

## **UTILISATIONS PRÉVUES**

PF4 ENHANCED® est un essai qualitatif par la méthode ÉLISA (enzyme linked immunosorbent assay) en phase solide conçu pour détecter les anticorps réagissant avec le facteur anti-héparinique (PF4) lorsque liés à des composés polyanioniques tel que le sulfonate de polyvinyle (PVS). Ces anticorps sont présents chez certains patients sous traitement à l'héparine.

Pour usage diagnostique in vitro.

## **SOMMAIRE ET EXPLICATION**

Les patients traités à l'héparine pendant au moins une semaine développent souvent une thrombocytopénie.<sup>1,2,3</sup> Dans certains cas le niveau de plaquettes est très peu diminué et revient à la normale même lorsque le traitement à l'héparine se poursuit. Ce type de thrombocytopénie est nommé thrombocytopénie induite par l'héparine (TIH) de "Type I" et n'est pas causée par des anticorps.<sup>2</sup>

Chez d'autres patients, la thrombocytopénie est habituellement plus sévère et est causée par des anticorps. Cet état est nommé TIH de "Type II". La TIH de type I est généralement considérée comme un état bénin, alors que les patients atteints de TIH de type II sont à risque de développer une thrombocytopénie plus sévère, de même que des thromboses artérielles et veineuses, si le traitement à l'héparine se poursuit. Les anticorps associés au TIH de type II peuvent être détectés de plusieurs façons. Les techniques les plus utilisées sont le test d'agrégation des plaquettes,<sup>4</sup> le test de libération de sérotonine,<sup>5</sup> et le dosage du facteur anti-héparinique (platelet factor 4, PF4) par la méthode ÉLISA.<sup>6,7,8</sup>

Il est maintenant connu que les anticorps associés à la TIH de type II reconnaissent des sites sur une protéine plaquettaire nommée le facteur anti-héparinique (platelet factor 4, PF4), sites créés lorsque la protéine PF4 est liée avec l'héparine ou avec tout autre composé polyanionique linéaire tel que le sulfonate de polyvinyle (PVS).<sup>9,10,11</sup>

Les micropuits ÉLISA en phase solide PF4 ENHANCED® fournissent un complexe PF4:PVS comme cible pour la détection des anticorps associés à la TIH de type II.

## **PRINCIPE**

Le sérum est ajouté aux micropuits enrobés avec facteur anti-héparinique (PF4) lié au sulfonate de polyvinyle (PVS). Si un anticorps reconnaissant un site sur le PF4:PVS est présent, la liaison se produira. Les anticorps non liés sont alors lavés. Un réactif anti-globuline humaine conjugué à la phosphatase alcaline (Anti-IgG/A/M) est ajouté aux puits et incubé. Les Anti-IgG/A/M non liés sont lavés et le substrat PNPP (p-nitrophényl phosphate) est ajouté. Après une incubation de 30 minutes, la réaction est arrêtée par une solution d'hydroxide de sodium. La densité optique de la couleur qui se développe est mesurée au spectrophotomètre.

## **COMPOSITION DU COFFRET**

Nombre maximal de tests par coffret: 13 (X-HAT13) ou 45 (X-HAT 45)

Tous les réactifs doivent être entreposés selon les instructions indiquées sur l'étiquette.

- |             |   |
|-------------|---|
| <b>MS</b>   | 1. Micropuits: barrettes avec micropuits à fond plat auxquels sont attachés le facteur anti-héparinique (PF4) lié au sulfonate de polyvinyle (PVS) a été attaché. Les barrettes sont incluses dans des sachets d'aluminium refermable. Prêt à l'emploi.   |
| <b>HTCW</b> | 2. PF4 Solution de lavage concentrée (10x): solution tamponnée de Tris (hydroxyméthyl) aminométhane contenant du chlorure de sodium et du Tween 20. 1% d'azide de sodium. Diluer avec de l'eau déionisée ou distillée avant utilisation. Conserver la solution de lavage de travail jusqu'à 48 heures à la température de la pièce ou jusqu'à 7 jours à une température de 2 à 8°C. |
| <b>HSD</b>  | 3. Tampon pour échantillon: solution saline tamponnée au phosphate. 0.05% d'azide de sodium. Prêt à l'emploi.   |
| <b>SB</b>   | 4. Tampon de substrat: Cette solution contient du diéthanolamine et du chlorure de magnésium. 0.02% d'azide de sodium. Prêt à l'emploi. Protéger de la lumière.   |

<b>SS</b>	5. Solution d'arrêt: Hydroxide de sodium 3 M. Prêt à utiliser. Employer avec précaution.
<b>HAH</b>	6. Conjugué: Anticorps de chèvre anti-immunoglobuline (IgG/A/M) humaine, purifié par affinité et conjugué à la phosphatase alcaline. 0.1% d'azide de sodium. Diluer avec le tampon pour échantillon avant utilisation.
<b>PN</b>	7. Substrat PNPP (p-nitrophényl phosphate): Poudre cristalline. Reconstituer avec de l'eau déionisée ou distillée et diluer avec le tampon de substrat avant utilisation. Protéger de la lumière.
<b>HPC</b>	8. Sérum contrôle positif: sérum humain contenant de l'albumine bovine. 0.1% d'azide de sodium. Diluer avec le tampon pour échantillon avant utilisation.
<b>HNC</b>	9. Sérum contrôle négatif: sérum humain. 0.1% d'azide de sodium. Diluer avec le tampon pour échantillon avant utilisation.
<b>PS</b>	10. Scellants pour plaques.

### **PRÉCAUTIONS**

- Ne pas utiliser de réactifs qui sont troubles ou contaminés.
- Prendre des précautions pour éviter la contamination du tampon pour échantillon et conjugué. Une contamination involontaire de ces réactifs avec du sérum humain entraînera la neutralisation du conjugué et ainsi l'échec du test.
- Ne pas utiliser de réactifs au-delà de la date de péremption.
- Les micropuits et les réactifs inclus dans ce coffret ne doivent pas être utilisés conjointement avec aucun autre ensemble de test.
- La substitution de composantes autres que celles fournies dans ce coffret peut entraîner des résultats incohérents ou erronés.
- Après chaque essai, disposer de toutes portions inutilisées de conjugué dilué, des contrôles positif et négatif dilués, et du réactif PNPP reconstitué et dilué.
- Lors de la préparation des dilutions, pipetter selon les instructions du fabricant afin d'assurer des techniques de distribution et de rinçage appropriées.
- La réaction entre l'enzyme et le substrat, se produisant lors de l'incubation finale, est sensible à la température et doit être exécutée dans un environnement contrôlé de 22-25°C.
- À cause de variations des instruments ou de températures constamment plus élevées ou plus faibles, il peut être nécessaire pour le laboratoire d'établir une période d'incubation légèrement plus longue ou plus courte afin d'obtenir de façon constante des résultats de contrôles valides. La température de l'incubation finale peut affecter les valeurs des contrôles, il est donc important de vérifier de façon périodique la température de la pièce d'incubation.

### **AVERTISSEMENTS**

- Tous les sérums d'origine humaine utilisés dans les contrôles négatifs et positifs ont été testés et trouvés négatifs concernant les anticorps anti-VIH 1+2, l'hépatite C et l'antigène HBs. Cependant aucune méthode ne peut offrir une totale assurance de l'absence de ces virus ou autres agents infectieux. Par conséquent, ces matériaux doivent être manipulés comme des produits potentiellement infectieux.
- Certains réactifs fournis dans ce coffret contiennent l'azide de sodium comme agent de conservation.  
**MISE EN GARDE:** L'azide de sodium réagit avec le plomb et le cuivre de la plomberie pour former des métaux azides hautement explosifs. Lorsque disposé dans l'évier, il est recommandé de rincer avec beaucoup d'eau pour éviter la concentration d'azide. L'azide de sodium est un poison, toxique si ingéré.
- La solution d'arrêt contient du NaOH un produit corrosif. Éviter tout contact avec la peau et les yeux. Tout renversement devrait être nettoyé immédiatement.
- Jeter les réactifs selon les règlements locaux.

### **ÉCHANTILLONS**

Il est recommandé de prélever le sang sans anticoagulant selon des techniques aseptiques. Le sang devrait être testé pendant qu'il est encore frais afin de minimiser les risques d'obtenir de faux positifs ou de faux négatifs causés par un mauvais entreposage ou une contamination de l'échantillon. Les échantillons qui ne peuvent être testés immédiatement doivent être

conservés à une température de 2-8°C jusqu'à 48 heures suivant le prélèvement, ou congelés. Les échantillons congelés à une température  $\leq -20^{\circ}\text{C}$  se conservent en bonne condition pour plusieurs années (2 à 3 ans). Cependant, pour éviter les effets néfastes de cycles répétés de congélation – décongélation, il est recommandé d'aliqoter les échantillons en petits volumes avant de les congeler. Éviter les congélateurs à dégivrage automatique.

Le sérum doit être séparé des cellules rouges lorsque conservé ou expédié.

Des particules ou des agrégats dans l'échantillon peuvent causer des résultats faux positifs ou de mauvaises valeurs de duplicata. Ces échantillons doivent être clarifiés par centrifugation avant d'être testés.

Seul le sérum humain entier est approprié pour cet essai. La dilution préalable des échantillons avec tout autre chose que le sérum humain normal, négatif pour ÉLISA, peut modifier les résultats.

Des échantillons contaminés par des microbes, hémolysés, lipémiques, ictériques ou inactivés par la chaleur peuvent donner des résultats incohérents et doivent être évités.

**MISE EN GARDE:** Les échantillons anticoagulés à l'héparine ne doivent pas être utilisés dans ce test.

## **MODE OPÉRATOIRE**

### **Matériel Fourni:**

Les flacons peuvent contenir une quantité de réactif plus grande que celle indiquée sur l'étiquette. Bien mesurer le réactif avec un instrument approprié pour préparer les dilutions.

1. 4 – 1 x 8 barrettes de micropuits avec support (X-HAT13) ou  
12 – 1 x 8 barrettes de micropuits avec support (X-HAT45)
2. 1 x 50 ml PF4 solution de lavage concentrée
3. 1 x 30 ml tampon pour échantillon
4. 1 x 14 ml tampon de substrat
5. 1 x 14 ml solution d'arrêt
6. 1 x 80  $\mu\text{l}$  conjugué anti-IgG/A/M humain
7. 4 x 50 mg substrat PNPP (X-HAT13) ou  
6 x 50 mg substrat PNPP (X-HAT45)
8. 1 x 100  $\mu\text{l}$  sérum contrôle positif
9. 1 x 100  $\mu\text{l}$  sérum contrôle négatif
10. Scellants pour plaques

### **Matériel Nécessaire non Fourni:**

1. Tubes à essai pour échantillons de patients, dilution des contrôles et dilution des réactifs
2. Pipettes de transfert
3. Micropipettes ajustables pour distribuer 1 – 10  $\mu\text{l}$ , 10 – 100  $\mu\text{l}$  et 100 – 1000  $\mu\text{l}$  avec des embouts jetables
4. Chronomètre
5. Lecteur de microplaque capable de mesurer des densités optiques de 405, 410 et 490 nm
6. Eau déionisée ou distillée
7. Serviettes de papier absorbant
8. Instrument pour laver les microplaques
9. Centrifugeuse capable de séparer le sérum ou le plasma des échantillons de patients
10. Incubateur ou bain-marie à 37°C
11. Héparine porcine, USP 10 000 unités/mL

### **Procédure**

1. Amener tous les réactifs à la température de la pièce.
2. Préparer une solution de lavage de travail en diluant la PF4 solution de lavage concentrée. Ajouter 1 volume de PF4 solution de lavage concentrée à 9 volumes d'eau déionisée ou distillée. **Bien mélanger.**

3. Déterminer le nombre d'échantillons de patients à tester. Utiliser le tableau de résultats pour assigner chaque échantillon à un emplacement consistant en deux puits (duplicata). Noter l'identité de chaque échantillon sur le tableau de résultats.

#### PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS ET DES CONTRÔLES

4. Diluer comme suit et bien mélanger:

	Volume de tampon pour échantillon	Volume d'échantillon
HPC	294 µl	6 µl
HNC	294 µl	6 µl
Échantillon de patient	294 µl	6 µl

NOTE : Une mesure précise des échantillons contrôles et de patients est essentielle pour obtenir des résultats exacts.

5. Retirer la monture de micropuits du sachet. Retirer rapidement et resceller toutes barrettes non utilisées dans le sachet protecteur.

NOTE: Une seule monture est fournie avec le coffret. Ne pas la jeter avant que toutes les barrettes aient été utilisées.

NOTE: Orienter la plaque afin que le puits A1 se situe dans le coin en haut à gauche. Soyez certain que toutes les barrettes soient mises de façon appropriées et insérées à la plaque. Etiqueter ou numéroter chaque barrette afin d'éviter des erreurs. Maintenir la même orientation de plaque durant tout l'essai.

6. Ajouter 300 µl de solution de lavage de travail à chaque puits et laisser reposer 5 à 10 minutes à la température de la pièce.

7. Aspirer ou décanter énergiquement et inverser sur du tissu-éponge absorbant pour empêcher de s'assécher.

8. Ajouter 50 µl du contrôle approprié ou de l'échantillon dans les puits tel qu'indiqué sur le tableau de résultats.

NOTE : Ne pas ajouter d'échantillons ou de réactifs aux puits vierges.

NOTE: Si plusieurs échantillons de patients différents sont testés en même temps, une seule série de contrôles est nécessaire. Étiqueter chaque barrettes pour éviter les erreurs.

9. Sceller les micropuits avec un scellant pour plaques et incuber de 30-35 minutes 37°C au bain-marie. Si un incubateur sec est utilisé au lieu du bain-marie, augmenter le temps d'incubation de 10 minutes.

10. Diluer le conjugué 1 dans 100 dans le tampon pour échantillon. Utiliser un contenant en polypropylène.

Barrettes:	1 ou 2 – 1 x 8	4 – 1 x 8	12 – 1 x 8
HAH	10 µl	20 µl	60 µl
HSD	1,0 ml	2,0 ml	6,0 ml

NOTE: Le conjugué est une solution visqueuse. Amorcer les embouts de pipette en prélevant-distribuant 2-3 fois dans le conjugué avant de l'ajouter au tampon pour échantillon; rincer après chaque distribution. Bien mélanger.

#### 11. ÉTAPE DE LAVAGE:

- Aspirer ou décanter le contenu de chaque puits et presser sur de tissu-éponge absorbant.
- Ajouter 300 µl de solution de lavage de travail.
- Aspirer ou décanter.
- Répéter les étapes b et c pour un total de 3 à 4 lavages.
- Décanter vigoureusement pour enlever toute solution de lavage résiduelle. Inverser sur du tissu-éponge absorbant pour empêcher de s'assécher.

NOTE: Il est important d'enlever complètement toute la solution de lavage après le dernier lavage.

12. Ajouter 50 µl de conjugué dilué (préparé précédemment) à chaque puits SAUF aux puits désignés VIERGES.
13. Sceller les micropuits avec un scellant pour plaques et incubé de 30-35 minutes à 37°C au bain-marie. Si un incubateur sec est utilisé au lieu du bain-marie, augmenter le temps d'incubation de 10 minutes.
14. Dissoudre le substrat PNPP en ajoutant 0,5 ml d'eau déionisée ou distillée à la fiole. Remettre le bouchon et bien mélanger. Protéger de la lumière jusqu'à utilisation.
15. Diluer le PNPP 1 dans 100 dans le tampon de substrat.

Barrettes:	1 ou 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

Bien mélanger. Protéger de la lumière jusqu'à utilisation.

#### 16. ÉTAPE DE LAVAGE:

- a. Aspirer ou décanter le contenu de chaque puits et presser sur de tissu-éponge absorbant.
- b. Ajouter 300 µl de solution de lavage de travail.
- c. Aspirer ou décanter.
- d. Répéter les étapes b et c pour un total de 3 à 4 lavages.
- e. Décanter vigoureusement pour enlever toute solution de lavage résiduelle. Inverser sur du tissu-éponge absorbant pour empêcher de s'assécher.

Poursuivre rapidement les trois prochaines étapes.

17. Ajouter 100 µl de la solution de PNPP diluée à chaque puits SAUF ceux désignés VIERGES.
18. Incuber les micropuits dans l'obscurité pendant 30 minutes à la TEMPÉRATURE DE LA PIÈCE (22-25°C).

NOTE: Le temps et la température d'incubation suite à l'ajout du PNPP sont critiques. NE PAS varier le temps et la température d'incubation établis. À des fins d'uniformité, débiter le chronométrage rapidement après l'ajout du réactif au premier puits.

19. Arrêter la réaction par l'ajout de 100 µl de solution d'arrêt à chaque puits dans le même ordre que celui utilisé lors de l'ajout du substrat. Ajouter 200 µl de la solution d'arrêt aux puits vierges.
20. Lire la densité optique de chaque puits à 405 ou 410 nm en utilisant un filtre de référence de 490 nm. Si les résultats ne peuvent être lus immédiatement, laisser les puits dans l'obscurité pendant jusqu'à 30 minutes.
21. Soustraire la valeur obtenue pour les puits vierges de tous les puits contenant les contrôles et les échantillons. Plusieurs instruments de lecture ÉLISA sont programmés pour faire ce calcul automatiquement.
22. Noter les résultats obtenus sur le tableau de résultats.

### CONTROLE QUALITÉ

Le contrôle de qualité de PF4 ENHANCED® est bâti à l'intérieur de cet ensemble de test par l'inclusion de sérums contrôles positifs et négatifs. Ces contrôles doivent être inclus lors de chaque essai pour aider à déterminer si des erreurs techniques ou des échecs de réactifs se sont produits.

Critères pour valider le test:

	Contrôle Négatif	Contrôle Positif
Valeur moyenne de la densité optique (OD)	≤ 0.300	≥ 1.800

Les valeurs de densité optique obtenues pour les duplicata doivent être à l'intérieur de 20% de la moyenne des deux valeurs. Les échantillons pour lesquels les résultats sont à l'extérieur de cette limite doivent être retestés.

NOTE: De mauvaises valeurs de duplicata peuvent être causées par l'omission d'un réactif ou de l'échantillon, l'ajout inégal des réactifs, une température d'incubation inégale, une exposition à la lumière lors de l'incubation finale, ou une contamination entre puits. L'absence de résultats de tests en duplicata peut mener à l'approbation de résultats erronés.

## **INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS**

Les résultats de tests démontrant des valeurs de densité optique égales ou plus grandes que 0,400 sont considérés comme résultats positifs.

## **PROCÉDURE POUR LA CONFIRMATION D'ANTICORPS ASSOCIÉS À L'HÉPARINE**

- 1) Ajouter 10 µl d'héparine (10 000 unités/ml) à 1 ml de tampon pour échantillon pour une concentration finale de 100 unités par ml.
- 2) Retourner à l'étape 4. Diluer les échantillons de patients et le contrôle positif dans le tampon pour échantillon contenant un excès d'héparine. Diluer également les échantillons patients, le contrôle positif et le contrôle négatif dans le tampon pour échantillon inclus dans la trousse.
- 3) Réhydrater les barrettes comme précédemment. Ajouter des aliquots de 50 µl de chaque dilution des contrôles et de patients aux puits en duplicata.
- 4) Poursuivre le test décrit dans la section 'Procédure' en débutant à l'étape 9.

## **INTERPRÉTATION DE LA PROCÉDURE DE CONFIRMATION**

Une inhibition de plus de 50% d'une réaction positive en présence d'un excès d'héparine est considérée comme la confirmation de la présence d'un anticorps héparine-dépendant, une caractéristique de la HIT de type II. Le contrôle positif devrait également démontrer une inhibition. La formule pour déterminer le pourcentage d'inhibition est la suivante:

$$\left[ (1) - \left( \frac{\text{Échantillon de patient avec héparine} - \text{Contrôle Négatif}}{\text{Échantillon de patient sans héparine} - \text{Contrôle Négatif}} \right) \right] \times 100 = \% \text{ d'Inhibition}$$

Exemple: Le sérum du patient donne une valeur de densité optique de 1,000 dans l'essai standard avec une valeur de contrôle négatif de 0,200. En présence d'un excès d'héparine, le sérum de patient donne une valeur de densité optique de 0,400. Le pourcentage d'inhibition est:

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

L'inhibition d'une réaction positive par moins de 50% est considérée un résultat ambigu. Ce type de réaction est causé par un petit pourcentage d'anticorps chez les patients soupçonnés de cas de HIT de type II. La signification de ce type de réaction n'est pas encore établie. Il n'est pas encore déterminé s'il est risqué ou non d'administrer à nouveau de l'héparine aux patients dont le sérum donne une réaction ambiguë.<sup>12</sup>

## **LIMITES DE LA TECHNIQUE**

Des résultats erronés peuvent être causés par une contamination bactérienne des matériaux du test, des périodes d'incubation inadéquates, un mauvais lavage ou décantage des puits, une exposition du substrat à la lumière, l'omission de réactifs, une exposition à des températures plus élevées ou plus faibles que celles prescrites, ou l'omission d'étapes.

La présence de complexes immuns ou autres agrégats d'immunoglobulines dans les échantillons de patients peut causer une augmentation de la liaison non-spécifique et produire de faux positifs dans cet essai.

Les résultats de cet essai ne doivent pas être utilisés comme le seul fondement d'un jugement clinique.

Certains anticorps à faible titre et faible avidité peuvent ne pas être détectés dans cet essai.

Les complexes PF4:PVS utilisés dans ce test peuvent différer légèrement de ceux créés par les complexes PF4:héparine. Il est donc possible que certains anticorps réagissant avec les complexes de PVS ne réagissent pas avec les complexes à l'héparine et vice versa.

Bien qu'une réaction positive obtenue par ce test peut indiquer la présence d'anticorps associé à l'héparine, la détection de tels anticorps NE CONFIRME PAS le diagnostic d'une thrombocytopenie induite par l'héparine (HIT).

Certains patients peuvent naturellement posséder des anticorps contre le PF4.

Les échantillons de patients exposés à l'héparine mais non pas sous traitement à l'héparine n'ont pas été utilisés lors de l'évaluation de ce produit. Par conséquent, des échantillons de patients autres que ceux sous traitement à l'héparine ne devraient pas être testés.

## **PERFORMANCES SPÉCIFIQUES**

Lorsque bien entreposé et utilisé selon le mode opératoire décrit ci-dessus, ce produit peut détecter les anticorps dirigés contre les complexes PF4:PVS.

Afin d'assurer une réactivité et une spécificité adéquates, chaque lot de PF4 ENHANCED<sup>®</sup> est testé avant la mise en vente avec des échantillons connus pour contenir des anticorps réagissant avec les complexes PF4:PVS de même qu'avec des échantillons connus ne possédant pas ces anticorps.

### **Évaluation de la Performance**

		Méthode Comparative		
		Positif	Négatif	Total
PF4 ENHANCED <sup>®</sup>	Positif	144	51*	195
	Négatif	2	452	454
Total		146	503	649

Concordance: 91.8%

Co-positivité: 98.6% Co-négativité: 89.9%

Méthode Comparative : Test de Libération de Sérotonine

\* Des données supplémentaires obtenues de 9 de ces patients ont indiqué que 6 d'entre eux démontraient un parcours clinique cohérent avec le HIT. Le parcours clinique des 3 autres patients rendaient un diagnostic de HIT incertain.<sup>10</sup>

Afin de déterminer une réactivité croisée possible entre l'antigène cible et des anticorps autres que des anticorps associés à l'héparine, 63 échantillons contenant une variété d'anticorps, incluant des anticorps connus contre des allo-antigènes plaquettaires, des auto-anticorps de plaquettes, des anticorps contre les molécules HLA de classe I et contre le facteur rhumatoïde, ont été testés dans ce test et aucun n'ont démontré de réactivité croisée avec l'antigène cible immobilisé dans les micropuits.

## **RÉFÉRENCES**

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**



**GTI<sup>®</sup>DIAGNOSTICS**

Good science starts with people.<sup>™</sup>

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

REF X-HAT13 ou X-HAT45

Révision: 2007-06-28 (F)



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

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

**PF4 ENHANCED<sup>®</sup>**

- POUR USAGE DIAGNOSTIQUE *IN VITRO*
- CONSERVER À UNE TEMPÉRATURE DE 2-8°C

