

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ  
Заместитель Министра –  
Главный государственный  
санитарный врач  
Республики Беларусь



С.В.Нечай

2024 г.

Регистрационный № 029-1124

**МЕТОД ОЦЕНКИ ГЕМОСОВМЕСТИМОСТИ *IN VITRO* ИЗДЕЛИЙ  
МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ ТЕСТ-МОДЕЛИ  
ИСКУССТВЕННОГО КРОВОТОКА**

инструкция по применению

**УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:**

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены,  
эпидемиологии и общественного здоровья»

**АВТОРЫ:**

Лаппо Л.Г., к.м.н. Грынчак В.А., к.м.н., доцент Сычик С.И., Лисовская Г.В.,  
Крыж Т.И., Деменкова Т.В.

Минск, 2024

## **ГЛАВА 1**

### **НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ**

1. В настоящей инструкции по применению (далее – Инструкция) изложен метод оценки гемосовместимости *in vitro* изделий медицинского назначения на основе тест-модели искусственного кровотока, который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на медицинскую профилактику заболеваний населения, ассоциированных с применением медицинских изделий.

Метод не распространяется на медицинские изделия опосредованного контакта, жидкие и газообразные изделия, медицинские изделия, способные изменять свое агрегатное состояние при контакте с кровью.

2. Настоящая Инструкция предназначена для организаций здравоохранения, в том числе органов и учреждений, осуществляющих государственный санитарный надзор.

3. Настоящая Инструкция вступает в силу с даты ее утверждения.

## **ГЛАВА 2**

### **ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ**

4. Для целей настоящей Инструкции используются общепринятые термины и их определения:

гемосовместимость, % – параметр для измерения совместимости с кровью медицинских изделий, основанный на изменении значений показателей крови с испытуемым медицинским изделием по сравнению со значениями отрицательного и положительного контролей;

отрицательный контроль – материал, изделие или их отсутствие, которое, будучи подвергнуто испытанию по описанному методу, показывает пригодность этого метода для получения воспроизводимого, соответствующего отрицательного или фонового ответа в тест-модели;

положительный контроль – материал или изделие, которое, при испытании по описанному методу, показывает пригодность этого метода для получения воспроизводимого, соответствующего положительного ответа в тест-модели.

5. Сущность метода оценки гемосовместимости медицинских изделий на основе тест-модели искусственного кровотока заключается в определении возникновения и выраженности воздействия медицинского изделия на клеточный и гуморальный компоненты крови после их пребывания в динамической замкнутой тест-модели искусственного кровотока, имитирующей физиологические условия артериального кровотока человека.

6. Метод оценки гемосовместимости *in vitro* изделий медицинского назначения на основе тест-модели искусственного кровотока включает в себя следующие этапы:

подготовка медицинских изделий, положительного и отрицательного контролей;

приготовление раствора гепарина;

подготовка тест-модели искусственного кровотока;

отбор биологического материала;

проведение оценки гемосовместимости *in vitro*;

обработка и оценка результатов;

интерпретация полученных результатов.

### ГЛАВА 3

#### ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ И РЕАКТИВЫ

7. Для метода оценки гемосовместимости *in vitro* изделий медицинского назначения на основе тест-модели искусственного кровотока используется следующее оборудование, материалы и реактивы:

##### ОБОРУДОВАНИЕ

Нормативная  
документация

Устройство, способное моделировать физиологические условия артериального кровотока человека

Термостат, поддерживающий температуру (37±1) °С

Центрифуга для пробирок вместимостью 14 см<sup>3</sup> с максимальной скоростью центрифугирования не менее 10000 оборотов в минуту

ГОСТ 12.2.025-76

Анализатор лабораторный гематологический

Планшетный ридер (фотометр) со светофильтром с длиной волны 450 нм

Компьютер, совместимый с программным обеспечением планшетного ридера (фотометра), в комплекте с монитором, клавиатурой, мышью

Весы лабораторные общего назначения с пределом допустимой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более ±0,01 мг

ГОСТ 24104-2001

Термогигрометр с диапазоном измерений: относительной влажности от 0 % до 98 %; температуры от минус 20 °С до 60 °С или термометр, барометр

Автоматический дозатор с переменным объемом дозирования от 2 до 20 мкл с шагом 0,1 мкл

Автоматический дозатор с переменным объемом от 100 до 1000 мкл с шагом 5 мкл	
Автоматический восьмиканальный дозатор с переменным объемом от 20 до 100 мкл	
Холодильник бытовой от 2,0 °С до 8,0 °С для хранения реактивов	ГОСТ 16317
Линейка измерительная металлическая	ГОСТ 427-75
Микрометр	ГОСТ 6507-90
<b>МАТЕРИАЛЫ</b>	
Поливинилхлоридные трубки длиной 45 см с внутренним диаметром 5 мм	
Однонаправленные клапаны для поливинилхлоридных трубок	
Игла-бабочка с луер-адаптером размером 21G x 3/4	
Шприцы инъекционные стерильные однократного применения вместимостью 10 см <sup>3</sup>	ГОСТ 24861-9
Стекло, шлифованное наждачной бумагой	
Одноразовые пробирки центрифужные вместимостью 14 см <sup>3</sup>	
Одноразовые пробирки типа эппендорф вместимостью 1,5 см <sup>3</sup>	
Наконечники одноразовые с фильтром для дозаторов с переменным объемом дозирования от 2 до 20 мкл, от 20 до 100 мкл и от 100 до 1000 мкл	
Халаты, шапочки, маски, обувь или бахилы, одноразовые перчатки латексные неопудренные	
Вата медицинская гигроскопичная	ГОСТ 5556-81
Цилиндр 1-500-1	ГОСТ 1770-74
Стакан лабораторный Н-1-600	ГОСТ 25336-82
<b>РЕАКТИВЫ</b>	
Раствор гепарина 5000 МЕ/мл	
Раствор физиологический стерильный апиrogenный (0,9 % раствор натрия хлорида для инъекций)	
Набор иммуноферментного анализа для определения фрагмента протромбина F1+2 (Prothrombin Fragment 1+2)	
Набор иммуноферментного анализа для определения тромбин-антитромбинового комплекса III (Trombin Antithrombin Complex III)	
Набор иммуноферментного анализа для определения бета-тромбоглобулина (Thromboglobulin, Beta)	

Набор иммуноферментного анализа для определения тромбоксана В2 (Thromboxane B2)

Набор иммуноферментного анализа для определения белка расщепления комплемента С3 (Complement Component 3a)

Спирт этиловый 96 %

ГОСТ 5962-67

## ГЛАВА 4

### ПОДГОТОВКА И ПРОВЕДЕНИЕ МЕТОДА ОЦЕНКИ ГЕМОСОВМЕСТИМОСТИ *IN VITRO* ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ ТЕСТ-МОДЕЛИ ИСКУССТВЕННОГО КРОВОТОКА

8. Подготовка медицинских изделий, положительного и отрицательного контролей.

8.1 Для оценки гемосовместимости *in vitro* используют медицинские изделия в состоянии, готовом для применения в медицинской практике или репрезентативные части/детали готового к применению медицинского изделия, а также материалы, используемые для изготовления медицинских изделий. Медицинские изделия допускается резать на части. При этом необходимо использовать технические приемы, исключаящие микробную контаминацию, а также учитывать влияние поверхности среза на результат испытаний.

8.2 В качестве положительного контроля используют шлифованное наждачной бумагой стекло или любое другое изделие или материал, способные быстро инициировать процессы свертывания крови. В качестве отрицательного контроля используют поливинилхлоридные трубки (далее – трубки), полностью заполненные кровью без изделий или с изделием (материалом) с известной гемосовместимостью, которое может быть принято в качестве эталонного.

8.3 Площадь поверхности оцениваемого медицинского изделия, положительного и отрицательного контролей должна быть равна. Соотношение площади поверхности оцениваемого медицинского изделия, отрицательного и положительного контролей к объему крови в каждой трубке должно составлять  $0,6 \text{ см}^2/\text{мл} \pm 10 \%$ . При этом перекрытие просвета трубки не должно составлять более 50 % для циркулирования крови внутри нее.

9. Приготовление раствора гепарина. Для приготовления раствора гепарина в концентрации 15 МЕ/мл необходимо отобрать 1 мл гепарина 5000 МЕ/мл и добавить к нему 333 мл физиологического раствора.

Приготовленным раствором гепарина необходимо наполнить 9 шприцев по 1 мл раствора.

10. Подготовка тест-модели искусственного кровотока. Формируется три группы трубок длиной 45 см с внутренним диаметром 5 мм по три трубки в каждой группе. В первую группу трубок помещают оцениваемое медицинское изделие, во вторую – положительный контроль, а в третью группу отрицательный контроль или оставляют трубки без изделий. Все трубки оснащаются однонаправленными клапанами.

11. Отбор биологического материала (далее – кровь).

11.1 Для отбора крови привлекаются лица не моложе 18 лет и не старше 65 лет, добровольно изъявившие согласие участвовать в них, на основе двухстороннего письменного информационного добровольного соглашения, примерная форма которого приведена в Приложении 1 к настоящей Инструкции.

11.2 За 30 минут до основного отбора кровь из пальца добровольца исследуют для установления референтных интервалов общего анализа крови общепринятым методом. Основной отбор крови осуществляется общепринятым методом в локтевом сгибе из центрального сосуда добровольца с использованием стерильного устройства для отбора крови. Устройство соединяется с шприцем, заранее заполненным раствором гепарина. Шприц наполняется 9 мл крови для получения концентрации гепарина в крови 1,5 МЕ/мл. Во избежание образования чрезмерного вакуума, оттягивая поршень, осуществляется медленное заполнение кровью шприца.

12. Проведение оценки гемосовместимости *in vitro*.

12.1 Кровь из шприца переносят в трубки. Подыгольный конус шприца соединяется с концом трубки держа ее вертикально, для заполнения трубки кровью снизу вверх, что необходимо для равномерного заполнения трубки кровью. Каждая трубка заполняется 9 мл крови без образования пузырьков воздуха и соединяется в единый замкнутый контур. Заполнение трубок кровью осуществляется при комнатной температуре 20-25 °С на протяжении не более 50 минут.

12.2 Все три группы трубок, полностью заполненные кровью, одновременно помещают в устройство, способное моделировать физиологические условия артериального кровотока человека внутри трубок. Устройство помещают в термостат и инкубируют при температуре 37 °С на протяжении 20 минут.

12.3 После инкубации в термостате кровь из трубок переносят в пробирки и сразу отбирают необходимое количество крови для изучения форменных элементов крови любым общепринятым методом. Оставшуюся кровь в пробирках центрифугируют при 10000 об./мин на протяжении

15 минут для получения плазмы. Полученную плазму крови изучают по группам показателей (критерии оценки): маркеры коагуляции, активация тромбоцитов и система комплемента, указанным в Приложении 2 к настоящей Инструкции с помощью наборов для иммуноферментного анализа. Для оценки гемосовместимости медицинских изделий необходимо изучать показатели из каждой группы. Минимальное количество изучаемых показателей составляет 5. Оптическую плотность каждой лунки и фоновое поглощение определяют на планшетном ридере (фотометре) со светофильтрами на длине волны 450 нм.

### 13. Обработка и оценка результатов.

Оценка гемосовместимости проводится на основании изменения среднего значения показателей крови с оцениваемым медицинским изделием по сравнению со значениями отрицательного и положительного контролей и рассчитывается по формуле:

$$\text{Гемосовместимость (\%)} = \frac{\left(\frac{(K^+ - O) * 100\%}{K^+ - K^-}\right)_1 + \dots + \left(\frac{(K^+ - O) * 100\%}{K^+ - K^-}\right)_n}{n},$$

где  $K^+$  – значение показателя положительного контроля;

$K^-$  – значение показателя отрицательного контроля;

$O$  – значение показателя испытуемого медицинского изделия;

1, 2, ..., n – порядковый номер показателя;

n – количество показателей.

За значение изучаемого показателя принимается среднее арифметическое в группах оцениваемого медицинского изделия, отрицательного и положительного контролей.

### 14. Интерпретация полученных результатов.

Шкала оценки гемосовместимости *in vitro* медицинских изделий приведена в таблице.

Таблица – Шкала оценки гемосовместимости *in vitro* медицинских изделий

Значение гемосовместимости, %	Степень гемосовместимости
менее 50	несовместимо с кровью
50-69	удовлетворительная
70-90	хорошая
более 90	высокая

Медицинское изделие является совместимым с кровью *in vitro*, если полученное значение гемосовместимости оцениваемого изделия после инкубации его в тест-модели искусственного кровотока с отрицательным и положительным контролями составляет более 50 %.

Приложение 1  
к Инструкции по применению  
«Метод оценки гемосовместимости  
*in vitro* изделий медицинского  
назначения на основе тест-модели  
искусственного кровотока»  
(Обязательное)

ПРИМЕРНАЯ ФОРМА ИНФОРМАЦИОННОГО ДОБРОВОЛЬНОГО  
СОГЛАСИЯ

Я, \_\_\_\_\_  
(ФИО)

добровольно даю свое согласие и выражаю готовность участвовать  
в оценке гемосовместимости медицинских изделий *in vitro*, выполняемом

\_\_\_\_\_  
(Название организации)

В рамках данной оценки будет произведен отбор моей крови  
в объеме \_\_\_ мл.

Проводимый отбор крови и связанные с ним мероприятия мне  
объяснены в полном объеме. Мне понятны цель и объем отбора, а также  
способ его проведения. Мне предоставлена возможность задать все  
интересующие меня вопросы, и я получил удовлетворяющие меня ответы.

Я понимаю, что мое участие добровольное. Я информирован  
о потенциальном прогнозируемом и непрогнозируемом риске,  
неудобствах, которые могут быть с ним связаны.

У меня отсутствуют: любые нозологические формы заболеваний  
в острой форме и хронические заболевания в стадии обострения, а также  
в период реконвалесценции; хронические заболевания кожи; хронические  
заболевания печени; хронические заболевания сердечно-сосудистой  
системы и бронхолегочного аппарата с выраженной недостаточностью  
функции; органические заболевания центральной нервной системы  
со стойкими выраженными нарушениями функции, психические  
заболевания; любые аутоиммунные и аллергические заболевания  
(в том числе, в анамнезе).

Я не принимал последние 14 дней никаких лекарственных средства.

\_\_\_\_\_  
*подпись*

\_\_\_\_\_  
*ФИО добровольца*

*Дата*

Подтверждаю, что подробно объяснил сущность и цель оценки.

\_\_\_\_\_  
*подпись*

\_\_\_\_\_  
*ФИО сотрудника осуществляющего отбор*

*Дата*

Приложение 2  
к Инструкции по применению  
«Метод оценки гемосовместимости  
*in vitro* изделий медицинского  
назначения на основе тест-модели  
искусственного кровотока»  
(Обязательное)

ПОКАЗАТЕЛИ ОЦЕНКИ ГЕМОСОВМЕСТИМОСТИ *IN VITRO*  
МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Наименование групп показателей	Наименование показателей
Маркеры коагуляции	фрагмент протромбина F1+2 (Prothrombin Fragmen 1+2) или тромбин-антитромбиновый комплекс III (Trombin Antithrombin Complex III)
Активация тромбоцитов	бета-тромбоглобулин (Thromboglobulin, Beta) или тромбоксан B2 (Thromboxane B2)
Система комплемента	белок расщепления комплемента C3 (Complement Component 3a)
Форменные элементы	количество тромбоцитов (PLT) и лейкоцитов (WBC)