

# PF4 ENHANCED®

## BRUKSOMRÅDE

PF4 ENHANCED® er et kvalitativt fast fase enzym linket immunosorbent assay (ELISA) designet for å detektere antistoffer som er reaktive med blodplatefaktor 4 (PF4) når de er kompleksbundet til forbindelser som f. eks polyanioniske forbindelser som Polyvinyl Sulfonat (PVS). Disse antistoffene finnes hos noen pasienter som gjennomgår heparin terapi.

Til *In Vitro* Diagnostisk bruk.

## SAMMENDRAG AV FORKLARING

Pasienter som får heparin behandling i minst en uke utvikler ofte trombocytopenia.<sup>1,2,3</sup> I noen tilfeller blir blodplatenivåene redusert litt, for så å gå tilbake til det normale selv når heparin behandlingen fortsetter. Denne typen trombocytopenia blir kalt "Type I" heparin-indusert trombocytopenia (HIT) og er ikke antistoff-mediert.<sup>2</sup>

I andre pasienter er trombocytopenia vanligvis mer alvorlig og antistoff-mediert. Denne tilstanden er betegnet "Type II" HIT. Type I HIT er generelt regnet for å være en godartet tilstand, mens pasienter med Type II HIT er i faresonen for å utvikle mer alvorlig trombocytopeni samt arteriell eller venøs trombose hvis heparin behandlingen fortsetter. Antistoffer assosiert med Type II HIT kan oppdages på flere måter. De mest brukte teknikkene er test for blodplate aggregering,<sup>4</sup> test for frigitt serotonin<sup>5</sup> og blodplater faktor 4 ELISA.<sup>6,7,8</sup>

Det er nå kjent at antistoffer assosiert med Type II HIT gjenkjenner steder på et blodplate protein, "blodplate faktor 4" (PF4) som opprettes når PF4 er kompleksbundet med heparin eller et annet lineært polyanionisk stoff som polyvinyl sulfonat (PVS).<sup>9,10,11</sup>

PF4 ENHANCED® Fast Fase ELISA mikrobrønner har PF4:PVS komplekser immobilisert som et mål for påvisning av antistoffer assosiert med Type II HIT.

## PRINSIPP FOR PROSEDYREN

Pasientens prøven overføres til mikrobrønnene som er belagt med blodplate faktor 4 (PF4) kompleksbundet til polyvinyl sulfonat (PVS). Hvis et antistoff gjenkjenner et område på PF4:PVS vil det oppstå en binding. Ubundet antistoff blir deretter vasket bort. Et alkalisk fosfatase merket anti-humant globulin reagens (Anti-IgG/A/M) blir tilsatt brønnene og inkubert. Ubundet Anti-IgG/A/M blir vasket bort, og substratet PNPP (p-nitrophenyl fosfat) blir tilsatt. Etter 30 minutters inkubasjonstid, blir reaksjonen stoppet med Stopp Løsning. Den optiske tettheten av fargen som utvikles måles i et spektrofotometer.

## REAGENSER

Maks antall tester pr kit: 13 (X-HAT13) eller 45 (X-HAT45)

Alle reagenser bør lagres som anvist på etiketten.

- |             |  |
|-------------|--|
| <b>MS</b>   | 1. Mikrobrønner: Flatbunnet mikrobrønn strips med immobilisert affinitetsrenset blodplate faktor 4 (PF4) kompleksbundet til polyvinyl sulfonat (PVS). Mikrobrønnene er vedlagt i en pakke som kan åpnes og lukkes. Klar til bruk.  |
| <b>HTCW</b> | 2. PF4 Konsentrert Vask (10x): Tris (hydroksimetyl) aminometan bufret løsning som inneholder natriumklorid og Tween 20. 1% natriumazid. Fortynn med deionisert eller destillert vann før bruk. Arbeidsvaskeløsning kan lagres i opptil 48 timer ved romtemperatur eller inntil sju dager ved 2 til 8 °C. |
| <b>HSD</b>  | 3. Prøve Fortynner: Fosfatbufret saltvannsoppløsning. 0,05% natriumazide. Klar til bruk.   |
| <b>SB</b>   | 4. Substrat Buffer: Denne løsningen inneholder dietanolamin og magnesiumklorid. 0,02% natriumazid. Klar til bruk. Beskyttes mot lys.   |
| <b>ESS</b>  | 5. Stopp Løsning: Klar til bruk  |
| <b>HAH</b>  | 6. Konjugat: Alkalisk fosfatase konjugert med affinitetsrenset antistoff fra geit mot humant immunoglobulin (IgG / A / M). 0,1% natriumazid. Fortynnes i Prøve Fortynner før bruk.   |

- |            |  |
|------------|--|
| <b>PN</b>  | 7. PNPP (p-nitrofenyl fosfat) Substrat: Krystallinsk pulver. Rekonstitueres med deionisert eller destillert vann og fortynnes i substrat buffer før bruk. Beskyttes mot lys. |
| <b>HPC</b> | 8. Positiv Serum Kontroll: Humant Serum inneholder albumin fra storfe. 0,1% natriumazid. Fortynnes i Prøve Fortynner før bruk.   |
| <b>HNC</b> | 9. Negativ Serum Kontroll: Humant Serum. 0,1% natriumazid. Fortynnes Prøve Fortynner før bruk.   |
| <b>PS</b>  | 10. Plate forseglar.   |

## FORHÅNDSREGLER

- Ikke bruk reagenser som er grumsete eller forurenset.
- VÆR NØYE for å unngå forurensning av Prøve Fortynner og Konjugat. Utsiktet kontaminering av disse reagensene med humant serum vil resultere i nøytralisering av konjugatet som igjen vil føre til at testen ikke fungerer.
- Ikke bruk reagenser som er gått over utløpsdato.
- Mikrobrønner og reagenser som finnes i pakken skal ikke brukes sammen med andre testsystemer.
- Utskifting av komponenter andre enn de som gis i dette settet kan føre til inkonsistente eller feilaktige resultater.
- Kast alle løsningsrester av fortynnet konjugat, fortynnet positiv og negativ kontroll og fortynnet og rekonstituert PNPP reagens etter hver kjøring.
- Når du lager fortynninger, følg pipette produsentens instruksjoner for riktig dosering og skylleteknikker.
- Enzym substrat reaksjonen som oppstår i den siste inkuberingen er temperatursensitiv og bør utføres i et kontrollert område på 22 til 25 °C.
- På grunn av variasjoner i instrumenter eller gjennomgående høyere eller lavere romtemperatur, kan det være nødvendig for laboratoriet å etablere en litt lengre eller kortere inkubasjonstid, for å oppnå konsekvent gyldige kontrollresultater. Fordi temperaturen i den siste inkuberingen kan påvirke kontrollverdiene, er det viktig ved jevne mellomrom å overvåke romtemperaturen der inkuberingen skjer.

## FORSIKTIGHETSREGLER

- Alle humane serum som brukes i de positive og negative kontrollene i dette produktet er testet og funnet negative for antistoff mot HIV, HCV og HBsAg vha FDA godkjente metoder. Ingen testmetode kan imidlertid gi fullstendig forsikring om at HIV, hepatitt C-viruset, hepatitt B-virus eller andre smittsomme agens er fraværende. Derfor bør disse materialene håndteres som potensielt smittefarlige.
- Noen av reagenser som følger med dette produktet inneholder natriumazid som konserveringsmiddel.  
**ADVARSEL:** Natriumazid reagerer med bly- og kopperrør og danner svært eksplosive metallazider. Når det tømmes i vasken, bør en skylle med store volum vann for å forhindre opphopning av azid. Natriumazid er en gift og er giftig ved svelging.
- Når en er ferdig kastes alle komponenter i henhold til lokale forskrifter.

## PRØVETAKNING

Blod skal samles i ACD, eller natriumsitrat (plasma), eller uten antikoagulant (serum) vha aseptisk teknikk og bør testes fersk for å minimalisere sjansen for å få falske positive eller falske negative reaksjoner på grunn av feil lagring eller kontaminering av prøven. Prøver som ikke kan testes umiddelbart bør lagres ved 2 til 8 °C, men ikke lenger enn 48 timer, eller i fryser. Prøver frosset ved -20 °C eller kaldere er fortsatt i god stand i flere år (2-3 år). Men for å unngå den skadelige effekten av gjentatte fryse / tine sykluser, er det anbefalt at prøver bør aliquoterer i små mengder og deretter lagres i fryser. Unngå frostfrie fryser.

Serum eller plasma må skilles fra røde blodceller når de lagres eller sendes.

Partikler eller aggregater i prøvene kan forårsake falske positive resultater eller dårlige duplikate verdier. Prøver som inneholder partikler bør sentrifugeres før testing for fjerning av partikler/aggregater.

Bare uforynnnet humant serum eller plasma er egnet for denne analysen. Fortynning av prøver med noe annet enn normalt, ELISA negativ humant serum kan påvirke resultatene.

Mikrobiologisk kontaminering, hemolysert, lipemisk, icterisk eller varme-inaktivert serumprøve kan gi inkonsistente testresultater og bør unngås.

**ADVARSEL:** Prøver som er antikoagulerende med heparin bør ikke brukes i denne analysen.

## **PROSEDYRE**

### **Materialer som følger med i produktet:**

Rørene kan inneholde mer løsning enn beskrevet på etiketten. Sørg for å måle reagensene med passende måleenheter på pipetten når du gjør fortynninger.

1. 4 – 1 x 8 Mikrobønn Strips med holder (X-HAT13) eller  
12 – 1 x 8 Mikrobønn Strips med holder (X-HAT45)
2. 1 x 50 mL PF4 Konsentrert Vask
3. 1 x 30 mL Prøve Fortynner
4. 1 x 14 mL Substrat Buffer
5. 1 x 14 mL Stopp Løsning
6. 1 x 80 µL Anti-Human IgG/A/M Konjugat
7. 4 x 50 mg PNPP Substrat (X-HAT13) eller  
6 x 50 mg PNPP Substrat (X-HAT45)
8. 1 x 100 µL Positiv Serum Kontroll
9. 1 x 100 µL Negativ Serum Kontroll
10. Plate Forsegler

### **Materialer som er nødvendig i tillegg:**

1. Testrør for pasientprøver, kontrollfortynninger og reagensfortynninger
2. Pipetter for å overføre løsninger
3. Justerbare mikropipetter for områdene 1 – 10 µL, 10 – 100 µL, og 100 – 1000 µL og engangsspisser
4. Timer
5. Mikroplateleser som kan måle OD ved 405 eller 410 og 490 nm
6. Deionisert eller destillert vann
7. Absorberende papirhåndklær
8. Mikroplate vaskemaskin eller lignende hjelpemiddel
9. Sentrifuge som kan skille serum eller plasma fra pasientprøver
10. 37°C vannbad eller inkubator
11. Heparin, Porcine, USP 10,000 units/mL

### **Test prosedyre**

1. Sett alle reagensene i romtemperatur.
2. Lag arbeidsvask løsning ved å fortynne PF4 Konsentrert Vask. Tilsett 1 mengde av PF4 Konsentrert Vask til 9 mengder deionisert eller destillert vann. Bland godt.
3. Bestem antall pasientprøver som skal testes. Bruk notat arket og plasser hver prøve i to (duplikate) brønner. Skriv ned identiteten til hver prøve på notat arket.

### **FORBERED PRØVER OG KONTROLLER**

4. Tynn ut som vist i tabell og bland godt:

	Volum Prøve Fortynner	Prøvevolum
HPC	294 µL	6 µL
HNC	294 µL	6 µL
Pasient prøve	294 µL	6 µL

MERK: Presis måling av pasient og kontrollprøver er en forutsetning for nøyaktige resultater.

5. Ta ut mikrobønn rammen fra posen. Ta ut strips og lukk straks posen med resten av stripsene.

MERK: Det er kun én ramme i settet. Ikke kast denne før alle strips er brukt opp.

MERK: Orienter rammen med A1 i øvre venstre hjørne. Sørg for at alle stripsene er satt inn riktig og festet godt i rammen. Merk hver strips for å unngå feil. Hold samme orientering på platen gjennom hele analysen.

6. Tilsett 300 µL arbeidsvaske løsning til alle brønnene og la stå i romtemperatur i 5-10 minutter.
7. Sug opp eller dekanter kraftig og snu opp-ned på absorberende papir for å hindre uttørking.
8. Tilsett 50 µL av de aktuelle fortynnede kontroller eller prøver til brønnene som angitt på notat arket.

MERK: Ikke tilsett prøver eller reagenser til blanke brønner.

MERK: Hvis flere pasientprøver blir testet samtidig, er det bare nødvendig med ett sett av kontroller. MERK HVER STRIPS FOR Å UNNGÅ FEIL.

9. Forsegle mikrobrønnene med en plate forseglar og inkuber i 30-35 minutter i et 37 °C vannbad. Hvis en tørr inkubator brukes i stedet, øk tiden med 10 minutter.
10. Fortynn Konjugat 1 til 100 i Prøve Fortynner. Bruk en polypropylen beholder.

Strips:	1 eller 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

MERK: Konjugatet er viskøst. Prime derfor sprøytespiss 2-3 ganger i Konjugatet før dispensering og rens etter tilsetting i Prøve Fortynner. Blandes godt.

#### 11. VASKE TRINN:

- a) Sug opp eller dekanter innholdet i hver brønn og blot på absorberende papir.
- b) Tilsett 300 µL arbeidsvaske løsning.
- c) Sug opp eller dekanter.
- d) Repeter trinn b + c 3 eller 4 ganger.
- e) Dekanter energisk for å fjerne alle rester av vaskeløsning. Snu opp-ned på absorberende papir for å hindre uttørking.

MERK: Det er viktig å fjerne all vaskeløsning etter siste vask.

12. Tilsett 50 µL fortynnet Konjugat (tillaget i tidligere trinn) til alle brønner UTENOM de som skal være BLANKE.
13. Forsegle mikrobrønnene med en plate forseglar og inkuber i 30-35 minutter i et 37 °C vannbad. Hvis en tørr inkubator brukes i stedet, øk tiden med 10 minutter.
14. Løs opp PNPP Substrat ved å tilsette 0,5 mL deionisert eller destillert vann i røret. Erstatt forseglar på røret og bland godt. Beskytt løsning mot lys frem til bruk.
15. Fortynn PNPP 1 til 100 i Substrat Buffer.

Strips:	1 eller 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

Blandes godt. Beskytt mot lys frem til løsningen skal brukes.

#### 16. VASKE TRINN:

- a) Sug opp eller dekanter innholdet i hver brønn og blot på absorberende papir.
- b) Tilsett 300 µL arbeidsvaske løsning.
- c) Sug opp eller dekanter.
- d) Repeter trinn b + c 3 eller 4 ganger.
- e) Dekanter energisk for å fjerne alle rester av vaskeløsning. Snu opp-ned på absorberende papir for å hindre uttørking.

Fortsett umiddelbart med de tre neste trinnene.

17. Tilsett 100 µL fortynnet PNPP løsning til alle brønner UTENOM de som skal være BLANKE.

18. La mikrobrønnene stå i mørke i 30 minutter i ROM TEMPERATUR (22 til 25°C).

MERK: Inkubasjonstid og temperatur etter tilsetning av PNPP er kritisk. IKKE varier den etablerte inkubasjonstiden eller temperatur. For å oppnå konsistente resultat, start tidstakingen straks reagens er tilsatt i første brønn.

19. Stopp reaksjonen ved å tilsette 100 µL av Stopp Løsning i hver brønn i samme rekkefølge som ved tilsetning av substrat. Tilsett 200 µL Stopp Løsning til de blanke brønnene.

20. Les av absorbans (OD) for hver brønn på 405 eller 410 nm ved hjelp av et referansefilter på 490 nm. Hvis resultatene ikke kan leses av umiddelbart, kan brønnene settes mørkt i opptil 30 minutter.

21. Trekk verdiene oppnådd i de blanke brønnene fra alle prøve- og kontrollbrønnverdier. Mange ELISA lesere er programmert til automatisk å utføre dette trinnet.

22. Noter resultatene i notat arket.

### **KVALITETSKONTROLL**

Kvalitetskontrollen av PF4 ENHANCED<sup>®</sup> er bygget inne i testsystemet ved å inkludere positive og negative serumkontroller. Disse kontrollene bør bli inkludert i hver testkjøring for å hjelpe til med å bestemme om det er tekniske problemer eller om reagensene ikke virker.

Kriterier for en gyldig test:

	Negativ Kontroll	Positiv Kontroll
Gjennomsnitt OD	≤ 0,300	≥ 1,800

OD verdier som er oppnådd fra duplikate tester bør være innenfor 20% av gjennomsnittet av de to verdiene. Prøver med resultater utenfor denne grensen bør re-testes.

MERK: Dårlige duplikater kan være et resultat av manglende reagenser eller prøve, unøyaktig tilsetning av reagenser, unøyaktig temperatur under inkubering, lyseksponering under den siste inkuberingen eller krysskontaminering.

Det å ikke teste i duplikater kan føre til godkjenning av feilaktige resultater.

### **TOLKNING AV TESTRESULTATER**

Testresultater som viser OD verdier lik eller større enn 0.400 regnes som positive resultater.

### **PROSEDYRE FOR BEKREFTELSE AV HEPARIN-ASSOSIERTE ANTISTOFFER**

- 1) Til 1 mL av Prøve Fortynneren tilsettes 10 µL heparin (10,000 units/mL) til en sluttkonsentrasjon på 100 Units pr mL.
- 2) Gå tilbake til trinn 4 ovenfor. Fortynn pasient og positiv kontroll prøver i Prøve Fortynner som inneholder overskudd av heparin. Fortynn også pasient, positiv og negativ kontroll prøver i Prøve Fortynner som følger med i pakken.
- 3) Re-hydrer strips som tidligere. Tilsett 50 µL alikvoter av hver pasient og kontrollfortynning i duplikate brønner.
- 4) Kjør analysen som beskrevet i "Test Prosedyre". Begynn med trinn 9.

### **TOLKNING AV BEKREFTENDE PROSEDYRE**

Inhibering av en positiv reaksjon med 50% eller mer i nærvær av overskudd av heparin anses bekreftende for heparin-avhengige antistoffer karakteristiske for type II HIT. Den positive kontrollen bør også vise inhibering. Formelen for å avgjøre % inhibering er som følger:

$$\left[ (1) - \left( \frac{\text{Pasientprøve med Heparin - Negativ Kontroll}}{\text{Pasientprøve uten Heparin - Negativ Kontroll}} \right) \right] \times 100 = \% \text{ Inhibering}$$

Eksempel: Pasientens prøve gir en OD-verdi på 1,000 i standard analysen med en negativ kontroll verdi på 0,200. Med overskudd heparin, gir pasient prøven en OD-verdi på 0,400. Prosentandel inhibering er:

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

Inhibering av en positiv reaksjon med mindre enn 50% er et tvetydig resultat. Denne typen reaksjon skjer ved en liten prosentandel av antistoffer hos pasienter som mistenkes å ha Type II HIT. Signifikansen av denne type reaksjon er ennå ikke etablert. Det er ennå ikke bestemt hvorvidt det er trygt å re-administrere heparin til pasienter med prøver som gir en tvetydig reaksjon.<sup>12</sup>

## **BEGRENSNINGER**

Feilaktige resultater kan oppstå fra bakteriell kontaminering av test materialer, unøyaktige inkuberingsperioder, utilstrekkelig vask eller dekantering av testbrønner, lyseksponering av substrat, manglende test reagenser, eksponering for høyere eller lavere temperatur enn foreskrevet krav, eller utelatelse av trinn i prosedyren.

Tilstedeværelse av immunkomplekser eller andre immunglobulin aggregater i pasientprøver kan forårsake en økt ikke-spesifikk binding og produsere falske positive i denne analysen.

Resultatet av denne analysen bør ikke brukes som eneste grunnlag for en klinisk beslutning.

Denne analysen kan kanskje ikke oppdage lav aviditets antistoffer ved noe lav titer.

PF4:PVS komplekser brukt i denne analysen kan avvike noe fra de som er laget av PF4:heparin. Derfor er det mulig at enkelte antistoffer kan reagere med PVS komplekser som ikke reagerer med heparin komplekser og omvendt.

En positiv reaksjon oppnådd ved hjelp av denne analysemetoden kan indikere tilstedeværelse av heparin-assosierte antistoff, men påvisningen av disse antistoffene, BEKREFTER IKKE diagnosen av heparin-indusert trombocytopeni (HIT).

Noen pasienter kan ha naturlig forekommende antistoffer mot PF4.

Prøver fra pasienter utsatt for heparin, men ikke på heparin terapi, ble ikke brukt i evalueringen av dette produktet. Derfor bør prøver fra pasienter andre enn de på heparin terapi, ikke testes.

## **SPESIFIKKE YTELSESKARAKTERISTIKKER**

Dersom produktet lagres og brukes i henhold til prosedyren som er beskrevet ovenfor, kan produktet oppdage antistoffer rettet mot PF4:PVS komplekser.

For å sikre egnet reaktivitet og spesifisitet, blir hver lot av PF4 ENHANCED<sup>®</sup> testet før utgivelse med prøver med kjent innhold av antistoffer reaktive med PF4/PVS komplekser, samt prøver som er fri for slike antistoffer.

### **Evaluering av ytelse**

		Komparativ metode		Total
		Positiv	Negativ	
PF4 ENHANCED <sup>®</sup>	Positiv	144	51*	195
	Negativ	2	452	454
	Total	146	503	649

Grad av overenstemmelse: 91,8%

Co-positivitet: 98,6%                      Co-negativitet: 89,9%

Komparativ metode: Test for frigitt serotonin

\* Tilleggsinformasjon fra ni av disse pasientene indikerte at 6 av 9 hadde en klinisk kurs i samsvar med HIT. Dette gjorde diagnostisering av HIT usikker hos de 3 andre.<sup>10</sup>

For å bestemme mulig kryssreaksjon mellom ønsket antigen og andre antistoffer enn heparin-assosierte antistoffer, ble 63 prøver som inneholdt en rekke varianter av antistoff inkludert. Bl.a. kjente antistoffer mot blodplate alloantigener, blodplate autoantistoffer, antistoffer mot HLA klasse I og anti-revmatoid faktor ble testet i denne analysen og ingen viste seg å kryss reagere med antigen immobiliserte i mikrobrønner.

## REFERANSER

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 ENHANCED®**

- TIL *IN VITRO* DIAGNOSTISK BRUK
- LAGRES VED 2 TIL 8°C

**GTi DIAGNOSTiCS®**

Good science starts with people.®

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



REF X-HAT13 eller X-HAT45

Rev. 2010-03-29 (N)



Qarad b.v.b.a.  
Velmolenheide 13  
B-2400 Mol  
Belgia

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