

INTENDED PURPOSE

Helena Ristocetin Reagent is intended for use in the quantitative determination of an activity that reflects von Willebrand factor activity in plasma¹.

It is used to measure the ability of a patients 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.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

The reagents contained in this kit are for in-vitro diagnostic use only - **DO NOT INGEST**. Wear gloves when handling all kit components. Refer to the product safety data sheets for risk and safety phrases and disposal information.

Plasma 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 and 2 antibody and HCV antibody; however they should be handled with the same precautions as a human plasma sample.

COMPOSITION**1. Ristocetin Reagent (5 x 1.5ml)**

Each vial contains 15mg of Ristocetin lyophilised with stabilisers.

Preparation: Reconstitute each vial with 1.5ml of purified water. Swirl gently and allow to stand for 10 minutes.

Mix gently before use. Do not shake.

2. Other kit components

Each kit contains Instructions For Use.

STORAGE AND SHELF-LIFE**1. Ristocetin Reagent**

Unopened vials are stable until the given expiry date when stored under conditions indicated on the vial or kit label. Once reconstituted, the reagent is stable for 8 hours at 2...6°C or 30 days at -20°C.

ITEMS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

REF 5371 Lyophilised Platelets 5 x 5ml or

REF 5356 Lyophilised Platelets 5 x 10ml

REF 5185 SARP 10 x 1ml

REF 5365 Tris Buffered Saline 1 x 125ml or

REF 5355 Tris Buffered Saline 10 x 35ml

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 2000 - 3000 x g for 15 minutes. Plasma should be kept at 2...6°C. Testing should be completed within 2 hours of sample collection, or plasma can be stored frozen at -20°C for 2 weeks or -70°C for one month. Thaw quickly at 37°C prior to testing. Do not keep at 37°C for more than 5 minutes.

STEP BY STEP PROCEDURE

Prepare all reagents as instructed with each pack. Set up platelet aggregometer as indicated in the instruction manual.

1. Standard Curve Preparation

Prepare the following dilutions in Tris-buffered saline :

Tube	Dilution	SARP ml	Buffer ml	Activity %
1	1:2	0.1	0.1	50
2	1:4	0.1	0.3	25
3	1:8	0.1	0.7	12.5

Mix without shaking.

2. Patient Sample Preparation

Prepare 1+1 and 1+3 dilutions of the patient plasma or control plasma in Tris-buffered saline. Mix without shaking.

3. Aggregation Blank Preparation

Pipette 0.25ml of platelet suspension and 0.25ml of Tris-buffered saline into an aggregometer cuvette with a stir-bar. This is used to set the 100% activity level.

4. Testing

- a) Set the 100% activity in each channel using the Aggregation Blank sample.
- b) Pipette 400μl of platelet suspension into an aggregometer cuvette for each sample to be tested. Add a stir-bar to each cuvette.
- c) Place the cuvette into the aggregometer and add 50μl of Ristocetin to the cuvette. Incubate at 37°C for exactly 3 minutes.
- d) Add 50μl of standard, patient or control plasma dilution.
- e) Monitor platelet aggregation for 5 minutes.

INTERPRETATION OF RESULTS

Plot SARP 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 SARP plasma.

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 supply the following controls available for use with this product:

REF 5301 SAC-1

REF 5302 SAC-2

REF 5373 Ristocetin CoFactor Abnormal Control Kit

LIMITATIONS

The Ristocetin Cofactor Activity fails to reflect accurately von Willebrands' disease in several situations such as pregnancy(2), infusion of commercial factor VIII concentrates(3,4) or administration of DDAVP(5). 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 prolonged(6).

REFERENCE VALUES

Each laboratory should determine its own normal values for the instrument / reagent system in routine use. Reference values can vary between laboratories depending on the techniques and systems in use. For this reason each laboratory should establish its own normal range. Expected values for Ristocetin Cofactor Activity in adults are 58-166% (0.58-1.66 units/ml).

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The following performance characteristics have been determined by Helena BioSciences or their representatives as a guideline. Each laboratory should establish its own performance data.

The Helena BioSciences Ristocetin Cofactor assay is designed to give a linear calibration curve from 10 - 60%, without pre-dilution. Within run CV's are expected to be <10%.

BIBLIOGRAPHY

1. Zimmerman, T.S and Ruggeri, Z.M.'von Willebrands' Disease', Progress in Thrombosis and Haemostasis, Spaett (Ed), 1982, 6: 203-236.
2. Ratnoff, O.D. and Bennett, B. 'Clues to Pathogenesis of Bleeding in von Willebrands' Disease', N. Eng. J. Med., 1973, 289 : 1182-1183.
3. Blatt, P.M. et al. 'Antihemophilic factor Concentrate Therapy in von Willebrands' Disease' J. Am. Med. Assn., 1976, 236 : 2770-2772.
4. Green, D. and Potter, E.V., 'Failure of AHF Concentrate to Control Bleeding in von Willebrands' Disease' Am. J. Med., 1976, 60 : 357-360.
5. Mannucci, P.M. et al. 'Studies on the Prolonged Bleeding Time in von Willebrands' Disease', J. Lab. Clin. Med., 1976, 88 : 662-671.
6. Ruggeri, Z.M. et al., 'Heightened Interaction Between Platelets and Factor VIII/von Willebrand Factor in a New Subtype of von Willebrands' Disease.', N. Eng. J. Med., 1980, 302 : 1047-1051.

UTILISATION

Le réactif Ristocétine Helena est utilisé dans la détermination quantitative d'une activité qui reflète l'activité du facteur von Willebrand dans le plasma¹. 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.

PRÉCAUTIONS

Les réactifs du kit sont à usage diagnostic in-vitro uniquement. **NE PAS INGERER**. Porter des gants pour la manipulation de tous les composants. Se reporter aux fiches de sécurité des composants du kit pour la manipulation et l'élimination.

Un dépistage des produits à base de plasma a été réalisé et a donné un résultat négatif (sauf indication contraire sur la boîte du kit ou sur le flacon) pour les antigènes de l'hépatite B (AgHBs), les anticorps anti VIH 1 et 2 et les anticorps anti VHC; il est malgré tout nécessaire de les manipuler avec les mêmes précautions que pour les échantillons de plasma humain.

COMPOSITION**1. Réactif Ristocétine (5 x 1.5ml)**

Chaque flacon contient 15mg de ristocétine lyophilisée additionnée de stabilisateurs.

Préparation: Reconstituer chaque flacon avec 1,5ml d'eau distillée. Remuer doucement et laisser reposer 10 minutes. Mélanger doucement avant utilisation. Ne pas agiter.

2. Autres composants du kit

Chaque kit contient une fiche technique.

STOCKAGE ET CONSERVATION**1. Réactif Ristocétine**

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. Une fois reconstitué, le réactif est stable 8 heures entre 2...6°C ou 30 jours à -20°C.

MATÉRIELS NÉCESSAIRES NON FOURNIS

REF 5371 Plaquettes lyophilisées 5 x 5ml ou

REF 5356 Plaquettes lyophilisées 5 x 10ml

REF 5185 SARP 10 x 1ml

REF 5365 Solution saline tamponnée au Tris 1 x 125ml ou

REF 5355 Solution saline tamponnée au Tris 10 x 35ml

PRÉLÈVEMENTS 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 2000 - 3000 x g pendant 15 minutes. Conserver le plasma entre 2...6°C. L'analyse doit être terminée dans les 2 heures suivant le prélèvement de l'échantillon; sinon, il est possible de congeler le plasma 2 semaines à -20°C ou un mois à -70°C. Décongeler rapidement à 37°C avant de réaliser l'analyse. Ne pas laisser à 37°C plus de 5 minutes.

MÉTHODOLOGIE

Préparer tous les réactifs suivant les instructions du kit. Réglér l'agrégomètre conformément au manuel d'utilisation.

1. Préparation de la courbe d'étalonnage

Préparer les dilutions suivantes avec de la solution saline tamponnée au Tris:

Tube	Dilution	SARP ml	Tampon ml	Activité %
1	1:2	0.1	0.1	50
2	1:4	0.1	0.3	25
3	1:8	0.1	0.7	12,5

Mélanger sans agiter.

2. Préparation de l'échantillon patient

Préparer des dilutions 1+1 et 1+3 du plasma patient ou du plasma de contrôle avec de la solution saline tamponnée au Tris. Mélanger sans agiter.

3. Préparation du blanc d'agrégation

Pipeter 0,25ml de suspension de plaquette et 0,25ml solution saline tamponnée au Tris dans la cuvette de l'agrégomètre avec une tige d'agitateur. Ceci sert à définir l'activité 100%.

4. Analyse

- a) Définir l'activité 100% dans chaque canal en utilisant l'échantillon de blanc d'agrégation.
- b) Pipetez 400μl de suspension de plaquettes dans la cuvette de l'agrégomètre pour chaque échantillon à analyser. Ajouter une tige d'agitateur dans chaque cuvette.
- c) Placer la cuvette dans l'agrégomètre et ajouter 50μl de ristocétine dans la cuvette. Incuber à 37°C pendant exactement 3 minutes.
- d) Ajouter 50μl de dilution de plasma témoin, patient ou contrôle.
- e) Surveiller l'aggrégation plaquettaire pendant 5 minutes.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Tracer, point par point, une courbe représentant l'activité de la dilution de SARP (en abscisse) en fonction du taux d'agrémentation (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 plasma SARP.

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 valides.

Helena BioSciences distribue les contrôles suivants à utiliser avec ce produit:

REF 5301 SAC-1

REF 5302 SAC-2

REF 5373 Kit de contrôle abnormal, cofacteur de la ristocétine

LIMITES

L'activité du cofacteur de la ristocétine ne reflète pas avec exactitude l'existence de la maladie de von Willebrand en cas de grossesse², d'injection de concentrats du facteur VII vendus dans le commerce^{3,4} ou d'administration de DDAVP⁵. 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 allongé.

VALEURS DE RÉFÉRENCE

Chaque laboratoire doit déterminer ses propres valeurs normales pour le système instrument/réactif utilisé. 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 sa propre plage normale. Les valeurs prévues pour l'activité du cofacteur de la ristocétine sont de 58-166% chez un adulte (0,58-1,66 unité/ml).

PERFORMANCES

Helena BioSciences ou ses représentants ont déterminé

PRINCIPIO

Il reagente a base di ristocetina Helena è concepito per l'utilizzo nella determinazione quantitativa di un'attività che rispecchia l'attività del fattore von Willebrand nel plasma^a.

L'uso previsto consiste nel misurare la capacità del plasma di un paziente nell'agglutinare le 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.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

I reagenti contenuti in questo kit sono destinati esclusivamente alla diagnostica *in vitro* - **NON INGERIRE**. Indossare guanti protettivi durante l'uso dei componenti del kit. Fare riferimento alle schede tecniche e dati di sicurezza per le avvertenze sui componenti del Kit e per le informazioni sullo smaltimento.

I prodotti plasmatici sono stati esaminati dando esito negativo (salvo diversamente indicato sulla confezione del kit o sul flacone) relativamente alla presenza dell'antigene dell'epatite B (HbsAg), dell'anticorpo anti-HIV 1 e 2 e dell'anticorpo anti-HCV; questi prodotti devono tuttavia essere manipolati con le stesse misure precauzionali adottate per un campione di plasma umano.

COMPOSIZIONE**1. Reagente a base di ristocetina (5 x 1.5ml)****USO PREVISTO**

El reactivo ristocetina Helena está diseñado para la determinación cuantitativa de una actividad que refleja la actividad del factor de von Willebrand en el plasma^a.

Se usa para medir 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.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Los reactivos contenidos en este kit son sólo para uso diagnóstico – NO SE DEBEN INGERIR. Usar guantes para manejar todos los componentes del kit. Consultar la hoja con los datos de seguridad del producto acerca de los riesgos de los componentes, avisos de seguridad y consejos para su eliminación.

Los productos plasmáticos se han sometido a pruebas y han resultado negativos (a menos que se indique otra cosa en la caja del kit o en el vial) para la presencia de antigeno de la hepatitis B (HbsAg), anticuerpos de VIH 1 y 2 y anticuerpo del VHC; sin embargo, deben manipularse con las mismas precauciones que una muestra de plasma humano.

COMPOSICIÓN**1. Reactivo ristocetina (5 x 1.5ml)**

Cada vial contiene 15mg de ristocetina liofilizada con estabilizadores.

Preparación: Reconstituir cada vial con 1.5ml de agua destilada. Agitar suavemente y dejar reposar durante 10 minutos. Mezclar suavemente antes del uso. No agitar.

2. Otros componentes del kit

Cada kit contiene instrucciones de uso.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ**1. Reagente a base di ristocetina**

I flaconi non aperti sono stabili fino alla data di scadenza indicata se conservati nelle condizioni riportate sul flacone o sull'etichetta del kit. Dopo la ricostituzione, il reagente è stabile per 8 ore a 2...6°C o per 30 giorni a -20°C.

MATERIALI NECESSARI MA NON IN DOTAZIONE

REF 5371 Piastrine liofilizzate 5 x 5ml o

REF 5356 Piastrine liofilizzate 5 x 10ml

REF 5185 SARP 10 x 1 ml

REF 5365 Salina tamponata con Tris 1 x 125ml o

REF 5355 Salina tamponata con Tris 10 x 35ml

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Nel corso dell'intera procedura è necessario utilizzare plastica o vetro siliconizzato. Il sangue (9 parti) deve essere raccolto in siringa citrato al 3,2% o al 3,8% come anticoagulante (1 parte). Separare il plasma in seguito a centrifugazione a 2000 - 3000 x g per 15 minuti. Il plasma deve essere conservato a 2...6°C. I test devono essere completati entro 2 ore dalla raccolta dei campioni; in alternativa, il plasma può essere conservato congelato a -20°C per 2 settimane o a -70°C per un mese. Decongelare rapidamente a 37°C prima di eseguire i test. Non conservare a 37°C per oltre 5 minuti.

PROCEDURA

Preparare tutti i reagenti come da istruzioni per ogni singola confezione. Installare l'aggregometro per piastrine come indicato nel manuale d'istruzioni.

1. Preparazione della curva standard

Preparare le diluizioni indicate di seguito in salina tamponata con Tris:

Provetta	Diluizione	SARP ml	Tampone ml	Attività %
1	1:2	0,1	0,1	50
2	1:4	0,1	0,3	25
3	1:8	0,1	0,7	12,5

Mescolare senza scuotere.

2. Preparazione del campione del paziente

Preparare diluizioni 1+1 e 1+3 del plasma del paziente o del plasma di controllo in una salina tamponata con Tris. Mescolare senza scuotere.

3. Preparazione in bianco dell'aggregazione

Pipettare 0,25ml di sospensione piastrinica e 0,25ml di salina tamponata con Tris nella cuvetta di un aggregometro con una sbarretta d'agitazione. Ciò serve per impostare il livello d'attività al 100%.

4. Esecuzione dei test

- a) Impostare il 100% di attività in ciascun canale utilizzando il campione in bianco dell'aggregazione.
- b) Pipettare 400μl di sospensione piastrinica in una cuvetta dell'aggregometro per ogni campione da testare. Aggiungere una sbarretta d'agitazione a ciascuna cuvetta.
- c) Collocare la cuvetta nell'aggregometro ed aggiungere 50μl di ristocetina alla cuvetta. Incubare a 37°C per 3 minuti esatti.
- d) Aggiungere 50μl di diluizione standard di plasma del controllo o del paziente.
- e) Monitorare l'aggregazione piastrinica per 5 minuti.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Rappresentare l'attività di diluizione SARP (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 plasma SARP.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Ogni laboratorio deve definire un programma di controllo qualità. I plasmi 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 come non validi.

Helena BioSciences mette a disposizione i seguenti controlli utilizzabili con questo prodotto:

REF 5301 SAC-1

REF 5302 SAC-2

REF 5373 Kit di controllo anomale cofattore ristocetina

LIMITI

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 VIII3,4 o somministrazione di DDAVP5. In questi 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 B anche se il tempo dell'emorragia è prolungato6.

VALORI DI RIFERIMENTO

Ogni singolo laboratorio dovrebbe determinare i propri valori normali per lo strumento/sistema reagente usato di routine.

I valori di riferimento possono variare da un laboratorio all'altro in funzione delle tecniche e dei sistemi in uso. Per tale motivo ciascun laboratorio dovrà elaborare un proprio range normale.

I valori previsti per l'attività del cofattore ristocetina negli adulti sono 58-166% (0,58-1,66 unità/ml).

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Le caratteristiche prestazionali sotto riportate sono state determinate da Helena BioSciences o dai propri rappresentanti a titolo di linee guida. Ciascun laboratorio dovrà pertanto elaborare i propri dati prestazionali.

Il dosaggio del cofattore ristocetina Helena BioSciences è concepito per ottenere una curva di calibrazione lineare dal 10 al 60%, senza pre-diluizione. I CV entro la serie si prevedono <10%.

BIBLIOGRAFIA

1. Zimmerman, T.S and Ruggeri, Z.M.'von Willebrands' Disease', Progress in Thrombosis and Haemostasis, Spaett (Ed), 1982, 6: 203-236.
2. Rathoff, O.D. and Bennett, B. 'Clues to Pathogenesis of Bleeding in von Willebrands' Disease', N. Eng. J. Med., 1973, 289 : 1182-1183.
3. Blatt, P.M. et al. 'Antihemophilic factor Concentrate Therapy in von Willebrands' Disease' J. Am. Med., Assn., 1976, 236 : 2770-2772.
4. Green, D. and Potter, E.V., 'Failure of AHF Concentrate to Control Bleeding in von Willebrands' Disease' Am. J. Med., 1976, 60 : 357-360.
5. Mannucci, P.M. et al. 'Studies on the Prolonged Bleeding Time in von Willebrands' Disease', J. Lab. Clin. Med., 1976, 88 : 662-671.
6. Ruggeri, Z.M. et al., 'Heightened Interaction Between Platelets and Factor VIII/von Willebrand Factor in a New Subtype of von Willebrands' Disease.', N. Eng. J. Med., 1980, 302 : 1047-1051.

USO PREVISTO

El reactivo ristocetina Helena está diseñado para la determinación cuantitativa de una actividad que refleja la actividad del factor de von Willebrand en el plasma^a.

Se usa para medir 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.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Los reactivos contenidos en este kit son sólo para uso diagnóstico – NO SE DEBEN INGERIR. Usar guantes para manejar todos los componentes del kit. Consultar la hoja con los datos de seguridad del producto acerca de los riesgos de los componentes, avisos de seguridad y consejos para su eliminación.

Los productos plasmáticos se han sometido a pruebas y han resultado negativos (a menos que se indique otra cosa en la caja del kit o en el vial) para la presencia de antigeno de la hepatitis B (HbsAg), anticuerpos de VIH 1 y 2 y anticuerpo del VHC; sin embargo, deben manipularse con las mismas precauciones que una muestra de plasma humano.

COMPOSICIÓN**1. Reactivo ristocetina (5 x 1.5ml)**

Cada vial contiene 15mg de ristocetina liofilizada con estabilizadores.

Preparación: Reconstituir cada vial con 1.5ml de agua destilada. Agitar suavemente y dejar reposar durante 10 minutos. Mezclar suavemente antes del uso. No agitar.

2. Otros componentes del kit

Cada kit contiene instrucciones de uso.

ALMACENAMIENTO Y PERÍODO DE VALIDEZ**1. Reactivo ristocetina**

Los viales no abiertos son estables hasta la fecha de caducidad indicada cuando se conservan en las condiciones indicadas en el vial o en la etiqueta del kit. Una vez reconstituido, el reactivo es estable durante 8 horas a 2...6 °C o 30 días a -20 °C.

ARTÍCULOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

REF 5371 Plastryne liofilizadas 5 x 5ml o

REF 5356 Plastryne liofilizadas 5 x 10ml

REF 5185 SARP 10 x 1 ml

REF 5365 Solución salina tamponada con Tris 1 x 125ml o

REF 5355 Solución salina tamponada con Tris 10 x 35ml

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Debe usarse siempre plástico o vidrio siliconizado. Debe recogerse sangre (9 partes) en el anticoagulante citrato sódico al 3,2% o al 3,8% (1 parte). Se separa el plasma después de la centrifugación a 2000 - 3000 xg durante 15 minutos. El plasma debe conservarse a 2...6°C. Las pruebas deberían terminarse en 2 horas desde la recogida de las muestras o el plasma puede conservarse congelado a -20°C durante 2 semanas o -70°C durante 1 mes. Descongelar rápidamente a 37°C antes de realizar la prueba. No conservar a 37°C durante más de 5 minutos.

PROCEDIMIENTO PASO A PASO

Preparar todos los reactivos siguiendo las instrucciones de cada paquete. Configurar el agregómetro de plaquetas como se indica en el manual de instrucciones.

1. Preparación de la curva estándar

Preparar las siguientes diluciones en solución salina tamponada con Tris.

Tubo	Dilución	SARP ml	Tampón ml	Actividad %
1	1:2	0,1	0,1	50
2	1:4	0,1	0,3	25
3	1:8	0,1	0,7	12,5

Mesclar sin agitar.

2. Preparación de la muestra del paciente

Preparar diluciones 1+1 y 1+3 del plasma del paciente o el plasma control en solución salina tamponada con Tris. Mezclar sin agitar.

3. Preparación del blanco de agregación