

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro* Набор реагентов для определения протромбинового времени (**Диagem П**) по ТУ 9398-030-05595541-2010

НАЗНАЧЕНИЕ

Предназначенное применение. Медицинское изделие для диагностики *in vitro* Набор реагентов для определения протромбинового времени (Диagem П) по ТУ 9398-030-05595541-2010 предназначено для определения протромбинового времени (ПВ) по методу Квику.

Предназначенный пользователь. Определение протромбинового времени с помощью набора Диagem П может проводить врач-лаборант или фельдшер-лаборант. Наборы предназначены 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, лабораторная диагностика нарушений гемостаза.

НАУЧНАЯ ОБОСНОВАННОСТЬ ТЕСТА

Тест протромбинового времени - 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 НАБОРА

Состав набора:

Тромбопластин, лиофильно высушенный, объем после восстановления 2,5 мл/флакон - 6 флаконов;
0,025М раствор кальция хлористого - 5 мл/флакон - 4 флакона.

Число анализируемых проб биологического материала

Один набор предназначен для проведения 300 анализов при расходе 100 мкл тромбопластин-кальциевой смеси на один анализ.

Принцип метода. При добавлении к цитратной плазме избытка тканевого тромбопластина и ионов кальция время образования сгустка фибрина зависит только от активности факторов внешнего и общего пути коагуляции: I, II, V, VII, X. Измеряют время от момента добавления к исследуемой плазме смеси тромбопластина и ионов кальция до момента образования фибринового сгустка.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфичность

Уменьшение активности факторов внешнего и общего пути свертывания ниже 50%, в том числе фибриногена ниже 1 г/л приводит к увеличению ПВ до патологических значений.

Результаты определения ПВ могут зависеть от назначаемых препаратов. Препараты варфарина и прямых ингибиторов тромбина и фактора Ха могут повышать ПВ.

На результаты определения ПВ влияет выбор антикоагулянта и соблюдение точного соотношения антикоагулянт:кровь.

Следующие вещества не влияют на правильность определения ПВ: билирубин в концентрации до 30 мг/л, свободный 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 ПВ.

Точность

ПВ в контрольной нормальной плазме с аттестованной активностью протромбина по Квику должна быть в пределах 12 – 18 с. Допустимое отклонение ПВ от аттестованного значения не превышает 10%. Точное значение ПВ в контрольной плазме указано в паспорте на конкретную серию набора.

Международный индекс чувствительности (МИЧ) тромбопластина, входящего в состав набора, выраженный в усл. ед., должен быть в диапазоне 1,2 – 1,5. Точное значение МИЧ для каждой серии тромбопластина указано в паспорте на конкретную серию набора.

Линейность

Отклонение от линейности в диапазоне определений протромбина по Квику от 100 до 25% не превышает 10%.

Чувствительность

Чувствительность тромбопластина в значениях протромбина по Квику не более 12,5%.

Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определения протромбинового времени - не превышает 10%. Допустимый разброс результатов определения протромбинового времени в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышает 10%.

Тест на открытие

Отклонение в тесте на открытие не превышает 10%.

Значения, соответствующие нормальным

Протромбиновое время, сек	12 – 18
МНО	0,85 – 1,15
Протромбин по Квику в % от нормы	70 – 130
ПИ,%	90 – 105

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Наборы реагентов предназначены только для диагностики *in vitro*. Потенциальный риск применения наборов – класс 2а.

Наборы реагентов не являются источником опасных излучений и выделений в окружающую среду и не представляет рисков, связанных с возможностью взрыва и

возгорания. При работе с реагентами набора Диagem П и с исследуемыми образцами крови пациентов 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).

В состав реагента Тромбопластин входит экстракт мозга кроликов, являющегося 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 набором.

При работе следует надевать защитную одежду (халат), а также медицинские диагностические одноразовые перчатки, т.к. образцы плазмы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита человека ВИЧ1 и ВИЧ2, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Коагулометр любого типа с набором пластиковых кювет*;
- центрифуга лабораторная;
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема, позволяющие отобрать 50-200 мкл и 200-1000 мкл;
- термобаня на 37°C и секундомер (для ручного определения);
- пробирки пластиковые вместимостью 10 мл;
- 3,8% 3-х замещенный цитрат натрия 5,5-водный (0,109 М);
- вакуумные системы для взятия крови с 3,2% 3-х замещенным цитратом натрия 2-водным (0,109 моль/л);
- медицинское изделие для диагностики *in vitro* «Плазма-калибратор для определения МНО и протромбина по Квику (Протромбин – калибратор) по ТУ 9398-057-05595541-2013», код по каталогу КМ-18;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (0,9% раствор натрия хлорида);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

*Примечание – набор Диagem П совместим со всеми типами анализаторов, предназначенных для коагулологических исследований параметров гемостаза.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Вид анализируемого биологического материала

Набор Диagem П предназначен для определения протромбинового времени в плазме крови человека. Образцы плазмы крови для анализа не должны быть гемолизированы, содержать сгустки, примесь эритроцитов, не должны контактировать со стеклянной поверхностью.

Процедура получения анализируемого 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 анализируемого биологического материала

Время хранения исследуемой плазмы до анализа - не более 8 ч при комнатной температуре от плюс 18 до плюс 25°C.

Ограничения по использованию анализируемого биологического материала

При анализе ПВ не допускается хранение образцов биологического материала при температуре от плюс 2 до плюс 8°C в связи с возможностью холодной активации фактора VII. 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 Тромбопластин-кальциевой смеси (ТКС)

Во флакон с Тромбопластином внести 2,5 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при покачивании. Внести в тот же флакон 2,5 мл 0,025 М раствора кальция хлористого и перемешать. Перед проведением анализа прогреть полученную тромбопластин-кальциевую смесь (ТКС) при плюс 37°C в течение 30 мин.

Приготовление раствора 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 в течение 20 мин.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведение анализа на автоматическом коагулометре

Выбрать на коагулометре программу для определения протромбинового времени.

- Поместить флаконы с приготовленными реагентами в соответствующие ячейки коагулометра.
- Поместить контрольные и исследуемые образцы плазмы в соответствующие ячейки коагулометра.
- Запустить программу измерения.
- Читать результаты.

Проведение анализа на полуавтоматическом коагулометре

Внести в кювету анализатора:	Объем, мкл
Протромбин-калибратор (Протромбин-контроль или исследуемая плазма)	50
Инкубировать при 37°C точно 1 или 2 минуты.	
Тромбопластин-кальциевая смесь	100

Регистрация результатов

Измерить ПВ в исследуемой плазме от момента добавления ТКС до момента образования фибринового сгустка.

РАСЧЕТЫ

Результаты протромбинового теста могут быть выражены как:

- МНО (Международное Нормализованное Отношение);
- Протромбин по Квику в % от нормы;

Протромбиновое отношение;

Протромбиновый индекс, %.

Протромбиновое отношение (ПО) вычислить по формуле:

$$ПО_{П} = \frac{ПВ_{П}}{ПВ_{100\%}}$$

ПВ_{100%} – среднее нормальное протромбиновое время, в секундах.

ПВ_П – ПВ исследуемой плазмы пациента, 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 (указано в паспорте на Протромбин-калибратор).

Международное Нормализованное Отношение (МНО) вычислить по формуле:

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

МИЧ – Международный Индекс Чувствительности Тромбластина, указан в прилагаемом паспорте.

Таблица пересчета ПО в МНО приведена в прилагаемом паспорте на данную серию Тромбластина.

Протромбиновый индекс (ПИ) вычислить по формуле:

$$ПИ = \frac{ПВ_{100\%}}{ПВ_{П}} \times 100\% \quad \text{или} \quad ПИ_{П} = \frac{ПВ_{ПК}}{ПВ_{П}} \times ПИ_{ПК} \quad \text{где}$$

ПИ_К – протромбиновый индекс Протромбин-калибратора (указано в паспорте на плазму, не входит в состав набора).

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%
Протромбин-калибратор, мл	0,5	0,5	0,5
Физиологический раствор, мл	-	0,5	1,5

*А – аттестованное значение протромбина по Квику (в % от нормы) в Протромбин-калибраторе.

Протромбин по Квику в % от нормы в плазме пациента определить по калибровочному графику, построенному с использованием разных разведений Протромбин-калибратора.

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 ПВ, сек, (ось X) от Протромбина по Квику, %, (ось Y).

Определение протромбина по Квику в плазме пациента

Определить ПВ в исследуемых образцах и по графику рассчитать протромбин по Квику. Образцы с высоким уровнем 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, умножить на 2.

Для удобства работы на график нанесена также вторая ось (Y) с величинами, обратными значению протромбина (1/протромбин в %) и таблица пересчета обратных величин.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Нормальные и патологические значения протромбина по Квику и МНО следует контролировать с помощью медицинских изделий для диагностики in vitro «Плазмы контрольные для контроля правильности определения МНО при терапии оральными антикоагулянтами (3 уровня) (Протромбин-контроль) по ТУ 9398-056-05595541-2015», код по каталогу КМ-17, или «Плазма контрольная (пул здоровых доноров) (Плазма Н) по ТУ 9398-004-05595541-2009» код по каталогу КМ-1, производства МБООИ «Общество больных гемофилией».

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности набора – 12 месяца. Не использовать набор после истечения срока годности!

Набор стабилен в течение всего срока годности при условии хранения в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от плюс 2 до плюс 8°С. Допускается хранение набора при температуре до плюс 25°С не более 10 суток. Замораживание набора Диагем П не допускается. Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат!

Приготовленную тромбопластин-кальциевую смесь следует хранить в плотно закупоренном виде.

Стабильность тромбопластин-кальциевой смеси (ТКС).

от плюс 2 до плюс 8°С	от плюс 18 до плюс 25°С	от минус 18 до минус 20°С
5 суток	8 часов	3 месяца

Транспортирование набора 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°С. Допускается транспортирование набора при температуре до плюс 25°С не более 10 суток. Замораживание набора не допускается.

ГАРАНТИИ ИЗГОТВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора Диагем П требованиям Технических условий (ТУ) при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных ТУ.







МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

В соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010 «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами» отходы от работы с набором Диагем П с использованием образцов плазмы крови пациентов и наборы с истекшим сроком годности относятся к отходам класса Б.

Отходы 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 обезвреживания 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 14 апреля 2010г.

ЛИТЕРАТУРА

- Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М., «Ньюдиамед», 2001.- 285 с.
- Берковский А.Л., Сергеева Е.В., Суворов А.С., Козлов А.А. Внешний путь свертывания крови. Методы исследования. М. 2016.- 73 с.
- Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. ФЭН, Казань, 2000.- 360 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: 64-93.

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 ИСО 18113-2-2015 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.
- 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 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