

# PAKAUTO®

## USO

PAKAUTO® é un (ELISA) in fase solida preparato per determinare autoanticorpi antiplastrine eluiti dalle piastrine paziente o circolanti nel siero o plasma paziente.

Per uso diagnostico in vitro.

## RIASSUNTO E SPIEGAZIONE

La porpora trombocitopenica autoimmune (PTAI) é una delle cause piú comuni di trombocitopenia. Circa la metà dei casi di PTAI avviene in associazione ad altre condizioni come linfoma, lupus eritematoso sistemico (SLE) e infezione da HIV; i rimanenti casi sono considerati «idiopatici.» Dal punto di vista clinico, la PTAI può essere classificata in due modi: acuta, un disordine dell'infanzia e cronica presente nell'adulto e con rara remissione spontanea.

Molti anticorpi associati a PTAI riconoscono le glicoproteine di membrana piastrinica, soprattutto le GPIIb/IIIa, GPIb/IX, e GPIa/IIa.<sup>1,2</sup> Gli anticorpi reattivi con questi target possono essere frequentemente ritrovati nel plasma di pazienti con PTAI,<sup>1,2,3,4,5</sup> ma é meglio caratterizzare gli anticorpi legati alle piastrine per confermare la natura autoimmune. Molti test di identificazione delle immunoglobuline associate alle piastrine perdono di specificità e risultano spesso positivi in pazienti con trombocitopenia non immune.<sup>2</sup>

Il kit ELISA in fase solida PAKAUTO® fornisce microstrip rivestiti con anticorpi monoclonali in grado di catturare le glicoproteine IIb/IIIa, Ib/IX, e Ia/IIa. Il test é preparato per determinare gli anticorpi specifici diretti verso le glicoproteine piastriniche nel siero o plasma paziente, o eluiti dalla superficie piastrinica.

## PRINCIPIO

Il siero paziente, plasma, o eluato viene dispensato in microstrip rivestite con glicoproteine piastriniche per permette agli anticorpi di legarsi, se presenti. Anticorpi non legati vengono lavati. Si dispensa l'antiglobulina umana coniugata con fosfatasi alcalina (Anti-IgG/A/M) ad ogni pozzetto e si incuba. Il coniugato Anti-IgG/A/M non legato viene lavato, dispensare, infine, il substrato PNPP (p-nitrofenil fosfato) dopo una incubazione di 30 minuti, stoppare la reazione con la soluzione NaOH. La densità ottica della colorazione sviluppata è misurata fotometricamente.

## REAGENTI

Numero massimo di test per kit: 5

Tutti i reagenti devono essere conservati come indicato sull'etichetta.

- |            |   |
|------------|---|
| <b>MS</b>  | 1. Microstrip: microstrip a fondo piatto a cui sono state immobilizzate glicoproteine piastriniche IIb/IIIa, Ib/IX, e Ia/IIa. I microstrip sono chiusi in busta risigillabile. Pronto all'uso.  |
| <b>TCW</b> | 2. Soluzione di Lavaggio Concentrata (10x): Tampone Tris (idrossimetil) aminometano contenente sodio cloride e Tween 20. 1% sodio azide. Diluire con acqua deionizzata o distillata prima dell'uso. Conservare la soluzione di lavaggio a temperature ambiente fino a 48 ore o fino a 7 giorni a 2 – 8°C. |
| <b>SD</b>  | 3. Diluente Campione: Soluzione tampone fosfato contenente albumina bovina e siero di topo. 0.1% sodio azide. Pronto all'uso.   |
| <b>SB</b>  | 4. Tampone Substrato: questa soluzione contiene dietanolamina e magnesio cloride. 0.02% sodio azide. Pronto all'uso. Proteggere dalla luce.   |
| <b>SS</b>  | 5. Soluzione Stoppante: 3 M NaOH. Pronta all'uso. Usare con cautela.  |
| <b>AH</b>  | 6. Coniugato: anti globulina umana di capra coniugata con Fosfatasi alcalina (IgG/A/M). Contiene 0.1% sodium azide. Diluire con diluente campione prima dell'uso.   |

- |            |  |
|------------|--|
| <b>CRP</b> | 7. Soluzione di Risospensione e Conservazione delle Piastrine: tampone fosfato contenente EDTA. 0.1% sodio azide. Pronto all'uso.  |
| <b>BS</b>  | 8. Soluzione Tampone: soluzione Tris contenente albumina bovina. 0.1% sodio azide.   |
| <b>ES</b>  | 9. Soluzione Eluente: tampone glicine a basso pH.  |
| <b>PN</b>  | 10. Substrato PNPP (p-nitrofenil fosfato): in polvere. Sciogliere con acqua deionizzata o distillata e diluire nel tampone enzimatico prima dell'uso. Proteggere dalla luce.   |
| <b>PC</b>  | 11. Siero Controllo Positivo: siero umano contiene 0.1% sodio azide. Diluire in Diluente Campione prima dell'uso.  |
| <b>NC</b>  | 12. Siero Controllo Negativo: siero umano contiene 0.1% sodio azide. Diluire in Diluente Campione prima dell'uso.  |
| <b>PCP</b> | 13. Controllo Piastrine Positive (Controllo Positivo dell'eluato): piastrine umane lavate e disidratate rivestite di anticorpi. Reidratare prima dell'uso con la soluzione di risospensione e conservazione delle piastrine. |
| <b>NCP</b> | 14. Controllo Piastrine Normale (Controllo Negativo dell'eluato): pool di piastrine umane lavate e disidratate. Reidratare prima dell'uso con la soluzione di risospensione e conservazione delle piastrine.                 |
| <b>PS</b>  | 15. Copripiastra.  |

### **AVVERTENZE**

- Non usare i reagenti torbidi o contaminati.
- Usare con cautela per evitare la contaminazione del Diluente campione e del Coniugato. L'eventuale contaminazione di questi reagenti con siero umano o plasma neutralizza il Coniugato e porta al fallimento del test.
- Non usare i reagenti dopo la data di scadenza.
- Strip e reagenti contenuti nel kit non devono essere usati in unione con altri kit.
- La sostituzione dei componenti del kit con altri può portare a risultati del test sbagliati.
- Gettare porzioni non utilizzate del Coniugato, dei controlli diluiti e di PNPP sciolto o diluito alla fine di ogni test.
- Per preparare le diluizioni, seguire le istruzioni del produttore per la scelta delle pipette appropriate.
- L'incubazione finale con il substrato enzimatico é sensibile alla temperatura, dovrebbe essere eseguita in un area a 22 – 25°C.
- A causa delle variazioni nella strumentazione o nella temperatura ambientale, può essere necessario per il laboratorio stabilire un tempo di incubazione più lungo o più breve in modo da ottenere risultati corretti. L'incubazione finale può avere effetti sui valori di controllo, é quindi importante monitorare periodicamente il valore della temperatura ambientale.

### **PRECAUZIONI**

- Il siero umano usato per i controlli Positivo e Negativo è stato testato e riscontrato negativo per anticorpi anti HIV, HCV e HBsAg con metodi FDA approvati. Nessun metodo può, comunque, offrire una assoluta sicurezza dell'assenza di virus HIV, epatite C e epatite B o altri agenti infettivi. Quindi, tali materiali dovrebbero essere maneggiati come potenzialmente infettivi.
- Alcuni dei reagenti forniti con i kit contengono sodio azide come conservante.  
**ATTENZIONE:** Sodio azide reagisce con piombo e rame formando metalli di azidi esplosivi. Quando gettato nel lavandino sciacquare con molta acqua. Sodio azide é velenoso e tossico se ingerito.
- La Soluzione Stoppante (NaOH) é corrosiva. Evitare il contatto con pelle ed occhi. Gli schizzi devono essere puliti immediatamente.
- Quando i componenti del kit sono finiti gettarli seguendo le regole locali.

## **RACCOLTA CAMPIONI**

Il sangue dovrebbe essere raccolto in EDTA (plasma, piastrine) o senza anticoagulante (siero) usando una tecnica asettica e dovrebbe essere testato fresco per minimizzare il rischio di ottenere reazioni falsamente positive o negative a causa della conservazione errata o della contaminazione dei campioni. Il siero o plasma che non può essere testato subito dovrebbe essere conservato a 2-8 °C per un tempo non superiore alle 48 ore oppure congelato. Campioni congelati a -20°C o oltre rimangono in buone condizioni per anni (2-3 anni). Comunque per evitare gli effetti del deterioramento per effetto di congelamenti e scongelamenti ripetuti, si raccomanda di aliquotare i campioni e poi congelarli.

Il siero o plasma deve essere separato dalle cellule quando conservato o trasportato.

La presenza nel campione di particelle o aggregati può causare risultati falso positivi o scarsamente ripetibili. Centrifugare i campioni contenenti particelle prima del test.

Campioni battericamente contaminati, emolizzati, lipemici, itterici, o inattivati al calore possono portare a risultati errati.

Per la preparazione dell'eluato piastrinico è richiesto un conteggio minimo di  $1 \times 10^7$  (preferibilmente  $5 \times 10^7$  piastrine). Un campione sufficiente può essere ottenuto da pazienti con un conteggio pari a  $\geq 10,000/\mu\text{L}$  prelevando due provette da 7 mL di sangue intero.

NOTA: La spedizione di sangue può provocare la riduzione delle piastrine. Quando il campione deve essere trasportato è consigliabile prelevare una maggiore quantità di sangue per assicurare la quantità di piastrine necessaria all'eluazione.

## **PROCEDURA**

### **Materiali Forniti:**

I flaconi possono contenere più reagente di quanto descritto sull'etichetta. Quando si preparano le diluizioni misurare i reagenti con pipette appropriate.

1. 6 - strips 2 x 8 con supporto
2. 1 x 50 mL Soluzione Concentrata
3. 1 x 14 mL Diluente Campioni
4. 1 x 14 mL Tampone Substrato
5. 1 x 14 mL Soluzione Stoppante
6. 1 x 80  $\mu\text{L}$  Coniugato Umano Anti-IgG/A/M
7. 1 x 50 mL Soluzione di Risospensione e Conservazione delle Piastrine
8. 1 x 2.5 mL Soluzione Tampone
9. 1 x 2.5 mL Soluzione Eluente
10. 3 x 50 mg Substrato PNPP
11. 1 x 0.3 mL Siero Controllo Positivo
12. 1 x 0.7 mL Siero Controllo Negativo
13. 1 Controllo Piastrine Positive (Controllo Positivo Eluato)
14. 1 Controllo Piastrine Normale (Controllo Negativo Eluato)
15. 6 Copripiastre

### **Ulteriori Materiali Richiesti:**

1. Provette per campioni, controlli e diluizioni
2. Pipette
3. Micropipette graduate per dispensare 10 – 100  $\mu\text{L}$  e 100 – 1,000  $\mu\text{L}$  e pipette
4. Timer
5. Lettore per micropiastre per la lettura delle DO a 405 o 410 e 490 nm
6. Acqua deionizzata o distillata
7. Carta assorbente
8. Lavatore per micropiastre
9. Centrifuga per la separazione del siero o plasma pazienti
10. 37°C bagno-maria o incubatore

11. Microcentrifuga per provette
12. Microcentrifuga per preparare il pellet piastrinico
13. Piastrine Normali ( $5 \times 10^7$ ) per controllo eluizione

### Metodica

1. Portare i reagenti a temperatura ambiente.
2. Preparare la soluzione di lavaggio. Diluire 1 volume di soluzione concentrata in 9 volumi di acqua deionizzata o distillata. Miscelare bene.
3. Calcolare il numero dei campioni da testare. Assegnare la posizione dei campione usando la Recording Sheet, registrare l'identificativo di ogni campione sulla Recording Sheet.

### PREPARARE CAMPIONI E CONTROLLI

4. Diluire come segue e miscelare bene:

|                         | Volume Diluente<br>Campione | Volume<br>Campione |
|-------------------------|-----------------------------|--------------------|
| PC                      | 150 $\mu$ L                 | 50 $\mu$ L         |
| NC                      | 300 $\mu$ L                 | 100 $\mu$ L        |
| Paziente siero o plasma | 300 $\mu$ L                 | 100 $\mu$ L        |

5. Preparare il pellet di piastrine dei pazienti o dei donatori come segue:
  - a) Preparare il plasma ricco di piastrine (PRP) centrifugando il sangue intero in EDTA a 110 – 150 rcf per 10 - 15 minuti.
  - b) Trasferire il PRP in una provetta di polipropilene pulita e centrifugare in una microcentrifuga a 10,600 rcf per 5 – 10 minuti per ottenere un bottone di piastrine. Rimuovere il plasma.
  - c) Aggiungere 500  $\mu$ L di CRP al pellet di piastrine e miscelare gentilmente con la pipettata. Centrifugare come sopra descritto, decantare il surnatante ed aggiungere 500  $\mu$ L soluzione di lavaggio e risospensione delle piastrine (CRP). Ripetere per un totale di tre lavaggi.
  - d) Dopo l'ultimo lavaggio preparare un pellet contenente un numero di piastrine tra 1 e  $5 \times 10^7$  aggiungendo CRP ed aggiustando il conteggio piastrinico a 10 – 50,000 piastrine per  $\mu$ L, trasferirne 1 mL in una provetta e centrifugare per 5 min a 10,600 rcf per formare un pellet. (In alternativa 5-10  $\mu$ L pellet dovrebbero contenere piastrine sufficienti per ottenere l'eluato. Confrontare il pellet con una provetta contenente 5-10  $\mu$ L di diluente campione).
6. Preparare il pellet del controllo piastrine:
  - a) Aggiungere 500  $\mu$ L di soluzione di risospensione e conservazione delle piastrine al controllo positivo delle piastrine (Controllo Positivo dell' Eluato) e, se necessario, il controllo piastrine Normale (Controllo Negativo dell'Eluato). Tenere a temperatura ambiente per almeno 10 minuti per permettere la reidratazione. Risospendere miscelando gentilmente e centrifugare a 10,600 rcf per 5 – 10 minuti. Decantare o aspirare il surnatante ed asciugare su carta assorbente per ottenere un bottone di piastrine ben asciutto.

NOTA: Se si preferisce usare piastrine normali fresche come controllo negativo dell'Eluato. In questo caso le piastrine disidratate fornite con il kit sono da usare quando non sono disponibili piastrine fresche.

7. Preparare gli eluati:

- a) Prima di procedere, assicurarsi che il pellet sia ben impaccato sul fondo e che tutto il residuo di CRP sia stato rimosso.
- b) Aggiungere 180  $\mu$ L di Soluzione di Eluizione ad ogni piastrina miscelare e risospendere bene con l'aiuto di una pipetta. Lasciare i campioni a temperatura ambiente per 2 minuti. Centrifugare a 10,600 rcf per 5 - 10 minuti in una microcentrifuga.
- c) Trasferire velocemente il surnatante (eluato) in una provetta pulita e aggiungere 180  $\mu$ L Soluzione Tampone (Buffering Solution) ad ogni provetta. Miscelare bene. Centrifugare a 10,600 rcf per 10 minuti in una microcentrifuga per rimuovere tutti i residui di membrana piastrinica.

8. Testare subito o congelare. Gli eluati possono essere conservati a  $-80^{\circ}\text{C}$  ed essere testati in seguito.

NOTA: Non diluire gli eluati.

9. Rimuovere gli strip necessari dalla busta. Rimuovere velocemente e risigillare nella busta gli strip inutilizzati.

NOTA: Con ogni kit viene fornito un solo supporto. Non gettarlo fino alla fine dell'utilizzo degli strip.

NOTA: Orientare il supporto in modo tale che il pozzetto A1 sia posizionato in alto in corrispondenza dell'angolo sinistro. Assicurarsi che tutti gli strip siano correttamente inseriti nel supporto. Etichettare o numerare ogni strip per evitare errori. Mantenere il supporto nello stesso orientamento durante l'esecuzione del test.

10. Aggiungere  $300\ \mu\text{L}$  di soluzione di lavaggio ai pozzetti e lasciare a temperatura ambiente per 5-10 minuti.

11. Aspirare o decantare e asciugare bene gli strip invertendo su carta assorbente.

12. Dispensare  $50\ \mu\text{L}$  di eluato, controlli o siero campione diluiti nei pozzetti di una colonna come indicato nella Figura 1.

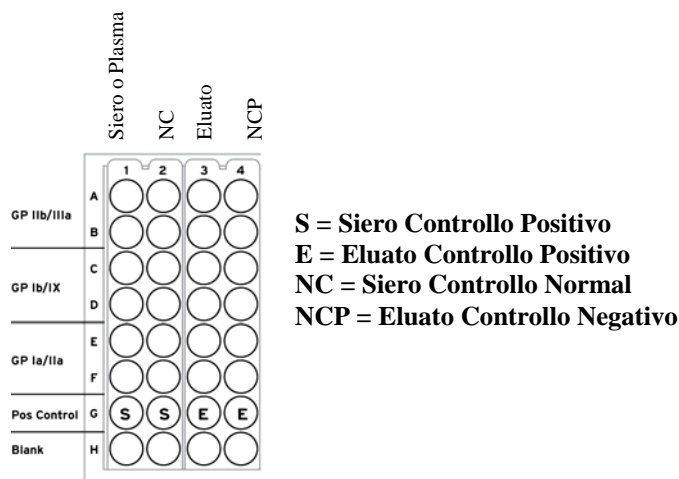


Figura 1

NOTA: Non dispensare controllo o campioni nei pozzetti del bianco.

NOTA: Se si testano più campioni in una sola seduta preparare un solo set di controlli. IDENTIFICARE GLI STRIP PER EVITARE ERRORI.

13. Coprire la piastra ed incubare per 30-35 minuti  $37^{\circ}\text{C}$  in bagno-maria. Se si usa un incubatore a secco aumentare l'incubazione di 10 minuti.

14. Diluire il Coniugato 1 a 100 con il diluente campioni. Usare un contenitore di polipropilene.

|        |                  |                  |
|--------|------------------|------------------|
| Strip: | 2 – 2 x 8        | 6 – 2 x 8        |
| AH     | 20 $\mu\text{L}$ | 60 $\mu\text{L}$ |
| SD     | 2.0 mL           | 6.0 mL           |

NOTA: Il coniugato é viscoso. Aspirare 2-3 volte con la pipetta prima di dispensare e sciacquare bene il puntale nel diluente. Miscelare bene.

## 15. LAVAGGIO:

- a) Aspirare o decantare il contenuto di ogni pozzetto e asciugare bene su carta assorbente.
- b) Aggiungere 300  $\mu\text{L}$  di soluzione di lavaggio.
- c) Aspirare o decantare.
- d) Ripetere i punti b + c per un totale di 3 o 4 lavaggi.
- e) Decantare energicamente per rimuovere ogni residuo di soluzione di lavaggio. Invertire su carta assorbente ed asciugare bene.

NOTA: È importante rimuovere ogni residuo di soluzione dopo il lavaggio finale.

16. Dispensare 50  $\mu\text{L}$  di coniugato diluito (come preparato al punto 10) in tutti i pozzetti tranne quelli destinati al BIANCO.
17. Coprire gli strip ed incubare per 30-35 minuti a 37°C in bagno maria. Se si usa un incubatore a secco aumentare l'incubazione di 10 minuti.
18. Sciogliere il PNPP in polvere aggiungendo nel flacone 0.5 mL di acqua deionizzata o distillata. Chiudere e miscelare bene. Proteggere dalla luce fino all'uso.
19. Diluire il PNPP sciolto 1 a 100 in tampone Substrato.

|        |                  |                   |
|--------|------------------|-------------------|
| Strip: | 2 – 2 x 8        | 6 – 2 x 8         |
| PN     | 40 $\mu\text{L}$ | 120 $\mu\text{L}$ |
| SB     | 4.0 mL           | 12.0 mL           |

Miscelare bene. Proteggere dalla luce fino all'uso.

## 20. LAVAGGIO:

- a) Aspirare o decantare il contenuto di ogni pozzetto e asciugare bene su carta assorbente.
- b) Aggiungere 300  $\mu\text{L}$  di soluzione di lavaggio.
- c) Aspirare o decantare.
- d) Ripetere i punti b + c per un totale di 3 o 4 lavaggi.
- e) Decantare energicamente per rimuovere ogni residuo di soluzione di lavaggio. Invertire su carta assorbente ed asciugare bene.

Passare velocemente agli step successivi.

21. Dispensare 100  $\mu\text{L}$  PNPP diluito a tutti i pozzetti ad eccezione dei pozzetti destinati al BIANCO.
22. Incubare gli strip per 30 minuti a TEMPERATURA AMBIENTE (22 – 25°C) al buio.

NOTA: Tempi e temperatura di questa incubazione sono critici. NON variare i tempi e le temperature stabilite. Fare partire il tempo di incubazione al momento della dispensazione del PNPP al primo pozzetto.

23. Stappare la reazione dispensando 100  $\mu\text{L}$  di soluzione stoppante ad ogni pozzetto nella stessa sequenza in cui si è aggiunto il substrato. Dispensare 200  $\mu\text{L}$  di soluzione stoppante ai pozzetti del bianco.
24. Leggere le assorbanze (DO) di ogni pozzetto a 405 o 410 nm usando un filtro di riferimento a 490 nm. Se i risultati non possono essere letti immediatamente, riportare gli strip al buio per al massimo 30 minuti.
25. Sottrarre i valori del bianco ad ogni valore dei campioni e dei controlli. Molti lettori ELISA sono programmati per sottrarli automaticamente.
26. Registrare i risultati sulla Recording Sheet.

## **CONTROLLO DI QUALITA'**

Il controllo di qualità PAKAUTO<sup>®</sup> é incluso in ogni kit grazie alla presenza dei sieri di controllo negativo e positivo. Questi controlli dovrebbero essere inclusi in ogni esecuzione del test per aiutare a determinare la presenza di errori tecnici o non reattività dei reagenti.

Criteri di validazione dei test:

|        | Controllo Negativo      | Controllo Positivo |
|--------|-------------------------|--------------------|
| Eluato | ≤ 0.100 (Iib/IIIa file) | ≥ 1.000            |
| Siero  | ≤ 0.160 (Iib/IIIa file) | ≥ 1.000            |

I valori di DO ottenuti in campioni in doppio possono variare al massimo del 20% . Campioni al di fuori di questi limiti dovrebbero essere ritestati.

NOTA: La non riproducibilità può essere causata da omissione dei reagenti o dei campioni, aggiunta inadeguata dei reagenti, temperatura di incubazione inadeguata, esposizione alla luce durante l'incubazione finale o cross contaminazione dei pozzetti. La non riproducibilità influenza l'accettazione dei risultati.

## **INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI**

Valori di DO uguali o superiori al valore ottenuto dalla media dei controlli negativi per ogni singola glicoproteina X2 (2 controlli negativi per ogni glicoproteina) sono considerati positivi.

## **LIMITAZIONI**

Risultati errati possono avvenire per contaminazione batterica dei componenti del kit, incubazione inadeguata, lavaggi inadeguati, esposizione alla luce del substrato, omissione dei reagenti, esposizione a temperature più elevate o inferiori a quelle indicate, piastrine insufficienti o eccessive, o omissione di step di lavoro.

La presenza di immunocomplessi o aggregati immunoglobulinici nel paziente può causare un aumento di legami non specifici e produrre risultati falsamente positivi.

I risultati di questo test non dovrebbero essere usati come unica base per una decisione clinica.

Alcuni anticorpi a basso titolo o bassa avidità potrebbero non essere determinati da questo test.

Questo prodotto é preparato per determinare autoanticorpi nell'eluato piastrinico dei pazienti. Una reazione positiva ottenuta solo con il siero o plasma paziente non indica necessariamente la presenza di autoanticorpi. Anche alloanticorpi possono reagire in questo test.

Il PAKAUTO<sup>®</sup> é preparato per determinare gli autoanticorpi reattivi con le glicoproteine piastriniche Iib/IIIa, Ib/IX, e Ia/IIa. Autoanticorpi diretti verso altri antigeni piastrinici non sono determinati da questo test.

E' possibile che un autoanticorpo possa dare falsi negativi a causa dell'ingombro sterico degli anticorpi umani con l'anticorpo monoclonale murino usato per catturare le glicoproteine piastriniche.

## **CARATTERISTICHE SPECIFICHE DEL TEST**

Quando correttamente conservato ed usato in accordo alla procedura descritta, questo prodotto può determinare autoanticorpi verso le glicoproteine piastriniche.

Per garantire reattività e specificità ogni lotto di PAKAUTO<sup>®</sup> é testato prima della commercializzazione con campioni contenenti autoanticorpi o alloanticorpi reattivi con le glicoproteine indicate sul foglio di lavoro così come campioni privi di anticorpi.

## Valutazione del Test

### Metodo di Confronto

|          |          | Positivo | Negativo | Totale |
|----------|----------|----------|----------|--------|
| PAKAUTO® | Positivo | 24       | 1        | 25     |
|          | Negativo | 23       | 49       | 72     |
|          | Totale   | 47       | 50       | 97     |

Concordanza: 75.3%

Co-positività: 51.1%      Co-negatività: 98%

Metodo di Confronto: PAIgG = IgG Associate alle Piastrine\* (Citofluorimetria)  
\*PAIgG ha un basso valore predittivo per ITP.<sup>6,7</sup>

## REFERENZE

1. George JN, El-Harake MA, Raskob GE: N. Engl J. Med 331:1207, 1994.
2. George JN, El-Harake MA, Aster RH: Thrombocytopenia due to enhanced platelet destruction by immunologic mechanisms. In Williams Hematology, E Boytler, et al., eds, 5<sup>th</sup> ed, McGraw-Hill, 1995, p 1315.
3. Bussel JP, Schreiber AD: Immune thrombocytopenic purpura. In Hematology: Basic Principles and Practice, R. Hoffman, et al., eds, Churchill Livingstone, Inc., New York, 1991, p 1485.
4. McMillan R, Imback PA: Immune thrombocytopenic purpura. In Thrombosis and Hemorrhage, J. Loscalzo and Al Schafer, eds, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1994, p 575.
5. Aster RH: The immunologic thrombocytopenias. In Platelet Immunology, TJ Kunicki, JN George, eds, Lipincott, Philadelphia, 1989, p 387.
6. Kelton JG, Powers PJ, Carter CJ: A Prospective Study of the Usefulness of the Measurement of Platelet-Associated IgG for the Diagnosis of Ideopathic Thrombocytopenia Purpura. Blood 1982; 60 No.4: 1050.
7. McMillan R, et.al. Platelet associated and Plasma Anti-Glycoprotein Autoantibodies in Chronic ITP. Blood, 1987; 70 No.4: 1040.

U.S. Patent #5,514,557



**GTi DIAGNOSTICS®**

Good science starts with people.®

20925 Crossroads Circle, Suite 200  
Waukesha, WI 53186-4054 USA  
(262) 754-1000 o 1-800-233-1843

**PAKAUTO®**

- PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*
- CONSERVARE A 2 – 8°C



REF PAKAUTO

Rev. 2007-08-08 (I)



Qarad b.v.b.a.  
Volmoleneide 13  
B-2400 Mol  
Belgium

[www.gtidiagnostics.com](http://www.gtidiagnostics.com)