

Ristocetin Cofactor Kit

REF 5370



Helena Biosciences Europe, Queensway South, Team Valley Trading Estate, Gateshead, Tyne and Wear, NE11 OSD, United Kingdom

Tel: +44 (0)191 482 8440

Fax: +44 (0)191 482 8442

Email: info@helena-biosciences.com

Web: www.helena-biosciences.com

HL-2-0593P 2015/10 (11)

Instructions for use

INTENDED PURPOSE

The Ristocetin Cofactor Kit is intended for the determination of the % activity of von Willebrand Factor.

It is used to measure the ability of a patient's plasma to agglutinate formalin-fixed platelets in the presence of Ristocetin. The rate of ristocetin-induced platelet agglutination is related to the concentration of von Willebrand Factor. Helena Biosciences Europe's Ristocetin Cofactor Kit is intended for use in the quantitative determination of von Willebrand Factor activity in plasma .

WARNINGS AND PRECAUTIONS

The reagents contained in this kit are for *in vitro* diagnostic use only – DO NOT INGEST. Wear appropriate personal protective equipment when handling all kit components. Refer to the product safety declaration for the link to appropriate hazard and precautionary statements where applicable. Dispose of components in accordance with local regulations.

Blood products have been screened and found negative (unless otherwise stated on the kit box or vial) for the presence of: Hepatitis B Antigen (HbsAg) HIV 1 antibody HIV 2 antibody HCV antibody However they should be handled with the same precautions as a human patient sample.

COMPOSITION

Allow all vials to warm to room temperature before reconstitution.

Component	Content	Description	Preparation
Lyophilised Platelets	4 x 5 mL	Each vial contains lyophilised formalin fixed platelets and stabilisers.	Reconstitue each vial with 5 mL of Tris-Buffered Saline. Swirl gently and allow to mix for 20 minutes on a roller mixer. Mix well before each use. Do not shake.
Ristocetin: 10 mg/mL	2 x 1,5 mL	Contains 10 mg/mL Ristocetin lyophilised with stabilisers.	Reconstitute each vial with 1.5 mL of purified water. Swirl gently and allow to stand for 10 minutes. Mix gently before use. Do not shake.
Calibration Plasma	2 x 1 mL	Contains 1 mL of lyophilised normal human plasma assayed for Ristocetin Cofactor activity.	Reconstitute each vial with exactly 1 mL of purified water. Swirl gently and allow to stand for 10 minutes. Mix gently before use. Do not shake.
Ristocetin Cofactor Abnormal Control	2 x 0,5 mL	Contains 0,5 mL of lyophilised plasma from an individual with von Willebrand disease. The activity is printed on an insert sheet provided in the kit.	Reconstitute each vial with 0,5 mL of purified water. Swirl gently and allow to stand for 10 minutes. Mix gently before use. Do not shake.
Tris-Buffered Saline	1 x 35 mL	Contains 35 mL of buffer containing 0,05 M Tris and 0,15 M sodium chloride with sodium azide as preservative.	The buffer is ready for use as packaged.

Each kit contains instructions for use.

Each kit contains lot specific reference values insert, and a report form.

ITEMS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Platelet Aggregometer.

STORAGE, SHELF-LIFE AND STABILITY

Unopened vials are stable until the given expiry date when stored under conditions indicated on the vial or kit label.

Lyophilised Platelets	Once reconstituted, the reagent is stable for 1 day (24 hours) at *2 –*8°C.
Ristocetin: 10 mg/mL	Once reconstituted, the reagent is stable for 8 hours at *2 –*8°C or 30 days at -20°C.
Calibration Plasma	Once reconstituted, the reagent is stable for 2 hours at *2 –*8°C or 30 days at -20°C.
Ristocetin Cofactor Abnormal Control	Once reconstituted, the reagent is stable for 8 hours at *2 –*8°C or 30 days at -20°C.
Tris-Buffered Saline	Opened bottle must be stored at *2 –*8°C.

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

Plastic or siliconised glass should be used throughout. Blood (9 parts) should be collected into 3.2% or 3.8% sodium citrate anticoagulant (1 part). Separate plasma after centrifugation at 1500 x g for 15 minutes. Plasma should be kept at *18 –*24°C. Testing should be completed within 4 hours of sample collection, or plasma can be stored frozen at -20°C for 2 weeks or -70°C for 6 months. Thaw quickly at *37°C prior to testing. Do not keep at 37°C for more than 5 minutes⁵.

PROCEDURE

Prepare all reagents as instructed with each kit. Set up platelet aggregometer as indicated in the appropriate instruction manual. For Helena AggRAM please refer to the AggRAM step by step guide HL-2-1785P 2008-01(1). **A basic aggregometer protocol is outlined below:**

- Standard Curve Preparation:
 - Prepare the following dilutions in Tris-buffered saline:

Tube	Calibration Plasma (μL)	Tris-Buffered Saline (μL)	Activity (%)
1	100	100	100
2	100	300	50
3	100	700	25
4	100	1500	12,5
 - Mix dilutions thoroughly.
- Patient Sample Preparation:
 - Prepare 1+1 and 1+3 dilutions of the patient plasma or control plasma in Tris-buffered saline. Mix without shaking.
- Aggregation Blank Preparation:
 - Pipette 250 μL of platelet suspension and 250 μL of Tris-buffered saline into an aggregometer cuvette with a stir-bar. This is used to set the 100% activity level.
- Testing:
 - Set the 100% activity in each channel using the Aggregation Blank sample.
 - Pipette 400 μL of platelet suspension into an aggregometer cuvette for each sample to be tested. Add a stir-bar to each cuvette.
 - Place the cuvette into the aggregometer and add 50 μL of Ristocetin to the cuvette. Incubate at 37°C for exactly 3 minutes.
 - Add 50 μL of standard, patient or control plasma dilution.
 - Monitor platelet aggregation for 5 minutes.

INTERPRETATION OF RESULTS

Manual method

Plot Calibration Plasma dilution activity (X-axis) versus Aggregation Slope (Y-axis) on log-log graph paper. Draw a straight line of best fit. Interpolate patient slope values from the graph to give % activity. Correct these results for dilution and assayed activity of the Calibration Plasma.

Automated method

Appropriate aggregometer software should automatically plot standard curve and report results as final activity %.

LIMITATIONS

Avoid icteric, lipaemic, and haemolysed samples. The Ristocetin Cofactor Kit fails to reflect accurately von Willebrands' disease in several situations such as pregnancy⁶, infusion of commercial factor VIII concentrates^{7,8} or administration of DDaVP⁹. In such instances, vWF R:Co may be corrected, yet the bleeding time remains prolonged. In addition, vWF R:Co levels may be normal in Type II B von Willebrands' disease even though the bleeding time is prolonged⁷.

QUALITY CONTROL

Each laboratory should establish a quality control program. Normal and abnormal control plasmas should be tested prior to each batch of patient samples, to ensure satisfactory instrument and operator performance. If controls do not perform as expected, patient results should be considered invalid. Helena Biosciences Europe supplies the following controls available for use with this product:

REF 5301	Speciality Assayed Control N
REF 5302	Speciality Assayed Control A
REF 5373	Ristocetin Cofactor Abnormal Control

REFERENCE VALUES

Reference values can vary between laboratories depending on the techniques and systems in use. For this reason each laboratory should establish its own reference ranges. Example values for Ristocetin Cofactor Activity in adults using the Helena AggRAM are 69–116% (0.69–1.16 units/mL).

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance conforms to CLSI H51-A, Assays of von Willebrand Factor Antigen and Ristocetin Cofactor; Approved Guideline, with Coefficients of Variation (CV) of 15% or less⁵.

BIBLIOGRAPHY

- Zimmerman TS, Ruggeri ZM, 'von Willebrands' Disease', Progress in Thrombosis and Haemostasis, Spaett (Ed), 1982, 6: 203-236.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI: H21-A5.
- Ratnoff OD, Bennett B (1973) Clues to Pathogenesis of Bleeding in von Willebrands' Disease, *N. Eng. J. Med.* **289**:1182-1183.
- Blatt PM *et al.* (1976) Antithemophilic factor Concentrate Therapy in von Willebrands' Disease, *J. Am. Med. Assn.* **236**:2770-2772.
- Green D., Potter EV (1976) Failure of AHF Concentrate to Control Bleeding in von Willebrands' Disease, *Am. J. Med.* **60**:357-360.
- Mannucci PM *et al.* (1976) Studies on the Prolonged Bleeding Time in von Willebrands' Disease, *J. Lab. Clin. Med.* **88**:662-671.
- Ruggeri ZM *et al.* (1980) Heightened Interaction Between Platelets and Factor VIII/von Willebrand Factor in a New Subtype of von Willebrands' Disease, *N. Eng. J. Med.* **302**:1047-1051
- Assays of von Willebrand Factor Antigen and Ristocetin Cofactor Activity; Approved Guideline, H51-A; Vol. 22, No. 20.

Ristocetin Cofactor Kit

Fiche technique

UTILISATION

Le Ristocetin Cofactor Kit est destiné à la détermination de l'activité en % du facteur von Willebrand.

Il sert à mesurer la capacité d'un plasma patient à agglutiner des plaquettes fixées au formol en présence de ristocétine. Le taux d'agglutination plaquettaire induit par la ristocétine est proportionnel à la concentration du facteur von Willebrand. Le Ristocetin Cofactor Kit est utilisé pour réaliser une détermination quantitative d'une activité qui reflète l'activité du facteur von Willebrand dans le plasma .

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Les réactifs du kit sont à usage diagnostique *in vitro* uniquement – NE PAS INGÉRER. Porter un équipement de protection individuelle approprié lors de la manipulation de tous les composants du kit. Consulter la fiche de données de sécurité du produit pour obtenir le lien vers les phrases de risque et les conseils de prudence le cas échéant. Éliminer les composants conformément aux églementsations locales.

Un dépistage des produits sanguins a été réalisé et a donné un résultat négatif (sauf indication contraire sur la boîte du kit ou sur le flacon) quant à la présence de : Antigène de l'hépatite B (AgHbS)

Anticorps anti-VIIH 1
Anticorps anti-VIIH 2
Anticorps anti-VHC
Cependant, ils doivent être manipulés avec les mêmes précautions que celles prises pour les échantillons patients humains.

COMPOSITION

Amener tous les flacons à la température ambiante avant la reconstitution.

Composant	Cient	Description	Préparation
Lyophilised Platelets	4 x 5 mL	Contient des plaquettes lyophilisées fixées au formol dans additionnée de stabilisants.	Reconstituer chaque flacon avec 5,0 mL de solution Tris-Buffered Saline. Remuer doucement et laisser le mélange s'effectuer pendant 20 minutes dans un mélangeur à cylindres. Bien mélanger avant utilisation. Ne pas agiter.
Ristocetin: 10 mg/mL	2 x 1,5 mL	Contient 10 mg/mL de ristocétine lyophilisée additionnée de stabilisants.	Reconstituer chaque flacon avec 1,5 mL d'eau distillée. Remuer doucement et laisser reposer 10 minutes. Mélanger doucement avant utilisation. Ne pas agiter.
Calibration Plasma	2 x 1 mL	Contient 1,0 mL de plasma humain normal lyophilisé dont l'activité du cofacteur de la ristocétine a été déterminé.	Reconstituer chaque flacon avec exactement 1,0 mL d'eau distillée. Remuer doucement et laisser reposer 10 minutes. Mélanger doucement avant utilisation. Ne pas agiter.
Ristocetin Cofactor Abnormal Control	2 x 0,5 mL	Contient 0,5 mL de plasma lyophilisé provenant de donneurs atteints de la maladie de von Willebrand. L'activité est indiquée sur la notice fournie avec le lot.	Reconstituer chaque flacon avec 0,5 mL d'eau distillée. Remuer doucement et laisser reposer 10 minutes. Mélanger doucement avant utilisation. Ne pas agiter.
Tris-Buffered Saline	1 x 35 mL	Contient 35 mL de tampon contenant du Tris à 0,05 M et du chlorure de sodium à 0,15 M additionné d'azide de sodium comme conservateur.	Le tampon est prêt à l'emploi.

Chaque kit contient une fiche technique.

Chaque kit contient valeurs de référence spécifiques du lot, et une fiche d'analyse.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE NON FOURNI

Aggrégomètre plaquettaire.

CONSERVATION, DURÉE DE VIE UTILE ET STABILITÉ

Les flacons non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée s'ils sont conservés dans les conditions indiquées sur l'étiquette du kit ou du flacon.

Lyophilised Platelets	Une fois reconstitué, le réactif est stable 1 jour (24 heures) entre *2 –*8°C.
Ristocetin: 10 mg/mL	Une fois reconstitué, le réactif est stable 8 heures entre *2 –*8°C ou 30 jours à -20°C.
Calibration Plasma	Une fois reconstitué, le réactif est stable 2 heures entre *2 –*8°C ou 30 jours à -20°C.
Ristocetin Cofactor Abnormal Control	Une fois reconstitué, le réactif est stable 8 heures entre *2 –*8°C ou 30 jours à -20°C.
Tris-Buffered Saline	Une fois ouvert, le flacon doit être conservé entre *2 –*8°C.

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Utiliser tout au long du prélèvement du plastique ou du verre siliconé. Mélanger 9 volumes de sang et 1 volume de citrate de sodium à 3,2% ou 3,8%. Séparer le plasma après centrifugation à 1500 x g pendant 15 minutes. Conserver le plasma entre *18 –*24°C. L'analyse doit être terminée dans les 4 heures suivant le prélèvement de l'échantillon . sinon, il est possible de congeler le plasma 2 semaines à -20°C ou 6 mois à -70°C. Décongeler rapidement à *37°C avant de réaliser l'analyse. Ne pas laisser à *37°C plus de 5 minutes⁵.

PROCÉDURE

Préparer tous les réactifs suivant les instructions du kit. Régler l'agrégomètre plaquettaire conformément au manuel d'utilisation. Pour les paramètres de Helena AggRAM, consulter le guide étape par étape d'AggRAM, document HL-2-1785P 2008-01(1).

Un protocole d'agrégomètre de base est indiqué ci-dessous:

- Préparation de la courbe d'étalonnage:
 - Préparer les dilutions suivantes du Tris-Buffered Saline:

Tube	Calibration Plasma (μL)	Tris-Buffered Saline (μL)	Activité (%)
1	100	100	100
2	100	300	50
3	100	700	25
4	100	1500	12,5
 - Bien mélanger les dilutions.
- Préparation de l'échantillon patient:
 - Préparer des dilutions 1+1 et 1+3 du plasma patient ou du plasma de contrôle avec de la Tris-Buffered Saline. Mélanger sans agiter.
- Préparation du blanc d'agrégation:
 - Pipeter 250 μL de suspension de plaquette et 250 μL Tris-Buffered Saline dans la cuvette de l'agrégomètre avec une tige d'agitateur. Ceci sert à définir l'activité 100%.
- Analyse:
 - Définir l'activité 100% dans chaque canal en utilisant l'échantillon de blanc d'agrégation.
 - Pipeter 400 μL de suspension de plaquettes dans la cuvette de l'agrégomètre pour chaque échantillon à analyser. Ajouter une tige d'agitateur dans chaque cuvette.
 - Placer la cuvette dans l'agrégomètre et ajouter 50 μL de Ristocetin dans la cuvette. Incuber à 37°C pendant exactement 3 minutes.
 - Ajouter 50 μL de dilution de plasma témoin, patient ou contrôle.
 - Surveiller l'agrégation plaquettaire pendant 5 minutes.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Méthode Manuelle

Tracer, point par point, une courbe représentant l'activité de la dilution de Calibration Plasma (en abscisse) en fonction du taux d'agrégation (en ordonnée) sur du papier logarithmique; vous devez obtenir une ligne droite. Interpoler le taux du patient à partir du graphique pour obtenir le % activité. Corriger ces résultats suivant la dilution et l'activité dosée du Calibration Plasma.

Méthodes Automatisées

Le logiciel approprié de l'agrégomètre doit automatiquement tracer une courbe d'étalonnage et indiquer les résultats en tant que % de l'activité finale.

LIMITES

Éviter d'utiliser des échantillons icteriques, lipémiques ou hémolysés. L'activité du cofacteur de la ristocétine ne reflète pas avec exactitude l'existence de la maladie de von Willebrand en cas de grossesse⁶, d'injection de concentrats du facteur VII vendus dans le commerce^{6,5} ou d'administration de DDaVP⁹. Dans ces cas, vWF R:Co peut être corrigé, mais le temps de saignement reste allongé. En outre, l'activité vWF R:Co peut être normale dans le type II B de la maladie de von Willebrand même si le temps de saignement est allongé⁷.

CONTRÔLE QUALITÉ

Chaque laboratoire doit établir un programme de contrôle qualité. Les plasmas de contrôle, normaux et anormaux, doivent être testés avant chaque lot d'échantillons patients afin de s'assurer que l'instrument et l'opérateur offrent des performances satisfaisantes. Si les contrôles ne donnent pas les résultats prévus, les résultats du patient doivent être considérés comme non valables. Helena Biosciences Europe distribue les contrôles suivants à utiliser avec ce produit:

REF 5301	Speciality Assayed Control N
REF 5302	Speciality Assayed Control A
REF 5373	Ristocetin Cofactor Abnormal Control

VALEURS DE RÉFÉRENCE

Les valeurs de référence peuvent varier d'un laboratoire à l'autre suivant les techniques et les systèmes utilisés. C'est pour cette raison qu'il appartient à chaque laboratoire de déterminer ses propres plages de référence. Les valeurs exemple pour l'activité du cofacteur de la ristocétine suivantes en utilisant un instrument de Helena AggRAM sont de 69–116% chez un adulte (0,69–1,16 unité/mL).

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

Performance conforme à CLSI H51-A, Assays of von Willebrand Factor Antigen and Ristocetin Cofactor; Approved Guideline, avec des coefficients de variation (CV) de 15% ou moins⁵.

BIBLIOGRAPHIE

- Zimmerman TS, Ruggeri ZM, 'von Willebrands' Disease', Progress in Thrombosis and Haemostasis, Spaett (Ed), 1982, 6: 203-236.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI: H21-A5.
- Ratnoff OD, Bennett B (1973) Clues to Pathogenesis of Bleeding in von Willebrands' Disease, *N. Eng. J. Med.* **289**:1182-1183.
- Blatt PM *et al.* (1976) Antithemophilic factor Concentrate Therapy in von Willebrands' Disease, *J. Am. Med. Assn.* **236**:2770-2772.
- Green D., Potter EV (1976) Failure of AHF Concentrate to Control Bleeding in von Willebrands' Disease, *Am. J. Med.* **60**:357-360.
- Mannucci PM *et al.* (1976) Studies on the Prolonged Bleeding Time in von Willebrands' Disease, *J. Lab. Clin. Med.* **88**:662-671.
- Ruggeri ZM *et al.* (1980) Heightened Interaction Between Platelets and Factor VIII/von Willebrand Factor in a New Subtype of von Willebrands' Disease, *N. Eng. J. Med.* **302**:1047-1051.
- Assays of von Willebrand Factor Antigen and Ristocetin Cofactor Activity; Approved Guideline, H51-A; Vol. 22, No. 20.

Ristocetin Cofactor Kit

Anleitung

VERWENDUNGSZWECK

Das Ristocetin Cofactor-Kit ist für die Bestimmung des von-Willebrand-Faktors in %-Aktivität vorgesehen.

Das Ristocetin Cofactor Kit misst im Patientenplasma die Fähigkeit, Formalin fixierte Thrombozyten in Anwesenheit von Ristocetin zu agglutinieren. Der Anteil der Ristocetin induzierten Thrombozyten-Agglutination steht dabei im Bezug zur Konzentration des Willebrand-Faktors. Das Ristocetin Cofactor Kit dient der quantitativen Bestimmung einer Aktivität, die der Aktivität des von Willebrand Faktors im Plasma entspricht¹.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Die in diesem Kit enthaltenen Reagenzien sind ausschließlich für die Verwendung von *in-vitro*-Diagnosen vorgesehen. NICHT VERSCHLÜCKEN. Tragen Sie beim Umgang mit sämtlichen Komponenten des Kits geeignete Schutzausrüstung. Beachten Sie gegebenenfalls die Verweise auf entsprechende Gefahren- und Vorbeugeerklärungen in der Produktsicherheitsklärung. Entsorgen Sie die Komponenten gemäß den örtlichen Vorschriften.

Die Blutprodukte wurden untersucht und sind für folgende Gene ohne Befund (soweit nicht anderweitig auf der Verpackung oder den Ampullen angeben): Hepatitis-B-Antikörper (HbsAg) HIV-Antikörper 1 HIV-Antikörper 2 HCV-Antikörper Sie sind jedoch mit den gleichen Vorkehrungen zu behandeln wie Proben von menschlichen Patienten.

ZUSAMMENSETZUNG

Alle Fläschchen vor dem Rekonstituieren auf Raumtemperatur bringen.

Komponente	Inhalt	Beschreibung	Vorbereitung
Lyophilised Platelets	4 x 5 mL	Jedes Fläschchen enthält lyophilisierte, Formalin fixierte Thrombozyten mit Stabilisatoren.	Jedes Fläschchen mit 5,0 mL Tris-Buffered Saline rekonstituieren. Leicht schwenken und 20 Minuten auf einem Rollmischer mischen. Vor Gebrauch gut mischen. Nicht schütteln.
Ristocetin: 10 mg/mL	2 x 1,5 mL	Enthält 10 mg/mL mit Stabilisatoren lyophilisiertes Ristocetin.	Jedes Fläschchen mit 1,5 mL destilliertem Wasser rekonstituieren. Leicht schwenken und 10 Minuten stehen lassen. Vor Gebrauch leicht mischen. Nicht schütteln.
Calibration Plasma	2 x 1 mL	Enthält 1,0 mL lyophilisiertes, auf Ristocetin Ko-Faktor Aktivität getestetes, normales Humanplasma.	Jedes Fläschchen mit genau 1,0 mL destilliertem Wasser rekonstituieren. Leicht schwenken und 10 Minuten stehen lassen. Vor Gebrauch leicht mischen. Nicht schütteln.
Ristocetin Cofactor Abnormal Control	2 x 0,5 mL	Enthält 0,5 mL lyophilisiertes Plasma einer Person mit der von Willebrand Erkrankung. Die Aktivität ist auf dem mit dem Kit mitgelieferten Beipackzettel zu finden.	Jedes Fläschchen mit 0,5 mL destilliertem Wasser rekonstituieren. Leicht schwenken und 10 Minuten stehen lassen. Vor Gebrauch leicht mischen. Nicht schütteln.
Tris-Buffered Saline	1 x 35 mL	Enthält 35 mL Puffer aus 0,05 M Tris und 0,15 M Natriumchlorid mit Natriumazid als Konservierungsmittel.	Der Puffer ist gebrauchsfertig verpackt.

Jedes Kit enthält eine Gebrauchsanweisung.

Jedes Kit enthält chargenspezifischen Referenzwerten, und ein Befund-Formblatt.

ERFORDBERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE ARTIKEL

Thrombozytenaggregometer.

LAGERUNG, HALTBARKEIT UND STABILITÄT

Ungeöffnete Fläschchen sind unter den auf Verpackung oder Fläschchen angegebenen Lagerbedingungen bis zum aufgedruckten Verfallsdatum stabil.

Lyophilised Platelets	Rekonstituiert ist das Reagens bei einer Temperatur von *2 –*8°C 1 Tag (24 Stunden).
Ristocetin: 10 mg/mL	Rekonstituiert ist das Reagens bei einer Temperatur von *2 –*8°C 8 Stunden oder bei -20°C 30 Tage stabil.
Calibration Plasma	Rekonstituiert ist das Reagens bei einer Temperatur von *2 –*8°C 2 Stunden oder bei -20°C 30 Tage stabil.
Ristocetin Cofactor Abnormal Control	Rekonstituiert ist das Reagens bei einer Temperatur von *2 –*8°C 8 Stunden oder bei -20°C 30 Tage stabil.
Tris-Buffered Saline	Geöffnete Flaschen müssen bei *2 –*8°C gelagert werden.

PROBENTNAHME UND VORBEREITUNG

Nur Plastik oder Silikonglas verwenden. Blut (9 Teile) sollte in 3,2% oder 3,8% Natriumcitrat als Antikoagulanz (1 Teil) entnommen werden. 15 Minuten bei 1500 g zentrifugieren und Plasma abpipettieren. Plasma bei *18 –*24°C lagern. Plasma sollte innerhalb von 4 Stunden verarbeitet oder tief gefahren bei -20°C für 2 Wochen oder -70°C für 6 Monat gelagert werden. Vor dem Testen schnell bei *37°C auftauen. Nicht länger als 5 Minuten bei *37°C belassen⁵.

VORGEHENSWEISE

Alle Reagenzien gemäß der dem Pack beiliegenden Gebrauchsanweisung vorbereiten. Das Thrombozyten-Aggregometer wie in der Bedienungsanleitung beschrieben vorbereiten. Zum Einstellen für einen Helena AggRAM Ansatz siehe die Schritt-für-Schritt-Anleitung, Dokument HL-2-1785P 2008-01(1).

Ein einfaches Aggregometer-Protokoll wird im Folgenden kurz beschrieben:

- Erstellung der Standardkurve:
 - Folgende Verdünnungen mit Tris-Buffered Saline herstellen:

Röhrchen	Calibration Plasma (μL)	<
-----------------	--------------------------------	---

Ristocetin Cofactor Kit

Istruzioni per l'uso

SCOPO PREVISTO

Il Ristocetin Cofactor Kit è concepito per la determinazione dell'attività % del fattore di von Willebrand.

Il Ristocetin Cofactor Kit determina la capacità del plasma del paziente di agglutinare piastrine fissate con formalina in presenza di ristocetina. La percentuale d'agglutinazione delle piastrine indotta da ristocetina è correlata alla concentrazione del fattore von Willebrand. Il Ristocetin Cofactor Kit è concepito per l'utilizzo nella determinazione quantitativa di un'attività che rispecchia l'attività del fattore von Willebrand nel plasma¹.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

I reagenti contenuti in questo kit sono destinati esclusivamente alla diagnostica *in vitro* - NON INGERIRE. Indossare un'adeguata attrezzatura protettiva personale durante la manipolazione di tutti i componenti del kit. Per conoscere i relativi simboli precauzionali e di pericolo, laddove pertinente, fare riferimento alla dichiarazione di sicurezza del prodotto. Smaltire i componenti conformemente alle normative locali vigenti.

I prodotti ematici sono stati sottoposti a screening e trovati negativi (salvo diversa indicazione sulla confezione del kit o sulla fiala) per la presenza di: Antigene dell'epatite B (HbsAg) Anticorpo HIV 1 Anticorpo HIV 2 Anticorpo HCV
Questi prodotti devono tuttavia essere manipolati con le stesse misure precauzionali adottate per un campione paziente umano.

COMPOSIZIONE

Prima della ricostituzione lasciare riscaldare tutti i flaconi a temperatura ambiente.

Componente	Contiene	Descrizione	Preparazione
Lyophilised Platelets	4 x 5 mL	Ogni fiala contiene piastrine liofilizzate fissate con formalina con stabilizzatori.	Ricostituire ogni flacone con 5,0 mL di Tris-Buffered Saline. Agitare delicatamente e fare miscelare per 20 minuti in un mixer a vulli. Miscelare accuratamente prima dell'uso. Non scuotere.
Ristocetin: 10 mg/mL	2 x 1,5 mL	Ogni fiala contiene 10 mg/mL di ristocetina liofilizzata con stabilizzatori.	Ricostituire ogni fiala con 1,5 mL di acqua purificata. Agitare delicatamente e lasciare riposare per 10 minuti. Miscelare delicatamente prima dell'uso. Non scuotere.
Calibration Plasma	2 x 1 mL	Ogni fiala contiene 1,0 mL di plasma umano normale liofilizzato dosato per determinare l'attività del cofattore ristocetina.	Ricostituire ogni fiala utilizzando esattamente 1,0 mL di acqua purificata. Agitare delicatamente e lasciare riposare per 10 minuti. Miscelare delicatamente prima dell'uso. Non scuotere.
Ristocetin Cofactor Abnormal Control	2 x 0,5 mL	Ogni fiala contiene 0,5 mL di plasma liofilizzato ottenuto da un individuo affetto da malattia di von Willebrand. L'attività è stampata su un foglietto illustrativo fornito insieme al kit.	Ricostituire ogni fiala con 0,5 mL di acqua purificata. Agitare delicatamente e lasciare riposare per 10 minuti. Miscelare delicatamente prima dell'uso. Non scuotere.
Tris-Buffered Saline	1 x 35 mL	Ogni flacone contiene 35 mL di tampone contenente 0,05 M di Tris e 0,15 M di cloruro di sodio con sodio azide come conservante.	Il tampone è in una confezione pronta all'uso.
Ogni kit contiene un Istruzioni per l'uso.			
Ogni kit contiene un inserto recante i valori di riferimento specifici per il lotto, e un modulo di resoconto.			

MATERIALI NECESSARI, MA NON IN DOTAZIONE

Aggregometro per piastrine.

CONSERVAZIONE, VITA UTILE E STABILITÀ

I flaconi non aperti sono stabili fino alla data di scadenza indicata se conservati nelle condizioni riportate sul flacone o sull'etichetta del kit.

Lyophilised Platelets	Dopo la ricostituzione, il reagente è stabile per 1 giorno (24 ore) a *2 –*8°C.
Ristocetin: 10 mg/mL	Dopo la ricostituzione, il reagente è stabile per 8 ore a *2 –*8°C o per 30 giorni a -20°C.
Calibration Plasma	Dopo la ricostituzione, il reagente è stabile per 2 ore a *2 –*8°C o per 30 giorni a -20°C.
Ristocetin Cofactor Abnormal Control	Dopo la ricostituzione, il reagente è stabile per 8 ore a *2 –*8°C o per 30 giorni a -20°C.
Tris-Buffered Saline	I flaconi aperti devono essere immagazzinati a *2 –*8°C.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Nel corso dell'intera procedura è necessario utilizzare plastica o vetro silicizzato. Il sangue (9 parti) deve essere raccolto in sodio citrato al 3,2% o al 3,8% come anticoagulante (1 parte). Separare il plasma in seguito a centrifugazione a 1500 x g per 15 minuti. Il plasma deve essere conservato a *18 –*24°C. I test devono essere completati entro 4 ore dalla raccolta dei campioni; in alternativa, il plasma può essere conservato congelato a -20°C per 2 settimane o a -70°C per 6 mesi. Decongelare rapidamente a *37°C prima di eseguire i test. Non conservare a *37°C per oltre 5 minuti¹.

PROCEDURA

Preparare tutti i reagenti come da istruzioni per ogni singola confezione. Installare l'aggregometro per piastrine come indicato nel manuale d'istruzioni. Per le impostazioni relative Helena AggRAM la guida dettagliata, documento HL-2-1785P 2008-01(1).

Un protocollo di base dell'aggregometro è evidenziato di seguito:

- Preparazione della curva standard:
 - Preparare le seguenti diluizioni in Tris-Buffered Saline:

Provetta	Calibration Plasma (µL)	Tris-Buffered Saline (µL)	Attività (%)
1	100	100	100
2	100	300	50
3	100	700	25
4	100	1500	12,5

- Miscelare attentamente le diluizioni.
- Preparazione del campione del paziente:
 - Preparare diluizioni 1+1 e 1+3 del plasma del paziente o del plasma di controllo in Tris-Buffered Saline. Miscelare senza scuotere.
- Preparazione in bianco dell'aggregazione:
 - Pipettare 250 µL di sospensione piastrinica e 250 µL di Tris-Buffered Saline nella cuvetta di un aggregometro con una sbarretta d'agitazione. Ciò serve per impostare il livello d'attività al 100%.
- Esecuzione dei test:
 - Impostare il 100% di attività in ciascun canale utilizzando il campione in bianco dell'aggregazione.
 - Pipettare 400 µL di sospensione piastrinica in una cuvetta dell'aggregometro per ogni campione da testare. Aggiungere una sbarretta d'agitazione a ciascuna cuvetta.
 - Collocare la cuvetta nell'aggregometro ed aggiungere 50 µL di Ristocetin alla cuvetta. Incubare a 37°C per 3 minuti esatti.
 - Aggiungere 50 µL di diluizione standard di plasma del controllo o del paziente.
 - Monitorare l'aggregazione piastrinica per 5 minuti.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Metodo Manuale

Rappresentare l'attività di diluizione Calibration Plasma (asse X) rispetto alla discesa d'aggregazione (asse Y) su carta millimetrata log-log. Tracciare una retta di regressione. Interpolare i valori di discesa del paziente dal grafico per indicare l'attività %. Correggere i risultati ottenuti per la diluizione e l'attività dosata del Calibration Plasma.

Metodo Automatico

Un software aggregometro appropriato deve tracciare automaticamente una curva standard e riportare risultati come attività finale %.

LIMITAZIONI

Evitare campioni litерici, lipemici ed emolizzati.

L'attività del cofattore ristocetina non è in grado di rispecchiare con precisione la malattia di von Willebrand in parecchie situazioni quali gravidanza², infusione di concentrati commerciali del fattore VIII¹,⁵ o somministrazione di DDAVP³.
In tales casi, il vWF R:Co può essere corretto, ma il tempo dell'emorragia rimane prolungato. Inoltre, i livelli di vWF R:Co possono essere normali nella malattia di von Willebrand di tipo II anche se il tempo dell'emorragia è prolungato¹.

CONTROLLO QUALITÀ

Ogni laboratorio deve definire un programma di controllo qualità. I plasm di controllo normali e anormali devono essere testati prima di ogni lotto di campioni di pazienti, per garantire un livello prestazionale soddisfacente sia per quanto riguarda lo strumento che per l'operatore. Qualora i controlli non funzionassero come previsto, i risultati relativi ai pazienti dovranno essere considerati non validi. Helena Biosciences Europe mette a disposizione i seguenti controlli utilizzabili con questo prodotto:

REF 5301	Speciality Assayed Control N
REF 5302	Speciality Assayed Control A
REF 5373	Ristocetin Cofactor Abnormal Control

VALORI DI RIFERIMENTO

Per la sicurezza del paziente, è necessario che il sistema sia monitorato continuamente da un operatore qualificato. Per tale motivo ciascun laboratorio dovrà elaborare i propri range di riferimento. I valori esempio per l'attività del cofattore ristocetina negli adulti, con l'utilizzo di uno strumento di Helena AggRAM sono 69-116% (0,69-1,16 unità/mL).

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Prestazioni conforme alle, CLSI H51-A, Assays of von Willebrand Factor Antigen and Ristocetin Cofactor; Approved Guideline, con coefficienti di variazione (CV) del 15% o meno⁸.

BIBLIOGRAFIA

- Zimmerman TS, Ruggeri ZM, von Willebrands' Disease¹, Progress in Thrombosis and Haemostasis, Spaett (Ed), 1982, 6: 203-236.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI: H21-A5.
- Ratnoff OD, Bennett B (1973) Clues to Pathogenesis of Bleeding in von Willebrands' Disease, *N. Eng. J. Med.* **289**:1182-1183.
- Blatt PM *et al.* (1976) Antithemophilic factor Concentrate Therapy in von Willebrands' Disease, *J. Am. Med. Assn.* **236**:2770-2772.
- Green D., Potter EV (1976) Failure of AHF Concentrate to Control Bleeding in von Willebrands' Disease, *Am. J. Med.* **60**:357-360.
- Mannucci PM *et al.* (1976) Studies on the Prolonged Bleeding Time in von Willebrands' Disease, *J. Lab. Clin. Med.* **88**:662-671.
- Ruggeri ZM *et al.* (1980) Heightened Interaction Between Platelets and Factor VIII/von Willebrand Factor in a New Subtype of von Willebrands' Disease, *N. Eng. J. Med.* **302**:1047-1051.
- Assays of von Willebrand Factor Antigen and Ristocetin Cofactor Activity; Approved Guideline, H51-A; Vol. 22, No. 20.

Ristocetin Cofactor Kit

USO PREVISTO

El Ristocetin Cofactor Kit se ha diseñado para determinar el % de actividad del factor von Willebrand.

El Ristocetin Cofactor Kit mide la capacidad del plasma de un paciente para aglutinar plaquetas fijadas en formol en presencia de ristocetina. La velocidad de la aglutinación plaquetaria inducida por la ristocetina tiene relación con la concentración de factor de von Willebrand. El Ristocetin Cofactor Kit está diseñado para la determinación cuantitativa de una actividad que refleja la actividad del factor de von Willebrand en el plasma¹.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Los reactivos que contiene este kit son sólo para uso de diagnóstico *in vitro*: NO INGERIR. Lleve el equipo de protección personal adecuado cuando utilice todos los componentes del kit. Consulte la declaración de seguridad del producto para saber más sobre las indicaciones adecuadas de advertencia y riesgo. Desearch los componentes de conformidad con las normativas locales.

La sangre se ha sometido a pruebas que han resultado negativas (a menos que se indique lo contrario en la caja del kit o en el vial) de la presencia de: Antigeno de la hepatitis B (HbsAg) Anticuerpos del VIH 1 Anticuerpos del VIH 2 Anticuerpos del VHC
Sin embargo, deben manipularse con las mismas precauciones que una muestra de un paciente.

COMPOSICIÓN

Deje que todos los viales alcancen la temperatura ambiente antes de su reconstitución.

Componente	Contiene	Descripción	Preparación
Lyophilised Platelets	4 x 5 mL	Cada vial contiene plaquetas liofilizadas fijadas en formol, con estabilizadores.	Reconstituir cada vial con 5,0 mL de Tris-Buffered Saline. Agitar suavemente y permitir mezclar durante 20 minutos en un mezclador de rodillos. Mezclar bien antes de usar. No agitar.
Ristocetin: 10 mg/mL	2 x 1,5 mL	Contiene 10 mg/mL de ristocetina liofilizada con estabilizadores.	Reconstituir cada vial con 1,5 mL de agua destilada. Agitar suavemente y dejar reposar durante 10 minutos. Mezclar suavemente antes de su uso. No agitar.
Calibration Plasma	2 x 1 mL	Contiene 1 mL de plasma humano normal liofilizado estudiado para comprobar la actividad del cofactor de ristocetina.	Reconstituir cada vial con exactamente 1,0 mL de agua destilada. Agitar suavemente y dejar reposar durante 10 minutos. Mezcle suavemente antes de su uso. No agitar.
Ristocetin Cofactor Abnormal Control	2 x 0,5 mL	Contiene 0,5 mL de plasma liofilizado de un individuo con la enfermedad de von Willebrand. La actividad está impresa en una hoja incluida suministrada en el kit.	Reconstituir cada vial con 0,5 mL de agua destilada. Agitar suavemente y dejar reposar durante 10 minutos. Mezcle suavemente antes de su uso. No agitar.
Tris-Buffered Saline	1 x 35 mL	Contiene 35 mL de tampón con Tris 0,05 M y cloruro sódico 0,15 M con azida sódica como conservante.	El tampón viene envasado listo para usar.

Cada kit contiene instrucciones de uso.

Cada kit contiene valores de referencia específicos insertados del lote, y un informe.

ARTÍCULOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Agregómetro de plaquetas.

ALMACENAMIENTO, CADUCIDAD Y ESTABILIDAD

Los viales no abiertos son estables hasta la fecha de caducidad indicada cuando se conservan en las condiciones indicadas en la etiqueta del vial o el kit.

Lyophilised Platelets	Una vez reconstituido, el reactivo es estable durante 1 día (24 horas).
Ristocetin: 10 mg/mL	Una vez reconstituido, el reactivo es estable durante 8 horas a *2 –*8°C o 30 días a -20 °C.
Calibration Plasma	Una vez reconstituido, el reactivo es estable durante 2 horas a *2 –*8°C o 30 días a -20 °C.
Ristocetin Cofactor Abnormal Control	Una vez reconstituido, el reactivo es estable durante 8 horas a *2 –*8°C o 30 días a -20 °C.
Tris-Buffered Saline	Las botellas abiertas deben almacenarse a *2 –*8°C.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Debe usarse siempre plástico o vidrio silicizado. Debe recogerse sangre (9 partes) en el anticoagulante citrato sódico al 3,2% o al 3,8% (1 parte). Separar el plasma después de la centrifugación a 1500 x g durante 15 minutos. El plasma debe conservarse a *18 –*24°C. Las pruebas deberán terminarse en 4 horas desde la recogida de las muestras o el plasma puede conservarse congelado a -20°C durante 2 semanas o -70°C durante 6 mes. Descongelar rápidamente a *37°C antes de realizar la prueba. No conservar a *37°C durante más de 5 minutos¹.

PROCEDIMIENTO

Preparar todos los reactivos siguiendo las instrucciones de cada paquete. Configurar el agregómetro de plaquetas como se indica en el manual de instrucciones. Para Helena AggRAM consulte la guía paso a paso, documento HL-2-1785P 2008-01(1) para obtener información.

Se detalla a continuación un protocolo Agregómetro básico:

- Preparación de la curva estándar:
 - Preparar las siguientes diluciones en Tris-Buffered Saline:

Tubo	Calibration Plasma (µL)	Tris-Buffered Saline (µL)	Actividad (%)
1	100	100	100
2	100	300	50
3	100	700	25
4	100	1500	12,5

- Mezclar diluciones a fondo.
- Preparación de la muestra del paciente:
 - Establecer la actividad 100% en cada canal usando la muestra blanco de agregación.
 - Preparar diluciones 1+1 y 1+3 del plasma del paciente o el plasma control en Tris-Buffered Saline. Mezclar sin agitar.
- Preparación del blanco de agregación:
 - Pipetar 250 µL de suspensión de plaquetas y 250 µL de Tris-Buffered Saline en una cubeta de agregómetro con una barra de agitación. Esto se usa para establecer el nivel de actividad del 100%.
- Realización de las pruebas:
 - Establecer la actividad 100% en cada canal usando la muestra blanco de agregación.
 - Pipetar 400 µL de la suspensión de plaquetas en una cubeta de agregómetro para cada muestra a estudiar. Añadir una barra de agitación a cada cubeta.
 - Colocar la cubeta en el agregómetro y añadir 50 µL de Ristocetin a la cubeta. Incubar a 37°C durante 3 minutos exactos.
 - Añadir 50 µL de dilución del plasma estándar, del paciente o control.
 - Vigilar la agregación plaquetaria durante 5 minutos.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Método Manual

Representar la actividad de dilución Calibration Plasma (eje X) frente a la pendiente de agregación (eje Y) en un papel de gráficos log-log. Dibujar una línea recta de mejor ajuste. Interpoler los valores de pendiente del paciente del gráfico para dar una actividad en %. Corregir estos resultados en cuanto a dilución y actividad valorada del Calibration Plasma.

Método Automatizado

El software de agregómetro apropiado debería trazar automáticamente la curva estándar y dar los resultados de actividad final como un porcentaje.

LIMITACIONES

Evitar muestras ictericas, lipémicas y hemolizadas.
La actividad del cofactor de la ristocetina no refleja con exactitud la enfermedad de von Willebrand en varias situaciones como el embarazo², la infusión de concentrados comerciales de factor VIII¹,⁵ o la administración de DDAVP³.
En tales casos, podría corregirse el vWF R:Co, pero el tiempo de sangrado sigue prolongado. Además, los niveles de vWF R:Co pueden ser normales en la enfermedad de von Willebrand de tipo II B incluso aunque el tiempo de sangrado esté prolongado¹.

CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe establecer un programa de control de calidad. Los controles normales y anormales deben estudiarse antes de cada lote de muestras del paciente, para asegurar un funcionamiento adecuado del instrumento y el operador. Si los controles no se realizan como se esperaba, los resultados del paciente deben considerarse inválidos. Helena Biosciences Europe suministra los siguientes controles disponibles para usar con este producto:

REF 5301	Speciality Assayed Control N
REF 5302	Speciality Assayed Control A
REF 5373	Ristocetin Cofactor Abnormal Control

VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia pueden variar entre los laboratorios dependiendo de las técnicas y sistemas usados. Por esta razón, cada laboratorio debe establecer sus propios intervalos de referencia. Los valores ejemplo de actividad del cofactor de ristocetina para adultos usando un instrumento de Helena AggRAM son 69-116% (0,69-1,16 unidades/mL).

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

Rendimiento ajusta a CLSI H51-A, Assays of von Willebrand Factor Antigen and Ristocetin Cofactor; Approved Guideline, con coeficientes de variación (CV) de 15% o menos⁸.

BIBLIOGRAFÍA

- Zimmerman TS, Ruggeri ZM, von Willebrands' Disease¹, Progress in Thrombosis and Haemostasis, Spaett (Ed), 1982, 6: 203-236.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2008) Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Haemostasis Assays: Approved Guideline, 5th edn. CLSI: H21-A5.
- Ratnoff OD, Bennett B (1973) Clues to Pathogenesis of Bleeding in von Willebrands' Disease, *N. Eng. J. Med.* **289**:1182-1183.
- Blatt PM *et al.* (1976) Antithemophilic factor Concentrate Therapy in von Willebrands' Disease, *J. Am. Med. Assn.* **236**:2770-2772.
- Green D., Potter EV (1976) Failure of AHF Concentrate to Control Bleeding in von Willebrands' Disease, *Am. J. Med.* **60**:357-360.
- Mannucci PM *et al.* (1976) Studies on the Prolonged Bleeding Time in von Willebrands' Disease, *J. Lab. Clin. Med.* **88**:662-671.
- Ruggeri ZM *et al.* (1980) Heightened Interaction Between Platelets and Factor VIII/von Willebrand Factor in a New Subtype of von Willebrands' Disease, *N. Eng. J. Med.* **302**:1047-1051.
- Assays of von Willebrand Factor Antigen and Ristocetin Cofactor Activity; Approved Guideline, H51-A; Vol. 22, No. 20.

Тест-система "Ристоцетин-кофактор (фактор Виллебранда)"

ИСТРУКЦИЯ

НАЗНАЧЕНИЕ

Ristocetin Cofactor Kit предназначен для определения активности фактора фон Виллебранда в препаратах.

Он используется для измерения способности плазмы крови пациента агглютинировать тромбоциты, зафиксированные формальдегидом, в присутствии ристоцетина. Показатель агглютинации тромбоцитов, вызванной ристоцетином, зависит от концентрации фактора Виллебранда. Набор для определения кофактора ристоцетина компании Helena Biosciences Europe предназначен для использования в количественном определении уровня активности фактора Виллебранда в плазме крови¹.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Содержащиеся в данном наборе реагенты предназначены только для *in vitro* диагностики— НЕ ПРИЙМАТЬ ВНИМАТЬ! При работе со всеми компонентами набора использовать соответствующие средства индивидуальной защиты. В случае необходимости см. свидетельство о безопасности изделия для ознакомления с соответствующими описаниями опасного воздействия и сведениями о мерах предосторожности. Удаление компонентов в отходы производите в соответствии с местными правилами.

Препараты крови были подвергнуты скринингу и показали отрицательный результат (если на коробке, в которую упакован комплект или на пробирке не указано иное) на: Антиген к гепатиту В (HbsAg) Антитела к ВИЧ 1 Антитела к ВИЧ 2 Антитела к вирусу гепатита С (HCV)
Тем не менее с ними следует обращаться, соблюдая те же меры предосторожности, что и при обращении с образцом, полученным от человека.

СОСТАВ

Перед восстановлением ампулы должны нагреться до комнатной температуры.

Компонент	Содержание	Описание	Приготовление
Лифолизованные тромбоциты	4 x 5 мл	В каждой ампуле содержатся лиофилизированные тромбоциты, зафиксированные формальдегидом, и стабилизаторы.	Восстановите каждую ампулу с помощью 5 мл ТРИС-буфера. Осторожно перемешайте и оставьте на 20 минут в вальцовом смесителе для перемешивания. Перед каждым использованием хорошо перемешивайте. Не встряхивайте.
Ристоцетин: 10 мг/мл	2 x 1,5 мл	Содержит 10 мг/мл ристоцетина, лиофилизированного стабилизаторами.	Восстановите каждую ампулу с помощью 1,5 мл дистиллированной воды. Осторожно перемешайте и дайте отстояться в течение 10 минут. Перед использованием осторожно перемешайте. Не встряхивайте.

Плазма для калибровки	2 x 1 мл	Содержит 1 мл лиофилизированной нормальной плазмы крови человека, лиофилизированной на предмет активности кофактора ристоцетина.	Восстановите каждую ампулу с помощью ровно 1 мл дистиллированной воды. Осторожно перемешайте и дайте отстояться в течение 10 минут. Перед использованием осторожно перемешайте. Не встряхивайте.
-----------------------	----------	--	--

Контроль-патология для кофактора ристоцетина	2 x 0,5 мл	Содержит 0,5 мл лиофилизированной плазмы крови человека с болезнью фон Виллебранда. Активность указана во вкладыше, которым снабжен набор.	Восстановите каждую ампулу с помощью 0,5 мл дистиллированной воды. Осторожно перемешайте и дайте отстояться в течение 10 минут. Перед использованием осторожно перемешайте. Не встряхивайте.
Трис-буфер	1 x 35 мл	Содержит 35 мл буфера, содержащего 0,05 М Трис и 0,15 М натрия хлорида с натрия аэидом в качестве консервирующего вещества.	Буфер готов к применению в таком виде, как он упакован.

В каждом наборе содержится инструкция по применению.

В каждом наборе содержится вкладыш с эталонными значениями, определенными для партии продукта, а также отчетная форма.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

Агрегометр тромбоцитов.

ХРАНЕНИЕ, СРОК ГОДНОСТИ И УСТОЙЧИВОСТЬ

Невыскртые ампулы сохраняют стабильность до истечения указанного срока годности при соблюдении условий хранения, указанных на этикетке ампулы или набора.

Лифолизованные тромбоциты	После восстановления реагент стабилен в течение 1 дня (24 часов) при температуре *2 –*8°C.
Ристоцетин: 10 мг/мл	После восстановления реагент стабилен в течение 8 часов при температуре *2 –*8°C или 30 дней при температуре -20°C.
Плазма для калибровки	После восстановления реагент стабилен в течение 2 часов при температуре *2 –*8°C или 30 дней при температуре -20°C.
Контроль-патология для кофактора ристоцетина	После восстановления реагент стабилен в течение 8 часов при температуре *2 –*8°C или 30 дней при температуре -20°C.
Трис-буфер	Открытый флакон следует хранить при температуре *2 –*8°C.

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Для работы следует использовать только пластиковые или силиконированные стеклянные пробирки. Кровь забирается в пробирку с шпиратным антикоагулянтom (3,2% или 3,8% шпират натрия) в соотношении 9 + 1. После centrifугирования при 1500 г, в течение 15 минут (использование других параметров должно проверяться лабораторией), полученную плазму необходимо отделить от форменных элементов крови. Плазму следует хранить при температуре *18 –*24°C. Тестирование должно быть проведено в течение 4 часов после забора образцов, либо плазму можно однократно заморозить и хранить при температуре -20°C в течение 2 недель или при -70°C в течение 6 месяцев. Перед проведением исследования плазму следует быстро разморозить при *37°C. Не держат плазму при *37°C более 5 минут¹.

ПРОЦЕДУРА

Подготовьте все реагенты в соответствии с инструкциями в наборе. Установите агрегометр тромбоцитов, как