

Плазма субстратная, дефицитная по факторам XI или XII

Область применения.

Активности коагуляционных факторов XI и XII в плазме пациентов определяют в следующих случаях:

- Выяснения причины удлинение активированного частичного тромбопластинового времени;
- Диагностика дефицита факторов при наследственных или приобретенных состояниях;
- Дифференцирование между диспротеинемией и синтезом неактивных факторов свертывания.

Состав.

Плазмы субстратные, дефицитные, активность фактора XI или XII 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 активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) смеси разведенной исследуемой и субстратной плазмы, дефицитной по одному из факторов XI или XII 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 (XI или XII).

Приготовление плазмы субстратной дефицитной по факторам XI или XII.

Внести во флакон с плазмой субстратной, дефицитной по фактору XI или XII 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 XI или XII.

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 XI или XII:

- Коагуло-тест (код ПГ-6);
- АЧТВ-тест (код ПГ-7/1);
- Плазма субстратная дефицитная по фактору XI (код КМ-11);
- Плазма субстратная дефицитная по фактору XII (код КМ-12);
- Буфер имидазольный концентрированный (код Р-7);
- Хлорид кальция (код Р-9, Р-9/1).

Получение исследуемой плазмы для анализа.

Венозную кровь взять в силиконированную стеклянную или пластиковую пробирку на 3,8% (0.11 моль/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 XI или XII.

Построение и использование калибровочного графика.

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

Пробирка, №	1	2	3	4	5	6
Активность фактора VIII в плазме-калибраторе, %	A*	0,5A	0,25A	0,125A	0,0625A	0,01A
Рабочий буферный раствор, мл	0,8	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Раствор плазмы-калибратора, мл	0,2	-	-	-	-	-
Перемешать и перенести в следующую пробирку, мл		↑ 0,5	↑ 0,5	↑ 0,5	↑ 0,5	↑ 0,1

*A – активность фактора XI или XII в плазме-калибраторе, указанная в паспорте на плазму.

Значения активности фактора XI или XII 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 XI и XII от 3 до 100%.

Проведение анализа.

Непосредственно перед проведением анализа развести исследуемую плазму рабочим буферным раствором в 5 раз:

Внести в кювету анализатора:	Объем
Одно из разведенных плазмы-калибратора (исследуемой)	50мкл
Раствор плазмы субстратной дефицитной XI или XII	50мкл
АЧТВ-реагент или кефалин-каолиновая смесь	50мкл
Инкубировать при 37°C, точно 3 минуты.	
Кальция хлорида 0,025M раствор	50 мкл

Используя калибровочный график и значение времени свертывания исследуемого образца определить активность фактора XI или XII. Образцы плазмы с высоким уровнем активности факторов необходимо исследовать при разведении исходной плазмы в 10 раз. При этом полученный результат необходимо умножен на 2.

В нормальной плазме здоровых лиц активность факторов составляет:

- XI фактор 70 - 120% от нормы;
- XII фактор 70 - 150% от нормы.

Ограничения

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

Присутствие венозного антикоагулянта в исследуемых образцах плазмы может влиять на результаты определения активности факторов XI или XII.

Меры предосторожности

Плазма субстратная дефицитная по фактору XI или XII предназначена только для диагностики in vitro. Каждая доза крови доноров, использованная для получения плазмы субстратной дефицитной по фактору XI или XII, 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 РЕ-НАМ. 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*