

УТВЕРЖДАЮ

Президент
МБООИ «Общество больных
гемофилией»



Ю.А. Жулёв
«18» января 2017 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия

**«Плазмы контрольные для контроля правильности определения МНО
при терапии оральными антикоагулянтами (3 уровня)
(Протромбин-контроль) по ТУ 9398-056-05595541-2015»**

НАЗНАЧЕНИЕ

«Плазмы контрольные для контроля правильности определения МНО при терапии оральными антикоагулянтами (3 уровня) (Протромбин-контроль) по ТУ 9398-056-05595541-2015» предназначены для контроля правильности и воспроизводимости при определении Международного Нормализованного Отношения (МНО) и протромбина по Квику в % от нормы.

ХАРАКТЕРИСТИКА МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

Состав изделия

Вариант исполнения 1:

- Протромбин-контроль уровень 1 – 1 флакон (1,0 мл);
- Протромбин-контроль уровень 2 – 1 флакон (1,0 мл);
- Протромбин-контроль уровень 3 – 1 флакон (1,0 мл).

Вариант исполнения 2:

- Протромбин-контроль уровень 1 – 2 флакона (1,0 мл);
- Протромбин-контроль уровень 2 – 2 флакона (1,0 мл);
- Протромбин-контроль уровень 3 – 2 флакона (1,0 мл).

«Протромбин-контроль» - пул плазмы, полученный от не менее 20 доноров в возрасте 20-40 лет, с искусственно сниженным уровнем факторов протромбинового комплекса. Плазма стабилизирована НЕРЕС-цитратным буфером и лиофильно высушена. Флаконы силиконированы для предотвращения контактной активации.

Число анализируемых проб биологического материала

Один флакон с плазмой предназначен для проведения 10 макро или 20 микроанализов при расходе по 0,1 мл или 0,05 мл плазмы на одно определение, соответственно.

Принцип метода

Плазмы «Протромбин-контроль» анализируются одновременно с исследуемой плазмой пациента при выполнении теста протромбиновое время (ПВ) с использованием различных тромбопластинов, аттестованных по Международному индексу чувствительности (МИЧ). Исследуемый контрольный материал должен укладываться в диапазон значений, указанных в паспорте на данную серию реагента.

ПРОСЛЕЖИВАЕМОСТЬ ЗНАЧЕНИЙ, ПРИПИСАННЫХ КОНТРОЛЬНЫМ МАТЕРИАЛАМ

Плазмы «Протромбин-контроль» аттестованы по МНО и протромбину по Квику в % на полуавтоматических и автоматических анализаторах против внутреннего стандарта, который в свою очередь был аттестован против пула донорской плазмы, взятого от 100 здоровых доноров. Аттестацию проводили реагентами «Ренампластин» и «Тромбопластин», аттестованными по МИЧ и зарегистрированными в РФ.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфичность изделия

«Протромбин-контроли» трех уровней представляют собой пул донорской плазмы с искусственно сниженным в различной степени уровнем факторов протромбинового комплекса и с нормальным уровнем всех остальных факторов свертывания, в том числе фибриногена и фактора V. Это позволяет контролировать правильность и воспроизводимость определения протромбинового времени у пациентов, получающих не прямые антикоагулянты.

Метод контроля правильности определения МНО по контрольным плазмам трех уровней предложен Международной организацией по стандартизации (Clinical and laboratory Standard Institute, США).

Воспроизводимость результатов

Коэффициент вариации результатов определений - не более 10%.
Допустимое отклонение от аттестованного значения – не более 10%.

Диапазон определяемых значений

МНО плазм «Протромбин-контроль» находится в пределах:

- Протромбин-контроль уровень 1 - МНО=1,3-2,1
- Протромбин-контроль уровень 2 - МНО=2,2-3,3

– Протромбин-контроль уровень 3 - МНО=3,5-5,0

Значения протромбина по Квику в % от нормы находятся в пределах:

– Протромбин-контроль уровень 1 – 50-80%

– Протромбин-контроль уровень 2 – 25-45%

– Протромбин-контроль уровень 3 – 10-25%

Точные значения МНО и протромбина по Квику для «Протромбин-контроля» 3 уровней для «Ренампластина» и «Тромбопластина» производства МБООИ «Общество больных гемофилией» указаны в паспорте на «Протромбин-контроль».

«Протромбин-контроль» позволяет контролировать правильность и воспроизводимость определения МНО в диапазоне от 1,0 до 5,0 и протромбин по Квику в диапазоне от 12,5 до 100%.

Линейность

Линейность определений протромбина по Квику – от 12,5 до 100%.

Значения, соответствующие нормальным

МНО	0,85 – 1,15
Протромбин по Квику в % от нормы	70 – 130

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все плазмы предназначены только для диагностики *in vitro*. Потенциальный риск применения плазм – класс 2б.

При работе с плазмами «Протромбин-контроль» следует соблюдать правила, описанные в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (Инструкция утверждена Минздравом СССР в 1991 г.).

Каждая доза донорской крови, использованная для получения пула при изготовлении плазм «Протромбин-контроля», 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 пластиковых кювет;
- центрифуга лабораторная;

- наборы реагентов «Ренампластин», «Тромбопластин» или «Диагем П»;
- набор «Плазма-калибратор для определения МНО и протромбина по Квику (Протромбин-калибратор)»;
- пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема, 200-1000 мкл;
- пробирки пластиковые вместимостью 10 мл;
- вода дистиллированная;
- реагент для приготовления стабилизатора крови («Цитрат натрия») или вакуумные системы для взятия крови с 3,2% цитратом натрия;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ПРОБЫ

Разведенные плазмы «Протромбин-контроль» исследуют с применением набора «Протромбин-калибратор» до проведения анализа образцов плазмы пациентов, чтобы убедиться в правильности работы, а затем анализ «Протромбин-контроля» проводят одновременно с проведением анализов образцов плазмы пациентов в тесте ПВ с использованием реагентов «Ренампластин», «Тромбопластин» или «Диагем П», по инструкциям, прилагаемым к этим реагентам.

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 хилёзными, 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 (18-25°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 (18-25°C). Допускается однократное замораживание плазмы при температуре минус 20°C 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 КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Приготовление реагентов

Приготовление «Протромбин-контроля»

Внести во флаконы с «Протромбин-контролем» по 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при осторожном покачивании (избегать образования пены). Перед использованием растворы «Протромбин-контроля» нужно выдержать при комнатной температуре (18-25°C) в течение 20 мин.

Приготовление «Протромбин-калибратора» и тромбопластиновых реагентов

Приготовить в соответствии с инструкциями к «Протромбин-калибратору» и к тромбопластиновым реагентам.

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.
- Считать результаты.

Проведение анализа на полуавтоматическом коагулометре и ручным методом на термобане

Внести в кювету анализатора или в пробирку на термобане:	Объем, мкл
Протромбин- контроль (Протромбин-калибратор или исследуемая плазма)	50
Инкубировать при 37°C точно 1 или 2 минуты	
Ренампластин (тромбопластин с кальцием)	100

Анализ контрольных плазм «Протромбин-контроля» провести одновременно с анализом плазмы «Протромбин-калибратор».

Регистрация результатов

Измерить продолжительность ПВ, сек, по методу, указанному в инструкции на тромбопластиновый реагент в плазмах «Протромбин-контроль», в плазме «Протромбин-калибратор» и в образцах плазмы пациентов от момента добавления к ним Ренампластина (тромбопластина с кальцием) до момента образования фибринового сгустка.

РАСЧЕТЫ

Протромбин по Квику в % от нормы в плазмах «Протромбин-контроль» определить по калибровочному графику, построенному с использованием разных разведений плазмы «Протромбин-калибратор», и сравнить с аттестованными значениями, указанными в паспорте на набор «Протромбин-контроль».

МНО всех 3 плазм «Протромбин-контроля» вычислить по формуле:

$$\text{МНО} = \left(\frac{\text{ПВ}_{\text{п}}}{\text{ПВ}_{100\%}} \right)^{\text{МИЧ}}$$

где: МИЧ – Международный индекс чувствительности, указанный в паспорте на соответствующий тромбопластиновый реагент;

$\text{ПВ}_{\text{п}}$ – ПВ плазмы «Протромбин-контроль», сек.

$\text{ПВ}_{100\%}$ – среднее нормальное протромбиновое время, сек, определить по формуле:

$$\text{ПВ}_{100\%} = \frac{\text{ПВ}_{\text{пк}}}{\text{ПО}_{\text{пк}}}$$

где: $\text{ПВ}_{\text{пк}}$ – ПВ «Протромбин-калибратора», сек.

$\text{ПО}_{\text{пк}}$ – протромбиновое отношение (ПО) «Протромбин-калибратора» (указано в паспорте на «Протромбин-калибратор»).

Так как протромбиновое отношение «Протромбин-калибратора» ($\text{ПО}_{\text{пк}}$) равно:

$$\text{ПО}_{\text{пк}} = \frac{\text{ПВ}_{\text{пк}}}{\text{ПВ}_{100\%}} \quad \text{то} \quad \text{МНО} = \left(\frac{\text{ПВ}_{\text{п}}}{\text{ПВ}_{\text{пк}}} \times \text{ПО}_{\text{пк}} \right)^{\text{МИЧ}}$$

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные значения МНО и протромбина по Квику «Протромбин-контроля» должны укладываться в диапазон аттестованных значений «Протромбин-контроля». Если полученные значения выходят за пределы аттестованных, то результаты определения МНО в плазме крови пациентов не могут считаться достоверными.

Если полученные значения МНО и протромбина по Квику укладываются в диапазон аттестованных значений «Протромбин-контроля», можно провести анализ МНО и протромбина по Квику для образцов плазмы крови пациентов.

Все расчеты проведены в соответствии с рекомендацией Clinical and Laboratory Standards Institute WHO (document H54-A, vol/ 25, N 23, Replaces H54-P, vol.24, N 30), 2005.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Хранение плазм «Протромбин-контроль» в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре от плюс 2 до плюс 8°C в течение всего срока годности набора. Допускается хранение при температуре до плюс 25°C не более 10 суток. Замораживание допускается.

Приготовленные растворы плазм «Протромбин-контроля» следует хранить во флаконе изготовителя:

- не более 4 ч при температуре от плюс 2 до плюс 8°C,
- не более 2 ч при комнатной температуре (18-25°C).

Транспортирование плазм «Протромбин-контроль» 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 плазм «Протромбин-контроля» при температуре до плюс 25°C не более 10 суток. Замораживание плазм допускается.

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

Срок годности со дня изготовления лиофильно высушенного «Протромбин-контроля» – 18 месяцев при условии хранения при температуре от плюс 2 до плюс 8°C или при отрицательной температуре (что предпочтительнее).

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 «Протромбин-контролем» с использованием образцов плазмы крови пациентов относятся к классу опасности Б.

Отходы собирают в одноразовые пакеты желтого цвета, пакеты заполняют на $\frac{3}{4}$, 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.

В соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010 медицинские изделия «Протромбин-контроль», не подлежащие использованию, и изделия с истекшим сроком годности относятся к отходам класса Г. Сбор и

временное хранение отходов класса Г осуществляется в маркированные емкости («Отходы. Класс Г») Диагностические средства собираются в одноразовую маркированную упаковку любого цвета (кроме желтого и красного) в соответствии с требованиями нормативных документов в зависимости от класса опасности отходов. Вывоз отходов класса Г для обезвреживания или утилизации осуществляется специализированными организациями, имеющими лицензию на данный вид деятельности. Транспортирование, обезвреживание и захоронение отходов класса Г осуществляется в соответствии с гигиеническими требованиями, предъявляемыми к порядку накопления, транспортирования, обезвреживания и захоронения токсичных промышленных отходов.

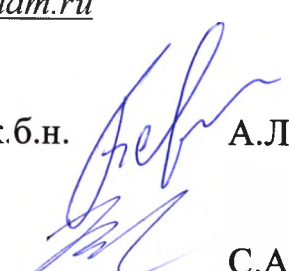
ЛИТЕРАТУРА

1. Баркаган З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот - М.: «Ньюдиамед», 2001- 285 с.
2. 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.
3. 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.
4. Poller, L. The prothrombin time / L. Poller. WHO/LAB/98.3. - 1998.
5. 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.
6. 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), 2004.

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

Директор НПО «РЕНАМ»

МБООИ «Общество больных гемофилией», к.б.н.

 А.Л.Берковский

Руководитель группы по гемостазу

НКО ХТ с ДС ФГБУ ГНЦ МЗ РФ д. м. н.

 С.А.Васильев

Пронумеровано 8
и прошнуровано 8 листов
Президент МБОУ «Общество
больных гемофилией»

Ю.А.Жулёв

