

PF4 IgG™

USO

Il PF4 IgG™ è uno screening qualitativo per la determinazione degli anticorpi anti-IgG eparina associati nel siero umano.

Per uso diagnostico in vitro.

RIASSUNTO E SPIEGAZIONE

Un paziente che riceve il trattamento con eparina almeno una volta alla settimana sviluppa spesso trombocitopenia.^{1,2,3} In alcuni casi il livello delle piastrine si riduce solo leggermente e ritorna a livelli normali anche se si continua il trattamento. Questo tipo di trombocitopenia è chiamata trombocitopenia indotta da eparina di "Tipo I" (HIT) e non è anticorpo mediata.² In altri pazienti la trombocitopenia è in genere severa ed è anticorpo mediata. Questa condizione è definita di "tipo II" HIT. L'HIT di Tipo I è generalmente considerata una condizione benigna, mentre i pazienti con HIT di Tipo II sono a rischio di sviluppare una trombocitopenia severa, così come trombosi arteriosa o venosa se si continua la terapia. Gli anticorpi associati a HIT di Tipo II possono essere determinati in modi diversi. Le tecniche più comunemente usate sono il test di aggregazione,⁴ il test di rilascio della Serotonina,⁵ e l'ELISA per il PF4.^{6,7,8}

E' noto che anticorpi associati al Tipo II riconoscono il sito antigenico piastrinico denominato PF4 e sono prodotti quando il PF4 è complessato a eparina o altro componente polianionico come il polivinil sulfonato (PVS).^{9,10,11}

Il kit PF4 IgG™ in ELISA fase solida fornisce microstrip rivestite del complesso PF4:PVS come target per la determinazione degli anticorpi IgG associati alla HIT di Tipo II.

PRINCIPIO

Il campione del paziente è aggiunto a microstrip rivestite con fattore 4 (PF4) ricombinante complessato a polivinil sulfonato (PVS). Se è presente un anticorpo che riconosce il sito PF4:PVS vi si legherà. Anticorpi non legati vengono lavati. Si dispensa l'antiglobulina umana coniugata con fosfatasi alcalina Anti-IgG in ogni pozzetto e si incuba. Il coniugato Anti-IgG non legato viene lavato, si dispensa, infine, il substrato PNPP (p-nitrofenil fosfato). Dopo una incubazione di 30 minuti, si stoppa la reazione con la "Stopping Solution". La densità ottica della colorazione sviluppata è misurata fotometricamente.

REAGENTI

Numero massimo di test per kit: 13 (HAT13G) o 45 (HAT45G)

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

- | | |
|-------------|---|
| MS | 1. Microstrip: microstrip a fondo piatto strip a cui è stato immobilizzato fattore 4 piastrinico purificato (PF4) complessato a polivinil sulfonato (PVS). I microstrip sono chiusi in busta risigillabile. Pronti all'uso. |
| HTCW | 2. PF4 Soluzione di Lavaggio Concentrata (10x): Tampone Tris (hydroxymethyl) aminomethane 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. |
| HSD | 3. Diluente Campione: Soluzione tampone fosfato. 0.05% sodio azide. Pronto all'uso. |
| SB | 4. Tampone Substrato: questa soluzione contiene dietanolamina e magnesio cloride. 0.02% sodio azide. Pronto all'uso. Proteggere dalla luce. |
| ESS | 5. Soluzione Stoppante: Pronto all'uso. |
| HAG | 6. Coniugato: anti globulina umana di capra coniugata con Fosfatasi alcalina (IgG). Contiene 0.1% sodio azide. Diluire con diluente campione prima dell'uso. |
| PN | 7. Substrato PNPP (p-nitrofenil fosfato): in polvere. Sciogliere con acqua deionizzata o distillata e diluire nel tampone enzimatico prima dell'uso. Proteggere dalla luce. |

- | | |
|------------|--|
| HPC | 8. Siero Controllo Positivo: siero umano contiene 0.1% sodio azide. Diluire in Diluente Campione prima dell'uso. |
| HNC | 9. Siero Controllo Negativo: siero umano contiene 0.1% sodio azide. Diluire in Diluente Campione prima dell'uso. |
| PS | 10. Copri piastra. |

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 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 dei controlli, 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.
- Quando i componenti del kit sono finiti gettarli seguendo le regole locali.

RACCOLTA CAMPIONI

Il sangue può essere prelevato con ACD, citrato di sodio (plasma), o senza anticoagulante (siero) usando tecniche asettiche 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. I campioni che non possono essere immediatamente testati possono essere conservati a 2 – 8°C per 48 ore o congelati. 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.

Per questo test usare solo siero o plasma umano intero. La diluizione dei campioni con diluenti diversi da quello fornito può inficiare i risultati.

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

ATTENZIONE: Campioni prelevati con eparina come anticoagulante non devono essere testati con questo kit.

PROCEDURA

Materiali Forniti:

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

1. 4 – strip 1 x 8 con supporto (HAT13G) o
12 – strip 1 x 8 con supporto (HAT45G)
2. 1 x 50 mL PF4 Soluzione Concentrata
3. 1 x 30 mL Diluente Campioni
4. 1 x 14 mL Tampone Substrato
5. 1 x 14 mL Soluzione Stoppante
6. 1 x 80 µL Coniugato Umano Anti-IgG
7. 4 x 50 mg Substrato PNPP (HAT13G) o
6 x 50 mg Substrato PNPP (HAT45G)
8. 1 x 100 µL Siero Controllo Positivo
9. 1 x 100 µL Siero Controllo Negativo
10. Copri Piastre

Ulteriori Materiali Richiesti:

1. Provette per campioni, controlli e diluizioni
2. Pipette
3. Micropipette graduate per dispensare 1 – 10 µl, 10 – 100 µL, e 100 – 1,000 µL 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 dai campioni dei pazienti
10. Bagno-maria o incubatore a 37°C
11. Eparina Porcina, USP 10.000 unità/mL

Metodica

1. Portare i reagenti a temperatura ambiente.
2. Preparare la soluzione di lavaggio. Diluire 1 volume di PF4 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 il foglio di lavoro, due pozzetti (in doppio). Registrare l'identificativo di ogni campione sul foglio di lavoro.

PREPARARE CAMPIONI E CONTROLLI

4. Diluire come segue e miscelare bene:

	Volume Diluente Campione	Volume Campione
CP	294 µL	6 µL
CN	294 µL	6 µL
Campione Paziente	294 µL	6 µL

NOTA: Per l'accuratezza dei risultati è essenziale la misurazione precisa dei campioni e dei controlli.

5. 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.

6. Aggiungere 300 µL di soluzione di lavaggio ai pozzetti e lasciare a temperatura ambiente per 5-10 minuti.

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

8. Dispensare 50 µL dei controlli o dei campioni nei pozzetti corrispondenti.

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.

9. Coprire la piastra ed incubare per 30-35 minuti a 37°C a bagno-maria. Se si usa un incubatore a secco aumentare l'incubazione di 10 minuti.

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

Strip:	1 o 2 – 1 x 8	4 – 1 x 8	12 – 1 x 8
HAG	10 µL	20 µL	60 µL
HSD	1.0 mL	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.

11. LAVAGGIO:

- Aspirare o decantare il contenuto di ogni pozzetto e asciugare bene su carta assorbente.
- Aggiungere 300 µL di soluzione di lavaggio.
- Aspirare o decantare.
- Ripetere i punti b + c per un totale di 3 o 4 lavaggi.
- Decantare energicamente per rimuovere ogni residuo di soluzione di lavaggio. Invertire su carta assorbente ed asciugare bene.

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

12. Dispensare 50 µL di coniugato diluito (come preparato al punto 10) in tutti i pozzetti tranne quelli destinati al BIANCO.

13. 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.

14. 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.

15. Diluire il PNPP sciolto 1 a 100 in tampone Substrato.

Strip:	1 o 2 – 1 x 8	4 – 1 x 8	12 – 1 x 8
PN	20 µL	40 µL	120 µL
SB	2.0 mL	4.0 mL	12.0 mL

Miscelare bene. Proteggere dalla luce fino all'uso.

16. LAVAGGIO:

- a) Aspirare o decantare il contenuto di ogni pozzetto e asciugare bene su carta assorbente.
- b) Aggiungere 300 µL 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.

17. Dispensare 100 µL PNPP diluito a tutti i pozzetti ad eccezione dei pozzetti destinati al BIANCO.

18. 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.

19. Stappare la reazione dispensando 100 µL di soluzione stoppante ad ogni pozzetto nella stessa sequenza in cui si è aggiunto il substrato. Dispensare 200 µL di soluzione stoppante ai pozzetti del bianco.

20. 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 30 minuti al massimo.

21. Sottrarre i valori del bianco ad ogni valore dei campioni e dei controlli. Molti lettori ELISA sono programmati per sottrarli automaticamente.

22. Registrare i risultati sul foglio di lavoro.

CONTROLLO DI QUALITA'

Il controllo di qualità PF4 IgGTM è 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
Media DO	≤ 0.300	≥ 1.800

I valori di DO ottenuti in campioni in doppio possono variare del 20% massimo della media dei due valori. 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

Risultati con valori di DO uguali o superiori a 0.400 DO sono considerati positivi.

METODICA DI CONFERMA DEGLI ANTICORPI EPARINO-DIPENDENTI

- 1) Aggiungere 10 µL di eparina ad 1 mL di diluente campione (10,000 unità/mL) concentrazione finale 100 Unità per mL.
- 2) Ritornare al punto 4. Diluire il siero paziente ed i controlli positivi con il diluente campione contenente l'eccesso di eparina. Diluire pazienti e controlli anche nel diluente campioni senza eparina.
- 3) Reidratare strip. Dispensare 50 µL di ogni paziente e controlli diluiti come al punto 2 nei pozzetti in doppio.
- 4) Eseguire il test come descritto in metodica iniziando dal punto.

INTERPRETAZIONE DEL TEST DI CONFERMA

L'inibizione della reazione positiva del 50% o più in presenza di eccesso di eparina conferma per la presenza di anticorpi specifici che reagiscono con il complesso PF4 – eparina. Anche il controllo positivo deve mostrare inibizione. La formula che determina la % di inibizione è la seguente:

$$\left[(1) - \left(\frac{\text{Campione paziente con eparina} - \text{ControlloNegativo}}{\text{Campione paziente senza eparina} - \text{ControlloNegativo}} \right) \right] \times 100 = \% \text{ di Inibizione}$$

Esempio: Il campione del paziente da un valore di DO 1.000 nel test standard con valore di controllo negativo 0.200. Con eccesso di eparina, il campione del paziente da valore di DO 0.400. La percentuale di inibizione è:

$$\left[(1) - \left(\frac{0.400 - 0.200}{1.000 - 0.200} \right) \right] \times 100 = 75\%$$

L'inibizione di una reazione positiva inferiore al 50% è un risultato equivoco. Questo tipo di reazione è data da una piccola percentuale di anticorpi in pazienti con sospetta HIT di Tipo II. Il significato di questa reazione non è stato ancora stabilito. Non è ancora stato determinato fino a che punto sia consigliabile somministrare ancora eparina in pazienti con reazione equivoca al test.¹²

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, 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.

Il complesso PF4:PVS usato in questo test può differire leggermente dal complesso creato da PF4:eparina. E', quindi, possibile che alcuni anticorpi reagiscano con il PVS a non con l'eparina e vice versa.

Anche se una reazione positiva può indicare la presenza di anticorpi eparino-dipendenti, la determinazione di questi anticorpi NON CONFERMA la diagnosi di trombocitopenia indotta da eparina (HIT).

Alcuni pazienti possono avere anticorpi anti-PF4 naturali.

Campioni di pazienti esposti ad eparina ma non in terapia non sono stati usati per la valutazione di questo prodotto. Quindi pazienti diversi da quelli in trattamento con eparina non dovrebbero essere testati con questo kit.

CARATTERISTICHE SPECIFICHE DEL TEST

Precisione

Sono state determinate le imprecisioni del test nella seduta, tra sedute diverse e le imprecisioni totali ottenute con il PF4 IgGTM. Sono stati preparati tre campioni con anticorpi a concentrazione diversa diluendo un siero contenente un'alta concentrazione di anticorpi anti-PF4 :PVS in un pool di siero umano privo di anticorpi anti-PF4 :PVS. I tre campioni positivi ed un campione negativo sono stati testati con il test PF4 IgGTM in doppio in 10 test separati. Le imprecisioni nei valori di D.O. ottenute, sono state analizzate da AQNOVA in accordo con il Documento CLSI EP-5A2. I risultati sono indicati nella tabella sotto. I risultati hanno dimostrato il ≤10% di variazione nei valori di D.O. per tutti i campioni. Inoltre, i risultati sono stati analizzati in accordo al Documento CLSI EP12-A. Si è ottenuto il 100% di concordanza tra I risultati all'interno dello stesso test e tra sedute per ogni singolo campione testato.

Campione	Media Valori D.O.	Entro la stessa seduta SD	Entro la stessa seduta %cv	Tra sedute diverse SD	Tra sedute diverse %cv	Totale SD	Totale %cv
Negativo	0.090	0.005	5.6%	0.008	8.9%	0.009	10.0%
Basso Positivo	0.562	0.023	4.1%	0.056	10.0%	0.058	10.3%
Positivo medio	1.613	0.035	2.2%	0.075	4.7%	0.079	4.9%
Positivo alto	2.701	0.069	2.6%	0.092	3.4%	0.092	3.8%

PF4 IgGTM Range Normali

Sono stati reclutati centoventi campioni di siero da individui sani e sono stati testate (in duppio) con il test PF4 IgGTM. I valori di O.D. values non mostravano un distribuzione normale e, quindi, è stata usata un'analisi non parametrica per determinare il range normale di distribuzione dei valori di D.O. (95% intervallo di riferimento con il 90% di concordanza). Il valore più elevato del range di normalità è stato fissato pari a 0.352 unità di D.O.

Metodi di confronto: Confronto tra PF4 IgGTM, PF4 ENHANCED[®] e test di rilascio della Serotonina (SRA).

Sono stati conclusi due studi indipendenti in cui il PF4 IgGTM è stato confrontato sia con il PF4 ENHANCED[®] e test di rilascio della Serotonina (SRA). Il PF4 ENHANCED[®] è un test qualitativo ELISA per la determinazione di anticorpi IgG, IgA, e IgM associati all'eparina. Sono stati testati 400 campioni di siero (primo studio 1; n = 229 campioni, primo studio 2; n = 171 campioni). La seguente tabella mostra i risultati ottenuti con i metodi di confronto nei due diversi studi.

		PF4 ENHANCED [®]		
		Positivi	Negativi	Totale
PF4 IgG TM	Positivi	77	0	77
	Negativi	52	271	323
	Totale	129	271	400

Concordanza: 87%

Co-positività: 60% (95% Intervallo di concordanza = 51.1 – 67.8%)

Co-negatività: 100% (95% Intervallo di concordanza = 98.6 – 100.0%)

		Test di rilascio della Serotonina		
		Positivi	Negativi	Totale
PF4 IgG TM	Positivi	41	36	77
	Negativi	4	319	323
	Totale	45	355	400

Concordanza: 90%

Co-positività: 91% (95% Intervallo di concordanza = 79.3 – 96.5%)

Co-negatività: 90% (95% Intervallo di concordanza = 86.3 – 92.6%)

Dei 4 campioni risultati negativi con il PF4 IgGTM e positivi in SRA, tre contenevano anticorpi IgM e IgM e IgA reattivi con il complesso PF4:PVS. I rimanenti campioni negativi sono risultati negativi quando studiati con lo stesso metodo in un altro laboratorio.

Sostanze Interferenti

Sono state testate con il PF4 IgGTM le sotto elencate sostanze endogene alle concentrazioni indicate. Il test è stato eseguito in accordo con le linee guida approvate da CLSI EP7: Interference Testing in Clinical Chemistry. Ogni sostanza è stata aggiunta a campioni contenenti vari livelli di reattività PF4/anticorpi anti eparina (negativi, bassi, medi e forte positivi). I campioni sono stati, quindi, testati con PF4 IgGTM. I risultati sono stati confrontati con quelli di controllo in cui non è stata aggiunta nessuna sostanza endogena,

per tutti i campioni testati le sostanze non hanno causato effetti significativi (< 10% di differenza nei valori di D.O. tra i campioni testati ed i controlli) sui risultati ottenuti con in test PF4 IgG™.

Emoglobina 500 mg/dL
Trigliceridi 500 mg/dL
Bilirubina 20 mg/dL

Elementi Cross reattivi

Per determinare possibili cross-reazioni tra antigeni e anticorpi diversi da quelli eparino-dipendenti, sono stati testati con questo kit 68 campioni contenenti vari anticorpi inclusi anticorpi piastrino-specifici, anticorpi anti-HLA di classe I, e anti fattore reumatoide, nessuno di essi ha cross-reagito con gli antigeni immobilizzati ai pozzetti.

REFERENZE

1. Visentin GP, Aster RH: Heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis. *Curr Opin Hematol* 2:351-357, 1995.
2. Chong BH: Heparin-induced thrombocytopenia. *Blood Rev* 2:108-114, 1988.
3. Warkentin TE, Chong BH, Greinacher A: Heparin-induced thrombocytopenia: Towards consensus. *Thromb Haemost* 79:1-7, 1998.
4. Chong BH, Burgess J, Ismail F: The clinical usefulness of the platelet aggregation test for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Thromb Haemost* 69:344-350, 1993.
5. Sheridan D, Carter C, Kelton JG: A diagnostic test for heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 67:27-30, 1986.
6. Amiral J, Bridey F, Dryfus M, Vissac AM, Fressinaud E, Wolf M, Meyer D: Platelet factor 4 complexed to heparin is the target for antibodies generated in heparin-induced thrombocytopenia (letter). *Thromb Haemost* 68:95-96, 1992.
7. Visentin GP, Ford SE, Scott JP, Aster RH: Antibodies from patients with heparin-induced thrombocytopenia/thrombosis are specific for platelet factor 4 complexed with heparin or bound to endothelial cells. *J Clin Invest* 93:81-88, 1994.
8. Greinacher A, Potzch B, Amiral J, Dummel V, Eichner A, Mueller-Eckhardt C: Heparin-induced thrombocytopenia: isolation of the antibody and characterization of a multimolecular PF-4 heparin complex as the major antigen. *Thromb Haemost* 71:247-251, 1994.
9. Visentin GP, Moghaddam M, Collins JL, McFarland JG, Aster RH: Antibodies associated with heparin-induced thrombocytopenia (HIT) report conformational changes in platelet factor 4 (PF4) induced by linear, polyanionic compounds. *Blood (Suppl 1)* 90:460a, 1997.
10. Collins JL, Aster RH, Moghaddam M, Piotrowski MA, Strauss TR, McFarland JG: Diagnostic testing for heparin-induced thrombocytopenia (HIT): An enhanced platelet factor 4 complex enzyme linked immunosorbent assay (PF4 ELISA). *Blood (Suppl 1)* 90:461a, 1997.
11. Visentin GP, et. al. Heparin is not required for the detection of antibodies associated with heparin-induced thrombocytopenia/thrombosis. *J. Lab. clin. med.* 138:22-31, July 2001.
12. Aster RH; Unpublished Observations.

U.S. Patent #5,972,718



PF4 IgG™

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

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

REF HAT13G o HAT45G

Rev. 2010-03-29 (I)



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

www.gtidiagnostics.com

