



# GpIIb/IIIa Antagonist Reagent

**REF** **HB-5537-FG (1x0.5ml)**  
**HB-5545-FG (2x0.5ml)**

**For Investigational Use Only**  
**Nur für Forschungszwecke**  
**Pour fins de recherche uniquement**  
**Uso exclusivo para investigación**  
**Solo per ricerca**

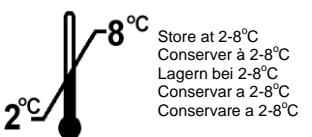
## Guide to Symbols



Consult accompanying documents  
Voir documents cointjoints  
Siehe beigefügte Dokumente  
Véanse los documentos duntas  
Vedi documenti allegati



For *in vitro* diagnostic use  
Pour usage diagnostique *in-vitro*  
in-vitro diagnostikum  
Para uso diagnóstico *in-vitro*  
Per uso diagnostico *in-vitro*



Use By  
A utiliser avant le  
Verw. Bis:  
Utilizar antes de  
Usar entro



Lot  
Lot  
Ch.-B.:  
Lote  
Lotto



Hart Biologicals Ltd,  
2 Rivergreen Business Centre,  
Queens Meadow,  
Hartlepool TS25 2DL. UK

Tel: +44 (0) 1429-271100 Fax: +44 (0) 1429-277085  
[www.hartbio.com](http://www.hartbio.com), e-mail: [info@hartbio.com](mailto:info@hartbio.com)



(HB-0568-LIT Rev 2 Sep 14)

## GpIIb/IIIa Antagonist Reagent

### INTENDED PURPOSE Handling Instructions

Hart Biologicals GpIIb/IIIa Antagonist Reagent is used as a positive control in platelet aggregation studies using human platelet rich plasma or whole blood.

### SUMMARY

The GpIIb/IIIa Antagonist Reagent contains a synthetic inhibitor of the platelet Glycoprotein IIb/IIIa Receptor on human platelets.<sup>1,2</sup> This receptor is responsible for fibrinogen binding to platelets, allowing cross linking between platelets during platelet aggregation. The Hart Biologicals GpIIb/IIIa Antagonist Reagent can be added to platelet aggregation test to confirm that platelet function can be inhibited in situations where patient results are not as expected.

### TEST PRINCIPLE

The platelet aggregation test measures the rate and degree to which dispersed platelets in a sample of platelet rich plasma (PRP) or anticoagulated whole blood forms clumps (aggregates) after the addition of a substance that normally stimulates platelet aggregation (agonist). In optical aggregometry, the clumping of the platelets causes the platelet rich plasma to become less turbid. This is measured on a platelet aggregometer, which plots the rate and maximum extent of the aggregation reaction. In whole blood aggregometry, platelets adhere to small wires suspended in the blood sample and the impedance between the wires as the platelets adhere and aggregate is measured and plotted. The addition of Hart Biologicals GpIIb/IIIa Antagonist Reagent to the test platelets prior to activation with reagents such as ADP, Collagen, TRAP-6 or Arachidonic Acid will result in significantly inhibited or even zero platelet aggregation. If a normal level of aggregation is recorded in the presence of GpIIb/IIIa Antagonist Reagent, then other non-specific reasons for platelet aggregation should be considered.

### WARNINGS AND PRECAUTIONS

For *in-vitro* diagnostic use only.  
Do not pipette by mouth. Do not smoke, eat or drink in areas where specimens or kit reagents are handled.  
Wear disposable gloves when handling specimens and kit reagents, and wash hands thoroughly afterwards.

### MATERIALS PROVIDED

#### GpIIb/IIIa Antagonist Reagent

Ingredients: The reagent contains liquid preparation of 50 µg/ml (101 µM) GpIIb/IIIa Antagonist with added buffer and stabilisers.  
Preparation for use: The GpIIb/IIIa Antagonist Reagent is ready for use as packaged.

Storage and stability: Unopened vials of GpIIb/IIIa Antagonist Reagent should be stored at 2-8°C. The Reagent is stable until the expiry date printed on the vial label. Opened vials of Reagent are stable for 30 days when stored at 2-8°C.

### MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Platelet aggregometry system – the Hart Biologicals GpIIb/IIIa Antagonist Reagent will perform satisfactorily when used on any aggregometer system. Follow the manufacturer's instructions for the operation of the aggregometer in use.

### SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION<sup>3</sup>

#### Preparation of Platelet-Rich and Platelet-Poor Plasma for Optical Aggregation

Blood for platelet aggregation testing should be collected in to plastic syringes and transferred to plastic tubes, or collected in siliconised glass evacuated blood collection tubes.

Blood (9 parts) should be mixed with 0.11M or 0.13M sodium citrate anticoagulant (1 part). Invert gently to mix. Do not shake.

- Prepare platelet rich plasma by centrifuging the anti-coagulated blood at 150-200 x g for 10-15 minutes at room temperature.
- Remove the platelet rich plasma with a plastic transfer pipette and place in a plastic container (with cap) labelled 'PRP'. Cap the container and keep at room temperature.
- Prepare platelet poor plasma by centrifuging the remaining blood specimen at 2000 x g for 20 minutes.
- Remove the platelet poor plasma with a plastic transfer pipette and place in a plastic container (with cap) labelled 'PPP'. Cap the container and keep at room temperature.
- Adjust the platelet concentration in the PRP to 200-300x10<sup>9</sup>/L using PPP, cap and allow to stand at room temperature for 30 minutes prior to testing.
- Testing should be completed within 3 hours of blood collection.

#### Whole Blood Aggregation Samples

Refer to the aggregometer manufacturer recommendations for the preparation of samples for whole blood aggregometry.

### TEST PROCEDURE

#### A) Optical Aggregometry

1. Set the 0% and 100% aggregation levels on the aggregometer using platelet poor plasma and platelet rich plasma according to the manufacturer's instructions.
2. Pipette the required volume of platelet rich plasma in to an aggregation cuvette and add a stir bar.
3. Add the required volume or concentration of GpIIb/IIIa Antagonist Reagent to the cuvette. Typically this will be 10% of the final test volume.
4. Pre-warm to 37°C for 120 seconds.
5. Add the required volume of platelet aggregation reagent (e.g. ADP, Collagen, Arachidonic Acid or TRAP-6) directly in to the cuvette. Do not allow reagent to run down the wall of the cuvette.
6. Allow the aggregation pattern to form for a minimum of 5 minutes.

#### B) Whole Blood Aggregometry

Refer to the manufacturer's instructions for the correct performance of the test.

### QUALITY CONTROL

The results of platelet aggregation studies should be interpreted against the results of aggregation profiles of a normal sample tested at the same time. The normal donor should not have ingested aspirin or aspirin containing compounds in the preceding 10 days and should not be on any other form of anti-platelet medication.

### EXPECTED VALUES

The inclusion of GpIIb/IIIa Antagonist Reagent should lead to significantly reduced or abolished aggregation response for stimulated platelets.

### FURTHER TESTING

If the test results are abnormal, the test should be repeated on a separate occasion. If the results are consistently abnormal, and the patient is not taking any medication known to interfere with platelet function, additional tests should be considered.

### LIMITATIONS

In optical aggregometry, the presence of red blood cells in the PRP will cause the total observed aggregation to be reduced. The presence of platelets in the PPP will cause the total observed aggregation to appear increased.

Sporadic results can be observed when the total platelet count of the PRP is less than 75 x 10<sup>9</sup>/L.

PRP tested less than 30 minutes after preparation may exhibit abnormal aggregation profiles.

### Bibliography

1. Peerlinck, De Lepeleire, I., Goldberg, M et al. 'A Selective Nonpeptide Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Antagonist, Is Active In Man', Circulation, 1993; 88: 1512-1517
2. Kumar, A. and Hermann, H.C. 'Tirofiban: An Investigational Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Receptor Antagonist'. Exp. Opin. Invest. Drugs. 1997; 6: 1257-1267
3. Dacie & Lewis, 'Practical Haematology', Lewis, S.M., Bain, B.J. and Bates, I. (Editors); 9<sup>th</sup> Edition, Elsevier Science Ltd., 2002, pages 383-385.

## GpIIb/IIIa Antagonist Reagent

### ANWENDUNGSBEREICH Hinweise zur Verwendung

Das GpIIb/IIIa Antagonist Reagent von Hart Biologicals wird als Positivkontrolle bei Untersuchungen der Blutplättchenaggregation mit humanem plättchenreichem Plasma (PRP) oder Vollblutproben verwendet.

### ZUSAMMENFASSUNG

Das GpIIb/IIIa Antagonist Reagent enthält einen synthetischen Inhibitor des Plättchen-Glycoprotein IIb/IIIa-Rezeptors auf humanen Blutplättchen.<sup>1,2</sup> Dieser Rezeptor ist für die Fibrinogen-Bindung an Blutplättchen verantwortlich. Er lässt ein Crosslinking zwischen den Blutplättchen während der Plättchenaggregation zu. Das Hart Biologicals GpIIb/IIIa Antagonist Reagent kann einem Plättchenaggregationstest hinzugefügt werden, um zu bestätigen, dass die Plättchenfunktion gehemmt werden kann, wenn die Tasteneergebnisse nicht wie erwartet sind.

### TESTPRINZIP

Der Plättchenaggregationstest misst die Schnelligkeit und das Ausmaß, in dem verteilte Blutplättchen in einer Probe mit plättchenreichem Plasma (PRP) oder antikoaguliertem Vollblut nach Zugabe einer Substanz, die gewöhnlich die Plättchenaggregation anregt (Agonist), Klumpen (Aggregate) bilden. Bei der optischen Aggregometrie bewirkt die Zusammenballung von Blutplättchen, dass die Trübung des plättchenreichen Plasmas abnimmt. Dies wird mittels Plättchen-Aggregometrie gemessen, die die Schnelligkeit und das maximale Ausmaß der Aggregation misst. Bei der Vollblut-Aggregometrie haften Blutplättchen an kleinen Drähten, die in die Blutprobe abgehängt werden, und es wird die Impedanz zwischen den Drähten gemessen, wenn die Blutplättchen anhaften. Der Klammer wird gemessen und aufgezeichnet. Die Zugabe von Hart Biologicals GpIIb/IIIa Antagonist Reagent zu den Test-Blutplättchen vor der Aktivierung mit Reagenzien wie ADP, Collagen, TRAP-6 oder Arachidonsäure führt zu einer erheblich gehemmten Plättchenaggregation oder gar keiner Aggregation. Wenn ein normales Ausmaß an Aggregation in Gegenwart von GpIIb/IIIa Antagonist Reagent aufgezeichnet wird, sind andere, nicht spezifische Gründe für die Plättchenaggregation in Betracht zu ziehen.

### WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Nur für *in vitro* Diagnostik.  
Nicht mit dem Mund pipettieren. Das Rauchen, Essen und Trinken ist in Bereichen, in denen Proben oder Kit-Reagenzien gehandhabt werden, untersagt.  
Beim Handling von Proben und Kit-Reagenzien Einweghandschuhe tragen. Anschließend Hände gründlich waschen.

### INHALT

#### GpIIb/IIIa Antagonist Reagent

Inhaltsstoffe: Das Reagenz ist ein Flüssigreagenz und enthält 50 µg/ml (101 µM) GpIIb/IIIa Antagonist mit zugegebenem Puffer und Stabilisatoren.

Vorbereitung für den Gebrauch: Das GpIIb/IIIa Antagonist Reagent ist gebrauchsfertig.  
Lagerung und Stabilität: Ungeöffnete Fläschchen mit GpIIb/IIIa Antagonist Reagent sind bei 2-8°C aufzubewahren. Das Reagenz ist bis zu dem auf dem Flaschenetikett angegebenen Verfallsdatum stabil. Geöffnete Fläschchen mit dem Reagenz sind 30 Tage stabil, wenn sie bei 2-8°C gelagert werden.

### NICHT ENTHALTENE, ABER NOTWENDIGE MATERIALIEN

Plättchenaggregometer – Hart Biologicals GpIIb/IIIa Antagonist Reagent lässt sich auf jedem Aggregometer gut einsetzen. Gebrauchsweisung des entsprechenden Herstellers beachten.

### PROBENTNAHME UND VORBEREITUNG<sup>3</sup>

Aufbereitung von plättchenreichem und plättchenarmem Plasma für den optischen Aggregationstest

Das für den Plättchenaggregationstest benötigte Blut in Kunststoffspritzen oder in Blutentnahmehörnchen aus silikonisiertem Glas entnehmen und in Kunststoffröhrchen übertragen.

Das Blut (9 Anteile) mit 0,11 M oder 0,13 M Natriumcitratantikoagulans (1 Anteil) mischen. Behutsam drehen, um zu mischen.

- Das plättchenreiche Plasma bei Raumtemperatur durch 10-15 minütiges Zentrifugieren des antikoagulierten Blutes bei 150-200 x g präparieren.
- Das plättchenreiche Plasma mit einer Kunststoffpipette entnehmen und in einen Kunststoffbehälter (mit Stopfen) geben, der das Label „PRP“ trägt. Stopfen aufsetzen und Behälter auf Raumtemperatur halten.
- Das plättchenarme Plasma mit einer Kunststoffpipette entnehmen und in einen Kunststoffbehälter (mit Stopfen) geben, der das Label „PPP“ trägt. Stopfen aufsetzen und Behälter auf Raumtemperatur halten.
- Die Plättchenkonzentration im PRP-Behälter mit Hilfe des PPP auf 200-300x10<sup>9</sup>/L einstellen, Stopfen aufsetzen und vor dem Test 30 Minuten bei Raumtemperatur stehen lassen.
- Der Test sollte innerhalb von 3 Stunden nach der Blutentnahme abgeschlossen sein.

### Proben für die Vollblut-Aggregation

Empfehlungen des Herstellers des Aggregometers für die Präparation von Proben für die Vollblut-Aggregometrie beachten.

### TESTVERFAHREN

#### A) Optische Aggregometrie

1. 0 % und 100 % Plättchen-Spiegel auf dem Aggregometer einstellen. Dazu plättchenarmes und plättchenreiches Plasma verwenden. Anweisungen des Gerätsherstellers befolgen.
2. Das benötigte Volumen an plättchenreichem Plasma in eine Aggregationsküvette pipettieren und Rührstäbchen hinzufügen.
3. GpIIb/IIIa Antagonist Reagent in dem benötigten Volumen bzw. der benötigten Konzentration in die Kuvette geben. Dies werden in Regel 10 % des Test-Endvolumens sein.
4. Plasma 120 Sekunden auf 37 °C vorwärmen.
5. Das benötigte Volumen des Plättchenaggregationsreagens (z. B. ADP, Collagen, Arachidonsäure oder TRAP-6) direkt in die Kuvette geben. Vermeiden, dass das Reagenz seitlich an der Kuvette herunterläuft.
6. Mindestens 5 Minuten warten, bis sich ein Aggregationsmuster gebildet hat.

#### B) Vollblut-Aggregometrie

Siehe Empfehlungen des Herstellers zur Ausführung des Tests.

### QUALITÄTSKONTROLLE

Die Ergebnisse der Plättchenaggregationsuntersuchungen sind mit den Ergebnissen von Aggregationsprofilen einer zur gleichen Zeit geprüften normalen Probe zu vergleichen. Der normale Spender sollte in den vorausgegangenen 10 Tagen kein Aspirin bzw. keine aspirinhaltigen Substanzen eingenommen haben und keine anderen Plättchenaggregationshemmer einnehmen.

### ERWARTETE WERTE

Die Verwendung von GpIIb/IIIa Antagonist Reagent sollte zu einer erheblich reduzierten Aggregation oder gar keinen Aggregation stimulierter Blutplättchen führen.

### WEITERE TESTS

Bei abnormalen Testergebnissen sollte der Test separat wiederholt werden. Wenn die Ergebnisse durchgängig abnormal sind und der Patient keine Medikamente einnimmt, die unseren Kenntnissen zufolge die Plättchenfunktion beeinträchtigen, ist die Ausführung zusätzlicher Tests zu erwägen.

### EINSCHRÄNKUNGEN

Bei der optischen Aggregometrie bewirkt das Vorliegen von roten Blutzellen im PRP eine Minderung der insgesamt beobachteten Aggregation. Das Vorliegen von Blutplättchen im PPP bewirkt eine Erhöhung der insgesamt beobachteten Aggregation. Falsche Ergebnisse sind festzustellen, wenn die Gesamtzahl der Plättchen im PRP unter 75 x 10<sup>9</sup>/L liegt.

1. Peerlinck, De Lepeleire, I., Goldberg, M et al. 'A Selective Nonpeptide Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Antagonist, Is Active In Man', Circulation, 1993; 88: 1512-1517
2. Kumar, A. and Hermann, H.C. 'Tirofiban: An Investigational Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Receptor Antagonist'. Exp. Opin. Invest. Drugs. 1997; 6: 1257-1267
3. Dacie & Lewis, 'Practical Haematology', Lewis, S.M., Bain, B

# GPIIb/IIIa Antagonist Reagent

## UTILISATION

F Instructions d'utilisation

Le réactif antagoniste de la GPIIb/IIIa Hart Biologicals sert de témoin positif dans les études d'agrégation plaquettaire utilisant du plasma humain riche en plaquettes ou du sang total.

### RÉSUMÉ

Le réactif antagoniste de la GPIIb/IIIa contient un inhibiteur synthétique du récepteur plaquettaire de la glycoprotéine IIb-IIIa des plaquettes humaines<sup>1,2</sup>. Ce récepteur est responsable de la liaison du fibrinogène aux plaquettes, ce qui permet la rétention des plaquettes au cours de l'agrégation plaquettaire. Le réactif antagoniste de la GPIIb/IIIa Hart Biologicals peut être ajouté au test d'agrégation plaquettaire pour confirmer que la fonction plaquettaire peut être inhibée dans des situations où les patients n'obtiennent pas les résultats attendus.

### PRINCIPE DU TEST

Le test d'agrégation plaquettaire mesure la vitesse et le degré de formation d'amass (agrégation) de plaquettes libres contenues dans un échantillon de plasma riche en plaquettes (PRP) ou de sang total anticoagulé après ajout d'une substance qui stimule normalement l'agrégation plaquettaire (agoniste). Lors d'une agrégométrie optique, le plasma riche en plaquettes devient plus limpide lors de la formation de ces amas de plaquettes. On mesure cela sur un agrégomètre de plaquettes, qui fournit une représentation graphique du taux et de l'étendue maximum de la réaction d'agrégation. Lors d'une agrégométrie de sang total, les plaquettes adhèrent à de petits fils en suspension. Ces fils qui sont mesurés et représentés sous forme de graphique au fur et à mesure que les plaquettes s'y agglutinent. L'ajout du réactif antagoniste de la GPIIb/IIIa Hart Biologicals aux plaquettes de test avant leur activation par des réactifs tels que l'ADP, le collagène, le TRAP-6 ou l'acide arachidonique se traduira par une agrégation plaquettaire significativement inhibée, voire nulle. Lorsqu'un niveau normal d'agrégation est enregistré en présence du réactif antagoniste de la GPIIb/IIIa, d'autres raisons non spécifiques doivent être envisagées pour expliquer l'agrégation plaquettaire.

### AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Destiné uniquement à l'usage diagnostique *in vitro*.  
Ne pas pipeter avec la bouche. Ne pas fumer, manger ou boire dans les zones où sont manipulés les échantillons ou les réactifs du kit.  
Porter des gants jetables pour manipuler les échantillons et les réactifs du kit et se laver soigneusement les mains après.

### MATÉRIEL FOURNI

#### Réactif antagoniste de la GPIIb/IIIa

Ingrédients : Le réactif contient une préparation liquide de 50 µg/ml (101 µM) de réactif antagoniste de la GPIIb/IIIa avec un tampon et des stabilisants.

Préparation avant utilisation Le réactif antagoniste de la GPIIb/IIIa est prêt à l'emploi tel que conditionné.

Conservation et stabilité : Les flacons de réactif antagoniste de la GPIIb/IIIa non ouverts doivent être conservés à 2-8°C. Le réactif est stable jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette du flacon. Les flacons de réactif ouverts restent stables pendant 30 jours si conservés à 2-8°C.

### MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Système d'agrégométrie plaquettaire - le réactif antagoniste de la GPIIb/IIIa Hart Biologicals donnera des résultats satisfaisants avec n'importe quel système d'agrégométrie. Veuillez suivre les consignes du fabricant concernant le fonctionnement de l'agrégomètre utilisé.

### PRÉLEVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS<sup>3</sup>

#### Préparation de plasma riche et pauvre en plaquettes pour l'agrégation optique

Le sang destiné aux tests d'agrégation plaquettaire doit être recueilli dans des seringues en plastique et transféré dans des tubes en plastique ou en verre ou bien recueilli dans des tubes à prélevement de sang sous vide en verre siliconé.

Le sang (9 parties) doit être mélangé avec 0,11 M ou 0,13 M de citrate de sodium utilisé comme anticoagulant (1 partie). Renversez doucement le tube pour mélanger. Ne l'agitez pas.

- Le plasma riche en plaquettes doit être préparé par centrifugation du sang anticoagulé à 150-200 x g pendant 10 à 15 minutes, à température ambiante.
- Retirez le plasma riche en plaquettes avec une pipette de transfert en plastique et placez-le dans un récipient en plastique (avec bouchon) portant la mention « PRP ». Bouchez le récipient et conservez-le à température ambiante.
- Préparez le plasma pauvre en plaquettes par centrifugation de l'échantillon de sang restant à 2000 x g pendant 20 minutes.
- Retirez le plasma pauvre en plaquettes avec une pipette de transfert en plastique et placez-le dans un récipient en plastique (avec bouchon) portant la mention « PPP ». Bouchez le récipient et conservez-le à température ambiante.
- Ajustez la concentration plaquettaire du PRP à 200-300x10<sup>9</sup>/L en utilisant le PPP, bouchez et laissez reposer à température ambiante pendant 30 minutes avant d'effectuer le test.
- Le test doit être effectué dans les 3 heures suivant le prélevement de sang.

#### Échantillons d'agrégation de sang total

Reportez-vous aux conseils du fabricant de l'agglutinomètre pour la préparation des échantillons destinés à l'agrégométrie de sang total.

### PROCÉDURE

#### A) Agrégométrie optique

1. Définissez les niveaux d'agrégation à 0 % et à 100 % sur l'agrégomètre en utilisant le plasma pauvre en plaquettes et le plasma riche en plaquettes selon les consignes du fabricant.
2. Prélevez le volume requis de plasma riche en plaquettes avec la pipette, transférez-le dans une cuvette d'agrégation, puis ajoutez une barre d'agitation.
3. Ajoutez le volume ou la concentration requis(e) de réactif antagoniste de la GPIIb/IIIa dans la cuvette. Il s'agira généralement de 10 % du volume de test final.
4. Préchauffez à 37°C pendant 120 secondes.
5. Ajoutez le volume nécessaire de réactif d'agrégation plaquettaire (par exemple ADP, collagène, acide arachidonique ou TRAP-6) directement dans la cuvette. Ne laissez pas le réactif couler le long de la paroi de la cuvette.
6. Laissez l'agrégation se former pendant au moins 5 minutes.

#### B) Agrégométrie de sang total

Reportez-vous aux consignes du fabricant concernant la bonne exécution du test.

### CONTRÔLE QUALITÉ

Les résultats des études d'agrégation plaquettaire doivent être interprétés par rapport aux résultats de profils de concentration d'un échantillon normal testé en même temps. Le donneur normal ne doit pas avoir ingéré d'aspirine ni de composés contenant de l'aspirine dans les 10 jours précédant le test et ne doit être traité par aucune autre forme de médicament anti-plaquettaire.

**VALEURS ATTENDUES**  
L'inclusion du réactif antagoniste de la GPIIb/IIIa devrait entraîner une réponse d'agrégation considérablement réduite voire inexiste en ce qui concerne les plaquettes stimulées.

### TEST SUPPLÉMENTAIRE

Si les résultats des tests sont anormaux, le test doit être répété à une autre occasion. Si les résultats sont toujours anormaux, et que le patient ne prend pas de médicaments connus pour interférer avec la fonction plaquettaire, des tests supplémentaires doivent être envisagés.

**LIMITES**  
Lors d'une agrégométrie optique, la présence de globules rouges dans le PRP entraînera une réduction de l'agrégation totale observée. La présence de plaquettes dans le PPP entraînera une augmentation de l'agrégation totale observée.

Des résultats erronés sont possibles lorsque le nombre total de plaquettes du PRP est inférieur à 75 x 10<sup>9</sup>/L.  
Le PRP testé moins de 30 minutes après sa préparation peut présenter des profils d'agrégation anormales.

### Bibliographie

1. Peerlinck, De Lepeleire, I., Goldberg, M et al. 'A Selective Nonpeptide Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Antagonist, Is Active In Man', Circulation, 1993; 88: 1512-1517.
2. Kumar, A. and Herrmann, H.C. 'Tirofiban: An Investigational Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Receptor Antagonist'. Exp. Opin. Invest. Drugs. 1997; 6: 1257-1267.
3. Dacie & Lewis, 'Practical Haematology', Lewis, S.M., Bain, B.J. and Bates, I. (Editors), 9<sup>th</sup> Edition, Elsevier Science Ltd., 2002, pages 383-385

# GPIIb/IIIa Antagonist Reagent

## PRINCIPIO

### I Instrucciones per l'uso

GPIIb/IIIa Antagonist Reagent de Hart Biologicals viene utilizado como control positivo en estudios de agrégación piastrina con plasma rico de piastrina o sangre intero humano.

### SUMMARIO

GPIIb/IIIa Antagonist Reagent es constituido por un inhibidor sintético del receptor piastrino glicoproteínico IIb/IIIa<sup>1,2</sup>. Este receptor es responsable por el ligamiento del fibrinógeno a las piastrinas, permitiendo el cross linking entre las piastrinas durante la agrégación piastrina. GPIIb/IIIa Antagonist Reagent de Hart Biologicals puede ser usado en los estudios de agrégación piastrina para confirmar que la función piastrina sea inhibida en situaciones en las cuales los resultados del paciente no son los previstos.

### PRINCIPIO DEL TEST

El test de agrégación piastrina mide la velocidad y la densidad con la que las piastrinas dispersas en un campion de plasma rico de piastrina (PRP) o sangre intero anticoagulado forman amas (agregados) en seguida de la adición de una sustancia que normalmente estimula la agrégación piastrina (agonista). En la agrégometría óptica, la acumulación de las piastrinas causa una reducción de la turbidez en el plasma rico de piastrina. Este fenómeno es medido sobre un agrégometro piastrino que traza un gráfico de la velocidad y la densidad máxima de la reacción de la agrégación. En la agrégometría de sangre intero, las piastrinas adheren a electrodos suspendidos en la muestra sanguínea y la impedimenta entre los electrodos y el vaso sanguíneo. La adición de GPIIb/IIIa Antagonist Reagent de Hart Biologicals a las piastrinas prima de la activación con reactivos tales como ADP, colágeno, TRAP-6 o ácido araquidónico, causa una agrégación significativamente inhibida oaddirittura para a zero. Se un nivel normal de agrégación piastrina se registra en presencia de GPIIb/IIIa Antagonist Reagent, otras causas no específicas para la agrégación piastrina deben ser consideradas.

### AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*.

Non pipettare i materiali con la bocca. Non fumare, mangiare o bere nelle aree designate per l'uso dei campioni e dei reagenti del kit.

Durante la manipolazione dei campioni clinici e dei reagenti del kit si raccomanda l'utilizzo di guanti monouso. Lavarsi bene le mani al termine dell'operazione.

### MATERIALI FORNITI

#### GPIIb/IIIa Antagonist Reagent

Ingredienti: El reagente contiene una preparación líquida de 50 µg/ml (101 µM) de GPIIb/IIIa Antagonist Reagent con la aggiunta de tampon e stabilizzanti.

Preparación para l'uso: GPIIb/IIIa Antagonist Reagent es pronto per l'uso.

Conservazione e stabilità: Los frascos no abiertos de GPIIb/IIIa Antagonist Reagent deben ser conservados a 2-8°C. El reagente es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del frasco. Los frascos abiertos de reagente son estables por 30 días si se conservan a 2-8°C.

### MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Sistema de agrégometria piastrina. GPIIb/IIIa Antagonist Reagent de Hart Biologicals ofrecerá prestaciones soddisfacenti su qualsiasi aggregometro. Seguire le istruzioni del fabbricante per il funzionamento dell'aggregometro utilizzato.

### PRELIEVO E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE<sup>3</sup>

#### Preparazione del plasma ricco di piastrine e povero di piastrine per aggregazione ottica

Prelevare el campione de sangue per el test de agrégation con siringa de plastica e trasferirlo in provette de plastica, oppure usando provette idonee in vitro siliconico sotto vuoto.

Miscelare 9 partes de sangue con 1 parte de sodio citrato (anticoagulante) 0,11 M o 0,13 M. Mescolare capovolgendo delicatamente. Non agitare.

- Preparare el plasma rico de piastrina centrifugando el sangre anticoagulado a 150-200 x g por 10-15 minutos a temperatura ambiente.
- Rimuovere el plasma rico de piastrina con una pipeta da preleva in plastica e trasferirlo in un contenitore de plastica (con coperchio) contrassegnato con "PRP". Chiudere el contenitore e mantenere a temperatura ambiente.
- Preparare el plasma pobre de piastrine centrifugando el campione de sangue rimanente a 2000 x g per 20 minutos.
- Rimuovere el plasma pobre de piastrine con una pipeta da preleva in plastica e trasferirlo in un contenitore de plastica (con coperchio) contrassegnato con "PPP". Chiudere el contenitore e mantenere a temperatura ambiente.
- Regolare la concentración piastrina nel PRP su 200-300x10<sup>9</sup>/L utilizando PPP, chiudere con el coperchio e lasciare riposo a temperatura ambiente per 30 minutos prima dell'analisi.
- Completare l'analisi entro 3 ore dal prelievo de sangue.

#### Campioni per aggregazione su sangue intero

Fare riferimento alle raccomandazioni del fabbricante dell'aggregometro per la preparazione dei campioni per aggregometria su sangue intero.

### PROCEDURA DEL TEST

#### A) Aggregometria ottica

1. Impostare i livelli di aggregazione 0 % e 100 % sull'aggregometro utilizzando plasma pobre di piastrine e plasma ricco di piastrine secondo le istruzioni del fabbricante.
2. Pipettare il volume richiesto di plasma ricco di piastrine nella cuvetta per aggregazione e aggiungere un ancoretta.
3. Aggiungere il volume o concentrazione di GPIIb/IIIa Antagonist Reagent richiesti nella cuvetta. Tipicamente, questo sarà il 10 % del volume finale del test.
4. Preiscaldare a 37°C per 120 secondi.
5. Aggiungere il volume richiesto di reagente per aggregazione piastrina (per es. ADP, collagene, acido arachidonico o TRAP-6) direttamente nella cuvetta. Evitare che il reagente scivoli lungo le pareti della cuvetta.
6. Attendere la formazione di un pattern di aggregazione per un minimo di 5 minuti.

#### B) Aggregometria su sangue intero

Fare riferimento alle istruzioni del fabbricante per la corretta esecuzione del test.

### CONTROLLO DI QUALITÀ

I resultados degli studi di aggregazione piastrina devono essere interpretati confrontandoli con i risultati dei profili di aggregazione di un campione normale analizzato contemporaneamente. El donante normal no deve avere ingerido aspirina o composti contenenti aspirina nei 10 giorni precedenti y no debe assumere aucun fármaco antiplaстрina.

### VALORI ATTESI

L'inclusione del GPIIb/IIIa Antagonist Reagent deve comportare una risposta di aggregazione significativamente ridotta o inibita per le piastrine stimolate.

### ULTERIORI ANALISI

In caso di risultati anomali, ripetere el test in un altro momento. Se i risultati continuano a essere anomali, el paciente non assume aucun fármaco noto per l'interferenza con la funzione piastrina, è opportuno prendere in considerazione test aggiuntivi.

### LIMITAZIONI

In la agrégometria óptica, la presencia de globulos rojos en el PRP causa una reducción de la agregación total observada. La presencia de piastrinas en el PPP causa un aumento de la agregación total observada.

Si pueden observar resultados falsos cuando el conteo plaquetario total del PRP es inferior a 75 x 10<sup>9</sup>/L.

PRP analizado meno de 30 minutos dopo la preparazione può evidenziare profili di aggregazione anomali.

### Riferimenti bibliografici

1. Peerlinck, De Lepeleire, I., Goldberg, M et al. 'A Selective Nonpeptide Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Antagonist, Is Active In Man', Circulation, 1993; 88: 1512-1517.
2. Kumar, A. and Herrmann, H.C. 'Tirofiban: An Investigational Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Receptor Antagonist'. Exp. Opin. Invest. Drugs. 1997; 6: 1257-1267.
3. Dacie & Lewis, 'Practical Haematology', Lewis, S.M., Bain, B.J. and Bates, I. (Editors), 9<sup>th</sup> Edition, Elsevier Science Ltd., 2002, pagine 383-385

# GPIIb/IIIa Antagonist Reagent

## USO PREVISTO

### ES Instrucciones de uso

El reactivo antagonista GPIIb/IIIa de Hart Biologicals se emplea como control posit