

Coagulation Factor V Deficient Plasma / Фактор V – дефицитная плазма

FACTOR V DEFICIENT

Назначение

Диагностический реагент *In vitro* для определения активности фактора коагуляции V и выявления фактора V Лейдена в плазме крови человека.

Резюме и разъяснение

Определение фактора коагуляции V в плазме крови показано для диагностики врожденного¹ или приобретенного дефицита фактора коагуляции V. Врожденные дефициты встречаются редко; приобретенные снижения фактора V встречаются в случаях нарушения функции печени, коагулопатии потребления, гиперфибринолиза и опухолей^{2,3}. Частая мутация фактора коагуляции V, фактора V Лейдена, связана с повышенным риском тромбоза⁴.

Принципы выполнения процедуры

Инкубация реагента FACTOR V DEFICIENT с разведенной плазмой пациента и тромбопластином приводит к активации факторов внешнего пути активации свертывания крови. Время измеряется с момента добавления тромбопластина для формирования сгустка фибрина. Для обнаружения фактора V Лейдена см. инструкции по применению ProC® Global (REF) OQLS).

Реагенты

Поставляемые материалы

Плазма с дефицитом фактора коагуляции V (REF) ORSM

8 x → 1 мл, FACTOR V DEFICIENT, Плазма с дефицитом фактора коагуляции V

Состав

FACTOR V DEFICIENT представляет собой лиофилизированную плазму крови человека с остаточной активностью фактора V, которая меньше или равна 1 % и производится путем иммуносорбции. FACTOR V DEFICIENT содержит нейтрализатор гепарина полибрен (5 мг/л) и маннитол (20 г/л) в качестве стабилизатора.

Предупреждения и меры предосторожности

Только для диагностики *in vitro*.



ВНИМАНИЕ! ВОЗМОЖНАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОПАСНОСТЬ

Каждый донор или проба от донора были проверены и дали отрицательные результаты на вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) 1 и 2, вирусы гепатита В (HBV) и гепатита С (HCV) при исследовании методами, соответствующими директивам по диагностике *in vitro* Евросоюза или утвержденными FDA. Поскольку ни один известный метод анализа не может полностью гарантировать отсутствие возбудителей инфекции, обращаться с любыми продуктами человеческого происхождения следует с осторожностью.

Подготовка реагентов

FACTOR V DEFICIENT: Разведите содержимое флакона, добавив 1 мл дистиллированной воды. Перед использованием выдержите не менее 15 мин. при температуре 15 до 25 °С, затем тщательно встряхните, чтобы перемешать (без образования пены). Перед использованием вновь тщательно перемешайте.

Реагент РТ (ПВ): Использовать согласно соответствующей инструкции по применению.

Хранение и стабильность

При хранении невскрытым при температуре 2 до 8 °С FACTOR V DEFICIENT может использоваться до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Стабильность после восстановления:

при температуре 15 до 25 °С, открытый флакон 24 ч.

при температуре –20 °С: 4 нед. (неприменимо, если используется вместе с ProC® Global)

FACTOR V DEFICIENT можно подвергнуть одному циклу заморозки и разморозки после восстановления без потери коагуляционной активности. Плазма должна быть хорошо запечатана и заморожена максимально быстро. Разморозку следует осуществлять при температуре 37 °С в течение 10 мин. Размороженную плазму следует использовать в течение 2 ч., если температура хранения составляла 37 °С.

Информация о стабильности на борту анализатора указана в кратких инструкциях к каждому анализатору гемостаза.

Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

Thromborel® S, [REF](#) OUHP или

Dade® Innovin®, [REF](#) B4212 или

Dade® тромбопластин С PLUS, [REF](#) B4216 (недоступно в ЕС).

Имидазоловый буфер, [REF](#) OQAA или

Dade® Вероналовый буфер Оурена, [REF](#) B4234 или

Системный буфер Dade® CA, [REF](#) B4265 или

Физиологический раствор

Эталон плазмы Standard Human Plasma, [REF](#) ORKL

Плазма контрольная отрицательная (N), [REF](#) ORKE

Плазма контрольная положительная (P), [REF](#) OUPZ

для обнаружения фактора V Лейдена:

ProC® Global, [REF](#) OQLS

Контроль плазмы ProC®, [REF](#) OQKE

Оборудование

Реагент FACTOR V DEFICIENT можно использовать как вручную, так и в автоматических анализаторах гемостаза. Siemens Healthcare Diagnostics предоставляет справочные

руководства (краткие инструкции) для ряда анализаторов гемостаза. Справочные руководства (краткие инструкции) содержат информацию по работе с анализатором и проведению анализа, которая может отличаться от информации, приведенной в настоящей инструкции по применению. В подобном случае информация, приведенная в справочных руководствах (кратких инструкциях), имеет приоритет перед настоящей инструкцией по применению. Также ознакомьтесь с руководством по эксплуатации, предоставленным производителем анализатора.

Забор образца и обращение с ним

Для получения плазмы осторожно смешайте 1 часть раствора цитрата натрия (0,11 моль/л) с 9 частями венозной крови, не допуская образования пены. Центрифугируйте образец крови при 1 500 x g в течение как минимум 15 мин. при комнатной температуре.

Стабильность образцов:

15 до 25 °С	3 ч.
-20 °С	4 нед.

Плазму, которая хранится при температуре -20 °С, необходимо размораживать на водяной бане в течение 10 мин. при температуре 37 °С, аккуратно перемешать, а затем немедленно провести тестирование. Если тестирование не может быть выполнено немедленно, препарат можно хранить в течение не более двух часов при температуре 4 °С до проведения теста⁵.

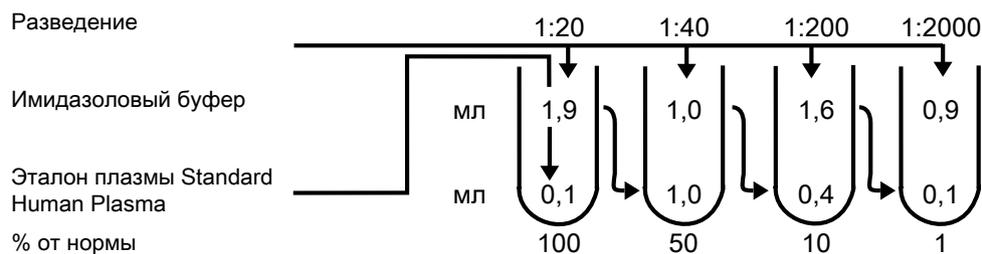
Процедура

А. Коагулометрическое определение

Выполнение анализа вручную: (Автоматическое тестирование: см. «Оборудование»)

Построение стандартной кривой:

Используйте эталон плазмы Standard Human Plasma или свежечитрированную, пулированную плазму крови от не менее 10 здоровых доноров. При помощи буферного раствора имидазола приготовьте разведения, как показано на следующей схеме, и определите время свертывания крови, как описано в разделе «Рабочий процесс». Нормированную кривую нужно рассчитать заново, если в инструмент внесены изменения, изменена серия реагента или изменились условия выполнения анализа.



При необходимости можно приготовить дополнительные разведения. Постройте график измеренного времени свертывания крови (ось ординат) на логарифмической миллиметровой бумаге относительно активности соответствующего фактора V (ось абсцисс). Время коагуляции зависит от принципа измерения и, таким образом, также от используемого анализатора гемостаза. Поэтому в каждой лаборатории должны быть приняты собственные стандартные кривые.

Рабочий процесс:

Разведите образец плазмы в соотношении 1:20 в буферном растворе имидазола (довести до комнатной температуры (15 до 25 °C)). Наберите пипеткой в пробирку, предварительно нагретую до температуры 15 до 25 °C:

FACTOR V DEFICIENT:	100 мкл
Разведение образца	100 мкл
Инкубируйте при температуре 37 °C в течение ровно 60 сек.	
Реагент PT (ПВ) (предварительно нагретый до температуры 37 °C)	200 мкл
При добавлении реагента PT (ПВ) запустите секундомер или таймер на коагулометре и определите время свертывания крови.	

В. Обнаружение фактора V Лейдена

См. Инструкции по применению ProC® Global

Результаты

Считайте содержимое фактора V со стандартной кривой в % от нормы. Если заданное номинальное значение эталона плазмы Standard Human Plasma не составляет 100 % от нормы, а, например, только 95 %, умножьте результат считывания с кривой на 0,95. В случае, если время свертывания крови, которое соответствует содержимому фактора V, составляет более 100 % от нормы, потребуются дальнейшие измерения с использованием больших разведений образца (например, 1:40). Процент от значения нормы, считанный из стандартной кривой для такого высокого разведения, следует умножить на поправочный коэффициент, соответствующий разведению; например, для разведения 1:40 поправочный коэффициент 2.

Внутренний контроль качества

Нормальный диапазон:

Плазма контрольная, нормальная (N)

Патологический диапазон:

Плазма контрольная, патологическая (P)

Материал контроля качества двух уровней (нормальный и патологический диапазон) необходимо анализировать в начале серии тестов, при каждой калибровке, при смене флаконов с реагентами и как минимум каждые восемь часов каждый день, когда выполняются анализы. Контрольные препараты следует обрабатывать точно так же, как образцы. В каждой лаборатории должен быть установлен свой собственный диапазон контроля качества либо на основе целевых значений и диапазонов, предлагаемых производителем контрольных материалов, либо на основе доверительного интервала, установленного в лаборатории. Если значение контрольного материала выходит за границы такого предварительно заданного диапазона, нужно проверить реагент, калибровочную кривую и анализатор гемостаза. Не следует создавать отчет с результатами анализа пациента, пока причина отклонения значений не выяснена и не устранена.

Ограничения

Терапевтические дозы гирудина или других прямых ингибиторов тромбина приводят к ложно заниженному значению активности фактора^{6,7}. Специфические ингибиторы факторов свертывания крови могут изменять реальное значение активности фактора⁸. Частичная активация факторов коагуляции вследствие неправильной обработки образцов может привести к ложно завышенным результатам фактора V. Волчаночный антикоагулянт может влиять на ПВ и, таким образом, также влияет на определение фактора коагуляции⁹.

Для оптимизации характеристик продукта и удовлетворения заявленных спецификаций компания Siemens провела валидацию этих реагентов в различных анализаторах. Выполненные пользователем модификации не поддерживаются компанией Siemens,

поскольку они могут негативно сказаться на работе системы и результатах анализа. Внося изменения в инструкции или используя эти реагенты в других анализаторах, не упомянутых в кратких инструкциях Siemens или данной инструкции по применению, пользователь сам несет ответственность за их применимость.

Результаты этого анализа всегда следует интерпретировать, принимая во внимание анамнез пациента, клиническую картину и другие объективные данные.

Ожидаемые значения¹⁰

от 70 до 120 % от нормы

Стандартные диапазоны в разных лабораториях различаются и зависят от выборки пациентов, применяемой техники выполнения и методики анализа, оборудования и серии реагентов. Поэтому каждая лаборатория должна установить собственные стандартные интервалы или проверить их в случае изменения одной из перечисленных переменных.

Рабочие характеристики

Диапазон измерения

Диапазон измерения для определения фактора V находится в пределах от 1 до приблизительно 100 % от нормы и может быть увеличен до приблизительно 200 % с помощью более высокого разведения образца (см. выше).

Сравнение методов

Было проведено исследование с целью сравнения эффективности фактора V с Thromborel® S от системы BCS® до системы BCT®. В результате анализа корреляции (n = 83) получен коэффициент корреляции 0,97, с наклоном 0,97 и с отсекаемым по оси у значением -0,2 % от нормы.

Воспроизводимость

Исследования воспроизводимости для определения фактора V проводили на системе BCS® с использованием образцов, как в нормальном, так и в патологическом диапазоне. Образцы анализировались путем 8 измерений в течение 5 дн. с сохранением калибровочных кривых. В результате исследований воспроизводимости получены коэффициенты вариации от 7,3 до 9,9 %.

Источники

1. Mannucci PM, Duga S, Peyvandi F. Recessively inherited coagulation disorders. Blood 2004; 104: 1243-52.
2. Halbmayer WM. Rational, high quality laboratory monitoring before, during, and after infusion of prothrombin complex concentrates. Thromb Res. 1999; 95: S25-30.
3. Roberts HR, Foster PA. Inherited disorders of prothrombin conversion. In: Colman RW, et al., eds. Hemostasis and Thrombosis. Philadelphia: Lippincott, 1987: 165-8.
4. Bertina RM, Reitsma PH, Rosendaal FR, Vandenbroucke JP. Resistance to activated protein C and factor V Leiden as risk factors for venous thrombosis. Thromb Haemost. 1995; 74: 449-53.
5. CLSI. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays; Approved Guideline - Fourth Edition. CLSI document H21-A4 [ISBN 1-56238-521-6]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.
6. Boogen C, Niederau C, Reinauer H. Assessment of the influence of r-hirudin on coagulometric factor assays. Ann Hematol. 1999; 78 (Suppl): 73 (Abstract).
7. Walenga JM, Drenth A, Mayuga M, et al. Effects of Argatroban alone and combined with oral anticoagulation on coagulation parameters. Blood 2002; 100: Abstract 4006.

8. Feinstein DI. Immune coagulation disorders. In: Colman RW, et al., eds. Hemostasis and Thrombosis. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 1003-20.
9. Moll S, Ortel TL. Monitoring warfarin therapy in patients with lupus anticoagulants. Ann Int Med. 1997; 127: 177–85.
10. Fickenscher K. Analysis of individual coagulation factors. In: Thomas L, ed. Clinical Laboratory Diagnostics. Frankfurt: TH Books Verlagsgesellschaft, 1998: 607-9.

Определение символов

	Не использовать повторно		Срок годности
	Номер партии		Каталожный номер
	Внимание, обратитесь к сопроводительным документам		Производитель
	Уполномоченный представитель в Европе		Содержит достаточное количество реагентов для анализов
	Биологическая опасность		Медицинское устройство для диагностики <i>In Vitro</i>
	Температурные ограничения		См. инструкцию по пользованию
	Нестерильно		Символ CE
	Содержание		Объем восстановленного раствора
	Уровень		Беречь от солнечных лучей

BCS, BCT, Dade, Innovin, ProC и Thromborel являются товарными знаками компании Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2008 Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH.

Все права защищены.



Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
35041 Marburg/Germany

Siemens Healthcare Headquarters
Siemens Healthcare GmbH
Henkestraße 127
91052 Erlangen/Германия
Phone: +49 9131 84-0
siemens.com/healthcare