



ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro* Плазма-калибратор для определения МНО и протромбина по Квику (**Протромбин – калибратор**) по ТУ 9398-057-05595541-2013

НАЗНАЧЕНИЕ

Предназначенное применение. Медицинское изделие Плазма-калибратор для определения МНО и протромбина по Квику (Протромбин – калибратор) по ТУ 9398-057-05595541-2013 предназначено для определения среднего нормального протромбинового времени (ПВ_{100%}) при выражении результатов определения протромбинового времени (ПВ) в виде Международного Нормализованного Отношения (МНО), а также для построения калибровочного графика при определении протромбина по Квику, %.

Предназначенный пользователь. Работу с реагентом Протромбин-калибратор может проводить врач-лаборант или фельдшер-лаборант. Реагент предназначен только для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике.

Диагностическая роль. Определение протромбинового времени - это высокочувствительный скрининговый тест, который выявляет нарушения факторов внешнего пути свертывания крови (ф. II, V, VII и X) и рекомендуется для:

- мониторинга терапии непрямыми антикоагулянтами;
- диагностики наследственных и приобретенных коагулопатий;
- диагностики заболеваний печени.

Область применения. Область применения реагента – клиническая медицина, клиническая лабораторная диагностика, лабораторная диагностика нарушений гемостаза.

НАУЧНАЯ ОБСОВАННОСТЬ АНАЛИТА

Протромбиновое время - лабораторный показатель, широко используемый для оценки внешнего и общего пути свертывания крови, для мониторинга терапии непрямыми антикоагулянтами и для оценки функции печени. Последнее применение обусловлено локализацией в печени витамина К, который ответственен за синтез функционально активных факторов свертывания (II, VII, IX, X). Чувствительность протромбинового времени к дефициту этих факторов определяет его способность контролировать лечение непрямыми антикоагулянтами (кумарины, варфарин), которые являются антагонистами витамина К [2].

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Состав набора

Протромбин-калибратор, лиофильно высушенный, объем после восстановления 1,0 мл/флакон – 1, 3 или 6 флаконов.

Протромбин-калибратор, пул плазмы, полученный от не менее 20 доноров в возрасте 20-40 лет, стабилизированный HEPES-цитратным буфером, лиофильно высушенный и аттестованный против референсных сертифицированных плазм. Флаконы силиконированы для предотвращения контактной активации.

Число анализируемых проб

Один флакон Протромбин-калибратора предназначен для проведения 20 анализов при расходе 50 мкл реагента на один анализ.

Принцип метода. Метод определения активности протромбина по Квику основан на построении калибровочного графика и должен выполняться в соответствии с инструкциями производителей наборов реагентов с учетом требований производителей анализаторов. По калибровочному графику определяют значение активности протромбина по Квику, %, в плазме крови пациента.

Среднее нормальное протромбиновое время (ПВ_{100%}), необходимое для выражения результатов определения ПВ в виде МНО, представляет собой среднее геометрическое результатов определения ПВ в плазмах не менее 20 здоровых доноров. ПВ_{100%} рассчитывают, определяя величину ПВ в Протромбин-калибраторе и используя значение ПО (протромбиновое отношение), указанное в паспорте на Протромбин-калибратор.

МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ ПРОСЛЕЖИВАЕМОСТЬ ЗНАЧЕНИЙ, ПРИПИСАННЫХ КАЛИБРАТОРУ

Протромбин-калибратор аттестован по протромбиновому отношению (ПО) и активности протромбина по Квику, % против внутреннего стандарта, который в свою очередь был аттестован против пула донорской плазмы, активность протромбина по Квику в котором принят за 100%, или против референсных сертифицированных плазм ведущих мировых производителей с помощью тромбластиновых реагентов, аттестованных по МИЧ.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Растворимость лиофильно высушенного реагента в дистиллированной воде при температуре от плюс 18 до плюс 25°С не более 60 сек.

Точность.

ПО реагента при анализе с Ренампластином в диапазоне 0,9-1,1.

Активность протромбина по Квику в реагенте при анализе с Ренампластином в диапазоне 90-110%.

Допустимое отклонение ПО и активности протромбина по Квику в реагенте от аттестованного значения – не более 10%.

Все расчеты проведены в соответствии с рекомендациями [6].

Линейность

Линейность определений протромбина по Квику – от 25 до 100%.

Воспроизводимость. Коэффициент вариации и межфлаконная вариация результатов определений - не более 10%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Реагент Протромбин-калибратор предназначен только для диагностики *in vitro*. Класс потенциального риска применения набора – 2а.

Реагент Протромбин-калибратор не является источником опасных излучений и выделений в окружающую среду и не представляет рисков, связанных с возможностью взрыва и возгорания.

При работе с реагентом и образцами крови следует соблюдать правила, описанные в следующих документах: СанПиН 2.1.3. 2630-10 от 30.09.2010 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность»; СП 3.1.5. 2826 от 11.01.2011 «Профилактика ВИЧ-инфекции».

⚠ Каждая доза донорской крови, использованная для получения пула при изготовлении Протромбин-калибратора, проверена на отсутствие поверхностного антигена вируса гепатита В, на антитела к вирусу гепатита С, на антитела к ВИЧ 1 и к ВИЧ 2. Для получения пула использована только кровь, не содержащая этих агентов. Однако ввиду невозможности доказать их полное отсутствие плазма должна рассматриваться как потенциально инфицированная, способная сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В и С или любой другой возбудитель вирусной инфекции. При работе с исследуемыми образцами следует надевать защитную одежду (халат), а также медицинские диагностические одноразовые перчатки.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Коагулологический анализатор любого типа с набором кювет;
- наборы реагентов Ренампластин, Тромбопластин, Диагем П, Диакап П;
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема, позволяющие дозировать 20-200 и 200-1000 мкл;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор;
- перчатки медицинские одноразовые.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Раствор Протромбин-калибратора анализируют до проведения серии исследований плазмы пациентов.

Вид анализируемого биологического материала

Анализируемый биологический материал – плазма человеческой крови. Образцы для анализа не должны быть гемолизированы, содержать сгустки, примесь эритроцитов, не должны иметь контакта со стеклянной поверхностью, быть хилезными, от пациентов с желтухой и липемией.

Процедура получения анализируемого биологического материала

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку или вакуумную систему, содержащую 0,109 моль/л трехзамещенного цитрата натрия в соотношении кровь: цитрат 9:1. Центрифугировать при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°С в течение 15 мин при 3000 об/мин (1200 g).

Условия хранения анализируемого биологического материала

Время хранения исследуемой плазмы до анализа - не более 8 ч при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°С. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре минус 20°С и хранение при этой температуре не более 2 месяцев.

Ограничения по использованию анализируемого биологического материала

При работе с кровью общим правилом является немедленное отделение плазмы от форменных элементов, так как некоторые вещества могут поглощаться и инактивироваться эритроцитами и лейкоцитами.

Повторное замораживание образцов исследуемой плазмы не допускается, так как при повторном замораживании и оттаивании происходит частичная деградация белковых веществ.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Приготовление Протромбин-калибратора

Внести во флакон с Протромбин-калибратором 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании (избегать образования пены). Перед использованием раствор Протромбин-калибратора нужно выдержать при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°С в течение 20 мин.

Приготовление Ренампластина и Тромбопластина

Ренампластин и Тромбопластин приготовить, как описано в Инструкциях к соответствующим наборам.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для выражения результатов определения ПВ в виде МНО измерить ПВ Протромбин-калибратора с использованием наборов реагентов Ренампластин, Тромбопластин, Диатем П, по инструкции, прилагаемой к наборам, далее провести математический расчет протромбинового отношения и МНО.

Для определения протромбина по Квику Протромбин-калибратор развести физиологическим раствором следующим образом:

Активность протромбина по Квику в Протромбин-калибраторе, %	A*%	0,5 A %	0,25 A %
Протромбин-калибратор, мл	0,5	0,5	0,5
Физиологический раствор, мл	-	0,5	1,5

*А – аттестованное значение активности протромбина по Квику, %, в Протромбин-калибраторе (указывается в паспорте).

Далее определить время свертывания (ПВ), с, каждого разведения, согласно инструкции по применению соответствующих наборов реагентов и анализаторов.

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить ПВ, с, в Протромбин-калибраторе от момента добавления тромбопластина с кальцием до момента образования фибринового сгустка.

РАСЧЕТЫ

Построить калибровочный график зависимости ПВ, с, (ось X) от величины, обратной активности протромбина по Квику, % (ось Y).

Для каждой серии реагентов должна быть построен свой калибровочный график.

Активность протромбина по Квику, %, в исследуемой плазме пациента определить по калибровочному графику.

МНО вычислить по формуле:

$$МНО = \left(\frac{ПВ_n}{ПВ_{100\%}} \right)^{МИЧ} \quad \text{где:}$$

ПВ_n – ПВ исследуемой плазмы пациента, сек.

ПВ_{100%} – среднее нормальное ПВ, с.

МИЧ – Международный Индекс Чувствительности, указанный в паспорте на тромбопластин.

Так как ПО Протромбин-калибратора (ПО_{ПК}) равно:

$$ПО_{ПК} = \frac{ПВ_{ПК}}{ПВ_{100\%}}, \quad \text{то} \quad ПВ_{100\%} = \frac{ПВ_{ПК}}{ПО_{ПК}}, \quad \text{а}$$

$$МНО = \left(\frac{ПВ_n}{ПВ_{ПК}} \times ПО_{ПК} \right)^{МИЧ} \quad \text{где}$$

ПВ_{ПК} – ПВ Протромбин-калибратора, с.

ПО_{ПК} – протромбиновое отношение Протромбин-калибратора.

Точные значения активности протромбина по Квику, %, и ПО_{ПК} для Ренампластина и Тромбопластина указаны в паспорте на Протромбин-калибратор.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности со дня изготовления лиофильно высушенного Протромбин-калибратора – 18 мес.

Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно проводиться при температуре от плюс 2 до плюс 8°C в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до плюс 25°C в течение 10 сут. Замораживание реагента допускается. Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат!

Приготовленный раствор Протромбин-калибратора можно хранить во флаконе изготовителя:

- не более 4 ч при температуре от плюс 2 до плюс 8°C

- не более 2 ч при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°C.

Транспортирование реагента должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Допускается транспортирование наборов при температуре до плюс 25°C не более 10 суток. Замораживание не допускается.

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие реагента Протромбин-калибратор требованиям Технических условий (ТУ) при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных ТУ.







МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

В соответствии с «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами» (СП № 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010) отходы от работы с Протромбин-калибратором с использованием образцов плазмы крови пациентов и реагенты, не подлежащие использованию, и с истекшим сроком годности относятся к отходам класса опасности Б.

Отходы собирают в одноразовые пакеты желтого цвета, пакеты заполняют на ¾, завязывают, маркируют надписью: «Отходы. Класс Б», наносят на бирку название организации, дату и ФИО исполнителя и помещают на участок временного хранения до вывоза транспортом специального подразделения к месту обеззараживания и утилизации.

Вывоз отходов класса Б для обезвреживания или утилизации осуществляется специализированными организациями, имеющими лицензию на данный вид деятельности. Транспортирование, обезвреживание и захоронение отходов класса Б осуществляется в соответствии с гигиеническими требованиями, предъявляемыми к порядку накопления, транспортирования, обезвреживания и захоронения токсичных промышленных отходов.

СИМВОЛЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА

Символ	Наименование символа
	Номер по каталогу
	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Биологический риск
	Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению
	Изготовитель

Дата утверждения инструкции: 15 августа 2013 г.

ЛИТЕРАТУРА

- Баркаган З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот - М.: «Ньюдиамед», 2001- 285с.
- Берковский А.Л., Внешний путь свертывания крови. Методы исследования. / А.Л. Берковский, Е.В. Сергеева, А.С. Суворов, А.А. Козлов - М. 2016.- 73 с.
- WHO Expert Committee on Biological Standardization. Guidelines for thromboplastins and plasma used to control oral anticoagulant therapy. WHO Technical Report Series - 1999; No. 889: P. 64-93.
- Poller, L. The prothrombin time / L. Poller. WHO/LAB/98.3. - 1998.
- Van den Besselaar, A.M.H.P., On Behalf of the Subcommittee on Control of Anticoagulation of the Scientific and Standardization Committee of the ISTH: Guidelines on Preparation, Certification, and use of Certified Plasmas for ISI Calibration and INR Determination / A.M.H.P. Van den Besselaar [Et. al.] // Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2: 1946 – 1953, 2004.
- Procedures for Validation of INR and Local Calibration of PT/INR Systems: Approved Guideline; CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) Document H54-A, Vol. 25, No. 23, Replaces H54-P, Vol 24, No. 30 (formerly NCCLS), 2005.

ПЕРЕЧЕНЬ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕМ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

- ГОСТ Р 51088-2013. Медицинские изделия для диагностики in vitro. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации.
- ГОСТ Р 53133.3-2008 Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований. Часть 3. Описание материалов для контроля качества клинических лабораторных исследований.
- ГОСТ ISO 17511-2011 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Измерение величин в биологических пробах. Метрологическая прослеживаемость значений, приписанных калибраторам и контрольным материалам.
- ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Методы испытаний.
- ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro.
- ГОСТ Р ЕН 13612-2010 Оценка функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики in vitro.
- ГОСТ Р ЕН 13641-2010 Устранение или снижение риска инфицирования, связанного с реагентами для диагностики in vitro.
- ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.
- ГОСТ Р ИСО18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация. Предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения.
- ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования.
- Приказ Минздрава России от 19.01.2017 г №11н «Об утверждении требований к содержанию технической и эксплуатационной документации производителя (изготовителя) медицинских изделий».

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в НПО «РЕНАМ» МБООИ «Общество больных гемофилией» по адресу: 125212, г. Москва, ул.Адмирала Макарова, д.4, стр.2. Тел (804)333-22-61, (495) 225-12-61, e-mail: info@renam.ru, сайт www.renam.ru.