta Méd [Internet]. 2021 [citado 19 Ene 2022];22(1):[aprox. 12 p.]. Disponible en:

<http://www.revactamedica.sld.cu/index.php/act/article/view/167>

69. Pinto Ortegón LC. Aseguramiento de la calidad y competencia técnica en un laboratorio clínico basado en la NTC/ISO 15189:2014 [Internet]. Colombia: Fundación Universidad de América; 2021 [citado 15 Ene 2023]. Disponible en:

<http://repository.uamerica.edu.co/handle/20.500.11839/8503>

70. NC ISO 23640:2018. Dispositivos médicos para diagnóstico in vitro. Evaluación de la estabilidad de los reactivos para diagnóstico In Vitro [Internet]. La Habana, Cuba: MINSAP/CECMED; 2020 [citado 15 Ene 2023]. Disponible en:

<https://documents.pub/document/dispositivos-mdicos-para-diagnostico-in-vitro.html?page=4>

71. Anexo 5. Directrices para las pruebas de estabilidad de productos farmacéuticos que contienen sustancias medicamentosas bien establecidas en formas farmacéuticas corrientes [Internet]. Región América: PHAO; 2008 [citado 15 Ene 2023]. Disponible en:

https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2008/5_Anexo_5_del_informe_34.pdf

72. Quesada Leyva L, Quintana Verdecia E, Nicolau Pestana E, Brunet Bernal G, Fuentes Díaz Z, Hernández Rodríguez M. Estabilidad del plasma rico en plaquetas obtenido en sistema abierto. Rev. Cubana. Hematol. Inmunol. Hemoter [Internet]. 2023 [citado 17 May

2023];39(1):[aprox. 12 p.].Disponible en:

<https://revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/1795>

73. Regulación M 116- 23. Requisitos para los estudios de estabilidad de productos farmacéuticos terminados nuevos y conocidos [Internet]. La Habana, Cuba: CECMED; 2023 [citado 15 Feb 2023]. Disponible en:

<https://www.cecmecmed.cu/file/11864/download?token=3QUGa9YS>

74. Australian regulatory guideline for over-the-counter medicines.

Appendix 2: Guidelines on quality aspects of OTC applications [Internet]. Australia: Australia Government/Department of Health Ageing; 2021 [cited 2023 May 8]. Available from:

<https://www.tga.gov.au/sites/default/files/argom-appendix-2-guidelines-quality-aspects-otc-applications.pdf>

75. Reglamento técnico centroamericano. Productos Farmacéuticos.

Estudios de estabilidad de medicamentos para uso humano. Anexo de la resolución N^o 256-2010 [Internet]. COMIECO; 2010 [citado 25 Jun 2023]. Disponible en:

<https://arsa.gob.hn/public/archivos/ESTUDIOS-DE-ESTABILIDAD-DE-MEDICAMENTOS-PARA-USO-HUMANO.-RTCA11.01.04-10.pdf>

76. Norma técnica N 129. Guía de estabilidad de productos farmacéuticos. [Internet]. Chile: MINSAL; 2019 [citado 15 Mar 2023]. Disponible en: <https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2019/06/Consulta-Pu%CC%81blica-Norma-Te%CC%81cnica-Estabilidad.pdf>

77. Machado Almeyda MI, Más López CJ. Procedimiento para el cálculo del costo por productos en la Empresa de la Sal, La Habana, Cuba. Cofin Habana [Internet]. 2022 [citado 12 May 2023];16(2):[aprox. e11 p.]. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S207360612022000200011&lng=es&tlng=es
78. Blanco García Y, Columbié Pérez LA, Bell Batista Y, Leyva Cisneros D. Procedimiento para el cálculo del costo de los servicios hospitalarios. Rev obs de las cien soc Iberoam [Internet]. 2021 [citado 30 May 2023];2(13):[aprox. 29 p.]. Disponible en:
<https://www.eumed.net/uploads/articulos/f49a05b55aa0165a9d2d8ad5711de14f.pdf>
79. Reyes Hernández R, Becerra Suárez K, Gómez Alfonso E, Pérez Falco G, Pérez Guevara D. Determinación y análisis de los costos de extracción de plasma en el banco de sangre de Cienfuegos. Cuba. Rev cient [Internet]. 2013 [citado 7 May 2023];17(1):[aprox. 9 p.]. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=357935480003>
80. Cardoso Montalván AI, García Lorenzo DM, García Maceira JF. Evaluación de la factibilidad económico financiera del proyecto de inversión: Centro Cultural Julio Antonio Mella. Cienfuegos. Universidad y Sociedad. [Internet]. 2019 [citado 10 Jul 2023];11(5):[aprox. 10 p.]. Disponible en:
<http://rus.ucf.edu.cu/index.php/rus>

81. Parlamento Europeo y Consejo. Reglamento (UE) 2017/746 sobre productos sanitarios para diagnóstico in vitro y por el que se derogan la Directiva 98/79/CE y la Decisión de la Comisión 2010/227/UE. J Eur Unión [Internet]. 2017 [citado 11 Jul 2023];117:[aprox. 156 p.]. Disponible en: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32017R0746>
82. Popescu MN, Iliescu MG, Beiu C, Popa LG, Mihai MM, Berteanu M, et al. Autologous platelet-rich plasma efficacy in the field of regenerative medicine: product and quality control. BioMed Res Int [Internet]. 2021 [cited 2023 Jul 10];2021:[about 6 p.]. Available from: https://pdfs.semanticscholar.org/731c/f63deb24ad77262b9042f60d66a713c85b3d.pdf?_gl=1*1f3ud3q*_ga*MTYyMTc3NTIyLjE2ODAA4Nzg1NDU.*_ga_H7P4ZT52H5*MTY4OTExNDgzNy4zLjEuMTY4OTExNDk4NS41NC4wLjA
83. Malavolta EA, Gracitelli MEC, Sunada EE, Benegas E, Prada F de S, Bolliger Neto R, et al. Platelet-rich plasma in arthroscopic repairs of complete tears of the rotator cuff. Rev Bras Ortop [Internet]. 2012 [cited 2023 Mar 20];47(6):[about 7 p.]. Available from: <https://www.scielo.br/j/rbort/a/s9PKkSVdzFGXpm6hgxDGtGr/?lang=e>
84. Pellicer García V. Controversias del empleo de plasma rico en plaquetas en cirugía ortopédica y traumatología: reparación y aplicación. Rev esp cir osteoart [Internet]. 2015 [citado 10 May 2023];50(264):[aprox. 9 p.]. Disponible en:

<https://roderic.uv.es/bitstream/handle/10550/53816/184-192.pdf?sequence=1&isAllowed=y 67>

85. Fundación para la calidad en transfusión sanguínea. Estándares en hemoterapia. 5ta ed [Internet]. España: Catransfusión; 2019 [citado 10 May 2023]. Disponible en:
http://www.catransfusion.es/media/upload/arxiu/estandares/HEMO_TERAPIA_CAT_20_19.pdf
86. Declaración de Helsinki de la AMM. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos [Internet]. Brasil: Asamblea General Fortaleza; 2013 [citado 11 Oct 2023]. Disponible en:
<http://www.fecicla.org/archivos/articulos/DoH%202013%20ESP.pdf>
87. ISO 15189 Medical laboratories-Requirements for quality and competence. 4rd ed [Internet]. Geneva: International Organization for Standardization; 2022 [cited 2023 Mar 20]. Available from:
<https://www.iaclld.com/UpFiles/Documents/2e096ce5-485b-4f22-b7be-e557fb7d06f8.pdf>
88. Colina Rodríguez AJ, Carballo Carballo T, Tilfredo Torres W. Laboratorio clínico en los trastornos de la hemostasia. En: Suardiáz Pareras J, Cruz Rodríguez C, Colina Rodríguez A, editores. Laboratorio clínico [Internet]. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2004 [citado 10 Jul 2023]:[aprox. 325 p.]. Disponible en:
http://www.bvs.sld.cu/libros_texto/laboratorio_clinico/completo.pdf
89. Checa Rojas A. Método: Conversión de las fuerzas g (RCF) a revoluciones por minuto (rpm) y Equilibrio del rotor [Internet].

Estados Unidos: Conogasi.org; 2023 [citado 6 May 2023].

Disponible: <https://conogasi.org/articulos/metodo-conversion-de-las-fuerzas-g-rcf-a-revoluciones-por-minuto-rpm-y-equilibrio-del-rotor/>.

90. Ministerio de Salud Pública. Manual de instrucciones y procedimientos de costos en salud [Internet]. La Habana, Cuba: Ministerio de Salud Pública; 2012 [citado 20 Jul 2023]. Disponible en:

<http://www.dncontabilidad.sld.cu/Doc/act/manuales/Manual-de-Costos-en-salud.1.pdf>

91. Norma Cubana de contabilidad №. 7 “activos fijos tangibles” (NCC №. 7). Resolución No.1038/2017 [Internet]. La Habana, Cuba:

Ministerio Finanzas y Precio; 2017 [citado 20 Jul 2023]. Disponible en: <https://www.mfp.gob.cu/ficheros/disposiciones/RES-1038-17.pdf>

92. Norma Internacional de Contabilidad 16. Propiedades, Planta y Equipo. [Internet]. Perú: IFRS Foundation; 2015 [citado 20 Jul 2023].

Disponible en:

https://www.mef.gob.pe/contenidos/conta_public/con_nor_co/vigentes/nic/16_NIC.pdf

93. Gomri F, Vischer S, Turzi A, Berndt S. Swiss Medical Devices for Autologous Regenerative Medicine: From Innovation to Clinical Validation. *Pharmaceutics* [Internet]. 2022 Aug 2 [cited 2023 Mar 20];14(8):[about 12 p.]. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9413293/pdf/pharmaceutics-14-01617.pdf>

94. Mota ML, Barreto RB, Leite BR, Cavalcante BCCD. Development of a Device to Obtain Platelet-Rich Plasma (PRP). Rev Bras Ortop (Sao Paulo) [Internet]. 2021 [cited 2023 Mar 15];57(2):[about 6 p.]. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9142259/>.
95. Miguel Pastor L, Satué K, Chicharro D, Torres Torrillas M, Romero A Del, Peláez P, et al. Evaluation of a Standardized Protocol for Plasma Rich in Growth Factors Obtention in Cats: A Prospective Study. Front Vet Sci [Internet]. 2022 [cited 2023 Mar 20];9:[aprox. 866547 p.]. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9047018/pdf/fvets-09-6547.pdf>
96. Bausset O, Giraud L, Veran J, Magalon J, Coudreuse JM, Magalon G, et al. Formulation and storage of platelet-rich plasma homemade product. Biores Open Access [Internet]. 2012 [cited 2023 Jul 10];1(3):[about 8 p.]. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3559222/pdf/biores.2012.0225.pdf>
97. Claudio Pérez N, Gisselle Escobar A, Pablo Soto B, Camila Ibarra C, Milton Larrondo L, Jorge Alfaro L. Obtención de plasma rico en plaquetas (PRP) en el Laboratorio de Terapia Celular para uso como herramienta terapéutica en medicina regenerativa. Rev Hosp Clín Univ Chile [Internet]. 2021 [citado 20 Mar 2023];32:[aprox. 13 p.]. Disponible en:
<https://www.redclinica.cl/Portals/0/Users/014/14/14/1950.pdf>

98. He M, Chen T, Lv Y, Song P, Deng B, Guo X, et al. The role of allogeneic platelet-rich plasma in patients with diabetic foot ulcer: Current perspectives and future challenges. *Front Bioeng Biotechnol* [Internet]. 2022 Sep 29 [cited 2023 Mar 20];10:[about 9 p.]. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9557159/pdf/fbioe-10-993436.pdf>
99. Muthu S, Krishnan A, Ramanathan KR. Standardization and validation of a conventional high yield platelet-rich plasma preparation protocol. *Ann Med Surg (Lond)* [Internet]. 2022 [cited 2023 Mar 20];82:[about 12 p.]. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9577528/pdf/main.pdf>
100. Apakupakul J, Sattasathuchana P, Chanloinapha P, Thengchaisri N. Optimization of a rapid one-step platelet-rich plasma preparation method using syringe centrifugation with and without carprofen. *BMC Vet Res* [Internet]. 2020 [cited 2023 Mar 15];16(1):[about 1 p.]. Available from:
<https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-020-02350-2>
101. Kivrak A, Ulusoy I. Comparison of the Clinical Results of Platelet-Rich Plasma, Steroid and Autologous Blood Injections in the Treatment of Chronic Lateral Epicondylitis. *Healthcare* [Internet]. 2023 [cited 2023J 10];11(5):[about 767 p.]. Available from:
<https://www.mdpi.com/2227-9032/11/5/767>

102. Leite Ribeiro AP, Renaud Baptista de Oliveira BG. Production cost of autologous platelet rich plasma gel. Rev. Latino-Am. Enfermagem [Internet]. 2019 [cited 2023 May 10];27:[about e3221 p.]. Available from:
<https://www.scielo.br/j/rlae/a/xC4sS3TwwYhvFsHBBHDPXwg/?format=pdf&lang=en>
103. Piuizzi NS, Ng M, Kantor A, Ng K, Kha S, Mont MA, et al. What Is the Price and Claimed Efficacy of Platelet-Rich Plasma Injections for the Treatment of Knee Osteoarthritis in the United States? J Knee Surg [Internet]. 2019 [cited 2023 May 10];32(9):[about 7 p.]. Available from:
<https://www.thiemeconnect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0038-1669953>
104. Shariff AM. Cost Effectiveness of a Platelet-rich Plasma Preparation Technique for Clinical Use. Wounds [Internet]. 2018 [cited 2023 Jul.15];30(7):[about 4 p.]. Available from:
<https://www.hmpgloballearningnetwork.com/site/wounds/article/cost-effectiveness-platelet-rich-plasma-preparation-technique-clinical-use>
105. Bradley JP, Lawyer T, Ruef S, Towers JD, Arner JW. Platelet-rich plasma shortens return to play in National Football League players with acute hamstring injuries. Orthop J Sports Med [Internet]. 2020 [cited 2023 Jul 15];8(4):[about 5 p.]. Available from:
https://www.researchgate.net/publication/340724945_Platelet-

[Rich Plasma Shortens Return to Play in National Football League Players With Acute Hamstring Injuries](#)

106. Zhou Y, Li H, Cao S, Han Y, Shao J, Fu Q, et al. Clinical Efficacy of Intra-Articular Injection with P-PRP Versus that of L-PRP in Treating Knee Cartilage Lesion: A Randomized Controlled Trial. *Orthop Surg* [Internet]. 2023 [cited 2023 Jul 15];15:[about 9 p.]. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/os.13643>
107. Chahla J, Cinque ME, Piuizzi NS, Mannava S, Geeslin AG, Murray IR, et al. A Call for Standardization in Platelet-Rich Plasma Preparation Protocols and Composition Reporting: A Systematic Review of the Clinical Orthopaedic Literature. *J Bone Joint Surg Am* [Internet]. 2017 [cited 2023 May 10];99(20):[about 10 p.]. Available from: <https://www.jorgechahlamd.com/wp-content/uploads/2019/12/A-Call-for-PRP.pdf>
108. Rojo Gutiérrez MA, Padilla-Oviedo A, Riojas RM. La innovación y su importancia. *Rev Cient UISRAEL* [Internet]. 2019 [citado 10 May 2023];6(1):[aprox. 13 p.]. Disponible en: <http://scielo.senescyt.gob.ec/pdf/rcuisrael/v6n1/2631-2786-rcuisrael-6-01-00009.pdf>
109. Oslo Manual 2018. Guidelines for Collecting, Reporting and Using Data on Innovation. 4th ed [Internet]. Luxembourg: Paris/Eurostat; 2018 [cited 2023 May 10]. Available from: <https://www.oecdilibrary.org/docserver/9789264304604->

[en.pdf?expires=1693174973&id=id&accname=guest&checksum=305D21FFDCF0435DF5E4630C6C6490CE](https://www.revistaamc.sld.cu/index.php/amc/article/view/5059)

110. Quesada Leyva L. Servicio científico técnico para la terapia regenerativa en la provincia de Camagüey. Arch Méd Camagüey [Internet]. 2017 [citado 10 Oct 2023];21(2):[aprox. 2 p.].
Disponibile en:
<http://www.revistaamc.sld.cu/index.php/amc/article/view/5059>
111. Fernández Ávila DG, Ximena Rojas M, Rosselli D. El método Delphi en la investigación en reumatología: ¿lo estamos haciendo bien? Rev Colomb Reumatol [Internet]. 2020 [citado 2023 Ago 8];27(3):[aprox. 12 p.]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-colombiana-reumatologia-374-pdf-S0121812319300374>
112. García Moreiro RD, Ayup García D, Mendoza Mendoza N, Milián Vázquez PM, Castañeda Abascal IE. Validación Delphi de una estrategia de intervención para mejorar el clima organizacional en centros diagnósticos integrales venezolanos. Revista Universidad y Sociedad. [Internet] 2023 [citado 2023 Ago 8];15(1):[aprox. 11 p.]. Disponible en:
<https://rus.ucf.edu.cu/index.php/rus/article/view/3589/3531>
113. Anexo, I. Buenas prácticas para laboratorio de control de medicamentos. Validación de Métodos Analíticos [Internet]. La Habana, Cuba: Centro Estatal para el Control de Medicamentos (Cecmed); 2013 [citado 8 Ago 2023]. Disponible en:

https://www.cecmecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/validacion_de_metodos_analiticos.pdf

114. Regulación No. 25-2000. Requerimientos de los estudios de estabilidad para el registro de productos biológicos y biotecnológicos. (Documento regulatorio) [Internet]. La Habana, Cuba: Centro para el Control Estatal de los Medicamentos (Cecmed); 2004 [citado 8 Ago 2023]. Disponible en:
https://www.cecmecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/Reg_25-00.pdf
115. Regulación M 116- 23. Requisitos para los estudios de estabilidad de productos farmacéuticos terminados nuevos y conocidos [Internet]. La Habana, Cuba: CECMED; 2023 [citado 15 Feb 2023]. Disponible en:
<https://www.cecmecmed.cu/file/11864/download?token=3QUGa9YS>
116. Born GV, Cross MJ. The aggregation of blood platelets. J Physiol [Internet]. 1963 [cited 2023 May 20];168:[about 17 p.]. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1359417/pdf/jphysiol01214-0203.pdf>
117. Guevara Arismendi NM, Escobar Gallo GE, Campuzano Maya G. Clinical utility of platelet aggregometry. Med Labor [Internet]. 2012 [cited 2023 May 7];18(7-8):[about 21 p.]. Available from:
<https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2012/myl127-8b.pdf>

118. Sachs UJ, Röder L, Cooper N, Radon Ch, Kolde HJ. Automated Light Transmission Aggregometry with and without Platelet Poor Plasma Reference: A Method Comparison. TH Open [Internet]. 2023 [cited 2023 May 7];7(1):[about 9 p.]. Available from: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/pdf/10.1055/s-0043-1762588.pdf>
119. Cruz Ramírez M, Rúa Vásquez JA. Surgimiento y desarrollo del método Delphi: una perspectiva cuantitativa. Biblios [Internet]. 2 Jul 2018 [citado 3 Jul 2023];(71):[aprox. 8 p.]. Disponible en: <http://biblios.pitt.edu/ojs/biblios/article/view/470>
120. Lagarto Parra A, García Peña C, Gabilondo Ramírez T, Triana Manso O. Validación del método de valoración biológica de gonadotrofina coriónica humana. Rev Cubana Farm [Internet]. Jun 2012 [citado 8 Ago 2023];46(2):[aprox. 7 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152012000200006&lng=es
121. Hauschild G, Geburek F, Gosheger G, Eveslage M, Serrano D, Streitbürger A, et al. Short term storage stability at room temperature of two different platelet-rich plasma preparations from equine donors and potential impact on growth factor concentrations. BMC Veterinary Research [Internet]. 2017 [cited 2023 May 7];13(7):[about 9 p.]. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5216599/pdf/12917_2016_Article_920.pdf

122. Anitua E, Muruzábal F, Riestra A, Fuente M de la, Merayo Lloves J. Galenic validation of plasma rich in growth factors eye drops. Farm Hosp [Internet]. 2019 [cited 2022 Abr 24];43(2):[aprox. 5 p.]. Available from: <https://scielo.isciii.es/pdf/fh/v43n2/2171-8695-fh-43-02-45.pdf>
123. Sykes C. Time- and Temperature-Controlled Transport: Supply Chain Challenges and Solutions. P & T [Internet]. 2018 Mar [cited 2023 May 7];43(3):[about 5 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5821242/pdf/ptj4303154.pdf>
124. Denessen EJS, Van Den Kerkhof DL, Jeurissen MLJ, Wetzels RJH, Verhezen P WM, Henskens YMC. Determining the optimal storage time and temperature for performing platelet function assays and global hemostasis assays. Platelets [Internet]. 2022 [cited 2023 May 7]; 33(3):[about 8 p.]. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/epdf/10.1080/09537104.2021.1934666?needAccess=true&role=button>
125. Mukti MI, Tambuna BA. The Effect of Long Storage of Thrombocyte Concentrate Blood Components on Beta Thrombomodulin Levels, Thrombocyte Number and Mean Platelet, Volume (MPV). Italienisch [Internet]. 2022 [cited 2023 May 7];12(2):[about 4 p.]. Available from: <https://www.italienisch.nl/index.php/VerlagSauerlander/article/view/446/423>

126. Mesa González L, Castañeda Travieso M, Montero López M, Mojena López X, Ricardo Ricardo N, Jiménez Sosa M. Estudio de agregación plaquetaria con diferentes agonistas. Valores de referencia. Rev cubana med [Internet]. 2017 [citado 10 May 2023];56(1):[aprox. 10 p.]. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232017000100005
127. Sachs U, Röder L, Cooper N, Radon Ch, Kolde HJ. Automated Light Transmission Aggregometry with and without Platelet Poor Plasma Reference: A Method Comparison. TH Open [Internet]. 2023 [cited 2023 May 11];7:[about 9 p.]. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9946786/pdf/10-1055-s-0043-1762588.pdf>
128. Platton S, McCormick Á, Bukht M, Gurney D, Holding I, Moore GW. A multicenter study to evaluate automated platelet aggregometry on Sysmex CS-series coagulation analyzers-preliminary findings. Res Pract Thromb Haemost [Internet]. 2018 Jun 10 [cited 2023 May 10];2:[about 12 p.]. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6178605/pdf/RTH2-2-778.pdf>

6. ANEXOS

Anexo 1.

Consentimiento informado

El (La) que suscribe, _____ y en uso de mis facultades, libre y voluntad, declaro que he sido informado (a) por la investigadora principal acerca del procedimiento a seguir en la investigación. He recibido información verbal durante la entrevista sobre la naturaleza, propósitos, beneficios y alternativas de esta investigación, así como de los medios con los que se cuenta para realizarla y otorgo mi consentimiento para formar parte de la muestra de dicha investigación.

Conozco mi derecho de revocar mi consentimiento en el momento que yo lo considere.

Dado a los _____ días del mes de _____ de 20__.

Nombre y Apellidos _____

Firma _____

Anexo 2

Procedimiento para la obtención de PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria.

CENTRO DE INMUNOLOGÍA Y PRODUCTOS BIOLÓGICOS	Código: R.01.PE.SGC.10	
	Fecha: 12/2/2020	Ejemplares:
UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS	Página 1-7	
Procedimiento para la obtención del plasma rico en plaquetas autólogo en técnica abierta ambulatoria.	Edición: 1	Revisión:

Procedimiento de obtención del plasma rico en plaquetas autólogo en técnica abierta ambulatoria.

1. OBJETIVO:

Obtener el plasma rico en plaquetas autólogo en técnica abierta ambulatoria.

2. ALCANCE:

Sangre venosa.

3. RESPONSABILIDADES:

Implantación: Jefa del proyecto

Ejecutor: Especialistas y técnicos del departamento de laboratorio clínico

Control: Jefe Sistema de Gestión de Calidad (SGC)

4. TÉRMINOS Y DEFINICIONES:

4.1 Términos.

PRP: Plasma rico en plaqueta

PPP: Plasma pobre en plaqueta

4.2 Definiciones.

El PRP se define como es un volumen biológico autólogo que tiene una concentración de plaquetas superior a la del plasma en condiciones basales (plasma autólogo con concentración $>150 - 450 \times 10^9/L$).

El PPP se define como una fracción de plasma con concentración de plaquetas en condiciones basales ($150 - 450 \times 10^9/L$).

5 OPERACIONES PRELIMINARES:

5.1 Obtención y procesamiento de la muestra.

Se realiza una toma de muestra de sangre periférica para la medición de concentración de plaquetas. El número de plaquetas se mide en sangre total anticoagulada. Se utilizan como anticoagulantes: sal disódica, dipotásica o tripotásica del ácido etilendiamino tetraacético (EDTA) a una concentración de 1,5 mg/mL de sangre.

El conteo se realiza con una cámara contadora de células con rayado de Neubauer modificado en un microscopio, previa dilución de la sangre 1/100 en oxalato de amonio al 1 %. Se llena la cámara y después de un tiempo en reposo, se realiza el recuento de las células en los cuadrados centrales de ambos lados de la cámara. El número total de células contadas se divide entre dos y el resultado es el número de plaquetas multiplicado por $10^9/L$.

5.2 Equipamiento, locales, materiales y reactivos

1. Torundas de algodón estéril (paquetes de tres torundas)
2. Alcohol al 76 % (según política de bioseguridad)
3. Jeringuilla estéril (20 mL, 10 mL y 5 mL)
4. Ligadura
5. Guantes de examen
6. Lápiz cristalográfico (para identificación de las muestras)
7. Tubos de centrífuga graduados (2) con tapa, con el contenido de 1 mL de citrato de sodio al 1,29 mol/L (para depositar la sangre) Anticoagulante: citrato de sodio al 0,29 mol/L

Nota: diluir el anticoagulante 1:10 para utilizarlo al 0,129 mol/L

8. Recipientes de desechos (común, biológico y cortopunzante)
9. Recipiente con hipoclorito al 0,1 % (según la política de bioseguridad) para desechar las jeringuillas que contengan restos de sangre.

5.3 Procesamiento de la muestra:

En el procesado de la sangre para obtener PRP mediante la técnica abierta se debe garantizar que el producto no se contamine durante su manipulación ya que en el proceso el producto queda expuesto al ambiente de la zona de trabajo y entra en contacto con diferentes materiales que es necesario utilizar para su obtención como son pipetas o tubos de recogida del producto. Así mismo, a fin de evitar una contaminación cruzada en el procesado de las muestras para la elaboración del PRP, se debe seguir la premisa de una única muestra en el mismo espacio y al mismo tiempo.

Después de depositada la sangre por las paredes del tubo de centrifuga graduado hasta la marca de 10 mL (para evitar hemólisis o formación de espuma) se procede a la centrifugación.

5.4 Centrifugación:

Material de trabajo: centrífuga que alcance la velocidad de 726 g (1 800 rpm)

La centrifugación se basa en la fuerza g en lugar de la rpm. La fuerza g se obtiene con el cálculo del tamaño de los rotores de la centrifuga, con las siguientes fórmulas: no obstante, en la investigación la centrifuga está regulada en fuerza g.

Fuerza g (RCF) = $(\text{rpm})^2 \times 1.118 \times 10^{-5} \times r$

RPM = $\sqrt{[\text{RCF}/(r \times 1.118)] \times 1 \times 10^5}$

5.5 Procedimiento:

1-Coloque los tubos de centrifuga graduados con sangre dentro de la centrífuga, calibrados uno frente al otro.

2-Tape la centrífuga y proceda a la centrifugación 726 g (1 800 rpm) por 10 minutos).

3-Cumplido el tiempo retire los tubos de la centrífuga con mucho cuidado de no volver a mezclar el paquete de glóbulos con el plasma.

5.6 Separación del plasma pobre en plaquetas (PPP) y del plasma rico en plaquetas (PRP)

Material de trabajo:

- Pipeta Pasteur
- Tubos de ensayo de 12x75 mm (2)

- Pipeto o pera de seguridad
- Cristalográfica
- Tubo de centrifuga graduado con la muestra centrifugada
- Gradilla para tubos de ensayo.

Separación del PRP autólogo:

1. Identifica los tubos de ensayo de 12x75mm con el cristalográfico uno con PRP y el otro con PPP.
2. Coloca el pipeto en la pipeta Pasteur.
3. Destapa los tubos de centrifuga graduados.
4. Extrae la primera porción del plasma que corresponde al PPP con una aproximación de 2-3 mL.
5. Tapa el tubo de centrifuga graduado con la muestra.
6. Deposita lo extraído en el tubo de ensayo de 12x75 mm identificado como PPP.
7. Tapa el tubo de ensayo de 12x75 mm con el PPP extraído.
8. Extrae el plasma restante (más próximo a la capa de leucocitos) que corresponde al PRP con una aproximación de 2-3 mL. Deposita en el tubo de ensayo de 12 x75 mm identificado como PRP.
9. Tapa el tubo de ensayo de 12 x7 5mm con el PRP extraído. Quedando de esta forma aislado el PRP (plasma autólogo con concentración $>150 - 450 \times 10^9/L$).
10. Si es necesario, almacene el PRP autólogo a temperatura de 4 °C hasta su entrega por no más de 72 horas.

6. Bioseguridad

Medidas de bioseguridad que el personal de salud debe cumplir.

7. Referencias

[Peñañiel Méndez CJ](#), [Martínez Inca NV](#). Manual de bioseguridad para los laboratorios clínicos de Microbiología, Citología y Biología Molecular. Universidad Nacional de Chimborazo, 2018. [Tesis Laboratorio Clínico e Histopatológico](#). Facultad de Ciencias de la Salud. Editorial Universidad Nacional de Chimborazo. Ecuador. [Internet]. 2019[citado 8 Mayo 2023]. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/5562>

Ministerio de Salud Pública. Manual de procedimientos técnicos de laboratorio clínico del primer nivel de atención. El Salvador: Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social a través de la Dirección de Vigilancia de la Salud y a iniciativa del Laboratorio Central Dr. Max Bloch; [Internet]. 2007 [citado 30 Marzo 2023]. Disponible en: http://asp.salud.gob.sv/regulacion/pdf/manual/Manual_procedimientos_lab_clinico.pdf

Colina Rodríguez AJ, Carballo Carballo T, Tifredo Torres W. Laboratorio clínico en los trastornos de la hemostasia. En: Suardíaz Pareras J, Cruz Rodríguez C, Colina Rodríguez A. Laboratorio clínico. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; [Internet]. 2004[citado 10 julio 2023]: [aprox. 325 p.]. Disponible en: http://www.bvs.sld.cu/libros_texto/laboratorio_clinico/completo.pdf

Valadez Báez XL, Hernández Santos JR, Torres Huerta C, Tenopala Villegas S, Canseco Aguilar CP. Método óptimo para la obtención de plasma rico en plaquetas en el Servicio de Clínica del Dolor del CMN 20 de noviembre ISSSTE. Rev Soc Esp Dolor [Internet]. 2016 [citado 30 May 2022];23(4):[aprox. 6 p.]. Disponible en:
<https://scielo.isciii.es/pdf/dolor/v23n4/original2.pdf>

Fariña Sirandoni PA, Pulgar Aguila RA, Molina Cofré AI. Evaluación de cinco protocolos estándar para la obtención de plasma rico en plaquetas en caninos. Spei Domus [Internet]. 2020 [citado 4 May 2023];16(1):[aprox. 16 p.]. Disponible en:
<https://revistas.ucc.edu.co/index.php/sp/article/view/3553/3046>

Yáñez Chamizo B, Yanelis Martínez Pi, González Cabeza Y, Figueroa Pérez R, Pérez Gutiérrez J, Hechavarría Miláet JA, et al. Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos (CECMED) Administración de Riesgo a la Calidad. Su enfoque regulador en las Buenas Prácticas de Fabricación [Internet]. La Habana: CECMED; 2017 [citado 7 May 2023]. Disponible en:
https://www.cecmecd.cu/sites/default/files/adjuntos/DocsLicencias/bpfarmaceuticas_0.pdf

GUIDELINES. The Rules Governing Medicinal Products in the European Union Volume 4 EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use [Internet]. Brussels: European

Comission; 2022 [cited 2023 May 5]. Available from:

https://health.ec.europa.eu/system/files/2022-03/vol4_annex21_en.pdf

Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. Int J Oral Maxillofac Implants [Internet]. 1999 [cited 2022 Jun 13];14(4):[about 7 p.]. Available from:

http://medlib.yu.ac.kr/eur_j_oph/ijom/IJOMI/ijomi_14_529.pdf

Informe de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios sobre el uso de Plasma Rico en Plaquetas [Internet]. España: Agencia Española de Medicamentos y Productos; 2013 [citado 13 Abr 2023]. Disponible en:

<https://www.aemps.gob.es/medicamentosUsoHumano/medSituacionesEspeciales/docs/PRP-AEMPS-DEF-mayo13.pdf>

Garantías mínimas de calidad en la producción de Plasma Rico en Plaquetas (PRP) [Internet]. España: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios; 2014 [citado 26 Abr 2023]. Disponible en:

<https://docplayer.es/16209089-Garantias-minimas-de-calidad-en-la-produccion-de-plasma-rico-en-plaquetas-prp.html>

Correa Leiva N, Abarzúa Arteaga I, Aldana Vera G, Campodónico Galdames P, Corvalán Dobry L, del río Vera R. Manual de bioseguridad. Facultad de medicina clínica Alemana. Universidad del Desarrollo [Internet]. 2019 [citado: 2021, mayo] Disponible en:

<https://medicina.udd.cl/icim/files/2019/09/MANUAL-DE-BIOSEGURIDAD-pdf-web.pdf>

Checa Rojas A. Método: Conversión de las fuerzas g (RCF) a revoluciones por minuto (rpm) y Equilibrio del rotor. [Internet]. 2023, [citado 6 mayo 2023].

Conogasi.org Sitio web. Disponible: <https://conogasi.org/articulos/metodo-conversion-de-las-fuerzas-g-rcf-a-revoluciones-por-minuto-rpm-y-equilibrio-del-rotor/>

Anexo 3

Cálculo de los gastos indirectos de la autocable, microscopio olympus y centrifuga Kubota.

Método de línea recta

Depreciación anula contable = $\frac{\text{Precio de compra}}{\text{Tiempo estimado de vida}}$

Autocable. Año de compra 1985, código 16860

$$\text{Depreciación anula contable} = \frac{\$485}{10} = 48,5$$

Microscopio Olympus. Año de compra 2006, código 29886

$$\text{Depreciación anula contable} = \frac{\$866,33}{10} = 86,633$$

La depreciación se calcula sobre el valor inicial registrado en libros, excepto de los que hayan llegado al término de su vida útil según la norma Cubana de contabilidad № 7 activos fijos tangibles.

Centrifuga Kubota. Año de compra 2018 código 18017

$$\boxed{\text{Depreciación anual contable}} = \frac{\boxed{\$7686,67}}{\boxed{10}} = \boxed{768,66}$$

Al aplicarle el 15 % a \$-768,66 anual según la norma Cubana de contabilidad №. 7 activos fijos tangibles el resultado es de \$115,30 de depreciación anual, el costo diario fue de \$ 0,31.

Referencia.

Norma Cubana de contabilidad №. 7 “activos fijos tangibles” (NCC №. 7). Resolución No.1038/2017. [Internet] 2017 [citado 20 julio 2023]:[aprox. 18 p.]. Disponible en: <https://www.mfp.gob.cu/ficheros/disposiciones/RES-1038-17.pdf>

Anexo 4. Precios referentes a los recursos materiales

Organismo :MINSAP

Fecha:
16/02/2022

Empresa : 24105912 Establecimiento Suministros Médicos Camagüey

Página: 1

Unidad : EST SUMINISTROS MEDICOS

Fecha de proc.:

17/02/2022

Existencias de productos en Almacén

Código	Descripción	UM	Cantidad	Precio	Importe	Cuenta
Almacén : 05 SECCION 5						
747*211*8012	TUBO D/CULTIVO 12X75 F/R	Uno	30310	0.7243987	\$21,956.52	
S/REBORDE MANUAL						
747*211*8018	TUBO CULTIVO 18X100	Uno	2450	0.9918	\$2,429.91	
747*330*7611	Pipeta Pasteur Cja X 10	Uno	515	2.4279806	\$1,250.41	

747*330*7620	Pipeta Graduada 10ML	Uno	10420	2.7689352	\$28,852.33
747*350*6575	Petri Culture 10x100mm	Uno	2300	0.4924651	\$1,132.66

Código	Descripción	UM	Cantidad	Precio	Importe	Cuenta
747*390*0013	LAMINA PORTA OBJETO 25 X 76	Uno	1	114.0282857	\$114.02	
747*390*0313	LAMINAS CUBRE OBJETO 22X22	Uno	691	3.6847592	\$2,546.17	
747*390*4730	Cubre Objeto 22 x 22mm	Uno	2249	0.2723368	\$612.50	
747*390*6535	Placa Petry 90 x 15 mm	Uno	240	0.422875	\$101.49	
748*114*9267	Pipetas de seguridad	Uno	217	3.1351822	\$680.33	
748*201*0108	Pipeta Serológica 10ml	Uno	241	0.3023235	\$72.86	
748*201*1441	PIPETA 1000 - 5000UL	Uno	3	495.35	\$1,486.05	
748*201*2022	PUNTAS AZULES ESTERILES	Uno	259	104.6671307	\$27,108.80	
748*201*2044	Puntas Amarillas 20-200 UL (Pqte X 1000 Pqte)		952	59.1344611	\$56,296.03	
748*201*2045	Ptas Blancas 0.1-10ul (Pqte x 96)	Pqte	589	1.5130221	\$891.17	
748*201*2079	PUNTAS C/FILTRO 20-200UL (CAJA)	Uno		1692.886	\$33,857.72	
748*201*4147	PIPETA MULTICANAL ESPENDORF 10-	Uno		4510.86	\$4,510.86	
33756652260000	SLN CITRATO DE SODIO 1.29MOL/L,FCO P/120 DETERMINACIONES			FCO	\$65,40	

Anexo 5.

Luego de su consentimiento a participar en la investigación, usted ha sido considerado uno de los posibles expertos a integrar el Comité de Consenso sobre procedimiento para la obtención del PRP autólogo en técnica abierta ambulatoria. Esperamos que usted responda los aspectos que deseamos revise y analice de forma crítica, con la solicitud de que lo regrese con la mayor brevedad posible. Confiamos de antemano en su colaboración y esperamos su inestimable contribución.

1. Nombre y Apellidos:

2. Institución en la que labora:

3. Provincia: _____.

4. Marque con una X su especialidad:

- Hematología
- Rehabilitación física
- Inmunología
- Anestesiología y reanimación

5. En relación a la Especialidad. Marque con una X su condición:

- Especialista de Primer Grado.
- Especialista de Segundo Grado.

6. Marque con una X el Grado Científico que ostenta

- Máster
- Doctor en Ciencias

7. En relación a la Categoría Docente. Marque con una X su condición:

- _____ Profesor Instructor.
- _____ Profesor Asistente.
- _____ Profesor Auxiliar.
- _____ Profesor Titular.
- _____ Profesor Consultante.
- _____ No posee categoría docente.

8. Marque en la casilla enumerada, según su criterio acerca de la capacidad que tiene sobre el tema evaluación de la redacción científica, en una escala del 0 al 10. La evaluación "0" indica que no tiene ningún conocimiento de la problemática, mientras que la evaluación "10" significa que tiene pleno conocimiento del tema.

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

9. Evalúe la influencia de las siguientes fuentes de argumentación en los criterios valorativos aportados por usted, marcándolos con una X en el siguiente cuadro.

FUENTES DE ARGUMENTACIÓN	Grado de Influencia de cada una de las fuentes en sus criterios.		
	A (alto)	M (medio)	B (bajo)
Análisis teóricos realizados por usted			
Su experiencia obtenida			
Trabajos de autores nacionales			
Trabajos de autores extranjeros			
Su propio conocimiento del estado del problema en el extranjero			
Su intuición			

Anexo 6

	Coeficiente de Competencia	de	Créditos científicos, académicos e
Experto		Provincia	investigativos
E-1	0,98 (alto)	La Habana	a, b,c,d,e,f,g
E-2	0,95(alto)	La Habana	a,b,c,d,e,f,g
E-3	0,90(alto)	La Habana	b,c,d,e,f,g
E-4	0,95(alto)	La Habana	b,c,d,e,f,g
E-5	0,92(alto)	La Habana	b,c,d,e,f,g
E-6	0,95(alto)	Cienfuegos	b,c,d,e,f,g
E-7	0,97(alto)	La Habana	a,b,c,d,e,f,g
E-8	0,96(alto)	La Habana	b,c,d,e,f,g
E-9	0,92(alto)	La Habana	b,c,d,e,f,g
E-10	0,92(alto)	La Habana	b,c,d,e,f,g
E-11	0,95(alto)	La Habana	b,c,d,e,f,g
E-12	0,95(alto)	Villa Clara	b,c,d,e,f,g
E-13	0,93(alto)	Holguín	c,e,f,g
E-14	0,90(alto)	La Habana	b,c,d,e,f,g
E-15	0,90(alto)	La Habana	c,e,f,g
E-16	0,90(alto)	La Habana	b,c,d,e,f,g
E-17	0,93(alto)	La Habana	c,e,f,g
E-18	0,93(alto)	Matanzas	c,d,e,f,g
E-19	0,90(alto)	La Habana	c,d,e,f,g
E-20	0,92(alto)	La Habana	c,d,e,f,g
E-21	0,96(alto)	La Habana	c,e,f,g
E-22	0,98(alto)	La Habana	c,e,f,g

E-23	0,90(alto)	La Habana	c,e,f,g
E-24	0,91(alto)	La Habana	c,d,e,f,g
E-25	0,93(alto)	La Habana	c,e,f,g
E-26	0,95(alto)	La Habana	c,d,e,f,g
E-27	0,94(alto)	Artemisa	c,e,f,g
E-28	0,92(alto)	Pinar del Rio	c,e,f,g
E-29	0,90(alto)	Pinar del Rio	c,d,e,f,g
E-30	0,90(alto)	Camagüey	
b,c,d,e,g			

a- Fundador de la Medicina Regenerativa en Cuba.

b- Créditos científicos.

c- Créditos académicos.

d- Créditos investigativos.

e-Categoría docente de profesor auxiliar o superior.

f- Especialista de segundo grado.

g-Más de 15 años activo en la profesión