

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Le piastrine liofilizzate sono una sospensione standardizzata e stabile di piastrine umane, specificamente progettata per i test di aggregazione piastrinica. Utilizzate routinariamente nei test di attività del cofattore della ristocetina, queste piastrine mantengono la funzione critica del recettore Gp1b, garantendo risultati accurati e affidabili. La sospensione di piastrine umane fissate con formalina semplifica il rilevamento dell'inibizione del Fattore di von Willebrand (vWF) in campioni misti di plasma del paziente e plasma pooled. Il processo di liofilizzazione prolunga la durata di conservazione.

La soluzione salina tamponata TRIS (TBS) è una soluzione salina tamponata preparata 0,06 M contenente lo 0,01% di sodio azide come conservante.

Le piastrine liofilizzate sono state ottimizzate per l'uso con aggregometri a trasmissione di luce. Possono essere utilizzate anche con altri analizzatori turbidimetrici o a impedenza e con citometri a flusso.

SCOPO PREVISTO

Le piastrine liofilizzate sono una sospensione standardizzata e fissata di piastrine umane, utilizzata routinariamente come componente del test di attività del cofattore della ristocetina.

RILEVAZIONE / MISURAZIONE

Le piastrine liofilizzate sono utilizzate, in combinazione con altri reagenti, diluenti e campioni di controllo, per misurare le variazioni della trasmissione della luce in un campione di Plasma Povero di Piastrine (PPP).

FUNZIONE DEL PRODOTTO

Le piastrine liofilizzate forniscono informazioni essenziali sull'attività funzionale del Fattore di von Willebrand (vWF). Queste piastrine sono progettate per supportare la valutazione della Sindrome di von Willebrand (vWS), contribuendo alla diagnosi e alla classificazione dei disturbi correlati al vWF, sia ereditari che acquisiti.

INFORMAZIONI SPECIFICHE FORNITE

Le piastrine liofilizzate non sono destinate alla rilevazione di uno specifico disturbo, condizione o fattore di rischio.

Le piastrine liofilizzate sono fondamentali nella valutazione dell'attività e della funzione del Fattore di von Willebrand (vWF) mediante il test del cofattore della ristocetina. Vengono ricostituite e utilizzate per valutare la capacità del vWF di mediare l'adesione e l'aggregazione piastrinica, componenti critici del processo emostatico. Quando utilizzate in combinazione con reagenti specifici come la ristocetina, le piastrine liofilizzate facilitano il test del cofattore della ristocetina del Fattore di von Willebrand (vWF), consentendo la misurazione dell'efficacia del vWF.

La soluzione salina tamponata TRIS (TBS) nei test del Fattore di von Willebrand (vWF) svolge un ruolo cruciale mantenendo un pH stabile intorno a 7,4 e regolando la forza ionica. Ciò favorisce interazioni ottimali tra vWF, ristocetina e piastrine durante il test del cofattore della ristocetina. La TBS crea condizioni che simulano lo stress di taglio fisiologico, essenziale per valutare la capacità del vWF di promuovere l'adesione e l'aggregazione piastrinica. La soluzione salina tamponata TRIS (TBS) migliora la riproducibilità dei risultati del test tra diversi laboratori, fornendo informazioni affidabili sulla funzione del vWF.

AUTOMAZIONE

Le piastrine liofilizzate sono destinate all'uso con aggregometri piastrinici a trasmissione di luce semi-automatizzati e automatizzati. Queste piastrine possono essere utilizzate anche con altri analizzatori turbidimetrici o a impedenza e con citometri a flusso.

QUALITÀ / QUANTITÀ

Non esistono standard primari per le piastrine liofilizzate. Le risposte a queste piastrine dipendono dalla concentrazione. Un donatore normale noto dovrebbe essere testato con ogni nuovo lotto di piastrine liofilizzate. Le organizzazioni di standardizzazione classificano i test di attività del cofattore della ristocetina come semi-quantitativi o semi-qualitativi.

Le piastrine liofilizzate sono confezionate come segue: 1 flacone da 10,0 mL di piastrine liofilizzate con 1 flacone da 10,0 mL di soluzione salina tamponata TRIS (TBS), oppure 3 flaconi da 4,0 mL di piastrine liofilizzate con 3 flaconi da 4,0 mL di soluzione salina tamponata TRIS (TBS).

TIPO DI CAMPIONE

Il campione di prova è preparato da sangue intero anticoagulato con citrato di sodio, e il campione di analisi è Plasma Povero di Piastrine (PPP). Il bianco di prova consiste in piastrine liofilizzate e soluzione salina tamponata TRIS (TBS), fornendo una linea di base standardizzata per il saggio.

Il reagente Ristocetina può essere utilizzato con Plasma Povero di Piastrine (PPP) umano o animale. I risultati si basano sull'entità e sulla velocità dell'agglutinazione piastrinica, riflettendo l'attività funzionale del vWF.

Plasmi di riferimento, piastrine liofilizzate fissate con formalina, plasmi di controllo e diluenti sono utilizzati per eseguire il test di attività del cofattore della ristocetina. I risultati del test sono determinati mediante interpolazione da una curva standard.

POPOLAZIONE DA TESTARE

- Umano: La prevalenza dei disturbi piastrinici di von Willebrand è globale e può variare in base a razza, etnia, gruppo sanguigno e altri fattori. L'incidenza è circa del 2%.
- Farmaci anti-piastrinici: La prevalenza e l'incidenza sono variabili. Gli inibitori della BTK e la vancomicina sono noti per ridurre i risultati della RIPA. Un anticorpo monoclonale anti-glicoproteina piastrinica (GP) Ib di recente sviluppo, denominato OP-FI, insieme a un anticorpo monoclonale anti-GPIb ampiamente studiato noto come AP-1, eliminano completamente l'agglutinazione piastrinica indotta dalla ristocetina.
- Disturbi piastrinici ereditari: La prevalenza e l'incidenza sono variabili. Le piastrine derivate da individui con sindrome di Bernard-Soulier non agglutinano quando esposte alla ristocetina. A differenza della malattia di von Willebrand, i livelli di attività del Fattore di von Willebrand e dell'antigene del von Willebrand rimangono entro i limiti normali.
- Animale: La prevalenza e l'incidenza dipendono dalla specie.

DIAGNOSTICA IN VITRO

Le piastrine liofilizzate sono reagenti diagnostici in vitro destinati esclusivamente all'uso professionale in laboratorio. Questi reagenti non sono destinati all'iniezione né all'ingestione.

UTILIZZATORE PREVISTO

Le piastrine liofilizzate sono destinate all'uso professionale in laboratorio da parte di personale qualificato.

PRINCIPIO DEL TEST

Quando introdotto in un campione di Plasma Povero di Piastrine (PPP) a 37°C, il reagente Ristocetina induce l'agglutinazione piastrinica interagendo con il recettore glicoproteico Ib (GP Ib) sulla superficie delle piastrine, mediata dal Fattore di von Willebrand (vWF). Questa aggregazione iniziale, chiamata aggregazione primaria, è caratterizzata da un cambiamento di forma delle piastrine ed è reversibile. L'aggregazione primaria può essere seguita dal rilascio di ADP endogeno dai granuli piastrinici, che innesca una seconda ondata irreversibile di aggregazione. L'entità e la velocità sia dell'aggregazione primaria che secondaria sono influenzate dall'attività funzionale del vWF nel campione. L'aggregometro piastrinico a trasmissione di luce rileva efficacemente questi cambiamenti mostrando parametri quali la fase di latenza, il cambiamento di forma e la velocità e l'entità dell'aggregazione durante un periodo di test prestabilito.

CALIBRATORI E CONTROLLI

Non sono richiesti calibratori o controlli per le piastrine liofilizzate. Un campione di donatore noto deve essere testato con ogni lotto di piastrine liofilizzate. Le risposte dipendono dalla concentrazione.

LIMITAZIONI DEL REAGENTE

Le piastrine liofilizzate funzioneranno come specificato quando vengono seguite le Istruzioni per l'Uso. Le piastrine devono essere utilizzate prima della data di scadenza riportata su ciascun flaconcino.

REAGENTI FORNITI

REF 101258: 1 flaconcino di piastrine liofilizzate (10,0 mL)
1 flaconcino di soluzione salina tamponata TRIS (TBS) (10,0 mL)

REF 101595: 3 flaconcini di piastrine liofilizzate (4,0 mL)
3 flaconcini di soluzione salina tamponata TRIS (TBS) (4,0 mL)

REAGENTI E MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

- Acqua purificata (distillata, deionizzata, grado reagente), pH 5,3 – 7,2 per la ricostituzione



NOTA: L'USO DI SALINA DA BANCA DEL SANGUE CAUSERÀ RISULTATI ERRATI.

MATERIALI E ACCESSORI

- Aggregometro piastrinico (seguire le Istruzioni per l'Uso del produttore)
- Centrifuga
- Pipetta elettronica
- Puntali per pipetta
- Provette per aggregometro (siliconate) ②
- Barrette magnetiche per aggregometro (rivestite in plastica) ②
- Provette e tappi in plastica (per diluizioni) ②
- Agitatore meccanico per campioni ②



NOTA: GLI ARTICOLI MONOUSO COME PROVETTE, BARRETTE, CAMPIONI E TAPPI SONO DA UTILIZZARE UNA SOLA VOLTA

CONSERVAZIONE E STABILITÀ



Le piastrine liofilizzate e la soluzione salina tamponata TRIS (TBS) non richiedono protezione della temperatura durante la spedizione.



Alla ricezione, conservare le piastrine liofilizzate e la soluzione salina tamponata TRIS (TBS) a 2–8°C nelle loro confezioni originali.



Le piastrine liofilizzate risospese sono stabili per 30 giorni se conservate nel loro contenitore originale ben chiuso a 2–8°C.

STERILITÀ



Le piastrine liofilizzate e la soluzione salina tamponata TRIS (TBS) non sono prodotti sterili. Prestare attenzione a non contaminare i prodotti durante la pipettazione dei reagenti ricostituiti o aliquotati.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI



Indossare i DPI in conformità alle politiche e alle pratiche di laboratorio durante la manipolazione delle piastrine liofilizzate e della soluzione salina tamponata TRIS (TBS).



Seguire le precauzioni standard durante la preparazione dei campioni e dei materiali di prova.



Manipolare le piastrine liofilizzate con attenzione per evitare contaminazioni durante l'uso.



Evitare l'evaporazione dei reagenti limitando le superfici di scambio aria-liquido.



Per garantire risultati ottimali del test, un campione di controllo di donatore noto deve essere analizzato consecutivamente, senza interruzioni.



Per preservare la stabilità dei reagenti, conservare le piastrine liofilizzate e la soluzione salina tamponata TRIS (TBS) rimanenti nei loro contenitori originali ben chiusi.



Smaltire i materiali post-test in conformità alle normative vigenti e alle politiche del laboratorio.



NOTA PER L'UTENTE: QUALSIASI INCIDENTE GRAVE LEGATO A QUESTO PRODOTTO DEVE ESSERE SEGNALATO AL PRODUTTORE E ALL'AUTORITÀ COMPETENTE DELLO STATO MEMBRO IN CUI SI TROVANO L'UTENTE E/O IL PAZIENTE.

STATO DEL MATERIALE INFETTIVO

La soluzione salina tamponata TRIS (TBS) non contiene materiali infettivi. Le piastrine liofilizzate sono state sottoposte a screening alla fonte e confermate negative per l'antigene HIV-1 (HIV-1Ag), anticorpi anti-HIV-1/2, antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg), anticorpi dell'epatite C, anticorpi del virus T-linfotropico umano di tipo I e II (anti-HTLV I/II) e sifilide mediante test sierologici.

Tuttavia, a causa della loro origine umana, tutto il plasma e le piastrine devono essere considerati materiali potenzialmente pericolosi. I campioni e i materiali di prova devono essere considerati infettivi e trattati come se fossero in grado di trasmettere infezioni. Dopo il test, i campioni e i materiali devono essere smaltiti in conformità alle normative vigenti e alle politiche del laboratorio.

STRUTTURE SPECIALI

Le piastrine liofilizzate e la soluzione salina tamponata TRIS (TBS) non richiedono l'uso di strutture speciali all'interno dell'ambiente di laboratorio.

PREPARAZIONE ALL'USO



NOTA: LE PIASTRINE LIOFILIZZATE E LA SOLUZIONE SALINA TAMPONATA TRIS (TBS) DEVONO ESSERE A TEMPERATURA AMBIENTE (15–28°C) PRIMA DELLA RICOSTITUZIONE. PIASTRINE, REAGENTI E PLASMI CONSERVATI DEVONO ESSERE PORTATI A TEMPERATURA AMBIENTE PRIMA DELL'USO.

RISOSPENSIONE DELLE PIASTRINE LIOFILIZZATE

Per preparare 4 mL di piastrine liofilizzate

- Aggiungere 4 mL di soluzione salina tamponata TRIS (TBS) al flaconcino di piastrine liofilizzate.
- Miscelare meccanicamente su un agitatore per campioni a temperatura ambiente per 30 minuti.
- Le piastrine liofilizzate risospese devono essere mantenute chiuse prima dell'uso.

Per preparare 10 mL di piastrine liofilizzate

- Aggiungere 10 mL di soluzione salina tamponata TRIS (TBS) al flaconcino di piastrine liofilizzate.
- Miscelare meccanicamente su agitatore a temperatura ambiente per 30 minuti.
- Le piastrine liofilizzate risospese devono essere mantenute chiuse prima dell'uso.



NOTA: DOPO LA REFRIGERAZIONE, MISCELARE MECCANICAMENTE LE PIASTRINE LIOFILIZZATE RISOSPESE SU AGITATORE PER ALMENO 30 MINUTI A TEMPERATURA AMBIENTE PER EQUILIBRARLE E DEGASARE LA SOSPENSIONE PRIMA DELL'USO.

PREPARAZIONE DEL PAZIENTE

I pazienti dovrebbero astenersi dall'assumere aspirina o prodotti contenenti aspirina,

così come altri farmaci, integratori o bevande energetiche noti per influenzare la funzione piastrinica, per 7–10 giorni prima del prelievo del campione. L'ingestione di alimenti grassi, latticini e il fumo devono essere evitati per 12 ore prima del prelievo del campione.



NOTA: È NECESSARIA LA CONSULTAZIONE CON UN MEDICO PRIMA DI APPORTARE QUALSIASI MODIFICA AL TRATTAMENTO FARMACOLOGICO.

RACCOLTA DEI CAMPIONI

Il campione deve essere raccolto con cura per evitare stasi, emolisi, contaminazione con liquido tissutale ed esposizione al vetro. I campioni devono essere mantenuti a temperatura ambiente. Rilasciare il laccio emostatico non appena il sangue inizia a fluire nel dispositivo di raccolta.



ADOPTARE PRECAUZIONI STANDARD DURANTE L'INTERA RACCOLTA DEL CAMPIONE, LA PREPARAZIONE DEL CAMPIONE E I PROCESSI ANALITICI. SMALTIRE OGGETTI TAGLIANTI E RIFIUTI BIOHAZARD SECONDO LE NORMATIVE VIGENTI E LE POLITICHE DI LABORATORIO.

Tecnica di Raccolta con Provette Evacuate 

- Usare aghi a farfalla da 21g o 23g
- Raccogliere il sangue in provette di plastica evacuate contenenti anticoagulante citrato di sodio al 3,2% (0,11 M)
- Miscelare delicatamente la provetta 4-5 volte capovolgendola
- Annotare l'orario di prelievo sull'etichetta del campione
- Mantenere le provette a temperatura ambiente
- Rimescolare le provette prima della centrifugazione

Tecnica di Raccolta con Siringa 

- Usare aghi a farfalla da 21g o 23g
- Prelevare 9,0 mL di sangue in una siringa di plastica evitando eccessiva aspirazione
- Pinzare il tubo dell'ago e scollegare la siringa
- Estrarre immediatamente e delicatamente il sangue in una provetta di plastica (polipropilene) contenente 1,0 mL di citrato di sodio 0,11 M
- Rapporto sangue/anticoagulante: 9:1
- Tappare la provetta
- Miscelare delicatamente 4-5 volte capovolgendo
- Annotare l'orario di prelievo
- Mantenere a temperatura ambiente
- Rimescolare prima della centrifugazione



NOTA: SE L'EMATOCRITO DEL PAZIENTE È INFERIORE AL 30% O SUPERIORE AL 55%, IL RAPPORTO SANGUE/ANTICOAGULANTE DEVE ESSERE ADEGUATO. USARE PROVETTE CON TAPPO BLU CONTENENTI 3,2% (0,11 M) DI CITRATO DI SODIO COME RACCOMANDATO PER STUDI SULLA FUNZIONE PIASTRINICA.

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Plasma Ricco di Piastrine (PRP)

- Centrifugare il sangue anticoagulato a 150 x g per 10 minuti a temperatura ambiente
- Controllare la presenza di globuli rossi nel plasma
- Se presenti, centrifugare nuovamente per 5 minuti
- Trasferire il PRP con una pipetta in un contenitore etichettato PRP
- Prelevare il PRP poco sotto la metà del volume per garantire una conta piastrinica coerente
- Tappare e lasciare a temperatura ambiente

Plasma Povero di Piastrine (PPP)

- Centrifugare il PRP rimanente a 2500 x g per 20 minuti
- Trasferire il PPP con una pipetta in un contenitore etichettato PPP
- Tappare e lasciare a temperatura ambiente

PROCEDURA DEL TEST

Procedura della curva standard a tre punti del test del cofattore della ristocetina



NOTA: QUESTA È UNA PROCEDURA GENERALE. SEGUIRE LE ISTRUZIONI PER L'USO FORNITE DAL PRODUTTORE DELL'AGGREGOMETRO UTILIZZATO.

Preparare un bianco per ogni paziente



NOTA: NEL TEST DEL COFATTORE DELLA RISTOCETINA, LO STESSO BIANCO PUÒ ESSERE UTILIZZATO PER OGNI POSIZIONE DI TEST SIA NELLA CURVA STANDARD A TRE PUNTI DEL TEST DEL COFATTORE DELLA RISTOCETINA SIA NEL TEST DEL PAZIENTE A TRE PUNTI, A CONDIZIONE CHE TUTTE LE PROVE SIANO COMPLETATE ENTRO QUATTRO ORE DALLA PREPARAZIONE DEL BIANCO.

- Etichettare una provetta con la lettera "B" per identificare il bianco.
- Pipettare 125 µL di piastrine liofilizzate e 125 µL di soluzione salina tamponata TRIS (TBS) nella provetta (NON AGGIUNGERE UNA BARRETTA DI AGITAZIONE).
- Mettere da parte il bianco per un utilizzo successivo.



NOTA: IL BIANCO PREPARATO È STABILE PER 4 ORE A TEMPERATURA AMBIENTE

Preparare le diluizioni della curva standard



NOTA: LE DILUIZIONI DEVONO ESSERE PREPARATE INDIPENDENTEMENTE E NON COME DILUIZIONI SERIALI.

Utilizzare la seguente procedura di diluizione per una curva al 100%, 50% e 25%:

- Etichettare tre nuove provette: 100%, 50% e 25%.
- Nella provetta etichettata 100%: pipettare 200 µL di plasma di riferimento normale vW (NRP) e 200 µL di soluzione salina tamponata TRIS (TBS).
- Invertire delicatamente per miscelare.
- Nella provetta etichettata 50%: pipettare 100 µL di plasma di riferimento normale vW (NRP) e 300 µL di soluzione salina tamponata TRIS (TBS).
- Invertire delicatamente per miscelare.
- Nella provetta etichettata 25%: pipettare 50 µL di plasma di riferimento normale vW (NRP) e 350 µL di soluzione salina tamponata TRIS (TBS).
- Invertire delicatamente per miscelare.
- Mettere da parte tutte e tre le diluizioni del plasma di riferimento normale vW per un utilizzo successivo.



NOTA: LE DILUIZIONI SONO STABILI PER 40 MINUTI A TEMPERATURA AMBIENTE

Preparare i campioni

- Etichettare tre nuove provette con 100% Pozzetto #1, 50% Pozzetto #2 e 25% Pozzetto #3.
- Posizionare le provette etichettate nei corrispondenti pozzetti #1–3 delle postazioni di incubazione dei campioni con agitazione.
- Aggiungere una barretta di agitazione a ciascuna provetta.
- Pipettare 200 µL di piastrine liofilizzate in ciascuna provetta nelle postazioni di incubazione (ASSICURARSI CHE NON CI SIANO BOLLE).
- Pipettare 25 µL di reagente Ristocetina in ciascuna provetta nelle postazioni di incubazione (ASSICURARSI CHE NON CI SIANO BOLLE).
- Selezionare il timer sullo schermo per ciascuna postazione di incubazione; inizierà il conto alla rovescia di riscaldamento.
- I campioni saranno incubati a 37°C per il tempo preimpostato.

Impostare la linea di base al 100% (bianco)

- Individuare la provetta di bianco precedentemente preparata, etichettata "B".
- Posizionare la provetta nel pozzetto di test #1.
- Selezionare "BLANK" per attivare il pozzetto di test.
- Il pulsante "BLANK" cambierà in "START".
- Ripetere il processo sopra per i pozzetti di test #2 e #3.

Iniziare il test

- Una volta che il timer del conto alla rovescia raggiunge 0:00, premere il pulsante del timer per arrestare ciascuna postazione di incubazione dei campioni con agitazione.
- Trasferire la provetta dalla postazione di incubazione dei campioni con agitazione #1 al pozzetto di test #1.
- Ripetere il passaggio sopra per ciascun pozzetto di test, assicurandosi che tutte le provette rimangano associate al rispettivo numero di pozzetto durante il trasferimento.
- Chiudere le guide della pipetta.
- Selezionare "START" per il pozzetto di test #1.
- Pipettare 25 µL della diluizione precedentemente preparata etichettata 100% nel pozzetto di test #1 (NON CONSENTIRE AL REAGENTE DI SCORRERE LUNGO LA PARETE DELLA PROVETTA NÉ PERMETTERE ALLA PUNTA DELLA PIPETTA DI ROMPERE LA SUPERFICIE DEL CAMPIONE).
- Selezionare "INJECT" per il pozzetto di test #1.
- Selezionare "START" per il pozzetto di test #2.
- Pipettare 25 µL della diluizione precedentemente preparata etichettata 50% nel pozzetto di test #2 (NON CONSENTIRE AL REAGENTE DI SCORRERE LUNGO LA PARETE DELLA PROVETTA NÉ PERMETTERE ALLA PUNTA DELLA PIPETTA DI ROMPERE LA SUPERFICIE DEL CAMPIONE).
- Selezionare "INJECT" per il pozzetto di test #2.
- Selezionare "START" per il pozzetto di test #3.
- Pipettare 25 µL della diluizione precedentemente preparata etichettata 25% nel pozzetto di test #3 (NON CONSENTIRE AL REAGENTE DI SCORRERE LUNGO LA PARETE DELLA PROVETTA NÉ PERMETTERE ALLA PUNTA DELLA PIPETTA DI ROMPERE LA SUPERFICIE DEL CAMPIONE).
- Selezionare "INJECT" per il pozzetto di test #3.
- Il test verrà ora eseguito per il tempo preimpostato (LE PROCEDURE DI TEST DI ALTRI PRODUTTORI POSSONO PREVEDERE TEMPI O VOLUMI DIVERSI).

Procedura del test del paziente a tre punti del saggio del cofattore della ristocetina



NOTA: QUESTA È UNA PROCEDURA GENERALE. SEGUIRE LE ISTRUZIONI PER L'USO FORNITE DAL PRODUTTORE DELL'AGGREGOMETRO UTILIZZATO.

Preparare un bianco per ogni paziente



NOTA: NEL TEST DEL COFATTORE DELLA RISTOCETINA, LO STESSO BIANCO PUÒ ESSERE UTILIZZATO PER OGNI POZZETTO DI TEST SIA NELLA CURVA A TRE PUNTI DEL TEST DEL COFATTORE DELLA RISTOCETINA SIA NEL TEST DEL PAZIENTE A TRE PUNTI, A CONDIZIONE CHE TUTTE LE PROVE SIANO COMPLETE ENTRO QUATTRO ORE DALLA PREPARAZIONE DEL BIANCO.

- Utilizzare il bianco precedentemente preparato per la curva a tre punti del test del cofattore della ristocetina.
- Se il bianco è stato preparato più di 4 ore fa, non è più stabile e deve essere preparato un nuovo bianco.
- Per preparare un nuovo bianco, seguire le istruzioni per la preparazione del bianco riportate in questo IFU nella sezione Procedura della curva standard a tre punti del test del cofattore della ristocetina.

Preparare le diluizioni

- Etichettare da una a otto nuove provette con l'ID di ciascun paziente e il numero del pozzetto
- Pipettare 100 µL del campione del paziente nella provetta etichettata corrispondente per ciascun paziente in esame
- Pipettare 100 µL di soluzione salina tamponata TRIS (TBS) in ciascuna provetta
- Mettere da parte le diluizioni per un utilizzo successivo

Preparare i campioni

- Etichettare da una a otto nuove provette con l'ID di ciascun paziente e il numero del pozzetto
- Posizionare le provette etichettate nei pozzetti corrispondenti n. 1–8 dei pozzetti di incubazione con agitazione
- Aggiungere una barretta di agitazione in ciascuna provetta
- Pipettare 200 µL di piastrine liofilizzate in ciascuna provetta nei pozzetti di incubazione con agitazione (ASSICURARSI CHE NON CI SIANO BOLLE)
- Pipettare 25 µL di Ristocetina in ciascuna provetta nei pozzetti di incubazione con agitazione (ASSICURARSI CHE NON CI SIANO BOLLE)
- Selezionare il timer sullo schermo per ciascun pozzetto di incubazione con agitazione: inizierà il conto alla rovescia del riscaldamento
- I campioni verranno incubati a 37 °C per il tempo preimpostato

Impostare la linea di base al 100% (Bianco)

- Individuare la provetta di Bianco precedentemente preparata, etichettata "B"
- Posizionare la provetta nel pozzetto di prova n. 1
- Selezionare BLANK per attivare il pozzetto di prova
- Il pulsante BLANK cambierà in START
- Ripetere la procedura sopra indicata per ciascun pozzetto di prova utilizzato per il test

Iniziare il test

- Quando il timer di conto alla rovescia raggiunge 0:00, premere il pulsante del timer per arrestare ciascun pozzetto di incubazione con agitazione
- Trasferire la provetta dal pozzetto di incubazione con agitazione n. 1 al pozzetto di prova n. 1
- Ripetere il passaggio sopra per ciascun pozzetto di prova, assicurandosi che tutte le provette rimangano associate ai rispettivi numeri di cella durante il trasferimento
- Chiudere le guide della pipetta
- Selezionare START per il pozzetto di prova n. 1
- Pipettare 25 µL della diluizione del paziente precedentemente preparata direttamente nella provetta nel pozzetto di prova n. 1
- VERIFICARE CHE LE DILUIZIONI DEL PAZIENTE CORRETTE VENGANO TRASFERITE NEL POZZETTO DI PROVA CORRETTO DEL PAZIENTE (NON LASCIARE CHE IL REAGENTE SCORRA LUNGO LA PARETE DELLA PROVETTA NÉ PERMETTERE ALLA PUNTA DELLA PIPETTA DI ROMPERE LA SUPERFICIE DEL CAMPIONE)
- Selezionare INJECT per il pozzetto di prova n. 1
- Ripetere la procedura sopra per ciascun pozzetto di prova utilizzato per il test
- Il test verrà ora eseguito per il tempo preimpostato (LE PROCEDURE DI TEST DI ALTRI PRODUTTORI POSSONO PREVEDERE TEMPI O VOLUMI DIVERSI)



NOTA: UTILIZZARE UN DONATORE NOTO COME CAMPIONE DI CONTROLLO. CIASCUN LABORATORIO DEVE STABILIRE E VALIDARE IL PROPRIO PROTOCOLLO DI PROVA E VERIFICARE LE PRESTAZIONI DEL PROPRIO SISTEMA DI TEST (REAGENTI, STRUMENTO E PROTOCOLLO DI PROVA).

CONTROLLO DI QUALITÀ

Per gli studi di aggregazione piastrinica, un donatore noto deve essere testato nello stesso modo del paziente per garantire le prestazioni e la coerenza del sistema di test. Un nuovo controllo deve essere incluso con ogni serie di test e, preferibilmente, con ogni nuovo lotto di reagente o dopo la manutenzione dello strumento. Ciascun laboratorio deve definire i propri intervalli accettabili per la propria popolazione di pazienti e verificare le prestazioni attese del sistema di test.

Un plasma carente di Fattore di von Willebrand è incluso come controllo anormale e deve essere analizzato come plasma di prova, con un risultato atteso di attività $\leq 45\%$. Questo controllo garantisce che il sistema di analisi sia specifico per il Fattore di von Willebrand e che l'agglutinazione non sia influenzata da altre proteine plasmatiche normali. Inoltre, si suggerisce di eseguire il Plasma di Riferimento Normale vW e il Plasma di Controllo Anormale vW per convalidare le curve standard.

RISULTATI

Il saggio del Fattore di von Willebrand (vWF) utilizza una curva standard a tre punti per determinare la percentuale di attività del vWF nel plasma del paziente. Come illustrato nella Figura 1, la curva standard viene generata utilizzando tre diluizioni note di vWF, che rappresentano tipicamente il 100%, il 50% e il 25% di attività. Il saggio misura la risposta a queste concentrazioni e traccia i valori per stabilire una curva di riferimento. Quando il campione del paziente viene analizzato, la sua risposta viene interpolata rispetto alla curva standard per determinare l'attività del vWF come percentuale del plasma normale (100% di attività). Clinicamente, livelli di attività del vWF entro l'intervallo normale (45–150%) indicano una funzione tipica, mentre valori inferiori al 45% possono suggerire la Malattia di von Willebrand (vWD). Al contrario, un'attività del vWF elevata può essere associata a determinate condizioni o disturbi.

La Figura 2 illustra le fasi principali dell'aggregazione piastrinica nel tempo, fornendo indicazioni sulla funzione piastrinica. La deflessione iniziale verso il basso osservata in ciascuna curva rappresenta il cambiamento di forma (shape change), in cui le piastrine

rispondono all'agonista subendo modificazioni morfologiche senza aggregazione immediata. Segue la fase di aggregazione primaria, caratterizzata da un andamento verso l'alto man mano che le piastrine iniziano ad aggregarsi, aumentando la trasmissione della luce. Il punto di aggregazione massima varia tra le curve, riflettendo differenze nella risposta piastrinica. Alcuni tracciati, come quelli nei canali 6, 7 e 8, mostrano una diminuzione dopo aver raggiunto l'aggregazione massima, indicando un pattern di aggregazione reversibile, mentre altri mantengono l'aggregazione, indicando una risposta più marcata. Le variazioni nel tempo di latenza prima dell'inizio dell'aggregazione evidenziano differenze nella cinetica di attivazione piastrinica. Queste caratteristiche aiutano a valutare la funzione piastrinica e a identificare potenziali anomalie nella risposta aggregativa.

Il tracciato del saggio del Fattore di von Willebrand (vWF) mostrato nella Figura 3 illustra una risposta di attività del vWF anomala, con risultati inferiori al 45% di attività. Questa ridotta attività suggerisce una possibile Malattia di von Willebrand (vWD). Il tracciato dimostra una risposta più debole del previsto rispetto alla curva standard, indicando una funzione del vWF compromessa o livelli ridotti del fattore. Tali risultati anomali possono essere associati a varianti di vWD di Tipo 1 o Tipo 2, a una carenza acquisita di vWF o ad altri disturbi della coagulazione. Questi risultati evidenziano la necessità di ulteriori test per caratterizzare accuratamente la natura e la gravità della carenza.

È essenziale interpretare questi risultati di aggregazione nel contesto più ampio della condizione clinica del paziente. Una conclusione definitiva deve essere formulata solo dopo ulteriori analisi e una valutazione completa. Le figure includono indicatori (spike) che segnalano i punti precisi di aggiunta del reagente, fornendo riferimenti chiari per comprendere la tempistica dell'introduzione del reagente e i suoi effetti immediati sul processo di aggregazione.

FIGURA 1: ATTIVITÀ PERCENTUALE A TRE PUNTI DEL TEST DEL COFATTORE VON WILLEBRAND CON RISTOCETINA

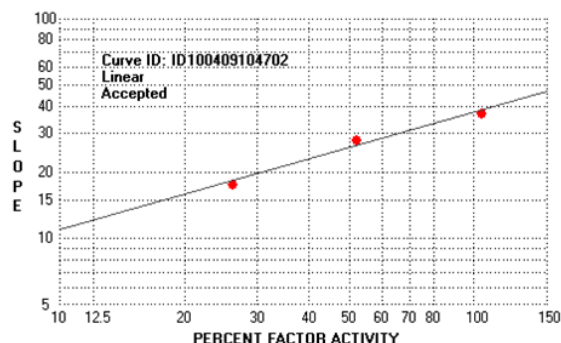


FIGURA 2: TEST DEL PAZIENTE A TRE PUNTI PER IL COFATTORE VON WILLEBRAND CON RISTOCETINA NORMALE

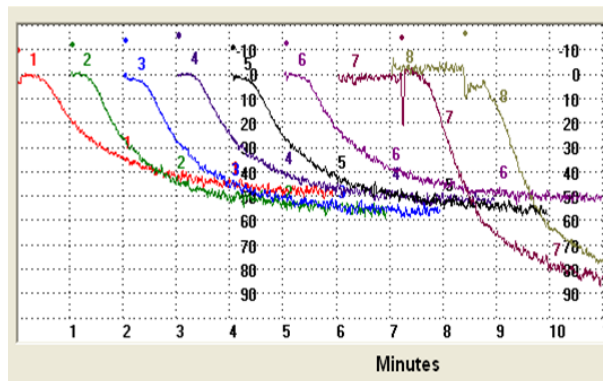
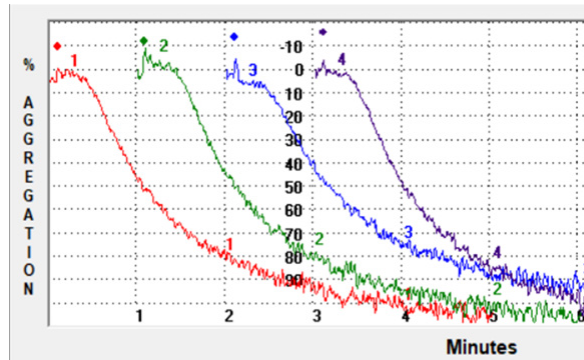


FIGURA 3: TEST DEL PAZIENTE A TRE PUNTI PER IL COFATTORE VON WILLEBRAND CON RISTOCETINA ANOMALO



VALORI ATTESI

Ciascun laboratorio deve stabilire intervalli attesi per ciascun reagente alle diverse concentrazioni utilizzate per indurre l'aggregazione.

Un risultato inferiore al 40% di Fattore di von Willebrand è considerato anomalo e suggestivo di Sindrome di von Willebrand. Tuttavia, per la diagnosi delle forme varianti della Sindrome di von Willebrand, devono essere considerate anche altre proprietà della molecola di von Willebrand. Poiché gli intervalli di riferimento per il Fattore di von Willebrand dipendono dal gruppo sanguigno, ciascun laboratorio deve stabilire intervalli di riferimento specifici per gruppo sanguigno per la propria popolazione di pazienti.

Il Plasma di Controllo Anomalo vW fornirà risultati del Saggio del Fattore di von Willebrand $\leq 45\%$. La capacità di generare un valore quantitativo in questo intervallo dipende dalla sensibilità del sistema di analisi in uso.

LIMITAZIONI

Nell'Aggregometria a Trasmissione della Luce, la presenza di globuli rossi nel PRP comporta una riduzione dell'aggregazione osservata. La presenza di piastrine nel PPP comporta un aumento dell'aggregazione finale. Possono verificarsi risultati spurii se la conta piastrinica del PRP è inferiore a 75.000 piastrine/cumm. La conta piastrinica del PRP può essere eseguita solo mediante il metodo dell'emocitometro. I campioni compromessi devono essere scartati. Se i risultati sono anomali, il test deve essere ripetuto in un'altra occasione. Ciascun laboratorio deve stabilire intervalli di riferimento adattati alla popolazione che serve e alle specifiche concentrazioni dei reagenti utilizzati.

PRESTAZIONI ANALITICHE

L'aggregazione piastrinica, indotta da reagenti comunemente utilizzati come il Reagente AggRecetin (Ristocetina), è un sistema di test non lineare. Le risposte si basano sulla differenza di trasmissione della luce tra il Plasma Ricco di Piastrine (PRP) e il Plasma Povero di Piastrine (PPP) del paziente e, pertanto, i risultati sono unici per ciascun paziente. Alcuni parametri sono più soggetti alla non linearità rispetto ad altri, tra cui la fase di latenza, la pendenza primaria, la pendenza secondaria, la risposta bifasica e la disaggregazione. La non linearità è causata da molteplici fattori, come la chimica della reazione e la strumentazione. L'aggregazione piastrinica mostra il tasso di risposta o l'attività e non quantifica i reagenti o le loro concentrazioni.

Nell'aggregazione piastrinica, l'accuratezza è un parametro relativo ed è dipendente dal sistema di test. Le limitazioni dell'aggregazione piastrinica rendono difficile fornire intervalli tipici di precisione o riproducibilità.

La variabilità nella linearità, nella precisione e nella riproducibilità dei risultati nei sistemi di test basati sul Reagente AggRecetin (Ristocetina) è riconosciuta da diverse organizzazioni di standardizzazione. Il coefficiente di variazione (CV) comunemente accettato è $\pm 15\%$.

Riproducibilità Test su Test:	inferiore a $\pm 7,5\%$
Riproducibilità Strumento su Strumento:	inferiore a $\pm 15,0\%$
Variabilità da Lotto a Lotto di Reagente:	inferiore a $\pm 10,5\%$
Variabilità Laboratorio su Laboratorio (Sistema su Sistema):	inferiore a $\pm 12,5\%$

RIFERIMENTI

- Allain JP, Cooper HA, Wagner RH, Brinkhous KM. Platelets fixed with paraformaldehyde: a new reagent for assay of von Willebrand factor and platelet aggregating factor. J Lab Clin Med. 1975 Feb;85(2):318-28.
- Angiolillo DJ, Ueno M, Goto S. Basic principles of platelet biology and clinical implications. Circ J. 2010 Apr;74(4):597-607.
- Born GV, Cross MJ. The Aggregation of Blood Platelets. J Physiol. 1963 Aug; 168(1):178-95.
- Brinkhous KM, Graham JE, Cooper HA, Allain JP, Wagner RH. Assay of von Willebrand factor in von Willebrand's disease and hemophilia: use of a macroscopic platelet aggregation test. Thromb Res. 1975 Mar;6(3):267-72.
- Brinkhous KM, Read MS. Preservation of platelet receptors for platelet aggregating factor/von Willebrand factor by air drying, freezing, or lyophilization: new stable platelet preparations for von Willebrand factor assays. Thromb Res. 1978 Oct;13(4):591-7.
- Bye A, Lewis Y, O'Grady J. Effect of a single oral dose of aspirin on the platelet aggregation response to arachidonic acid. Br J Clin Pharmacol. 1979 Mar; 7(3):283-6.
- Cattaneo M, Cerletti C, Harrison P, Hayward CP, Kenny D, Nugent D, Nurden P, Rao AK, Schmaier AH, Watson SP, Lussana F, Pugliano MT, Michelson AD. Recommendations for the Standardization of Light Transmission Aggregometry: A Consensus of the Working Party from the Platelet Physiology Subcommittee of SSC/ISTH. J Thromb Haemost. 2013 Apr 10.
- CLSI. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline—Fourth Edition. CLSI document H18-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
- CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline - Fourth Edition. CLSI document M29-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
- CLSI. Platelet Function Testing by Aggregometry, Approved Guideline - Fourth Edition. CLSI document H58-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- CLSI. Collection, Transport and Processing for Plasma Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays, Approved Guideline - Fifth Edition. CLSI

- document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- CLSI. Clinical Laboratory Safety, Approved Guideline - Third Edition. CLSI document GP17-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
 - Day HJ, Holmsen H. Laboratory tests of platelet function. Ann Clin Lab Sci (1971). 1972 Jan-Feb; 2(1):63-74.
 - Day HJ, Rao AK. Evaluation of platelet function. Semin Hematol. 1986 Apr;23(2):89-101.
 - Eichelberger, JW. Kinetic (Slope) Measurement of Platelet Aggregation. Bio/Data Corporation, Horsham, PA; 1984.
 - Favalaro EJ, Gosselin RC, Pasalic L, Lippi G. Post-analytical issues in hemostasis and thrombosis testing: An update. In EJF, RCG, editors, Hemostasis and Thrombosis: Methods and Protocols. 2nd ed. New York: Humana Press. 2023. p. 787-811. (Methods in Molecular Biology).
 - Federici AB, Lee CA, Berntorp EE, Lillicrap D, Montgomery RR. Von Willebrand Disease: Basic and Clinical Aspects. 2011.
 - Garner JS. Guideline for isolation precautions in hospitals. The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. Infect Control Hosp Epidemiol. 1996 Jan;17(1):53-80.
 - Gralnick HR, Sultan Y, Collier BS. Von Willebrand's disease: combined qualitative and quantitative abnormalities. N Engl J Med. 1977 May 5;296(18):1024-30.
 - Harmening, D. M. Clinical Hematology and Fundamentals of Hemostasis. Fifth Edition. F. A. Davis Company. 2009.
 - Hoffbrand, A. V., Moss, P. A. H., & Pettit, J. E. Hoffbrand's Essential Haematology. Seventh Edition. John Wiley & Sons Ltd. 2016.
 - Howard MA, Firkin BG. Ristocetin—a new tool in the investigation of platelet aggregation. Thromb Diath Haemorrh. 1971 Oct 31; 26(2): 362-9.
 - Israels SJ, El-Ekiaby M, Quiroga T, Mezzano D. Inherited disorders of platelet function and challenges to diagnosis of mucocutaneous bleeding. Haemophilia. 2010 Jul;16 Suppl 5:152-9.
 - Kambayashi J, Shinoki N, Nakamura T, Ariyoshi H, Kawasaki T, Sakon M, Monden M. Prevalence of impaired responsiveness to epinephrine in platelets among Japanese. Thromb Res. 1996 Jan 1;81(1):85-90.
 - Kaushansky K, Lichtman MA, Prchal JT, Levi MM, Press OW, Burns LJ, Caligiuri M. eds. Williams Hematology. 9e. McGraw-Hill Education. 2015.
 - Keohane, E. M., Smith, L. J., Walenga, J. M., & Block, D. R. Rodak's Hematology: Clinical Principles and Applications. Fifth Edition. Saunders, an imprint of Elsevier Inc. 2016.
 - Levine PH. The effect of thrombocytopenia on the determination of platelet aggregation. Am J Clin Pathol. 1976 Jan;65(1):79-82.
 - Linnemann B, Schwonberg J, Mani H, Prochnow S, Lindhoff-Last E. Standardization of light transmittance aggregometry for monitoring antiplatelet therapy: an adjustment for platelet count is not necessary. J Thromb Haemost. 2008 Apr;6(4):677-83.
 - Marcus AJ, Coleman RW, Hirsh J, Ivarer VJ, Salzman EW. Hemostasis and thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice. Vol. 472. Philadelphia: JB Lippincott Company; 1982.
 - Michelson, AD. Platelets. Third Edition. Amsterdam: Academic Press; 2013.
 - Miller CH, Graham JB, Goldin LR, Elston RC. Genetics of classic von Willebrand's disease. I. Phenotypic variation within families. Blood. 1979 Jul;54(1):117-36.
 - Mills DC, Robb IA, Roberts GC. The release of nucleotides, 5-hydroxytryptamine and enzymes from human blood platelets during aggregation. J Physiol. 1968 Apr;195(3):715-29.
 - Moncada S, Vane JR. Arachidonic acid metabolites and the interactions between platelets and blood-vessel walls. N Engl J Med. 1979 May 17;300(20):1142-7.
 - NCCLS. Assays of von Willebrand Factor Antigen and Ristocetin Cofactor Activity; Approved Guideline. NCCLS document H51-A. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2002.
 - Nilsson, I. M. and Holmberg, L.: von Willebrand's Disease Today. Clin. Hematol., 8:276, 1979.
 - O'Donnell CJ, Larson MG, Feng D, Sutherland PA, Lindpaintner K, Myers RH, D'Agostino RA, Levy D, Tofler GH; Framingham Heart Study. Genetic and environmental contributions to platelet aggregation: the Framingham heart study. Circulation. 2001 Jun 26;103(25):3051-6.
 - Olson JD, Brockway WJ, Fass DN, Magnuson MA, Bowie EJ. Evaluation of ristocetin-Willebrand factor assay and ristocetin-induced platelet aggregation. Am J Clin Pathol. 1975 Feb;63(2):210-8.
 - Owen CA Jr, Bowie EJW, Thompson JH Jr. The Diagnosis of Bleeding Disorders. 2nd ed. Little, Brown, and Company; 1975.
 - Palma-Barqueros V, Revilla N, Sánchez A, Zamora Cánovas A, Rodríguez-Alén A, Marín-Quílez A, González-Porras JR, Vicente V, Lozano ML, Bastida JM, Rivera J. Inherited Platelet Disorders: An Updated Overview. Int J Mol Sci. 2021 Apr 26;22(9):4521.
 - Ramsey R, Evatt BL. Rapid assay for von Willebrand factor activity using formalin-fixed platelets and microtitration technic. Am J Clin Pathol. 1979 Dec;72(6):996-9.
 - Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L; Health Care Infection Control Practices Advisory Committee. 2007 Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Health Care Settings. Am J Infect Control. 2007 Dec;35(10 Suppl 2):S65-164.
 - The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, Centers for disease Control and Prevention, Public Health Service, U.S. Department of Health

- and Human Services. Guideline for isolation precautions in hospitals Part II. Recommendations for isolation precautions in hospitals. American Journal of Infection Control. 1996; Vol 24, Issue 1: 32-52.
- Triplett DA, et al. Platelet function: laboratory evaluation and clinical application. Chicago, IL: American Society for Clinical Pathology 1978.
 - Weiss HJ. Aspirin and Platelets in Drugs and Hematologic Reactions. New York, NY: Dimitrov and Nodine, eds. Grune and Stratton. 1974.
 - White, M.M., and Jennings, L.K. Platelet Protocols: Research and Clinical Laboratory Procedures, Academic Press, Inc.; 1999.
 - Williams WJ, Beutler E, Erslev AJ, Rundles RW. Hematology. New York, NY: McGraw-Hill. 1977.
 - Zimmerman TS, Abildgaard CF, Meyer D. The factor VIII abnormality in severe von Willebrand's disease. N Engl J Med. 1979 Dec 13;301(24):1307-10.
 - Zuzel M, Nilsson IM, Aberg M. A method for measuring plasma ristocetin cofactor activity. Normal distribution and stability during storage. Thromb Res. 1978 May;12(5):745-54.

SIMBOLI



Bio-Pericoloso



Numero di Catalogo



Attenzione



Prodotto registrato e marcato CE



Consultare le istruzioni per l'uso



Rappresentante dell'Unione Europea



Dispositivo diagnostico in vitro



Produttore



Deve leggere



Non sterile



Solo uso singolo



Limitazioni di temperatura



Prodotto registrato e contrassegnato nel Regno Unito



Rappresentante del Regno Unito

STORIA DELLE REVISIONI

Documento n.: 106325 Revisione: AA, Maggio 2026

- Istruzioni di Test Modificate
- Requisiti Normativi IVD/RE Implementati
- Riformattato e Riconfigurato per Migliorare l'Uso da Parte dell'Operatore

Tradotto dal Documento n.: 101277 Revisione: AA

Per un catalogo completo dei prodotti, visitare il nostro sito web all'indirizzo www.biodatacorp.com oppure contattare il nostro Servizio Clienti.

LA LINEA DI PRODOTTI BIO/DATA CORPORATION COMPRENDE REAGENTI DI USO GENERICO PER LABORATORIO PROFESSIONALE, DESTINATI A INDURRE E RILEVARE L'ATTIVITÀ E LE RISPOSTE DELLA FUNZIONE PIASTRINICA. QUESTO PRODOTTO È GARANTITO PER FUNZIONARE COME DESCRITTO NELLA SUA ETICHETTATURA, INCLUSE LE ISTRUZIONI PER L'USO. BIO/DATA CORPORATION NON FORNISCE ALCUNA GARANZIA, ESPRESSA O IMPLICITA, RIGUARDO ALL'IDONEITÀ, ALLA CAPACITÀ O ALLA COMMERCIALITÀ PER QUALSIASI ALTRO SCOPO. IN NESSUN CASO BIO/DATA CORPORATION POTRÀ ESSERE RITENUTA RESPONSABILE PER DANNI CONSEGUENZIALI DERIVANTI DALLA SUDETTA GARANZIA ESPRESSA.

155 Gibraltar Road
Horsham, PA 19044 USA

Telefono mondiale: +1 215-441-4000
Telefono USA: 1-800-257-3282
Fax in tutto il mondo: +1 215-443-8820
customer.service@biodatacorp.com

©BIO/DATA CORPORATION 2026



101258
101595



AZIENDA REGISTRATA ISO 13485

www.biodatacorp.com

ORGOLIOSAMENTE FABBRICATO NEGLI STATI UNITI



mdi Europa GmbH
Langenhagener Str. 71
D-30855 Langenhagen GERMANIA



Alpha Laboratories
40 Parham Drive Eastleigh
SO50 4NU Hampshire REGNO UNITO



LYOPHILIZED PLATELETS INSTRUCTIONS FOR USE # 106325 REV AA ITALIAN