

## Плазма субстратная, дефицитная по факторам II, VII или X

### Область применения

Активности коагуляционных факторов II, VII и X в плазме пациентов определяют в следующих случаях:

- Диагностика дефицита факторов при наследственных или приобретенных состояниях;
- Мониторинг терапии при введении препаратов протромбинового комплекса;
- Детализованный мониторинг при терапии оральными антикоагулянтами;
- Оценка функции печени при различных патологиях.

### Состав

Плазмы субстратные, дефицитные, активность фактора II, VII и X в которых составляет менее 1 %, а активность остальных факторов свертывания в норме, получена из пула нормальной донорской плазмы методом иммуноадсорбции, стабилизирована HEPES буфером и лиофильно высушена.

Флаконы силиконированы для предотвращения контактной активации.

### Принцип метода.

Время свертывания в тесте протромбиновое время смеси разведенной исследуемой и субстратной плазмы, дефицитной по одному из факторов II, VII или X зависит только от активности соответствующего фактора в исследуемой плазме. При добавлении к разведенной исследуемой плазме субстратной дефицитной плазмы происходит коррекция всех факторов свертывания кроме исследуемого фактора (II, VII или X).

### Приготовление плазмы субстратной дефицитной по факторам II, VII или X.

Внести во флакон с плазмой субстратной, дефицитной по фактору II, VII или X 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании (избегать образования пены). Перед использованием раствор плазмы нужно выдержать при комнатной температуре в течение 20 минут.

### Стабильность плазмы субстратной дефицитной по факторам II, VII или X.

Срок годности со дня изготовления лиофильно высушенной плазмы – 24 месяца при условии хранения при температуре 2-8°C или при отрицательной температуре (что предпочтительнее).

Приготовленный раствор плазмы контрольной можно хранить во флаконе изготовителя:

- не более 4 часов при температуре 2-8°C
- не более 2 часов при комнатной температуре (18-22°C).

Приготовленный раствор плазмы контрольной можно разлить по аликвотам в пластиковые пробирки, плотно закрыть, заморозить в течение 1 часа при температуре -18-22°C и хранить при этой температуре не более 2 недель.

### Дополнительные реагенты:

Для определения активности фактора II, VII или X:

Ренампластин (код ПГ-5/1), или

Тромбопластин (код ПГ-1)

Кальция хлорид 0.025M раствор (код Р-9)

Буфер имидазольный концентрированный (код Р-7)

Плазма субстратная дефицитная по фактору II (код КМ-11)

Плазма субстратная дефицитная по фактору VII (код КМ-12)

Плазма субстратная дефицитная по фактору X (код КМ-13).

### Получение исследуемой плазмы для анализа.

Венозную кровь взять в силиконированную стеклянную или пластиковую пробирку на 3,8% (0.11моль/л) цитрате натрия в соотношении 9:1, центрифугировать 7 мин при 1000 об/мин (240g), плазму перенести в другую пробирку и повторно центрифугировать 15 мин при 3000 об/мин (1200g). Центрифугирование следует проводить как можно скорее после взятия крови. Немедленно после центрифугирования перенести плазму в пластиковую пробирку.

### Определение активности фактора II, VII или X.

#### Построение и использование калибровочного графика.

Использовать только пластиковые пробирки. Приготовить следующие разведения плазмы-калибратора:

Пробирка, №	1	2	3	4	5
Активность фактора II, VII или X в плазме-калибраторе, %	A*	0,5A	0,25A	0,125A	0,0625A
Рабочий буферный раствор, мл	0,9	0,5	0,5	0,5	0,5
Раствор плазмы-калибратора, мл	0,1	-	-	-	-
Перемешать и перенести в следующую пробирку, мл		0,5	0,5	0,5	0,5

\*A – активность фактора II, VII или X в плазме-калибраторе, указанная в паспорте на плазму.

Значения активности фактора II, VII или X в % отложить на оси X. На оси Y отложить значения времени свертывания каждого разведенного образца плазмы-калибратора в секундах. Через полученные точки провести калибровочный график, который в билогарифмических координатах должен представлять собой прямую линию. Линейность в диапазоне активности фактора II, VII и X от 3 до 100%.

### Проведение анализа.

Непосредственно перед проведением анализа развести исследуемую плазму рабочим буферным раствором в 10 раз:

Внести в кювету анализатора:	Объем
Одно из разведенных плазмы-калибратора (исследуемой)	50мкл
Раствор плазмы субстратной дефицитной II, VII или X	50мкл
Инкубировать при 37°C, точно 2 минуты.	
Тромбопластин-кальциевый реагент	100мкл

Используя калибровочный график и значение времени свертывания исследуемого образца определить активность фактора II, VII или X. Образцы исследуемой плазмы с высоким уровнем активности исследуемых факторов необходимо исследовать при разведении исходной плазмы в 20 раз. При этом полученный результат необходимо умножен на 2.

### В нормальной плазме здоровых лиц активность факторов составляет:

II фактор 70 - 120%;

VII фактор 70 - 120%;

X фактор 70 - 120%.

### Ограничения

Частичная активация коагуляционных факторов из-за нарушений, допущенных при получении исследуемой плазмы, может приводить к ложному завышению результатов.

Присутствие волчаночного антикоагулянта в исследуемых образцах плазмы может влиять на результаты определения активности факторов II, VII или X.

### Меры предосторожности

Плазма субстратная дефицитная по фактору II, VII или X предназначена только для диагностики *in vitro*. Каждая доза крови доноров, использованная для получения плазмы субстратной дефицитной по фактору II, VII или X, проверена на отсутствие поверхностного антигена вируса гепатита В, на антитела к вирусу гепатита С, на антитела к ВИЧ1 и к ВИЧ2. Для получения плазмы использована только кровь, не содержащая этих агентов. Однако, ввиду невозможности доказать их полное отсутствие, плазма должна рассматриваться как потенциально инфицированная, способная сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В и С или любой другой возбудитель вирусной инфекции. Учитывая это, при работе с плазмой необходимо соблюдать все необходимые меры безопасности.

### Проведение контроля

Проверку правильности построения калибровочных прямых с использованием плазм-калибраторов, необходимо осуществлять с помощью контрольных материалов, выпускаемых фирмой НПО РЕНАМ. Плазма контрольная анализируется одновременно с исследуемой плазмой больного при выполнении соответствующего теста. Исследуемый контрольный материал должен укладываться в диапазон значений, указанных в паспорте на данную серию плазмы контрольной.

*По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в НПО «РЕНАМ» МБООИ «Общество больных гемофилией» по адресу: 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 4, стр. 2. тел/факс (499)707-76-30, (495) 225-12-61, e-mail: [info@renam.ru](mailto:info@renam.ru)*

