

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики in vitro «Реагент для определения протромбинового времени в плазме крови клоттинговым методом (Репластин) по ТУ 21.20.23-077-05595541-2025

НАЗНАЧЕНИЕ

Предназначенное применение. Медицинское изделие для диагностики in vitro «Реагент для определения протромбинового времени в плазме крови клоттинговым методом (Репластин) по ТУ 21.20.23-077-05595541-2025» (сокращенное наименование – «Репластин») 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 Репластина 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 (факторов II, V, VII и X) и рекомендуется для:

- оценки эффективности терапии непрямыми антикоагулянтами;
- исследования наследственных и приобретенных коагулопатий и функции печени [1].

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

Научная обоснованность анализа. Репластин используется для определения протромбинового времени. Протромбиновое время - лабораторный показатель, широко использующийся для оценки внешнего (тканевого) пути свертывания крови, для оценки эффективности терапии непрямыми пероральными антикоагулянтами и исследования функции печени. Последнее применение обусловлено локализацией в печени витамина К, который ответствен за синтез функционально активных факторов свертывания (II, VII, IX, X). Чувствительность протромбинового времени к дефициту этих факторов определяет его способность контролировать терапию непрямыми пероральными антикоагулянтами (кумарины, варфарин), которые являются антагонистами витамина К [2].

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАГЕНТА

Состав набора:

Вариант исполнения 1:

Репластин, лиофильно высушенный – объем после восстановления 5,0 мл во флаконе - 10 флаконов.

Номер по каталогу производителя - ПГ-3/1.

Вариант исполнения 2:

Репластин, жидкий – 5,0 мл во флаконе - 10 флаконов

Номер по каталогу производителя - ПГ-3/2.

Репластин во всех вариантах исполнения расфасован в стеклянные флаконы, укупоренные резиновыми пробками и снабженные полимерными резьбовыми колпачками любого цвета.

Репластин представляет собой смесь рекомбинантного релипидизированного человеческого тромбластина и кальция хлористого, с добавлением HEPES-буфера, стабилизатора бычьего сывороточного альбумина и консерванта ProClin 300 в концентрации 0,5 мл/л.

Комплект поставки

- Реагент Репластин, в варианте исполнения;
- инструкция по применению – 1 шт.;
- паспорт на серию реагента Репластин – 1 шт.;
- таблица для расчета МНО – 1 шт.

Число анализируемых проб биологического материала

Один набор Репластина предназначен для проведения 500 определений при расходе 0,1 мл реагента на одно определение.

Принцип метода. Метод основан на определении времени свертывания цитратной плазмы крови под действием смеси тромбластина и ионов кальция. Определяется время от момента добавления Репластина 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

Аналитическая специфичность. Понятие аналитической специфичности неприменимо к определению протромбинового времени, поскольку не существует отдельного анализа, определяемого в этом тесте. Протромбиновое время зависит от суммарной активности факторов внешнего и общего пути свертывания плазмы крови (фибриноген, факторы II, V, VII и X), а также от свойств реагента Репластина.

Точность определения Международного Индекса Чувствительности. Значение Международного индекса чувствительности (МИЧ) Репластина – в диапазоне от 1,0 до 1,2 усл. ед. Аттестованное значение МИЧ указывается в паспорте на каждую серию Репластина. Допустимое отклонение МИЧ Репластина от аттестованного значения – не более 5%.

Воспроизводимость. Коэффициент вариации и межфлаконная вариация результатов определения МНО - не более 5%. Допустимый разброс результатов определения МНО разных наборов Репластина 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, 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 протромбинового времени. Присутствие волчаночного антикоагулянта и низкий (менее 1 г/л) уровень фибриногена в исследуемой плазме также может приводить к получению ложно завышенных результатов.

Значения, соответствующие нормальным (3)

Протромбиновое время, с, в диапазоне 10 – 14
МНО, усл. ед., в диапазоне 0,85 – 1,15
Активность протромбин по Квику в % от нормы, 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.

ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ

Диагностическая специфичность

Диагностическая специфичность метода при определении МНО и активности протромбина по Квику (А) с помощью Репластина у здоровых доноров составляет:

Версия 1

Исследуемая группа	Количество испытуемых образцов	Диагностическая специфичность, %			
		По результатам клинических испытаний		С ДВ* 95%	
		МНО	А	МНО	А
Здоровые доноры	50	92,5	91,8	90,3-94,3	89,6-94,0

*ДВ – доверительная вероятность

Диагностическая чувствительность

Диагностическая чувствительность метода при определении МНО с помощью Репластина у разных групп пациентов составляет:

Исследуемая группа	Количество испытуемых образцов	Диагностическая чувствительность, %	
		По результатам клинических испытаний	С ДВ 95%
		72,5	68,9-76,1
Пациенты, принимающие ОАК	51		

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Репластин предназначен только для диагностики in vitro.

Класс потенциального риска применения – 2а.

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

При работе с реагентом Репластин и образцами крови следует соблюдать правила, описанные в следующих документах: «Санитарно-эпидемиологические требования к эксплуатации помещений, зданий, сооружений, оборудования и транспорта, а также условиям деятельности хозяйствующих субъектов, осуществляющих продажу товаров, выполнение работ или оказание услуг» (СП 2.1.3678-20 от 24.12.2020); «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» (СанПиН 3.3686-21 от 28.01.2021).

При работе с Репластином 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 ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

В состав Репластина входит стабилизатор бычий сывороточный альбумин (БСА), полученный из бычьей сыворотки, являющейся потенциально инфицированным биологическим материалом. Безопасность использования БСА при производстве Репластина подтверждается паспортом качества изготовителя БСА. Тем не менее, не следует исключать остаточного минимального риска при работе с Репластином.

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; производства МБООИ «Общество больных гемофилией»;
- «Плазма контрольная (пул здоровых доноров) (Плазма Н) по ТУ 9398-004-05595541-2009», ФСП 2009/0536, 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, производства МБООИ «Общество больных гемофилией»;
- «Реагент для приготовления стабилизатора крови (Цитрат натрия) по ТУ 9398-027-05595541-2009», ФСП 2009/06292; 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 – Репластин совместим со всеми типами автоматических и полуавтоматических анализаторов, предназначенных для исследований параметров гемостаза.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Вид анализируемого биологического материала. Репластин 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 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). При отсутствии вакуумных систем воспользоваться Реагентом для приготовления стабилизатора крови (Цитрат натрия) по ТУ 9398-027-05595541-2009.

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 Репластина. Внести в один флакон с лиофильно высушенным реагентом 5,0 мл дистиллированной воды (для варианта исполнения 1) и растворить при комнатной температуре и осторожном покачивании. Время растворения Репластина составляет не более 3 минут. Перед использованием прогреть раствор с реагентом при температуре плюс 37°C в течении 30 мин и перемешать покачиванием.

Жидкий Репластин готов к использованию и не требует подготовки. Перед анализом прогреть флаконы с жидким Репластином при температуре плюс 37°С в течение 30 мин 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

Автоматический анализатор

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

Полуавтоматический анализатор

Анализ проводят по следующей схеме:

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

РАСЧЕТЫ

Результаты протромбинового теста могут быть выражены как:

- Протромбиновое отношение;
- МНО (Международное Нормализованное Отношение);
- Активность протромбина по Квику в % от нормы;

Протромбиновое отношение (ПО) рассчитать по формуле:

$$ПО = \frac{ПВ_{п}}{ПВ_{100\%}}$$

где: ПВ_п – ПВ исследуемой плазмы пациента, с

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

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

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 Репластина, указан в прилагаемом паспорте.

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

Построение калибровочного графика для определения протромбина по Квику. Приготовить ряд разведений Протромбин-калибратора физиологическим раствором по следующей схеме.

Активность протромбина 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 протромбина по Квику (в % от нормы) в Протромбин-калибраторе, указанное в паспорте на реагент.

Для каждого разведения Протромбин-калибратора определить протромбиновое время (ПВ), с, 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 крови. Определить ПВ в исследуемых образцах плазмы крови 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, умножить на 2.

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;
- заболеванием печени;
- антикоагулянтами прямого действия (дабигатран, ривароксабан, апиксабан);
- злокачественными опухолями.

Укорачивание 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 следует контролировать с помощью «Плазмы контрольной (пул здоровых доноров) (Плазма Н) по ТУ 9398-004-05595541-2009» (номер по каталогу производителя КМ-1) и «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 больных гемофилией».

ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

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

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

Приготовленный раствор лиофильно высушенного Репластина 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 Репластина при температуре от минус 18 до минус 20 °С. Оттаивать замороженные аликвоты следует при комнатной температуре на водяной бане. Повторное замораживание не допускается.

Стабильность Репластина после первого вскрытия флакона

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

Не использовать прогретый при температуре плюс 37 °С Репластин (растворенный или жидкий) повторно! Использование Ренампластина в этом случае приведет к удлинению протромбированного времени в исследуемой плазме.

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

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие реагента Репластин требованиям ТУ при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных ТУ.

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

В соответствии с «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» (СанПиН 2.1.3684-21 от 28.01.2021) отходы от работы с Репластином с использованием образцов плазмы крови пациентов относятся к классу Б.

В соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 реагент, 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.

ЛИТЕРАТУРА

- Баркаган, З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот. - М.: Ньюдиамед, 2001.- 285 с.
- 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.
- Зубаиров, Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования / Д.М. Зубаиров. - ФЭН, Казань, 2000.- 360 с.

ПРЕЧЕЗ 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 15223-1-2023 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования.
- ГОСТ Р ИСО 18113-1-2024 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.
- ГОСТ Р ИСО18113-2-2024 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».

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
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов
	Хрупкое, обращаться осторожно
	Объем восстановленного раствора

Дата утверждения инструкции 15.01.2025.

По вопросам, касающимся качества реагента, следует обращаться в НПО «РЕНАМ» МБООИ «Общество больных гемофилией» по адресу: 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 4, стр. 2. тел/факс (499)707-76-30, (495) 225-12-61, e-mail: info@renam.ru.