

УТВЕРЖДАЮ  
Генеральный директор  
ООО «Эко-мед-с М»  
Ворошилов Н.А.  
«01» февраля 2010 г.

## ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

### Наборы in-vitro для исследования гемостаза

1. НАЗНАЧЕНИЕ
2. ОСНОВНЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
3. ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ
4. ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ ИЗДЕЛИЯ
5. ПОРЯДОК РАБОТЫ ИЗДЕЛИЯ
6. ПРАВИЛА ХРАНЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

2010

## Дейд Кластер для исследования агрегации тромбоцитов

### Для исследований агрегометрии тромбоцитов

#### Взгляд и пояснения

Исследования тромбоцитов – сравнительно новое поле исследования, которое начало свою историю с момента разработки соответствующего оборудования Борном (Born)<sup>1,2</sup>. Данное оборудование включает прежде всего турбидиметрические приборы (Рис. 1), которые регистрируют изменения при пропускании света перемешанной обогащенной тромбоцитами плазмы, вызванные агрегацией тромбоцитов после добавления различных реактивов. В результате экспериментов с данной методикой был очерчен спектр врожденных и приобретенных дисфункциональных состояний тромбоцитов, которые могут частично характеризоваться агрегометрией. Агрегометрия тромбоцитов является средством диагностики, предоставляющим информацию, которую сложно или невозможно получить при помощи других методик, а также помогает при диагностике, выборе лечения или терапии.

#### Основа методики

Поскольку тромбоциты могут агрегировать при большом количестве условий и в присутствии целого ряда различных реактивов. Для традиционной агрегометрии на АДФ используются адреналин и коллаген в целях скрининга, они обеспечивают самое быстрое получение информации для начальной диагностики.

Поскольку набор этих реактивов находится в терапевтической базе. Как АДФ, так и адреналин находятся в пределах тромбоцита в органеллах, обеспечивающих хранение, и высвобождаются из тромбоцита во время нормального формирования сгустков и может тем самым вызывать дальнейшую агрегацию тромбоцитов. Следовательно, было доказано, что и то, что ответная реакция тромбоцитов на эти реактивы полезна для определения нарушения свертываемости у пациента.

Поскольку не расположен внутри тромбоцита, а обнаруживается в опорной соединительной ткани сосудистой системы, считается, что он является первым регистрирующим и прокоагулянтным фактором, с которым сталкивается тромбоцит при травме сосудов. Следовательно, изучение ответной реакции тромбоцитов на АДФ и иго приобрело важное значение.

Другие реактивы, такие как тромбин<sup>3</sup>, кальций-ионофор А 23187<sup>4</sup>, полилизин<sup>5</sup>, аспирин<sup>6</sup>, ристоцетин<sup>7</sup>, бичий фактор VIII<sup>8</sup> и серотонин<sup>9</sup> были использованы для исследования ответной реакции тромбоцитов, однако для более специфических исследований предоставляемые здесь реактивы для скрининга.

#### Реактивы

##### Необходимые материалы

Прибор для анализа, код № B4236

1. Реактив АДФ

2. Реактив адреналин

3. Реактив коллаген

4. Реактив АДФ (аденозиндифосфат): лиофилизированный препарат АДФ со стабилизатором. Хранить при температуре от +2 до +8 °C.

5. Реактив адреналин: лиофилизированный препарат адреналина битартрата. Хранить при температуре от +2 до +8 °C.

6. Реактив коллаген: лиофилизированный препарат растворимого коллагена со стабилизатором. Хранить при температуре от +2 до +8 °C.

##### Указания и меры предосторожности

7. Для in vitro диагностики.

##### Подготовка реактивов

8. Поместите в 1,0 мл дистиллированной или деионизированной воды, закройте пробирку и сразу же встряхните быстрым движением запястья подобно стряхиванию шарика термометра до получения однородной суспензии. Поскольку коллаген является белком суспензией, нежели молекулярным раствором, необходимо строго следовать процедуре разбавления, в противном случае во время срока службы изделия могут возникнуть мутности. Перед использованием оставьте разбавленный материал на 10 минут при комнатной температуре. Перед каждым использованием встряхивайте пробирку, чтобы снова перемешать содержимое. Разбавленный реактив имеет рабочую концентрацию, равную 2,0 г/л.

9. Считается, что указанные концентрации реактивов находятся в применимом диапазоне для скрининга. Тем не менее, рекомендуется, чтобы исследование агрегации проводилось с использованием растворов разбавленных реактивов для выявления различий с патологическими состояниями или тех, у которых генетическое выражение той или иной болезни неполное. При проведении данных исследований используйте 0,85% раствор, чтобы разбавить реактивы сверх тех концентраций, что были получены непосредственно при разбавлении водой.

##### Срок годности и устойчивость

10. Хранить при температуре от +2 до +8 °C. Сроки годности указаны на этикетках.

11. Ухудшение качества всех трех реактивов: нет признаков вакуума после открытия пробирки.

12. После разбавления реактивы следует хранить при температуре от +2 до +8 °C для обеспечения двухнедельной устойчивости разбавленного реактива. Реактивы можно хранить при комнатной температуре только в течение тестирования.

13. Необходимые дополнительные материалы, не входящие в комплект поставки

1. Цитрат натрия (3,8%)

2. Прибор для контроля агрегации, такой как Агрегометр\* с регистрирующим устройством (Рис. 1)

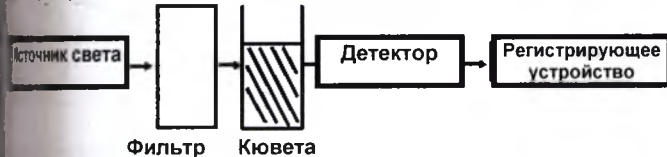


Рис. 1: Блок-диаграмма традиционного прибора для контроля агрегации тромбоцитов. Температура кюветы регулируется (+37 °C), кювета перемешивается (700-1200 об/мин)

3. Кювета для агрегации

4. 0,05 мл пипетка с одноразовыми пластиковыми наконечниками для распределения реактива

5. 1 мл пипетка с одноразовыми пластиковыми наконечниками для распределения плазмы

6. 0,05 мл пипетка с одноразовыми пластиковыми наконечниками для распределения плазмы

### Сбор и подготовка образцов

Примечание: Избегайте соприкосновения со стеклом или поликарбонатным пластиком при сборе образцов крови; не используйте гемолизированные образцы.

Возьмите у пациента кровь с помощью пластикового шприца. Удалите из шприца и тщательно распределяя, смешайте 9 частей свежей крови с 1 частью следующего антикоагулирующего раствора цитрата:

Цитрат натрия, 3,8% 3,8 г цитрата натрия (Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>7</sub> · 2H<sub>2</sub>O)

растворенного в дистиллированной или деионизированной воде и разбавленного до 1 мл.

Для подготовки обогащенной тромбоцитами плазмы центрифугируйте антикоагулированный образец при 180 x g в течение 10 минут.

Осторожно соберите обогащенную тромбоцитами плазму при помощи пластиковой пипетки. Поместите ее в пластиковую пробирку с этикеткой PRP. Закройте пробирку и оставьте при комнатной температуре. Для подготовки обедненной тромбоцитами плазмы повторно центрифугируйте оставшийся образец крови при 1 500 x g в течение 20 минут. Поместите обедненную тромбоцитами плазму в пластиковую пробирку с этикеткой PPP. Закройте пробирку и оставьте ее при комнатной температуре.

Тест необходимо провести не менее, чем через 30 минут и не более, чем через 2-получинного часа после забора образца у пациента. Вся подготовка образцов должна проводиться при комнатной температуре.

Примечание: Известно, что пониженная температура может вызывать агрегацию тромбоцитов; следовательно, не рекомендуется центрифугирование при низких температурах.

Чтобы скорректировать количество тромбоцитов, рекомендуется, чтобы все тесты определения агрегации тромбоцитов проводились с использованием одинакового количества тромбоцитов в PRP. Ввиду этого необходимо скорректировать количество тромбоцитов в PRP до 250 000 ± 25 000 тромбоцитов/мкл, используя для этого обедненную тромбоцитами плазму.

#### Процедура

Тест необходимо провести не менее, чем через 30 минут и не более, чем через 2-получинного часа после забора образца у пациента.

1. Количество тромбоцитов PRP приводится к 250 000 ± 25 000/мкл, используя PRP.
2. Добавьте 0,45 мл PRP (скорректированное количество) в одну кювету для агрегации.
3. Добавьте 0,45 мл PRP во вторую кювету для агрегации.
4. Установите исходные значения PRP и PPP согласно указаниям производителя прибора.
5. Оставьте кювету с PRP для ввода дополнительных исходных значений.
6. Инкубируйте PRP при температуре +37 °C в течение 3 минут в контрольном приборе.
7. Добавьте 50 мкл одного из агрегирующих реактивов.

Примечание: Сейчас 9 частей PRP и 1 часть агрегирующего реактива.

8. Пронаблюдайте за реакцией агрегации тромбоцитов (2-5 минут)

9. Повторите шаги 2-8 для каждого из оставшихся реактивов.

#### Контроль качества

В настоящее время промышленный контроль не доступен; тем не менее, Абернэти (Abernathy) с группой ученых ссылается на общий контроль доноров для агрегометрии тромбоцитов.

#### Результаты

Типичная схема агрегации показана на Рисунке 2. Многие исследователи предпочитают устанавливать исходное значение PRP на 90 на регистрирующем устройстве и PPP – на 10. Процент агрегации на Рисунке 2 будет равен (A/90-10) x 100 = (A/80) x 100.

Другим важным параметром является V<sub>max</sub>, который определяется на Рисунках 3 и 4. V рассчитывается как соотношение расстояния V в мм ко времени S в минутах.

При агрегации с коллагеном важно время задержки, определяемое на Рисунке 5.

Необходимо обратить внимание на форму кривой агрегации с АДФ и адреналином.

Некоторые типичные кривые показаны на Рисунке 6, где M=однофазная, B=двухфазная: 1°-только первичная агрегация и 1° + D/A= первичная агрегация с дезагрегацией.

Следует обратить внимание на то, что во многих случаях у здорового человека, у которого нет ярко выраженного нарушения свертываемости, обнаруживается отсутствие вторичной волны с адреналином<sup>11</sup>.

В статье Росси (Rossi)<sup>12</sup> есть дополнительная информация о количестве агрегометрии.

#### Ограничения процедуры

Многие лекарства, отпускаемые по рецепту, и лекарства безрецептурного отпуска могут мешать агрегации<sup>13</sup>, поэтому перед тестом пациенты не должны принимать лекарственные препараты.

Тест необходимо провести не менее, чем через 30 минут и не более, чем через 2-получинного часа после забора образца у пациента.

#### Референсные значения

Предполагается, что каждая лаборатория сама устанавливает референсные значения.

Таблица I

| Исследование А               |                      |                   | Исследование В               |                      |                   |
|------------------------------|----------------------|-------------------|------------------------------|----------------------|-------------------|
| Среднее значение агрегации % | Время задержки (сек) | Станд. отклон. SD | Среднее значение агрегации % | Время задержки (сек) | Станд. отклон. SD |
| АДФ                          | 85,5                 | -                 | 8,2%                         | 74,9                 | 5,5%              |
| Адреналин                    | 86,5                 | -                 | 8,5%                         | 76,0                 | 8,6%              |
| Коллаген                     | 83,4                 | -                 | 13,6%                        | 76,0                 | 8,7%              |
|                              | 38,6 сек             | 8,5 сек           | -                            | 31,4 сек             | 7,2 сек           |

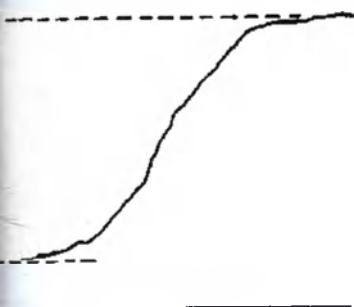
Таблица I: Представленные параметры, определенные в двух различных исследованиях. Реактивами Cluster\* для анализа агрегации тромбоцитов.

Исследование А: Включает среднее значение и стандартное отклонение (SD) здоровых пациентов, не принимающих медикаменты и не имеющих известных нарушений функции тромбоцитов; скорость перемешивания 700 об/мин; прибор контроля агрегации произведен Payton<sup>14</sup>; одна лаборатория, несколько лаборантов, несколько дней, образец 3,2% цитрата натрия.

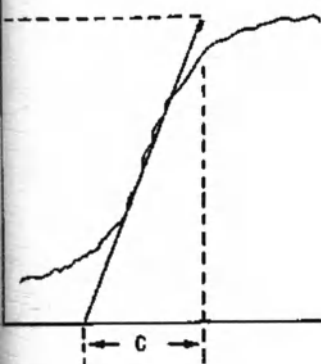
Исследование В: Включает среднее значение и стандартное отклонение (SD) различных образцов нормального контроля<sup>15</sup> скорость перемешивания 1 200 об/мин; прибор контроля агрегации произведен Chrono-log<sup>16</sup>; одна лаборатория, несколько лаборантов, несколько дней, сбор образца 3,8% натрия цитрата.

\* Chrono-log Corporation, Хаверттаун, PA 19083

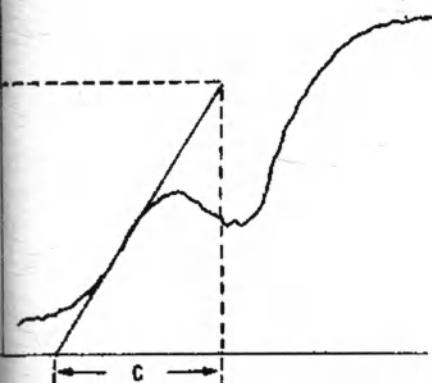
\*\* Payton Associates, Inc., Буффало NY 14202



А (разделы) / Δ Границы x 100



t/C (мин)



t/C (мин)

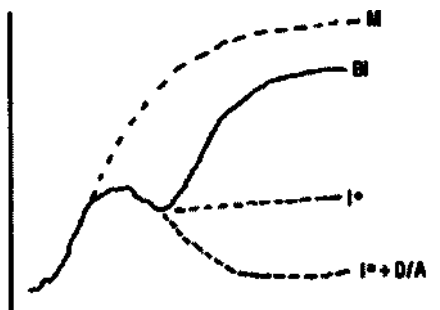


Рисунок 6  
Определение формы кривой

Таблица II. Унаследованные нарушения функции тромбоцитов<sup>®</sup>  
Унаследованное нарушение Реакция агрегации

|                                                    | АДФ | Адреналин | Коллаген | Тромбин | Ристоцетин | Тип передачи           | Характер кровотечения         |
|----------------------------------------------------|-----|-----------|----------|---------|------------|------------------------|-------------------------------|
| I. Нарушение адгезии к субэндотелиальному слою     |     |           |          |         |            |                        |                               |
| Синдром Бернара-Сулье                              | N   | N         | N        | N       | ↓          | аутосомная рецессивная | сильное                       |
| болезнь Виллебранда - Юргенса                      | N   | N         | N        | N       | ↓***       | аутосомная доминантная | различное, может быть сильным |
| II. Нарушение ретракции сгустка                    |     |           |          |         |            |                        |                               |
| Тромбастения                                       | ↓   | ↓         | ↓        | ↓       | ±          | аутосомная рецессивная | различное, может быть сильным |
| III. Нарушение выделения                           |     |           |          |         |            |                        |                               |
| Дефицит пула тромбоцитов                           | ↓   | ↓         | ↓        | ±       | ±          | переменная             | обычно легкое                 |
| Угнетение функции тромбоцитов, похожее на аспирин* | ↓   | ↓         | ↓        | ±       | ±          | переменная             | обычно легкое                 |

N = Нормальный.

± = Не диагностический.

\*\*\*= Корректируется криопреципитатом, концентратом фактора VIII или нормальной плазмой.

— = Сниженный.

### Особые рабочие характеристики

Реактивы Cluster® для анализа агрегации тромбоцитов были тщательно подготовлены для обеспечения функционирования в соответствии с результатами и в пределах, описанных для применения в *in vitro* исследованиях агрегации тромбоцитов. Воспроизводимость, полученная в ходе испытаний, в условиях практической работы, показала, что повторное определение, осуществленное на нормальных и патологических образцах пациентов привело к средней разнице в проценте агрегации приблизительно  $\pm 7\%$  для АДФ, адреналина и коллагена. Время задержки с коллагеном колеблется в среднем на  $\pm 10$  секунд у дубликатов, анализируемых аналогичным образом. Стандартные значения агрегации приведены в Таблице I, а референсные патологические пробы для некоторых наследственных болезней — в Таблице II. Тем не менее, рекомендуется, чтобы каждая отдельная лаборатория сама устанавливала значения и методики для идентификации пробы и количественного определения для более тщательной оценки их эффективности.

### Список литературы

1. Born, G.V.R. Nature **194**: 927; 1962.
2. Born, G.V.R.; Cross, M. J. Physiol. (Lond.) **168**: 178; 1963.
3. Chao, F.C.; Tullis, J.L.; Conneely, G.S.; Lawler, J.W. Thrombos. Haemostas. **35**: 717; 1976.
4. Mürer, E.H.; Stewart, G.J.; Rausch, M.A.; Day, H.J. Thromb. Diath. Haemorrh. **34**: 72; 1975.
5. Jenkins, C.S.P.; Packham, M.A.; Kinlough-Rathbone, R.L.; Mustard, J.F. Blood **37**(4): 395; 1971.
6. Kinlough-Rathbone, R.L.; Reimers, H.J.; Mustard, J.F.; Packham, M.A. Science **192**: 1011; 1976.
7. Howard, M.A.; Firkin, B.G. Thromb. Diath. Haemorrh. **26**: 362; 1971.
8. Caen, J.P.; Nurdén, A.T.; Jeanneau, C.; Michel, H.; Tobelem, G.; Levy-Toledano, S.; Sultan, Y.; Valensi, F.; Bernard, J. J. Lab. Clin. Med. **87**: 586; 1976.
9. Michal, F.; Motamed, M. Br. J. Pharmacol. **54**: 221; 1975.

10. Abernathy, L.; Hill, J.; Hutchison, D. Thrombos. Haemostas. **39**: 246; 1978.

11. Arkel, Y.S.; Haft, J.I.; Kreutner, W.; Sherwood, J.; Williams, R. Thrombosis and Haemostasis **38**: 552; 1977.

12. Rossi, E.C.; Louis, G. Thrombos. Haemostas. **37**: 283; 1977.

13. Homlsen, H. Series Haematological **8**(3): 50; 1975.

14. Day, H.J.; Holmsen, H. Annals of Clin. Lab. Sci. **2**(1): 63; 1972.

15. Lusher, J.M.; Barnhart, M.I. Thrombosis and Haemostasis **4**(2): 123; 1977.

16. Caen J.P.; et al. Thrombos. Haemos. **38**: 586; 1978.

# Набор для хромогенного исследования фактора VIII

## Предполагаемое использование

Для фотометрического выявления активности фактора VIII (антигемофильный фактор) в плазме человека.

## Конспект и основа метода

Гемофилия – это геморрагическое заболевание, сцепленное с полом и вызываемое дефицитом циркуляционного фактора VIII (Ф.VIII) или фактора IX (Ф.IX). Гемофилия А – термин используемый для дефицита Ф.VIII, она встречается от пяти до семи раз чаще, чем Гемофилия В (дефицит фактора IX) <sup>1-4</sup>. Оба заболевания переносятся Х-связанным рецессивным геном и проявляются практически только у мужчин, получивших дефектный ген от Х-хромосомы матери. При гемофилии А степень дефицита Ф.VIII определяет тяжесть геморрагических нарушений. Для нормального гемостаза требуется приблизительно от 10 до 40% от нормальной активности Ф.VIII; при значениях ниже данного диапазона, кровотечения проявляются достаточно явно.

Пациентов обычно классифицируют в три категории по активности Ф.VIII: легкая тяжесть, 25%-5% от нормы; средняя, 5% - 1% от нормы; тяжелая, менее 1% от нормы. В данном хромогенном анализе фактор VIII в образце активируется тромбином.

Активированный фактор VIII (Ф.VIIIa) затем ускоряет превращение фактора X (Ф.X) в фактор Ха (Ф.Ха) при наличии активированного фактора IX (IXa), фосфолипидов (ФЛ) и ионов кальция. Активность Ф.Ха оценивается при помощи гидролиза субстрата р-нитроанилида специфического для Ф.Ха. Начальный уровень выделения р-нитроанилина (pNA) измеряется при 405 нм. Он пропорционален активности Ф.Ха, а, соответственно, и активности Ф.VIII в образце. Химические процессы хромогенного анализа фактора VIII приведены в формулах ниже:



## Реактивы

### Предоставляемые материалы

Набор для хромогенного выявления фактора VIII, код B4238, включая 2 по 2 мл реактива фактора X, 2 по 2 мл реактива фактора IXa, 2 по 1 мл реактива субстрата, 2 по 10 мл стопорного буфера.

**Состав**  
**Реактив фактора X:** лиофилизированный препарат, содержащий около 2 ммоль бычьего Ф.X, буфер трис-(гидроксиметил)-аминометана (Трис) с pH 8 и стабилизаторы.

**Реактив фактора IXa:** лиофилизированный препарат, содержащий около 0,6 ммоль бычьего Ф.IXa, около 0,6 ммоль бычьего тромбина, около 0,06 ммоль хлорида кальция, около 0,12 ммоль фосфолипидов, буфер Трис с pH 8 и стабилизаторы.

**Реактив субстрата:** лиофилизированный препарат, содержащий около 3,4 ммоль CH<sub>3</sub>OCO-D-CHG-Gly-Arg-pNA AcOH, субстрат Ф.Ха, L-амидино-фенилаланин птеридид (α-NAPAP), Na-(2-нафтилсульфонилглицил)-D<sup>6</sup>, ингибитор тромбина и стабилизаторы.

**Стопорный буфер:** раствор, содержащий Трис, этилендиаминтетрауксусную кислоту и 0,02% азид натрия.

### Предупреждения и меры предосторожности

- Только для in vitro диагностики.
- Содержит азид натрия. Рекомендуется работать с веществом аккуратно:  
Не вдыхать и избегать контакта с кожей и слизистыми оболочками! В случае утилизации через канализацию, в целях предотвращения образования азидов, необходимо смывать большим количеством воды. Азид натрия вступая в контакт с тяжелыми металлами, такими как медь и свинец, может образовывать взрывоопасные соединения.

### Подготовка реактивов

**Реактивы факторов IXa и X:** разведите содержимое пробирки 2,0 мл дистиллированной или деионизированной воды.

**Реактив субстрата:** разведите содержимое пробирки 1,0 мл дистиллированной или деионизированной воды. **Стопорный буфер:** перед использованием смешайте 1,0 мл реактива субстрата с 10,0 мл стопорного буфера в коричневом шлейпере реактива субстрата. Аккуратно смешайте реактивы еще раз непосредственно перед использованием.

### Хранение и устойчивость

При температуре от +2 до +8 °C реактив стабилен вплоть до даты, указанной на этикетке.

**Стабильность после восстановления (реактивов факторов IXa и X, субстрата/смеси стопорного буфера):**

|                   |         |
|-------------------|---------|
| при +37 °C        | 2 часов |
| при +15 до +25 °C | 8 часов |
| при +2 до +8 °C   | 3 дня   |

Для различных анализаторов коагуляции данные по стабильности могут отличаться.

**Признаки порчи препарата:** при открывании пробирки отсутствует вакуум, реактив с трудом восстанавливается, высокая мутность или наличие частиц в стопорном буфере.

## Пробы

Смешайте 9 частей свежей крови пациента с 1 частью 0,11 или 0,13 моль/л раствора цитрата натрия. После чего как можно скорее поместите в центрифугу на 10 минут при 1 500 г. После чего сразу поместите плазму в пластиковую пробирку и храните в холодильнике до тех пор пока не будете готовы к тесту.

Плазму пациентов следует исследовать в течение 1 часа после сбора крови и максимум до 30 дней при температуре -20 °C. В связи с нестабильностью фактора VIII, плазму допускается размораживать только один раз и исследовать в течение 1 часа.

**Необходимые дополнительные материалы, не входящие в комплект поставки**

**Цитрат натрия (0,11 или 0,13 моль/л для сбора крови)**  
свежей плазмы (ПСП) или Стандартная плазма человека (код ORKL) для калибровки.

Плазма с дефицитом коагуляционного фактора VIII (челов.), код OTXW  
дистиллированная или деионизированная вода.

Спектрофотометр со следующими характеристиками:

- Длина волны: 405 нм
- Длина пути: 1 см
- Температура измерения: +25 °C, +30 °или от +37 °C.

Хлорид натрия, 0,9%.

Для конечного выявления: 20% уксусная кислота или 1 моль/л моногидрат лимонной кислоты. Смешайте 200 мл ледяной уксусной кислоты с 800 мл дистиллированной или деионизированной воды или растворите 210 г моногидрата лимонной кислоты в дистиллированной или деионизированной воде и разведите до 1 литра.)

Секундомер

Пипетки на 0,1 мл, 0,5 мл и 3,0 мл.

Пластиковые пробирки и небольшие кюветы глубиной 1 см

Контрольная плазма N, код ORKE

Контрольная плазма P, код OUPZ

Буферный раствор имидазола, код OQAA или

Верональный буфер Оурена (Owren) от Dade®, код B4234 или

CA системный буфер от Dade®, код B4265 или

Анализатор коагуляции (см. раздел «Ограничения анализа»)

## Оборудование

Хромогенный анализ фактора VIII подходит для многих анализаторов коагуляции

Следуйте инструкциям производителя выбранного анализатора.

## Процедура

### Ручной режим:

#### Процедура кинетического анализа/конечной точки

Анализ следует проводить при температуре +25 °C, +30 °C или +37 °C. Задайте длину волны фотометра в 405 нм и ноль относительно хлорида натрия 0,9%.

#### Разбавление образца/калибровочной плазмы

Анализ следует выполнять с разбавлением образца 1 : 31 или калибровочной плазмы. Данное разбавление следует выполнять следующим образом: смешайте 0,1 мл образца или калибровочной плазмы с 3,0 мл хлорида натрия 0,9% в пластиковой пробирке.

#### Расчет калибровочной кривой:

Допускается выполнять анализ по однократной разведенной калибровочной плазме, однако, в этом случае, калибровочную кривую следует строить очень точно. Для подобных целей подойдет калибровочная плазма с известным уровнем Ф.VIII, ее необходимо разбавить хлоридом натрия по следующей схеме: например к 100%

| Разбавление калибр. плазмы | 1:21 | 1:31 | 1:62 | 1:124 | Нулев. станд. |
|----------------------------|------|------|------|-------|---------------|
| 0,9% NaCl                  | 2,0  | 3,0  | 1,0  | 1,0   | 1,0           |
| Калибр. плазма             | 0,1  | 0,1  |      |       | -             |
| Смешать и передать Ф.VIII* | мл   | мл   | мл   | мл    | мл            |
|                            | 148  | 100  | 50   | 25    | 0             |

\* При исследовании референсной плазмы, предлагаемой на рынке, присутствующее процентное соотношение фактора в разбавлении 1:31 и будет конечным значением. Присутствующее процентное соотношение для других разбавлений следует задавать соответствующим образом. Концентрация Ф.VIII в разбавлении 1 : 21 высчитывается следующим образом: концентрация Ф.VIII в разбавлении 1 : 31 x 1,48 = концентрация Ф.VIII в разбавлении 1 : 21, т.е., 100% x 1,48 = 148%.

### Описание процедуры

Все реактивы и пластиковые пробирки следует прогреть в инкубаторе до требуемой температуры. Оптимальная воспроизводимость достигается в случае, если температура измерения в среднем не отклоняется более чем на 0,2 °C от выбранной температуры реакции

| Этап                                                         | Кинетич. анализ         | Конечн. анализ |
|--------------------------------------------------------------|-------------------------|----------------|
| Разбавление образца/калиб. плазмы 1 : 31**                   | 0,1 мл                  | 0,1 мл         |
| Реактив фактора X                                            | 0,1 мл                  | 0,1 мл         |
| Реактив фактора IXa                                          | 0,1 мл                  | 0,1 мл         |
| Хорошо смешать и поместить в инкубатор                       | 90 секунд при +37 °C*** |                |
| Доб. реактив субстрата и стопорный буфер                     | 0,5 мл                  | 0,5 мл         |
| Смешать и измерить увеличение абсорбции немедленно (ΔA/мин). | 60 сек                  | 60 сек         |
| Доб. 20% уксус. или 1 моль/л лимон. кислоты                  | -                       | 0,1 мл         |
| Смешать и измерить абсорбцию по 0,9% NaCl                    | -                       | 405 нм         |

\*\* См. раздел «Примечания по процедуре анализа»

\*\*\* 90 сек. при +37 °C, 120 сек. при +30 °C или 180 сек. при +25 °C.

Для конечного анализа плазму следует подготовить для образцов и каждого разбавления калибровочной плазмы.

|                                                    |        |
|----------------------------------------------------|--------|
| 20% уксусная кислота                               | 0,1 мл |
| Доб. Реактив фактора X. Смешать.                   | 0,1 мл |
| Доб. Реактив фактора IXa. Смешать.                 | 0,1 мл |
| Доб. разбавленный образец. Смешать.                | 0,1 мл |
| Доб. реактив субстрата и стопорный буфер. Смешать. | 0,5 мл |
| Смешать и измерить абсорбцию по 0,9% NaCl.         | 405 нм |

### Автоматический вариант:

По запросу Dade Behring может направить инструкции для конкретного анализатора коагуляции.

### Внутренний контроль качества

Нормальный диапазон:

Контрольная плазма N

Патологический диапазон:

Контрольная плазма P

Оба контроля следует анализировать при каждой калибровке, и не реже чем через 3-4 часа в течение дня тестирования (один для нормального и один для патологического диапазона). Контрольные пробы должны обрабатываться аналогично тестируемым образцам. Для каждой лаборатории следует определить свой собственный диапазон контроля качества, либо при помощи целевых значений и диапазонов производителя контрольных препаратов, либо задав свой собственный интервал доверия лаборатории. Как правило подобный диапазон составляет от ± 2,0 до ± 2,5 стандартных отклонений (SD) от контрольного среднего значения. Если полученное контрольное значение лежит вне заданного интервала доверия, необходимо установить причину, осмотрев анализатор коагуляции, реактивы и калибровку.

Вычисление результатов анализа

а) при помощи одного калибровочного коэффициента (F)  
Так как калибровочная кривая линейна от 0 до 100%, активность Ф.VIII в образце можно вычислить при помощи известного значения для калибровочной плазмы (FPP, стандартной человеческой сыворотки). I. Для кинетических анализов  
Процент активности фактора VIII в калибровочной плазме = A  
ΔA/мин. калибровочной плазмы = C  
ΔA/мин. нулевого стандарта = S  
ΔA/минуты образца = S  
Коэффициент калибровки = F

$$\frac{A}{C - S} = F$$
  
Активность фактора VIII в неизвестном образце в процентах вычисляется по следующему отношению: (S - B) x F = активность фактора VIII в образце в %. II. Для конечных анализов

Процент активности фактора VIII в калибровочной плазме = A  
Поглощение калибровочной плазмой = C  
Слепое поглощение калибровочной плазмой = C<sub>b</sub>  
Поглощение образцом = S  
Слепое поглощение образцом = S<sub>b</sub>  
Поглощение нулевым стандартом = B  
Слепое поглощение нулевым стандартом = B<sub>b</sub>  
Коэффициент калибровки = F  
$$\frac{A}{(C - C_b) - (B - B_b)} = F$$

Активность фактора VIII в неизвестном образце в процентах вычисляется по следующему отношению: [(S - S<sub>b</sub>) - (B - B<sub>b</sub>)] x F = активность фактора VIII в образце в %.

б) При помощи калибровочной кривой  
I. Для кинетических анализов  
Отложите активность Ф.VIII в процентах на оси абсцисс, а поглощение/мин., полученное при 405 нм, на оси ординат. Считайте активность Ф.VIII в процентах для неизвестного образца с калибровочной кривой найдя точку где ΔA/мин. пересекает кривую.  
II. Для конечных анализов  
1. Вычитите слепое поглощение калибровочной плазмы (C<sub>b</sub>) из поглощения калибровочной плазмой (C).  
2. Вычитите слепое поглощение плазмы образца (S<sub>b</sub>) из поглощения образцом (S).  
3. Вычитите слепое поглощение нулевого стандарта (B<sub>b</sub>) из поглощения нулевого стандарта (B). Постройте активность Ф.VIII в процента на оси абсцисс и разность (C - C<sub>b</sub>) на оси ординат на миллиметровой бумаге. Считайте активность Ф.VIII в процентах для неизвестного образца с калибровочной кривой найдя точку где (S - S<sub>b</sub>) пересекает кривую.

Ограничения анализа

Для определенных анализаторов коагуляции Dade Behring поставляет инструкции. Необходимость использования хромогенного анализа Ф. VIII на других анализаторах коагуляции должно оцениваться тестирующей лабораторией. При этом возможно получение рабочих характеристик отличных от представленных здесь. Полученные результаты анализов всегда должны интерпретироваться совместно с историей болезни, клинической картиной пациента, а так же с результатами других медицинских обследований.

Эталонный интервал

При помощи хромогенного анализа фактора VIII у 40 предположительно здоровых людей были получены ожидаемые уровни Ф.VIII – от 50 до 175%. Систематические отклонения от данных значений могут быть определены при помощи специального прибора. Возможно, что для лаборатории будет необходимо рассчитать собственный референсный диапазон.

Примечания по процедуре анализа

- Чувствительность анализа в нижней части диапазона Ф.VIII (0-10%) можно повысить если в качестве стандартов использовать дефицитную плазму с коагулянтным фактором VIII и FPP или стандартную человеческую сыворотку. Подготовьте 4 стандарта смешав обе плазмы так, чтобы получить 100, 50, 25 и 0% (только дефицитная плазма с коагулянтным фактором VIII (челов.)) В данном случае оба стандарта и образцы следует обрабатывать в разбавлении 1 : 31.
- Все реактивы и пластиковые пробирки следует прогреть в инкубаторе до требуемой температуры. Оптимальная воспроизводимость достигается в случае, если температура измерения в среднем не отклоняется более чем на 0.2 °C от выбранной температуры реакции.
- В конечном методе вместо 20% уксусной кислоты можно использовать 1 моль/л лимонной кислоты.
- Для образцов и измерений рекомендуется применять одноразовые пластиковые предметы.
- Референсную кривую необходимо задавать для каждой смены прибора или новой партии хромогенного анализа фактора VIII.

Особые рабочие характеристики

При сравнительном исследовании рабочих характеристик, было исследовано 98 образцов пациентов как при помощи хромогенного анализа фактора, так и коагулометрическим анализом при помощи дефицитной плазмы и реагента Актин® активированного цефалопластинном. Полученный коэффициент корреляции составил 0,96, а уравнение регрессии: y = \*1,0 x + 1,0%. Точность анализа зависит в некотором роде от качества оборудования и навыка оператора, выполняющего данный анализ. В таблице ниже приведены оценки точности, полученные при помощи кинетического метода при +37 °C.

| Образец 1                | N  | Среднее % | SD  | CV % |
|--------------------------|----|-----------|-----|------|
| Точность между анализами | 11 | 118       | 5   | 4    |
| Точность внутри анализа  | 11 | 124       | 5   | 4    |
| Образец 2                | N  | Среднее % | SD  | CV % |
| Точность между анализами | 11 | 25        | 2,5 | 10   |
| Точность внутри анализа  | 11 | 28        | 2,6 | 9    |

Концентрации гепарина до 10 ед./мл не оказывают влияния на хромогенный анализ фактора VIII. Линейность хромогенного анализа фактора VIII составляет от 0-100% Ф.VIII

Список литературы

- Jackson, C.M.; Nemerson, Y. Ann. Rev. Biochem.; 49: 765–811; 1980.
- Bloom, A.L.; Thomas, D. P., eds. Hemostasis and thrombosis. New York: Churchill Livingstone Inc.; 1981.
- Colman, R.W.; Hirsh, J.; Marder, V.J.; Salzman, E.W. Hemostasis and thrombosis, basic principles and clinical practice. Philadelphia: J.B. Lippincott Company; 1982.
- Thompson, A.R.; Harker, L.A. Manual of hemostasis and thrombosis, Edition 3. Philadelphia: F.A. Davis Company; 1983.
- van Dieijen G, et al. J. Biol. Chem.; 256: 3433–42; 1981.
- Svendsen, L., et al Thromb. Res. 34: 457–462; 1984.
- Tran, T.H., et al. Thromb. Haemost. 58: 341; 1987.

## Набор реагентов для иммунотурбидиметрического определения антигена фактора фон Виллебранда (vWF Ag)

### Предназначение

Набор vWF Ag предназначен для лабораторного иммуно-турбидиметрического определения массы vWF Ag в плазме человека.

### Краткие данные

Фактор фон Виллебранда (vWF) представляет из себя гликопротеин мультимерной формы, выделяемый в плазму эндотелиальными клетками и мегакариоцитами<sup>1</sup>. Молекулярная масса может достигать 15000 кДа. Находясь вне α-гранул тромбоцитов, после выделения он подвергается расщеплению плазмином.

vWF играет важную роль как при первичном гемостазисе, формируя гемостатическую пробку вследствие своей функциональной роли при адгезии и агрегации тромбоцитов, так и при коагуляционном процессе<sup>2</sup>, стабилизируя фактор VIII.

Качественный и/или количественный дефицит vWF может вызвать болезнь Виллебранда (vWD) – наиболее распространенное наследственное нарушения кровоизвлечения (один больной на каждые сто человек<sup>3</sup>). У фактора фон Виллебранда преобладает аутосомная форма наследования. Определено три основных вида болезни Виллербранда<sup>4</sup>.

Тогда как гемокультура реагента фон Виллебранда может быть использована для определения уровня активности кофермента ристоцетина (ristocetin) фон Виллебранда (vWF:RCo), анализ антиген фактора фон Виллебранда определяет уровень конкретного антигена. Оба анализа необходимы для дифференциального анализа типа болезни Виллебранда.

70-80% всех типов болезни Виллебранда составляет первый тип. При нем у больного отмечается понижение активности фактора фон Виллебранда и его антигена. Второй тип этой болезни характеризуется качественным дефицитом активности фактора фон Виллебранда. При этом уровень антигена может не выходить за нормальные рамки. У пациентов с третьей разновидностью болезни отмечается полное отсутствие фактора фон Виллебранда как в плазме, так и в клеточных компарентах.

| Тест        | Тип 1         | Тип 2А        | Тип 2В        | Тип 2N | Тип 3       |
|-------------|---------------|---------------|---------------|--------|-------------|
| vWF Ag*     | ↓             | ↓             | ± ↓           | Норма  | Отсутствует |
| vWF:RCo     | ↓             | ↓↓            | ↓ или ↓↓      | Норма  | Отсутствует |
| Фактор VIII | Норма или ± ↓ | Норма или ± ↓ | Норма или ± ↓ | ↓↓     | ↓↓          |

Следует отметить, что недостаток фактора фон Виллебранда может также отмечаться при различных болезнях - таких, как системная красная волчанка, миелома, лимфома и др. В подобных случаях следует вести речь о приобретенной болезни Виллебранда. Активность фактора фон Виллебранда и его антигена может повышаться при любых видах воспалительных процессов как результат повреждения сосудистого эндотелия<sup>4</sup>. Помимо этого, повышенные уровни фактора фон Виллебранда могут отмечаться у пациентов с инфарктом миокарда<sup>5</sup>.

## Принцип действия

Небольшие частицы полистирола с ковалентно подсоединенными определенными антителами скапливаются при перемешивании с образцами, содержащими антиген фон Виллебранда, что определяется турбидиметрически как помутнение, пропорциональное уровню антигена в тестовом образце.

## Реагенты

### Предоставленные материалы

Код № ОРАВ: 4х6мл (2мл латексного реагента + 4мл разбавителя) реагента антигена фактора фон Виллебранда.

## Состав

Набор антигена фактора фон Виллебранда содержит следующие реагенты:

4х5мл буфера (глициновый буфер)

4х2мл латексного реагента (зеленый колпачек, раствор, содержащий глицин для разбавления латексного реагента)

## Меры предосторожности

1. Предназначено для использования исключительно в лабораторных условиях.
2. При обращении с реагентами, содержащими азид натрия, следует соблюдать соответствующие меры предосторожности.

Избегайте попадания внутрь, контакта с кожей и слизистой! При выливании в водосток следует пропустить достаточное количество воды для предотвращения накопления азидов. Азид натрия может вызывать образование взрывоопасных азидов при контакте с такими тяжелыми металлами, как медь или свинец.

## Подготовка реагентов

### Буфер:

Перед открытием сосуд с буфером следует подержать при комнатной (+15-25°C) температуре в течение 15 минут. Слегка взболтайте сосуд.

### Латексный реагент:

Вылейте все содержимое сосуда с разбавителем для латексного реагента (зеленый колпачек) в сосуд с латексным реагентом (с таким же зеленым колпачком) из одного и того же набора. Убедитесь, что разбавляющая жидкость полностью перелита в сосуд с латексным реагентом. Затем взболтайте сосуд с этой смесью, не допуская образования пузырьков. Оставьте полученный раствор постоять при комнатной (+15-25°C) температуре на 15 минут, после чего слегка взболтайте его еще раз.

### Разбавитель для латексного реагента:

Данный разбавитель готов для использования.

## Хранение и стабильность

При температуре хранения от +2 до +8°C в неповрежденных сосудах реагенты стабильны до истечения срока годности, указанного на упаковке.

Стабильность после восстановления/при открытых (закрытых) сосудах

15 дней при температуре от +2 до +8°C  
7 дней при температуре от +15 до +25°C

Каждый анализатор имеет индивидуальные свойства стабильности.

## Образцы

Чтобы отделить плазму, аккуратно перемешайте одну часть раствора цитрата натрия (0,109 моль/л, т.е. 3,2%) с 9-ю частями венозной крови так, чтобы не образовалась пена. Центрифугируйте при 2500 не менее 10 минут, уберите всплывшую на поверхность плазму и держите при температуре от +15 до +25°C, пока того требует анализ, но не дольше 8 часов. Образцы плазмы можно хранить при температуре от +2 до +8°C в течение суток, либо в глубокой заморозке при температуре -20 до -30°C сроком до 1 месяца. Перед анализом и смешиванием замороженные образцы плазмы следует размораживать при температуре +37°C в течение как минимум 15-ти минут.

## Процедура

При необходимости следует обращаться к соответствующим разделам Руководства по использованию. Это особенно важно, когда речь идет о калибровке, загрузке и контроле качества.

## Необходимые материалы (в наборе не поставляются)

Буфер: Dade® Owren веронал буфер (код № B 4234-25)  
Для калибровки: Стандартная человеческая плазма (код № ORKL)  
Для контроля качества: Контрольная плазма N (код № ORKE) и плазма P (код № OUPZ)  
Коагуляционный анализатор Dade Behring для vWF Ag\*.

## Коагуляционный анализатор

Антиген фактора фон Виллебранда может использоваться с различными коагуляционными анализаторами. Пожалуйста, следуйте указаниям Руководства по использованию.

## Калибровка

Калибровочная проба производится с помощью стандартной человеческой плазмы (откалиброванной согласно Стандарту ВОЗ 97/586). Стандартные разбавители получаются автоматически при смешивании коагуляционных анализаторов и веронального буфера Dade Owren в соответствии с параметрами, заданными в анализаторы для проведения теста. Сам по себе буфер представляет 0% отметку. Кривую калибровки можно увидеть на экране, зайдя в соответствующий пункт меню Калибровки (см. Соответствующий раздел Инструкции по использованию).

## Образцы пациента

Образцы плазмы пациентов используются неразбавленными. Растворы с верональным буфером Dade Owren получаются автоматически при использовании коагуляционных анализаторов. Образцы плазмы пациентов идентифицируются коагуляционными анализаторами посредством сканирования их штрих-кода сканером штрих-кода, либо ввода их данных с клавиатуры.

## Внутренний контроль качества

Чтобы удостовериться в точности и воспроизводимости полученных результатов, необходимо провести процедуру контроля. Для этого следует взять два разных уровня контроля за одну смену. Используйте Контрольные Плазмы N и P.

Подготовьте контрольные материалы и занесите в коагуляционные анализаторы информацию, содержащуюся в наборах контрольных плазм. Эти контрольные препараты используются неразведенными. Необходимые растворы получаются автоматически при помощи коагуляционных анализаторов.

Если результат контрольного замера находится за рамками правдоподобных результатов, замер следует произвести повторно. Если повторный результат подтверждает отклонение, следует создать новую кривую для анализа. Не выдавайте результаты анализа пациента до тех пор, пока не будет определена и устранена причина отклонения в результатах.

## Результаты

vWF Ag тестирование производится анализаторами автоматически, как только образцы загружены. После этого результаты выводятся на экран.

## Ограничения параметров процедуры и эффект «сползания»

Следует использовать те коагуляционные анализаторы, для которых имеются тестовые протоколы. Использование антиген фактора фон Виллебранда в совокупности с иными коагуляционными анализаторами должно быть согласовано с тестовой лабораторией. В таких случаях показатели могут отличаться от приводимых здесь. Пожалуйста, обращайтесь к Инструкции по использованию, прилагаемой к вашим Коагуляционным Анализаторам или к Инструкции по применению антиген фактора фон Виллебранда относительно потенциального влияния эффекта «сползания», гемоглобина, билирубина, липемии или гепарина.

Крайне малое присутствие антибычьего альбумина и/или антикроличьих антител по определенным причинам может вызывать переоценку антиген фактора фон Виллебранда (vWF Ag). Тот же результат может быть вызван присутствием ревматоидного фактора<sup>6</sup>.

## Ожидаемые значения

Значения, полученные в разных лабораториях, могут различаться в зависимости от используемой техники, поэтому каждой лаборатории следует установить свои собственные контрольные интервалы. (Для более подробной информации об установке контрольных интервалов обращайтесь к документу Национального комитета клинических лабораторных стандартов c28-A, Как определять и устанавливать контрольные интервалы в клинических лабораториях, Одобрённые рекомендации.)

На уровень плазмы vWF Ag могут влиять возраст пациента, постклимактерический период, физические упражнения, стресс<sup>7</sup>.

Нормальная плазма фактора фон Виллебранда у взрослого пациента обычно находится в диапазоне 50-160%<sup>8,9</sup>.

## Особые характеристики процедуры

### Область измерения

Пожалуйста, обращайтесь к Руководству по использованию вашего Коагуляционного Анализатора или Инструкции по применению антиген фактора фон Виллебранда.

### Особенности

Антиген фактора фон Виллебранда (vWF Ag) определяет уровень антигена фактора фон Виллебранда в тестовом образце плазмы.

## Точность

Изучение точности проводилось при помощи коагуляционных анализаторов посредством определения Контрольной плазмы Р и Контрольной плазмы N.

Коэффициент вариации (внутритестовая точность) при этом находился в пределах 1,4-4,2%, тогда как коэффициент вариации изо дня в день (межтестовая точность) находился в диапазоне от 0,9% до 4,2%.

## Библиография

1. Фервай К.Л.: Биосинтез человеческого фактора фон Виллебранда. Гемостазис 1988; 18: 224-245.
2. Руггери З.М., Варе Дж.: Структура и назначение фактора фон Виллебранда. Тромб. Гемостазис 1992; 67: 594-599.
3. Вернер Е.Дж., Броксон Е.Х., Такер Е.Л. и другие: Распространенность болезни Виллебранда среди детей: межнациональное исследование. Дж.Педиатр. 1993; 123: 893-898.
4. Бланн А.: Фактор фон Виллебранда и эндотелий при васкулярных заболеваниях. Бр.Дж. Биомед. Наук. 1993; 50: 125-134.
5. Лип Дж.Уай.Х., Бланн А.Д.: Фактор фон Виллебранда и его влияние на кардиоваскулярные заболевания. Бр.Харт Дж. 1995; 74: 580-583
6. Фавалоро Э.Дж., Эбауд М., Артур К.: Потенциальная возможность ошибочного диагностирования или классификации болезни Виллебранда при применении иммунолюминесцентного анализа и наличии ревматоидного фактора. Эм.Дж.Гематол. 2001; 66: 53-56.
7. Вамала С., Мюррей М.А., Хорстен М. и другие: Социально-экономический статус и определяющие факторы гемостатической функции у здоровой женщины. Атертериосклероз. Тромб. Васкул.Биол. 1999; 19: 485-492.
8. Холмберг Л., Бернторп Э., Доннер М., Нильсон И.М.: Болезнь Виллебранда, характеризующаяся увеличением ристоцетиновой чувствительности и присутствием в плазме всех мультимерфакторов фон Виллебранда. Кровь 1986; 68 (3): 668-672.
9. Нишино М., Гирма Дж.П., Ротшильд К., Фрессино Э., Майер Д.: Новый тип болезни Виллебранда с нарушением скрепления фактора VIII. Кровь 1989; 74 (5): 1591-1599.

## Тестовый набор ProC Ac R

### Тест на сопротивляемость активированному протеину С

Тест на основе яда гадюки Рассела для определения сопротивления активированному протеину С, которое может быть вызвано нарушением гена фактора V (Лейдена).

#### Предназначение

Тест ProC Ac R - это функциональный тест сворачиваемости крови, предназначенный для исследования сопротивляемости активированному протеину С (APC) в плазме пациентов с дефектом фактора V (Лейдена). Также этот тест могут проходить пациенты, принимающие стабилизирующие оральные антикоагулянты или гепариновую терапию.

#### Краткие данные

Сопротивление активированному протеину С связывается с процессами мутации гена фактора V (например, фактор V (Лейдена)). Последствием мутации является замена аминокислоты аргинин 506 (R) глутамином (Q) в факторе V протеина 1. Это замедляет инактивацию фактора Va активированным протеином С, вызывая гиперкоагуляционное состояние. Наличие фактора V (Лейдена) является наиболее распространенной (20-50% всех случаев) причиной врожденной тромбофилии<sup>2</sup>.

#### Принцип действия

Тест ProC Ac R активизирует эндогенный протеин С, инкубируя плазму ядом *щитомордника медноголового*. После этого проводится тест на разбавленный яд гадюки Рассела (ТЯГР, активатор из яда змеи для фактора X). ТЯГР чувствителен к изменениям концентрации активированного протеина С. У здоровых людей активация протеина С увеличивает результат в два-три раза по сравнению с плазмой без активатора. У пациентов с фактором V (Лейдена) активация протеина С ядом вызывает лишь минимальную пролонгацию результата (обычно менее чем в 1.5 раза по сравнению с неактивированной плазмой). Чтобы минимизировать эффект других переменных, влияющих на процесс загущения, следует определить времена загущения активированного и не активированного ядом образца.

Сопротивление активированного протеина С также может быть вызвано другими мутациями гена фактора V (например, фактор V (Кембридж) и фактор V (Гонк Конг)).

#### Реагенты

##### Предоставленные материалы

Тест ProC Ac R

Тестовый набор, Код № OPBC c

5x 4,0мл PR3V реагента

5x 2,0мл активирующего реагента

**Примечание:** Количество тестов для разных коагулометров может различаться.

#### Состав

**Активирующий реагент:** Лиофилизат, содержит яд щитомордника медноголового (< 0,1г/л) в растворе буфера-стабилизатора.

Консерватор: азид натрия (< 0,01%)

**PR3V реагент:** Лиофилизат, содержит разбавленный яд гадюки Рассела, обогащенный фосфолипидами (< 1мг/л)

Растительные фосфолипиды (< 10г/л), кальций (0,1 М) и гепариновый ингибитор (< 0,5г/л).

Консерватор: азид натрия (< 0,01%)

### Меры предосторожности

1. Для использования исключительно в лабораторных условиях.
2. При обращении с реагентами, содержащими азид натрия, следует соблюдать соответствующие меры предосторожности.  
Избегайте попадания внутрь, контакта с кожей и слизистой! Азид натрия может вызывать образование взрывоопасных азидов при контакте с такими тяжелыми металлами, как медь или свинец.

### Подготовка реагентов

- Восстановите активатор в 2,0мл дистиллированной или деионизированной воды без консервантов, как показано на этикетке бутылочки. В результате должен получиться чистый бледно-зеленый раствор без различных частиц.
- Восстановите PR3V реагент в 4,0мл дистиллированной или деионизированной воды без консервантов, как показано на этикетке бутылочки. В результате должен получиться полупрозрачный бледный раствор без различных частиц.
- Аккуратно переверните, чтобы перемешать. **Не встряхивайте!**
- Выдерживайте 10 минут при комнатной температуре (от +15 до +25°C) перед использованием.
- Снова аккуратно перемешайте реагенты перед использованием.

### Хранение и стабильность

При температуре хранения от +2 до +8°C в неповрежденных сосудах замороженные сухие реагенты стабильны до истечения срока годности, указанного на упаковке.

Стабильность после восстановления (закрытый сосуд)

| Температура: | ProC® Ac R активатор | ProC® Ac R PR3V реагент |
|--------------|----------------------|-------------------------|
| +2 до +8°C   | 2 недели             | 2 недели                |
| +20 до +25°C | 12 дней              | 12 дней                 |
| +37°C        | 6 часов              | 6 часов                 |
| -20°C        | 2 недели             | 2 недели                |

**Признаки выхода реагента из строя:** Если при откупоривании бутылочки есть подозрения в нарушении вакуумности упаковки и/или реагент влажный, данный реагент следует вернуть. Если в восстановленных препаратах явно различимы частицы, признаки загрязнения или же если они не растворяются в течение 15 минут после добавления дистиллированной или деионизированной воды, пожалуйста, обратитесь к вашему дистрибьютеру. Не замораживайте и не размораживайте более одного раза после восстановления!

### Необходимые материалы (в наборе не поставляются)

Цитрат натрия (0,11 М или 3,2%) для забора крови

Контрольная Плазма N, Код № ORKE

ProC Контрольная Плазма, Код № OQKE

Дистиллированная или деионизированная вода без консервантов

Пластиковые тубы для теста

Пипетки для отмеривания 100мкл, 2,0мл и 4,0мл

Водная ванночка для манипуляций +37°C

Таймер или секундомер

Физиологический солевой раствор (0,15М хлорида натрия) для использования с коагулометром BCS®

Системный буфер Dade® CA для использования с коагулометрами Systemex®, Код № B4265 или

Верональный буфер Dade® Owren, Код № B4234

Коагулометр (Смотрите «Ограничения параметров процедуры»)

### Оборудование

Тест ProC® Ac R можно проводить в ручном режиме или в автоматическом с применением различных коагулометров. Обращайтесь к Руководству по использованию от производителей!

### Сбор и подготовка образца

Важно: любые образцы плазмы потенциально несут угрозу инфицирования!

Для получения плазмы смешайте девять частей свежесобранной венозной крови пациента с одной частью цитрата натрия (0,11M) таким образом, чтобы не образовывалась пена. Центрифугируйте образец крови в течение хотя бы 10 минут при 1500 x g незамедлительно после забора крови у пациента и заберите всплывающую плазму пипеткой. При отделении плазмы удостоверьтесь также, что пипеткой не были извлечены тромбоциты. Если предполагается заморозить образец, центрифугируйте отделенную плазму снова, после чего немедленно замораживайте.

### Стабильность образца

при температуре от +15 до +25°C 4 часа (свежая плазма)

при температуре -30°C 6 месяцев (если тромбоциты удалены путем двойного центрифугирования непосредственно перед замораживанием).

### Процедура теста

#### Ручной режим:

##### Тест с активатором:

1. Предварительно разогрейте достаточное количество **PR3V реагента** (0,1мл для одного теста) до  $+37 \pm 1^\circ\text{C}$  в реагентном резервуаре.
2. Диспензируйте 0,1мл тестируемой плазмы в тестовую трубку.
3. Добавьте 0,1мл **активатора** к тестируемой плазме и инкубируйте ровно 5 минут при  $+37 \pm 1^\circ\text{C}$ .
4. Добавьте 0,1мл предварительно разогретого до  $+37 \pm 1^\circ\text{C}$  **PR3V реагента**, сразу же запустите секундомер и определите время загущения.
5. Повторите процедуру теста для двойного определения, чтобы получить усредненный результат.

##### Тест без активатора:

1. Предварительно разогрейте достаточное количество **PR3V реагента** (0,1мл для одного теста) до  $+37 \pm 1^\circ\text{C}$  в реагентном резервуаре.
2. Диспензируйте 0,1мл тестируемой плазмы в тестовую трубку.
3. Добавьте 0,1мл **солевого раствора** к тестируемой плазме и инкубируйте ровно 5 минут при  $+37 \pm 1^\circ\text{C}$ .
4. Добавьте 0,1мл предварительно разогретого до  $+37 \pm 1^\circ\text{C}$  **PR3V реагента**, сразу же запустите секундомер и определите время загущения.
5. Повторите процедуру теста для двойного определения, чтобы получить усредненный результат.

#### Автоматический режим:

Тестовые протоколы для коагулометров могут быть получены по запросу.

Проверено поведение вышеупомянутых реагентов в сочетании с различными анализаторами на предмет оптимального функционирования системы и соответствия характеристикам соответствующих препаратов.

Препараты могут работать некорректно при использовании модифицированных продуктов, результаты таких тестов могут быть ошибочными. Ответственность за использование наших препаратов в сочетании с анализаторами, не указанными в этом документе как проверенные на совместимость, возлагается на пользователя в полной мере.

### **Внутренний контроль качества**

Нормальный диапазон: Контрольная Плазма N

Патологический диапазон: ProC® Контрольная Плазма

Следует применять два контрольных препарата (один - по нормальному диапазону и один - с наличием фактора V Лейдена). Нормальная контрольная плазма может быть определена из ряда свежезабранных нормальных плазм, каждая из которых была протестирована на отсутствие признаков мутации фактора V Лейдена. Набор плазм следует собрать в день забора, а затем заморозить для последующего использования. Позитивный контрольный препарат можно взять у пациента с наличием фактора V Лейдена.

Замораживать плазму следует при  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Обходиться с контрольными препаратами следует точно также, как и с образцами.

Допустимые ограничения следует установить для каждой контрольной плазмы путем проведения анализа на точность в соответствии с руководствами Национального комитета клинических лабораторных стандартов. Эти документы рекомендуют анализировать контрольные препараты в самом начале серии тестов, по крайней мере один раз за восьмичасовую смену, и при каждой смене реагентов. Каждой лаборатории следует установить свои собственные интервалы контроля качества для обоих контрольных препаратов путем применения целевых значений и диапазонов производителя контрольных препаратов или же контрольных значений, определенных непосредственно в лаборатории для каждого набора ProC Ac R теста. Обычно этот интервал составляет менее  $\pm 2,5$  стандартного отклонения от контрольного значения.

Если контрольные значения находятся вне доверительного интервала, не следует выдавать окончательные результаты анализа пациента, пока не будет установлен, исправлен и задокументирован источник погрешности. Определите, какая именно часть инструмента/реагента/контрольного препарата функционировала некорректно и устраните неполадку. После того, как ошибка устранена и задокументирована в соответствии с качественной лабораторной практикой, повторите тестирование контрольных препаратов. Если результаты находятся в доверительных пределах, можно тестировать образцы пациента и передавать полученные результаты.

### **Ограничения параметров процедуры**

Тесты ProC Ac R проводились на образцах пациентов, проходящих курс оральной антикоагуляционной терапии, гепариновой и низкомолекулярной гепариновой терапии, а также пациентов с волчаночными антикоагулянтами.

Образцы таких пациентов могут демонстрировать значительно более долгое время загущения, чем образцы здоровых людей.

При использовании солевого раствора или системного буфера СА время загущения также пролонгируется. Как следствие, частное от «время загущения с активатором/ время загущения без активатора» не поддается сомнению и сохраняет свою диагностическую ценность.

Терапевтические дозировки гирудина или других прямых тромбиновых ингибиторов вызывают увеличение времени загущения.

Результаты этого тестирования всегда следует интерпретировать в сочетании с данными медицинской истории пациента, клинической информацией и другими доступными параметрами.

## Влияющие факторы

Желтушные, липемические и гемолитические образцы, а также образцы с низким гематокритом нельзя использовать с этим тестом, так как наличие перечисленных заболеваний может привести к недостоверности результатов (для более детальных объяснений смотрите документ Национального комитета клинических лабораторных стандартов H21-A3). Низкая<sup>3</sup> активность факторов VII, VIII, IX и XII не является помехой для теста ProC Ac R. Активность факторов II и V более 10% и более 20% для фактора X также не влияют на результаты теста. В начальной стадии лечения оральными антикоагулянтами, т.е. перед стабилизацией, тест ProC Ac R может показывать слишком низкое соотношение. Тот же результат отмечается при концентрации протеина С менее 50%.

## Ожидаемые значения

Значения (соотношения) для здоровых людей могут отличаться в разных лабораториях в зависимости от параметров используемой процедуры. По этой причине каждой лаборатории следует установить свои собственные справочные интервалы, основываясь на методике процедуры теста и модели используемого коагулометра.

В целом, соотношения, меньшие или равные 1,5, сигнализируют о наличии фактора V (Лейдена).

Соотношения между 1,5 и 2,1 могут свидетельствовать о низкой концентрации протеина С и говорят о необходимости проведения дальнейших исследований (например, специальных анализов на протеин С и ДНК). Образцы, дающие позитивные или неопределенные результаты, должны подвергаться генетическому исследованию.

## Особые характеристики процедуры

### Чувствительность теста и его особенности

Тест ProC Ac R был оценен на аппарате методом генетического анализа, при этом было установлено ROC влияние на уровне 1,57.

После этого в трех независимых тестовых центрах было проведено клиническое оценочное исследование с целью оценки возможности выявлять мутацию фактора V (Q506) тестом ProC Ac R. Результаты теста ProC Ac R были сравнены с результатами теста Coatest\*\* на сопротивление APC 5 и ДНК-анализа, с использованием 164-х образцов (82-х нормальных и 82-х образцов с наличием фактора V Лейдена) пациентов в возрасте от 2 до 87 лет. В исследуемую группу вошли пациенты со следующими клиническими состояниями: не начинавшие лечение (49 человек), имеющие тромбоз глубоких вен и др. протромбические заболевания (58), принимающие оральные антикоагулянты (36), принимающие гепарин/низкомолекулярный гепарин (49), имеющие волчаночные антикоагулянты (12), семейные исследования (39).

На всех участках было использовано отсечение 1,57; демонстрировалась чувствительность в 100% (доверительные пределы: 95,6-100%) и определенность относительно ДНК метода (доверительные рамки 93,4-99,8%). При этом 163 из 164 пациентов были верно идентифицированы.

**Примечание:** Анализ чувствительности и определенности теста ProC Ac R на сопротивляемость APC без фактора V Лейдена не проводился. Учитывая различия в контингенте пациентов, технике забора образца и наличного инструментария, каждая лаборатория должна определить свою собственную отсечку (cut-off).

## Точность

Максимальная внутритестовая точность (внутритестовый коэффициент вариации) установлен в 1,9%. Общая максимальная точность была определена как 8,9% при

использовании двух участков, аппаратов и операторов. Анализировалось три образца плазмы, методом двойного определения на протяжении 20 дней.

## Библиография

1. Бертина Р.М., Коулмэн Б.П., Костер Т. И другие «Мутация коагуляционного фактора V в крови, связываемая с сопротивлением активированному протеину С». Природа 369;64;1994.
2. Дальбэк Б. «Физиологическая антикоагуляция. Сопротивление активированному протеину С и венозная тромбоэмболия» Ж.Клин.Иссл: 94;923;1994.
3. Национальный комитет клинических лабораторных стандартов. Забор, транспортировка и обработка образцов крови для проведения тестирования сворачиваемости крови и общее описание процедуры теста на сворачиваемость крови. Одобренное руководство по использованию. H21-A3, Вэйн, Пенсильвания. 1998.



| Символы обозначений                                                             |                                                       |
|---------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
|  | Не использовать повторно.                             |
|  | Использовать до                                       |
|  | Партия                                                |
|  | Код номер                                             |
|  | Внимание, см. соответствующие документы               |
|  | Производитель                                         |
|  | Уполномоченный представитель в европейском сообществе |
|  | Содержимого достаточно для <n> тестов                 |
|  | Медицинский прибор для <i>In Vitro</i> диагностики    |
|  | Температурный режим                                   |
|  | См. Инструкции по эксплуатации                        |
|  | Не стерильно                                          |
|  | Знак CE                                               |
|  | Содержимое                                            |
|  | Объем восстановления                                  |
|  | Концентрация                                          |

Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH.  
Все права защищены.

| Карусель с кюветами                                    |   |   |
|--------------------------------------------------------|---|---|
|                                                        | 1 | 2 |
| 1                                                      |   |   |
| 2                                                      |   |   |
| 3                                                      |   |   |
| 4                                                      |   |   |
| 5                                                      |   |   |
| 6                                                      |   |   |
| 7                                                      |   |   |
| 8                                                      |   |   |
| 9                                                      |   |   |
| 10                                                     |   |   |
| 11                                                     |   |   |
| 12                                                     |   |   |
| 13                                                     |   |   |
| 14                                                     |   |   |
| 15                                                     |   |   |
| 16                                                     |   |   |
| Среднее значение [mOD]                                 |   |   |
| Стандартное отклонение [mOD]                           |   |   |
| CV [%]                                                 |   |   |
| Относительное отклонение для двух средних значений [%] |   |   |

Целевой: CV < 5%

Целевое: Отклон. < 5%

| Карусель с кюветами                                    |   |   |
|--------------------------------------------------------|---|---|
|                                                        | 1 | 2 |
| 1                                                      |   |   |
| 2                                                      |   |   |
| 3                                                      |   |   |
| 4                                                      |   |   |
| 5                                                      |   |   |
| 6                                                      |   |   |
| 7                                                      |   |   |
| 8                                                      |   |   |
| 9                                                      |   |   |
| 10                                                     |   |   |
| 11                                                     |   |   |
| 12                                                     |   |   |
| 13                                                     |   |   |
| 14                                                     |   |   |
| 15                                                     |   |   |
| 16                                                     |   |   |
| Среднее значение [mOD]                                 |   |   |
| Стандартное отклонение [mOD]                           |   |   |
| CV [%]                                                 |   |   |
| Относительное отклонение для двух средних значений [%] |   |   |

Целевой: CV < 5%

Целевое: Отклон. < 5%

Вычисление относительного отклонения для двух средних значений (MV)

Вычисление относительного отклонения для двух средних значений (MV)

$$\text{Отклон.} = \frac{MV_1 - MV_2}{MV_1} \times 100\%$$

$$\text{Отклонение} = \frac{VM_1 - VM_2}{VM_1} \times 100\%$$

ДатаПодпись

ДатаПодпись

## COMPLEMENT

Кинетического определения активности общего комплемента

## Предполагаемое использование

Реагенты комплемента позволяют провести исследование функциональной способности системы комплемента. Данные реагенты подходят как для классического, так и для альтернативного пути активации. Но не предназначены для ингибиторных компонентов системы комплемента.

Реагенты позволяют получить количественную оценку активности индивидуальных компонентов системы комплемента, в случае использования совместно с соответствующей дефицитной плазмой или сывороткой.

## Конспект и пояснения

Система комплемента является эндогенной плазменной защитной системой. Она образуется либо комплексами антигено-антиген (классический путь), либо альтернативными веществами (альтернативный путь). Патологические состояния могут приводить к реактивному повышению концентрации отдельных компонентов (реакция острой фазы). Пониженная активность наблюдается в результате поглощения или дефицита компонента.

В тест CH50, данный метод позволяет измерить функциональную активность комплемента. Поэтому тест может применяться для выявления как наследственных дефектов, так и приобретенного дефицита (например, из-за болезней иммунных комплексов таких как гломерулонефрит, системная красная волчанка, генерализованный лептоспироз или криоглобулинемия).

## Основы методики

Обработка образца с активированными эритроцитами приводит к классическому пути активации комплемента посредством C1q, C3b, сформированного C3-конвертазой, который является компонентом C5-конвертазы, а так же инициатором каскада усиления с участием факторов В и D. Данный процесс также приводит к формированию альтернативной C5-конвертазы. C5b, высвобождаемый C5, иницирует лизис с участием оставшихся факторов C6 и C9. Лизис эритроцитов приводит к снижению осадочной плотности. Время необходимое для лизиса определенного количества эритроцитов используется в качестве основы для определения активности комплемента<sup>2</sup>. Дефицит или пониженная концентрация отдельных компонентов комплемента, из-за предшествующей активации системы комплемента) приводит к уменьшению времени лизиса. Время сокращается если концентрация белков комплемента повышается из-за реакции на соответствующие заболевания.

## Реагенты

## Поставляемые материалы

10 мл REAGENT реагент для эритроцитов  
125 мл DILUENT реагент для амбоцеллов

10 мл для эритроцитов: эритроциты овцы в стабилизированном растворе (хлорид натрия, HEPES).

2-метил-4-изотиазол-3-один (0,13 r/n),  
2-метил-4-изотиазол-3-один (0,13 r/n)

10 мл для амбоцеллов: антитела кролика к эритроцитам овцы, хлорид натрия, хлорид кальция и хлорид магния, HEPES  
10 мл реагент: азид натрия (0,5 r/n).

## Предупреждения и меры предосторожности

Только для in vitro диагностики.

Содержит азид натрия (< 0,1 %) в качестве консерванта. Азид натрия может вступать в реакцию с медными или свинцовыми трубами сливной системы и образовывать взрывоопасные соединения. Утилизация должна проводиться в соответствии с национальными нормами и стандартами.

## Подготовка реагентов

Первым использованием необходимо аккуратно восстановить реагент REAGENT в исходную вращающую емкость.

Обратить внимание на прилипание эритроцитов к пробке! Затем смешайте REAGENT с равным количеством разбавителя DILUENT и оставьте приблизительно на 45 минут при +37 °C.

При использовании быстро потрясите и подогрейте до +37 °C.

## Условия и стабильность

При условии хранения закрытого набора при температуре +2...+8 °C, его допускается использовать до даты, указанной на этикетке.

Стабильность свежей смеси реагентов:

4 часа  
24 часа

Не замораживайте реагент! REAGENT должен быть ярко-красного цвета. Если же REAGENT стал коричневого цвета, его не следует использовать в анализе.

Для различных анализаторов коагуляции данные по стабильности могут различаться.

## Необходимые дополнительные материалы, не входящие в комплект поставки

Дефицитная плазма человека, код ORKL

Дефицитная плазма N, код ORKE

Дефицитная плазма P, код OUPZ

Анализатор коагуляции (см. раздел «Ограничения анализа»)

## Примечание

Реагенты комплемента подходят для многих анализаторов коагуляции. Следует обратиться к производителю выбранного анализатора

## Образцы

Дефицитная плазма или сыворотка.

## Стабильность образцов:

+37 °C 1 месяц  
+2...+8 °C 4 часа

Образцы замороженные до -20 °C необходимо разморозить в течение 10 минут при +37 °C

Срок хранения измерения в течение 2 часов.

## Процедура

## Режим:

1 см

578 нм (500 - 600 нм)

Температура анализа: +37 °C

Время измерения: 1 - 5 см в минуту

Тщательно подогрейте пластиковые кюветы до температуры +37 °C. Образцы

не использовать в неразбавленном состоянии.

| Образец                                                                               | 50 мкл   |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Реагент                                                                               | 1000 мкл |
| Определение времени лизиса: измерьте время уменьшения поглощения на 0,100 при 578 нм. |          |

Процедура тестирования для хромотаймера: объемы образца и реагентов необходимо взять в половинном объеме. Хромотаймер автоматически измеряет время лизиса и вычисляет конечный результат.

## Автоматический режим:

По запросу Siemens Healthcare Diagnostics может направить инструкции для конкретного анализатора коагуляции.

## Оценка

Результаты оцениваются при помощи референсной кривой, которая строится по серии разбавлений свежего пула плазмы или стандартной плазмы (например, Стандартная плазма человека (Standard Human Plasma)) изотоническим солевым раствором.

| Активность комплемента | Стандартная плазма (мкл) | Изотонический солевой раствор |
|------------------------|--------------------------|-------------------------------|
| 100%                   | 100                      | 0                             |
| 75%                    | 75                       | 25                            |
| 50%                    | 50                       | 50                            |
| 25%                    | 25                       | 75                            |
| 10%                    | 10                       | 90                            |

Для калибровки в 150, 200 и 300%, объем стандарта допускается уменьшить до 75, 100 и 150 мкл соответственно. На логарифмической бумаге необходимо по одной из точек отложить время лизиса в стандартной серии, определяемое в ходе анализа, а по другой — активность в % от нормы. Активность комплемента в образце считается по референсной кривой. Если указанное приписанное значение для Стандартной плазмы человека составляет не 100% от нормы, а, например, 95%, то результат следует умножить на 0,95.

Чтобы повысить точность в диапазоне активности ниже 50%, используемый образец образца можно удвоить. В этом случае образец следует оценивать при помощи калибровочной кривой, построенной с учетом того же отношения образца к реагенту. Образцы сыворотки также можно оценить по калибровочной кривой при помощи плазмы человека. Калибровочную кривую необходимо задавать для каждой смены прибора или каждой партии реагентов комплемента.

## Внутренний контроль качества

Необходимо производить измерение контроля с каждой калибровкой и в каждой смене измерений. Подойдут контрольные растворы Control Plasma N и Control Plasma P. Контроли должны обрабатываться аналогично тестируемому образцу. Для каждой лаборатории следует определить свой собственный диапазон контроля качества, либо при помощи целевых значений и диапазонов производителя контрольных препаратов, либо задав свой собственный интервал доверия лаборатории. Если полученное контрольное значение лежит вне заданного интервала доверия, необходимо установить причину, осмотрев анализатор коагуляции, реагенты и калибровочную кривую.

## Ограничения анализа

Для определенных анализаторов коагуляции Siemens предоставляет инструкции. В анализе не следует использовать образцы, содержащие EDTA. Компания Siemens провела тестирование на использование данных реагентов различными анализаторами в целях оптимизации производительности и соответствия требованиям, предъявляемым к продукции. Компания Siemens не поддерживает пользовательские изменения, так как они могут повлиять на производительность системы и результаты анализа. За использование рекомендаций, отличающихся от приведенных, или реагентов, не входящих в список заявки Siemens Application Sheet, вместо оригинальных, ответственность ложится на пользователя. Полученные результаты анализов всегда должны интерпретироваться совместно с историей болезни, клинической картиной пациента, а так же с результатами других медицинских обследований.

## Референсный интервал

70 - 140 % от нормы

Систематические отклонения от данных значений могут быть следствием применения конкретного прибора. Поэтому, для каждой лаборатории необходимо задать свой собственный референсный интервал.

## Особые рабочие характеристики

## Диапазон измерений

Диапазон измерений составляет от 10 до 300% от нормы.

## Специфичность

Тест подходит как для классического, так и для альтернативного пути активации комплемента, но не подходит для ингибиторных компонентов.

## Точность

Коэффициент вариации внутри анализа для образцов нормальной плазмы, составил 2,7 до 6,5% для ручного пипетирования и от 0,8 до 2,5% для автоматического пипетирования. Коэффициент вариации CV между анализами составил 4,6% (ручной метод) и 1,7% (автоматический метод). Значения между анализами для патологической плазмы составили от 4,3 до 14% или от 0,8 до 5,3%. Коэффициент вариации CV между анализами составил 5,5% (ручной метод) и 2,4% (автоматический метод).

## Список литературы

1. Kolde HJ, Deubel R. Development of a rapid kinetic assay for the function of the classical pathway of the complement system and for C2 and C4. J Clin Lab Immunol. 1986; 21: 201-207.
2. Siedentopf HG, Lauenstein K, Fischer H. Über die automatische Registrierung der Hämolyse durch Serukomplement und Lysolecithin. Z. Naturforsch. 1965; 20b: 569-74.



Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH  
Emil-von-Behring-Str. 76 35041  
Marburg, Германия  
[www.siemens.com/diagnostics](http://www.siemens.com/diagnostics)



Ред.  
Иск.  
2008

| Список обозначений                                                             |                                                       |
|--------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
|  | Не использовать повторно.                             |
|  | Использовать до                                       |
|  | Партия                                                |
|  | Код номер                                             |
|  | Внимание, см. соответствующие документы               |
|  | Производитель                                         |
|  | Уполномоченный представитель в европейском сообществе |
|  | Содержимого достаточно для <n> тестов                 |
|  | Медицинский прибор для <i>In Vitro</i> диагностики    |
|  | Температурный режим                                   |
|  | См. Инструкции по эксплуатации                        |
|  | Не стерильно                                          |
|  | Знак CE                                               |
|  | Содержимое                                            |
|  | Объем восстановления                                  |
|  | Концентрация                                          |

© Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH  
Все права защищены

