

ВЛИЯНИЕ УВЕЛИЧЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА ПОВТОРНЫХ ИЗМЕРЕНИЙ НА ТОЧНОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ ФАКТОРА VIII И КОНЦЕНТРАЦИИ ФИБРИНОГЕНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ

Лемонджав В.Н.^{1*}, Сидоркевич С.В.², Касьянов А.Д.²

¹ ООО «Научно-производственная организация «БИОМЕДТЕХ», 124482, Москва, Россия

² ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства России», 191024, Санкт-Петербург, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Высокоточное определение гемостатических показателей плазмы и продуктов плазмы крови значимо для производственной трансфузиологии и контроля эффективности их клинического применения. Повторные измерения увеличивают статистическую мощность, тем самым снижая вероятность совершения ошибки второго рода, которая описывается как ложноотрицательный результат и возникает, когда тест не может обнаружить действительно существующий эффект.

Цель — оценить влияние увеличения количества повторных измерений на точность определения активности фактора VIII и концентрации фибриногена в донорской плазме.

Материалы и методы. Используемая в исследовании человеческая донорская плазма была получена путем центрифугирования цельной крови. Критерием включения биоматериала в исследование было наличие неповторяющейся комбинации характеристик донора: пол, возраст, группа крови и резус-принадлежность по наличию антигена D. Донорами цельной крови для данной работы были мужчины и женщины в возрасте от 38 до 53 лет с группами крови: O (I), A (II) и B (III). Было выполнено по 27 повторяющихся измерений активности фактора VIII одностадийным клоттинговым методом и концентрации фибриногена клоттинговым методом по Клауссу на автоматическом коагулометре «ACL TOP 300» с реагентами «HemosIL».

Результаты. Для активности фактора VIII разница значений, зарегистрированных в повторяющихся измерениях, достигала 20 МЕ/100 мл, а для концентрации фибриногена максимальная разница составляла 0,29 г/л. Представлен расчет изменения доверительного интервала с увеличением числа повторных измерений. Если его уменьшение со второго по четвертое повторные измерения в среднем составило 83,5 % для измерений активности фактора VIII и 61,7 % для концентрации фибриногена, то с пятого по седьмой — 16,9 и 21,5 % соответственно.

Выводы. Несмотря на предпринимаемые преаналитические меры по уменьшению случайной погрешности, показатели плазмы крови одной и той же донации могут принимать значения в широком диапазоне. Увеличение количества повторных измерений с 1 до 3 в случае измерения активности фактора VIII и концентрации фибриногена является эффективным средством повышения точности определения показателей. Однако при повторных последующих измерениях будет происходить уменьшение прироста статистической мощности.

Ключевые слова: фактор VIII, фибриноген, плазма крови, повторное измерение

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-29-00385, <https://rscf.ru/project/23-29-00385/>.

Для цитирования: Лемонджав В.Н., Сидоркевич С.В., Касьянов А.Д. Влияние увеличения количества повторных измерений на точность определения активности фактора VIII и концентрации фибриногена в плазме крови. Гематология и трансфузиология. 2024; 69(1):32–39. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2024-69-1-32-39>

EFFECT OF INCREASING THE NUMBER OF REPEATED MEASUREMENTS ON THE ACCURACY OF DETERMINING FACTOR VIII ACTIVITY AND FIBRINOGEN CONCENTRATIONS IN BLOOD PLASMA

Lemondzhava V.N.^{1*}, Sidorkevich S.V.², Kasyanov A.D.²

¹ LLC "SPO «BIOMEDTECH", 124482, Moscow, Russian Federation

² Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, 191024, St. Petersburg, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Highly accurate determination of hemostatic indices of plasma and blood plasma products is important for industrial transfusiology and monitoring the efficacy of their clinical application. Repeated measurements increase statistical power, thereby reducing the likelihood of committing a second-order error, which is described as a false negative result and occurs when a test fails to detect a truly existing effect.

Aim: to evaluate the effect of increasing the number of repeated measurements on the accuracy of factor VIII activity and fibrinogen concentrations in donor plasma.

Materials and methods. Human donor plasma used in the study was obtained by centrifugation of whole blood. The criterion for inclusion of biomaterial in the study was the presence of a non-repeatable combination of donor characteristics: sex, age, blood group and Rhesus affiliation by the presence of D antigen. Whole blood donors for this work were male and female aged between 38 and 53 years with groups: O(I), A(II) and B(III). 27 repeated measurements of factor VIII activity by the one-stage clotting method and fibrinogen concentrations by the Clauss clotting method were performed on automatic coagulometer ACL TOP 300 with HemosIL reagents.

Results. For factor VIII activity, the difference in values recorded in repeated measurements reached 20 IU/100 ml, and for fibrinogen concentrations the maximum difference was 0.29 g/L. The calculation of the change in the size of the confidence interval with increasing number of repeated measurements is presented. While the decrease in size from the second to the fourth repeated measurement averaged 83.5 % for the measurement of factor VIII activity and 61.7 % for fibrinogen concentrations, from the fifth to the seventh it was 16.9 % and 21.5 %, respectively.

Conclusions. Despite the pre-analytical measures taken to reduce random error, blood plasma parameters of the same donation can take values in a wide range. Increasing the number of repeat measurements from one to three in the case of measuring factor VIII activity and fibrinogen concentrations is an effective means of improving the accuracy of these indices. However, with subsequent repeated measurements there will be a decrease in statistical power growth.

Key words: factor VIII, fibrinogen, blood plasma, repeated measurement

Conflict of Interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the research was supported by the Russian Science Foundation grant № 23-29-00385, <https://rscf.ru/en/project/23-29-00385/>.

For citation: Lemondzhava V.N., Sidorkevich S.V., Kasyanov A.D. Effect of increasing the number of repeated measurements on the accuracy of determining factor VIII activity and fibrinogen concentrations in blood plasma. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2024; 69(1):32–39 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2024-69-1-32-39>

Введение

Высокоточное определение гемостатических показателей плазмы и продуктов плазмы крови значимо как для производственной трансфузиологии [1–3], так и для контроля эффективности клинического применения этих продуктов [4]. Существуют актуальные статистические проблемы анализа таких данных и ме-

тодологические проблемы получения сопоставимых результатов независимых исследований [5, 6]. В попытке их решения рассматривались подходы к подготовке образцов плазмы крови для экспериментальных исследований по изучению термоллабильности фактора VIII [6]. Для сравнения влияния различных

величин воздействий на сохранность этого гемостатического показателя заготовленные единицы человеческой донорской плазмы крови разделяли на образцы. В предшествующих исследованиях предполагалось, что пары [7, 8] или тройки [9] образцов, сформированные из плазмы одного донора, имеют равные значения показателей свертывания, пока обеспечиваются одинаковые условия эксперимента, а разница в итоговых значениях вызвана тем или иным управляемым воздействием. В работе А. Tholpady и соавт. [10] подготовленные группы образцов плазмы крови замораживали и хранили в одинаковых условиях, но оттаивание проводили при 37 °С для первой группы и при 45 °С — для второй. В ряде независимых исследований, в которых воспроизводили разные средства аналогичных теплофизических условий эксперимента, результаты измерений не согласовывались. Если в работе А. Tholpady и соавт. [10] повышение температуры оттаивания плазмы и связанное с этим уменьшение времени достижения целевой температуры образцов приводило к повышению сохранности активности фактора VIII в среднем на 4 МЕ/100 мл, то в работе L. Dhantole и соавт. [11], наоборот, это привело к уменьшению на 3 МЕ/100 мл активности фактора VIII, а в работе [9] влияние смены величин воздействий на изменение активности гемостатического показателя не выявлено. Очевидно, что в приведенном примере для дальнейшего исследования термоллабильности фактора VIII необходим анализ источников погрешности измерений и оценка их величины.

В поисках новых научных знаний о достоинствах и недостатках методов измерений проводятся исследования, направленные на сравнение методов определения активности факторов свертывания крови. Между результатами измерений активности фактора VIII с помощью хромогенного и клоттингового методов могут быть расхождения [12, 13], но для приведенных выше примеров проверки гипотезы они не являются причиной качественных различий, поскольку в работах сравнивали изменения показателей образцов, полученных из биоматериала, заготовленного в результате одной и той же донации. Также не являются причиной качественных различий используемые реагенты [14]. В данном случае независимо от метода определения активности фактора свертывания крови наиболее значимым представляется рассмотрение проблемы уменьшения случайной погрешности измерений.

Для рассматриваемого исследования термоллабильности фактора VIII применимы известные способы минимизации ложного отклонения результатов измерений [15] и правила обнаружения систематических ошибок [16]. Однако в комплексе мер по достижению высокой точности зачастую недооценивают значимость погрешности при подготовке эксперименталь-

ных образцов. Например, объем парных образцов плазмы крови в предшествующих работах составлял от 200 до 220 мл [8] и даже до 240 мл [9] и до 250 [10] мл. Это — существенные различия. Было показано [17] влияние объема образца, в том числе для вышеприведенных значений, на продолжительность достижения целевой температуры. В случаях применения термических воздействий свыше 37 °С ошибки в расчете их продолжительности могут привести к локальному перегреву образца плазмы крови [18]. В этом случае в образце увеличится пространственная неравномерность активности антигемофильного глобулина. Маркером наступления такого события могут быть изменения нативной конформации других составляющих плазмы крови, которые отслеживают путем сравнения исходного и итогового значений, например концентрации фибриногена [19]. Для измерения показателей требуется аналитический образец объемом не более 5 мл. Поэтому его забор из экспериментального образца для определения итоговых значений необходимо осуществлять в той области контейнера с плазмой крови, которая на преаналитическом этапе достигала максимальной температуры. Методика определения таких зон в зависимости от формы и наполненности контейнера с плазмой крови приведена в работе [18]. Уменьшением объема экспериментального образца можно уменьшить разницу между максимальными и минимальными значениями его температуры на преаналитическом этапе и повысить точность измерений. Кроме того, как отмечалось ранее [20, 21], перемешивание биоматериала может повлиять на результат измерения.

Другим важным аспектом подготовки экспериментальных образцов является определение точности измерения исходных показателей донорской плазмы крови. Было принято считать, что у здоровых людей значения активности фактора VIII находятся в пределах 0,50–1,50 МЕ/мл [22], но в проведенном исследовании референсный диапазон был шире и составил 0,82–2,18 МЕ/мл [23]. Известно, что погрешность измерения активности фактора VIII зависит от его величины [24, 25], и при этом установлено, что в течение первых 6 ч после забора плазмы у донора активность фактора VIII уменьшается быстрее, чем в последующий период [26]. Аналогично работе [27], в которой усреднение двойных и тройных измерений концентрации гемоглобина в образце крови значительно повысило точность измерений, можно предположить, что повторные измерения активности фактора VIII и концентрации фибриногена позволят существенно уменьшить случайную погрешность.

Целью исследования являлась оценка влияния увеличения количества повторных измерений на точность определения активности фактора VIII и концентрации фибриногена в донорской плазме крови.

Материалы и методы

Донорскую плазму получали путем центрифугирования цельной крови. Критерием включения биоматериала в исследование было наличие неповторяющейся комбинации характеристик донора: пол, возраст, группа крови и резус-принадлежность по наличию антигена D. Донорами цельной крови для данной работы были мужчины и женщины в возрасте от 38 до 53 лет с группами крови O (I), A (II) и B (III). Исходя из известного влияния на активность FVIII центробежного ускорения и времени центрифугирования [28], были применены единые технологические операции, в результате которых выполнено разделение каждой заготовленной единицы цельной крови на компоненты при центрифугировании со скоростью 4000 об/мин в течение 15 мин. на оборудовании «Sorvall RC-3BP Plus» (Thermo Fisher, США). Объем заготавливаемых биоматериалов контролировали при помощи «Немо Миксер» (Nemopharm, Франция).

Разделение полученной плазмы на аналитические образцы осуществляли автоматизировано [29] путем выдавливания из полимерного мешка перемешанного биоматериала в полимерную трубку, разделенную затем автоматической высокочастотной сваркой [30] на контейнеры объемом 2,3 мл. Контейнеры не подвергали принудительным термическим воздействиям за исключением влияния контролируемой температуры лабораторных помещений, равной 23 °С. Время от момента донации цельной крови до момента определения значений гемостатических показателей не превышало 85 мин.

Было выполнено по 27 повторяющихся измерений активности фактора VIII и концентрации фибриногена на автоматическом коагулометре «ACL TOP 300» (IL Werfen, США). В работе использовали одностадийный клоттинговый метод как наиболее распространенный метод определения активности факторов свертывания крови [13, 23, 31], а клоттинговый метод по Клауссу — для определения концентрации фибриногена. Для измерений были использованы реагенты «HemosIL» (Werfen S.A., Испания): Factor VIII deficient plasma part number 0020012800 и Q.F.A. Thrombin (Bovine) part number 0020301800 (2ml)/0020301700 (5ml). Количество повторяющихся измерений в работе выбрано исходя из минимального количества измерений, требующихся для обнаружения систематических ошибок [16].

Статистический анализ. Статистические расчеты, построение диаграмм размаха и графиков выполнили в программе для статистической обработки и визуализации данных «Jamovi v.2.3.28». Выявление аномальных значений осуществляли по принципу принадлежности результата повторного измерения к полуторному межквартильному интервалу.

Результаты

Измеренные значения активности фактора VIII и концентрации фибриногена в аналитических образцах представлены на рисунке 1 в виде диаграмм размаха для демонстрации вариативности результатов повторного определения гемостатических показателей плазмы крови. Полученные данные были объединены в четыре группы с обезличенными названиями:

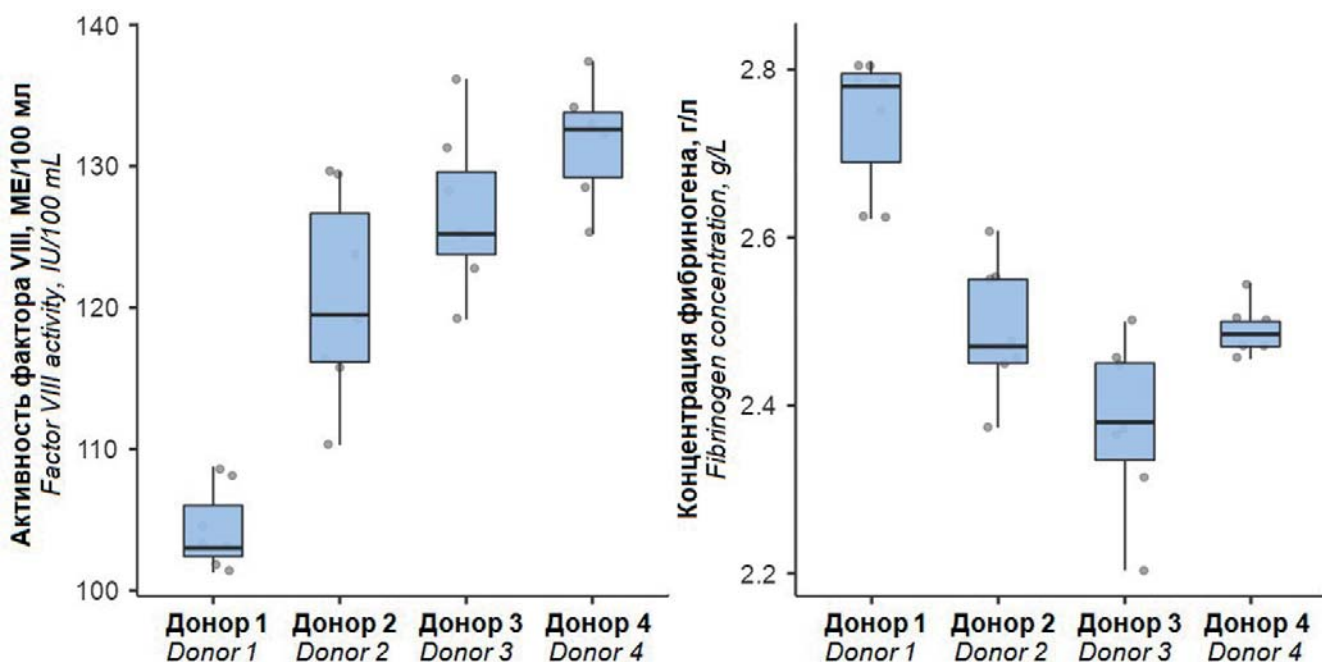


Рисунок 1. Диаграммы размаха повторно измеренных значений активности фактора VIII и концентрации фибриногена в четырех группах аналитических образцов плазмы крови

Figure 1. Box plots of repeatedly measured values of factor VIII activity and fibrinogen concentrations in four groups of blood plasma analytical samples

Таблица 1. Статистические результаты измерения активности фактора VIII и концентраций фибриногена в четырех группах аналитических образцов плазмы крови

Table 1. Statistical results of measuring factor VIII activity and fibrinogen concentrations in four groups of blood plasma analytical samples

Показатель, единицы измерения Indicator, units	Группа образцов Sample group	Среднее Mean	Медиана Median	Стандартное отклонение Standard deviation	Минимум Minimum	Максимум Maximum
Активность фактора VIII, МЕ/100 мл Factor VIII activity, IU/100 mL	Донор 1 Donor 1	104	103	2,9	102	109
	Донор 2 Donor 2	121	120	7,3	110	130
	Донор 3 Donor 3	127	125	5,5	120	136
	Донор 4 Donor 4	132	133	4,4	125	137
Концентрация фибриногена, г/л Fibrinogen concentration, g/L	Донор 1 Donor 1	2,74	2,78	0,079	2,63	2,81
	Донор 2 Donor 2	2,49	2,47	0,076	2,38	2,60
	Донор 3 Donor 3	2,38	2,38	0,099	2,21	2,50
	Донор 4 Donor 4	2,49	2,49	0,035	2,45	2,55

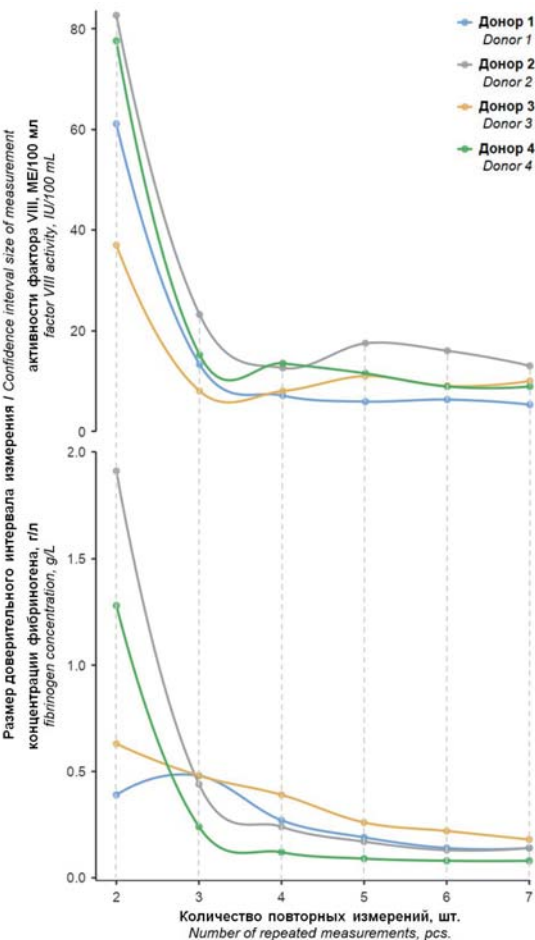


Рисунок 2. Графики изменения размера доверительного интервала в зависимости от количества повторных измерений активности фактора VIII и концентраций фибриногена в четырех группах аналитических образцов плазмы крови

Figure 2. Plots of the change in confidence interval size as a function of the number of repeated measurements of factor VIII activity and fibrinogen concentrations in four groups of blood plasma analytical samples

Донор 1, Донор 2, Донор 3 и Донор 4. Каждая группа представляла собой совокупность измерений показателей в образцах плазмы крови, заготовленной в результате одной из четырех уникальных донаций. Статистические данные, полученные на основе повторных измерений, представлены в таблице 1.

Были определены размеры доверительных интервалов измерения активности фактора VIII и концентрации фибриногена во всех группах аналитических образцов плазмы крови на каждом этапе работы. На рисунке 2 представлено хронологическое изменение размера доверительного интервала по мере увеличения количества измерений. Для расчета были выбраны коэффициенты Стьюдента, соответствующие доверительной вероятности, равной 0,95 и предположению о том, что выборочные средние соответствуют *t*-распределению с *N* – 1 степенями свободы, где *N* – это число повторных измерений.

В каждой из четырех групп результаты измерений не имели тенденцию к одному и тому же направлению, то есть постепенному повышению или постепенному понижению значений.

По мере накопления результатов измерений промежуточный анализ совокупности данных приводил к обнаружению единичных аномальных значений показателей. При измерении активности фактора VIII это произошло в 3 из 4 выборок после пятого измерения, а при измерении концентраций фибриногена в одной выборке после четвертого измерения и в двух после пяти измерений. Однако после 7 повторных измерений в каждой группе не было зарегистрировано значений, оказавшихся за пределами полуторного межквартильного интервала.

Обсуждение

Установлено, что, несмотря на предпринимаемые преаналитические меры по уменьшению случайной погрешности, результаты измерений активности фактора VIII и концентрации фибриногена в плазме крови, полученной при одной и той же донации, варьировали в широком диапазоне. Для активности фактора VIII, определяемой одностадийным клоттинговым методом, разница значений, зарегистрированных в 7 повторяющихся измерениях, достигала 20 МЕ/100 мл, а для концентраций фибриногена, измеренных также 7 раз клоттинговым методом по Клауссу, максимальная разница составила 0,29 г/л. Это предопределяло значимость выбора оптимального числа повторных измерений в исследованиях с групповыми сравнениями [7–11], а также это важно учитывать при контроле производства компонентов крови [32–34]. Повторные измерения увеличивают статистическую мощность [35], тем самым уменьшая вероятность совершения ошибки

второго рода, которая описывается как ложноотрицательный результат и возникает, когда тест не может обнаружить действительно существующий эффект [36].

Продемонстрированный расчет изменения размера доверительного интервала с увеличением количества повторных измерений согласуется в целом с выводами в работе [35]. Увеличение количества повторных измерений с одного до трех при измерениях активности фактора VIII и концентраций фибриногена является эффективным средством повышения точности определения показателей и может использоваться для сокращения выборки образцов в измерительной задаче. Также следует вывод о последующем снижении прироста статистической мощности. Если уменьшение доверительного интервала измерений активности фактора VIII и концентрации фибриногена со второго по четвертое измерения в среднем составило 83,5 и 61,7 %, соответственно, то с пятого по седьмой — уже 16,9 и 21,5 %.

Литература

1. Галстян Г.М., Гапонова Т.В., Жибурт Е.Б. и др. Клиническое использование криопреципитата. Гематология и трансфузиология. 2020; 65(1): 87–114. DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-1-87-114.
2. Хурдин В.В., Берковский А.Л., Сергеева Е.В., Суворов А.В. Получение очищенного концентрата фибриногена. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(1): 73–8. DOI: 10.35754/0234-5730-2019-64-1-73-78.
3. Жибурт Е.Б., Чемоданов И.Г., Шестаков Е.А. Производство криопреципитата в России: прошлое, настоящее и будущее. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(1): 16–20. DOI: 10.35754/0234-5730-2019-64-1-16-20.
4. Пшениснв К.В., Александрович Ю.С. Массивная кровопотеря в педиатрической практике. Гематология и трансфузиология. 2020; 65(1): 70–86. DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-1-70-86.
5. Roubinian N., Kleinman S., Murphy E.L., et al. Methodological considerations for linked blood donor-component-recipient analyses in transfusion medicine research. ISBT Sci Ser. 2020; 15(1): 185–93. DOI: 10.1111/vox.12518.
6. Лемонджав В.Н., Чечеткин А.В., Гудков А.Г. и др. Термоллабильность фактора VIII в донорской свежемороженой плазме крови. Гематология и трансфузиология. 2021; 66(4): 593–609. DOI: 10.35754/0234-5730-2021-66-4-593-609.
7. Bostrom F., Ekemar L., Olsson D., et al. Rapid thawing of fresh-frozen plasma with radio wave-based thawing technology and effects on coagulation factors during prolonged storage at 4°C. Vox Sang. 2009; 97(1): 34–8. DOI: 10.1111/j.1423-0410.2009.01175.x.
8. Kuta P., Melling N., Zimmermann R., et al. Clotting factor activity in fresh frozen plasma after thawing with a new radio wave thawing device. Transfusion. 2019; 59(5): 1857–61. DOI: 10.1111/trf.15246.
9. Von Heymann C., Pruss A., Sander M., et al. Thawing procedures and the time course of clotting factor activity in fresh-frozen plasma: A controlled laboratory investigation. Anesth Analg. 2006; 103(4): 969–74. DOI: 10.1213/01.ANE.0000240416.56803.5B.
10. Tholpady A., Monson J., Radovancevic R., et al. Analysis of prolonged storage on coagulation Factor (FIV, FVII, and FVIII in thawed plasma: is it time to extend the expiration date beyond 5 days? Transfusion. 2012; 53(3): 645–50. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2012.03786.x.

References

1. Galstyan G.M., Gaponova T.V., Zhiburt E.B., et al. Clinical guidelines for cryoprecipitate transfusions. Gematologiya I transfusiologiya. 2020; 65(1): 87–114. (In Russian). DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-1-87-114.
2. Khurdin V.V., Berkovskiy A.L., Sergeeva E.V., Suvorov A.V. Production of purified fibrinogen concentrate. Gematologiya I transfusiologiya. 2019; 64(1): 73–8. (In Russian). DOI: 10.35754/0234-5730-2019-64-1-73-78.
3. Zhiburt E.B., Chemodanov I.G., Shestakov E.A. Cryoprecipitate production in Russia: past, present and future. Gematologiya I transfusiologiya. 2019; 64(1): 16–20. (In Russian). DOI: 10.35754/0234-5730-2019-64-1-16-20.
4. Pshenisnov K.V., Aleksandrovich Yu.S. Massive blood loss in pediatric practice. Gematologiya I transfusiologiya. 2020; 65(1): 70–86. (In Russian). DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-1-70-86.
5. Roubinian N., Kleinman S., Murphy E.L., et al. Methodological considerations for linked blood donor-component-recipient analyses in transfusion medicine research. ISBT Sci Ser. 2020; 15(1): 185–93. DOI: 10.1111/vox.12518.
6. Lemondzhava V.N., Chechetkin A.V., Gudkov A.G., et al. Thermolability of factor VIII in donor fresh frozen blood plasma. Gematologiya I transfusiologiya. 2021; 66(4): 593–609. (In Russian). DOI: 10.35754/0234-5730-2021-66-4-593-609.
7. Bostrom F., Ekemar L., Olsson D., et al. Rapid thawing of fresh-frozen plasma with radio wave-based thawing technology and effects on coagulation factors during prolonged storage at 4°C. Vox Sang. 2009; 97(1): 34–8. DOI: 10.1111/j.1423-0410.2009.01175.x.
8. Kuta P., Melling N., Zimmermann R., et al. Clotting factor activity in fresh frozen plasma after thawing with a new radio wave thawing device. Transfusion. 2019; 59(5): 1857–61. DOI: 10.1111/trf.15246.
9. Von Heymann C., Pruss A., Sander M., et al. Thawing procedures and the time course of clotting factor activity in fresh-frozen plasma: A controlled laboratory investigation. Anesth Analg. 2006; 103(4): 969–74. DOI: 10.1213/01.ANE.0000240416.56803.5B.
10. Tholpady A., Monson J., Radovancevic R., et al. Analysis of prolonged storage on coagulation Factor (FIV, FVII, and FVIII in thawed plasma: is it time to extend the expiration date beyond 5 days? Transfusion. 2012; 53(3): 645–50. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2012.03786.x.

11. Dhantole L., Dubey A., Sonker A. A study on factors influencing the hemostatic potential of fresh frozen plasma. *Asian J Transfus Sci.* 2019; 13(1): 23–9. DOI: 10.4103/ajts.AJTS_139_17.
12. Zwagemaker A., Kloosterman F., Gouw S., et al. Little discrepancy between one-stage and chromogenic factor VIII (FVIII)/IX assays in a large international cohort of persons with nonsevere hemophilia A and B. *J Thromb Haemost.* 2023; 21(4): 850–61. DOI: 10.1016/j.jth.2022.11.040.
13. Peyvandi F., Oldenburg J., Friedman K.D. A critical appraisal of one-stage and chromogenic assays of factor VIII activity. *J Thromb Haemost.* 2016; 14(2): 248–61. DOI: 10.1111/jth.13215.
14. Van Moort I., Meijer P., Priem-Visser D., et al. Analytical variation in factor VIII one-stage and chromogenic assays: Experiences from the ECAT external quality assessment programme. *Haemophilia.* 2019; 25(1): 162–9. DOI: 10.1111/hae.13643.
15. McFarlane A., Aslan B., Raby A., et al. Internal Quality Control Practices in Coagulation Laboratories: recommendations based on a patterns-of-practice survey. *Int J Lab Hematol.* 2015; 37(6): 729–38. DOI: 10.1111/ijlh.12397.
16. Padmore R., Petersen K., Campbell C., et al. Practical application of mathematical calculations and statistical methods for the routine haematology laboratory. *Int J Lab Hematol.* 2022; 44(1): 11–20. DOI: 10.1111/ijlh.13934.
17. Лемонджав В.Н. Влияние на скорость технологического процесса размораживания плазмы крови принудительных гидродинамических и механических воздействий на биообъект. *Биомедицинская радиоэлектроника.* 2018; 11: 48–55. DOI: 10.18127/j15604136-201811-08.
18. Lemondzhava V.N., Lemondzhava T.Yu., Gudkov A.G., et al. Technological optimization of the process of preparation of fresh frozen blood plasma to transfusion in devices for its thermal processing. *AIP Conf Proc.* 2023; 1(2605): 020013-1–020013-5. DOI: 10.1063/5.0110400.
19. Isaacs M., Scheuermaier K., Levy B., et al. In vitro effects of thawing fresh-frozen plasma at various temperatures. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2004; 10(2): 143–8. DOI: 10.1177/107602960401000204.
20. Marquez C. P., Petersen J. R., Okorodudu A. O. Critically low sodium levels due to concentration gradients formed in patient samples after undergoing a freeze-thaw cycle. *Clin Chim Acta.* 2018; 484: 218–22. DOI: 10.1016/j.cca.2018.05.020.
21. Lima-Oliveira G., Adcock D.M., Salvagno G.L., et al. Mixing of thawed coagulation samples prior to testing: Is any technique better than another? *Clin Biochem.* 2016; 49(18): 1399–401. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2016.10.009.
22. Fijnvandraat K., Cnossen M.H., Leebeek F.W., Peters M. Diagnosis and management of haemophilia. *BMJ.* 2012; 344: e2707. DOI: 10.1136/bmj.e2707.
23. Lowe A.E., Jones R., Kitchen S., et al. Multicenter performance evaluation and reference range determination of a new one-stage factor VIII assay. *J Clin Lab Anal.* 2022; 36: e24294. DOI: 10.1002/jcla.24294.
24. Akkaya E., Hatiboglu S., Koc B., et al. Evaluation of Chromogenic Factor VIII Assay Compared with One-Stage Clotting Assay. *Clin Lab.* 2020; 66(10): 191145. DOI: 10.7754/Clin.Lab.2020.191145.
25. Chandler W.L., Ferrell C., Lee J., et al. Comparison of three methods for measuring factor VIII levels in plasma. *Am J Clin Pathol.* 2003; 120(1): 34–9. DOI: 10.1309/C8T8-YNB4-G3W4-5PRF.
26. Farrugia A. Factor VIII manufactured from plasma—the ups and downs, and the up again: a personal journey—part 2: aspects of factor VIII manufacture from plasma. *Ann Blood* 2018; 3: 20. DOI: 10.21037/aob.2018.02.05.
27. Wolf MB. Hemoglobin-Dilution Method: Effect of Measurement Errors on Vascular Volume Estimation. *Comput Math Methods Med.* 2017; 2017: 3420590. DOI: 10.1155/2017/3420590.
28. Lippi G., Rossi R., Ippolito L., et al. Influence of residual platelet count on routine coagulation, factor VIII, and factor IX testing in postfreeze-thaw samples. *Semin Thromb Hemost.* 2013; 39(7): 834–9. DOI: 10.1055/s-0033-1356572.
11. Dhantole L., Dubey A., Sonker A. A study on factors influencing the hemostatic potential of fresh frozen plasma. *Asian J Transfus Sci.* 2019; 13(1): 23–9. DOI: 10.4103/ajts.AJTS_139_17.
12. Zwagemaker A., Kloosterman F., Gouw S., et al. Little discrepancy between one-stage and chromogenic factor VIII (FVIII)/IX assays in a large international cohort of persons with nonsevere hemophilia A and B. *J Thromb Haemost.* 2023; 21(4): 850–61. DOI: 10.1016/j.jth.2022.11.040.
13. Peyvandi F., Oldenburg J., Friedman K.D. A critical appraisal of one-stage and chromogenic assays of factor VIII activity. *J Thromb Haemost.* 2016; 14(2): 248–61. DOI: 10.1111/jth.13215.
14. Van Moort I., Meijer P., Priem-Visser D., et al. Analytical variation in factor VIII one-stage and chromogenic assays: Experiences from the ECAT external quality assessment programme. *Haemophilia.* 2019; 25(1): 162–9. DOI: 10.1111/hae.13643.
15. McFarlane A., Aslan B., Raby A., et al. Internal Quality Control Practices in Coagulation Laboratories: recommendations based on a patterns-of-practice survey. *Int J Lab Hematol.* 2015; 37(6): 729–38. DOI: 10.1111/ijlh.12397.
16. Padmore R., Petersen K., Campbell C., et al. Practical application of mathematical calculations and statistical methods for the routine haematology laboratory. *Int J Lab Hematol.* 2022; 44(1): 11–20. DOI: 10.1111/ijlh.13934.
17. Lemondzhava V.N. Effect of forced hydrodynamic and mechanical impacts on speed of technological process of defrosting of blood plasma. *Biomedinskaya Radioelektronika.* 2018; 11: 48–55. (In Russian). DOI: 10.18127/j15604136-201811-08.
18. Lemondzhava V.N., Lemondzhava T.Yu., Gudkov A.G., et al. Technological optimization of the process of preparation of fresh frozen blood plasma to transfusion in devices for its thermal processing. *AIP Conf Proc.* 2023; 1(2605): 020013-1–020013-5. DOI: 10.1063/5.0110400.
19. Isaacs M., Scheuermaier K., Levy B., et al. In vitro effects of thawing fresh-frozen plasma at various temperatures. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2004; 10(2): 143–8. DOI: 10.1177/107602960401000204.
20. Marquez C. P., Petersen J. R., Okorodudu A. O. Critically low sodium levels due to concentration gradients formed in patient samples after undergoing a freeze-thaw cycle. *Clin Chim Acta.* 2018; 484: 218–22. DOI: 10.1016/j.cca.2018.05.020.
21. Lima-Oliveira G., Adcock D.M., Salvagno G.L., et al. Mixing of thawed coagulation samples prior to testing: Is any technique better than another? *Clin Biochem.* 2016; 49(18): 1399–401. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2016.10.009.
22. Fijnvandraat K., Cnossen M.H., Leebeek F.W., Peters M. Diagnosis and management of haemophilia. *BMJ.* 2012; 344: e2707. DOI: 10.1136/bmj.e2707.
23. Lowe A.E., Jones R., Kitchen S., et al. Multicenter performance evaluation and reference range determination of a new one-stage factor VIII assay. *J Clin Lab Anal.* 2022; 36: e24294. DOI: 10.1002/jcla.24294.
24. Akkaya E., Hatiboglu S., Koc B., et al. Evaluation of Chromogenic Factor VIII Assay Compared with One-Stage Clotting Assay. *Clin Lab.* 2020; 66(10): 191145. DOI: 10.7754/Clin.Lab.2020.191145.
25. Chandler W.L., Ferrell C., Lee J., et al. Comparison of three methods for measuring factor VIII levels in plasma. *Am J Clin Pathol.* 2003; 120(1): 34–9. DOI: 10.1309/C8T8-YNB4-G3W4-5PRF.
26. Farrugia A. Factor VIII manufactured from plasma—the ups and downs, and the up again: a personal journey—part 2: aspects of factor VIII manufacture from plasma. *Ann Blood* 2018; 3: 20. DOI: 10.21037/aob.2018.02.05.
27. Wolf MB. Hemoglobin-Dilution Method: Effect of Measurement Errors on Vascular Volume Estimation. *Comput Math Methods Med.* 2017; 2017: 3420590. DOI: 10.1155/2017/3420590.
28. Lippi G., Rossi R., Ippolito L., et al. Influence of residual platelet count on routine coagulation, factor VIII, and factor IX testing in postfreeze-thaw samples. *Semin Thromb Hemost.* 2013; 39(7): 834–9. DOI: 10.1055/s-0033-1356572.

29. Gudkov A.G., Leushin V.Y., Sidorov I.A., et al. A Functional Line of Plasma Extractors. *Biomed Eng.* 2021; 54(1): 350–3. DOI: 10.1007/s10527-021-10037-7.
30. Gudkov A.G., Leushin V.Y., Sidorov I.A., et al. Devices for Sealing Polymer Containers with Blood and Its Components. *Biomed Eng.* 2021; 54(1): 376–9. DOI: 10.1007/s10527-021-10043-9.
31. Галстян Г.М., Полеводова О.А., Яковлева Е.В., Щекина А.Е. Применение ротационной тромбоэластометрии для диагностики дефицита факторов свертывания и контроля гемостатической терапии у больных наследственными коагулопатиями. *Гематология и трансфузиология.* 2019; 64(3): 297–316. DOI: 10.35754/0234-5730-2019-64-3-297-316.
32. Vetrova N.A., Lemondzhava V.N., Filyaev A.A., et al. Prediction of Safety Indicators for Donor Blood and Its Components in a Statistically Managed Technological Process Based on Bayesian Inversion. *Biomed Eng.* 2022; 56(2): 114–8. DOI: 10.1007/s10527-022-10179-2.
33. Pereira P, Seghatchian J, Caldeira B, Xavier S, de Sousa G. Statistical control of the production of blood components by control charts of attribute to improve quality characteristics and to comply with current specifications. *Transfus Apher Sci.* 2018; 57(2): 285–90. DOI: 10.1016/j.transci.2018.04.009.
34. Varlamov O.O., Chuvikov D.A., Lemondzhava V.N., et al. A Software Package Supporting Decision Making on the Safety of Thermolabile Blood Components. *Biomed Eng.* 2022; 55(1): 355–9. DOI: 10.1007/s10527-022-10135-0.
35. Vickers A.J. How many repeated measures in repeated measures designs? Statistical issues for comparative trials. *BMC Med Res Methodol.* 2003; 3: 22. DOI: 10.1186/1471-2288-3-22.
36. Sullivan L.M., Weinberg J., Keaney J.F. Common Statistical Pitfalls in Basic Science Research. *J Am Heart Assoc.* 2016; 5(10): e004142. DOI: 10.1161/JAHA.116.004142.
29. Gudkov A.G., Leushin V.Y., Sidorov I.A., et al. A Functional Line of Plasma Extractors. *Biomed Eng.* 2021; 54(1): 350–3. DOI: 10.1007/s10527-021-10037-7.
30. Gudkov A.G., Leushin V.Y., Sidorov I.A., et al. Devices for Sealing Polymer Containers with Blood and Its Components. *Biomed Eng.* 2021; 54(1): 376–9. DOI: 10.1007/s10527-021-10043-9.
31. Galstyan G.M., Polevodova O.A., Yakovleva E.V., Shchekina A.E. Rotation thromboelastometry for the diagnosis of factor deficiency and management of the hemostatic therapy in patients with inherited coagulation disorders. *Gematologiya i transfusiologiya.* 2019; 64(3): 297–316. (In Russian). DOI: 10.35754/0234-5730-2019-64-3-297-316.
32. Vetrova N.A., Lemondzhava V.N., Filyaev A.A., et al. Prediction of Safety Indicators for Donor Blood and Its Components in a Statistically Managed Technological Process Based on Bayesian Inversion. *Biomed Eng.* 2022; 56(2): 114–8. DOI: 10.1007/s10527-022-10179-2.
33. Pereira P, Seghatchian J, Caldeira B, Xavier S, de Sousa G. Statistical control of the production of blood components by control charts of attribute to improve quality characteristics and to comply with current specifications. *Transfus Apher Sci.* 2018; 57(2): 285–90. DOI: 10.1016/j.transci.2018.04.009.
34. Varlamov O.O., Chuvikov D.A., Lemondzhava V.N., et al. A Software Package Supporting Decision Making on the Safety of Thermolabile Blood Components. *Biomed Eng.* 2022; 55(1): 355–9. DOI: 10.1007/s10527-022-10135-0.
35. Vickers A.J. How many repeated measures in repeated measures designs? Statistical issues for comparative trials. *BMC Med Res Methodol.* 2003; 3: 22. DOI: 10.1186/1471-2288-3-22.
36. Sullivan L.M., Weinberg J., Keaney J.F. Common Statistical Pitfalls in Basic Science Research. *J Am Heart Assoc.* 2016; 5(10): e004142. DOI: 10.1161/JAHA.116.004142.

Информация об авторах

Лемонджав Вахтанг Нодарович*, старший научный сотрудник общества с ограниченной ответственностью «Научно-производственная организация «БИОМЕДТЕХ»,
e-mail: lemonjava.vahtang@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6796-4037>

Сидоркевич Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, директор ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства России»,
e-mail: sidorkevichs@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9931-9406>

Касьянов Андрей Дмитриевич, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории гемотрансфузионных технологий ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства России»,
e-mail: kaslab52@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3597-664X>

* Автор, ответственный за переписку

Поступила: 06.10.2023

Принята к печати: 20.12.2023

Information about the authors

Vakhtang N. Lemondzhava*, Senior Researcher, Limited Liability Company «Scientific and Production Organization “BIOMEDTECH”,
e-mail: lemonjava.vahtang@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6796-4037>

Sergey V. Sidorkevich, Dr. Sci. (Med.), Professor, Director of the Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia,
e-mail: sidorkevichs@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9931-9406>

Andrey D. Kasyanov, Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher of the Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia,
e-mail: kaslab52@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3597-664X>

* Corresponding author

Received 06 Oct 2023

Accepted 20 Dec 2023