

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro* «Реагент для определения протромбинового времени клоттинговым методом (Ренампластин) по ТУ 21.20.23-066-05595541-2019»

НАЗНАЧЕНИЕ

Предназначенное применение. Медицинское изделие для диагностики *in vitro* «Реагент для определения протромбинового времени клоттинговым методом (Ренампластин) по ТУ 21.20.23-066-05595541-2019» (сокращенное наименование – «Ренампластин») предназначено для определения протромбинового времени в плазме крови с целью исследования активности факторов протромбинового комплекса, функции печени и для оценки эффективности лечебного действия пероральных антикоагулянтов [1,2,3].

Предназначенный пользователь. Определение протромбинового времени с помощью Ренампластина может проводить врач-лаборант или фельдшер-лаборант. Набор 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 [1].

Область применения. Область применения набора – клиническая медицина, клиническая лабораторная диагностика.

НАУЧНАЯ ОБОСНОВАННОСТЬ АНАЛИТА

Ренампластин используется для определения протромбинового времени. Протромбиновое время - лабораторный показатель, широко используемый для оценки внешнего (тканевого) пути свертывания крови, для мониторинга терапии непрямыми пероральными 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 пероральными антикоагулянтами (кумарины, варфарин), которые являются антагонистами витамина К [2].

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАГЕНТА

Состав:

Вариант исполнения 1:

Ренампластин, лиофильно высушенный – объем после восстановления 8,0 мл/флакон - 10 флаконов. Номер по каталогу производителя - ПГ-5/1.

Вариант исполнения 2:

Ренампластин, жидкий – 5,0 мл/флаконе - 10 флаконов. Номер по каталогу производителя - ПГ-5/2.

Вариант исполнения 3:

Ренампластин, лиофильно высушенный – объем после восстановления 5,0 мл/флакон - 10 флаконов.

Номер по каталогу производителя - ПГ-5/3.

В варианте исполнения 1 Ренампластин расфасован в стеклянные флаконы, укупоренные резиновыми пробками и обжатые алюминиевыми колпачками.

В варианте исполнения 2 и 3 Ренампластин расфасован в стеклянные флаконы, укупоренные резиновыми пробками, с закрывающимися пластмассовыми крышками.

Ренампластин представляет собой смесь тромбoplastина из мозга кроликов и кальция хлористого.

Комплект поставки:

- Ренампластин, в вариантах исполнения;
- инструкция по применению;
- паспорт медицинского изделия;
- таблица для расчета МНО.

Число анализируемых проб биологического материала

Один флакон лиофильно высушенного Ренампластина предназначен для проведения 80 определений при расходе 0,1 мл раствора реагента на один анализ (вариант исполнения 1) или 50 определений при расходе 0,1 мл реагента на один анализ (вариант исполнения 3).

Один флакон жидкого Ренампластина (вариант исполнения 2) предназначен для проведения 50 определений при расходе 0,1 мл реагента на один анализ.

Принцип метода. Метод основан на определении времени свертывания цитратной плазмы крови под действием смеси тромбoplastина и ионов кальция. Определяется время от момента добавления Ренампластина к исследуемой плазме до момента образования сгустка фибрина. Время образования сгустка фибрина зависит от активности факторов внешнего и общего пути свертывания: II, V, VII, X. С целью стандартизации метода время свертывания пересчитывается в Международное Нормализованное Отношение (МНО), что позволяет использовать метод для контроля за приемом пероральных антикоагулянтов.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Точность определения Международного индекса чувствительности (МИЧ)

Значения Международного индекса чувствительности (МИЧ) Ренампластина – в диапазоне от 1,0 до 1,3 усл. ед. Аттестованное значение МИЧ указывается в паспорте на каждую серию Ренампластина. Допустимое отклонение МИЧ Ренампластина от аттестованного значения – не более 5%.

Воспроизводимость

Коэффициент вариации и межфлаконная вариация результатов определения МИЧ - не более 5%. Допустимый разброс результатов определения МИЧ разными наборами Ренампластина одной серии – не более 5%.

Чувствительность

Чувствительность определения активности протромбина по Квику – не более 12,5%.

Линейность

Линейность определения активности протромбина по Квику – в диапазоне от 12,5 до 100 %. Отклонение в тесте на «линейность» - не более 5%.

Тест на «открытие»

Отклонение в тесте на «открытие» - не более 5%.

Влияние потенциально интерферирующих веществ

Следующие вещества не влияют на правильность определения протромбинового времени: билирубин в концентрации до 30 мг/л, гемоглобин – до 100 мг/л, триглицериды – до 6 г/л и нефракционированный гепарин – до 1,0 МЕ/мл. При превышении указанных концентраций возможно получение ложно завышенных результатов определения протромбинового времени. Присутствие волчаночного антикоагулянта и низкий (менее 1,0 г/л) уровень фибриногена в исследуемой плазме также может приводить к получению ложно завышенных результатов.

Значения, соответствующие нормальным [3]

Протромбиновое время, в диапазоне	12 – 18 с,
МНО, в диапазоне	0,85 – 1,15 усл. ед.,
Активность протромбина по Квику, в диапазоне	70 – 130 %

Ограничения метода

Метод определения протромбинового времени зависит от активности большого числа факторов свертывания. Поэтому для уточнения причины удлинения или укорачивания протромбинового времени рекомендуется проводить дополнительные исследования.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Ренампластин предназначен только для диагностики *in vitro*.

Класс потенциального риска применения - 2а.

Ренампластин не является источником опасных излучений и выделений в окружающую среду и не представляет рисков, связанных с возможностью взрыва и возгорания.

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

При работе с Ренампластином следует надевать защитную одежду (халат) и перчатки медицинские диагностические одноразовые, так как реагент используют при работе с образцами крови человека, которые следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусных инфекций.

В состав реагента Ренампластин входит экстракт мозга кроликов, являющийся потенциально инфицированным биологическим материалом. Безопасность каждой партии биологического материала подтверждается ветеринарным сертификатом изготовителя мозга кроликов. Тем не менее, не следует исключать остаточного минимального риска при работе с реагентом.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Анализатор любого типа;
- центрифуга лабораторная;
- дозаторы одноканальные переменного объема, позволяющие отобрать от 20 до 200 мкл и от 1,0 до 5,0 мл;
- наконечники для дозаторов объемом от 20 до 200 мкл и от 1,0 до 5,0 мл;
- термобаня, поддерживающая температуру плюс 37,0 ± 0,2°C;
- секундомер;
- пробирки пластиковые вместимостью 10 мл;
- «Плазма-калибратор для определения МНО и протромбина по Квику (Протромбин-калибратор) по ТУ 9398-057-05595541-2013» (РЗН 2015/2546 от 07.11.2016), производства МБООИ «Общество больных гемофилией»;
- «Плазмы контрольные для контроля правильности определения МНО при терапии оральными антикоагулянтами (3 уровня) (Протромбин-контроль) по ТУ 9398-056-05595541-2015» (РЗН 2017/5511 от 22.03.2017), производства МБООИ «Общество больных гемофилией»;
- «Реагент для приготовления стабилизатора крови (Цитрат натрия) по ТУ 9398-027-05595541-2009» (ФСР 2009/06292 от 07.11.2016), производства МБООИ «Общество больных гемофилией» или вакуумные системы для взятия крови с 3,2% 3-х замещенным цитратом натрия 2-водным (0,109 моль/л);
- вода дистиллированная;
- 0,9% раствор натрия хлористого (физиологический раствор);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

Примечание – Ренампластин совместим со всеми типами автоматических и полуавтоматических анализаторов, предназначенных для коагулологических исследований параметров гемостаза.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Вид анализируемого биологического материала

Ренампластин предназначен для определения протромбинового времени в плазме крови.

Образцы плазмы крови для анализа не должны быть гемолизированы, содержать сгустки, примесь эритроцитов, не должны контактировать со стеклянной поверхностью.

Процедура получения биологического материала

Венозную кровь отобрать в пластиковую пробирку с 3,8% (0,109 моль/л) 5,5-водным цитратом натрия в соотношении 9:1 или в вакуумные системы для взятия крови с 3,2% (0,109 моль/л) 2-водным цитратом натрия, центрифугировать при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°C в течение 15 мин при 3000 об/мин (1200 g).

Условия хранения биологического материала

Время хранения исследуемой плазмы до анализа - не более 8 ч при комнатной температуре. Для данного анализа не допускается хранение образцов биологического материала при температуре от плюс 2 до плюс 8°C в связи с возможностью холодной активации фактора VII.

Ограничения по использованию 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.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Приготовление раствора Ренампластина

Внести в один флакон с лиофильно высушенным реагентом 8,0 мл дистиллированной воды (для варианта исполнения 1) или 5,0 мл дистиллированной воды (для варианта исполнения 3) и растворить при комнатной температуре и осторожном покачивании. Время растворения Ренампластина составляет не более 3 минут. Перед использованием прогреть раствор с реагентом при температуре плюс 37°C в течение 30 минут и перемешать покачиванием. Жидкий Ренампластин готов к использованию. Перед анализом прогреть флаконы с жидким Ренампластином при температуре плюс 37°C в течение 30 минут и перемешать покачиванием.

Приготовление раствора Протромбин-калибратора

Растворить Протромбин-калибратор согласно инструкции по применению.

Приготовление растворов контрольных плазм Протромбин-контроль

Растворить компоненты набора Протромбин-контроль согласно инструкции по применению.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведение анализа на автоматическом коагулометре

- Выбрать на анализаторе программу для определения ПВ.
- Поместить растворы Протромбин-калибратора, исследуемых и контрольных плазм в кюветы, расположенные в соответствующих ячейках анализатора.
- Поместить Ренампластин в соответствующую ячейку для реагента.
- Запустить программу Calibrate, калировка прибора.
- Запустить программу определения ПВ.
- Считать результаты.

Проведение анализа на полуавтоматическом коагулометре

Анализ проводят по следующей схеме:

Внести в кювету анализатора:	Объем, мкл
Исследуемая плазма крови / Протромбин-калибратор / контрольная плазма	50
Инкубировать при 37°C точно 1 или 2 минуты.	
Ренампластин	100
Зафиксировать время образования сгустка фибрина	

РАСЧЕТЫ

Результаты протромбинового теста могут быть выражены как:

- Протромбиновое отношение;
- МНО (Международное Нормализованное Отношение);
- Активность протромбин по Квику в %;

Протромбиновое отношение (ПО)

ПО рассчитать по формуле:

$$ПО = \frac{ПВ_{п}}{ПВ_{100\%}}$$

где: ПВ_п – ПВ исследуемой плазмы пациента, сек.

ПВ_{100%} – среднее нормальное протромбиновое время, сек;

Так как

$$ПО_{ПК} = \frac{ПВ_{ПК}}{ПВ_{100\%}} \quad \text{то} \quad ПВ_{100\%} = \frac{ПВ_{ПК}}{ПО_{ПК}} \quad ПО = \frac{ПВ_{п}}{ПВ_{ПК}} \times ПО_{ПК}$$

где: ПВ_{ПК} – ПВ Протромбин-калибратора, сек.

ПО_{ПК} – протромбиновое отношение Протромбин-калибратора в паспорте на Протромбин-калибратор. (указано в паспорте на Протромбин-калибратор).

Международное Нормализованное Отношение (МНО)

МНО рассчитать по формуле:

$$МНО = \left(\frac{ПВ_{п}}{ПВ_{100\%}} \right)^{МИЧ} \quad \text{или} \quad МНО = \left(\frac{ПВ_{п}}{ПВ_{ПК}} \times ПО_{ПК} \right)^{МИЧ}$$

где: МИЧ – Международный Индекс Чувствительности Ренампластина, указан в прилагаемом паспорте.

Таблица пересчета ПО в МНО входит в комплект поставки набора Ренампластин.

Построение калибровочного графика для определения протромбина по Квику

Приготовить ряд разведений Протромбин-калибратора физиологическим раствором по следующей схеме.

Протромбин по Квику в Протромбин-калибраторе в %	A*%	0,5 A%	0,25 A%	0,125 A%
Протромбин-калибратор, мл	0,5	0,5	0,5	0,5
Физиологический раствор, мл	-	0,5	1,5	3,5

*A – аттестованное значение активности протромбина по Квику в Протромбин-калибраторе. Для каждого разведения Протромбин-калибратора определить протромбиновое время (ПВ), сек, и нанести полученные значения на координатную сетку (скачать с сайта www.renam.ru). Построить калибровочный график зависимости активности протромбина по Квику, % (ось Y) от ПВ, с, (ось X). Для удобства работы на график нанесена также вторая ось (Y) с величинами, обратными значению протромбина (1/протромбин в %) и таблица пересчета обратных величин. Для построения графика можно использовать программу Excel.

Определение протромбина по Квику в плазме пациента

Определить ПВ в исследуемых образцах плазмы пациента по методу, описанному выше и по калибровочному графику рассчитать активность протромбина по Квику, %. Образцы с высоким уровнем активности протромбина по Квику могут выйти за пределы линейности, что приводит к искажению результатов. Поэтому точные значения активности протромбина по Квику для таких образцов могут быть получены при разведении исследуемой плазмы физиологическим раствором в 2 раза. При этом результат, полученный по калибровочному графику, следует умножить на 2.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Удлинение протромбинового времени может быть связано с:

- дефицитом факторов внешнего пути свертывания (II, V, VII, X);
- дефицитом витамина К;
- приемом антикоагулянтов непрямого действия (например, варфарина, синкумара и др.);
- ДВС-синдромом (фаза гипокоагуляции);
- афибриногенемией, гипофибриногенемией, дисфибриногенемией;
- заболеванием печени;
- антикоагулянтами прямого действия (дабигатран, ривароксабан, аписаксан);
- злокачественными опухолями.

Укорочение протромбинового времени свидетельствует об:

- активации внешнего пути свертывания и гиперкоагуляции;
- повышении активности факторов внешнего пути свертывания;
- ДВС-синдроме;
- активации системы фибринолиза.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Нормальные и патологические значения исследуемых показателей гемостаза следует контролировать с помощью набора «Плазмы контрольные для контроля правильности определения МНО при терапии оральными антикоагулянтами (3 уровня) (Протромбин-контроль) по ТУ 9398-056-05595541-2015» (номер по каталогу производителя КМ-17), производства МБООИ «Общество больших гемофилий» или с помощью «Плазмы контрольной (пул здоровых доноров) (Плазма Н) по ТУ 9398-004-05595541-2009», (номер по каталогу производителя КМ-1) производства МБООИ Общество больших гемофилий.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Ренампластин стабилен в течение всего срока годности при условии хранения в укупоренном виде в холодильнике при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Допускается хранение реагента при температуре до 25°C не более 10 суток. Замораживание жидкого реагента при хранении не допускается.

Срок годности Ренампластина – 24 месяца. Не использовать реагент после истечения срока годности!

Приготовленный раствор лиофильно высушенного Ренампластина следует хранить в плотно укупоренном виде. Допускается дробное использование как приготовленного раствора лиофильно высушенного реагента, так и готового жидкого реагента в соответствии с указанными ниже условиями хранения.

Допускается однократное быстрое замораживание аликвот Ренампластина при температуре от минус 18 до минус 20 °С. Оттаивать замороженные аликвоты следует при комнатной температуре на водяной бане. Повторное замораживание не допускается.

Стабильность Ренампластина после первого вскрытия флакона

Вариант исполнения	Температура хранения, °С, в диапазоне		
	плюс 2 - 8	плюс 18 - 25	минус 18 – минус 20
Лиофильно высушенный реагент, растворенный	14 суток	2 суток	3 месяца
Жидкий реагент	14 суток	2 суток	3 месяца

Транспортирование Ренампластина должно проводиться при температуре от плюс 2 до плюс 8°C в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, или в авторефрижераторах с использованием термондиков, в соответствии с правилами перевозок, действующими на данном виде транспорта. Допускается транспортирование реагента при температуре до 25°C не более 10 суток. Замораживание жидкого реагента при транспортировании не допускается.

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

В соответствии с «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами» (СанПиН 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010) отходы от работы с реагентом Ренампластин с использованием образцов плазмы крови пациентов относятся к классу опасности Б. В соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 реагент Ренампластин, не подлежащий использованию, и с истекшим сроком годности относится к отходам класса Б.

Отходы класса Б собирают в одноразовые пакеты желтого цвета, пакеты заполняют на три четверти, 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 осуществляется специализированными организациями для дальнейшей передачи в организации, имеющие соответствующую лицензию, для последующего уничтожения на специально оборудованных площадках в соответствии с требованиями, предусмотренными существующими Федеральными законами и с соблюдением обязательных требований по охране окружающей среды.

СИМВОЛЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М., «НьюДиамед», 2001. - 285 с.
2. Берковский А.Л., Сергеева Е.В., Суворов А.С., Козлов А.А. Внешний путь свертывания крови. Методы исследования. М. 2016. - 73 с.
3. Зубанов Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. ФЭН, Казань, 2000. - 360 с.

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 ИСО 15223-1-2014 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования.
- 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 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 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приемка выпускаемой продукции. Основные положения.
- ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Медицинские изделия.
- 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.
- 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 реагента, следует обращаться в НПО «РЕНАМ» МБООИ «Общество больших гемофилий» по адресу: 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 4, стр. 2. Тел. 8(804)333-22-61, (495) 225-12-61, e-mail: info@renam.ru www.renam.ru