

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

AGG/PAK™ 5 è un Kit combinato di reagenti per l'aggregazione piastrinica contenente i reagenti ADP (Adenosina-5'-Difosfato), Arachidonic Acid (Arachidonato di Sodio), Collagen (Pelle di Vitello Solubile, Tipo 1), Epinephrine (Adrenalina) e Ristocetin (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 Arachidonic Acid è una preparazione liofilizzata del sale sodico dell'Arachidonic Acid. È un acido grasso essenziale presente nei granuli delle piastrine e sulla membrana piastrinica. Viene elaborato attraverso più fasi e convertito in Trombossano A2 (TXA2). Il Reagente Arachidonic Acid induce l'attivazione e l'aggregazione piastrinica.

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

Il Reagente Epinephrine è una preparazione stabilizzata e liofilizzata di L-Adrenalina che attiva il recettore adreno GP IIa causando l'aggregazione piastrinica senza cambiamento di forma. Sebbene possa potenziare la risposta delle piastrine ad altri agonisti, il Reagente Epinephrine è un agonista debole (reversibile). Può o meno indurre una risposta in soggetti sani.

Il Reagente Ristocetin 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 AGG/PAK™ 5 è stato ottimizzato per l'uso con aggregometri a trasmissione luminosa. Può essere utilizzato anche con altri analizzatori turbidimetrici o a impedenza e con citometri a flusso.

SCOPO PREVISTO

Il Kit combinato AGG/PAK™ 5 è un kit pratico che contiene una combinazione di reagenti di routine per l'aggregazione piastrinica, utilizzati per indurre risposte di aggregazione e/o agglutinazione nel Plasma Ricco di Piastrine (PRP). Il kit include ADP, Arachidonic Acid, Collagen, Epinephrine e Ristocetin.

RILEVAZIONE / MISURAZIONE

I reagenti del Kit combinato AGG/PAK™ 5 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 AGG/PAK™ 5 fornisce informazioni su diversi aspetti della funzione/qualità piastrinica. Questo kit aiuta a valutare vari disturbi piastrinici acquisiti ed ereditari o l'efficacia delle terapie anti-piastriniche.

INFORMAZIONI SPECIFICHE FORNITE

I reagenti del Kit combinato AGG/PAK™ 5 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 tramite 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 ADP. Osservando l'aggregazione piastrinica in risposta all'ADP, i professionisti possono valutare la funzione/qualità piastrinica in relazione ad anomalie nell'attivazione e nell'aggregazione. Questo processo è fondamentale per comprendere la dinamica della formazione del coagulo e per valutare l'efficacia delle terapie anti-piastriniche 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 Arachidonic Acid avvia l'attivazione e l'aggregazione piastrinica attraverso la via dell'acido arachidonico. Dopo il legame con i recettori sulla superficie piastrinica, l'acido arachidonico subisce una conversione enzimatica in Trombossano A2 (TXA2), favorendo cascate di segnalazione intracellulare. Ciò induce rapidi cambiamenti nella forma delle piastrine e il rilascio di ioni calcio, elementi essenziali per un'aggregazione stabile. L'osservazione dell'aggregazione piastrinica in risposta al Reagente Arachidonic

Acid consente di valutare la funzione/qualità piastrinica, eventuali anomalie e l'efficacia delle terapie anti-piastriniche. L'induzione di mediatori secondari come il Trombossano A2 (TXA2) da parte del Reagente Arachidonic Acid amplifica l'attivazione piastrinica.

Il Reagente Collagen avvia l'attivazione e l'aggregazione piastrinica. Legandosi ai recettori glicoproteici sulla superficie delle piastrine, in particolare alla glicoproteina VI (GP VI), il Collagen attiva cascate di segnalazione intracellulare. Ciò innesca 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 $\alpha2\beta1$, garantendo un'aggregazione stabile. Utilizzato per stimolare in modo preciso l'attivazione e l'aggregazione piastrinica, il Reagente Collagen interagisce con questi recettori, fornendo ai professionisti un mezzo per valutare la funzione/qualità piastrinica e i disturbi associati ad anomalie nell'attivazione piastrinica indotta dal collagene. Questo processo è essenziale per comprendere la dinamica della formazione del coagulo e per valutare l'efficacia delle terapie anti-piastriniche nella prevenzione degli eventi trombotici. Il Collagen induce inoltre il rilascio di mediatori secondari, amplificando ulteriormente l'attivazione e l'aggregazione piastrinica.

Il Reagente Epinephrine svolge un ruolo fondamentale nell'attivazione e nell'aggregazione piastrinica. Legandosi a recettori specifici sulla superficie delle piastrine, in particolare ai recettori $\alpha2$ -adrenergici, l'epinephrine avvia cascate di segnalazione intracellulare. Questa cascata induce rapidi cambiamenti nella forma delle piastrine e provoca il rilascio di ioni calcio, mediato principalmente dall'attivazione dei recettori $\alpha2$ -adrenergici. La risposta sostenuta, essenziale per un'aggregazione stabile, è facilitata dall'attivazione dei recettori $\alpha2$ -adrenergici. Il Reagente Epinephrine è fondamentale per stimolare con precisione l'attivazione e l'aggregazione piastrinica attraverso l'interazione con questi recettori adrenergici. L'osservazione dell'aggregazione piastrinica in risposta al Reagente Epinephrine consente di valutare la funzione/qualità piastrinica e i disturbi associati ad anomalie nell'attivazione e nell'aggregazione. Questo processo è cruciale per comprendere la dinamica della formazione del coagulo e per valutare l'efficacia delle terapie anti-piastriniche nella prevenzione degli eventi trombotici. L'Epinephrine induce inoltre il rilascio di mediatori secondari, amplificando ulteriormente l'attivazione e l'aggregazione piastrinica.

Il Reagente Ristocetin è un reagente piastrinico distintivo impiegato 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 nel vWF, esponendo siti di legame per la glicoproteina piastrinica Ib (GP Ib). Di conseguenza, i recettori GP Ib delle piastrine si legano al vWF, avviando l'adesione piastrinica. Questa adesione iniziale prepara le piastrine per l'aggregazione. In assenza del Fattore di von Willebrand (vWF) o in presenza di disturbi correlati della funzione piastrinica, l'aggregazione indotta da Ristocetina procede in misura limitata a causa dell'incapacità delle piastrine di aggregarsi efficacemente. Di conseguenza, 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 analisi svolge un ruolo fondamentale nella valutazione accurata della funzione/qualità piastrinica.

AUTOMAZIONE

I reagenti del Kit combinato AGG/PAK™ 5 sono destinati all'uso in aggregometri piastrinici a trasmissione luminosa semi-automatizzati e automatizzati. Questi reagenti possono essere utilizzati anche con altri analizzatori turbidimetrici o a impedenza e con citometri a flusso.

QUALITÀ / QUANTITÀ

Non esistono standard primari per i reagenti del Kit combinato AGG/PAK™ 5. Le risposte a questi reagenti sono dipendenti dalla concentrazione. Un donatore normale noto dovrebbe essere testato con ogni nuovo lotto di reagenti del Kit combinato AGG/PAK™ 5. Gli organismi di standardizzazione classificano l'aggregazione piastrinica indotta da ADP, Arachidonic Acid, Collagen, Epinephrine e Ristocetin come semi-quantitativa o semi-qualitativa.

Il Kit combinato AGG/PAK™ 5 è confezionato con 1 fiala da 0,5 mL di Reagente ADP, 1 fiala da 0,5 mL di Reagente Arachidonic Acid, 1 fiala da 0,5 mL di Reagente Collagen, 1 fiala da 0,5 mL di Reagente Epinephrine e 1 fiala da 0,5 mL di Reagente Ristocetin. La concentrazione di lavoro dell'ADP è 200 μ M, dell'Arachidonic Acid è 5 mg/mL, del Collagen è 1,9 mg/mL, dell'Epinephrine è 100 μ M e della Ristocetin è 15 mg/mL.

TIPO DI CAMPIONE

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

I reagenti ADP, Arachidonic Acid, Collagen, Epinephrine e Ristocetin possono essere utilizzati con Plasma Ricco di Piastrine (PRP) umano o animale per test di aggregazione piastrinica di routine. I risultati si basano 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, Arachidonic Acid e Collagen, 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 Epinephrine, la prevalenza di aggregazione anomala con il Reagente Epinephrine è del 16–20% nei soggetti sani. È globale e può variare in base a razza, etnia, gruppo sanguigno e altri fattori. L'incidenza è variabile. Per Ristocetin, 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 ~2%.
- **Farmaci Anti-Piastrinici:** Per 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% (adulti > 40 anni); il 16% è in terapia anti-piastrinica doppia (DAPT); e l'8% in terapia anti-piastrinica (APT). Per Arachidonic Acid, la prevalenza di aggregazione anomala con il Reagente Arachidonic Acid, 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 da Arachidonic Acid. L'incidenza è variabile. Per Collagen, la prevalenza di aggregazione anomala con il Reagente Collagen, 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 da Collagen. L'incidenza è variabile. Per Epinephrine, la prevalenza e l'incidenza sono variabili. Sono state osservate variazioni nelle risposte all'Epinephrine tra diverse popolazioni. Studi hanno dimostrato che la terapia anti-piastrinica doppia e l'Aspirina possono influenzare l'aggregazione piastrinica indotta da Epinephrine. Per Ristocetin, la prevalenza e l'incidenza sono variabili. Gli inibitori di BTK e la vancomicina sono noti per ridurre i risultati del test RIPA. Un anticorpo monoclonale anti-glicoproteina piastrinica (GP) Ib recentemente sviluppato, denominato OP-FI, insieme a un anticorpo monoclonale anti-GPIb ben studiato noto come AP-1, eliminano completamente l'agglutinazione piastrinica indotta dalla Ristocetin.
- **Disturbi Piastrinici Ereditari:** Per ADP, la prevalenza e l'incidenza sono variabili. Esistono 60 tipi; 75 geni noti; frequenza 5/1000; stimata nell'1–2% della popolazione. Per Arachidonic Acid e Collagen, la prevalenza e l'incidenza sono variabili. Esistono 60 tipi di disturbi piastrinici ereditari che colpiscono circa lo 0,3% della popolazione. Alcuni difetti piastrinici ereditari, come la Trombastenia di Glanzmann e la Malattia del Pool di Deposito, non mostrano risposta ai reagenti Arachidonic Acid o Collagen. Per Epinephrine, la prevalenza di una risposta anomala all'Epinephrine varia a seconda del difetto. L'incidenza è variabile. Per Ristocetin, la prevalenza e l'incidenza sono variabili. Le piastrine derivate da individui con Sindrome di Bernard-Soulier non agglutinano quando esposte alla Ristocetin. A differenza della Malattia di von Willebrand, i livelli di attività del Fattore di von Willebrand e dell'antigene di von Willebrand rimangono entro intervalli normali.
- **Animale:** Per ADP, Arachidonic Acid, Collagen, Epinephrine e Ristocetin, la prevalenza e l'incidenza dipendono dalla specie.

DIAGNOSTICA IN VITRO

Il contenuto del Kit combinato AGG/PAK™ 5 consiste in reagenti diagnostici in vitro destinati esclusivamente all'uso professionale di laboratorio. Questi reagenti non sono destinati all'iniezione o all'ingestione.

UTILIZZATORE PREVISTO

I reagenti del Kit combinato AGG/PAK™ 5 sono destinati all'uso professionale di laboratorio da parte di personale qualificato.

PRINCIPIO DEL TEST

Quando introdotti in un campione di test di Plasma Ricco di Piastrine (PRP) agitato a 37°C, reagenti esogeni come ADP, Arachidonic Acid, Collagen, Epinephrine e Ristocetin stimolano le piastrine, inducendole a subire un cambiamento di forma e ad aggregarsi. Questa aggregazione iniziale è chiamata aggregazione primaria ed è reversibile. Tuttavia, le piastrine normali possiedono la capacità di rilasciare ADP endogeno dai loro granuli, portando a una seconda ondata di aggregazione, irreversibile. L'aggregometro piastrinico a trasmissione luminosa cattura 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 prova prestabilito.

Per l'Epinephrine può essere dimostrata un'iper-reattività. In tal caso, la Procedura Sticky Platelet deve essere seguita per la conferma. Non tutti i soggetti sani rispondono al Reagente Epinephrine.

CALIBRATORI E CONTROLLI

Non sono richiesti calibratori o controlli per il Kit combinato AGG/PAK™ 5. Un campione di un donatore noto deve essere testato con ogni lotto dei reagenti ADP, Arachidonic Acid, Collagen, Epinephrine e Ristocetin. Le risposte sono dipendenti dalla concentrazione.

LIMITAZIONI DEL REAGENTE

I reagenti del Kit combinato AGG/PAK™ 5 funzioneranno come specificato se vengono seguite le Istruzioni per l'Uso. I reagenti devono essere utilizzati prima della data di scadenza riportata su ciascuna fiala.

REAGENTI FORNITI

REF	107650:	1 fiala di Reagente ADP (0,5 mL)
		1 fiala di Reagente Arachidonic Acid (0,5 mL)
		1 fiala di Reagente Collagen (0,5 mL)
		1 fiala di Reagente Epinephrine (0,5 mL)
		1 fiala di Reagente Ristocetin (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, Arachidonic Acid, Collagen, Epinephrine e Ristocetin non richiedono protezione della temperatura durante il trasporto.



Al ricevimento, conservare i reagenti ADP, Arachidonic Acid, Collagen, Epinephrine e Ristocetin a 2–8 °C nelle loro confezioni originali.



I reagenti ADP, Collagen ed Epinephrine ricostituiti sono stabili per 30 giorni se conservati nei loro contenitori originali ben chiusi a 2–8 °C.



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



I reagenti Arachidonic Acid ricostituiti sono stabili per 24 ore se conservati nei loro contenitori originali ben chiusi a 2–8 °C.



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

STERILITÀ



I reagenti del Kit combinato AGG/PAK™ 5 non sono prodotti sterili. Prestare attenzione a non contaminare il prodotto durante il pipettaggio dei reagenti ricostituiti o aliquotati.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI



Indossare i DPI in conformità con le politiche e le pratiche di laboratorio durante la manipolazione dei reagenti ADP, Arachidonic Acid, Collagen, Epinephrine e Ristocetin.



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



Manipolare con cura i reagenti ADP, Arachidonic Acid, Collagen, Epinephrine e Ristocetin per evitare contaminazioni durante l'uso.



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



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



Per preservare la stabilità dei reagenti, conservare i reagenti rimanenti nei loro 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 AGG/PAK™ 5 non contengono materiali infettivi. I campioni di prova devono essere considerati infettivi e devono essere manipolati come potenzialmente in grado di trasmettere infezioni. Dopo il test, i campioni devono essere smaltiti in conformità alle normative applicabili e alle politiche di laboratorio.

STRUTTURE SPECIALI

I reagenti del Kit combinato AGG/PAK™ 5 non richiedono l'uso di strutture speciali all'interno dell'ambiente di laboratorio.

PREPARAZIONE ALL'USO



NOTA: I REAGENTI DEL KIT COMBINATO AGG/PAK™ 5 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, del Reagente Arachidonic Acid è 5 mg/mL, del Collagen è 1,9 mg/mL, dell'Epinephrine è 100 µM e della Ristocetin è 15 mg/mL. Tutte le concentrazioni finali si basano sull'aggiunta di 25 µL di reagenti ADP, Arachidonic Acid, Collagen, Epinephrine o Ristocetin a un campione di prova di Plasma Ricco di Piastrine (PRP) di 225 µL.

- Ricostituire i reagenti ADP, Arachidonic Acid, Collagen, Epinephrine e Ristocetin con 0,5 mL di acqua purificata
- Capovolgere delicatamente per miscelare



NOTA: I REAGENTI ARACHIDONIC ACID ED EPINEPHRINE POSSONO APPARIRE TORBIDI, MA DIVENTERANNO CHIARI O GIALLO PALLIDO ENTRO POCHI MINUTI.

- I reagenti ADP, Arachidonic Acid, Collagen, Epinephrine e Ristocetin ricostituiti devono essere mantenuti chiusi prima dell'uso

DILUIZIONI

Per AGGREGAZIONE BIFASICA

Per dimostrare l'aggregazione bifasica dell'ADP, il Plasma Ricco di Piastrine (PRP) può essere testato con varie diluizioni del reagente. Ulteriori diluizioni possono essere effettuate per determinare la concentrazione soglia, ovvero la concentrazione più bassa in grado di evocare una risposta di aggregazione primaria.



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

TABELLA 1: TABELLA DELLE DILUIZIONI 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.

Tecnica di Raccolta con Provette Evacuate

- Usare aghi a farfalla da 21g o 23g
- Raccolgere 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
- ersare 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 POVERO 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)

FIGURA 1: AGGREGAZIONE NORMALE AD ADP

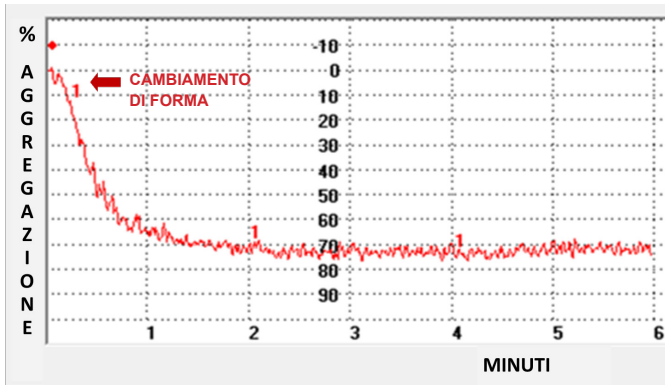


FIGURA 2: AGGREGAZIONE ANORMALE AD ADP

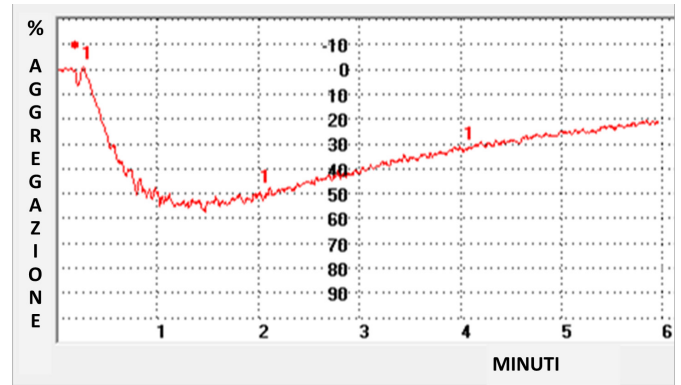


FIGURA 3: AGGREGAZIONE NORMALE ALL'ACIDO ARACHIDONICO

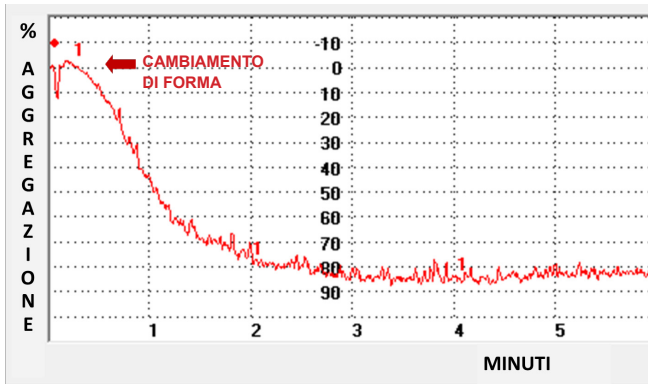


FIGURA 4: RISPOSTA ANORMALE ALL'ACIDO ARACHIDONICO (EFFETTO DELL'ASPIRINA)

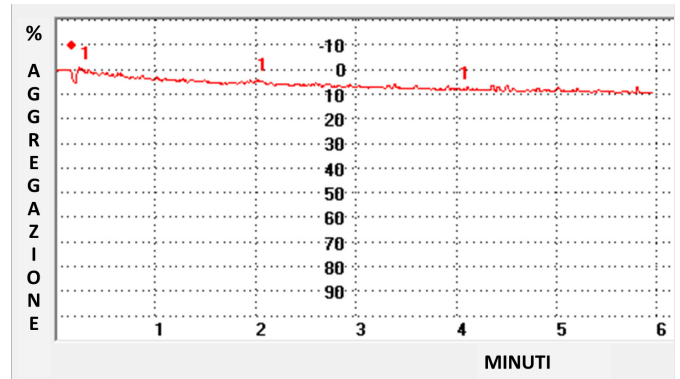


FIGURA 5: AGGREGAZIONE NORMALE AL COLLAGENE

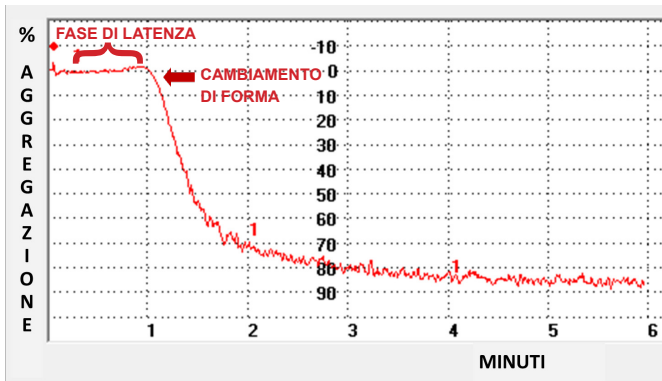
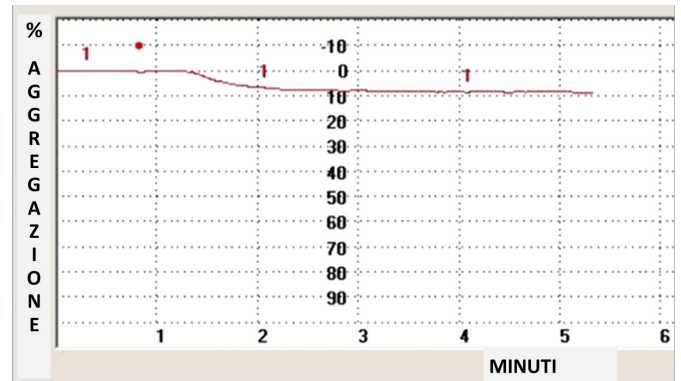


FIGURA 6: AGGREGAZIONE ANORMALE AL COLLAGENE



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 nello stesso modo 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 propria popolazione di pazienti e verificare le prestazioni attese del sistema di prova.

RISULTATI

I profili di aggregazione per i reagenti del Kit combinato AGG/PAK™ 5 sono illustrati nelle Figure da 1 a 10.

REAGENTE ADP

I profili tipici di aggregazione indotti dal Reagente ADP sono illustrati nelle Figure da 1 a 2. Quando il Reagente ADP è utilizzato a una concentrazione finale di 20 µM, induce una grande singola onda di aggregazione nel Plasma Ricco di Piastrine (PRP) normale. A concentrazioni più basse, comprese tra 2 µM e 10 µM, possono essere osservate due distinte onde di aggregazione. La prima onda è la risposta immediata all'ADP esogeno introdotto dal reagente, mentre la seconda onda è dovuta al rilascio di ADP endogeno dal pool di deposito dei nucleotidi all'interno delle piastrine.

In alcuni campioni di PRP normale, può essere osservata una disaggregazione dipen-

dente dalla concentrazione, indicando una risposta variabile a diverse concentrazioni di ADP. I segni a picco 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 ARACHIDONIC ACID

I profili tipici di aggregazione indotti dal Reagente Arachidonic Acid sono illustrati nelle Figure 3 e 4. Questi profili forniscono una visione completa di come il reagente interagisce con il Plasma Ricco di Piastrine (PRP) in diverse condizioni.

L'assunzione di una singola dose di 600 mg di Aspirina ha un impatto significativo sull'aggregazione piastrinica, determinando l'assenza di aggregazione indotta da Arachidonic Acid fino a 5 giorni, come mostrato nella Figura 5. Questa assenza indica che l'Aspirina inibisce efficacemente la risposta aggregativa, aspetto fondamentale per comprendere le sue proprietà anticoagulanti.

Inoltre, può essere osservato un tempo di risposta prolungato fino a 8 giorni dopo l'assunzione di Aspirina, come illustrato nella Figura 6. Questo tempo di risposta prolungato si riferisce al ritardo tra l'aggiunta del Reagente Arachidonic Acid e l'inizio dell'aggregazione, evidenziando l'effetto prolungato dell'Aspirina sulla funzione piastrinica.

I segni a punta nelle figure indicano i punti in cui è stato aggiunto il reagente, fornendo chiari punti di riferimento per il momento dell'introduzione del reagente e i suoi effetti sul processo di aggregazione.

REAGENTE AL COLLAGENE

I tipici pattern di aggregazione indotti dal Reagente al Collagene sono illustrati nelle Figure 5 e 6, fornendo una rappresentazione dettagliata degli effetti del reagente sul Plasma Ricco di Piastrine (PRP). In seguito all'aggiunta del Reagente al Collagene al

FIGURA 7: AGGREGAZIONE NORMALE ALL'EPINEFRINA

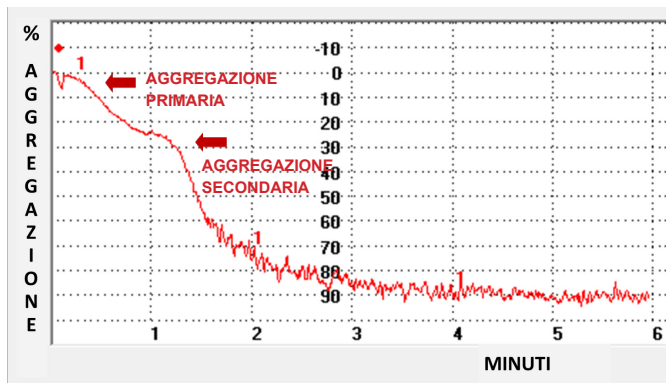


FIGURA 8: AGGREGAZIONE ANORMALE ALL'EPINEFRINA

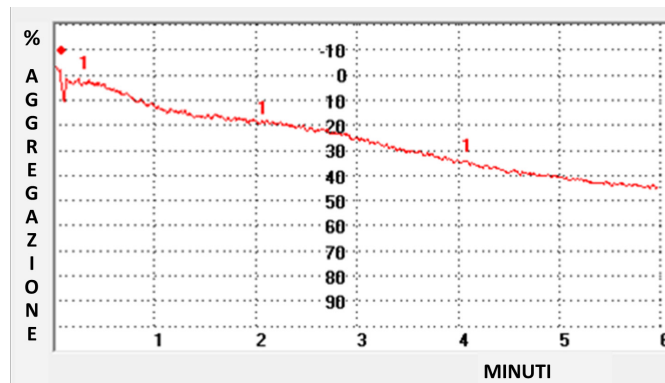


FIGURA 9: AGGREGAZIONE PIASTRINICA INDOTTA DA RISTOCETINA (RIPA) — AGGREGAZIONE NORMALE

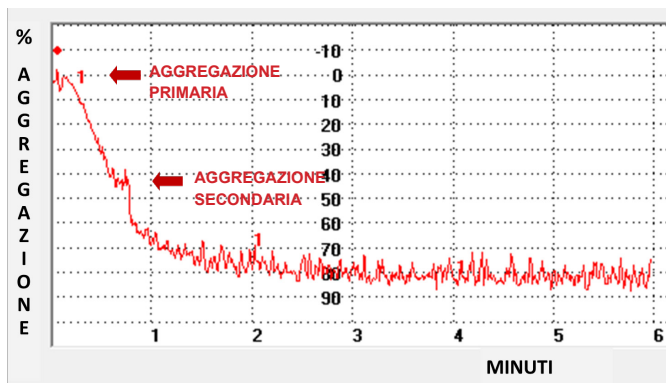
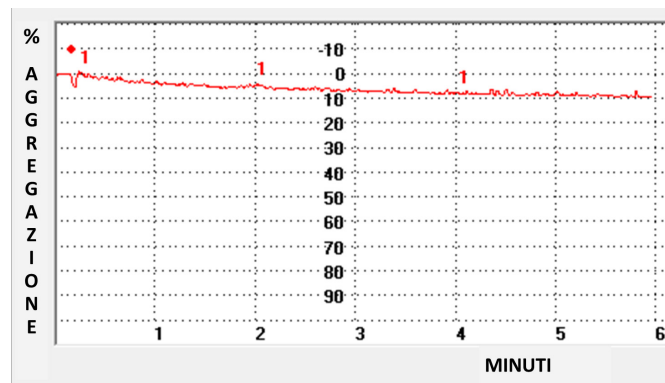


FIGURA 10: AGGREGAZIONE PIASTRINICA INDOTTA DA RISTOCETINA (RIPA) — AGGREGAZIONE ANORMALE



PRP, si verifica una fase di latenza iniziale 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 grande singola onda di aggregazione, che dimostra la robusta risposta delle piastrine al Reagente al Collagene.

I segni a punta nelle figure indicano i punti esatti in cui è stato aggiunto il reagente, fornendo chiari punti di riferimento per il momento dell'introduzione del reagente e i suoi effetti sul processo di aggregazione.

REAGENTE ALL'EPINEFRINA

I tipici pattern di aggregazione indotti dal Reagente all'Epinefrina sono illustrati nelle Figure 7 e 8, offrendo una visione completa dei suoi effetti sul Plasma Ricco di Piastrine (PRP). Quando il Reagente all'Epinefrina viene aggiunto al PRP normale, induce una risposta bifasica caratterizzata da due distinte onde di aggregazione. La prima onda rappresenta la risposta iniziale delle piastrine al reagente, mentre la seconda onda è dovuta al rilascio di ulteriori agonisti piastrinici dai granuli all'interno delle piastrine, amplificando ulteriormente il processo di aggregazione.

Questa risposta bifasica è un segno distintivo dei campioni di PRP sani, indicando una normale funzione piastrinica. Al contrario, un'aggregazione anomala all'Epinefrina viene identificata quando l'aggregazione finale è inferiore al 30%, come mostrato nella Figura 10. Una risposta ridotta di questo tipo può indicare una disfunzione piastrinica o altre anomalie ematologiche, fornendo informazioni utili.

Gli indicatori a punta nelle figure segnano i punti esatti in cui viene aggiunto il reagente, offrendo chiari riferimenti temporali per l'introduzione del reagente. Questi marcatori sono essenziali per correlare l'aggiunta del Reagente all'Epinefrina con i pattern di aggregazione osservati, consentendo un'analisi precisa dei suoi effetti immediati sul processo di aggregazione.

REAGENTE ALLA RISTOCETINA

I tipici pattern di aggregazione indotti dal Reagente alla Ristocetina sono illustrati nelle Figure 9 e 10, fornendo una visione dettagliata degli effetti del reagente sul Plasma Ricco di Piastrine (PRP). L'aggregazione indotta dalla Ristocetina può manifestarsi come una risposta bifasica oppure come una singola grande onda di aggregazione. La prima onda di aggregazione deriva dall'agglutinazione delle piastrine mediata dal Fattore di von Willebrand in presenza di Ristocetina. Successivamente, può verificarsi una seconda onda 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 tipicamente una forte singola onda di aggregazione. Questa risposta marcata è indicativa di una normale funzione piastrinica e di una normale attività del Fattore di von Willebrand. Al contrario, una dose bassa di Ristocetina generalmente

non provoca alcuna risposta in questi pazienti, poiché la concentrazione inferiore non è sufficiente a indurre un'aggregazione piastrinica significativa.

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

È essenziale interpretare questi risultati di aggregazione nel contesto più ampio della condizione clinica del paziente. Una valutazione definitiva deve essere effettuata solo dopo ulteriori test e una valutazione completa. Le figure includono segni a punta che indicano i punti precisi di aggiunta del reagente, fornendo chiari riferimenti per comprendere il momento dell'introduzione del reagente e i suoi effetti immediati sul processo di aggregazione.

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 nell'intervallo del 69–91% con una Fase di Latenza di ≥ 15 secondi; il Reagente all'Acido Arachidonico produce tipicamente una risposta di Aggregazione Finale nell'intervallo del 61–93% con una Fase di Latenza di ≥ 25 secondi; il Reagente al Collagene produce tipicamente una risposta di Aggregazione Finale nell'intervallo del 66–92% con una Fase di Latenza di ≥ 61 secondi; il Reagente all'Epinefrina produce tipicamente una risposta di Aggregazione Finale nell'intervallo del 54–92%; e la risposta di Aggregazione Finale RIPA nell'intervallo del 67–95%, in condizioni di prova standard. Questo intervallo basato sulla letteratura è fornito esclusivamente come informazione generale; i laboratori devono verificare 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 puri se la conta piastrinica del PRP è inferiore a 75.000 piastrine/cumm. Le conte piastriniche del PRP possono essere eseguite esclusivamente mediante il metodo dell'emocitometro. I campioni compromessi devono essere respinti.

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.

ABELLA 2: RISULTATI DI ADP, ACIDO ARACHIDONICO, COLLAGENE, EPINEFRINA E RISTOCETINA OSSERVATI NEI DIFETTI DELLA FUNZIONE PIASTRINICA

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

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

PRESTAZIONI ANALITICHE

L'aggregazione piastrinica, indotta da reagenti comunemente utilizzati come ADP, Acido Arachidonico, Collagene, Epinefrina 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 questi vi sono la fase di latenza, la pendenza primaria, la pendenza secondaria, la risposta bifasica e la disaggregazione. La non linearità è causata da molteplici fattori, tra cui la chimica della reazione e la strumentazione. L'aggregazione piastrinica riflette la velocità o l'attività della risposta e non quantifica i reagenti né le loro concentrazioni.

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

La variabilità in linearità, precisione e riproducibilità dei risultati nei sistemi di prova basati su Reagenti ADP, Acido Arachidonico, Collagene, Epinefrina 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 $\pm 12,5\%$

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 EJJF, 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.
- Gamer 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, 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-Quilez A, González-Porrás 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.

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

Numero del Documento: 107654 Revisione: AA, marzo 2025

- Nuovo Kit Combinato

Tradotto dal Documento No: 107649 Revisione: AA

Numero del Documento: 107654 Revisione: AB, marzo 2026

- Correzioni editoriali (tipografiche); nessuna modifica al contenuto o alle informazioni normative.
- Aggiornate le informazioni su conservazione e stabilità per includere una stabilità di 24 ore dopo la ricostituzione per il Reagente Arachidonic Acid e una stabilità di 2 ore a temperatura ambiente per le diluizioni di ADP.
- Revisionate le istruzioni per la ricostituzione del Reagente Ristocetin per migliorarne la chiarezza; rimosso l'approccio separato di diluizione della Ristocetin e aggiunta la ricostituzione della Ristocetin utilizzando acqua purificata.
- Aggiornata la sezione Risultati Attesi: rimossa la tabella dei risultati, aggiunta una dichiarazione degli intervalli basata sulla letteratura per i reagenti ADP, Arachidonic Acid, Collagen, Epinephrine e Ristocetin, e chiarito che i laboratori devono stabilire i propri intervalli attesi.

Tradotto dal Documento No: 107649 Revisione: AB

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 INCLUDE REAGENTI PER USO GENERALE, AD USO PROFESSIONALE DI LABORATORIO, DESTINATI A INDURRE E RILEVARE L'ATTIVITÀ E LE RISPOSTE DELLA FUNZIONE PIASTRINICA. QUESTO PRODOTTO È GARANTITO PER FUNZIONARE COME DESCRITTO NELLA SUA ETICHETTATURA, INCLUSI LE ISTRUZIONI PER L'USO. BIO/DATA CORPORATION NON FORNISCE ALCUNA DICHIARAZIONE O GARANZIA, ESPRESSA O IMPLICITA, RELATIVA ALLA CAPACITÀ, IDONEITÀ O COMMERCIALITÀ PER QUALSIASI ALTRO SCOPO. IN NESSUN CASO BIO/DATA CORPORATION SARÀ RESPONSABILE PER EVENTUALI 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


107650



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 Paimham Drive Eastleigh
SO50 4NU Hampshire REGNO UNITO



AGG/PAK 5 INSTRUCTIONS FOR USE # 107654 REV AB ITALIAN