



ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики in vitro «Набор реагентов для определения протромбинового времени, протромбинового отношения, протромбинового индекса, процента протромбина по Квику и МНО в капиллярной крови (Диакап-П) по ТУ 9398-281-05595541-2007»

НАЗНАЧЕНИЕ

Предназначенное применение. Медицинское изделие для диагностики in vitro «Набор реагентов для определения протромбинового времени, протромбинового отношения, протромбинового индекса, процента протромбина по Квику и МНО в капиллярной крови (Диакап-П) по ТУ 9398-281-05595541-2007» (сокращенное название «Диакап П») предназначено для определения протромбинового времени (далее - ПВ) в капиллярной крови с целью диагностики нарушений во внешнем пути свертывания и для контроля лечения антикоагулянтами непрямого действия. Набор предназначен для работы на всех типах полуавтоматических и автоматических коагулометров.

Предназначенный пользователь. Определение протромбинового времени с помощью набора Диакап-П 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 ТЕСТА

Набор Диакап П используется для определения протромбинового времени. Протромбиновое время - лабораторный показатель, широко использующийся 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

Ренампластин - лиофильно высушенный тромбопластиновый реагент из мозга кроликов с добавлением кальция, объем после восстановления - 4,0 мл/флакон - 9 флаконов; Консервант для капиллярной крови, концентрат - 5,0 мл/флакон - 1 флакон.

Число анализируемых проб биологического материала

Капиллярная кровь. Один набор Диакап-П предназначен для проведения 720 анализов при расходе 50 мкл Ренампластина на один анализ или 360 анализов при расходе 100 мкл Ренампластина на один анализ.

Плазма венозной крови. Один набор Диакап-П предназначен для проведения 360 анализов при расходе 100 мкл Ренампластина на один анализ или 180 анализов при расходе 200 мкл Ренампластина на один анализ.

Принцип метода. При добавлении к капиллярной крови или плазме венозной крови 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. Определяется время от момента добавления к капиллярной крови Ренампластина до момента образования сгустка фибрина.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая специфичность

Уменьшение активности факторов внешнего и общего пути свертывания ниже 50% приводит к увеличению ПВ до патологических значений. Результаты определения ПВ могут зависеть от назначаемых препаратов. Препараты варфарина, 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: нефракционированный гепарин - до 1,0 МЕ/мл. При превышении указанной концентрации возможно получение ложно завышенных результатов определения ПВ в цитратной плазме. Присутствие волчаночного антикоагулянта и низкий (менее 1 г/л) уровень фибриногена в исследуемой плазме также может приводить к получению ложно завышенных результатов.

Точность

Активность Ренампластина в нормальной плазме - в пределах 12 - 18 с. Допустимое отклонение активности Ренампластина от аттестованного значения - не более 10 %.

Чувствительность

Ренампластина в тесте определения протромбин по Квику - не более 12,5%.

Линейность

В теста на линейность в диапазоне определения протромбина по Квику от 25 до 100% отклонение не более 10%.

Воспроизводимость Коэффициент вариации и допустимый разброс результатов определения активности разными наборами одной серии - не более 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

Ограничения метода

Клиническая диагностика не должна основываться только на результатах определения ПВ. При постановке диагноза должны быть рассмотрены клинические симптомы и другая значимая тестовая информация.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все компоненты данного набора предназначены только для диагностики in vitro. Класс потенциального риска применения набора - 2а.

Набор Диакап-П не является источником опасных излучений и выделений в окружающую среду и не представляет рисков, связанных с возможностью взрыва и возгорания.

При работе с набором 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».

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.

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;
- секундомер;
- термобаня, поддерживающая температуру 37±0,5°C;
- дозаторы одноканальные переменного объема, позволяющие отобрать от 20 до 200 мкл и от 1,0 до 5,0 мл;
- капилляр объемом не менее 100 мкл;
- пробирки пластиковые типа эппендорф;
- Плазма-калибратор для определения МНО и протромбина по Квику (Протромбин-калибратор) по ТУ 9398-057-05595541-2013;
- «Плазмы контрольные для контроля правильности определения МНО при терапии оральными антикоагулянтами (3 уровня) (Протромбин-контроль) по ТУ 9398-056-05595541-2015», РЗН 2017/5511, производства МБООИ «Общество больных гемофилией»;
- «Плазма контрольная (пул здоровых доноров) (Плазма Н) по ТУ 9398-004-05595541-2009», ФСР 2009/0536, производства МБООИ «Общество больных гемофилией»;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (0,9% раствор натрия хлорида);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Вид анализируемого биологического материала

Набор Диакап-П предназначен для определения протромбинового времени в капиллярной крови. Образцы крови для анализа не должны контактировать со стеклянной поверхностью.

Процедура получения биологического материала

Капиллярная кровь (КК). Капиллярном объемом не менее 100 мкл отобрать рабочий раствор консерванта для взятия капиллярной крови до метки и перенести его в пластиковую пробирку (например, эппендорф). После обработки мякоти пальца спиртом сделать прокол скарификатором. Удалить первую каплю крови ватным тампоном. Затем свободно выступающие капли крови отобрать тем же капилляром до той же метки, что и консервант (соотношение кровь : консервант - 1:1). Кровь перенести в пластиковую пробирку с консервантом и перемешать пипетированием.

Плазма венозной крови (П). 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 исследуемого материала 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.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Приготовление раствора Ренампластина

Внести во флакон с лиофильно высушенным Ренампластином 4,0 мл дистиллированной воды и растворить при покачивании. Перед проведением анализа реагент необходимо прогреть при температуре плюс 37°C в течении 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 от плюс 18 до плюс 25°C в течение 20 мин.

Приготовление рабочего раствора консерванта для взятия капиллярной крови. Концентрат консерванта для взятия капиллярной крови (5мл) развести дистиллированной водой в 10 раз (1,0 мл концентрата + 9,0 мл дистиллированной воды). Рекомендуется готовить на день работы.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проведение анализа в плазме венозной крови 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.
- Считать результаты.

Проведение анализа на полуавтоматическом коагулометре

Внести в кювету анализатора	
Капиллярная кровь (КК)	Плазма венозной крови (П) или Протромбин-калибратор/Протромбин-контроль
75 мкл	50 мкл
Инкубировать при 37°C точно 2 мин.	
Внести Ренампластин, прогретый при 37°C	
50 мкл	100 мкл
Зафиксировать время свертывания на коагулологическом анализаторе	

Регистрация результатов

Измерить ПВ в исследуемом образце (КК или П) и в Протромбин-калибраторе/Протромбин-контроле от момента добавления Ренампластина 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 в капиллярной крови (Покк) рассчитать по формуле:

$$Покк = \frac{ПВ_{КК}}{ПВ_{П}} \times ПО_{П} \times К_{Нст} \cdot r_{ге}$$

ПВ_П – протромбиновое время Протромбин-калибратора (не входит в состав набора) или свежего пула донорской плазмы.

ПО_П – протромбиновое отношение в Протромбин-калибраторе (указано в паспорте на Протромбин-калибратор), ПО свежего пула донорской плазмы принимают за 1.

K_{Кст} – коэффициент, учитывающий гематокрит капиллярной крови (см. таблицу)

Гематокрит%	15	20	30	35	40	45	50	60	70
K _{Кст}	1,2	1,15	1,19	1,07	1,02	1,00	0,98	0,94	0,89

Протромбиновое отношение в плазме венозной крови (ПО_П) рассчитать по формуле:

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

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

ПВ_П – ПВ исследуемой плазмы пациента, с.

Так как

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

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

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

Международное Нормализованное Отношение в капиллярной крови (МНО) рассчитать по формуле:

$$МНО_{КК} = ПО_{КК}^{МИЧ}$$

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

Таблица пересчета ПО в МНО приведена в прилагаемом паспорте.

Международное Нормализованное Отношение в плазме венозной крови (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 Ренампластина, указан в прилагаемом паспорте.

Таблица пересчета ПО в МНО прилагается к набору.

Протромбиновый индекс (ПИ_{КК}) рассчитать по формуле:

$$ПИ_{КК} = \frac{ПВ_{П}}{ПВ_{КК}} \cdot \frac{ПИ_{П}}{К_{Кст}} \times 100\% \quad , \text{ где}$$

ПИ_П – протромбиновый индекс в Протромбин-калибраторе (указано в паспорте на плазму);

Протромбиновый индекс в плазме венозной крови (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).

Определение протромбина по Квику

Для определения протромбина по Квику в % в исследуемой капиллярной крови необходимо в качестве калибратора использовать Протромбин-калибратор с известным процентом протромбина по Квику.

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

*A – аттестованное значение протромбина по Квику (в % от нормы) 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 ПВ, сек, (ось X) от Протромбина по Квику, % (ось Y).

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

Определение протромбина по Квику в капиллярной крови пациента

В исследуемой капиллярной крови измерить протромбиновое время и по калибровочному графику определить величину обратную % протромбина (1/протромбин). По таблице перевести полученное значение в % протромбина по Квику. Если ПВ_{КК} короче, чем ПВ неразбавленного Протромбин-калибратора, необходимо дополнительно развести капиллярную кровь физиологическим раствором в 2 раза и полученный после измерения результат умножить на 2.

Определение протромбина по Квику в плазме венозной крови 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.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Удлинение протромбинового времени может быть связано с:

- дефицитом факторов внешнего пути свертывания (II, V, VII, X);
- дефицитом витамина K;
- приемом антикоагулянтов непрямого действия (например, варфарина, синкумара и др.);
- ДВС-синдромом (фаза гипокоагуляции);
- афибриногенемией, гипофибриногенемией, дисфибриногенемией;
- заболеваниями печени;
- антикоагулянтами прямого действия (дабигатран, ривароксабан, аписксабан);
- 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 протромбина по Квику и МНО следует контролировать с помощью «Плазмы контрольной (пул здоровых доноров) (Плазма Н) по ТУ 9398-004-05595541-2009» (номер по каталогу производителя КМ-1) и/или «Плазмы контрольные для контроля правильности определения МНО при терапии оральными

антикоагулянтами (3 урвня) (Протромбин-контроль) по ТУ 9398-056-05595541-2015», РЗН 2017/5511, производства МБООИ «Общество больных гемофилией» (номер по каталогу производителя КМ-17).

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности набора Диакап-П – 24 месяца. Не использовать набор после истечения срока годности!

Набор стабилен в течение всего срока годности при условии хранения в укупоренном виде при температуре от плюс 2 до плюс 8°C. Допускается хранение при температуре до плюс 25°C не более 5 суток. Замораживание набора не допускается.

Приготовленный рабочий раствор консерванта для взятия капиллярной крови следует хранить при температуре от плюс 2 до плюс 8°C не более 1 мес. Приготовленный раствор Ренампластина следует хранить в плотно укупоренном виде.

Стабильность Ренампластина

+37°C	+18-25°C	+2-8°C	-18-20°C
8 часов	2 суток	7 суток	3 месяца

Транспортирование наборов 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 5 суток. Замораживание наборов не допускается.

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

УТИЛИЗАЦИЯ 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 набором Диакап-П с использованием образцов плазмы крови пациентов и наборы с истекшим сроком годности относятся к классу 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 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 10 августа 2007 года.

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. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. ФЭН, Казань, 2000. - 360 с.
4. Quick AJ, Stanly-Brown M, Bancroft FW. A study of the coagulation defect in hemophilia and in jaundice. Am J Med Sci. 1935;190:501-11.
5. 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.
6. Ansell J, Hirsh J, Hylek E, et al. Pharmacology and management of the vitamin K antagonists. Chest. 2008; 133:1605-1985.
7. Poller L. The prothrombin time. WHO/LAB/98.3. 1998.

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 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