

**DESCRIZIONE DEL PRODOTTO**

BETA/PAK® è un kit combinato di reagenti per l'aggregazione piastrinica contenente ADP (Adenosina-5'-Difosfato), Collagene (Pelle di Vitello Solubile, Tipo 1) e Ristocetina (Ristocetina A Solfato).

Il Reagente ADP è una preparazione liofilizzata di Adenosina-5'-Difosfato. È un componente essenziale nell'aggregazione piastrinica. L'ADP agisce come agonista o attivatore, legandosi ai recettori piastrinici e innescando una serie di eventi biochimici che portano all'attivazione e all'aggregazione delle piastrine.

Il Reagente Collagene è una preparazione liofilizzata di Pelle di Vitello Solubile (Tipo 1). Il Reagente Collagene induce il cambiamento di forma delle piastrine e ne attiva la funzione. Le piastrine attivate rilasciano quindi composti trombotici dai loro granuli, che contribuiscono al reclutamento di ulteriori piastrine nel sito di lesione.

Il Reagente Ristocetina è una preparazione liofilizzata di Ristocetina A Solfato, un glicopeptide di struttura chimica sconosciuta isolato da *Nocardia lurida*. La Ristocetina contiene oltre il 90% di Ristocetina A.

Il kit combinato BETA/PAK® è stato ottimizzato per l'uso con aggregometri a trasmissione luminosa. Può essere utilizzato anche con altri analizzatori turbidimetrici o a impedenza, nonché con citometri a flusso.

**SCOPO PREVISTO**

Il kit combinato BETA/PAK® è un kit pratico che contiene una combinazione di reagenti di uso routinario per l'aggregazione piastrinica, utilizzati per indurre risposte di aggregazione e/o agglutinazione nel Plasma Ricco di Piastrine (PRP). Il kit include ADP, Collagene e Ristocetina.

**RILEVAZIONE / MISURAZIONE**

I Reagenti del kit combinato BETA/PAK® sono utilizzati, in combinazione con altri diluenti e campioni di controllo, per misurare le variazioni della trasmissione della luce in un campione di test di Plasma Ricco di Piastrine (PRP).

**FUNZIONE DEL PRODOTTO**

Il kit combinato BETA/PAK® fornisce informazioni su diversi aspetti della funzione/qualità piastrinica. Questo kit contribuisce alla valutazione di vari disturbi piastrinici acquisiti ed ereditari, nonché dell'efficacia delle terapie antiaggreganti.

**INFORMAZIONI SPECIFICHE FORNITE**

I Reagenti del kit combinato BETA/PAK® non sono destinati alla rilevazione di uno specifico disturbo, condizione o fattore di rischio.

Il Reagente ADP svolge un ruolo fondamentale nell'attivazione e nell'aggregazione piastrinica. Quando l'ADP si lega a recettori specifici sulla superficie delle piastrine, come P2Y1 e P2Y12, avvia cascate di segnalazione intracellulare. Questa attivazione induce rapidi cambiamenti nella forma delle piastrine e il rilascio di ioni calcio attraverso i recettori P2Y1, mentre l'attivazione di P2Y12 mantiene la risposta, garantendo un'aggregazione stabile. Il Reagente ADP è utilizzato per stimolare in modo preciso l'attivazione e l'aggregazione piastrinica attraverso l'interazione con questi recettori. Osservando l'aggregazione piastrinica in risposta all'ADP, i clinici possono valutare la funzione/qualità piastrinica in relazione ad anomalie nell'attivazione e nell'aggregazione. Questo processo è essenziale per comprendere la dinamica della formazione del coagulo e per valutare l'efficacia delle terapie antiaggreganti nella prevenzione degli eventi trombotici. L'ADP induce inoltre il rilascio di mediatori secondari, come il Trombossano A2 (TXA2), amplificando ulteriormente l'attivazione e l'aggregazione piastrinica.

Il Reagente Collagene avvia l'attivazione e l'aggregazione piastrinica. Legandosi ai recettori glicoproteici sulla superficie piastrinica, in particolare alla glicoproteina VI (GP VI), il Collagene innesca cascate di segnalazione intracellulare. Ciò provoca rapidi cambiamenti nella forma delle piastrine e il rilascio di ioni calcio attraverso i recettori GP VI, mentre l'attivazione sostenuta è facilitata dall'integrina  $\alpha 2\beta 1$ , garantendo un'aggregazione stabile. Utilizzato per stimolare in modo preciso l'attivazione e l'aggregazione piastrinica, il Reagente Collagene interagisce con questi recettori, offrendo ai clinici uno strumento per valutare la funzione/qualità piastrinica e i disturbi associati ad anomalie nell'attivazione indotta dal collagene. Questo processo è fondamentale per comprendere la dinamica della formazione del coagulo e per valutare l'efficacia delle terapie antiaggreganti nell'inibizione degli eventi trombotici. Il Collagene induce inoltre il rilascio di mediatori secondari, amplificando ulteriormente l'attivazione e l'aggregazione piastrinica.

Il Reagente Ristocetina è un reagente piastrinico distintivo utilizzato nell'ambito del test di Aggregazione Piastrinica Indotta da Ristocetina (RIPA). La Ristocetina interagisce con il Fattore di von Willebrand (vWF), una proteina plasmatica fondamentale coinvolta nei processi di adesione e aggregazione piastrinica. La Ristocetina induce un cambiamento conformazionale del vWF, esponendo i siti di legame per la glicoproteina Ib

(GP Ib) piastrinica. Di conseguenza, i recettori GP Ib delle piastrine si legano al vWF, avviando l'adesione piastrinica. Questa adesione iniziale prepara le piastrine all'aggregazione. In assenza di Fattore di von Willebrand (vWF) o in presenza di disturbi correlati alla funzione piastrinica, l'aggregazione piastrinica indotta da Ristocetina avviene in misura limitata, a causa dell'incapacità delle piastrine di aggregarsi efficacemente. Pertanto, il test RIPA fornisce informazioni preziose sulla funzione/qualità piastrinica e sull'attività del vWF, contribuendo alla caratterizzazione della malattia di von Willebrand (vWD) e dei disturbi emorragici correlati. Questo metodo di test svolge un ruolo fondamentale nella valutazione accurata della funzione/qualità piastrinica.

**AUTOMAZIONE**

I Reagenti del kit combinato BETA/PAK® sono destinati all'uso con aggregometri piastrinici a trasmissione luminosa, sia semiautomatici che automatici. Questi reagenti possono essere utilizzati anche con altri analizzatori turbidimetrici o a impedenza, nonché con citometri a flusso.

**QUALITÀ / QUANTITÀ**

Non esistono standard primari per i Reagenti del kit combinato BETA/PAK®. Le risposte a questi reagenti dipendono dalla concentrazione. Un donatore normale noto dovrebbe essere testato con ogni nuovo lotto di Reagenti del kit combinato BETA/PAK®. Le organizzazioni di standardizzazione classificano l'aggregazione piastrinica indotta da ADP, Collagene e Ristocetina come semi-quantitativa o semi-qualitativa.

Il kit combinato BETA/PAK® è confezionato con 1 flaconcino da 0,5 mL di Reagente ADP, 1 flaconcino da 0,5 mL di Reagente Collagene e 1 flaconcino da 0,5 mL di Reagente Ristocetina. La concentrazione di lavoro dell'ADP è 200  $\mu$ M, del Collagene è 1,9 mg/mL e della Ristocetina è 15 mg/mL.

**TIPO DI CAMPIONE**

Il campione per il test è preparato a partire da sangue intero anticoagulato con citrato di sodio. Il campione di prova è il Plasma Ricco di Piastrine (PRP). Il bianco di riferimento è il Plasma Povero di Piastrine (PPP).

I Reagenti ADP, Collagene e Ristocetina possono essere utilizzati con Plasma Ricco di Piastrine (PRP) umano o animale per test routinari di aggregazione piastrinica. I risultati sono basati sulla concentrazione, sull'entità e sulla velocità dell'aggregazione rispetto a un bianco di Plasma Povero di Piastrine (PPP).

**POPOLAZIONE DA TESTARE**

- Umano: Per ADP e Collagene, la prevalenza dei disturbi piastrinici è globale e può variare in base a razza, etnia, gruppo sanguigno e altri fattori. L'incidenza è variabile. Per la Ristocetina, la prevalenza dei disturbi piastrinici legati al fattore di von Willebrand è globale e può variare in base a razza, etnia, gruppo sanguigno e altri fattori. L'incidenza è di circa il 2%.
- Farmaci anti-piastrinici: Per l'ADP, la prevalenza e l'incidenza sono variabili. Il 4% della popolazione sopra i 40 anni assume farmaci anti-piastrinici diversi dall'Aspirina. Il 33% (negli adulti > 40 anni); il 16% terapia anti-piastrinica doppia (DAPT); e l'8% terapia anti-piastrinica (APT). Per il Collagene, la prevalenza di un'aggregazione anomala indotta dal reagente Collagene, in relazione all'uso stimato di Aspirina, può raggiungere fino a un terzo della popolazione. Sia il Clopidogrel sia la combinazione di Clopidogrel con Aspirina possono influenzare l'aggregazione piastrinica indotta dal Collagene. L'incidenza è variabile. Per la Ristocetina, 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 recentemente sviluppato (moAb), 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: Per l'ADP, la prevalenza e l'incidenza sono variabili. Esistono circa 60 tipi; 75 geni noti; frequenza 5/1000; stimata nell'1-2% della popolazione. Per il Collagene, la prevalenza e l'incidenza sono variabili. Esistono circa 60 tipi di disturbi piastrinici ereditari che colpiscono approssimativamente lo 0,3% della popolazione. Alcuni difetti piastrinici ereditari, come la tromboastenia di Glanzmann e la malattia del pool di deposito, non mostrano risposta al reagente Collagene. Per la Ristocetina, la prevalenza e l'incidenza sono variabili. Le piastrine provenienti 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 fattore di von Willebrand rimangono entro i limiti normali.
- Animale: Per ADP, Collagene e Ristocetina, la prevalenza e l'incidenza dipendono dalla specie.

**DIAGNOSTICA IN VITRO**

Il contenuto del kit combinato BETA/PAK® è costituito da reagenti diagnostici in vitro destinati esclusivamente all'uso professionale di laboratorio. Questi reagenti non sono destinati all'iniezione né all'ingestione.

## UTILIZZATORE PREVISTO

I Reagenti del kit combinato BETA/PAK® sono destinati all'uso professionale di laboratorio da parte di personale qualificato.

## PRINCIPIO DEL TEST

Quando introdotti in un campione di prova di Plasma Ricco di Piastrine (PRP) agitato a 37°C, reagenti esogeni come ADP, Collagene e Ristocetina stimolano le piastrine, inducendole a subire un cambiamento di forma e ad aggregarsi. Questa aggregazione iniziale è definita aggregazione primaria ed è reversibile. Tuttavia, le piastrine normali hanno la capacità di rilasciare ADP endogeno dai loro granuli, determinando una seconda ondata di aggregazione irreversibile. L'aggregometro piastrinico a trasmissione luminosa rileva efficacemente questi cambiamenti, visualizzando 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 il kit combinato BETA/PAK®. Un campione di un donatore noto deve essere testato con ogni lotto di Reagenti ADP, Collagene e Ristocetina. Le risposte dipendono dalla concentrazione.

## LIMITAZIONI DEL REAGENTE

I Reagenti del kit combinato BETA/PAK® funzioneranno come specificato quando vengono seguite le Istruzioni per l'Uso. I reagenti devono essere utilizzati entro la data di scadenza riportata su ciascun flaconcino.

## REAGENTI FORNITI

<b>REF</b>	101580:	1 flaconcino di reagente ADP (0,5 mL)
		1 flaconcino di reagente Collagene (0,5 mL)
		1 flaconcino di reagente Ristocetina (0,5 mL)

## REAGENTI E MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

- Acqua purificata (distillata, deionizzata, grado reagente), pH 5,3 – 7,2 per la ricostituzione
- Soluzione salina tamponata con TRIS (TBS) o soluzione fisiologica allo 0,85% per le diluizioni

 **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 ②
- Provette per aggregometro (siliconate) ②
- Barrette magnetiche per aggregometro (rivestite in plastica) ②
- Provette e tappi in plastica (per diluizioni) ②


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

## CONSERVAZIONE E STABILITÀ

 I Reagenti ADP, Collagene e Ristocetina non richiedono protezione della temperatura durante il trasporto.

 Al ricevimento, conservare i Reagenti ADP, Collagene e Ristocetina a 2 – 8 °C nella confezione originale.

 I Reagenti ADP e Collagene ricostituiti sono stabili per 30 giorni se conservati nei contenitori originali ben chiusi a 2 – 8 °C.


 Il Reagente Ristocetina ricostituito è stabile per 7 giorni se conservato nel contenitore originale ben chiuso a 2 – 8 °C.


 Le diluizioni contenenti Reagente ADP sono stabili per 2 ore a temperatura ambiente.

## STERILITÀ

 I Reagenti del kit combinato BETA/PAK® non sono prodotti sterili. Prestare attenzione a non contaminare il prodotto durante il pipettaggio dei reagenti ricostituiti o aliquotati.

## AVVERTENZE E PRECAUZIONI


 Indossare i dispositivi di protezione individuale (DPI) in conformità alle politiche e alle pratiche di laboratorio durante la manipolazione dei Reagenti ADP, Collagene e Ristocetina.


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

 Manipolare i Reagenti ADP, Collagene e Ristocetina con attenzione per evitare contaminazioni durante l'uso.

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

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

 Per preservare la stabilità dei reagenti, conservare i reagenti rimanenti nei contenitori originali ben chiusi.

 Smaltire i materiali post-test in conformità alle normative applicabili e alle politiche di 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

I Reagenti del kit combinato BETA/PAK® non contengono materiali infettivi. I campioni e i materiali di prova devono essere considerati infettivi e trattati come potenzialmente in grado di trasmettere infezioni. Dopo il test, i campioni e i materiali di prova devono essere smaltiti in conformità alle normative applicabili e alle politiche di laboratorio.

## STRUTTURE SPECIALI

I Reagenti del kit combinato BETA/PAK® non richiedono l'utilizzo di strutture speciali all'interno dell'ambiente di laboratorio.

## PREPARAZIONE ALL'USO

 **NOTA: I REAGENTI DEL KIT COMBINATO BETA/PAK® DEVONO ESSERE A TEMPERATURA AMBIENTE (15 – 28 °C) PRIMA DELLA RICOSTITUZIONE. I REAGENTI CONSERVATI DEVONO ESSERE PORTATI A TEMPERATURA AMBIENTE PRIMA DELL'USO.**

## RICOSTITUZIONE

La concentrazione di lavoro dell'ADP ricostituito è 200 µM, quella del Collagene è 1,9 mg/mL e quella della Ristocetina è 15 mg/mL. Tutte le concentrazioni finali sono basate sull'aggiunta di 25 µL di Reagente ADP, Collagene o Ristocetina a un campione di prova di Plasma Ricco di Piastrine (PRP) di 225 µL.

- Ricostituire i Reagenti ADP, Collagene e Ristocetina con 0,5 mL di acqua purificata.
- Capovolgere delicatamente per miscelare.
- I reagenti ADP, Collagene e Ristocetina ricostituiti devono essere mantenuti ben chiusi prima dell'uso.

## DILUIZIONI

Per l'AGGREGAZIONE BIFASICA

Per dimostrare l'aggregazione bifasica indotta da ADP, il Plasma Ricco di Piastrine (PRP) può essere testato con diverse diluizioni del reagente. Ulteriori diluizioni possono essere effettuate per determinare la concentrazione soglia. La concentrazione soglia è la più bassa concentrazione che induce una risposta di aggregazione primaria.

 **NOTA: PER LE DILUIZIONI, UTILIZZARE SOLUZIONE SALINA TAMPONATA CON TRIS (TBS) O SOLUZIONE SALINA FISIOLGICA ALLO 0,85%.**

TABELLA 1: GRAFICO DI DILUIZIONE ADP

REAGENTE ADP	SOLUZIONE SALINA TAMPONATA CON TRIS	CONCENTRAZIONE DI LAVORO	CONCENTRAZIONE FINALE
—	—	200 µM	20 µM
125 µL	125 µL	100 µM	10 µM
62 µL	188 µL	50 µM	5 µM
25 µL	225 µL	20 µM	2 µM

## 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.**

FIGURA 1: AGGREGAZIONE NORMALE ADP

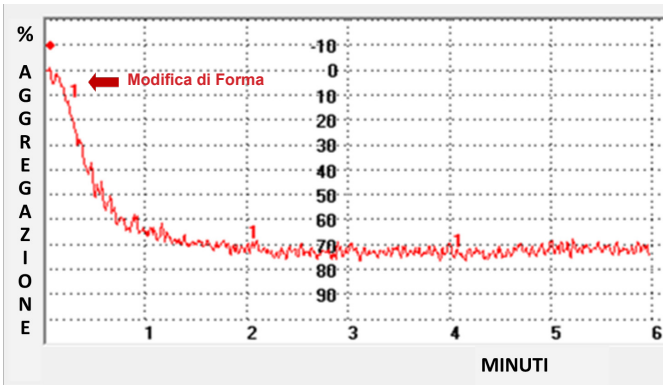


FIGURA 2: AGGREGAZIONE ANOMALA DA ADP

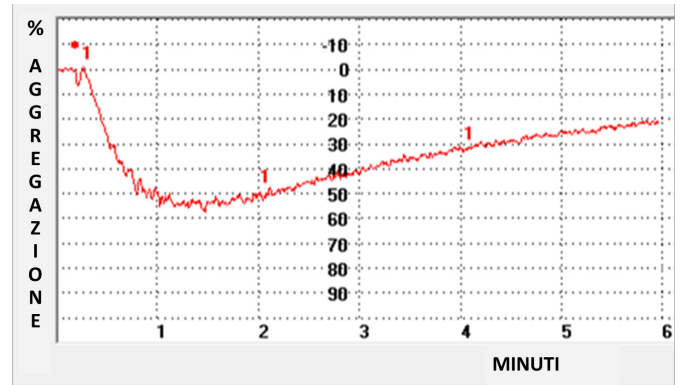


FIGURA 3: AGGREGAZIONE NORMALE DEL COLLAGENE

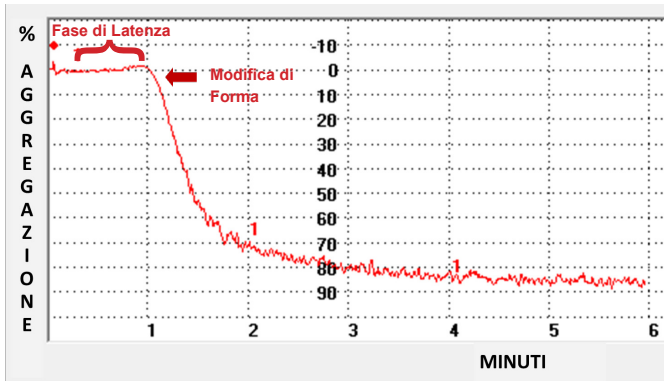


FIGURA 4: AGGREGAZIONE ANOMALA DA COLLAGENE

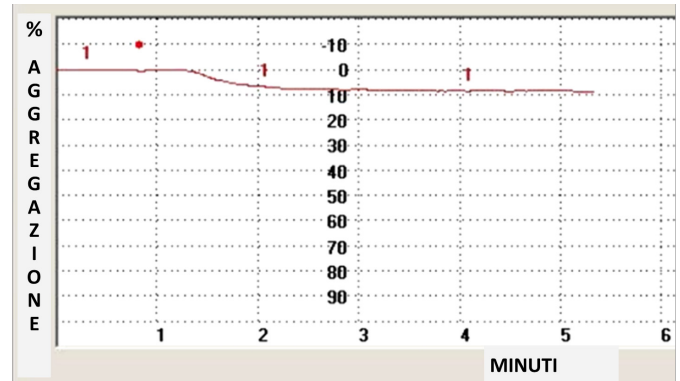


FIGURA 5: AGGREGAZIONE PIASTRINICA INDOTTA DA RISTOCETINA (RIPA) – AGGREGAZIONE NORMALE

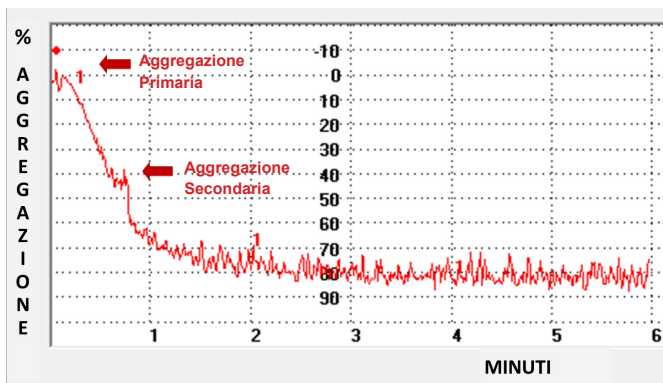
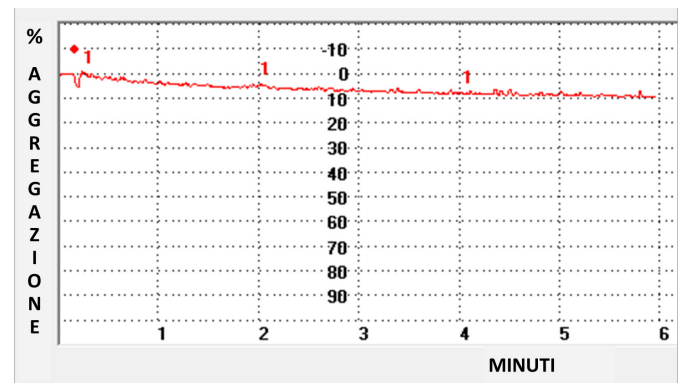


FIGURA 6: AGGREGAZIONE PIASTRINICA INDOTTA DA RISTOCETINA (RIPA) – AGGREGAZIONE ANOMALA



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
- Versare 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 SAGGIO

Procedura di Aggregazione di Routine

 **NOTA: QUESTA È UNA PROCEDURA GENERALE. SEGUIRE LE ISTRUZIONI DEL PRODUTTORE DELL'AGGREGOMETRO UTILIZZATO.**

Preparazione del Bianco per Ogni Paziente

 **NOTA: OGNI PAZIENTE DEVE AVERE IL PROPRIO BIANCO. IL BIANCO DI UN PAZIENTE NON PUÒ ESSERE UTILIZZATO PER UN ALTRO PAZIENTE. IL BIANCO DEL PAZIENTE DEVE ESSERE PREPARATO DAL CAMPIONE DI PLASMA RICCO DI PIASTRINE (PPP) DELLO STESSO PAZIENTE. SE LO STESSO PAZIENTE VIENE TESTATO SU PIÙ POZZETTI, È POSSIBILE UTILIZZARE LO STESSO BIANCO PER TALI POZZETTI.**

- Etichettare una provetta con la lettera "B", numero del pozzetto e ID paziente
- Pipettare 250 µL di PPP (senza barra magnetica)
- Mettere da parte
- Ripetere per ogni paziente

Preparazione dei Campioni

- Etichettare da una a otto nuove provette con l'ID del paziente e il numero del pozzetto di test
- Collocare le provette etichettate nel pozzetto corretto, dal n. 1 al n. 8, dei pozzetti di incubazione agitati per campioni
- Aggiungere una barra magnetica in ciascuna provetta
- Pipettare 225 µL di campione di Plasma Ricco di Piastrine (PRP) in ciascuna provetta nei pozzetti di incubazione agitati (ASSICURARSI CHE NON CI SIANO BOLLE)
- Selezionare il timer sullo schermo per ciascun pozzetto di incubazione agitato in uso e inizierà il conto alla rovescia per il riscaldamento
- I campioni incubano a 37° C per il tempo preimpostato
- Impostare la baseline al 100% (Bianco)
- Inserire nel pozzetto di test n. 1 la provetta di Bianco precedentemente preparata del paziente corrispondente
- Selezionare BLANK per attivare il pozzetto di test
- Il pulsante BLANK cambierà in START
- Ripetere i passaggi sopra descritti per ciascun pozzetto di test in uso

Avvio del Test

- Una volta che il timer del conto alla rovescia raggiunge 0:00, premere il pulsante del timer per fermare ciascun pozzetto di incubazione agitato per campioni
- Trasferire la provetta dal pozzetto di incubazione agitato n. 1 al pozzetto di test n. 1
- Ripetere il passaggio sopra descritto per ciascun pozzetto di test, assicurandosi che tutte le provette restino associate al proprio numero di pozzetto durante il trasferimento
- Chiudere le guide della pipetta
- Selezionare START per il pozzetto di test n. 1
- Pipettare 25 µL di reagente direttamente nella provetta di test contenente Plasma Ricco di Piastrine (PRP) nel pozzetto di test n. 1 (NON PERMETTERE AL REAGENTE DI SCORRERE LUNGO LA PARETE DELLA PROVETTA O CHE LA PUNTA DELLA PIPETTA ROMPA LA SUPERFICIE DEL CAMPIONE)
- Selezionare INJECT per il pozzetto di test n. 1
- Ripetere i passaggi sopra descritti per ciascun pozzetto di test in uso
- Il test verrà ora eseguito per il tempo preimpostato (LE PROCEDURE DI TEST DI ALTRI PRODUTTORI POTREBBERO SPECIFICARE TEMPI O VOLUMI DIFFERENTI)

 **NOTA: UTILIZZARE UN DONATORE CONOSCIUTO COME CAMPIONE DI CONTROLLO. OGNI LABORATORIO DEVE STABILIRE E VALIDARE IL PROPRIO PROTOCOLLO DI TEST.**

## CONTROLLO DI QUALITÀ

Per gli studi di aggregazione piastrinica, un donatore noto deve essere testato con la stessa modalità del paziente per garantire le prestazioni e la coerenza del sistema di prova. 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. Ogni laboratorio deve definire i propri intervalli accettabili per la popolazione di pazienti e verificare le prestazioni attese del sistema di prova.

## RISULTATI

I modelli di aggregazione per i reagenti del kit combinato BETA/PAK® sono illustrati nelle Figure da 1 a 6.

### REAGENTE ADP

I modelli tipici di aggregazione indotti dal Reagente ADP sono illustrati nelle Figure da 1 a 2. Quando il Reagente ADP viene utilizzato a una concentrazione finale di 20 µM, induce una singola ampia onda di aggregazione nel Plasma Ricco di Piastrine (PRP) normale. A concentrazioni inferiori, comprese tra 2 µM e 10 µM, possono essere osservate due onde distinte di aggregazione. L'onda primaria rappresenta la risposta immediata all'ADP esogeno introdotto dal reagente, mentre l'onda secondaria è dovuta al rilascio di ADP endogeno dal pool di nucleotidi all'interno delle piastrine.

In alcuni campioni di PRP normale può essere osservata una disaggregazione dipendente dalla concentrazione, indicando una risposta variabile alle diverse concentrazioni di ADP. I segni a "spike" nelle figure indicano i punti in cui è stato aggiunto il reagente, fornendo chiari riferimenti temporali per l'introduzione del reagente e i suoi effetti sul processo di aggregazione.

### REAGENTE COLLAGENE

I modelli tipici di aggregazione indotti dal Reagente Collagene sono illustrati nelle Figure 3 e 4, fornendo una rappresentazione dettagliata degli effetti del reagente sul Plasma Ricco di Piastrine (PRP). Dopo l'aggiunta del Reagente Collagene al PRP, si verifica una fase iniziale di latenza durante la quale non si osserva alcuna aggregazione. Dopo questa fase di latenza, le piastrine normali mostreranno un evidente cambiamento di forma. Successivamente al cambiamento di forma, si osserva una singola ampia onda di aggregazione, che dimostra la risposta robusta delle piastrine al Reagente Collagene.

I segni a "spike" nelle figure indicano i punti esatti in cui è stato aggiunto il reagente, fornendo chiari riferimenti temporali per l'introduzione del reagente e i suoi effetti sul processo di aggregazione.

### REAGENTE RISTOCETINA

I modelli tipici di aggregazione indotti dal Reagente Ristocetina sono illustrati nelle Figure 5 e 6, fornendo una visione dettagliata degli effetti del reagente sul Plasma Ricco di Piastrine (PRP). L'aggregazione indotta da Ristocetina può manifestarsi come una risposta bifasica oppure come una singola ampia onda di aggregazione. L'onda primaria di aggregazione deriva dall'agglutinazione delle piastrine mediata dal Fattore di von Willebrand in presenza di Ristocetina. Successivamente, può verificarsi un'onda secondaria dovuta al rilascio di ADP endogeno dalle piastrine, che contribuisce ulteriormente al processo di aggregazione.

Nei pazienti senza disturbi emorragici, la somministrazione di una dose elevata di Ristocetina determina generalmente una forte singola onda di aggregazione. Questa risposta robusta è indicativa di una normale funzione piastrinica e di un'attività normale del Fattore di von Willebrand. Al contrario, una dose bassa di Ristocetina generalmente non provoca alcuna risposta in questi pazienti, poiché la concentrazione più bassa non è sufficiente a indurre un'aggregazione piastrinica significativa.

Tuttavia, una risposta marcata a una dose bassa di Ristocetina suggerisce la presenza di alcuni tipi di Malattia di von Willebrand. Al contrario, gli individui normali senza disturbi emorragici mostrano tipicamente una risposta minima o assente alle basse dosi di Ristocetina.

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 test e una valutazione completa. Le figure includono segni a "spike" che indicano i punti precisi di aggiunta del reagente, fornendo chiari riferimenti temporali per comprendere il momento dell'introduzione del reagente e i suoi effetti immediati sul processo di aggregazione.

**TABELLA 2: RISULTATI DI ADP, COLLAGENE E RISTOCETINA OSSERVATI NEI DIFETTI DELLA FUNZIONE PIASTRINICA**

DIFETTO	REAGENTE ADP	REAGENTE COLLAGENE	REAGENTE RISTOCETINA
COME ASPIRINA	↓ ◦ N	↓	↓ ◦ N
TROMBASTENIA	↓ ↓	↓	N
MALATTIA STORAGE POOL	↓	↓	↓ ◦ N
MALATTIA DI VON WILLEBRAND	N	N	↓ ↓
SINDROME BERNARD-SOULIER	N	N	↓ ↓

↓ = Aggregazione ridotta derivante da una diminuzione o assenza dell'onda secondaria

↓ ↓ = Aggregazione ridotta derivante da una diminuzione o assenza dell'onda primaria e secondaria

N = Risposta normale

## VALORI ATTESI

Ogni laboratorio deve stabilire i propri intervalli attesi e le caratteristiche prestazionali per questo reagente alle concentrazioni utilizzate per indurre l'aggregazione piastrinica. Tali intervalli devono essere determinati utilizzando la strumentazione, le procedure, gli intervalli di riferimento e la popolazione di pazienti specifici del laboratorio.

La letteratura pubblicata riporta che il Reagente ADP produce tipicamente una risposta di Aggregazione Finale compresa tra il 69–91% e una Fase di Latenza ≥15 secondi, il Reagente Collagene produce tipicamente una risposta di Aggregazione Finale compresa tra il 66–92% e una Fase di Latenza ≥61 secondi, e la RIPA produce tipicamente una risposta di Aggregazione Finale compresa tra il 67–95%, in condizioni di prova standard. Questi intervalli basati sulla letteratura sono forniti esclusivamente a titolo informativo generale; i laboratori devono verificarli e stabilire i propri intervalli attesi prima dell'uso clinico.

## LIMITAZIONI

Nell'aggregometria a trasmissione luminosa, 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 nel PRP è inferiore a 75.000 piastrine/cumm. La conta piastrinica nel 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. Ogni laboratorio deve stabilire intervalli di riferimento adattati alla popolazione che serve e alle specifiche concentrazioni di reagente utilizzate.

## PRESTAZIONI ANALITICHE







L'aggregazione piastrinica, indotta da reagenti comunemente utilizzati come ADP, Collagene e Ristocetina, è un sistema di prova non lineare. Le risposte si basano sulla differenza nella 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 numerosi fattori, tra cui la chimica della reazione e la strumentazione. L'aggregazione piastrinica evidenzia la velocità o l'attività della risposta e non quantifica i reagenti o le loro concentrazioni.

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

La variabilità nella linearità, precisione e riproducibilità dei risultati nei sistemi di prova basati su reagenti ADP, Collagene e 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 $\pm 12,5\%$

## SIMBOLI

	<b>Bio-Pericoloso</b>
	<b>Numero di Catalogo</b>
	<b>Attenzione</b>
	<b>Prodotto registrato e marcato CE</b>
	<b>Consultare le istruzioni per l'uso</b>
	<b>Rappresentante dell'Unione Europea</b>
	<b>Dispositivo diagnostico in vitro</b>
	<b>Produttore</b>
	<b>Deve leggere</b>
	<b>Non sterile</b>
	<b>Solo uso singolo</b>
	<b>Limitazioni di temperatura</b>
	<b>Prodotto registrato e contrassegnato nel Regno Unito</b>
	<b>Rappresentante del Regno Unito</b>

## 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.
- Favaloro EJ, Gosselin RC, Pasalic L, Lippi G. Post-analytical issues in hemostasis and thrombosis testing: An update. In Euf, 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, Lillcrap 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.
- Grainick 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, Toffler 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: Dimittov 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.
- 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.

#### STORIA DELLE REVISIONI

Documento n.: 107762 Revisione: AA, Febbraio 2026

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

Tradotto dal documento n. 101579, Revisione AA


Documento n.: 107762 Revisione: AB, marzo 2026

- Correzioni editoriali (tipografiche); nessuna modifica al contenuto o alle informazioni regolatorie.
- Istruzioni di ricostituzione del Reagente Ristocetina riviste per migliorarne la chiarezza; rimosso l'approccio separato di diluizione della Ristocetina e aggiunta una Tabella di Ricostituzione della Ristocetina utilizzando acqua purificata per preparare direttamente le concentrazioni di lavoro.
- Sezione dei Risultati Attesi aggiornata: rimosso il grafico dei risultati, aggiunta una dichiarazione degli intervalli di AggRecetin basata sulla letteratura e chiarito che i laboratori devono stabilire i propri intervalli attesi.

Tradotto dal documento n. 101579, Revisione AB

**Per un catalogo completo dei prodotti, visitare il nostro sito web all'indirizzo [www.biodatacorp.com](http://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 COMMERCIALIZZABILITÀ 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

**REF**  
101580



AZIENDA REGISTRATA ISO 13485

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

ORGOLIOSAMENTE FABBRICATO NEGLI STATI UNITI

**EU REP**

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

**UK REP**

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



BETA/PAK INSTRUCTIONS FOR USE # 107762 REV AB ITALIAN