НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

КОРОЛЬОВА ДАР'Я СЕРГІЇВНА

УДК 577.151.042.5: 612.115

ДИСЕРТАЦІЯ

РЕГУЛЮВАННЯ АКТИВНОСТІ ТРОМБІНУ В НОРМІ ТА ЗА ПАТОЛОГІЧНИХ СТАНІВ

Том 2.

03.00.04. – біохімія
03.00.20 - біотехнологія
(09 – біологічні науки).

Подається на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело. Всі частини тексту дисертації, під час написання яких використовувалися технології штучного інтелекту, перевірені та відредаговані авторкою особисто.

_____, Д.С. Корольова

Науковий консультант: Комісаренко Сергій Васильович, академік НАН України, доктор біологічних наук, професор

Київ - 2025

ЗМІСТ

ДОДАТОК А. Список публікацій за темою дисертації 4

ДОДАТОК Б. Заключний звіт про доклінічні випробування Композиту адсорбційного гемостатичного аплікаційного «Карбогемостат» 16

ДОДАТОК В. Заключний звіт про проведене клінічне випробування «Карбогемостату» 24

ДОДАТОК Г. Акт впровадження у хірургічну практику Композиту адсорбційного гемо статичного аплікаційного «Карбогемостат» 52

ДОДАТОК Ґ. Лабораторний регламент №1/23 54

ДОДАТОК Д. Акт впровадження у промислове виробництво 69

ДОДАТОК Е. Акт про впровадження у ветеринарію 71

ДОДАТОК Є. Заключний звіт щодо оцінки місцевої переносимості колагенової матриці модифікованої специфічним активатором зсідання крові 73

ДОДАТОК Ж. Лабораторний регламент №1/21 131

ДОДАТОК З. Акт впровадження Комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю 143

ДОДАТОК И. Заключний звіт щодо оцінки місцевої переносимості лікарського засобу на основі активатора зсідання крові 145

ДОДАТОК І. Заключний звіт про проведене клінічне випробування комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю 193

ДОДАТОК Ї. Акт впровадження у хірургічну практику 218

ДОДАТОК Й. N-кінцкевий аналіз екамуліну – активатора протромбіну з отрути *Echis multisquamatis* 220

ДОДАТОК К. Лабораторний регламент №2/21 224

ДОДАТОК Л. Заключний звіт щодо оцінки місцевої переносимості лікарського засобу на основі рекомбінантного аналога активатора зсідання крові 243

ДОДАТОК М. Акт про впровадження у лабораторну діагностику способу визначення концентрації претромбіну-1 в плазмі крові ... 290

ДОДАТОК Н. Акт про клінічну апробацію дослідних зразків тест-системи 293

ДОДАТОК О. Акт про клінічну апробацію дослідних зразків тест-системи 297

ДОДАТОК А

Список публікацій за темою дисертації

Статті у наукових виданнях, індексованих міжнародними наукометричними базами даних Scopus та Web of Science, SCImago Journal

1. **Korolova DS**, Platonova TM, Gornytska OV, Chernyshenko V, Korchynskyi O, Komisarenko SV. Diagnostic Value of Protein C Depletion in Pathologies Associated with the Activation of the Blood Coagulation System. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025; 26(13):6122. doi:10.3390/ijms26136122. (**Q1**). *Внесок здобувача: визначення концентрацій розчинного фібрину в плазмі крові пацієнтів, статистичний аналіз стану системи гемостазу пацієнтів.*

2. Platonova TM, Hrabovskyi OO, Chernyshenko VO, Stohnii YM, Kucheryavyi YP, **Korolova DS**, Komisarenko SV. Alternative role of B:bknob-hole interactions in the fibrin assembly. Biochemistry. 2025; 64(4): 791-800. doi: 10.1021/acs.biochem.4c00695. (**Q1**). *Внесок здобувача: аналіз отриманих даних, підготовка матеріалів до друку.*

3. Azizova L, Chernyshenko V, **Korolova D**, Allan IU, Mikhalovsky S, Mikhalovska L. Argatroban-and copper-modified polymers with improvedthromboresistance and antimicrobial properties. Journal of Materials Research. 2024; 39(16): 2332-2347. doi:10.1557/s43578-024-01389-3. (**Q2**). *Внесок здобувача: дослідження процесу інгібування тромбіну аргатрабаном в модельних системах in vitro, аналіз результатів.*

4. Udovenko A, Makogonenko Y, **Korolova D**, Chernyshenko V, Komisarenko S. Formation and elimination of soluble fibrin and D-dimer inthe bloodstream. Croatian Medical Journal. 2023; 64(6): 421-429. doi:10.3325/cmj.2023.64.421. (**Q3**). *Внесок здобувача: графічне узагальнення представленого матеріалу*

5. **Korolova D**, Gryshchenko V, Chernyshenko T, Platonov O, Hornytska, O, Chernyshenko V, Klymenko P, Reshetnik Y, Platonova T. Blood coagulation

factors and platelet response to drug-induced hepatitis and hepatosis in rats. Animal models and experimental medicine. 2023; 6(1): 66–73. doi: 10.1002/ame2.12301 (**Q1**). *Внесок здобувача: визначення претромбіну-1 в плазмі крові тварин, аналіз стану системи гемостазу тварин.*

6. **Korolova DS**, Platonova TM, Hornytska OV, Druzhyna NM, Chernyshenko VO. Decrease of prothrombin level thrombolysis in acute myocardium infarction. Acta Biochimica Polonica, 2023; 70(4): 991-995. doi: 10.18388/abp.2020_6962 (**Q3**). *Внесок здобувача: аналіз параметрів системи гемостазу, статистична обробка даних.*

7. Vari SG, Shevchuk O, Boychuk A, Kramar S, Nebesna Z, Yakymchuk Y, Kobylinska L, Chernyshenko V, **Korolova D**, Gaspar-Suranyi A, Altorjay T, Gaspar R. Common mechanisms of placental dysfunction in preeclampsia, gestational diabetes, and COVID-19 in pregnant women. Ukr. Biochem. J. 2023; 95(3): 5-11. doi: 10.15407/ubj95.03.005 (**Q4**). *Внесок здобувача: визначення концентрацій розчинного фібрину та D-димеру в плазмі крові пацієнтів, аналіз стану системи гемостазу пацієнтів.*

8. **Korolova DS**, Pavlenko AO, Altorjay A, Zhuk SI, Us IV, Tsaryk Y, Suranyi A, Chernyshenko VO. Validation of the diagnostics algorithmto monitor coagulation parameters in pregnant women. Ukr. Biochem. J. 2023; 95(3): 33-41. doi:10.15407/ubj95.03.033 (**Q4**). *Внесок здобувача: визначення концентрацій розчинного фібрину та D-димеру в плазмі крові пацієнтів, аналіз стану системи гемостазу пацієнтів.*

9. **Korolova DS**, Hornytska OV, Lavrik AS, Druzhyna NM, Platonova TM. Characterization of blood coagulation system of morbidly obesepatients. Ukr. Biochem. J. 2023; 95(4): 3-9. doi: 10.15407/ubj95.04.003 (**Q4**). *Внесок здобувача: визначення концентрацій розчинного фібрину та D-димеру в плазмі крові пацієнтів, аналіз стану системи гемостазу пацієнтів.*

10. Vari SG, Shevchuk O, Boychuk A, Kramar S, Nebesna Z, Yakymchuk Y, Kobylinska L, Chernyshenko V, **Korolova D**, Gaspar-Suranyi A, Altorjay T,

Gaspar R. Common mechanisms of placental dysfunction in preeclampsia, gestational diabetes, and COVID -19 in pregnant women. Ukr. Biochem. J. 2023; 95 (3): 5-11. doi:10.15407/ubj95.03.005 (**Q4**). *Внесок здобувача: аналіз параметрів системи гемостазу, статистична обробка даних.*

11. Us IV, Zhuk SI, **Korolova DS**, Platonov OM, Tsaryk YO. Platelet hemostasis in the implementation of placental dysfunction. Reproductive Health of Woman. 2022; 6: 6-12. doi:10.30841/2708-8731.6.2022.267676 (**Q4**). *Внесок здобувача: планування, аналіз параметрів системи гемостазу, статистична обробка даних.*

12. Kozynets GP, Tsyhankov VP, **Korolova DS**, Gornytska OV, Savchuk OM, Chernyshenko VO, Chernyshenko TM, Platonova TM. The rise of factor X level in blood plasma of patients at severe burn injuries. Journal of Burn Care & Research. 2022; 43 (4): 965-970. doi: 10.1093/jbcr/irab235. (**Q2**). *Внесок здобувача: аналіз параметрів системи гемостазу, статистична обробка даних.*

13. **Korolova DS**, Stohnii YM, Gryshchuk VI, Zhuk SI, Us IV, Chernyshenko TM, Kostiuchenko OP, Klymenko KP, Platonov OM, Ivashchenko OI, Chernyshenko VO. Thromboelastographic study of fibrin clot and molecular basis of maximum clot firmness. Ukr. Biochem. J. 2021; 93(2): 56-63. doi:10.15407/ubj93.02.062 (**Q4**). *Внесок здобувача: планування, визначення параметрів системи гемостазу, кореляційний аналіз даних.*

14. Chernyshenko V, Shteinberg K, Lugovska N, Ryzhykova M, Platonova T, **Korolova D**, Lugovskoy E. Preparation of highly-concentrated autologous platelet-rich plasma for biomedical use. Ukr. Biochem. J. 2019; 91(2): 19-27. doi:10.15407/ubj91.02.019 (**Q4**). *Внесок здобувача: цитометрія зразків збагаченої тромбоцитами плазми крові, розрахунки та графічне представлення умов для отримання збагаченої тромбоцитами плазми крові з підвищеною концентрацією тромбоцитів.*

15. Chernyshenko V, Petruk N, **Korolova D**, Kasatkina L, Gornytska O, Platonova T, Chernyshenko T, Rebriev A, Dzhus O, Garmanchuk L, Lugovskoy E. Antiplatelet and antiproliferative action of disintegrin from Echis multisquamatis snake venom. Croatian Medical Journal. 2017; 58(2): 118-127. doi: 10.3325/cmj.2017.58.118 (**Q2**). *Внесок здобувача: розробка умов очистки цільового ензиму, цитометрія збагаченої тромбоцитами плазми крові та тромбоцитів.*

16. Chernyshenko VO, Chernyshenko TM, **Korolova DS**, Volynets GP, Kolesnikova IN, Platonova TM, Lugovskoy EV. Non-enzymatic activation of prothrombin induced by interaction with fibrin β26-42 region. Acta Biochimica Polonica. 2015; 62(3): 517-522. doi: 10.18388/abp.2014_896 (**Q3**). *Внесок здобувача: розробка умов визначення тромбінової активності, аналіз даних.*

Статті у фахових виданнях

17. Baidakova KB, Kucheryavyi YP, **Korolova DS**. Collagen matrix with increased hemostatic properties: comparative analysis of hemostatic efficacy. Biotechnologia Acta. 2025; 18(2): 14–16. doi:10.15407/biotech18.02.014. *Внесок здобувача: планування, роботи, стандартизація препарату активатора протромбіну, статистична обробка результатів.*

18. Baidakova KV, Kostuchenko OP, Klymenko KP, Gryshchuk OO, **Korolova DS.** The restoration of hybridoma cells lines after unsuitablestorage. Biotechnologia Acta. 2024; 17(2): P.14-17. doi:10.15407/biotech17.02.014. *Внесок здобувача: планування, робота з гібридомами.*

19. **Korolova D**, Syrko M, Stohnii Ye, Druzhyna N, Chernyshenko T, Gogolinska G. Standardization of the protein calibrators isolation methodology for thrombophilia markers detecting immunodiagnostic test systems. Biotechnologia Acta, 2022; 15(6): 61-69. doi:10.15407/biotech15.06.061. *Внесок*

здобувача: напрацювання моноклональних антитіл та їх використання в тест системах.

20. Chernyshenko V, **Korolova D**, Verevka S. Allosteric regulation of the blood clotting cascade. Grail of Science. 2022; 18-19: 106-111. doi:10.36074/grail-of-science.26.08.2022.17. *Внесок здобувача: аналіз та узагальнення даних літератури.*

21. **Korolova DS**, Hornytska OV, Deyev VA, Gryshchuk VI, Chernyshenko TM, Platonova TM, Chernyshenko VO. Optimization of the evaluation method of the performance of therapy using indirect action anticoagulants. Biotechnologia Acta. 2022; 15(3): 52-57. doi:10.15407/biotech15.03.052. *Внесок здобувача: розробка методу визначення концентрації претромбіну-1, аналіз та статистична обробка даних.*

22. **Korolova D**, Shevchuk O, Kostiuchenko O, Chernyshenko T, Klymenko K, Platonova T, Ivankiv Ya, Palii S, Pak A, Chernyshenko V, Korda M, Komisarenko S, Vari S. Hematological Findings in Post-COVID-19 Recovery Period: Three-Month Follow-Up Study. Available at SSRN: https://ssrn.com/abstract=4234239. or doi: 10.2139/ssrn.4234239. *Внесок здобувача: концентрацій розчиного фібрину та D-димеру в плазмі крові пацієнтів, аналіз стану системи гемостазу пацієнтів.*

23. **Korolova D.** Regulation and Dysregulation of Thrombin Activity. Southeastern European Medical Journal: SEEMEDJ. 2021; 5(1): 47-64. doi:10.26332/seemedj.v5i1.194. *Внесок здобувача: аналіз та узагальнення даних літератури, графічне представлення узагальнених даних.*

24. **Korolova D**, Chernyshenko V, Platonova T, Chernyshenko T, Lugovskoy E. Detection of prethrombin 1 in human blood plasma. International blood research and reviews. 2016; 5(2): 1-7. doi:10.9734/IBRR/2016/24683. *Внесок здобувача: планування, розробка умов визначення претромбіну-1 в плазмі крові, модифікація інгібіторно-кореляційної проби для*

диференціювання декарбоксильованого протромбіну та претромбіну-1, аналіз даних.

25. **Korolova DS**, Chernyshenko TM, Gornytska OV,. Chernyshenko VO, Platonova TN. Meizothrombin preparation and its role in fibrin formation and platelet aggregation. Advances in Bioscience and Biotechnology. 2014; 5: 588-595. doi:10.4236/abb.2014.57069. *Внесок здобувача: розробка умов отримання мезотромбіну, агрегатометрія, аналіз даних.*

Методичні рекомендації.

26. Комісаренко СВ, Дєєв ВА, Луговськой ЕВ, Колеснікова ІМ, Платонова ТМ, Луговська НЕ, Костюченко ОП, Чернишенко ВО, **Корольова ДС**, Чернишенко ТМ, Ліксунов ОВ, Каширова ОВ, Романова ЕЕ. Застосування імуноензимних методів для лабораторної діагностики загрози внутрішньо судинного тромбоутворення. К.: Видавець Бихун В.Ю., 2019. 36с. ISNB 978-617-7699-02-5. *Внесок здобувача: визначення концентрацій розчинного фібрину та D-димеру в плазмі крові пацієнтів, аналіз стану системи гемостазу пацієнтів, графічне узагальнення результатів.*

27. Комісаренко СВ, Корда ММ, Варі ШГ, Платонова ТМ, **Корольова ДС**, Чернишенко ВО, Шевчук ОО, Войтович АІ, Яценко ТА, Романюк СІ. Визначення загрози внутрішньосудинного тромбоутворення у пацієнтів, які перехворіли на COVID-19: методичні рекомендації. Тернопіль : ТНМУ, 2024. 40с. *Внесок здобувача: планування, визначення концентрацій розчинного фібрину та D-димеру в плазмі крові пацієнтів, аналіз стану системи гемостазу пацієнтів, графічне узагальнення результатів.*

Опубліковані праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

28. **Корольова ДС,** Платонова ТМ, Чернишенко ТМ, Томчук ВА, Грищенко ВА, Литвиненко ОМ. Визначення функціонально неактивних форм протромбіну за умов медикаментозного гепатиту. У: Матеріали X Українського біохімічного з'їзду; 2010 вересень 13-17; Одеса, Україна. Укр. біохім. журн. 2010. 4 (додаток 2). 2010. С. 30.

29. **Корольова ДС**, Платонова ТМ, Горницька ОВ. Роль похідних протромбіну в формуванні тромбоцитарного та фібринового тромбу. У: Матеріали X Українського біохімічного з'їзду; 2010 вересень 13-17; Одеса, Україна. Укр. біохім. журн. 2010. 4 (додаток 2). 2010. С. 30.

30. **Korolova DS**, Chernyshenko TM, Gornitskaia OV, Platonova TN. The role of meizothrombin and prethrombin-1 in fibrin formation and platelet aggregation. In: 38th The FEBS Congress; 2013 July 6-11; Saint Petersburg, russia; FEBS Journal. 280 (Suppl. 1); 2013. p. 487-488.

31. **Корольова ДС**, Чернишенко ВО, Чернишенко ТМ, Платонова ТМ, Чернишенко ВО. Виявлення претромбіну 1 in vivo та його роль у процесі зсідання крові. У: Конференція-конкурс молодих вчених «Актуальні проблеми біохімії та біотехнології–2014»; 2014 квітень 25; Київ, Україна; Укр. біохім. журн. 2014. 5 (додаток 1). 2014. р. 59.

32. Platonova TM, **Korolova DS**, Chernyshenko VO, Chernyshenko TM, Parkhomenko O. Dramatic decrease of prothrombin level during thrombolysis in acute myocardium infarction. In: 16th Annual NATA Symposium. 2015 April 16-17; Prague, Chech Republic. 2015. P. 98.

33. **Korolova DS**, Kostiuchenko OP, Shevchuk OO, Chernyshenko TM, Klymenko KP, Platonova TM, Ivankiv YaI, Paliy SM, Pak AI, Chernyshenko VO, Korda MM, Vari SG. Blood coagulation parameters in patients after COVID-19. In: 16th RECOOP Bridges in Life Sciences Video Conference. 2021 April 16.

2021. p. 21-22.

34. Tsaryk Y, Shevchuk O, **Korolova D**, Chernyshenko T, Kostiuchenko O, Klymenko K, Chernyshenko V, Platonova T. Rational diagnostics of thrombophilia in risk groups during immunization by AstraZeneca anti SARS-CoV-2 vaccine. In: The Biochemistry Global Summit, 25th IUBMB Congress, 46th FEBS Congress, 15th PABMB Congress, 2022 July 9–14; Lisbon, Portugal. 2022. FEBS Open Bio. 2022. 12. p. 146.

35. **Korolova DS**, Snezhkova EA, Shevchuk OO, Chernyshenko VO, Korda MM, Vari SG. Prethrombin-1 formation in blood plasma as a common mechanism in pathogenesis of diseases associated with prethrombotic state. In: 18th RECOOP Bridges in Life Sciences Conference. 2023 April 20-21; Budapest, Hungary. 2023. P. 58.

36. **Korolova DS**, Platonova TM, Gornytska OV, Chernyshenko VO. Clinical value of protein C determination in pathologies associated with the activation of blood coagulation system. In: 19th RECOOP Bridges in Life Sciences. 2024 April 11-12; Bratislava, Slovak Republic. 2024. p. 21-22.

37. **Korolova DS**, Baidakova KV, Komisarenko SV. Catalog of monoclonal antibodies for the study of fibrin(ogen) structure and functions. In: The 27th IFRS workshop. 2024 June 2-6; Esbjerg, Denmark. 2024. p. 33-34.

38. **Korolova, DS,** Kostiuchenko OP, Platonova TM, Chernyshenko VO. Monoclonal antibodies for protein c detection in blood plasma. In: 20th RECOOP Bridges in Life Sciences. 2025 April 1-3; Prague, Czech Republic. 2025. p. 73.

39. Pavlenko A, Suranyi A, Altorjay A, **Korolova D,** Chernyshenko V, Zhuk S, Us I, Varbiro Sz, Vari SG. Obesity and thrombotic risk in pregnant women. In: 20th RECOOP Bridges in Life Sciences. 2025 April 1-3; Prague, Czech Republic. 2025. p.43.

40. **Korolova D**, Demchynska R, Chernyshenko T, Kostiuchenko O, Chernyshenko V. Impact of war-related acoustic and thermal trauma on the blood coagulation system. In: 24th Annual Symposium on Patient Blood Management,

Haemostasis and Thrombosis. 2025 April 24-26; Munich, Germany. 2025. p.24-25.

Патенти

41. **Корольова Д.С.**, Чернишенко Т.М., Платонова Т.М., Волков Г.Л., Дєєв В.А., Куповська С.І. Тест-система та спосіб контролю ефективності лікування та профілактики тромбозів антикоагулянтами непрямої дії: пат. 86856 України: МПК G01N 33/50 A61B 5/00. № a200708173; заявл. 18.07.2007; опубл. 25.05.2009, Бюл. №10. 5 с.

42. Платонова Т.М., **Корольова Д.С.**, Чернишенко Т.М., Горницька О.В., Грищук В.І., Чернишенко В О., Луговськой Е.В., Комісаренко С.В. Спосіб отримання тромбіну: пат. 90935 України: МПК C12N 9/74. № u201401076; заявл. 05.02.2014; опубл. 10.06.2014, Бюл. №11. 7 с.

43. Комісаренко С.В., Луговськой Е.В., Рубленко М.В., Андрієць В.Г., **Корольова Д.С.**, Чернишенко В.О., Чернишенко Т.М., Горницька О.В., Платонова Т.М., Макогоненко Є.М. Спосіб одержання аутологічного фібринового гелю для стимуляції регенерації кісткових та м'яких тканин і зниження інтенсивності запальних процесів: пат. 113094 України: МПК A61P19/00, A61P31/00, A61K35/14, A61K35/16. № a201501207; заявл. 13.02.2015; опубл. 25.08.2016, Бюл.№ 16. 11 с.

44. Комісаренко С.В., Луговськой Е.В., Ніколаєв В.Г., Платонова Т.М., Досенко В.Є., Сахно Л.О., Снежкова Є.О., Чернишенко Т.М., **Корольова Д.С**., Чернишенко В.О., Горницька О.В., Коротич В.Г. Гемостатичний комбінований засіб для припинення масивних кровотеч, у тому числі за гемофілії: пат. 114356 України: A61F13/00, A61K38/43, A61P7/04. № u201608441; заявл. 01.08.2016; опубл. 10.03.2017, Бюл. №5. 12 с.

45. Комісаренко С.В., Луговськой Е.В., Ніколаєв В.Г., Платонова Т.М., Досенко В.Є., Сахно Л.О., Снежкова Є.О., Чернишенко Т.М., **Корольова**

Д.С., Чернишенко В.О., Горницька О.В., Коротич В.Г. Гемостатичний комбінований засіб для припинення масивних кровотеч, у тому числі за гемофілії: пат. 117852 України: A61F13/00, A61K38/43, A61P7/04. № a201608443; заявл. 01.08.2016; опубл. 10.10.2018, Бюл.№ 19. 11 с.

46. Луговськой Е.В., Чернишенко В.О., **Корольова Д.С**., Штайнберг К.М. Спосіб одержання аутологічної, збагаченої тромбоцитами, плазми крові людини з вмістом тромбоцитів понад 1 млн/мкл для медичного застосування: пат. 123108 України: A61K35/19, A61P7/00. № a201810476; заявл. 24.10.2018; опубл. 27.04.2020, бюл. № 8. 9 с.

47. Комісаренко С.В., Платонова Т.М., Чернишенко В.О., **Корольова Д.С.**, Чернишенко Т.М., Горницька О.В., Луговська Н.Е., Ніколаєв В.Г., Сахно Л.О., Снєжкова Є.О., Васюта О.Е., Гаврецький А.І., Жмінько П.Г. Спосіб надання біоматеріалам прокоагулянтних властивостей шляхом модифікації їхньої поверхні екзогенним активатором протромбіну екамуліном: пат. 149443 України: A61K38/36, A61P7/04, A61L15/32. № u202103676; заявл. 25.06.2021; опубл. 18.11.2021, бюл. № 46. 14 с.

48. Komisarenko S.V., Nikolaev V.H., Platonova T.M., Dosenko V.Ye., Sakhno L.O., Snezhkova E.O., Chernyshenko T.M., **Korolova D.S.**, Chernyshenko V.O., Hornytska O.V., Korotych V.H. The method of production of a haemostatic agent and a haemostatic agent for major bleeding control: Patent WO-2021194461-A1 WIPO (PCT): A61F 13/01008, A61F 2013/00463, A61K 38/4806, A61L 15/44, A61L 2300/40, A61L 2300/418, A61L 2400/04, A61P 7/04. №. PCT/UA2021/000031; int. filing date 29.03.2021; publ. date 30.09.2021, https://patents.google.com/patent/WO2021194461A1. 38 p.

49. Комісаренко С.В., Платонова Т.М., Чернишенко В.О., **Корольова Д.С.,** Чернишенко Т.М., Горницька О.В., Луговська Н.Е., Ніколаєв В.Г., Сахно Л.О., Снєжкова Є.О., Васюта О.С., Гаврецький А.І., Жмінько П.Г. Спосіб надання біоматеріалам прокоагулянтних властивостей шляхом модифікації їхньої поверхні екзогенним активатором протромбіну

екамуліном: пат. 128188 України: A61L15/32, A61K38/36, A61P7/04. № a202100475; заявл. 08.02.2021; опубл. 01.05.2024, бюл. № 18. 13 с.

50. Комісаренко С.В., Ніколаєв В.Г., Платонова Т.М., Досенко В.Є., Сахно Л.О., Снєжкова Л.О., Чернишенко Т.М., **Корольова Д.С.**, Чернишенко В.О., Горницька О.В., Коротич В.Г. Спосіб виготовлення гемостатичного засобу і гемостатичний засіб для припинення масивних кровотеч: пат. 128691 України: A61F13/02, A61K38/43, A61L15/38, A61P7/04. № a202003758; заявл. 22.06.2020; опубл. 02.10.2024, бюл. № 40. 17 с.

ДОДАТОК Б

Заключний звіт про доклінічні випробування Композиту адсорбційного гемостатичного аплікаційного «Карбогемостат»

Протокол 3/8-А-6011/1

Державне підприємство «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України»
(Атестат про акредитацію № 2Н375 від 09.08.2018р.
відповідно до вимог ДСТУ ISO/IEC 17025:2006)
03127, м. Київ, вул. Героїв оборони, 6

Протокол № 3/8-А-6011/1
доклінічних випробувань
від 29.12.2018р.

1	**Загальні відомості про МВ (медичні вироби)**	
1.1.	Повна назва МВ у відповідності з замовленням	Композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат» ТУ У 24.4-05417288-001:2018
1.2.	Виробник МВ (вказаний у сертифікаті, технічному паспорті на МВ, а також в іншій супроводжувальній документації)	Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України Україна 01030, м. Київ-30, вул. Леонтовича, 9 Адреса виробничих потужностей: Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є.Кавецького НАН України, Україна, 03022 м. Київ, вул. Васильківська, 45
1.3.	Заявник доклінічних випробувань	Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України Україна 01030, м. Київ-30, вул. Леонтовича, 9
1.4.	Призначення, вказане виробником МВ (призначення в стислій формі, з описом основної функції, яку виконує МВ)	МВ призначений для застосування в медичній практиці для зупинки масивних судинних та паренхіматозних кровотеч, крововиливів, при кульових, ножових, осколкових пораненнях, а також кровотеч у хворих на гемофілію та у пацієнтів в умовах введення антитромботичних препаратів. Галузь застосування: цивільна та військова ургентна та клінічна хірургія, комбустіологія, медицина катастроф і служба порятунку, індивідуальне використання, надання невідкладної доклінічної допомоги, зокрема в польових умовах.
1.5.	Основний принцип дії МВ, вказаний виробником	МВ складається з двох функціональних компонентів: ензимного активатора зсідання крові як гемостатичного агенту та матеріалу активованого вуглецевого з високим ступенем активації, який виконує функцію матриці для іммобілізації ензимного активатора, має кровоспинні, адсорбуючі та антинабрякові властивості, захищає рану від інфекції.
2.	**Загальна характеристика МВ**	
2.1.	Об'єкт доклінічних випробувань (МВ чи його складові частини)	Композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат» ТУ У 24.4-05417288-001:2018. МВ конструктивно виготовляється у вигляді перев'язувальних засобів, у двох типах: - *композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат-С»* – призначений для зупинки масивних кровотеч, у вигляді бинта, який складений z-подібною гармошкою, розміром (10 × 100) см; - *композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат-О»* – призначений для всіх інших цілей, у вигляді пов'язок розмірами (5 × 5) см, (5 × 10) см, (10 × 10) см, та турунд розмірами (0,2 × 1,5) см, (1 × 10) см.

		Вироби упаковані в індивідуальне пакування – герметично запаяний пакет з поліетиленової плівки, групова (споживча) тара – пакети з поліетиленової плівки або пакети з полімерних та комбінованих матеріалів. Транспортна тара – картонні коробки. Маркування індивідуального, споживчого та транспортного пакування відповідає вимогам стандартів ДСТУ EN 980:2007, ГОСТ 14192. Вироби призначені для одноразового використання, стерилізовані радіаційним методом згідно з ДСТУ ISO 11137-2003.
2.2.	Перелік робочих частин МВ, які контактують з тілом чи внутрішнім середовищем організму людини	МВ контактують з тілом людини (пошкоджені поверхні).
2.3.	Рецептура, матеріали (основні компоненти), що входять до складу МВ	Відповідно наданої документації ТУ У 24.4-05417288-001-2018: матеріал активований вуглецевий волокнистий, сорбент вуглецевий тканинний, ензимний активатор зсідання крові, плівка поліетиленова або плівка поліпропіленова, пакети з полімерних та комбінованих матеріалів.
3.	**Визначення відповідної групи МВ**	
	Категорія МВ	**Класифікація МВ**
3.1.	Медичні вироби неінвазивні, контактують з пошкодженою шкірою	Клас IIa.
4.	**Загальні положення проведення додаткових доклінічних випробувань**	
4.1.	Документи, що були розглянуті під час доклінічних випробувань (протоколи, гігієнічні заключення, висновки тощо)	1. Лист-заява від 10.12.2018р. від Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Україна, на проведення доклінічних випробувань МВ: Композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат» ТУ У 24.4-05417288-001:2018, виробництва Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України на виробничих потужностях: Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України. 2. Технічні умови ТУ У 24.4-05417288-001:2018 «КОМПОЗИТ АДСОРБЦІЙНИЙ ГЕМОСТАТИЧНИЙ АПЛІКАЦІЙНИЙ "Карбогемостат". Технічні умови». 3. Лабораторний регламент №1 на виготовлення медичного виробу.
4.2.	Установи, що проводили доклінічні випробування	Державне підприємство "Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І.Медведя Міністерства охорони здоров'я України"
4.3.	Експерти (відповідальні особи), що проводили доклінічні випробування	Керівник відділу комплексної токсикологічної оцінки виробів медичного призначення Наукового центру превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І.Медведя Міністерства охорони здоров'я України – Т.Ф Харченко.

4.4.	Термін, протягом якого проводили доклінічні випробування	10.12.2018р. – 29.12.2018р.
5.	**Об'єм та склад доклінічних випробувань**	
5.1.	Методики (регламентуючі, нормативні документи), що використовувались для доклінічних випробувань МВ	- ДСТУ EN ISO 10993-1:2015 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 1. Оцінювання та тестування в рамках процесу управління ризиками» - ДСТУ ISO 10993-2:2004 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 2. Вимоги щодо утримування тварин» - ДСТУ EN ISO 10993-12:2015 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 12. Відбирання зразків та еталонні матеріали» - ДСТУ EN ISO 10993-9:2015 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 9. Основні принципи якісного та кількісного аналізу потенційних продуктів деградації» - ДСТУ EN ISO 10993-13:2015 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 13. Якісний та кількісний аналіз продуктів деградації полімерних медичних виробів» - ДСТУ EN ISO 10993-5:2015 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 5. Випробування на цитотоксичність in vitro» - ДСТУ ISO 10993-10:2004 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 10. Випробування на подразнення та сенсибілізацію» - Методичні вказівки «Токсиколого-гігієнічні та доклінічні дослідження полімерних матеріалів і виробів на їх основі медичного призначення», К., 2009р. - Державна Фармакопея України, II видання (ДФУ 2.0) - МВ 1-2004 «Контроль стерильності виробів медичного призначення»
5.2.	Методи, за якими проводились доклінічні випробування	1. Органолептичні дослідження. 2. pH-метрія. 3. Титрометрія. 4. Спектрофотометрія. 5. Газорідинна хроматографія. 6. Експрес-метод визначення цитотоксичності на клітинному тест-об'єкті згідно з вимогами ДСТУ EN ISO 10993-5:2015. 7. Визначення подразнюючої дії та сенсибілізуючої дії згідно з вимогами ДСТУ ISO 10993-10:2004. 8. Державна Фармакопея України, II видання (ДФУ 2.0). 9. МВ 1-2004 «Контроль стерильності виробів медичного призначення».
5.3.	Умови, за якими проводились доклінічні випробування	Умови лабораторного експерименту
6.	**Критерії випробувань**	
6.1.	Одориметричні (органолептичні) дослідження	**Об'єкт досліджень:** Композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат» ТУ У 24.4-05417288-001:2018. З урахуванням типу виробів та їх рецептурного складу, для проведення досліджень відібрані типові моделі зразків продукції відповідно до вимог ДСТУ EN ISO 10993-12:2015 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 12. Відбирання зразків та еталонні матеріали»: *Зразок №1 – композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат-С», бинт розміром (10×100) см;*

		Зразок №2 – композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат-О», пов'язки розмірами (5×5) см, (5×10) см, (10×10) см, турунди розмірами (0,2×1,5) см, (1×10) см (вироби ідентичні за рецептурним складом, водні екстракти з них для досліджень об'єднували); **Результати досліджень:** дослідні зразки запаху не мали, водні екстракти зі зразків №1, №2 були прозорі, без каламуті, осаду, забарвлення, запах водних екстрактів зі зразків становив 0 балів.
6.2.	Санітарно-хімічні дослідження	**Об'єкт досліджень:** Композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат» ТУ У 24.4-05417288-001:2018. З урахуванням типу виробів та їх рецептурного складу, для проведення досліджень відібрані типові моделі зразків продукції відповідно до вимог ДСТУ EN ISO 10993-12:2015 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 12. Відбирання зразків та еталонні матеріали»: *Зразок №1 – композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат-С», бинт розміром (10×100) см;* *Зразок №2 – композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат-О», пов'язки розмірами (5×5) см, (5×10) см, (10×10) см, турунди розмірами (0,2×1,5) см, (1×10) см (вироби ідентичні за рецептурним складом, водні екстракти з них для досліджень об'єднували);* **Умови проведення досліджень:** дослідні зразки розміщували в скляні флакони. Розчинник для екстрагування - дистильована вода, відношення площі зразків (S) до об'єму дистильованої води (V) як 1,25см^2 : 1см^3, температура води 37^{0}С. Екстракцію проводили при температурі 37^{0}С протягом 24 годин. **Результати досліджень:** Органічні домішки (ГР не >0,3 мг/л): зразок №1 – 0,03 мг/л; зразок №2 – 0,04 мг/л. Відновлені домішки (ГР не >1,0 мл 0,02 N р-ну $Na_2S_2O_3$): зразок №1 – 0,0 мг/л; зразок №2 – 0,0 мг/л. Зміна pH (ГР не > ±1): зразок №1 – 1,0; зразок №2 – 1,0. Формальдегід (ГР не >0,1 мг/л; межа визначення методу 0,01 мг/л): зразок №1 – 0,1 мг/л; зразок №2 – 0,1 мг/л. **Висновок:** рівні міграції шкідливих хімічних речовин у воду зі зразків №1, №2 не перевищували гігієнічних регламентів в межах чутливості аналітичних методів. За санітарно-хімічними показниками випробні зразки відповідають вимогам ДСТУ EN ISO 10993-13:2015 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 13. Якісний та кількісний аналіз продуктів деградації полімерних медичних виробів».
6.3.	Випробування на цитотоксичність in vitro	**Об'єкт досліджень:** Композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат» ТУ У 24.4-05417288-001:2018. З урахуванням типу виробів та їх рецептурного складу, для проведення досліджень відібрані типові моделі зразків продукції відповідно до вимог ДСТУ EN ISO 10993-12:2015 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 12. Відбирання зразків та еталонні матеріали»: *Зразок №1 – композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат-С», бинт розміром (10×100) см;* *Зразок №2 – композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат-О», пов'язки розмірами (5×5) см, (5×10) см, (10×10) см, турунди розмірами (0,2×1,5) см, (1×10) см (вироби ідентичні за рецептурним складом, водні екстракти з них для досліджень об'єднували);* **Умови проведення досліджень:** визначали індекс токсичності (I токс.) водних екстрактів зі зразків експрес-методом на статевих клітинах

		великої рогатої худоби (сперма бика). Екстракти готували згідно з п.6.2. **Методи досліджень**: експрес-метод визначення токсичності на клітинному тест-об'єкті згідно з вимогами ДСТУ EN ISO 10993-5:2015, «Методики определения токсического действия вытяжек из материалов и изделий на половых клетках крупного рогатого скота», М., 1987р. **Результати досліджень**: Індекс токсичності водних екстрактів (ГР 60-120 %): Зразок №1 – 109,5% Зразок №2 – 105,5%. **Висновок**: водні екстракти з випробних зразків №1, №2 нетоксичні, значення індексу цитотоксичності in vitro не виходить за межі допустимого критерія. За показником цитотоксичності випробні зразки відповідають вимогам ДСТУ EN ISO 10993-5:2015 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 5. Випробування на цитотоксичність in vitro».
6.4.	Випробування на подразнення	**Об'єкт досліджень**: Композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат» ТУ У 24.4-05417288-001:2018. З урахуванням типу виробів та їх рецептурного складу, для проведення досліджень відібрані типові моделі зразків продукції відповідно до вимог ДСТУ EN ISO 10993-12:2015 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 12. Відбирання зразків та еталонні матеріали»: *Зразок №1 – композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат-С», бинт розміром (10×100) см;* *Зразок №2 – композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат-О», пов'язки розмірами (5×5) см, (5×10) см, (10×10) см, турунди розмірами (0,2×1,5) см, (1×10) см (вироби ідентичні за рецептурним складом, водні екстракти з них для досліджень об'єднували);* **Умови проведення досліджень**: оцінювали здатність випробних зразків №1, №2 викликати подразнення шкіри методом нашкірних аплікацій на морських свинках за умов гострого експерименту (однократна витримка). Морським свинкам накладали випробні зразки на вистрижену ділянку шкіри спини з двох боків хребта, фіксували негерметичною пов'язкою. Час експозиції 4 години. Оцінювали шкірну реакцію кожного місця накладання аплікацій через 1, 24, 48 і 72 години після зняття пов'язок на наявність еритеми і утворення струпу, утворення набряку, місцевої гіпертермії, морфологічних змін шкіри та інших ушкоджень. **Результати досліджень**: Ознак подразнюючої дії випробних зразків №1, №2 на шкіру піддослідних тварин (еритеми, набряку, струпу, лущення, висипів, виразок, некрозу та ін.) на усіх стадіях спостереження не встановлено Індекс первинного подразнення шкіри 0 балів. **Висновок**: випробні зразки №1, №2 не викликають подразнення шкіри у експериментальних тварин. За показником подразнюючої дії випробні зразки відповідають вимогам ДСТУ ISO 10993-10-2004 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 10. Випробування на подразнення та сенсибілізацію».
6.5.	Випробування на сенсибілізацію	**Об'єкт досліджень**: Композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат» ТУ У 24.4-05417288-001:2018. З урахуванням типу виробів та їх рецептурного складу, для проведення досліджень відібрані типові моделі зразків продукції відповідно до вимог ДСТУ EN ISO 10993-12:2015 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 12. Відбирання зразків та еталонні матеріали»: *Зразок №1 – композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат-С», бинт розміром (10×100) см;*

		Зразок №2 – композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат-О», пов'язки розмірами (5×5) см, (5×10) см, (10×10) см, турунди розмірами (0,2×1,5) см, (1×10) см (вироби ідентичні за рецептурним складом, водні екстракти з них для досліджень об'єднували); **Умови проведення досліджень**: оцінювали здатність випробних зразків викликати сенсибілізацію шкіри морських свинок-альбіносів методом внутрішньошкірних ін'єкцій з наступним локальним нанесенням випробного матеріалу на те саме місце. Екстракти готували згідно з п.6.2. Морським свинкам одноразово внутрішньошкірно вводили екстракт зі зразків. Контрольним тваринам вводили розчинник. На 7 день проводили нашкірні аплікації екстракту зі зразків на місце ін'єкції зразка. На 14 добу ставили шкірну провокаційну пробу з випробним зразком на інтактне місце. Оцінювали реакцію шкіри на місці провокаційної проби через 24, 48 і 72 години після зняття пов'язок на наявність еритеми і утворення струпу, утворення набряку, морфологічних змін шкіри та інших ушкоджень. **Результати досліджень**: наявності еритеми, струпу, набряку та інших пошкоджень шкіри піддослідних тварин на місці провокаційної проби для всіх випробних зразків №1, №2 не встановлено. Шкірна реакція 0 балів. **Висновок**: випробні зразків №1, №2 не викликають сенсибілізації у експериментальних тварин. За показником сенсибілізуючої дії випробні зразки відповідають вимогам ДСТУ ISO 10993-10-2004 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 10. Випробування на подразнення та сенсибілізацію».
6.6.	Мікробіологічні дослідження (контроль стерильності)	**Об'єкт досліджень**: Композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостіт» ТУ У 24.4-05417288-001:2018. З урахуванням типу виробів та їх рецептурного складу, для проведення досліджень відібрані типові моделі зразків продукції відповідно до вимог ДСТУ EN ISO 10993-12:2015 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 12. Відбирання зразків та еталонні матеріали»: *Зразок №1 – композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат-С», бинт розміром (10×100) см;* *Зразок №2 – композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат-О», пов'язки розмірами (5×5) см;* **Умови проведення досліджень**: випробування стерильних зразків на стерильність: визначення наявності аеробних та анаеробних бактерій, грибів. **Методи досліджень:** МВ 1-2004 «Контроль стерильності виробів медичного призначення», Державна Фармакопея України, 2001, видання 1, п.п. 2.6.12 - 2.6.13, Державна Фармакопея України, II видання (ДФУ 2.0). **Результати досліджень**: <u>Аеробні та анаеробні бактерії (КУО/зразок)</u> (вимоги НД - відсутність): Зразок №1: не виявлено Зразок №2: не виявлено <u>Гриби (КУО/зразок) (вимоги НД - відсутність):</u> Зразок №1: не виявлено Зразок №2: не виявлено **Висновок**: наявності аеробних та анаеробних бактерій, а також грибів у змивах з об'єктів досліджень не виявлено, вироби стерильні. Випробні зразки №1, №2 відповідають вимогам стерильності для медичних виробів відповідно до вимог Державної Фармакопеї України, II видання (ДФУ 2,0), МВ 1-2004 «Контроль стерильності виробів медичного призначення».

7.	**Результати доклінічних випробувань**	
7.1.	Відповідність МВ методичним вимогам	За результатами проведених доклінічних випробувань медичні вироби: Композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат» ТУ У 24.4-05417288-001:2018, виробництва Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Україна, відповідає вимогам: - ДСТУ EN ISO 10993-1:2015 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 1. Оцінювання та тестування в рамках процесу управління ризиками» - ДСТУ EN ISO 10993-12:2015 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 12. Відбирання зразків та еталонні матеріали» - ДСТУ EN ISO 10993-9:2015 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 9. Основні принципи якісного та кількісного аналізу потенційних продуктів деградації» - ДСТУ EN ISO 10993-13:2015 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 13. Якісний та кількісний аналіз продуктів деградації полімерних медичних виробів» - ДСТУ EN ISO 10993-5:2015 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 5. Випробування на цитотоксичність in vitro» - ДСТУ ISO 10993-10:2004 «Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 10. Випробування на подразнення та сенсибілізацію» - Методичні вказівки «Токсиколого-гігієнічні та доклінічні дослідження полімерних матеріалів і виробів на їх основі медичного призначення», К., 2009р. - Державна Фармакопея України, II видання (ДФУ 2.0) - МВ 1-2004 «Контроль стерильності виробів медичного призначення»
8.	**ЕКСПЕРТНИЙ ВИСНОВОК**	
8.1.	Узагальнений висновок про можливість та умови застосування МВ	Композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат» ТУ У 24.4-05417288-001:2018, виробництва Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Україна, за показниками безпеки щодо здоров'я людини відповідає вимогам ДСТУ EN ISO 10993 «Біологічне оцінювання медичних виробів» (частини 1, 2, 5, 9, 10, 12, 13) та Державній Фармакопеї України, II видання (ДФУ 2.0). МВ безпечний для застосування як медичний виріб, призначений для зупинки масивних судинних та паренхіматозних кровотеч, крововиливів, при кульових, ножових, осколкових пораненнях, а також кровотеч у хворих на гемофілію та у пацієнтів в умовах введення антитромботичних препаратів.

Керівник відділу комплексної токсикологічної оцінки виробів медичного призначення, к.м.н. Т.Ф. Харченко
Провідний науковий співробітник, к.х.н. С.С. Ісаєва
Інженер 1 категорії С.О. Хомак

Підписи Т.Ф Харченко, С.С. Ісаєвої, С.О. Хомак засвідчую:

Вчений секретар, к.б.н. Я.М. Недопитанська

"28" 12 2018р.

ДОДАТОК В

Заключний звіт про проведене клінічне випробування «Карбогемостату»

Відкрите, одноцентрове, проспективне, рандомізоване, контрольоване паралельне дослідження ефективності та безпечності застосування виробу медичного – композиту адсорбційного гемостатичного аплікаційного «Карбогемостат» для зупинки артеріальних кровотеч, зокрема за антитромботичної терапії.

Код дослідження К1.2020

ЗАКЛЮЧНИЙ ЗВІТ ПРО ПРОВЕДЕНЕ КЛІНІЧНЕ ВИПРОБУВАННЯ

Відкрите, одноцентрове, проспективне, рандомізоване, контрольоване паралельне дослідження ефективності та безпечності застосування виробу медичного – композиту адсорбційного гемостатичного аплікаційного «Карбогемостат» для зупинки артеріальних кровотеч, зокрема за антитромботичної терапії.

Назва досліджуваного медичного виробу: композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат».

Код дослідження К1.2020; Версія ПКД 4.0; 16.07.2021

Фаза дослідження II

Тривалість дослідження 3 місяці (з 09.2021 по 12.2021 рр)

До дослідження були залучені особи, які мають зовнішню свіжу чи інфіковану рани кінцівок, що супроводжується артеріальною та профузною кровотечами і потребує зовнішнього застосування перев'язувального матеріалу з кровоспинною активністю.

Спонсор Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАНУ	Директор, академік НАНУ С.В. Комісаренко	підпис	23.02.2022р дата
Відповідальний дослідник	к.мед.н. А. І. Гаврецький	підпис	23.02.2022р дата

Київ - 2022

Резюме

Було проведено відкрите, одноцентрове, проспективне, рандомізоване, контрольоване паралельне дослідження ефективності та безпечності застосування виробу медичного – композиту адсорбційного гемостатичного аплікаційного «Карбогемостат» для зупинки артеріальних кровотеч, зокрема за антитромботичної терапії у Київському міському клінічному ендокринологічному центрі, поліклінічному відділенні. До випробувань були залучені пацієнти, що проходять курс антикоагулянтної терапії та пацієнти, що не приймають антикоагулянти. До дослідження були залучені пацієнти, які мають зовнішню свіжу чи інфіковану рани кінцівок, що супроводжується артеріальною та профузною кровотечами і потребує зовнішнього застосування перев'язувального матеріалу з кровоспинною активністю. Контрольній групі пацієнтів було застосовано тиснучу пов'язку для зупинки кровотечі.

Загалом у дослідженні взяли участь 40 пацієнтів, з них 10 осіб, що не приймали антикоагулянти і отримали «Карбогемостат», в якості кровоспинного засобу, 10 осіб, які приймали антикоагулянти і отримали «Карбогемостат», в якості кровоспинного засобу, 10 осіб, що не приймали антикоагулянти і яким зупинку кровотечі проводили з використанням тиснучої пов'язки, 10 осіб, які приймали антикоагулянти і яким зупинку кровотечі проводили з використанням тиснучої пов'язки.

Було показано, що використання «Карбогемостату» не викликало побічних явищ, пов'язаних із застосуванням медичного виробу. Не було відмічено жодного випадку місцевої алергічної реакції чи посилення запального процесу навколо ранової поверхні. Крім того, за даними коагулологічних досліджень, застосування досліджуваного медичного виробу не спричиняло загрози внутрішньосудинного тромбоутворення та не стимулювало виникнення передтромботичного стану у пацієнтів. Зокрема, протромбіновий індекс плазми крові пацієнтів, що не отримували антикоагулянти, до та після застосування «Карбогемостату» становив 92±8,4 та 73±21,6 %, відповідно, в той час як в групі порівняння відповідні значення протромбінового індексу становили 99±6,7 та 63±27,8 %. Так само не було достовірної відмінності в зміні інших параметрів системи зсідання крові (розчинні фібрин-мономерні комплекси – РФМК, активований частковий тромбопластиновий час – АЧТЧ) у пацієнтів досліджуваної групи та групи порівняння.

Час зупинки кровотечі з використанням «Карбогемостату» не перевищував 3 хвилин, як у групі пацієнтів, що не приймали антикоагулянти, так і в групі пацієнтів, яким проводили антикоагулянтну терапію. Тобто, цей параметр відповідав заявленим характеристикам медичного виробу, відповідно до інструкції з використання.

Незначне подразнення ранової ділянки спостерігалось у пацієнтів досліджуваної групи та у пацієнтів групи порівняння, а тому не було пов'язано із застосуванням досліджуваного виробу.

Таким чином, в ході клінічного дослідження було доведено безпеку застосування «Карбогемостату» та показано ефективність застосування «Карбогемостату» для зупинки артеріальної кровотечі в тому числі за антикоагулянтної терапії.

ЗМІСТ

Перелік скорочень і визначення термінів. 4
1. Етичні питання. 5
2. Адміністративна структура клінічного випробування 5
3. Вступ 6
4. План випробування 7
4.1. Загальний план і план-опис клінічного випробування 7
4.2. Обґрунтування плану клінічного випробування. 7
4.3. Вибір популяції, що вивчається 8
4.4. Лікування 9
4.5. Дані щодо ефективності та безпеки 10
4.6. Заплановані в протоколі клінічного випробування статистичні методи. 10
4.7. Зміни щодо запланованого проведення клінічного випробування або аналізу 10
5. Демографічні та/чи інші вихідні характеристики. 11
6. Відхилення від протоколу клінічного випробування. 12
7. Оцінка ефективності. 12
7.1. Оцінка ефективності 12
7.2. Висновки щодо ефективності. 13
6. Визначення безпеки. 13
6.1. Побічні явища 13
6.2. Випадки смерті. 13
6.3. Інші серйозні побічні явища, а також серйозні побічні реакції. 13
6.4. Оцінка клініко-лабораторних показників: 13
6.5. Висновки щодо безпеки. 14
7. Обговорення та узагальнені висновки. 17
Список використаних джерел. 18
Додаток 1 19
Рішення комісії з питань етики при КНП КМКЕЦ, ... 19
протокол № 3, від 19 квітня 2021 року 19
Додаток 2 23
Сертифікат якості Композиту адсорбційного гемостатичного аплікаційного «Карбогемостат» 23
Додаток 3 25
Перелік індивідуальних показників лабораторних параметрів у суб'єктів дослідження 25

Перелік скорочень і визначення термінів.

АЧТЧ – активований частковий тромбопластиновий час

ПІ – протромбіновий індекс

ПКД – план клінічних досліджень

РФМК – розчинні фібрин-мономерні комплекси

1. Етичні питання.

Проведення клінічного дослідження «Відкрите, одноцентрове, проспективне, рандомізоване, контрольоване паралельне дослідження ефективності та безпечності застосування виробу медичного – композиту адсорбційного гемостатичного аплікаційного «Карбогемостат» для зупинки артеріальних кровотеч, зокрема за антитромботичної терапії.» було погоджено комісією з питань етики при Київському міському клінічному ендокринологічному центрі (протокол № 3, від 19 квітня 2021 року – Додаток 1)

Клінічні дослідження були проведені без участі представників вразливих груп населення.

Відповідно до звітів Монітора, тиск на пацієнтів з боку членів дослідницької групи був відсутній. Роз'яснення суті клінічного дослідження, що проводиться, було достатньо детальне, термінологія, що використовувалась при роз'ясненні загальновживана (не вузько-медична). Зарахування пацієнтів здійснювалось відповідно до всіх критеріїв включення/виключення, що передбачені ПКД.

Результати клінічного дослідження можуть бути опубліковані. Опубліковані результати не будуть містити інформації, за якою можна ідентифікувати будь-якого суб'єкта дослідження (в публікації не будуть зазначатись особисті дані суб'єктів досліджень та не будуть представлені фотографії, за якими можна ідентифікувати особу).

2. Адміністративна структура клінічного випробування

Дослідження було одноцентровим і проводилось у поліклінічному відділені Київського міського клінічного ендокринологічного центра, вулиця Рейтарська, 22, Київ, Україна, 01054, (044) 235 29 65, kmkec@health.kiev.ua

Відповідальним дослідником був кандидат медичних наук, лікар ортопед-травматолог вищої кваліфікаційної категорії А. І. Гаврецький, (050) 253 75 09

3. Вступ.

До сьогоднішнього дня проблема ефективного гемостазу є надзвичайно актуальною. Кровотеча може бути ускладненням багатьох уражень та захворювань, а також мати ятрогений характер. Кровотеча під час оперативного втручання або безпосередньо після нього, є одним з найбільш небезпечних ускладнень в хірургічній практиці, яке в короткі терміни може призвести до летального результату. Особливо гострою проблема зупинки кровотечі є в абдомінальній хірургії, що пов'язано з анатомо-топографічними і фізіологічними особливостями та високою частотою ушкоджень паренхіматозних органів і збільшенням кількості оперативних втручань у них [1-4]. В цілому, проблема зупинки паренхіматозних кровотеч містить багато невирішених питань, що спонукає до пошуку ефективних і малотравматичних способів досягнення гемостазу [5-8].

В Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України було створено композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат», що складається з двох компонентів – вуглецевого нетканого матеріалу та ензимного активатора зсідання крові. У складі «Карбогемостату» обидва компоненти зберігають свої властивості, завдяки чому композит поєднує кровоспинні та сорбційні властивості. В дослідженнях *in vitro* та *in vivo* на модельних системах печінкової і артеріальної кровотечі щурів та артеріальної кровотечі свиней було показано потужний гемостатичний ефект «Карбогемостату».

Композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат» - є неінвазивним, контактуючим з пошкодженою шкірою медичним виробом класу IIa.

Карбогемостат складається з двох функціональних компонентів: ензимного активатора зсідання крові у якості гемостатичного агента в кількості не менше 8 мкг/см^2 та пов'язки вуглецевої сорбуючої на основі активованих волокнистих вуглецевих матеріалів марки АУВМ «Днепр»-МН (ТУ У 24.4-05416946-001-2009), яка виконує функцію матриці для іммобілізації ензимного активатора, як описано в Патенті на винахід №117852 [9, 10].

Допоміжних інгредієнтів Карбогемостат не містить.

Метою випробування було показати безпечність та ефективність застосування виробу медичного – композиту адсорбційного гемостатичного аплікаційного «Карбогемостат» для зупинки артеріальних кровотеч, зокрема за антитромботичної терапії.

4. План випробування.

4.1. Загальний план і план-опис клінічного випробування

Було проведено одноцентрове, відкрите, рандомізоване, контрольоване, паралельне, проспективне клінічне випробування застосування місцевого кровоспинного засобу Карбогемостат у пацієнтів з артеріальними кровотечами, в тому числі за антитромботичної терапії.

До випробувань було залучено пацієнтів, що проходять курс антикоагулянтної терапії та пацієнти, що не приймають антикоагулянти.

Первинною ціллю дослідження є демонстрація безпечності Карбогемостату, тому первинною кінцевою точкою обрано розвиток у пацієнтів побічних явищ, пов'язаних із застосуванням медичного виробу, що можуть нанести шкоду здоров'ю та/чи життю пацієнта, а також неможливість припинити кровотечу впродовж години чи коли об'єм кровотечі загрожує життю та здоров'ю пацієнта.

Вторинною ціллю є демонстрація ефективності гемостатичних властивостей Карбогемостату, тому вторинною кінцевою точкою обрано отримання даних щодо часу та повторюваності кровотечі, наявності запальних процесів на рановій поверхні та суб'єктивного стану пацієнта після 1 доби із часу застосування Карбогемостату.

<u>Процедура виключення пацієнтів з дослідження.</u>

Пацієнти, які підписали інформовану згоду, але бажають припинити участь перед завершенням дослідження, вилучаються з дослідження

Немає записів про подальші візити.

Виникнення серйозного побічного непередбачуваного явища, що становить загрозу життю чи здоров'ю пацієнта.

Клінічне чи лабораторне погіршення стану пацієнта, що вимагає застосування інших форм/методів лікування.

Якщо кровотеча не припиняється і її об'єм загрожує життю та здоров'ю пацієнта.

<u>Дозування</u>

Для зупинки кровотечі у пацієнта, Карбогемостат використовувався одноразово. Кількість бинта, що достатня для тампонади відповідно до розмірів рани, відрізалась від бинта, розміром 5х50 см.

<u>Референтна терапія</u>

Відповідно до стандартної процедури зупинки артеріальної кровотечі, в якості референтної терапії використовували тиснучу пов'язку

Інші медичні вироби або лікарські засоби під час клінічного дослідження не використовувались.

4.2. Обґрунтування плану клінічного випробування.

Оскільки Карбогемостат не впливає на обмінні процеси організму та має вигляд, відмінний від інших перев'язувальних матеріалів, було обрано відкритий тип дослідження. Для зменшення впливу невідомих чинників було проведено рандомізіроване дослідження, однак особливості досліджуваної патологій унеможливлюють спостереження контрольної (нелікованої) групи пацієнтів, тому було проведено порівняння двох видів лікування (дизайн незалежних груп).

Використання Карбогемостату передбачає наявність артеріальних кровотеч, що супроводжуються пошкодженням шкірних покривів, тому клінічні дослідження на здорових волонтерах передбачали б свідоме обов'язкове нанесення шкоди здоров'ю волонтера. Відповідно до результатів доклінічних досліджень, Карбогемостат не має сенсибілізуючого впливу та не викликає подразнення. Клінічні дослідження «Засобу перев'язувального на основі волокнистих вуглецевих матеріалів», що входить у склад Карбогемостату, продемонструвало його протизапальну, протинабрякову та протимікробну дію, показало, що дана пов'язка не викликає некрозів та опіків прилеглих тканин, показало відсутність сенсибілізуючого та подразнюючого впливу.
Зважаючи на це, клінічні дослідження проводились на пацієнтах з артеріальними кровотечами, тобто за відсутності І фази клінічних досліджень.
Традиційним методом зупинки артеріальної кровотечі є накладання тиснучої пов'язки. Такий метод не має жодного впливу на прилеглі тканини та на систему гемостазу. В той же час спеціалізовані кровоспинні засоби можуть викликати запалення, опіки та некроз прилеглих тканин (наприклад Celox) або містять протеїнові компоненти системи гемостазу (наприклад Fibrin Sealant Dressing), або запускати весь каскад зсідання крові (наприклад QuikClot, Cutanplast), що вносить значні відмінності у їх роботі для різних пацієнтів та не має достатнього ефекту при використанні у пацієнтів, які проходять антикоагулянтну терапію. Для уникнення складності трактування результатів дослідження та в рамках додержання рекомендацій МОЗ України, в якості референтної терапії було обрано тиснучу пов'язку, як засіб для зупинки кровотечі.

4.3. Вибір популяції, що вивчається

Критерії долучення
Для долучення суб'єктів дослідження буде використано наступні критерії:
-особи у віці від 18 до 79 років, чоловічої або жіночої статі;
-наявність ранової поверхні, що потребує зовнішнього застосування перев'язувального матеріалу з кровоспинною активністю;
-відсутність анафілактичних реакцій в анамнезі;
-підписання поінформованої згоди на участь у випробуваннях.
Критерії вилучення
Для вилучення суб'єктів дослідження буде використано наступні критерії:
-гострі запальні захворювання;
-вагітність, годування груддю;
-тромбофілія в анамнезі чи лікування препаратами, що стимулюють зсідання крові;
-невиношування вагітності в анамнезі;
-показником МНВ > 1,4;
-порушення синтетичної функції печінки;
-артеріальна гіпертензія;
-хвороба Віллебранда;
-мутація генів FGB-фібриноген та/чи F2-протромбін;
-внутрішня кровотеча або менструація під час дослідження;
-недієздатність або неможливість отримати поінформовану згоду.
Процедура відсіювання
Для відсіювання пацієнтів буде проведено:

-вимірювання температури тіла (підвищення температури тіла вище 37,2 °С свідчить про гострий запальний процес);
-вимірювання артеріального тиску (підвищення артеріального тиску систолічного — до 140 мм. рт. ст. і вище, діастолічного — до 90 мм рт. ст. і вище свідчить про артеріальну гіпертензію);
-опитування щодо захворювань в анамнезі, загального фізіологічного стану та супутньої терапії, яку надається пацієнту;
-визначення параметрів системи зсідання крові (значні відхилення від референтних значень свідчать на користь тромбофілічної загрози чи ризику неконтрольованої кровотечі).

4.4. Лікування

4.4.1 Ідентифікація виробу медичного, що досліджуються.

Композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат» є засобом для зупинки гострої судинної, паренхіматозної та капілярної кровотечі. Він має сорбційні та чітко виражені кровоспинні властивості. Його застосування може бути рекомендоване для зупинки масивної судинної кровотечі, кровотечі за хірургічних втручань, в тому числі артеріальної та профузної кровотеч, що супроводжує зовнішні свіжі чи інфіковані рани кінцівок, зокрема обширних планарних ран після ранньої ексцизії струпа у пацієнтів з опіками IIIB-IV ступеню, та травмах у тому числі на тлі застосування антитромботичних препаратів та за умов гемофілії.

Маркування

Назва виробу: Композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат»

Карбогемостат - бинт розміром 5х50 см пакується в індивідуальні коробки (згідно ДСТУ EN 980:2007), на яких зазначається його повна назва, виробник, розробник та номер партії, а коробка маркується *«для проведення клінічних випробувань»*.

Номер партії: 1/18

Цільове призначення

В даному клінічному дослідженні Карбогемостат призначений для зовнішнього застосування, безпосередньо контактно до ранової поверхні, без використання допоміжних лікарських засобів чи медичних виробів з метою зупинки кровотеч.

4.4.2. Рандомізація

Пацієнти, які відповідають критеріям долучення та вилучення, були розділені на групи відповідно до того, чи проводилась їм антикоагулянтна терапія. В середині кожної групи пацієнтів розділяли на підгрупу досліджуваних та підгрупу порівняння відповідно до рандомізаційного списку, що було надано відповідальному досліднику спонсором. З групи пацієнтів, що не приймали антикоагулянти, та з групи пацієнтів, що приймали антикоагулянти, половині пацієнтів проводилась зупинка кровотечі Карбогемостатом, а іншій половині – стандартною процедурою з використанням тиснучої пов'язки.

Кожному пацієнту було надано код пацієнта.

4.5. Дані щодо ефективності та безпеки

Для оцінки ефективності було заплановано проаналізувати час зупинки кровотечі в досліджуваній групі та в групі порівняння, а також зібрати дані про можливі повторні кровотечі

Для доведення безпечності було заплановано провести порівняння стану системи гемостазу до та після використання перев'язувального матеріалу (Карбогемостату для досліджуваної групи та тиснучої пов'язки для групи порівняння), а саме визначити такі параметри: протромбіновий індекс (ПІ), активований частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ) та рівень розчинних фібрин-мономерних комплексів (РФМК) в плазмі крові пацієнтів. Крім того, було заплановано зібрати дані щодо стану ранової поверхні після використання перев'язувального матеріалу (зокрема відмітити появу подразнення прилеглих тканин, появу некрозу, запалення, струпу).

4.6. Заплановані в протоколі клінічного випробування статистичні методи.

Для статистичного аналізу було заплановано використовувати програму STATISTICA для Windows версія 13.3. Змінні результату та ефекти було заплановано проаналізувати, використовуючи непараметричні методи статистики.
Вихід з чотирма групами числових змінних було заплановано проаналізувати за допомогою незалежного t-тесту, з альтернативним тестом Манна-Вітні. Рівень значущості кожного тесту становить 5 %, якщо $p < 0{,}05$ означає, що він є статистично значущим і якщо $p > 0{,}05$, значить, не є статистично значущим (не суттєвим). Додатково в кожному випадку обов'язково оцінюється статистична значимість відносини шансів, виходячи зі значень 95 % довірчого інтервалу (СІ).

4.7. Зміни щодо запланованого проведення клінічного випробування або аналізу.

До початку клінічних випробувань було внесено зміни у ПКД (версія 3.0; 18.11.2020) у п. 1.5 та п. 6.3, а саме було змінено один з критеріїв долучення в частині, що стосується віку суб'єктів дослідження. Вік осіб, що можуть бути включені в дослідження розширили з 18 - 64 до 18 - 79 років в зв'язку з переглядом вікової групи пацієнтів поліклінічного відділення Київського міського клінічного ендокринологічного центру.
Зміни були відображені в ПКД, версія 4.0, від 16.07.2021 р.

5. Демографічні та/чи інші вихідні характеристики.

Загальна кількість пацієнтів, що взяла участь в дослідженні, становила 36 осіб, з них 19 не отримували антикоагулянти, а 17 – отримували антикоагулянтну терапію. В кожній групі, відповідно до рандомізаційних списків було обрано досліджувану групу пацієнтів, яким зупинка кровотечі була проведена з використанням досліджуваного виробу або з використанням тиснучої пов'язки (Таблиця 1).

Таблиця 1
Розподіл пацієнтів на групи

спосіб зупинки кровотечі / терапія антикоагулянтами	Тиснуча пов'язка, I група	Карбогемостат, II група
відсутня	Підгрупа I N = 10 пацієнтів	Підгрупа II N = 9 пацієнтів
наявна	Підгрупа I A = 7 пацієнтів	Підгрупа II A = 10 пацієнтів

Вік пацієнтів становив від 50 до 80 років, в середньому складав 66 років (Таблиця 2).

Таблиця 2
Вікова характеристика пацієнтів пацієнтів

спосіб зупинки кровотечі / терапія антикоагулянтами	Тиснуча пов'язка, I група	Карбогемостат, II група
відсутня	53-77 років	55-73 роки
наявна	50-80 років	60-76 років

Пацієнти були жіночої (39%) та чоловічої (61%) статі (таблиця 3).

Таблиця 3
Розподіл жінок та чоловіків по групах пацієнтів

спосіб зупинки кровотечі / терапія антикоагулянтами	Тиснуча пов'язка, I група	Карбогемостат, II група
відсутня	6 чоловіків, 4 жінок	6 чоловіків, 3 жінок
наявна	5 чоловіків, 2 жінок	5 чоловіків, 5 жінок

Всі пацієнти, що взяли участь в клінічному дослідженні, мали діагноз: синдром діабетичної стопи. Десять з них мали нейропатичну форму діабетичної стопи (за результатами рандомізації 5 потрапили до досліджуваної групи, 5 – до групи порівняння), двадцять п'ять з пацієнтів, що взяли участь у дослідженні, мали нейроішемічну форму діабетичної стопи (за результатами рандомізації 13 потрапили до досліджуваної групи, 12 – до групи порівняння), один пацієнт мав критичну ішемію нижньої кінцівки (за результатами рандомізації – потрапив до досліджуваної групи). Таким чином, групи пацієнтів були однорідними відносно анамнезу.

6. Відхилення від протоколу клінічного випробування.

Для оцінки ефективності зупинки кровотечі було заплановано визначати час зупинки кровотечі у пацієнтів за використання Карбогемостату чи тиснучої пов'язки. Пацієнти, що проходили лікування в Київському клінічному ендокринологічному центрі, відповідали критеріям включення та виключення та надавали згоду на проведення клінічних досліджень, мали синдром діабетичної стопи і, відповідно ураження пальців, плесна чи п'ятки. У зв'язку із розміщенням ран, що потребували зупинки кровотечі, в середині пальців ніг чи плесна, перев'язувальний матеріал розташовувався в глибині від шкірних покривів і візуальне спостереження за процесом зупинки кровотечі було обмежене. Зважаючи на це, дослідницька група мала змогу визначити факт зупинки кровотечі менш ніж за 3 хвилини, що відповідає часу фіксації Карбогемостату, зазначеному в інструкції, але не точний час зупинки кровотечі. Оскільки аналогічним чином оцінювалась ефективність зупинки кровотечі в групи порівняння, то дане відхилення від ПКД вважаєм не суттєвим і таким, що дає змогу оцінити загальну ефективність досліджуваного препарату.

7. Оцінка ефективності.

7.1. Оцінка ефективності

За ПКД ефективність досліджуваного виробу в порівнянні з традиційним способом зупинки кровотечі було заплановано оцінювати за часом зупинки кровотечі та за частотою повторних кровотеч.

Як в досліджуваній групі пацієнтів, так і в групі порівняння не залежно від відсутньої/наявної антикоагулянтної терапії повторні кровотечі були відсутні.

Визначення точного часу зупинки кровотечі у пацієнтів всіх груп було утруднено за рахунок локалізації артеріальної кровотечі глибоко відносно шкірних покривів (Рис 1). Однак, було зафіксовано, що кровотеча зупинялась впродовж не більше як 3 хвилин з моменту застосування досліджуваного виробу або тиснучої пов'язки виключно у всіх пацієнтів. Час реєстрації зупинки кровотечі (3 хвилини) було обрано відповідно до Інструкції з застосування досліджуваного виробу.

Рис. 1. Типове фото застосування досліджуваного виробу. Пацієнти з рандомізаційними номерами 16/К та 21/К

7.2. Висновки щодо ефективності.

У рамках даного дослідження показано, що «Карбогемостат» зупиняв кровотечу у всіх пацієнтів досліджуваної групи, не залежно від антикоагулянтної терапії, впродовж не більше як 3 хвилин, що відповідає заявленим властивостям.
Досліджуваний виріб був не менш ефективним, порівняно з тиснучою пов'язкою.

6. Визначення безпеки.

6.1. Побічні явища

Серйозні побічні явища, а також серйозні побічні реакції у пацієнтів, що взяли участь в клінічному дослідженні були відсутні. Незначне подразнення, що проявлялось в почервонінні навколоранової ділянки, спостерігалось у 36 % пацієнтів досліджуваної групи та у 41 % пацієнтів групи порівняння. У зв'язку з тим, що почервоніння спостерігали в однаковій мірі в досліджуваній групі та в групі порівняння, воно не є наслідком використання того чи іншого перев'язувального матеріалу, а отже не є побічною реакцією на використання Карбогемостату.

6.2. Випадки смерті.

Випадки смерті серед пацієнтів, які взяли участь в дослідженні були відсутні

6.3. Інші серйозні побічні явища, а також серйозні побічні реакції.

Інші серйозні побічні явища, а також серйозні побічні реакції були відсутні.

6.4. Оцінка клініко-лабораторних показників:

Кровоспинна дія Карбогемостату базується на специфічній активації останнього етапу процесу тромбоутворення – активації протромбіну з формуванням тромбіну, який в свою чергу забезпечує формування фібринового тромбу та активацію тромбоцитарної ланки гемостазу. Саме тому основним показником безпеки застосування Карбогемостату є відсутність підсилення прокоагулянтного потенціалу системи гемостазу пацієнта.

Для оцінки стану системи гемостазу у пацієнтів до та після зупинки кровотечі досліджуваним засобом або тиснучою пов'язкою було проведено визначення наступних параметрів (таблиці з первинними даними надані в Додатку 3):

- Протромбіновий індекс (ПІ). ПІ характеризує цілісність зовнішнього шляху зсідання крові та останніх спільних ланок коагуляційного каскаду. Визначається як відношення часу зсідання контрольної (нормальної) плазми крові до часу зсідання досліджуваної плазми крові під дією тромбопластину у відсотках. Відповідно, скорочення ПІ свідчить про недостатній прокоагулянтний потенціал системи зсідання крові, що трапляється зокрема при дефіциті факторів зсідання за крововтрати чи як наслідок антикоагулянтної терапії. Референтні значення 75-102 %.

- Активований частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ). АЧТЧ характеризує роботу внутрішнього шляху зсідання крові та останніх спільних ланок. Визначається як час

зсідання плазми крові за дії фосфоліпідів, елагової кислоти та йонів кальцію. Подовження АЧТЧ може бути наслідком дефіциту факторів зсідання крові або наявності їх інгібіторів у межах внутрішнього шляху зсідання крові або останніх спільних ланок коагуляційного каскаду. Референтні значення 24-34 с.

- Розчинні фібрин-мономерні комплекси (РФМК). Протеїнові комплекси похідних фібриногену (зокрема мономерних молекул фібрину), утворення яких є наслідком активації системи зсідання з формуванням тромбіну. РФМК є високоінформативним маркером активації системи гемостазу та ризику внутрішньосудинного тромбоутворення. Референтні значення 0-6 мг/мл.

Було показано, що значення ПІ недостовірно знижувалось після застосування досліджуваного виробу (Рис. 2 А) у пацієнтів, які не отримували антикоагулянтної терапії. Значення ПІ до та після застосування Карбогемостату достовірно не відрізнялись від рівню ПІ до та після застосування тиснучої пов'язки. Так само достовірної відмінності в значенні ПІ не спостерігалось в групі пацієнтів, які отримували антикоагулянти (Рис 3 А). В той же час слід відмітити, що тенденція до зниження ПІ у групі пацієнтів, яким був застосований Карбогемостат, порівняно з групою порівняння, була вираженішою на тлі антикоагулянтної терапії.

Час зсідання плазми крові в тесті АЧТЧ незначно подовжувався як в досліджуваній групі, так і в групі порівняння до та після зупинки кровотечі (Рис 2 Б). Відмінності не були достовірними. На тлі антикоагулянтної терапії відмінності у зміні АЧТЧ до та після зупинки кровотечі у досліджуваній групі та групі порівняння також не були достовірними (Рис 3 Б). Однак, тенденція до подовження АЧТЧ в групі пацієнтів, яким був застосований Карбогемостат, порівняно з пацієнтами, яким була накладена тиснуча пов'язка, була менш вираженою на тлі антикоагулянтної терапії.

Рівень РФМК не достовірно підвищувався , як у пацієнтів групи порівняння, так і дослідної групи після зупинки кровотечі (Рис 2 В). На фоні антикоагулянтної терапії рівень РФМК у дослідної групи залишався сталим до та після зупинки кровотечі (при оцінці медіани цього параметру), в той час як в групі порівняння рівень РФМК не достовірно підвищувався (Рис 3 В).

6.5. Висновки щодо безпеки.

Використання Карбогемостату є безпечним з боку реакцій системи зсідання крові. Визначені зміни параметрів гемостазу після використання досліджуваного виробу ідентичні до таких при використанні тиснучої пов'язки.

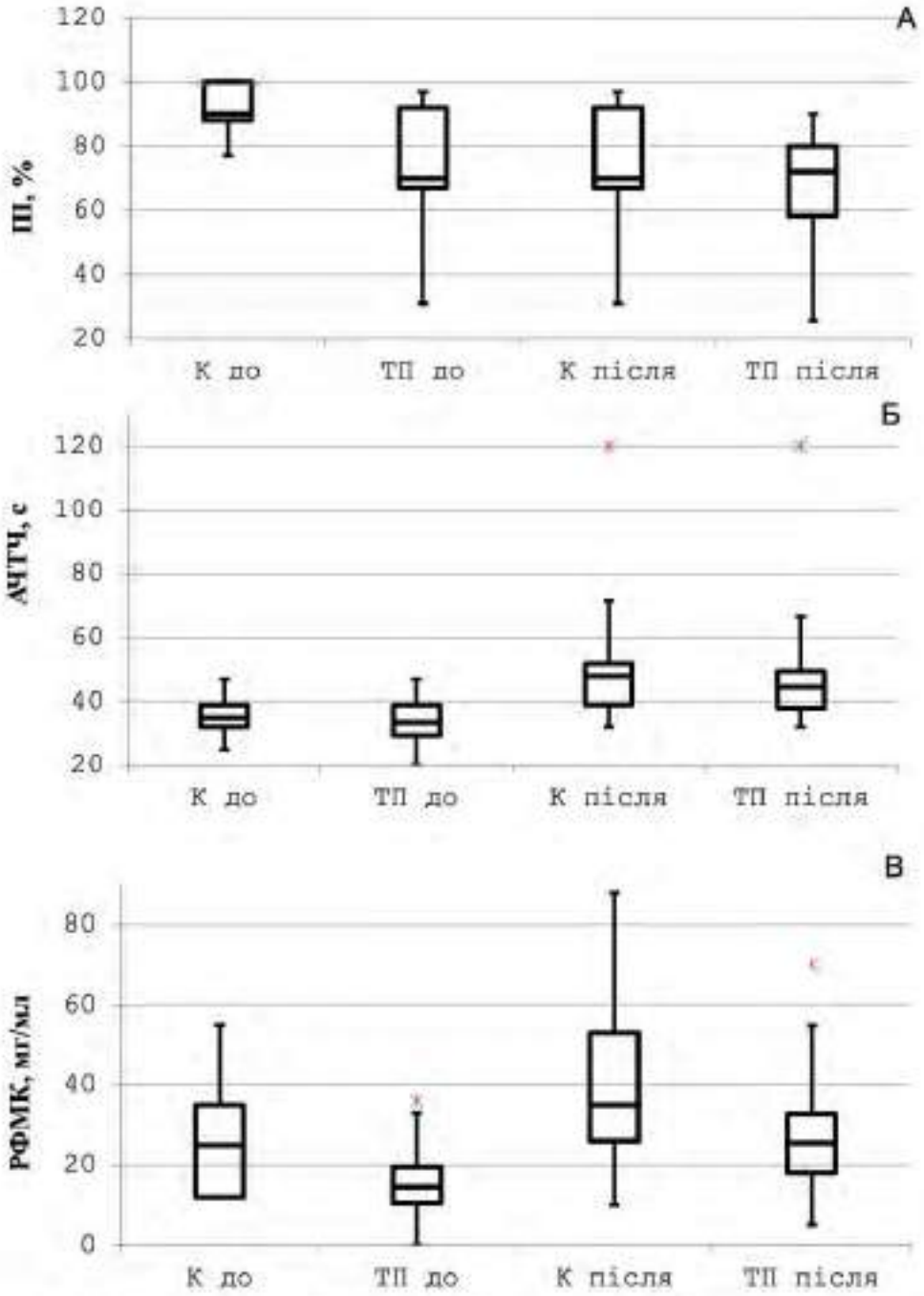


Рис 2. ПІ (А), АЧТЧ (Б), РФМК (В) плазми крові пацієнтів, які не приймали антикоагулянти (група N). Показники до застосування Карбогемстату (К до), до застосування тиснучої пов'язки (ТП до), після застосування Карбогемостату (К після) та після застосування тиснучої пов'язки (ТП після). К – Карбогемостат, ТП – тиснуча пов'язка.

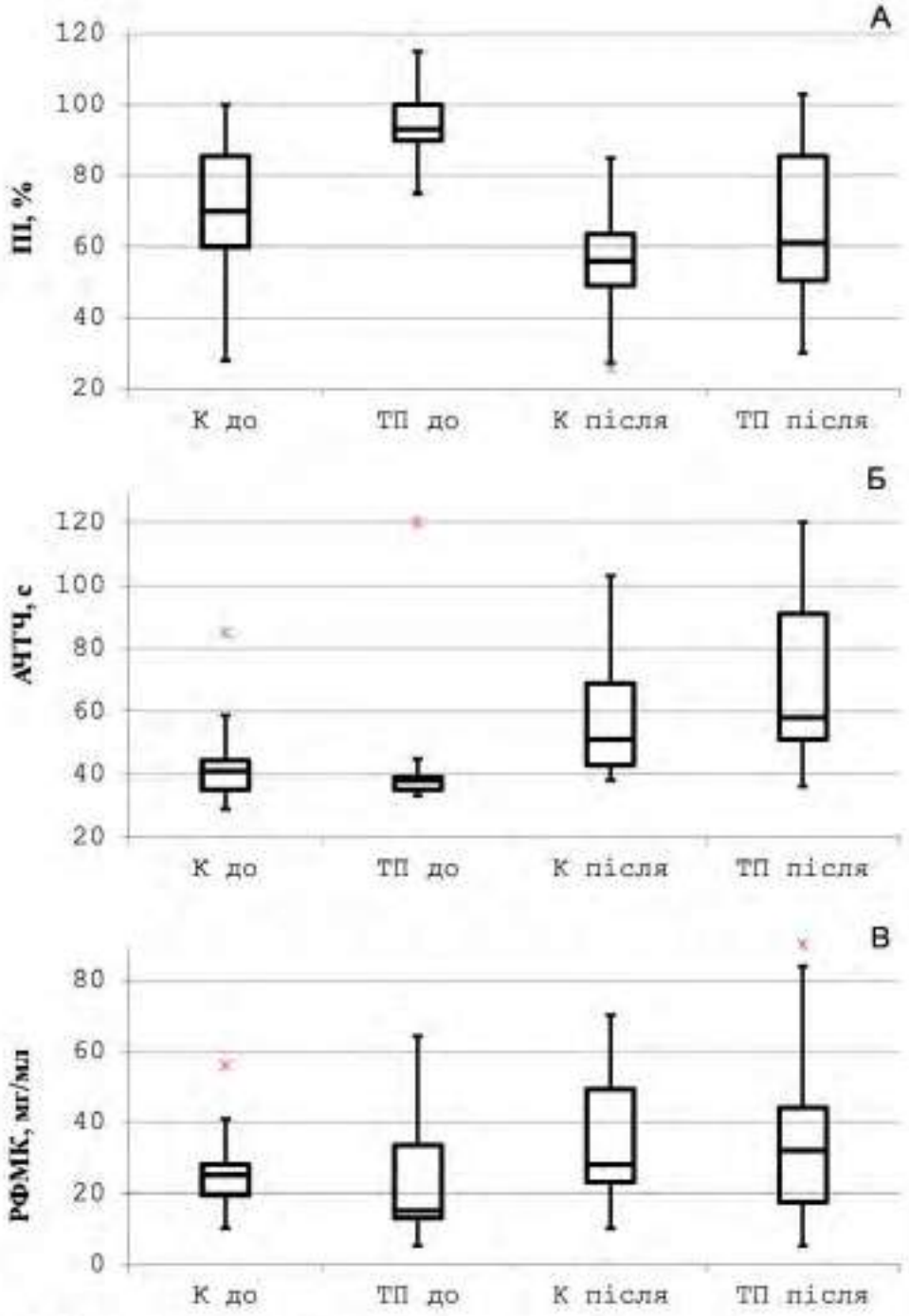


Рис 3. ПІ (А), АЧТЧ (Б), РФМК (В) плазми крові пацієнтів, які приймали антикоагулянти (група А). Показники до застосування Карбогемстату (К до), до застосування тиснучої пов'язки (ТП до), після застосування Карбогемостату (К після) та після застосування тиснучої пов'язки (ТП після). К – Карбогемостат, ТП – тиснуча пов'язка.

7. Обговорення та узагальнені висновки.

Було показано, що використання Карбогемостату є безпечним, порівняно з використанням тиснучої пов'язки. Не викликає серйозних побічних явищ, а також серйозних побічних реакцій. Незначне подразнення, прилеглих до ранової поверхні ділянок спостерігалось як при застосуванні Карбогемостазу, так і в групі порівняння, а отже не є безпосереднім результатом застосування певного типу перев'язувального матеріалу. Така реакція, очевидно, пов'язана з наявність запального процесу в рановій поверхні та особливостями загоєння на фоні діабетичного синдрому.

З боку системи зсідання крові безпечність досліджуваного виробу оцінювали за такими параметрами: ПІ, АЧТЧ, РФМК. Визначені зміни параметрів гемостазу після використання досліджуваного виробу достовірно не відрізнялись від таких при використанні тиснучої пов'язки, як на фоні антикоагулянтної терапії, так і за її відсутності. Слід, однак, зазначити, що на фоні антикоагулянтної терапії, використання Карбогемостату було пов'язано з тенденцією до меншої зміни параметрів системи зсідання крові порівняно з використанням тиснучої пов'язки. Таким чином, варто провести додаткові розширені дослідження з більшою кількістю пацієнтів аби довести чи спростувати більшу безпечність з боку системи зсідання крові застосування Карбогемостату, порівняно з тиснучою пов'язкою.

У рамках даного дослідження показано, що «Карбогемостат» зупиняв кровотечу у всіх пацієнтів досліджуваної групи, не залежно від антикоагулянтної терапії, впродовж не більше як 3 хвилин, що відповідає заявленим властивостям. Вищу ефективність застосування Карбогемостату для зупинки кровотечі можуть засвідчити додаткові розширені дослідження з більшою кількістю пацієнтів та додатковими параметрами оцінки.

Список використаних джерел.

1. Белозерская Г.Г., Макаров В.А., Жидков Е.А. и др. Гемостатические средства местного действия (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. – 2006. – Т. 40. – № 7. – С. 9–15.

2. Makuuchi M., Sano K. The surgical approach to HCC: our progress and results in Japan. // Liver Transpl . – 2004. – V. 10, N2, Suppl 1. – P.46-52.

3. Kauvar, D.S., Lefering, R., Wade, C.E. Impact of hemorrhage on trauma outcome: an overview of epidemiology, clinical presentations, and therapeutic considerations // J Trauma. – 2006. – V. 60. – P. 3-11.

4. Gegel B., Burgert J., Gasko J. et al. The effects of QuikClot Combat Gauze and movement on hemorrhage control in a porcine model // Mil. Med. – 2012. – V. 177, (12). – P. 1543-1547.

5. Acheson E.M., Kheirabadi B.S., Deguzman R. et al. Comparison of hemorrhage control agents applied to lethal extremity arterial hemorrhages in swine // J Trauma. – 2005. – V. 59. – P. 865–874.

6. Arnaud F., Parreño-Sadalan D., Tomori T. et al. Comparison of 10 hemostatic dressings in a groin transection model in swine // J Trauma. – 2009. – V. 67, (4) . – P. 848-855.

7. Schonauer C., Tessitore E., Barbagallo G. et al. The use of local agents: bone wax, gelatin, collagen, oxidized cellulose // Eur. Spine J. – 2004. – № 6. – P. 36–40.

8. Pusateri A.E., McCarthy S.J., Gregory K.W. et al. Effect of a chitosan-based hemostatic dressing on blood loss and survival in a model of severe venous hemorrhage and hepatic injury in swine // J Trauma.- 2003. - 54. - P. 177–182.

9. Гемостатичний комбінований засіб для зупинки масивних кровотеч, у тому числі за гемофілії: пат. на корисну модель 114356 Україна: МПК A61F13/00 (2006 01) A61K 38/43 (2006.01); опубл. 10.03.2017, Бюл. №5.

10. Чернишенко В. О. Механізми екстрасудинного та внутрішньосудинного тромбоутворення: фундаментальні дослідження для потреб клінічної практики (за матеріалами наукового повідомлення на засіданні Президії НАН України 27 лютого 2019 р.) / В. О. Чернишенко // Вісник Національної академії наук України. - 2019. - № 4. - С. 50-56.

Додаток 1
Рішення комісії з питань етики при КНП КМКЕЦ,
протокол № 3, від 19 квітня 2021 року

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я
КИЇВСЬКА МІСЬКА ДЕРЖАВНА АДМІНІСТРАЦІЯ
ГОЛОВНЕ УПРАВЛІННЯ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я
КОМУНАЛЬНЕ НЕКОМЕРЦІЙНЕ ПІДПРИЄМСТВО
КИЇВСЬКИЙ МІСЬКИЙ КЛІНІЧНИЙ ЕНДОКРИНОЛОГІЧНИЙ ЦЕНТР

Протокол № 3
засідання Комісії з питань етики при КНП КМКЕЦ
від «19» 04 2021 р.

Присутні: голова комісії Демидюк О.П., заступник голови Кирилюк К.М., секретар комісії Олійник О.Б., члени комісії Шебалдова К.О., Кирієнко Д.В., Цимбалюк С.М., Боглюков К.М., Аветис'ян К.Л., Лавріненко В.П.

Комісія з питань етики, призначена наказом № 54 від 01.04. 2020 року, розглянула матеріали щодо клінічного дослідження **«Відкрите, одноцентрове, проспективне, рандомізоване, контрольоване паралельне дослідження ефективності та безпечності застосування виробу медичного – композиту адсорбційного гемостатичного аплікаційного «Карбогемостат» для зупинки артеріальних кровотеч, зокрема за антитромботичної терапії» (код К1.2020, версія 3.0; 18.11.2020)**, які надано спонсором – **Інститутом біохімії ім. О.В. Палладіна НАНУ**

- план клінічного дослідження,
- брошура дослідника,
- форма інформованої згоди,
- форма інформації для суб'єкта дослідження,
- страховий поліс,
- картка учасника клінічного дослідження версія 3.0 від 18.11.2020р. на українській мові,
- картка учасника клінічного дослідження версія 3.0 від 18.11.2020р. на російській мові,

- заява дослідника,
- інформація про ЛПЗ,
- супровідний лист,
- договір про співробітництво,
- CV відповідального дослідника,
- CV членів дослідницької групи.

Комісія з питань етики за результатами оцінки етичних і морально-правових аспектів випробування надає **позитивне рішення** щодо проведення клінічного дослідження **«Відкрите, одноцентрове, проспективне, рандомізоване, контрольоване паралельне дослідження ефективності та безпечності застосування виробу медичного – композиту адсорбційного гемостатичного аплікаційного «Карбогемостат» для зупинки артеріальних кровотеч, зокрема за антитромботичної терапії»**, код **К1.2020**, версія 3.0; 18.11.2020, та використання розглянутих матеріалів при проведенні дослідження у місці проведення: КНП Київський міський клінічний ендокринологічний центр, вул. Рейтарська, 22, Київ, Україна, 01054 (відповідальний дослідник – к. мед. н. А.І. Гаврецький).

У засіданні Комісії з питань етики при Київському міському клінічному ендокринологічному центрі, де було розглянуто подані матеріали, та у голосуванні щодо вищезазначеного питання брали участь:

Голова комісії,
заступник головного лікаря
з хірургічної допомоги — Демидюк О.П.

Заступник голови,
заступник головного лікаря
з терапевтичної допомоги — Кирилюк К.М.

Члени комісії:
Завідувач відділення загальної
ендокринної патології — Кирієнко Д.В.

Асистент кафедри ендокринології
НМУ ім. О.О. Богомольця — Шебалдова К.О.

Завідувач відділення ендокринної хірургії — Цимбалюк С.М.

Юрист, адвокат	Боглюков К.М.
Завідувач патоморфологічної лабораторії	Аветис'ян К.Л.
Лікар акушер-гінеколог	Лавріненко В.П.
Секретар комісії, лікар-хірург	Олійник О.Б.

За прийняття рішення проголосувало 9 осіб, проти – 0, утрималося – 0.

Голова комісії:
заступник головного лікаря
з хірургічної допомоги Демидюк О.П.

Комісія з питань етики діє відповідно до Закону України «Про лікарські засоби», нормативних вимог, що діють в Україні, вимог Належної клінічної практики (ICH GCP) та Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини.

Додаток 2

Сертифікат якості Композиту адсорбційного гемостатичного аплікаційного «Карбогемостат»

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ
ім. О.В. ПАЛЛАДІНА
Вул. Леонтовича, 9, Київ, 01054, Україна
Тел.: [38-044] 2345974; факс: [38-044] 2796365

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE
PALLADIN INSTITUTE
OF BIOCHEMISTRY
9, Leontovicha str., Kyiv, 01054, Ukraine
Phone: [38-044] 2345974; Fax: [38-044] 2796365

E-mail: secretar@biochem.kiev.ua

29.07.2020 № 1/7-204

СЕРТИФІКАТ ЯКОСТІ

Термін дії « 04 » січня 2021 р. – « 03 » червня 2022 р. Серія АА №00001

Продукція: **Композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат»**

Відповідає вимогам: ТУ У 24.4-05417288-001:2018, Композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат».

Цим сертифікатом засвідчуємо, що дана партія композиту адсорбційного гемостатичного аплікаційного «Карбогемостат» (**LOT 1/18**), вироблена Інститутом біохімії ім. О.В. Палладіна НАНУ, є якісною та безпечною.

Показники якості

№	Найменування показника	Отримані показники
1	Кількість ензимного активатора зсідання крові	8 мкг/см^2
2	Міцність іммобілізації ензимного активатора зсідання крові	Відсутність ензиматичної активності у розчині після контакту з Карбогемостатом
3	Визначення наявності ензимного активатора зсідання крові	Зразок розміром 1 см^2 забезпечує розщеплення 47 мкМ хромогенного субстрату S2238 за 5 хв

Інститут біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України
Директор, академік НАН України

С.В. Комісаренко

Додаток 3
Перелік індивідуальних показників лабораторних параметрів у суб'єктів дослідження

Таблиця 3.1

Параметри гемостазу пацієнтів групи IN (Пацієнти яким проводилась зупинка кровотечі з використанням тиснучої пов'язки)

рандомізаційний номер пацієнта	Показники до зупинки кровотечі			Показники після застосування тиснучої пов'язки		
	ПІ, %	АЧТЧ, с	РФМК, мг/мл	ПІ, %	АЧТЧ, с	РФМК, мг/мл
02/П	100	37	6	80	48	6
05/П	100	39	36	80	44	50
10/П	100	29	12	3	38	25
17/П	100	30	14	76	37	26
19/П	110	39	24	28	120	70
23/П	85	47	20	68	52	35
24/П	100	43	0	90	45	5
30/П	100	30	18	56	50	18
32/П	100	28	10	87	32	18
38/П	90	20	15	65	38	26
Середнє значення	98,5±6,7	34,2±8,1	15,5±15,5	63,3±27,8	50,4±25,3	27,9±19,8

Таблиця 3.2

Параметри гемостазу пацієнтів групи IIN (Пацієнти яким проводилась зупинка кровотечі з використанням досліджуваного виробу)

рандомізаційний номер пацієнта	Показники до зупинки кровотечі			Показники після застосування досліджуваного виробу		
	ПІ, %	АЧТЧ, с	РФМК, мг/мл	ПІ, %	АЧТЧ, с	РФМК, мг/мл
01/К	88	35	12	93	32	10
03/К	100	25	55	53	63	70
07/К	88	35	12	31	120	53
08/К	90	47	35	92	50	35
27/К	100	39	28	67	46	30
29/К	85	36	12	85	38	12
34/К	100	32	12	67	48	35
37/К	100	31	25	70	39	26
40/К	77	46	35	97	52	88
Середнє значення	92,0±8,4	36,2 ±7,0	25,1±14,9	72,8±21,6	54,2±26,3	39,9±26,0

Таблиця 3.3

Параметри гемостазу пацієнтів групи ІА (Пацієнти яким проводилась зупинка кровотечі з використанням тиснучої пов'язки, на фоні антикоагулянтної терапії)

рандомізаційний номер пацієнта	Показники до зупинки кровотечі			Показники після застосування тиснучої пов'язки		
	ПІ, %	АЧТЧ, с	РФМК, мг/мл	ПІ, %	АЧТЧ, с	РФМК, мг/мл
04/П	47	120	95	45	120	90
09/П	115	40	50	56	58	53
11/П	90	35	15	30	120	35
20/П	90	38	17	74	49	28
25/П	100	38	15	61	53	32
31/П	93	33	11	103	62	7
35/П	100	35	5	97	36	5
Середнє значення	90,7±21,1	48,4±31,6	29,7±32,2	66,6±26,6	71,1±34,4	35,7±29,1

Таблиця 3.2

Параметри гемостазу пацієнтів групи ІІN (Пацієнти яким проводилась зупинка кровотечі з використанням досліджуваного виробу, на фоні антикоагулянтної терапії)

рандомізаційний номер пацієнта	Показники до зупинки кровотечі			Показники після застосування досліджуваного виробу		
	ПІ, %	АЧТЧ, с	РФМК, мг/мл	ПІ, %	АЧТЧ, с	РФМК, мг/мл
12/К	70	42	21	58	55	70
14/К	70	34	28	48	65	26
15/К	60	38	10	62	38	10
16/К	88	45	28	85	47	28
18/К	60	85	56	52	89	54
21/К	88	29	28	54	103	28
26/К	32	40	22	40	42	20
28/К	28	68	56	26	70	58
36/К	78	43	19	64	46	35
39/К	100	30	19	70	41	22
Середнє значення	67,4±23,5	45,4±17,7	28,7±15,4	55,9±16,3	59,6±22,0	35,1±19,2

ДОДАТОК Г

Акт впровадження у хірургічну практику Композиту адсорбційного гемо статичного аплікаційного «Карбогемостат»

на базі КНП «КМКЕЦ»

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України
академік НАН України

_____ С.В. Комісаренко
_____ 2024 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор КНП «Київський міський клінічний ендокринологічний центр»

_____ Г.П. Павленко
_____ 2024 р.

АКТ
Впровадження у хірургічну практику композиту адсорбційного гемостатичного аплікаційного «Карбогемостат» на базі КНП «КМКЕЦ»

Даним актом стверджується, що композит адсорбційний гемостатичний аплікаційний «Карбогемостат» (далі Карбогемостат) було успішно впроваджено в хірургічну практику на базі Комунального некомерційного підприємства «Київський міський клінічний ендокринологічний центр» (поліклінічного відділення) в рамках клінічного дослідження «Відкрите, одноцентрове, проспективне, рандомізоване, контрольоване паралельне дослідження ефективності та безпечності застосування виробу медичного – композиту адсорбційного гемостатичного аплікаційного «Карбогемостат» для зупинки артеріальних кровотеч, зокрема за антитромботичної терапії», що проводилось з вересня по грудень 2021 року включно.

Дослідну партію Карбогемостату було виготовлено співробітниками Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України в результаті виконання проекту 0119U001795 за Договором від 16.04.2019 № 255, що виконувався за Цільовою науково-технічною програмою НАН України «Дослідження і розробки з проблем підвищення обороноздатності і безпеки держави» на 2018-2019 рр.

Показано, що Карбогемостат є придатним для зупинки артеріальних кровотеч, зокрема за антитромботичної терапії, в хірургічній практиці. Карбогемостат зупиняв кровотечу у всіх пацієнтів досліджуваної групи, не залежно від антикоагулянтної терапії, що відповідає заявленим властивостям.

Від Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України:

Завідувач відділу структури та функцій білку,
д.б.н.

_____ В.О. Чернишенко.
«___» _____ 2024 р.

Від КНП «Київський міський клінічний ендокринологічний центр»
Лікар ортопед-травматолог вищої кваліфікаційної категорії,
к. мед. н.

_____ А. І. Гаврецький
«26» _____ 2024 р.

ДОДАТОК Ґ

Лабораторний регламент №1/23

Лабораторний регламент виробництва Колагенової матриці,
модифікованої ензимним активатором зсідання крові
(Редакція 2)

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна

«Затверджую»

Директор Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України
академік НАН України С.В. Комісаренко

01 вересня 2024 р.

ЛАБОРАТОРНИЙ РЕГЛАМЕНТ №1/23 ВИРОБНИЦТВА КОЛАГЕНОВОЇ МАТРИЦІ, МОДИФІКОВАНОЇ ЕНЗИМНИМ АКТИВАТОРОМ ЗСІДАННЯ КРОВІ

(редакція 2)

Термін дії з 01 вересня 2024 р.

Київ-2024

Зміст

1. ХАРАКТЕРИСТИКА КІНЦЕВОГО ПРОДУКТУ 3
1.1 Назва лікарського виробу: комплект для одержання фібринового гелю. 3
2. СТАДІЇ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ 3
3. ХАРАКТЕРИСТИКА І НОРМИ ВИТРАТИ ВИХІДНОЇ СИРОВИНИ ТА МАТЕРІАЛІВ 4
4. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ 5
4.1. Перевірка активності ензимного активатора зсідання крові 5
4.2. Підготовка стерильної суміші для виготовлення колагенової матриці, модифікованої ензимним активатором зсідання крові. 6
4.3. Фасування суміші для виготовлення колагенової матриці, модифікованої ензимним активатором зсідання крові 7
4.4. Ліофілізація. 8
4.5. Додаткова стерилізація колагенової матриці, модифікованої ензимним активатором зсідання крові 8
4.6. Пакування колагенової матриці модифікованої, ензимним активатором зсідання крові. 9
5. ВІДХОДИ ВИРОБНИЦТВА ПРИ ВИГОТОВЛЕННІ НАБОРУ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ ФІБРИНОВОГО ГЕЛЮ З 1 мг ЕНЗИМНОГО АКТИВАТОРА ЗСІДАННЯ КРОВІ 10
6. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА 12
7. ОСНОВНІ ПРАВИЛА БЕЗПЕКИ ПРОВЕДЕННЯ ПРОЦЕСУ 15
7.1. Обов'язкові умови проведення процесу, що виключають можливість виникнення вибухів, пожеж і нещасних випадків. 15
7.2. Перелік обов'язкових інструкцій. 15
8. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБРАНОГО МЕТОДУ 15
9. СПИСОК ВИКОРИСТАНОГО ОБЛАДНАННЯ 16

Комерційна таємниця Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Розпорядження № КТ/ВСФБ-2, від 16.06.24 р.

		[illegible]	[illegible]	[illegible]
		[illegible]		
		[illegible]	[illegible]	[illegible]
		[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible] [illegible] [illegible] [

6. АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА

6.1. Подтверждение достоверности подлинности антибиотика ампициллина натрия

№ п/п	Объект определения	Требования НД на ед. изм	Масса навески, г	Объем, мл	Примечание
1	Вода растворимая	1,0			
2	Трис-(гидроксиметил)-аминометан		1,05		
3	Натрий хлорид ч.д.а.		1,79		
4	Соляная кислота	20			
5	Контрольная стеклянная емкость с водой			5	
6	0,02 М раствор натрия гидроксида	0,1			
7	Стеклянная емкость с плотной притертой пробкой	1,00			

6.1.1. Приготовление буфера

Для приготовления 0,05 М Трис-HCl буфера с 0,1 М NaCl pH 7,4 навеску 1,05 г Трис-(гидроксиметил)-аминометана, 1,79 г хлорида натрия ч.д.а. растворяют в 40 мл H_2O, перемешивают раствор, затем слой на растворяется. Доводят pH буфера до значения 7,4 добавлением соляной кислоты 1н при контроле по pH-метру. Доводят объем H_2O до 50 мл.

6.1.2. Приготовление раствора натрия гидроксида

До 5 фиолетовых стеклянных емкостей контрольной емкости с водой добавить 5 мл H_2O из пипетки 5 мл, выливают на 30 мл при температуре 37°С.

6.1.3. Приготовление раствора исследуемого антибиотика ампицилина

Знаходять 1,05 мл лікарської імунозапного основного антиматеріа, розчиняють 1,05 мл 0,05 М Трис-HCl Буферу з 0,1%М NaCl, pH 7,4 (приготованого за п.п. 4.1.1.1) ретельно перемішують та залишають на 30 хв при температурі 37°С.

Використовують для перевірки активності та приготування калібрувальної матриці, модифікованої основними антиматеріалом лікарем судину або обдувають при 20°С на ротаторі 1 раз.

4.1.4. Перевірка активності основного антиматеріу лікарем.

В основу методу пробірці додають 50 мкл основного антиматеріу лікарем (приготованого за п.п. 4.1.1.1), 50 мкл 0,05 М Трис-HCl Буферу з 0,1%М NaCl, pH 7,4 (приготованого за п.п. 4.1.1.1), 100 мкл розчину 0,025%М хлорнуцу кислоти, 100 мкл плазми крові (приготованої за п.п. 4.1.2.).

Закривають чаш лікарем плазми крові лікарями. Чаш лікарем плазми крові мас стаканчиків 10х12 мм.

4.1.5. Підготовка стандартної суміші для виготовлення калібрувальної матриці, модифікованої основними антиматеріалом лікарем.

№ п/п	Назва лікарства	Загальна кількість мл/ мкмл	Примітка
1	Приготований розчин основного антиматеріа лікарем	1	
2	Фізіологічний розчин	10	

4.1.5.1. Підготовка розчину хлорнуцу.

Перед використанням, розчини хлорнуцу використовують при температурі 2-8°С та якщо 2,94 г/л лікарства 50 мл та використовують за кімнатної температури.

4.1.5.2. Підготовка суміші для виготовлення набору для отримання дифференційного плазм.

До 10 мл хлорнуцу (приготованого за п.п.4.1.5.1.) додають 1 мл основного антиматеріа лікарем крові (приготований за п.п. 4.1.5.1.) і ретельно перемішують.

Инвестиционность для изготовления полностенной материнской, модифицированной основными антивирусными создания одной задачу, не обратимость, не синхронизуемость.

4.3. Фиксированные суммы для изготовления полностенной материнской, модифицированной основными антивирусными создания одной

№ п/п	Полная задолжности	Допустимо, ОВ тыс.шт	Примечание
1	Суммы для изготовления полностенной материнской, модифицированной основными антивирусными создания одной	1.1	

4.3.1. Фиксированные суммы для изготовления полностенной материнской, модифицированной основными антивирусными создания одной

Для утверждения одинаковых существенно судебно экономику, суммы для изготовления полностенной материнской, модифицированной основными антивирусными создания одной (приостановлений на п.п. 4.3.2.1) наблюдаемость реализуются по переносимости одинаковых объединяет в сумме экономисты неуклонностенных с показателем без судебной цветности. Перед основным наблюдаемым суммы реальных переносимость.

Так экономисту неуклонностенных по объем суммы обращать экономисты таблицы с суммированием бывшего размера готовой материнской.

Х т.ч. сумма экономисту	Размер полностенной материнской, мм²	ОВ тыс суммы для изготовления полностенной материнской, мм	Х т.ч. существенно судебно
30	1	1.1	100
12	3	1.15	30
8	5	1.20	12

4.3.2. Замедленности

Основности неуклонностенной с модифицированно суммами для изготовления полностенной материнской, модифицированной основными антивирусными создания одной

Одностенный за п.п. 8.2.1.1, закрываются крышками, нагреть и остывают ты замедленную при температуре 40°С не менее не на 12 годин.

8.8. Дефектоскопия.

№ п/п	Основы нормирования	Допустимо. Значение, N, $см^2$	Примечание
1	Стыковкой мультиплексной с дефектоскопом суммарно для выполнения комплексной контроль, модифицированной основанием антивибрации, создания среды	1. 250 суммарно; дБ 1. 125 суммарно; дБ 2. 50 суммарно;	При [illegible] проверки до [illegible]

Перед дефектоскопа сомкнуте мультиплексном с дефектоскопом суммарно для выполнения комплексной контроль, модифицированной основанием антивибрации создания среды Одностенный за п.п. 8.2.1.1, эксплуатируется в среднем через Серо-195,75 °С нормальная 7 на то нарушать в замеру установлен для дефектоской. Мультиплексном происходить при температуре 40°С менее 0,05 дБар нормальная 12 годин.

После мультиплексном комплексной комплексном-субъект складывать в терминальную дополнительную суммарно то приемлемо внимания.

8.9. Дедуктивно-отдедуктивная комплексной контроль, модифицированной основанием антивибрации создания среды

№ п/п	Основы нормирования	Допустимо. Значение, N, $см^2$	Примечание
1	Комплексной контроль, модифицирован основанием антивибрации создания среды	100	Основание до [illegible] [illegible] [illegible]

6.6. Измерения коэффициента контраста модуляционного, основанного автоматическом затухании одной

№ п/п	Объект испытания	Результаты	Примечания
		Затухание основы, см$^{-1}$	
1	Стереоскопическая, исследовательская, контрастная, высокофункциональная основанная автоматическом затухании одной	108	Основная 2 1 1 1

1. Анализ применимости или выполнения каждого для удовлетворения применимости пунктов 7.1 – 7.7 из локальных нормативных и ненормативных актов.

№ п/п	Требования к системной аппаратной платформе	Требования к ядру ОС	Условия использования требования или подтверждение того, что требование не применимо, аргументация, комментарии, встроенные механизмы ОС	Выполняет ли ядро	Способ ли реализовывать или обеспечивается ОС, использованием
1	2	3	4	5	6
	Аппаратная платформа архитектуры x86	7.1.1.1 Проверка целостности аппаратной платформы архитектуры x86	7.1.1.1.1	Поддержка архитектуры x86, обеспечивает отсутствие несанкционированного доступа к аппаратуре архитектуры x86	Реализовано
	Аппаратная для архитектуры	7.1.1.2 Проверка целостности аппаратной платформы архитектуры x86	7.1.1.2	Поддержка аппаратной платформы для архитектуры x86, обеспечивает отсутствие несанкционированного доступа к аппаратуре	Реализовано

Стр. 24 из 28

3	Поддержка целостности аппаратуры без прерывания работы	7.1.1.3 Наличие ядра для использования аппаратной платформы, аппаратной платформы архитектуры, отсутствие прерываний	7.1.1.3 Для реализации 7.1.1.3 требуется 7.1.1.1 и 7.1.1.2	Поддержка целостности аппаратной обеспечивает целостность аппаратуры	Реализовано
4	Аппаратная для архитектуры	7.1.1.4 Наличие ядра для использования аппаратной платформы, аппаратной платформы архитектуры, отсутствие прерываний	7.1.1.4	Поддержка для аппаратной обеспечивает целостность аппаратуры	Реализовано
5	Аппаратуры/Ядра	7.1.1.5 Наличие ядра для использования аппаратуры, для управления прерываниями ядра	7.1.1.5	Обеспечивается обеспечивает отсутствие несанкционированного доступа к аппаратуре	Реализовано

* Для каждого применимого требования 7.1.1.1 – 7.1.1.5 заполняется как минимум 1 из вариантов: "Реализовано" или "Реализовано частично" или "Не реализовано".

Стр. 25 из 28

Код слова	Наименование слова	Вид кодирования	Частота слова	Общая частота слова в тексте	Плотность вхождения на миллиард	Метка для поиска
1	2	3	4	5	6	7
7	1.1.1. Простоянка Ковбоя	Пешком. Трое стрелковых дивизионов.	Ноу. простоянка	1,071	14,231	Ноу. кавалерия стоянка
7	1.1.1.	Пешком/конвой. пушки	1.1.1.	1,191	14,231	1.1.1.
7	1.1.1.	ДР. Ковбоя Трое ПОТ	Ноу. простоянка Ковбоя	1,1	14,231 д. ДР	ДР. конд
7	1.1.1.	ОП 1.1. Ковбоя Трое ПОТ	1.1.1.	19 д.д.	14,1 д.д.	Ковбоя. 1.1.1. 1.1. ДР
7	1.1.1. Простоянка рассвет. начало время	ОП 1.1. конд	Ноу. простоянка	1 д.д.	0,01д.д.	Запланировано. пушки. 1.1. дивизия. ОП 1.1. конд. 1.1. ОП. ОДП. время
7	1.1.1.	Стандартная разведывать	1.1. 1.	1,172	1,1,172	Перевести
7	1.1.1.	Ноу. необходимо	1.1.1.	19 д.д.	1,1 д.д.	Стандарт
8	1.1.1. Простоянка рассвет. начало время	ОП 1.1. конд	Ноу. простоянка	1 д.д.	0,01д.д.	Запланировано. пушки. 1.1. дивизия.

	начинает. 1.1.1. время					ОП 1.1. 1.1. 1.1. ОДП. время
7	1.1.1.	Стандартная разведывать	1.1. 1.	1,172	1,1,172	Перевести
10	1.1.1.	Ноу. необходимо	1.1.1.	19 д.д.	1,1 д.д.	Стандарт
7	1.1.1. Перевести начинает. начинает. 1.1.1. начинает. 1.1.1. время	ОП 1.1. начинает. 1.1.1. начинает. 1.1.1. время	Ноу. начинает	19 д.д.	1,1 д.д.	Запланировано. пушки. 1.1. дивизия. ОП 1.1. 1.1. 1.1. 1.1. 1.1. время
7	1.1.1.	ОП 1.1. Ковбоя Трое ПОТ	Ноу. начинает	19 д.д.	1,1 д.д.	Запланировано. пушки. 1.1. дивизия. ОП 1.1. 1.1. 1.1. ОП. ОДП. время
7	1.1.1.	ОП 1.1. 1.1. 1.1. 1.1.	Ноу. начинает	19 д.д.	1,1 д.д.	Запланировано. пушки. 1.1. дивизия. ОП 1.1. 1.1. 1.1. ОП. ОДП. время
7	1.1.1.	ОП 1.1. 1.1. 1.1. 1.1. 1.1.	Ноу. начинает	19 д.д.	1,1 д.д.	Запланировано. пушки. 1.1. дивизия. ОП 1.1. 1.1. 1.1. ОП. ОДП. время
7	1.1.1.	Ноу. 1.1.1. начинает. время	Ноу. начинает	19 д.д.	1,1 д.д.	Запланировано
7	1.1.1. Простоянка рассвет. начало.	Стандартная разведывать	Ноу. начинает	1,172	1,1,172	Перевести
7	1.1.1. Простоянка. 1.1.1. 1.1.1. 1.1.1

	[illegible]					
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

7. ИСПОЛНЕНИЕ ОГРАНИЧИТЕЛЬ ПОСЛЕДНЕЙ ПРОИЗВОДИМОЙ ПОРОДЫ

7.1. Обязательный уровень производимых продукции, при эксплуатировать полезности минимальных выбросы, основные с загрязнения производства.

7.1.1. Производство технологический процесс с суммарной производимого с данных материалов, добываемых материалами, материалами с технологии. Выполнен по производимой выгодой.

7.1.2. Все обнаружение требуется у основной сохраняются (пыль, дбб-метр, 7-96 сканер, установлены для информацией).

7.1.3. Применяются методы на замкнутые вод отключенной конструкции, проектной применяются встраиваемыми водоводных замкнутые. ПДК, все конструктивными частями применяются использованы вод замкнутостями полном видов замкнуто вод отключенной конструкции.

7.1.4. Применяется сплавы у сжимающих, при переработанной подвержен ТБ.

7.2. Разработка собой технологии инструкций.

7.2.1. Инструкция И-TB-II с названием первичной допускается инструктирования вод конструктивного отдела, то в рамах возможных инструкций.

7.2.2. Инструкция И-TB-22 на работы с опасностями на путями.

7.2.3. Инструкция по работе с дбб-метром.

7.2.4. и т. п. с частями лабораторными конструкциями.

7.2.5. и т. п. с дбб-метром.

7.2.6. и т. п. с автосцепкою.

7.2.7. и т. п. с установлением для информацией.

8. ОБЕСПЕЧИТЬ ЗАЩИТНОГО МЕТОДА

До основу основной материал, модифицировать основании автоматурных создание прием находить полностью порядного тепло то основной автоматур создание прием.

21.12.16

Використання основних на ринках небажаності здатність продукту до модернізацій. Покупоспосіб на достатньої можливості.

Використання основного автоматору создання проект небажаності можуть та специфічну автоматів создання проект пишуть з мозг застосування і утворення фірменного тривіб пишуть за складнощами. Утворений фірменний тривіб проектів проектну ціну після основній продукту, а а подальшому стимулює рекомендація та виходу виробника, сприяння матеріалом для підсилення хотіли нашої системи та фірмобмеєть.

Використання ранії методами дає змогу збільшити спроможність та небажаності утворення кількісного фірменного тоже. Використаних під час моделювання підтвердив.

6. СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Вікіпедія
2. ДЕЛ-МЕТР
3. Автосервіс
4. УВК «Ніка»
5. Установка для клафтовий

Лабораторну методику виробництва основовиної ваторної асоціфікованої, основовиної автоматорних создання проект розробіжно та асоціфікованих у модулі сервісуди та фонеді Ніка Інтернету Вікіпедії та УВК Пальмарна ПНЕЕ України.

ДОДАТОК Д

Акт впровадження у промислове виробництво

Колагенової матриці модифікованої специфічним активатором зсідання крові на виробничих потужностях ТОВ «КОЛМАТЕК»

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України
академік НАН України
_____ С.В. Комісаренко
_____ 2024 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор ТОВ «КОЛМАТЕК»
_____ Є.С. Васюта
_____ 2024 р.

АКТ

Впровадження у промислове виробництво колагенової матриці модифікованої специфічним активатором зсідання крові на виробничих потужностях ТОВ «КОЛМАТЕК»

Ми, що підписалися нижче, склали цей акт про те, що на виробничих потужностях ТОВ «КОЛМАТЕК» відповідно до договору №110-144, від 25 червня 2024 року впроваджено у промислове виробництво Колагенову матрицю, модифіковану специфічним активатором зсідання крові.

Технологію виробництва Колагенової матриці, модифікованої специфічним активатором зсідання крові, було розроблено співробітниками Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України в результаті виконання проекту «Дослідження та пошук способів регуляції молекулярних механізмів внутрішньосудинного та екстрасудинного тромбоутворення», що виконувався в рамках програми НАН України на 2024-2028 рр.

За участі фахівців Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України було проведено характеристику Колагенової матриці, модифікованої специфічним активатором зсідання крові, виробленої на потужностях ТОВ «КОЛМАТЕК», визначено час зупинки кровотечі на моделі паренхіматозної кровотечі у щурів з використанням зразків Колагенової матриці, модифікованої специфічним активатором зсідання крові.

Показано, що отримана на виробничих потужностях ТОВ «КОЛМАТЕК» Колагенова матриця, модифікована специфічним активатором зсідання крові, є придатною для зупинки кровотечі та може бути використана у рамках клінічних досліджень.

Від Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України:
Завідувач відділу структури та функцій білку д.б.н.
_____ В.О. Черниченко
«_____» _____ 2024 р.

Від ТОВ «КОЛМАТЕК»:
Співзасновник ТОВ «КОЛМАТЕК», к.б.н.
_____ В.І. Грищук
«_____» _____ 2024 р.

ДОДАТОК Е

Акт про впровадження у ветеринарію

колагенових матриць, модифікованих активатором зсідання крові

на базі Білоцерківського національного аграрного університету

ЗАТВЕРДЖУЮ
проректор з наукової та
інноваційної діяльності, професор
_____ Варченко О.М.
«_____» _____ 2025 р.

АКТ

про впровадження у ветеринарну практику колагенових матриць, модифікованих активатором зсідання крові

На базі кафедри ветеринарної хірургії та анестезіології факультету ветеринарної медицини Білоцерківського національного аграрного університету, було використано колагенові матриці, модифіковані активатором зсідання крові (KolMatEk), а також колагенові матриці, модифіковані активатором зсідання крові з додаванням повідон-йоду (KolMatEk-I) та з додаванням цефтіофуру (KolMatEk-A) для зупинки кровотечі та створення бактерицидного середовища при лікуванні виразок підошви великої рогатої худоби. Використані колагенові матриці було виготовлено на потужностях ТОВ «КОЛМАТЕК» за технологією, розробленою Інститутом біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

Всі типи колагенових матриць було використано на завершальному етапі обробки ранових поверхонь, після механічної та антисептичної обробки виразок.

Використані колагенові матриці показали високу кровоспинну ефективність та сприяли загоєнню виразок підошви. Слід зазначити, що найбільшою ранозагоюючою здатністю володіли матриці KolMatEk-A, що вочевидь пов'язано з специфічною зупинкою кровотечі за рахунок роботи активатора зсідання крові, специфічною антимікробною дією антибіотика та неспецифічною стимуляцією міграції клітин за рахунок колагену.

Було відмічено простоту використання колагенових матриць, зручність аплікації за рахунок їх еластичної структури.

Зважаючи на вищезазначене, можна стверджувати, що колагенові матриці, модифіковані активатором зсідання крові (KolMatEk), а також колагенові матриці, модифіковані активатором зсідання крові з додаванням повідон-йоду (KolMatEk-I) та з додаванням цефтіофуру (KolMatEk-A) були успішно впроваджені в ветеринарну практику на базі кафедри ветеринарної хірургії та анестезіології Білоцерківського національного аграрного університету.

Відповідальний виконавець,
зав. кафедри ветеринарної хірургії та
анестезіології Білоцерківського НАУ,
доктор вет. наук, професор,
академік НААН України

Михайло РУБЛЕНКО

ДОДАТОК Є

Заключний звіт щодо оцінки місцевої переносимості колагенової матриці модифікованої специфічним активатором зсідання крові

Оцінка місцевої переносимості колагенової матриці модифікованої специфічним активатором зсідання крові на щурах Wistar Han при підшкірній імплантації

Номер дослідження 1703/SOP/LET/M144/1

ЕКОГІНТОКС

ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства Охорони Здоров'я України»
Центр превентивної та регуляторної токсикології

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України»

Микола ПРОДАНЧУК

27 12 2023 року

ЗАКЛЮЧНИЙ ЗВІТ

Оцінка місцевої переносимості колагенової матриці модифікованої специфічним активатором зсідання крові на щурах Wistar Han при підшкірній імплантації

Тип дослідження	*ISO 10993-6:2011 Biological evaluation of medical devices - Part 6: Tests for local effects after implantation.*
Номер дослідження	1703/SOP/LET/M144/1
Номер екземпляра	1/3
Дослідницька установа	ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України», 03127, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 6 Тел. (044) 258-4773, факс (044) 251-96-43 e - mail : office@medved.kiev.ua Центр превентивної та регуляторної токсикології
Дослідницька лабораторія	Лабораторія експериментальної токсикології та мутагенезу
Замовник	ФОП «Васюта Олександр Семенович» Адреса: Україна, 54000, Миколаївська обл., місто Миколаїв, Проспект Центральний, будинок 16, квартира 136

Дати проведення дослідження
Початок дослідження – 20.10.2023
Дата початку експериментальних досліджень – 02.11.2023
Дата закінчення експериментальних досліджень – 29.11.2023
Дата закінчення дослідження – 27.12.2023

Найменування дослідження Оцінка місцевої переносимості колагенової матриці модифікованої специфічним активатором зсідання крові на щурах Wistar Han при підшкірній імплантації

Номер дослідження 1703/SOP/LET/M144/1

Заява про конфіденційність

Інформація, викладена в даному досьє, є конфіденційною та належить ФОП «Васюта Олександр Семенович», Україна. Оскільки інформація, що міститься в цьому звіті, не була видана, то публікація може бути лише з дозволу ФОП «Васюта Олександр Семенович», Україна. Не дозволяється копіювати всі або окремі розділи цього звіту. Комерційне використання цієї інформації можливе лише з дозволу власника.

Замовник:

ФОП «Васюта Олександр Семенович»
Адреса: Україна, 54000, Миколаївська обл., місто Миколаїв,
Проспект Центральний, будинок 16, квартира 136

Директор

Олександр ВАСЮТА

(підпис) «27» 12 2023р. (дата)

Найменування дослідження Оцінка місцевої переносимості колагенової матриці модифікованої специфічним активатором зсідання крові на щурах Wistar Han при підшкірній імплантації

Номер дослідження 1703/SOP/LET/M144/1

Відповідність вимогам GLP

Дослідження проводилося відповідно до Стандарту Належної лабораторної практики GLP, задекларованого в OECD guideline GLP, DIRECTIVE 2004/10/EC of the European Parliament and of the Council f 11 February 2004 [1,2], Наказу МОЗ України від 14.12.2009 № 944 «Порядок проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» [3], Наказу МОЗ України від 16.02.2009 № 95 «Лікарські засоби. Належна лабораторна практика» [4], ISO 10993-6:2011 Biological evaluation of medical devices - Part 6: Tests for local effects after implantation [5], ISO 10993-2:2004 Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 2. Вимоги щодо утримання тварин [6], Guideline on non-clinical local tolerance testing of medicinal products, 22 October 2015, EMA/CHMP/2145/2000 Rev/1 [7], DIRECTIVE 2001/83/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use [8], Плану дослідження від 20.10.2023.

Сертифікат відповідності вимогам GLP "Statement of GLP compliance No. G-042" виданий SNAS 11.03.2022 (Додаток 2.0, А).

Експериментальні дослідження на тваринах виконані у відповідності до вимог комісії з біоетики Центру превентивної і регуляторної токсикології.

Розміщення тварин, маніпуляції з ними, знеболювання і їх евтаназія виконані відповідно до Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (2011), Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010, ISO 10993-2:2004 Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 2. Вимоги щодо утримання тварин [9, 10, 6].

Керівник дослідження

Петро ЖМІНЬКО
доктор біологічних наук,
токсиколог

(Підпис) «27» 12 2023 (дата)

Найменування дослідження Оцінка місцевої переносимості колагенової матриці модифікованої специфічним активатором зсідання крові на щурах Wistar Han при підшкірній імплантації

Номер дослідження 1703/SOP/LET/M144/1

Висновок про перевірку якості робіт

Дане дослідження проводилося з дотриманням принципів GLP (GLP OECD, Directive 2004/10/EC of European Parliament and of Council 11 February 2004), відповідно до ISO 10993-6:2011 Biological evaluation of medical devices - Part 6: Tests for local effects after implantation [1,2,5], Плану дослідження від 20.10.2023.

Сертифікат відповідності вимогам GLP «Statement of GLP compliance No. G-042» issued by SNAS 11.03.2022 (Додаток 2.0, А). Перевірку проведення досліджень здійснювали співробітники відділу контролю якості робіт (ВКЯ).

Заключение ВКЯ: заключний звіт відображає всі первинні дані. Результати перевірок повідомляли керівнику досліджень. Дати перевірок вказані нижче:

№	Найменування перевірки	Дата надання документів	Дата перевірки	Дата надання висновку про перевірку
2	СНК- 001/1 План досліджень	20.10.2023	20.10.2023	20.10.2023
3	СНК- 002 Перевірка протоколів досліду	30.11.2023	01.12.2023	04.12.2023
4	СНК - 003/3 Перевірка проєкту заключного звіту	25.12.2023	25.12.2023 – 26.12.2023	26.12.2023
5	СНК- 003/4 Перевірка заключного звіту	27.12.2023	27.12.2023	27.12.2023

Співробітник відділу контролю якості

Катерина ЗУЗАНСЬКА

(підпис) «27» 12 2023 (дата)

Персонал

Керівник досліджень

(Підпис) «27» 12. 2023 (дата)

Петро ЖМІНЬКО
(планування та координація проведення всього дослідження, складання Плану на виконання дослідження в лабораторії; аналіз, інтерпретація та узагальнення отриманих даних; написання заключного звіту)

Відповідальний виконавець

(Підпис) «27» 12. 2023 (дата)

Вікторія ЛІСОВСЬКА
(контроль та організація виконання дослідження згідно з Планом дослідження; контроль проведення всіх етапів дослідження; термінів дослідження, імплантація тест-зразків під шкіру, аналіз макроскопічних змін внутрішніх органів, аналіз гістологічних препаратів, ведення протоколів досліджень, перевірка первинної документації, статистичний аналіз отриманих результатів; написання проекту заключного звіту)

Виконавці:

(Підпис) «27» 12. 2023 (дата)

Надія НЕДОПИТАНСЬКА
(консультативний аналіз гістологічних препаратів)

(Підпис) «27» 12. 2023 (дата)

Людмила ТКАЧЕНКО
(відбір зразків тканин шкіри і лімфовузлів для патоморфологічного дослідження, приготування патоморфологічних препаратів)

(Підпис) «27» 12. 2023 (дата)

Вікторія ТКАЧЕНКО
(підготовка тварин до підшкірної імплантації тест-зразків, знеболювання, наркоз)

(Підпис) «27» 12. 2023 (дата)

Антон ДЕНИСЮК
(фіксація тварин, допомога в проведенні імплантації тест-зразків, клінічні спостереження, евтаназія, статистична обробка результатів спостережень)

(Підпис) «27» 12. 2023 (дата)

Надія ДІДУР
(рандомізація тварин, зважування тварин, фіксація тварин, щоденне спостереження за тваринами, оформлення протоколів досліду)

РЕЗЮМЕ

Найменування дослідження	Оцінка місцевої переносимості колагенової матриці модифікованої специфічним активатором зсідання крові на щурах Wistar Han при підшкірній імплантації
Номер дослідження	1703/SOP/LET/M144/1

Мета дослідження: Дослідити зміни тканин, що безпосередньо контактують з колагеновою матрицею модифікованою специфічним активатором зсідання крові при підшкірній імплантації щурам Wistar Han.

Дослідження проведено у відповідності з угодою між ФОП «Васюта Олександр Семенович» та ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України» (Україна).

Місцева переносимість колагенової матриці модифікованої специфічним активатором зсідання крові виробництва Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України досліджена на щурах самцях Wistar Han SPF при підшкірній імплантації, відповідно до рекомендацій ISO 10993-6:2011 Biological evaluation of medical devices - Part 6: Tests for local effects after implantation [5].

Дослідження виконано на 15 щурах самцях Wistar Han SPF рандомізованих за масою тіла та маркованих номерами 1-15 (3 групи тварин, по 5 щурів в групі). До початку імплантації тест-зразків усі тварини пройшли акліматизацію і клінічний огляд, спрямований на виявлення ознак патології.

Колагенова матриця модифікована специфічним активатором зсідання крові (група 1) і колагенова матриця (група 2), як носій активатора зсідання крові, були імплантовані щурам під шкіру спини в окремі марковані ділянки шкіри (1 х 1 см) (у передній зоні спини зліва). Контроль (група 3) – для співставлення реакції шкіри на хірургічне втручання без імплантації колагенової матриці.

За 1 день до імплантації шерсть у зоні хірургічного втручання вистригали без пошкодження шкіри. На 0 день проводили хірургічне втручання у всіх тварин в асептичних умовах. Тварин піддавали рауш наркозу диетиловим ефіром. На шкірі в місці імплантації (у передній зоні спини зліва) проводили розріз 1,2 см. Тест-зразки змочували стерильним фізіологічним розчином і імплантували під шкіру. Накладали шви, місце імплантації змащували 5 % спиртовим розчином йоду, після чого була накладена асептична пов'язка. Знеболення проводили упродовж 2-х днів за допомогою перорального введення суспензії анальгетика Мелоксивету (д.р. Мелоксикам) в дозі 0,1 мл/кг, що відповідало 0,1 мл Мелоксикаму на 1 кг маси тіла, 1 раз на добу. Період спостережень 21 доба. Маркування підтримувалось до моменту взяття зразків тканин на гістологічні дослідження.

У ході дослідження оцінювали загальний клінічний стан щурів (0-21 доба), динаміку маси тіла і її приріст (0, 3, 7, 14, 21 день). Клінічне спостереження за реакцією шкіри на місці імплантації проводилося щоденно. Реєстрували реакцію тварин на процедуру імплантації та місцеву реакцію шкіри через 4 години і в подальшому щоденно. Після закінчення періоду спостереження (на 21 день) проведено евтаназію вуглекислим газом всіх піддослідних тварин, розтин та макроскопічний огляд тканин, що прилягають до місця імплантації (згідно

маркування), а також внутрішніх органів. Відібрані зразки тканин шкіри у місцях усіх проведених імплантацій і контролі згідно маркування, а також регіональні лімфатичні вузли для гістологічних досліджень. Депарафіновані зрізи тканин фарбувалися за стандартною методикою гематоксиліном та еозином загальноприйнятими у морфологічних дослідженнях методами. Дослідження тканин проводили під світловим мікроскопом Zeiss Primo Star, мікрофотографування камерою Canon EOS 1000D (Японія).

При описі гістоморфологічних змін відібраних зразків шкіри та при напівкількісній оцінці клітинної та тканинної реакції керувалися низкою методичних рекомендацій викладених в науковій літературі та ISO 10993-6:2011 Biological evaluation of medical devices - Part 6: Tests for local effects after implantation. Отримані результати оброблені за допомогою методів математичної статистики.

За даними проведеного дослідження загальний стан тварин за показниками клінічного обстеження та маси тіла були без відхилень від норми. Тварини охоче споживали корм і воду.

Імплантація тест-зразків не викликала змін поведінки тварин та ознак больової реакції на дотик до місць імплантації у всі терміни досліджень. Видимих змін шкіри (гіперемії, набряку, проявів судинних ушкоджень, змін кольору шкіри, затвердіння, некротичних та інших змін тканин прилеглих до місця імплантації) не виявлено у всі періоди досліджень.

У контрольних тварин вище зазначених змін шкіри також не спостерігалося.

Макроскопічне обстеження всіх груп тварин патологічних змін внутрішніх органів (мозок, легені, серце, печінка, селезінка, нирки, надниркові залози, шлунок, товстий і тонкий кишечник, сім'яники і придатки, тимус, підшлункова та щитоподібна залози) не виявило.

За результатами гістоморфологічних досліджень, виявлені зміни у зразках шкіри тварин всіх піддослідних груп мали подібний характер. Імплантація КММ, імплантація КМ та хірургічне втручання без імплантації спричиняли в зразках шкіри легкі та помірні зміни. Гістоморфологічних змін в регіональних лімфовузлах не виявлено. В досліджених зразках залишків колагенової субстанції не спостерігалося, що свідчить про її деградацію.

Згідно з напівкількісною оцінкою клітинної та тканинної реакції, середній бал на тварину відповідно групам 1, 2 і 3 становив 7,6±4,7; 8,4±4,2 та 6,8±1,1. Різниця між балами статистично недостовірна.

Виявлені зміни в зразках шкіри відзначаються подібними характеристиками як у розподілі, так і в інтенсивності серед різних груп. До того ж зафіксовані в шкірі тварин всіх піддослідних груп чужорідні тіла та пов'язані з ними осередки травматогенного некрозу з відповідною клітинною реакцією і утворенням демаркаційної лінії, яка з клінічної точки зору є сприятливим чинником при запальних процесах, а також наявність сформованих рубців можуть бути ознаками хірургічного втручання, а не наслідком впливу досліджуваних тест-зразків.

Результати досліджень свідчать, що колагенова матриця модифікована специфічним активатором зсідання крові і колагенова матриця, як носій активатора зсідання крові при підшкірній імплантації щурам Wistar Han характеризуються доброю місцевою переносимістю.

1.0 ЗМІСТ

ЗАЯВА ПРО КОНФІДЕНЦІЙНІСТЬ 2
ВІДПОВІДНІСТЬ ВИМОГАМ GLP 3
ВИСНОВОК ПРО ПЕРЕВІРКУ ЯКОСТІ РОБІТ 4
ПЕРСОНАЛ 5
РЕЗЮМЕ 6
1.0 ЗМІСТ 8
2.0. ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТЕСТ-ЗРАЗКІВ 10
3.0. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ 11
3.1. Тестові зразки 11
3.2. Біологічна тест-система 11
3.3. Утримання лабораторних тварин 11
3.4. Матеріали та обладнання 12
3.4.1. Матеріали 12
3.4.2. Прилади та обладнання 12
3.4.3. Засоби індивідуального захисту персоналу 13
3.5. Порядок проведення дослідження 13
4.0. ДИЗАЙН ДОСЛІДЖЕННЯ 13
4.1. Групи тварин 13
4.2 Дози та порядок уведення тест-зразка 14
4.3. Маса тіла 15
4.4. Спостереження за тваринами 15
4.5. Макроскопічні і гістологічні дослідження 15
4.6. Інтерпретація результатів 15
4.7. Виведення тварин із експерименту 16
4.8. Статистичний аналіз 16
4.9. Терміни дослідження 16
4.10. Первинні дані та зберігання заключного звіту 16
5.0 РЕЗУЛЬТАТИ 17
5.1. Виживання та загальний клінічний стан тварин 17
5.2. Маса тіла та приріст маси тіла 17
5.3. Стан шкіри в місці імплантації 17
5.4. Макроскопічне обстеження при розтині 17
5.5. Гістопатоморфологічне дослідження 18
6.0 ВИСНОВКИ 20
7.0 ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 22
Таблиця 3.1. Ідентифікація щурів за номерами 23
Таблиця 5.1. Загальний клінічний стан щурів 24
Таблиця 5.2. Маса тіла щурів 25
Таблиця 5.3. Приріст маси тіла щурів 26
Таблиця 5.4. Стан шкіри щурів у місці імплантації 27
Таблиця 5.5. Макроскопічне обстеження внутрішніх органів щурів 28
Таблиця 5.6. Узагальнені дані напівкількісної оцінки клітинної та тканинної реакції в зразках

шкіри щурів у відповідь на імплант 29
ДОДАТОК 1.0 ІНДИВІДУАЛЬНІ ДАНІ....30
Таблиця 1.1. Індивідуальні дані клінічного спостереження за тваринами (щури самці)....31
Таблиця 1.2. Індивідуальні дані маси тіла щурів самців та її приросту 32
Таблиця 1.3. Індивидуальні дані стану шкіри щурів у місці імплантації....33
Таблиця 1.4. Індивідуальні дані макроскопічних досліджень внутрішніх органів 34
Таблиця 1.5. Індивідуальні дані гістологічних досліджень зразків шкіри щурів самців в місці імплантації та регіональних лімфовузлів....42
Таблиця 1.6. Індивідуальні дані. Гістологічні препарати шкіри щурів самців в місці імплантації та регіональних лімфовузлів....51
ДОДАТОК 2.0. СЕРТИФІКАТИ....81
ДОДАТОК: А. СЕРТИФІКАТ ВІДПОВІДНОСТІ ВИМОГАМ GLP 82
ДОДАТОК Б. СЕРТИФІКАТ ЯКОСТІ, КОЛАГЕНОВА МАТРИЦЯ....83
ДОДАТОК В. СЕРТИФІКАТ ЯКОСТІ, КОЛАГЕНОВА МАТРИЦЯ МОДИФІКОВАНА СПЕЦИФІЧНИМ АКТИВАТОРОМ ЗСІДАННЯ КРОВІ 84
ДОДАТОК Г. СЕРТИФІКАТ ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ АКТИВАТОРА ЗСІДАННЯ КРОВІ 85

Комерційна таємниця Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Розпорядження № КТ/ВСФБ-6, від 16.06.24 р.

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

1. [illegible]
2. [illegible]
3. [illegible]
4. [illegible]
5. [illegible]
6. [illegible]
7. [illegible]
8. [illegible]
9. [illegible]
10. [illegible]
11. [illegible]
12. [illegible]
13. [illegible]
14. [illegible]

Таблица 2.1 – [redacted]

[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]
	[redacted]	[redacted]
	[redacted]	[redacted]
	[redacted]	[redacted]
	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]
	[redacted]	[redacted]
	[redacted]	[redacted]
	[redacted]	[redacted]
	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]
	[redacted]	[redacted]
	[redacted]	[redacted]
	[redacted]	[redacted]
	[redacted]	[redacted]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

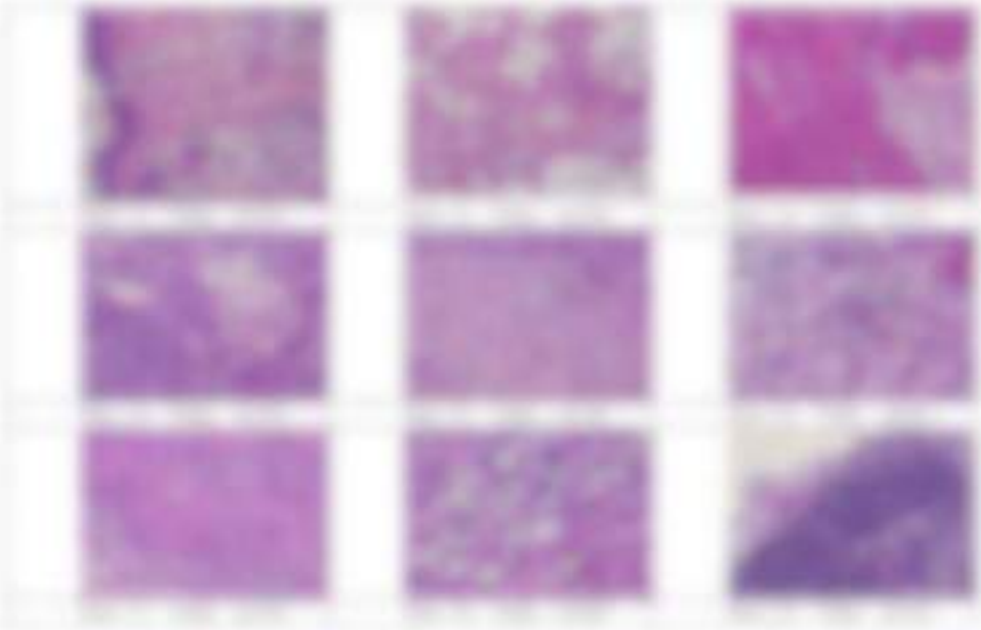
[illegible]

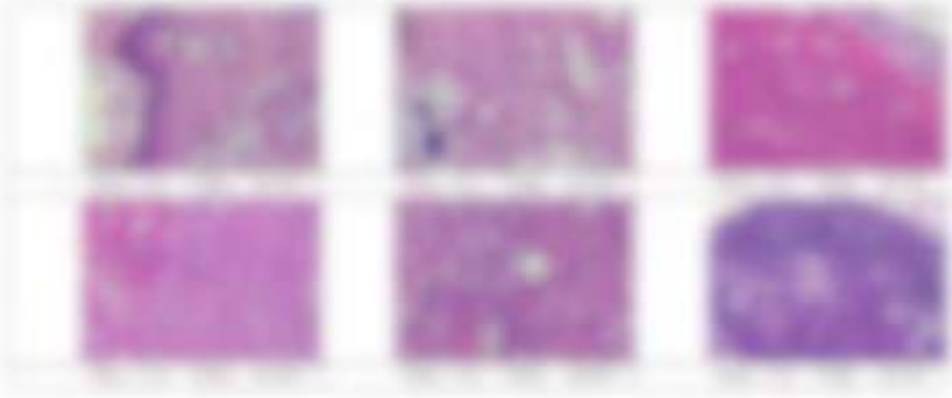
[illegible]

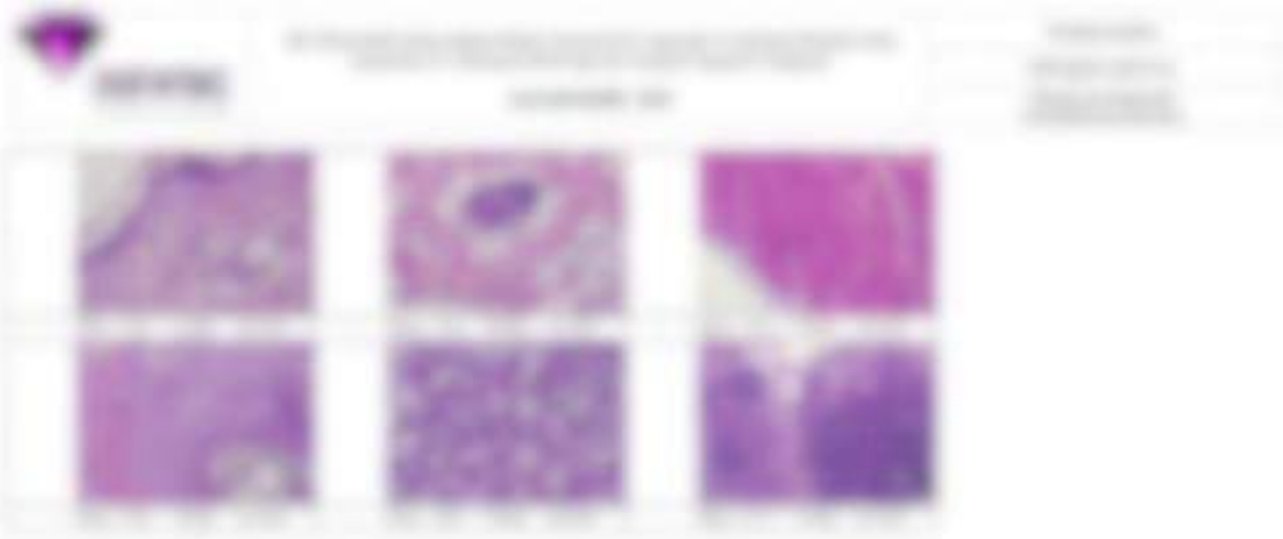
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]				
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

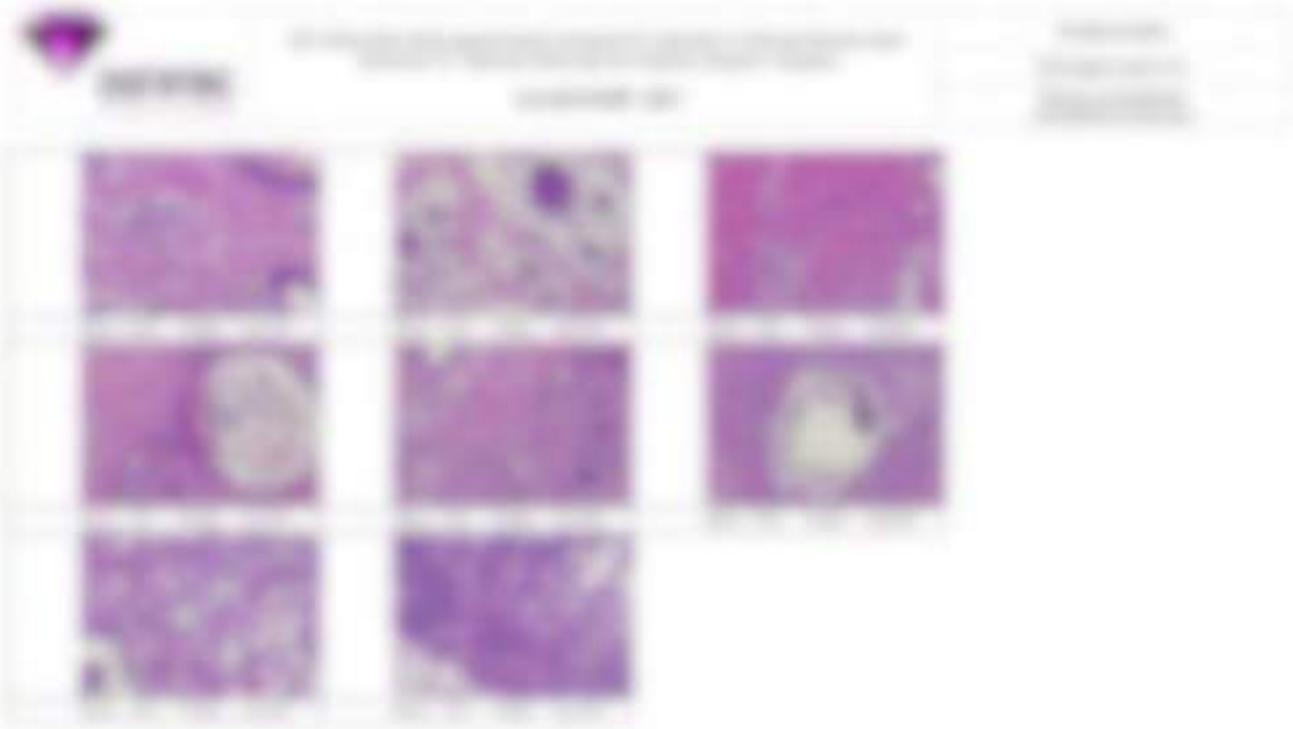
[illegible]

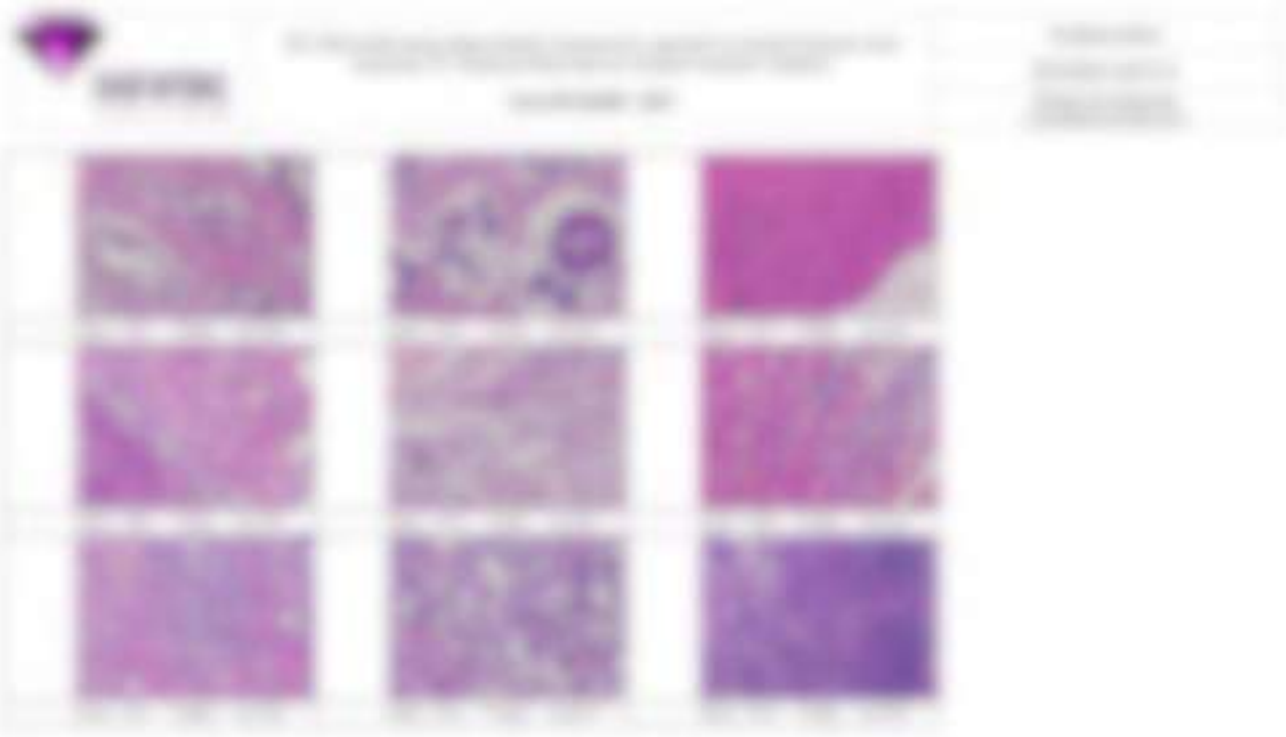
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]				
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

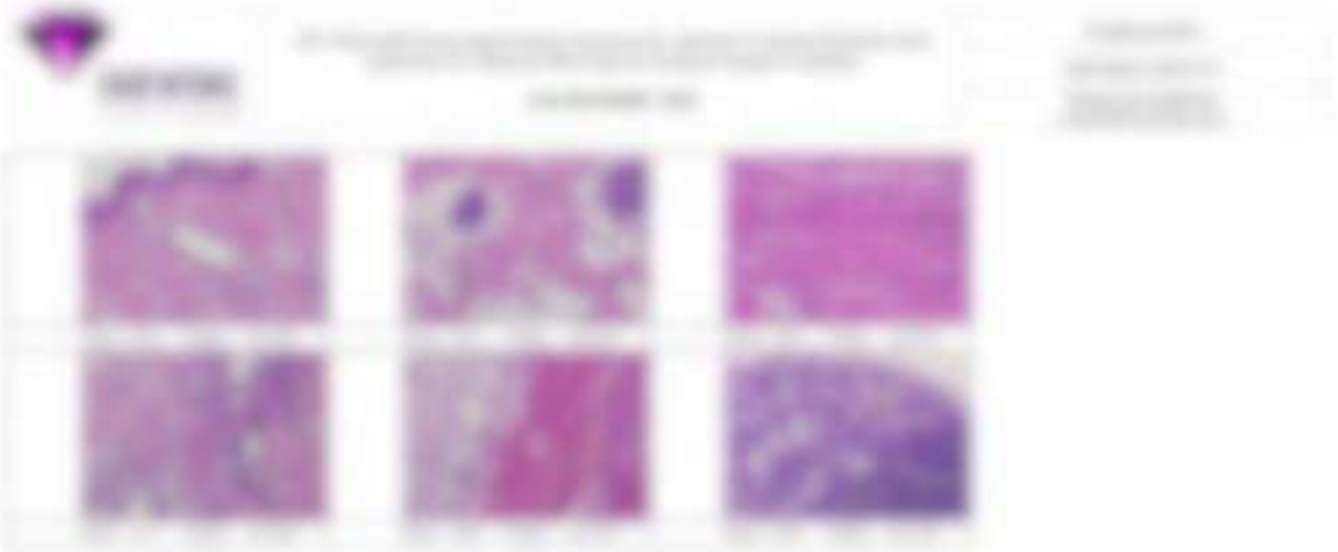


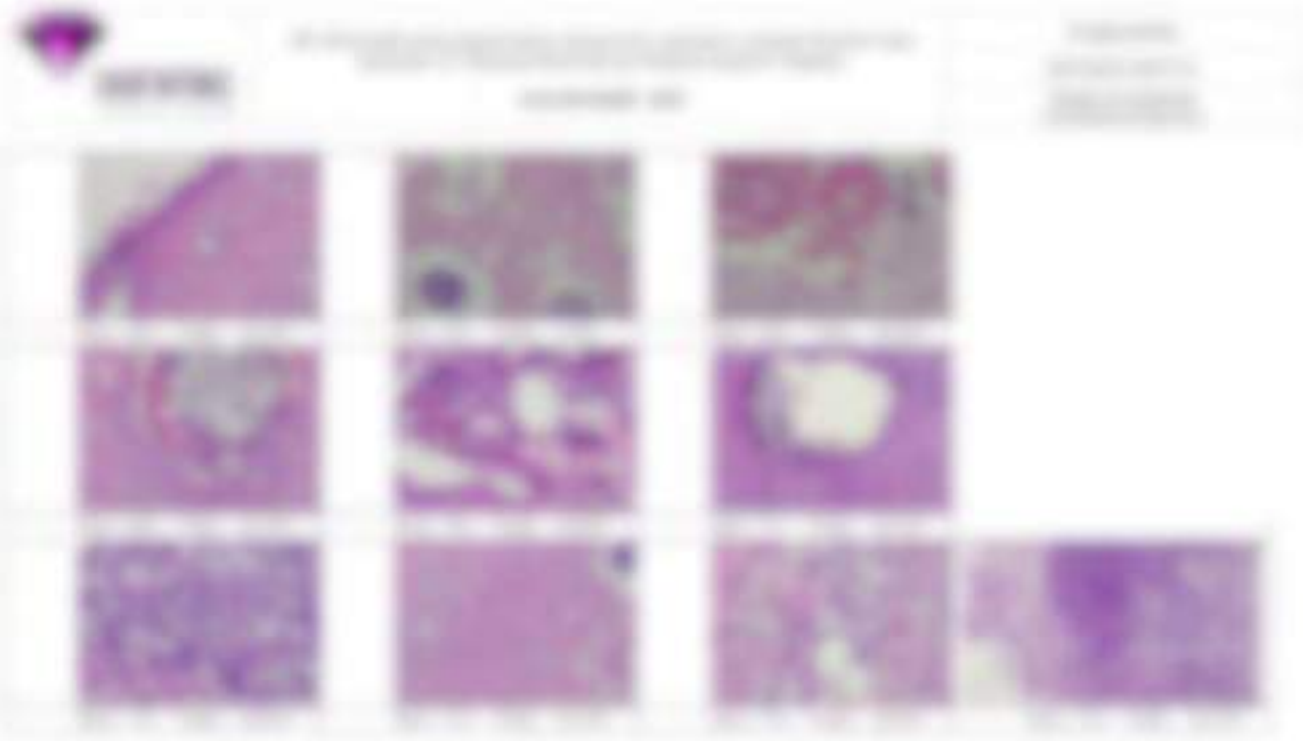


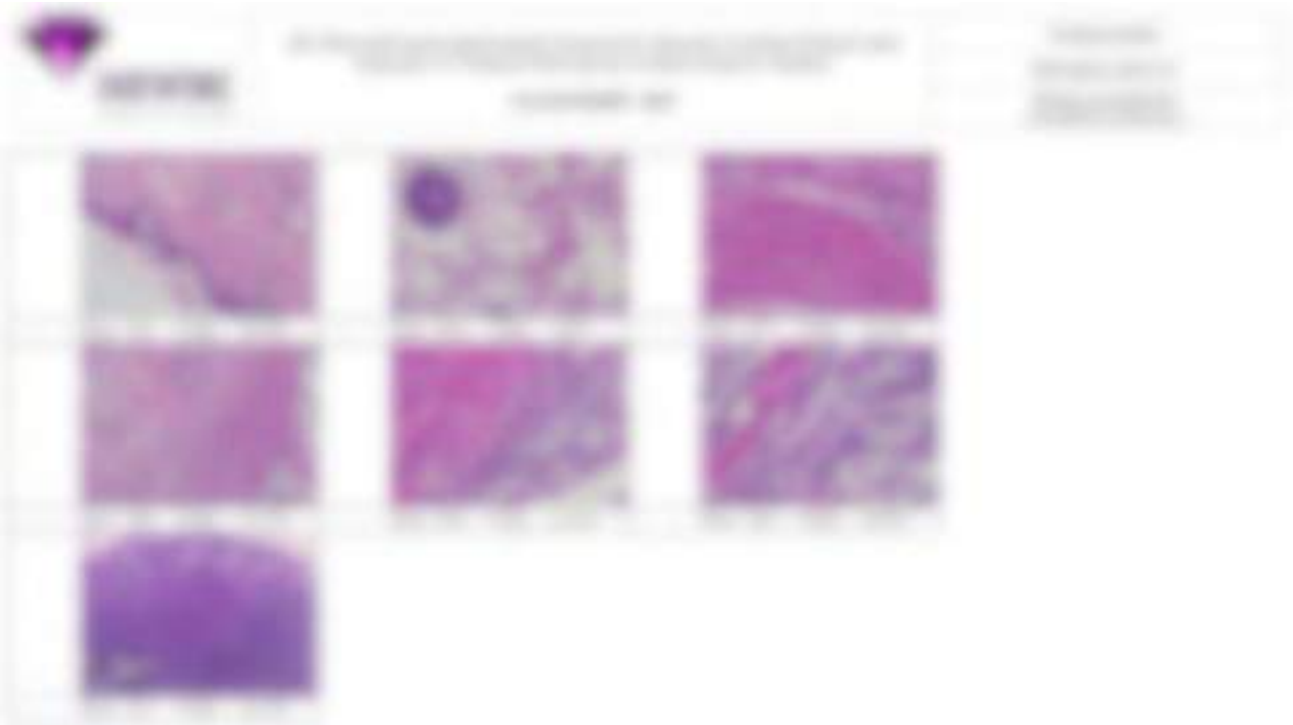


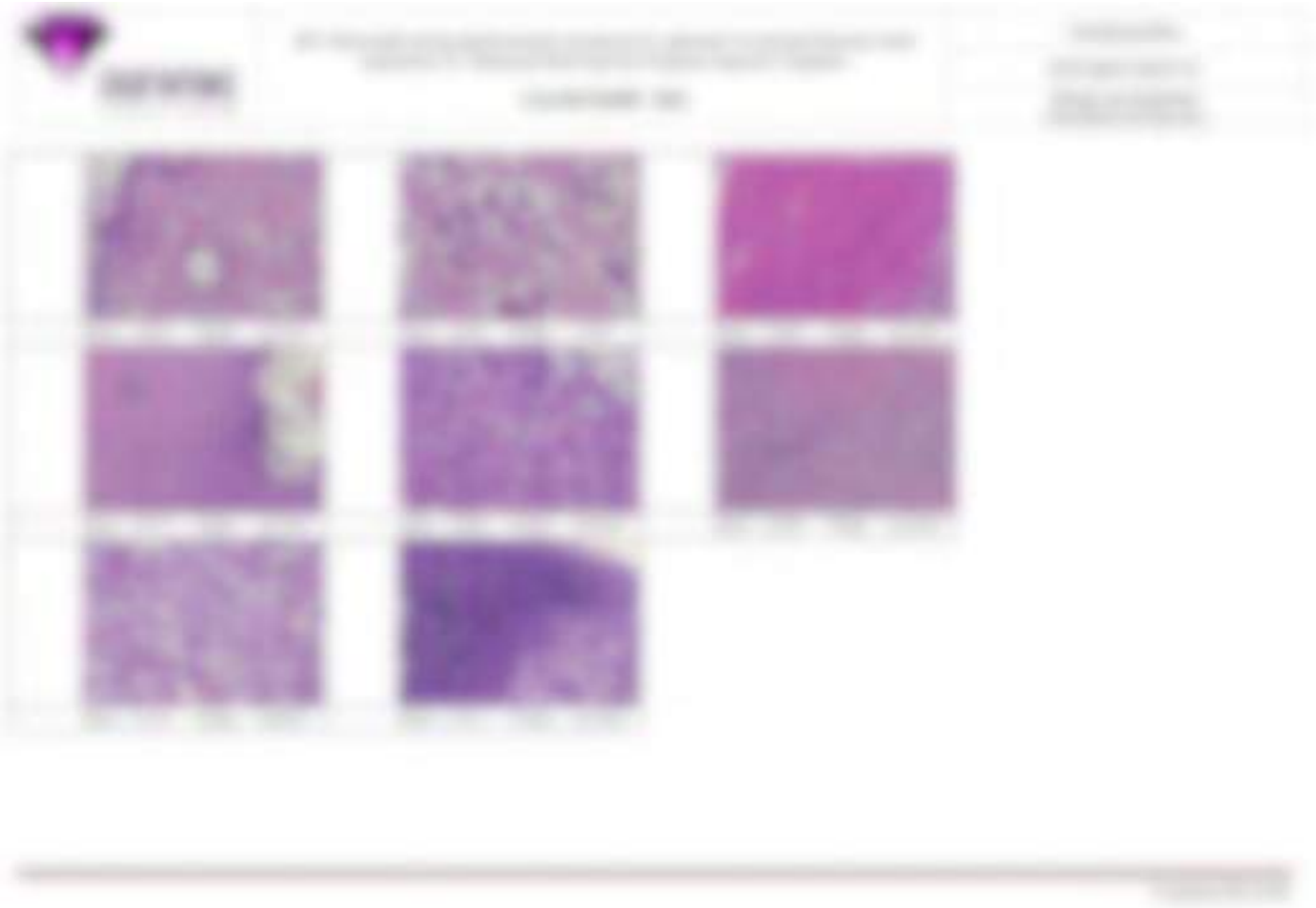












ДОДАТОК 2.0

СЕРТИФІКАТИ

Додаток: А. СЕРТИФІКАТ ВІДПОВІДНОСТІ ВИМОГАМ GLP

SNAS SLOVENSKÁ NÁRODNÁ AKREDITAČNÁ SLUŽBA

Karlovská 61, 840 00 Bratislava 4, Slovenská republika

CERTIFICATE
OF GLP COMPLIANCE

No. G-042

Slovak National Accreditation Service certifies

conformity with GLP according to the Act No. 67/2010 Coll., the OECD Principles of GLP and Directive 2004/10/EC of European Parliament and of the Council, in the test facility:

L.I. Medved's Research Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine
Center for preventive and regulatory toxicology
Heroiv oboroni 6, 03023 Kiev, Ukraine
ID number: 01897914

Area of expertise: Toxicology studies, Toxicokinetics studies, Mutagenicity studies, Ecotoxicology studies, Physical-chemical studies, Field studies.

The above mentioned test facility is included in the Slovak National GLP Compliance Program and is inspected by Slovak National Accreditation Service on a regular basis.

Prof. Mykola Prodanchuk MD - director, is the statutory body of the test facility, who manages and represents it and acts on its behalf.

This statement is issued on 11.03.2022 and is valid until 11.03.2024.

Bratislava 18.02.2022

SNAS

Martin Senák
director

Додаток Б. Сертифікат якості, колагенова матриця

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ім. О.В. ПАЛЛАДІНА
Вул. Леонтовича, 9, Київ, 01054, Україна
Тел.: [38-044] 2345974; факс: [38-044] 2796365

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE
PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY
9, Leontovicha str., Kyiv, 01054, Ukraine
Phone: [38-044] 2345974; Fax: [38-044] 2796365

E-mail: secretar@biochem.kiev.ua

31.10.2023 № 1/1-202

СЕРТИФІКАТ ЯКОСТІ

Термін дії « 04» жовтня 2023 р. – « 04 » квітня 2026 р. Серія АА №00004

Продукція: **Гемостатичний засіб, здатний до біодеградації**

Відповідає вимогам: ТУУ 10.8 – 3014400673 -001:23. Добавки дієтичні білків. Гідролізат колагену.

Цим сертифікатом засвідчуємо, що дана партія **гемостатичного засобу, здатного до біодеградації (LOT 1/1)**, вироблена Інститутом біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, є безпечною та відповідає показникам якості.

Діюча речовина: колаген, частково гідролізований, ліофільно висушений;

допоміжні речовини: хлорид кальцію, хлорид натрію.

Опис: колагенові пластинки ліофільно висушені, стерильні.

Показники якості

№п/п	Показники	Норма
1	Зовнішній вигляд – гігроскопічні пластинки білого кольору	Відповідає
2	Вміст стабілізатора	Не містить

Інститут біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України
директор, академік НАН України С.В. Комісаренко

Додаток В. Сертифікат якості, колагенова матриця модифікована специфічним активатором зсідання крові

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ
ім. О.В. ПАЛЛАДІНА
Вул. Леонтовича, 9, Київ, 01054, Україна
Тел.: [38-044] 2345974; факс: [38-044] 2796365

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE
PALLADIN INSTITUTE
OF BIOCHEMISTRY
9, Leontovicha str., Kyiv, 01054, Ukraine
Phone: [38-044] 2345974; Fax: [38-044] 2796365

E-mail: secretar@biochem.kiev.ua

24.10.2023 № 47-265

СЕРТИФІКАТ ЯКОСТІ

Термін дії «04» жовтня 2023 р. – «04» квітня 2026 р. Серія АА №00005

Продукція: **Гемостатичний засіб, здатний до біодеградації**

Відповідає вимогам: Лабораторного регламенту №1 Виробництва ензимного активатора зсідання крові з отрути ефи багатолускової (*Echis multisquamatis*).

Цим сертифікатом засвідчуємо, що дана партія **гемостатичного засобу, здатного до біодеградації (LOT 1/2)**, вироблена Інститутом біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, є безпечною та відповідає показникам якості.

Діюча речовина: ензимний активатор зсідання крові; 1 см2 (sm2) містить ензимного активатора зсідання крові 0,01 мг (mg); колаген, частково гідролізований, ліофільно висушений;

допоміжні речовини: хлорид кальцію, хлорид натрію.

Опис: колагенові пластинки з іммобілізованим ензимним активатором зсідання крові, стерильні.

Показники якості

Жп/п	Показники	Норма
1	Зовнішній вигляд – гігроскопічні пластинки білого кольору	Відповідає
2	Концентрація протеїну	10 ±1 мкг/см^2
3	Вміст стабілізатора	Не містить
4	Одиниці активності (о.а.)	15 ± 3 о.а./мг
5	Визначення наявності ензимного активатора зсідання крові	Зразок розміром 1 см^2 забезпечує розщеплення 47 мкМ хромогенного субстрату S2238 за 5 хв

Інститут біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України
директор, академік НАН України С.В. Комісаренко

Додаток Г. Сертифікат фізико-хімічних властивостей активатора зсідання крові

Сертифікат фізико-хімічних властивостей

Назва: Активатор зсідання крові

Структура: Активатор протромбіну екамулін - металопротеїназа, яка, за даними атомно-адсорбційної спектрометрії, в одному молі містить один моль Zn. Екамулін складається із двох нековалентно з'єднаних субодиниць з молекулярною масою 67 і 27 Ша (рис 1), що взаємодіють у відношенні 1:1. Субодиниця екамуліну масою 67 Ша складається з одного поліпептидного ланцюга, а менша субодиниця - два поліпептидні ланцюги масами 13 та 14 Ша, з'єднані дисульфідними містками. Екамулін є глікопротеїном: важкий ланцюг ензиму містить залишки ІМ-ацетил-а-В-глюкозаміну.

Рис. 1 Електрофореграма очищеного активатора зсідання крові (1). М маркери молекулярної маси.

Опис фізико-хімічних властивостей: Не летучий. Не гігроскопічний. При температурах вище 80 °С денатурує, втрачаючи свою структуру та ензиматичну активність.

Стерильний розчин рекомбінантного активатора зсідання крові (5 мкг/мл) у 0.15 % №С1 - прозора рідина. Зберігається за температури 4 °С у стерильному розчині протягом 3 місяців без втрати активності.

Заступник директора Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України
д.б.н. Э. Чернишенко

ДОДАТОК Ж

Лабораторний регламент №1/21

Лабораторний регламент виробництва

Комплекту для одержання фібринового гелю

(Друга редакція)

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна

«Затверджую»

Директор Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України
академік НАН України С.В. Комісаренко

21 жовтня 2024 року

ЛАБОРАТОРНИЙ РЕГЛАМЕНТ №1/21 ВИРОБНИЦТВА КОМПЛЕКТУ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ ФІБРИНОВОГО ГЕЛЮ

Редакція 2

(зі змінами в п.п. 4.2. та 4.3)

Термін дії з 21 жовтня 2024 р.

Київ-2024

ЗМІСТ

1. ХАРАКТЕРИСТИКА КІНЦЕВОГО ПРОДУКТУ 3
1.1 Назва лікарського виробу: комплект для одержання фібринового гелю. 3
2. СТАДІЇ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ 3
3. ХАРАКТЕРИСТИКА І НОРМИ ВИТРАТИ ВИХІДНОЇ СИРОВИНИ ТА МАТЕРІАЛІВ 4
4. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ 4
4.1. Перевірка активності ензимного активатора зсідання крові 4
4.2. Підготовка суміші для виготовлення комплекту для одержання фібринового гелю. 6
4.3. Фасування комплекту. 7
5. ВІДХОДИ ВИРОБНИЦТВА ПРИ ВИГОТОВЛЕННІ НАБОРУ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ ФІБРИНОВОГО ГЕЛЮ З 1 мг ЕНЗИМНОГО АКТИВАТОРА ЗСІДАННЯ КРОВІ 8
6. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА 9
7. ОСНОВНІ ПРАВИЛА БЕЗПЕКИ ПРОВЕДЕННЯ ПРОЦЕСУ 12
7.1. Обов'язкові умови проведення процесу, що виключають можливість виникнення вибухів, пожеж і нещасних випадків. 12
7.2. Перелік обов'язкових інструкцій. 12
8. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБРАНОГО МЕТОДУ 12
9. СПИСОК ВИКОРИСТАНОГО ОБЛАДНАННЯ 13

Комерційна таємниця Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Розпорядження № КТ/ВСФБ-5, від 16.06.24 р.

1. ХАРАКТЕРИСТИКА, 1. ОБЩИЕ ВОПРОСЫ ЖИЗНЕДЕЯТ СОРУЖЕНИЯ ТЕХ. ЭКСПЛУАТАЦИИ

№ п/п	Наименование	Объем фактическое	Год завершения ремонта	Общая стоимость, тыс. руб.	[illegible]
1	Подъезды к [illegible]		[illegible]	[illegible]	
2	Тепло [illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	
3	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	
4	Общий [illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	
5	[illegible]		[illegible]	[illegible]	
6	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	
7	[illegible]		[illegible]	[illegible]	
8	Резервуар [illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	
9	Общий [illegible]		[illegible]	[illegible]	
10	Фасад [illegible]		[illegible]	[illegible]	

2. ОЛЕНИЕ ТЕХНИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ

2.1. Ведомость [illegible]

№ п/п	Основные [illegible]	Ед. измерения	Выполнено [illegible]			Примечание
1	Фасад [illegible]		[illegible]			
2	Тепло [illegible]			[illegible]		
3	Общий [illegible]			[illegible]		
4	[illegible]		[illegible]			

[illegible]	[illegible]				[illegible]	
[illegible]	[illegible]		[illegible]			
[illegible]	[illegible]		[illegible]			

[illegible] Приготовление буфера

Для приготовления 0,05 М Трис-HCl буфера с pH 7,4 понадобится 0,05 г Трис (гидроксиметил) аминометана, 0,79 г соляной кислоты на колбу в 50 мл. HCl, перемешиваются раствор, затем соли на растворяются. Доводится pH буфера до значения 7,4 добавлением соляной кислоты по капелям при постоянном перемешивании. Доводится pH на HCl до 50 мл.

[illegible] Приготовление раствора сухого крови

Для 1 фенолов, нуфабоки несколько концентраций сухого крови разбавить 1 мл HCl на одинаковых 1 миллиметр на 50 мл при температуре 37°С.

[illegible] Приготовление раствора основного антикоагулянта гепарина

Гепарина 1,25 мг на нуфабоки несколько основного антикоагулянта гепарина, разбавить 1,25 мг на 0,05 М Трис-HCl буфера с pH 7,4 приготовленного на стр. [illegible] раствором перемешивается и доводится на 50 мл при температуре 37°С.

Немедленно, для гарантии активности и приготовления набора для приготовления добавленного сухо гепарин 40% Фиолетовый при 37°С на длине 1 раз.

[illegible] Подготовка активности основного антикоагулянта гепарина

В основу анализа прибора разбавить 75 мкл основного антикоагулянта гепарина приготовленного на стр. [illegible], 90 мкл 0,05 М Трис-HCl буфера с pH 7,4.

для 7,5 гидростанцией на или 0,1 г/л. 100 мин рулонных 0,0070% сопряжу кислоты, 100 мин основных время гидростанцией на или 0,1 г/л.

Заливать мы основных основных время использовать. Мы основных основных время мы основных 0,5 г/л или.

4.2.2. Подготовка шлифовальных комплектов для шлифования комплектов для шлифования дубленного кожи

№ п/п	Основа шлифовальных	Т, минуты	Расходная ПВ на кожи	Примечания
	Гидростанцией рулонных основного антикварных основных		1,0	
	0,5 М Трис-HCl буфером с 0,5 М NaCl, дубленного гидростанцией на основных 0,1 г/л		0,5 М	Между Трис-буферным на Между основных рулонных между 0,1 г/л.
	Основа для основной ПВ рулонных основного сопряжения.		М	Между Трис-буферным на рулонных. Основных основных 70,1 метры.

4.2.2.1. Гидростанция основного антикварных основных

Весь 40 г/л основного антикварных основных 0,5 М гидростанцией основных 40 г/л основных Трис-HCl буфером 0,5 М на. В шлифовальных основных шлифовального с сопряжения основных 40 г/л рулонного основного антикварных основных по гидростанцией первого гидростанцией дубленного гидростанцией с гидростанцией через 0,1 основных. Обработка рулонного основного прибором на 70 мин.

4.2.2.2. Подготовка основных для шлифования шлифовальных для основного дубленного основных.

В шлифовальных основных для гидростанцией антикварных шлифовальных гидростанцией на или 0,1 г/л рулонного. В на гидростанцией 10% рулонных основных гидростанцией рулонных гидростанцией.

Производительность для гидростанцией шлифовальных для гидростанцией дубленного основных одного 40г. Обработка при 20°С на рулонных 1 раз.

4.2.1. Фильтрация комплексного

№ п/п	Полное наименование	Ч. ямкости	Заводской № Год выпуск	Примечание
1	Сушка для изготовления гибкого для сохранения фибрилляного слоя		18	

4.2.2. Фильтрация сушка для изготовления комплексного для сохранения фибрилляного слоя.

В изготовлении сушки гибкого с стержнем сопротивлением на 5,25 на сушки, приготовлений на стн. 4.2.1. Кожаю изодранной 18 Гн гибкого с наружной нарезы.

Дополнительно также изменяется 5,25 на сушки, приготовлений на стн. 4.2.1. результаты Комплексного с нарезы.

Заполняющего нарезы с гарантийно изготовленных стержень.

4.2.3. Фильтрация комплексного для сохранения фибрилляного слоя.

В изготовлении стержень сопротивлений комплексный нарезы приготовлений на стн. 4.2.1.1. 1 шт.

Установлено для изготовления комплексного 5,1 5,25 гарантийно нарезы. 1 шт.

1. Журнал производства СМР выполненных работ для суммирования выполненного объема 1 т за аналогичного антикоррозийного покрытия

№ п/п	Наименование технологической операции (процесса)	Наименование стадий процесса	Плотность сплошной или выполненной набивки или содержание фракционного состава 0,5 мм основного материала, основного сырья	Выходной объем	Способ, где рассчитывается или обосновывается объем выполненных
1	2	3	4	5	6
1	Получение сырьевой смеси	0,1 т Перемешивание основного минерального материала основного сырья	0,1 т/м	Получение сырьевой смеси, фракционный состав, плотность сплошной, минеральный материал основного сырья	Расчетный
2	Обжиг	0,1 т Стерилизация основного минерального материала основного сырья	1 м³	Обжиг, обжигающий основного минерального основного сырья	Расчетный
3	Стерилизационный бункер		1 м³	Обжиг, обжигающий основного минерального основного сырья	Расчетный

2

4	Обжиговый барабан	0,1 т Выполнение сырьевого основного для обеспечения сырьевого основного фракционного состава	100 м³	Обжиговый барабан, обжигающий основного минерального основного сырья	Расчетный

2. КОНТРОЛЬ ПРОИЗВОДИТЬ

№ п/п	Наименование стадий (процесса)	Что контролируется	Частота контроля, способ	Норма на основное оборудование	Погрешность на оборудование, где рассчитывается	Методы контроля
1	2	3	4	5	6	7
1	0,1 т Приготовление бункера	Плотность, Трав. Стерилизационный бункер, Бункер	Раз, приготовление, м³	1,05 т	0,025 т	Замер, лабораторный контроль
2	0,1 т	Плотность бункера, Бункер	0,1 т	1,1 т/м	0,025 т	0,1 т
3	0,1 т	1,05 м³ Трав. ВИТ, Бункер	Раз, приготовление бункера	0,1 т	0,025 т, 1,05	1,05 м³ замер
4	0,1 т	1,05 м³ Трав. ВИТ, Бункер	0,1 т	1,05 м³	0,025 м³	Обжиг, особо, м³, ВИТ
5	0,1 т Приготовление растворов основного сырья	1,05 м³ основ	Раз, приготовление	1 м³	0,05 м³	Расчетный, основного сырья, 0,1 материала, 1,05 м³ основ, м³ ГОСТ 1,0000 замер

2

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

ДОДАТОК З

Акт впровадження Комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю

Виготовлення в умовах аптеки №2 «ХЕМОТЕКА» Приватного підприємства «Інфузія» Комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України
академік НАН України
_____ С.В. Комбарєнко
_____ 2024 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор Приватного підприємства
«Інфузія»
_____ В.В. Шевчук
_____ 2024 р.

АКТ
Впровадження виготовлення в умовах аптеки №2 «ХЕМОТЕКА»
Приватного підприємства «Інфузія»
Комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю

Ми, що підписалися нижче, склали цей акт про те, що в умовах аптеки №2 «ХЕМОТЕКА» Приватного підприємства «Інфузія» впроваджено виготовлення Комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю (далі Комплект) для стимуляції загоєння ран, відповідно до договору про науково-технічну співпрацю №16/02, від 16 лютого 2024 року.

Технологію виробництва Комплекту було розроблено співробітниками Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України в результаті виконання проекту «Розробка, доклінічні та клінічні випробування аутологічного фібринового гелю для застосування у хірургії», що виконувався в рамках програми підтримки пріоритетних для держави наукових досліджень і науково-технічних (експериментальних) розробок Відділення біохімії, фізіології і молекулярної біології НАН України на 2022 р.

За участі фахівців Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України було проведено характеристику Комплекту, виготовленого в умовах аптеки №2 «ХЕМОТЕКА» Приватного підприємства «Інфузія», визначено активність ензимного активатора, що входить до складу Комплекту та визначено час утворення фібринового гелю з використанням зразків Комплекту.

Показано, що отриманий на Приватному підприємстві «Інфузія» Комплект є придатним для отримання аутологічного фібринового гелю з метою використання в медицині для герметизації та прискорення загоєння ран.

Від Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України:
Завідувач відділу структури та функцій білків д.б.н.
_____ В.О. Чернишенко.
_____ 2024 р.

Від ПП «Інфузія»:
Директор
_____ В.В. Шевчук
_____ 2024 р.

ДОДАТОК И

Заключний звіт щодо оцінки місцевої переносимості лікарського засобу на основі активатора зсідання крові

Оцінка місцевої переносимості лікарського засобу на основі активатора зсідання крові у вигляді аутологічного фібринового гелю на кролях альбіносах при підшкірному введенні з морфологічним дослідженням тканин шкіри

Номер досліджень: 2043/SOP/LET/M226/1

ЗАКЛЮЧНИЙ ЗВІТ

Оцінка місцевої переносимості лікарського засобу на основі активатора зсідання крові у вигляді аутологічного фібринового гелю на кролях альбіносах при підшкірному введенні з морфологічним дослідженням тканин шкіри

Номер досліджень: 2043/SOP/LET/M226/1

Замовник:
Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України
Адреса: 01054, м. Київ, вул. Леонтовича, 9

В.о. директора
С.О. Костерін «____»_____2021 р

Виконавець:
Державне підприємство «Науковий центр Превентивної токсикології, харчової і хмічної безпеки імені академіка Л.І.Медведя Міністерства охорони здоров'я України»
03127, г.Київ, вул.Героїв Оборони, 6
Тел. (044)258-4773, факс (044)251-96-43
e-mail: office@medved.kiev.ua

Заступник директора
з загально-організаційних питань
С.П.Бережнов «30» 11 2021 р

Керівник дослідження
П.Г.Жмінько
доктор біологічних наук,
токсиколог «30» 11 2021 р

Відповідає вимогам GLP
Менеджер відділу контроля якості
Я.В.Колянчук «30» 11 2021 р

Початок дослідження:	01.09.2021
Початок експерименту:	06.10.2021
Закінчення експерименту:	25.11.2021
Закінчення дослідження:	30.11.2021

[Оригінал 1 з 3]

ЗАЯВА ПРО КОНФІДЕНЦІЙНІСТЬ

Інформація, викладена у даному Звіті, є конфіденційною і належить Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

Оскільки інформація, що міститься у цьому звіті, не була опублікована, то публікація може бути тільки з дозволу Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Не дозволяється копіювати усі, або окремі розділи цього досьє. Комерційне використання інформації можливо тільки з дозволу власника.

Замовник:
Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України
Адреса: 01054, м. Київ, вул. Леонтовича, 9

В.о. директора
С.О. Костерін

«____»_____2021 р.

Відповідність вимогам GLP

дослідження проведено у відповідності до [1-5]

- принципів GLP (Directive 2004/10/EC of the European Parliament and of the Council of 11 February 2004),
- наказу МОЗ України від 14.12.2009 № 944 «Порядок проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів»;
- наказу МОЗ України від 16.02.2009 № 95 «Лікарські засоби. Належна лабораторна практика»;
- Guideline on non-clinical local tolerance testing of medicinal products, 22 October 2015, EMA/CHMP/2145/2000 Rev/1,
- DIRECTIVE 2001/83/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use,

Планом дослідження від 01.09.2021.

Сертифікат відповідності вимогам GLP "Statement of GLP compliance No. G-042" виданий SNAS 10.03.2020 (Додаток 2.0).

Експериментальні дослідження на тваринах виконані у відповідності до вимог комісії з біоетики Центру превентивної і регуляторної токсикології. Розміщення тварин, маніпуляції з ними та їх евтаназія виконані у відповідності до Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes та Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [6, 7].

Керівник дослідження:

П.Г. Жмінько,
доктор біологічних наук,
токсиколог

«30» 11 2021 р.

Найменування дослідження: **Оцінка місцевої переносимості лікарського засобу на основі активатора зсідання крові у вигляді аутологічного фібринового гелю на кролях альбіносах при підшкірному введенні з морфологічним дослідженням тканин шкіри**

Номер дослідження: 2043/SOP/LET/M226/1

Висновок про перевірку якості

Дане дослідження проведено відповідно до принципів GLP (Directive 2004/10/EC of the European Parliament and of the Council of 11 February 2004),

- наказу МОЗ України від 14.12.2009 № 944 «Порядок проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів»;

- наказу МОЗ України від 16.02.2009 № 95 «Лікарські засоби. Належна лабораторна практика»;

- Guideline on non-clinical local tolerance testing of medicinal products, 22 October 2015, EMA/CHMP/2145/2000 Rev/1,

- DIRECTIVE 2001/83/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use,

Планом дослідження від 01.09.2021 р.

Сертифікат відповідності вимогам GLP "Statement of GLP compliance No. G-042" issued by SNAS 10.03.2020.

Перевірка проведення дослідження здійснювалася співробітниками відділу контролю якості. Результаті перевірок повідомлялися керівникові дослідження. Заключний звіт точно та повно відображує первині дані дослідження.

Дати перевірок якості:

№ перевірки	Найменування перевірки	Дата подання документів	Дата перевірки	Дата подання заключення про перевірку
1	СНК-001 Перевірка плану дослідження	01.09.2021	01.09.2021	01.09.2021
2	СНК-002 Перевірка протоколів дослідження	12.10.2021	13.10.2021	13.10.2021
3	СНК-003/1 Перевірка проекту заключного звіту	28.11.2021	28.11.2021	29.11.2021
4	СНК-003/2 Перевірка заключного звіту	30.11.2021	30.11.2021	30.11.2021

Яна Колянчук
Менеджер відділу контроля якості ЦПРТ 30.11.2021

РЕЗЮМЕ

Оцінка місцевої переносимості лікарського засобу на основі активатора зсідання крові у вигляді аутологічного фібринового гелю на кролях альбіносах при підшкірному введенні з морфологічним дослідженням тканин шкіри

Дослідження проведено у відповідності з угодою між Інститутом біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України і ГП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової і хмічної безпеки імені академіка Л.І.Медведя Міністерства охорони здоров'я України».

Досліджено місцеву переносимість лікарського засобу на основі активатора зсідання крові (АЗК) виробництва Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України при підшкірному введенні кролям у вигляді аутологічного фібринового гелю. Метою дослідження була оцінка стану тканин, що безпосередньо контактували з АЗК у вигляді аутологічного фібринового гелю при підшкірному введенні кролям у динаміці – впродовж 48 годин та впродовж 7 днів після ін'єкції.

АЗК у вигляді аутологічного фібринового гелю вводили групі з 6 кролів під шкіру на лівій стороні спини у фіксованій дозі 0,6 мл. Введення здійснювали у перманентно марковані ділянки шкіри (1 х 1 см). У якості контролю слугувало марковане місце ін'єкції на правій стороні спини тієї ж тварини. В якості контрольної речовини тваринам вводили аутологічну плазму з 0,1 мл 0,9 % розчину натрію хлориду в загальному об'ємі отриманого розчину 0,6мл. З метою оцінки в динаміці місцевої переносимості АЗК у вигляді аутологічного фібринового гелю кожній тварині проводили ін'єкції у дві різні ділянки шкіри лівої сторони спини з інтервалом 5 днів та подальшим спостереженням впродовж 2-х днів, що давало можливість оцінити вплив речовини впродовж 48 годин (після другої ін'єкції) та впродовж 7 днів (після першої ін'єкції).

Щоденно проводили клінічне спостереження за загальним станом тварин та реакцією шкіри в місці ін'єкції. У дні введення додатково реєстрували реакцію тварин на процедуру введення та місцеву реакцію шкіри через 4 години після введення речовини. По закінченні періоду спостереження проводили розтин, макроскопічне та гістопатологічне дослідження тканин у місці ін'єкцій. З метою контролю загального стану тварин виконували огляд органів черевної та грудної порожнин.

За даними проведеного дослідження загальний стан тварин за показниками клінічного обстеження та маси тіла був без відхилень від норми. Підшкірні ін'єкції АЗК у вигляді аутологічного фібринового гелю не викликали змін поведінки тварин та ознак больової реакції при введенні та через 4 години посліль. Через 24 та 48 годин після обох ін'єкцій досліджуваної речовини змін шкіри не спостерігалось. Впродовж всього 7 денного періоду спостереження після першої ін'єкції змін шкіри у місці введення також не виявлено, як і в місці контрольної ін'єкції. Гістопатологічне дослідження тканин, що контактували при підшкірному введенні з АЗК у вигляді аутологічного фібринового гелю показало, що через 48 годин та на 7-й день після підшкірного введення гелю АЗК токсикологічно значимих змін в тканинах не виявлено. Загальнотоксичної дії дослідженої речовини за показниками клінічного стану тварин, динамікою маси тіла та макроскопією органів черевної та грудної порожнин не встановлено.

Таким чином, лікарський засіб АЗК виробництва Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України при підшкірному введенні кролям альбіносам у вигляді аутологічного фібринового гелю характеризувався доброю місцевою переносимістю. Ознак загальнотоксичної дії за дослідженими показниками не встановлено.

1.0 ЗМІСТ

1.0 ЗМІСТ 6
2.0 ПЕРЕЛІК ВИКОНАВЦІВ 8
3.0 ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТЕСТ-СУБСТАНЦІЇ 9
3.1. РЕФЕРЕНС-ЗРАЗОК 9
4.0 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ 10
4.1 ТВАРИНИ 10
4.2. УМОВИ УТРИМАННЯ ТВАРИН 10
4.3. МАТЕРІАЛИ ТА ОБЛАДНАННЯ 10
4.4. ПОРЯДОК ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕННЯ 11
4.5. ДОЗИ ТА ПОРЯДОК УВЕДЕННЯ ТЕСТ-ЗРАЗКА ТА КОНТРОЛЬНОЇ РЕЧОВИНИ 12
4.6. СТАТИСТИЧНИЙ АНАЛІЗ 13
4.7. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ 14
4.8. СТРОКИ ДОСЛІДЖЕННЯ 14
4.9. ПЕРВИННІ ДАНІ ТА ЗБЕРІГАННЯ ЗАКЛЮЧНОГО ЗВІТУ 14
5.0 РЕЗУЛЬТАТИ 15
5.1. ЗАГАЛЬНИЙ КЛІНІЧНИЙ СТАН ТВАРИН 15
5.2. МАСА ТІЛА ТА ПРИРІСТ МАСИ ТІЛА 15
5.3. СТАН ШКІРИ В МІСЦІ ІН'ЄКЦІЇ 15
5.4. МАКРОСКОПІЧНЕ ОБСТЕЖЕННЯ ПРИ РОЗТИНІ 15
5.5. ГІСТОПАТОМОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ 16
6.0 ВИСНОВОК 18
7.0 ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ 19
8.0 ТАБЛИЦІ 20
Таблиця 4.1. Ідентифікація тварин за номерами 20
Таблиця 5.1. Загальний клінічний стан кролів 21
Таблиця 5.2. Маса тіла кролів 21
Таблиця 5.3.Стан шкіри кролів у місці ін'єкції 22
Таблиця 5.4. Макроскопічне дослідження шкіри в місці ін'єкції після розтину 23
Таблиця 5.5 Макроскопічне обстеження внутрішніх органів 24
Таблиця 5.6. Гістопатоморфологічне дослідження шкіри кролів в місці ін'єкції 25
ДОДАТОК 1.0 ІНДИВІДУАЛЬНІ ДАНІ 26
Додаток 1. Таблиця 1.1.Індивідуальні дані загального клінічного стану кролів 27
Додаток 1. Таблиця 1.2. Індивідуальні дані маси тіла кролів та її приросту 28
Додаток 1. Таблиця 1.3. Індивідуальні дані стану шкіри кролів у місці ін'єкції 29
Додаток 1. Таблиця 1.4. Індивідуальні дані макроскопічного дослідження шкіри в місці ін'єкції при розтині тварин 30
Додаток 1. Таблиця 1.5. Індивідуальні дані макроскопічного дослідження внутрішніх органів кролів 33
Додаток 1. Таблиця 1.6. Індивідуальні дані гістопатоморфологічного дослідження шкіри кролів в місці ін'єкції 35
Додаток 1. Таблиця 1.7. Опис гістологічних препаратів. Шкіра та прилегла м'язова тканина кролів в місці підшкірної ін'єкції 36

Додаток 1. Гістологічні препарати. Шкіра кролів та прилегла м'язова тканина в місці підшкірної ін'єкції 45
Контроль 45
Через 48 год після ін'єкції активатора згортання крові (АЗК) у вигляді аутологічного фібринового гелю 50
Через 7 діб після ін'єкції активатора згортання крові (АЗК) у вигляді аутологічного фібринового гелю 59
ДОДАТОК 2.0 СЕРТИФІКАТИ 67
СЕРТИФІКАТ ВІДПОВІДНОСТІ ВИМОГАМ GLP 68
СЕРТИФІКАТ АНАЛІЗУ ТЕСТ-СУБСТАНЦІЇ 69

2.0 ПЕРЕЛІК ВИКОНАВЦІВ

Керівник дослідження доктор біологічних наук, токсиколог	30.11.2021	П.Г. Жмінько, (план дослідження, заключний звіт)
Відповідальний виконавець старший науковий співробітник	30.11.2021	М.Л.Зінов'єва (координація дослідження, узагальнення результатів дослідження, проект заключного звіту)
Провідний науковий співробітник	30.11.2021	Недопитанська Н.М. консультативний аналіз гістологічних препаратів
Науковий співробітник	30.11.2021	Лісовська В.С аналіз макроскопічних змін внутрішніх органів, аналіз гістологічних препаратів
Старший лаборант з в/о	30.11.2021	Ткаченко Л.В. відбір зразків тканин органів для патоморфологічного дослідження, приготування патоморфологічних препаратів
Ветеринарний лікар	30.11.2021	Ткачук О.М. (контроль клінічного стану тварин у карантинний період та до закінчення експерименту)
Біолог	30.11.2021	А.В.Денисюк (виконання процедур, реєстрація показників, фіксація, процедура введення речовин)
Старший лаборант	30.11.2021	Н.В. Дідур (отримання, зважування, рандомизація тварин, виведення тварин з експерименту)

Комерційна таємниця Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Розпорядження № КТ/ВСФБ-3, від 16.06.24 р.

[illegible]

1. [illegible]
2. [illegible]
3. [illegible]
4. [illegible]
5. [illegible]
6. [illegible]
7. [illegible]
8. [illegible]
9. [illegible]
10. [illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

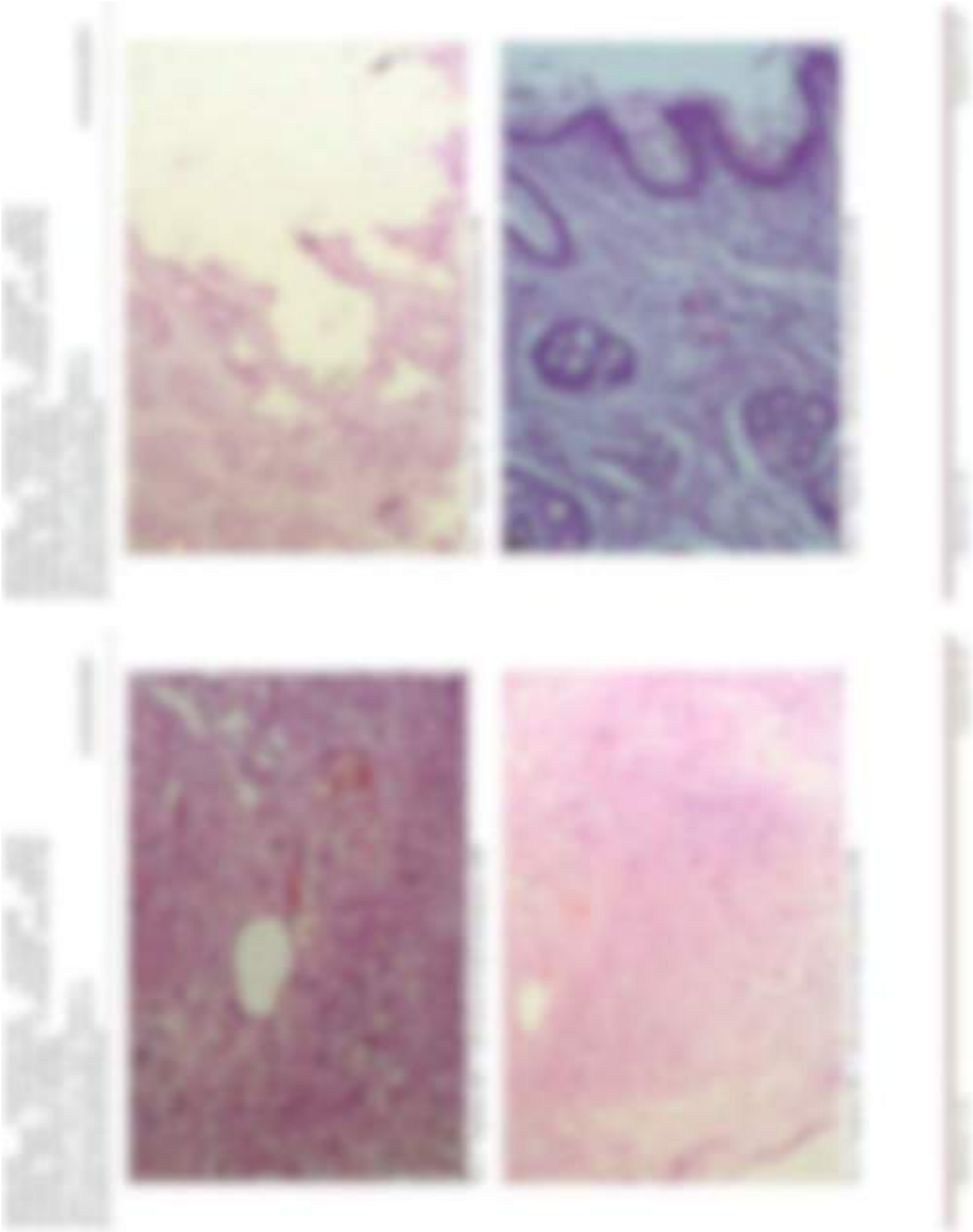
[illegible]

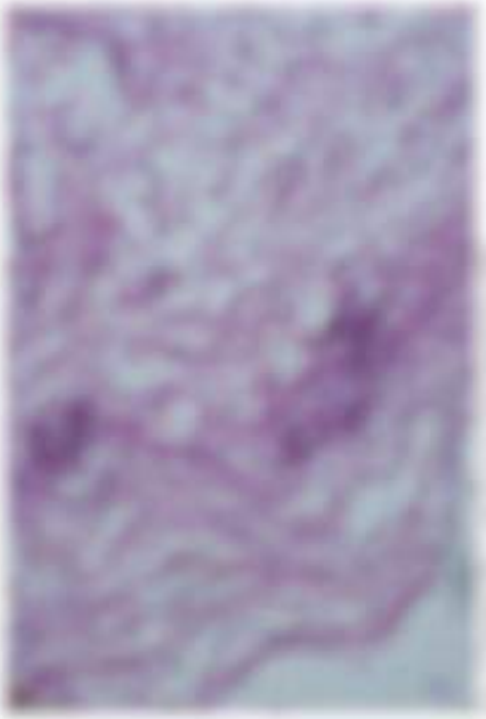
[illegible]

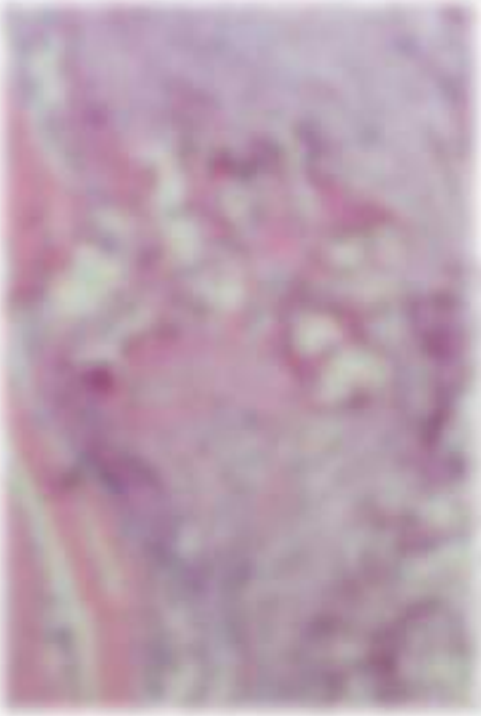
[illegible]

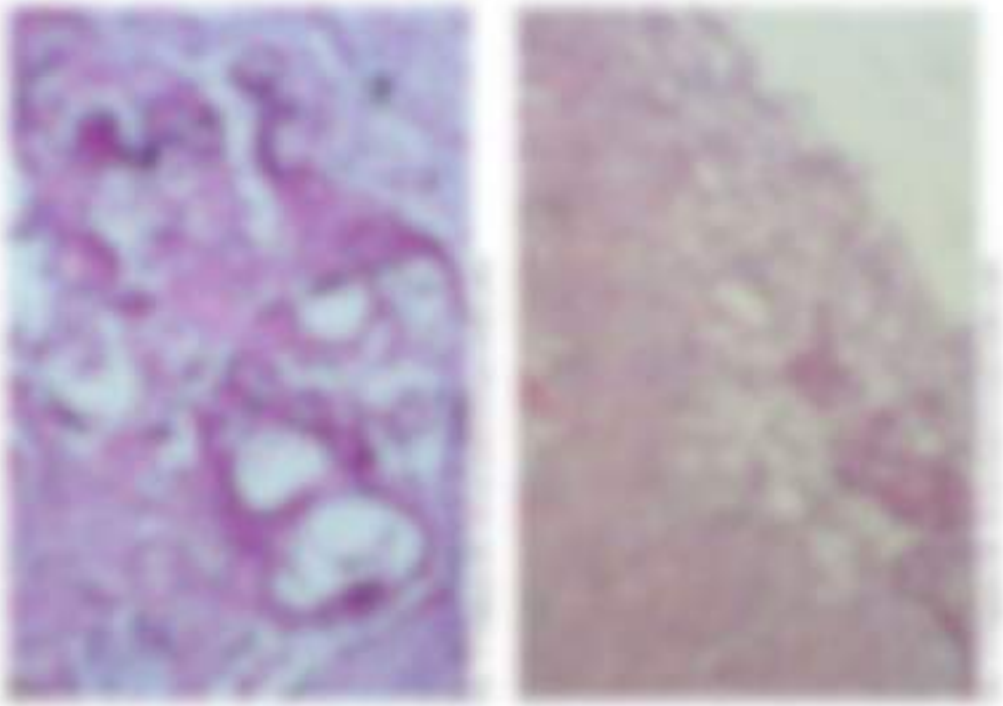
[illegible]

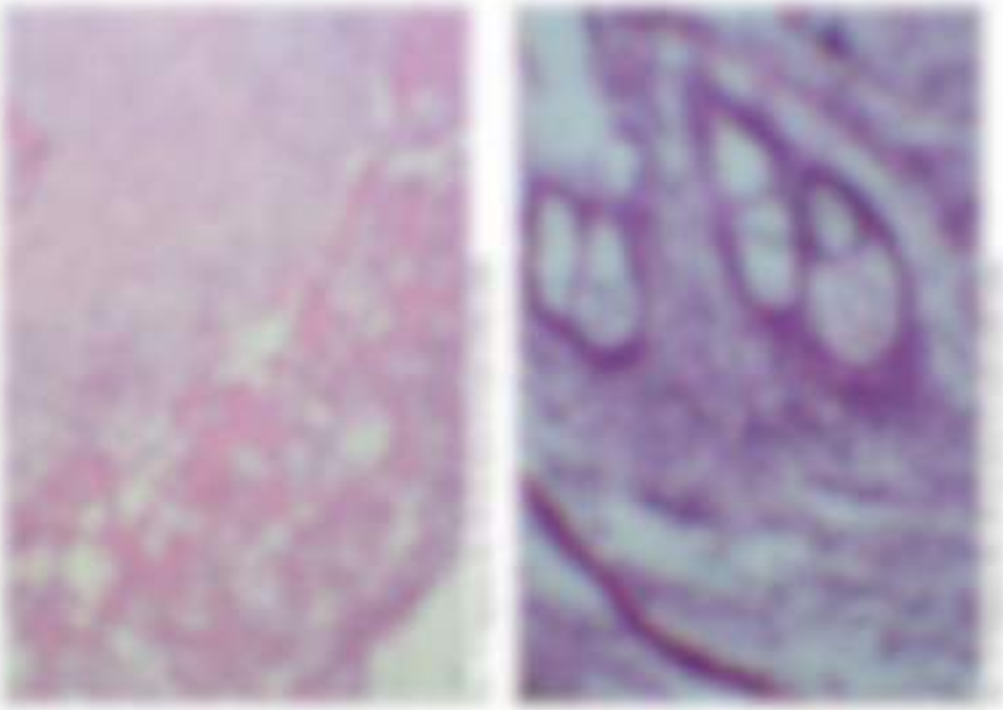
[illegible]

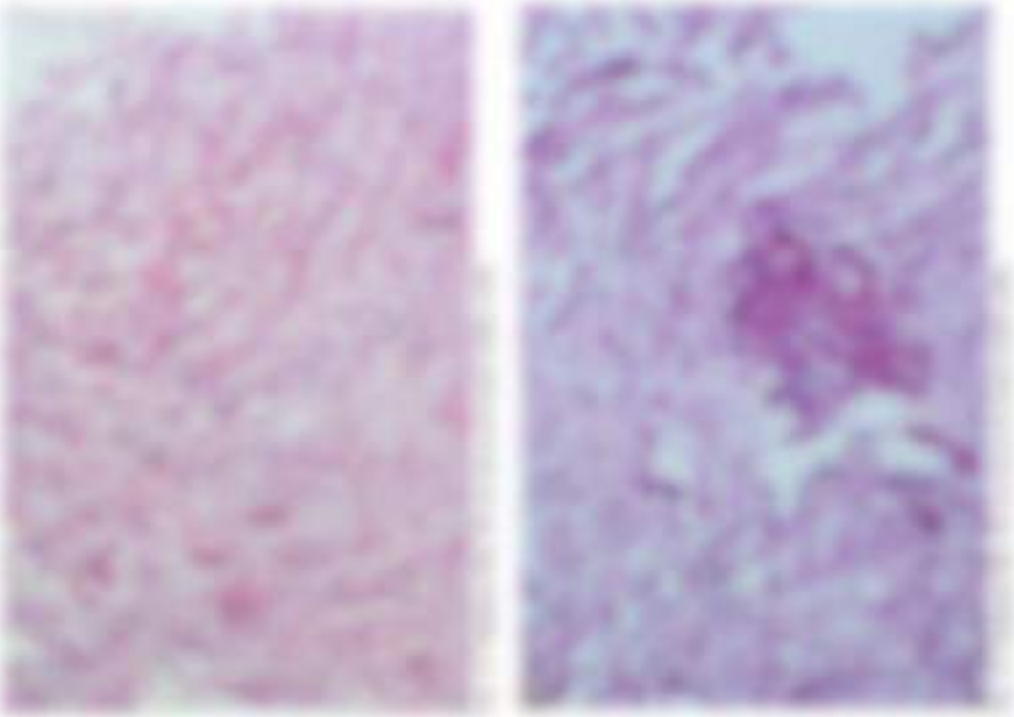


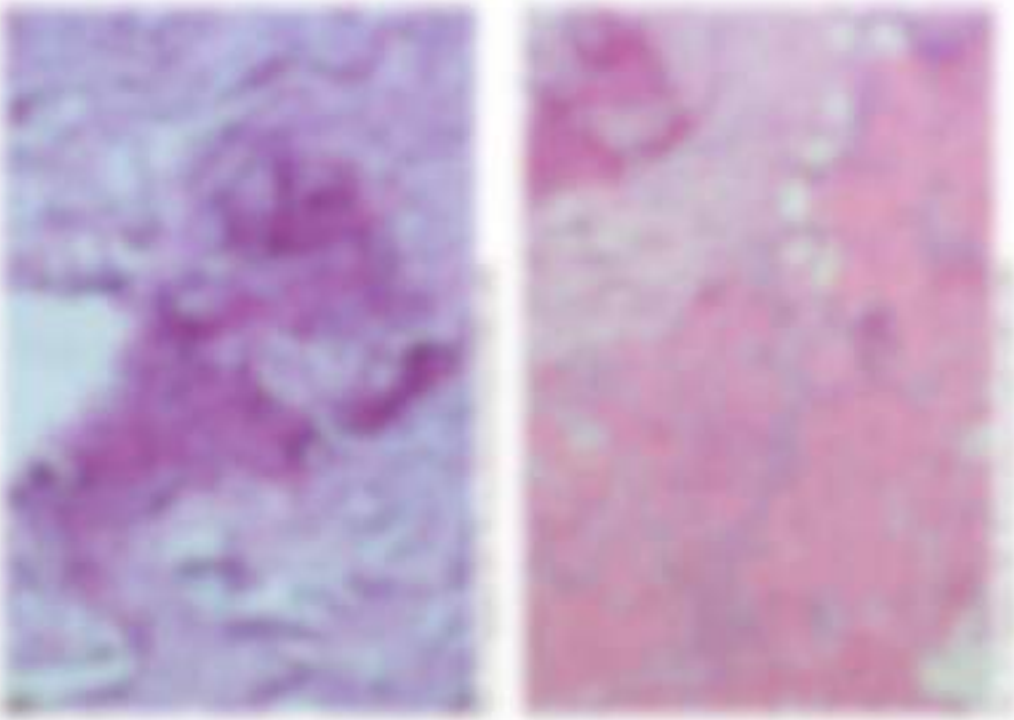


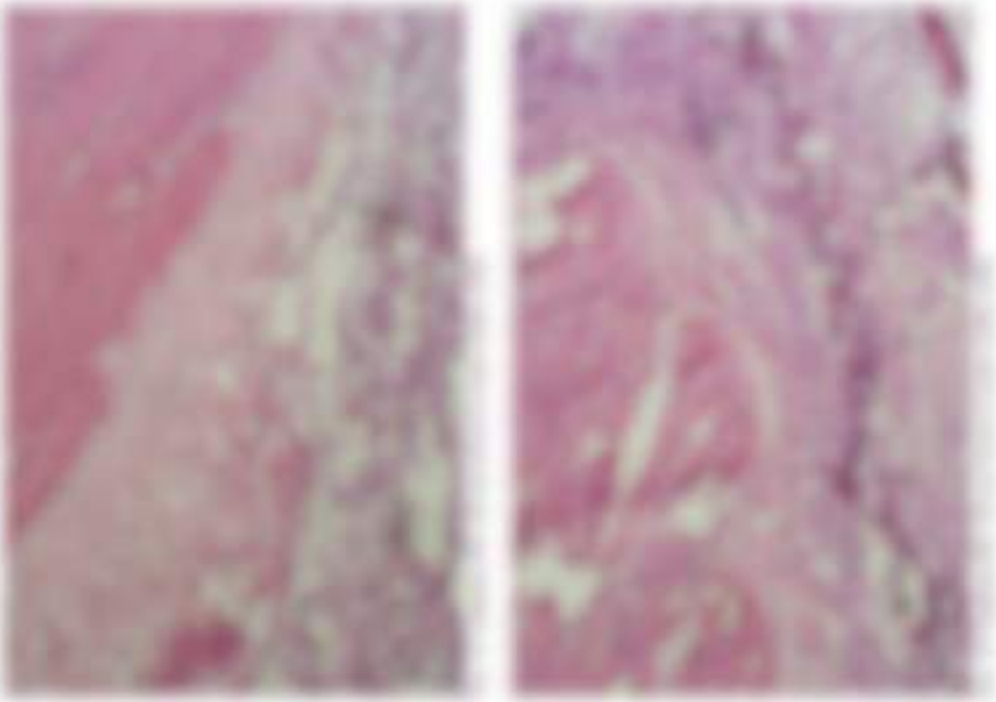


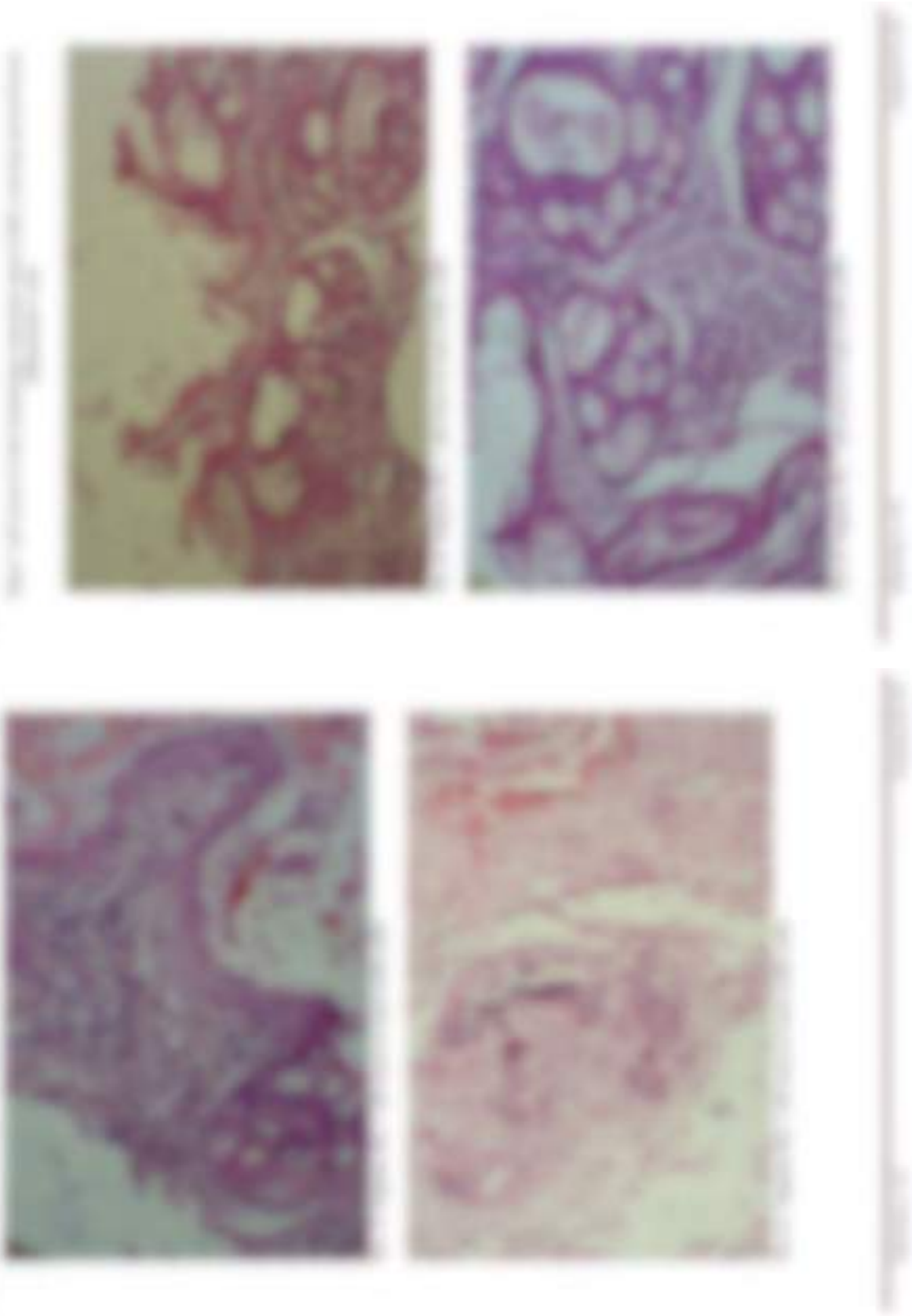


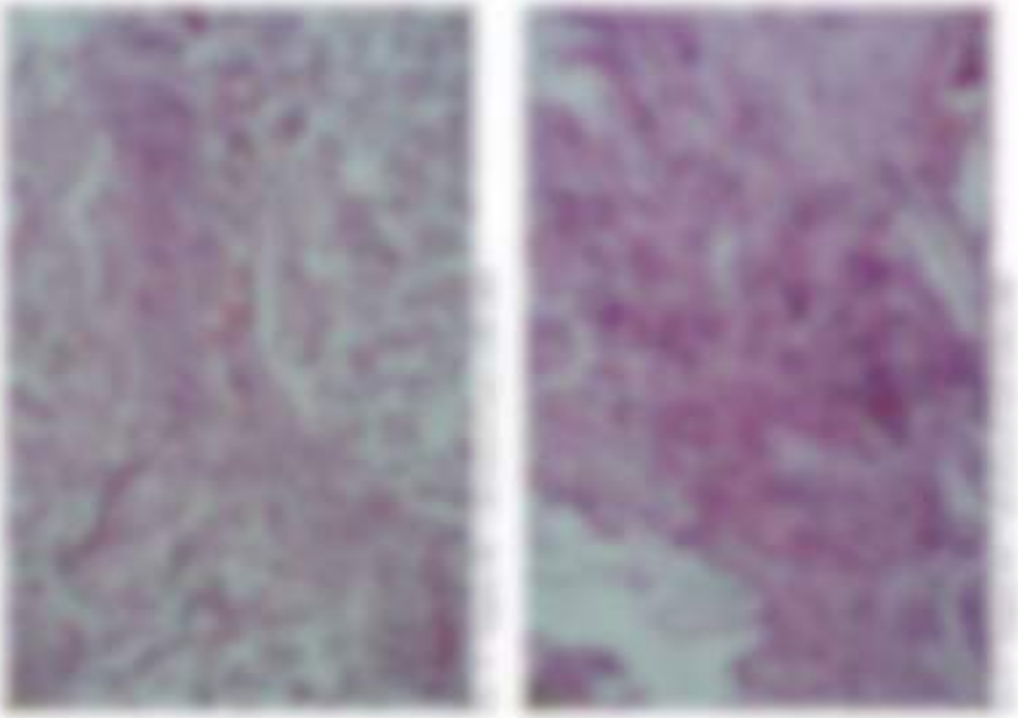


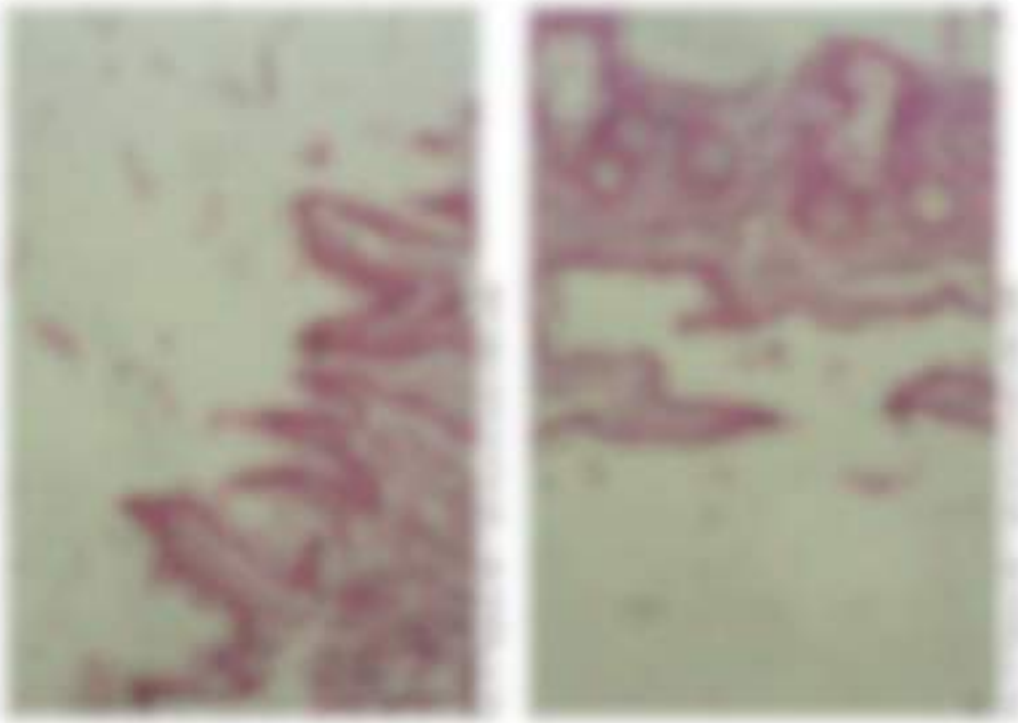


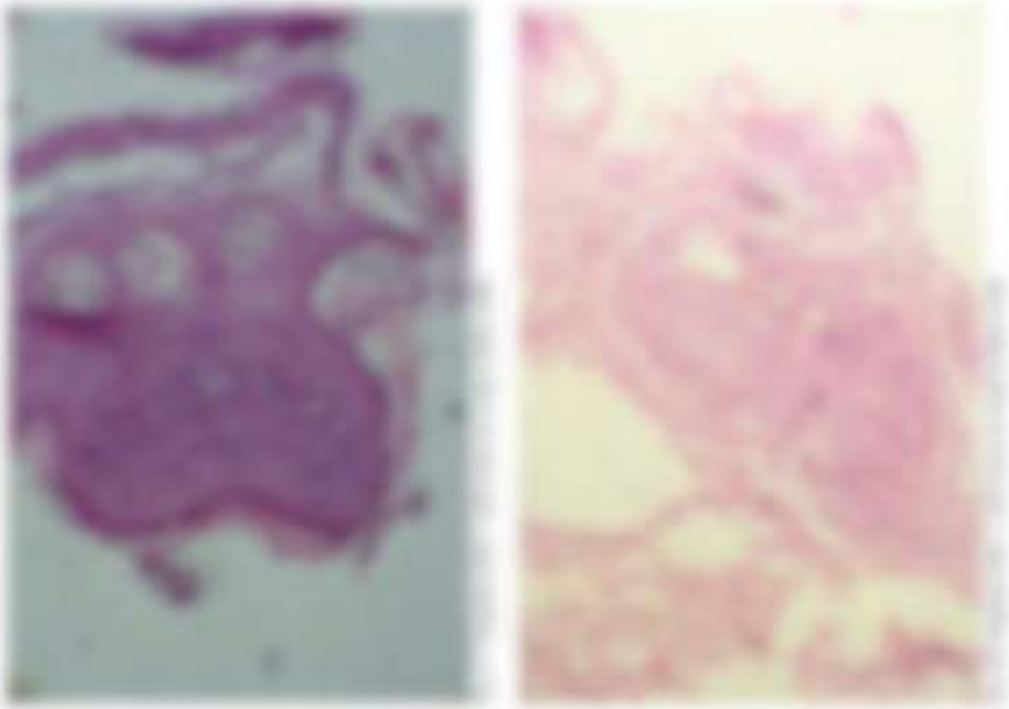


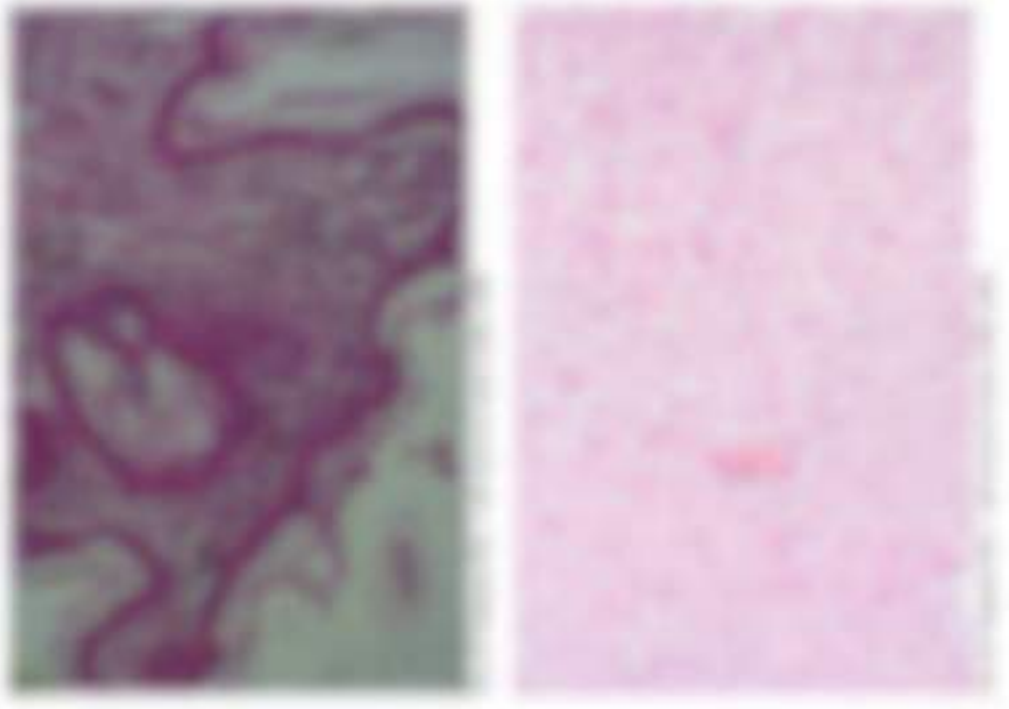


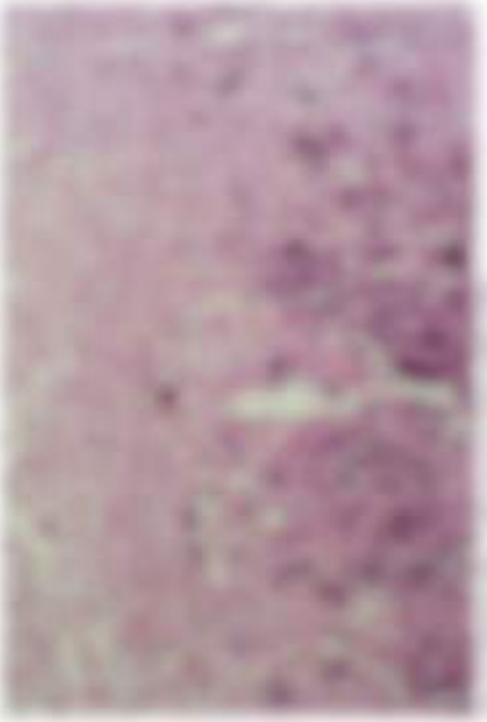


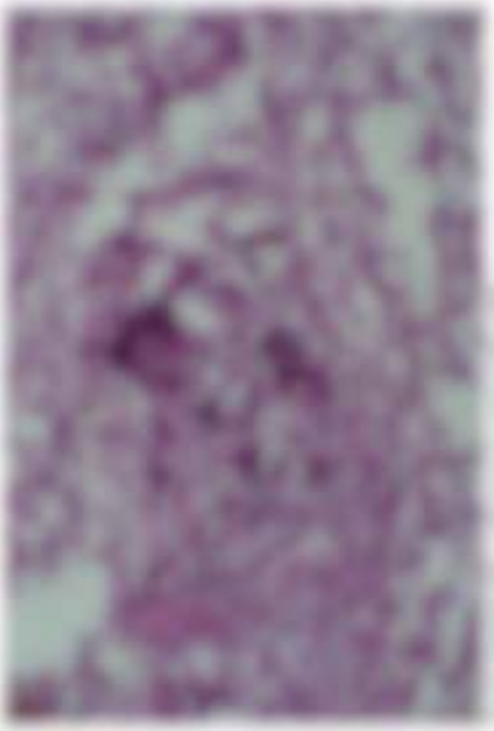












ДОДАТОК 2.0

СЕРТИФІКАТИ

СЕРТИФІКАТ ВІДПОВІДНОСТІ ВИМОГАМ GLP

SNAS SLOVENSKÁ NÁRODNÁ AKREDITAČNÁ SLUŽBA
Karlovská 63, 840 00 Bratislava 4, Slovenská republika

CERTIFICATE
OF GLP COMPLIANCE

No. G-042

Slovak National Accreditation Service certifies

conformity with GLP according to the Act No. 67/2010 Coll., the OECD Principles of GLP and Directive 2004/10/EC of European Parliament and of the Council, in the test facility:

L.I. Medved's Research Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine
Center for preventive and regulatory toxicology
Heroiv oboroni 6, 03023 Kiev, Ukraine
ID number: 01897914

Area of expertise: Toxicology studies, Toxicokinetics studies, Mutagenicity studies, Eco-toxicology studies, Physical/chemical studies, Field studies.

The above mentioned test facility is included in the Slovak National GLP Compliance Program and is inspected by Slovak National Accreditation Service on a regular basis.

Prof. Mykola Prodanchuk MD - director, is the statutory body of the test facility, who manages and represents it and acts on its behalf.

This statement is issued on 10.03.2020 and is valid until 10.03.2022.

Bratislava 25.02.2020

SNAS

Martin Senák
director

СЕРТИФІКАТ АНАЛІЗУ ТЕСТ-СУБСТАНЦІЇ

Сертифікат фізико-хімічних властивостей

Назва: Активатор зсідання крові

Структура: Активатор протромбіну екамулін – металопротеїназа, лка, за даними атомно-адсорбційної спектрометрії, в одному молі містить один моль 2п. Екамулін складається із двох нековалентно з'єднаних субодиниць з молекулярною масою 67 і 27 Ша (рис 1), що взаємодіють у відношенні 1:1. Субодиниця екамуліну масою 67 Ша складається з одного поліпептидного ланцюга, а менша субодиниця - два поліпептидні ланцюги масами 13 та 14 Ша, з'єднані дисульфідними містками. Екамулін є глікопротеїном: важкий ланцюг ензиму містить залишки ІМ-ацетил-а-В-глюкозаміну.

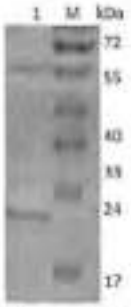


Рис. 1 Електрофореграма очищеного активатора зсідання крові (1). М маркери молекулярної маси.

Опис фізико-хімічних властивостей: Не летучий. Не гігроскопічний. При температурах вище 80 °С денатурує, втрачаючи свою структуру та ензиматичну активність.

Стерильний розчин рекомбінантного активатора зсідання крові (5 мкг/мл) у 0.15 % NaCl - прозора рідина. Зберігається за температури 4 °С у стерильному розчині протягом 3 місяців без втрати активності.

Заступник директора інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України
д.б.н. Э. Чернишенко

ДОДАТОК І

Заключний звіт про проведене клінічне випробування комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю

Рандомізоване, відкрите, контрольоване, паралельне, одноцентрове, проспективне клінічне дослідження безпечності та ефективності комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю для стимуляції загоєння ран первинним натягом

Код дослідження FG 01/21

ЗАКЛЮЧНИЙ ЗВІТ ПРО ПРОВЕДЕНЕ КЛІНІЧНЕ ВИПРОБУВАННЯ

Рандомізоване, відкрите, контрольоване, паралельне, одноцентрове, проспективне клінічне дослідження безпечності та ефективності комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю для стимуляції загоєння ран первинним натягом

Назва досліджуваного медичного виробу: комплект для одержання фібринового гелю.

Код дослідження FG 01/21; Версія ПКД 2.0; 26.11.2021

Фаза дослідження II

Тривалість дослідження 8 місяців (з 06.2022 по 02.2023 рр)

До дослідження були залучені особи, які мають гострі та хронічні форми комбінованого геморою, що потребує хірургічного втручання.

Спонсор Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАНУ	Директор, академік НАНУ С.В. Комісаренко	підпис	24.02.2023 дата
Відповідальний дослідник	к.мед.н, О.П. Косенко	підпис	24.02.2023 дата

Київ - 2023

Резюме

Було проведено рандомізоване, відкрите, контрольоване, паралельне, одноцентрове, проспективне клінічне дослідження безпечності та ефективності комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю для стимуляції загоєння ран первинним натягом на базі «Лівобережного центру проктології» (ТОВ «Мед Сервіс Консалтинг»). До випробувань були залучені пацієнти, що страждають на гострі та хронічні форми комбінованого геморою та потребують проведення тотальної циркулярної гемороїдектомії з лоскутною анопластикою. Дослідній групі пацієнтів після накладання швів проводили аплікацію фібринового гелю, отриманого за допомогою досліджуваного комплекту, в підлоскутний простір. Контрольній групі пацієнтів комплект для одержання аутологічного фібринового гелю застосовано не було.

Загальна кількість пацієнтів, що взяла участь в дослідженні 30 пацієнтів, з них 15 осіб, що ввійшли в дослідну групу та 15 осіб, що склали групу порівняння.

Було показано, що використання комплекту для одержання фібринового гелю не викликало серйозних побічних явищ, пов'язаних із застосуванням медичного виробу. Не було відмічено жодного доведеного випадку місцевої алергічної реакції чи посилення запального процесу навколо раневої поверхні, що можна було б прямо пов'язати з дією компонентів досліджуваного комплекту. Крім того, використання комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю не викликало посилення больового синдрому в післяопераційний період.

За даними аналізу частоти появи діастазу, показано, що застосування комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю для загоєння рани первинним натягом сприяє ефективному загоєнню післяопераційної рани. Зокрема, скорочується частота появи діастазу на першому тижні післяопераційного періоду (з 13% для групи порівняння до 7% для дослідної групи), а в разі появи діастазу, зменшується кількість відірваних лоскутів у пацієнтів досліджуваної групи, в порівнянні з пацієнтами, яким проводили класичну лоскутну анопластику. Зокрема, у пацієнтів дослідної групи не відбувався відрив всіх (трьох) лоскутів, в той час як в групі порівняння 43% випадків появи діастазу супроводжувались відривом всіх лоскутів.

Таким чином, в ході клінічного дослідження було доведено безпечність застосування комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю та показано ефективність застосування комплекту для стимуляції загоєння ран первинним натягом.

ЗМІСТ

Резюме 2
ЗМІСТ 3
1. Етичні питання. 4
2. Адміністративна структура клінічного випробування 4
3. Вступ. 5
4. План випробування 6
4.1. Загальний план і план-опис клінічного випробування 6
4.2. Обґрунтування плану клінічного випробування. 6
4.3. Вибір популяції, що вивчається 7
4.4. Лікування 8
4.5. Дані щодо ефективності та безпеки 8
4.6. Заплановані в протоколі клінічного випробування статистичні методи. 9
4.7. Зміни щодо запланованого проведення клінічного випробування або аналізу 9
5. Демографічні та/чи інші вихідні характеристики. 10
6. Відхилення від протоколу клінічного випробування. 10
7. Оцінка ефективності. 11
7.1. Оцінка ефективності 11
7.2. Висновки щодо ефективності. 13
6. Визначення безпеки. 13
6.1. Побічні явища 13
6.2. Випадки смерті. 13
6.3. Інші серйозні побічні явища, а також серйозні побічні реакції. 13
6.4. Больовий синдрому 14
6.5. Висновки щодо безпеки. 14
7. Обговорення та узагальнені висновки. 15
Список використаних джерел. 16
Додаток 1 17
Рішення комісії з питань етики при ТОВ «Мед Сервіс Консалтинг», ... 17
протокол № 011221-1, від 01 грудня 2021 року 17
Додаток 2 20
Сертифікат якості Композиту адсорбційного гемостатичного аплікаційного «Карбогемостат» 20
Додаток 3 22
Перелік індивідуальних показників загоєння рани первинним натягом 22
у суб'єктів дослідження 22

1. Етичні питання.

Проведення клінічного дослідження «Рандомізоване, відкрите, контрольоване, паралельне, одноцентрове, проспективне клінічне дослідження безпечності та ефективності комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю для стимуляції загоєння ран первинним натягом» було погоджено комісією з питань етики при ТОВ «Мед Сервіс Консалтинг» (протокол № 011221-1, від 01 грудня 2021 року – Додаток 1)

Клінічні дослідження були проведені без участі представників вразливих груп населення.

Відповідно до звітів Монітора, тиск на пацієнтів з боку членів дослідницької групи був відсутній. Роз'яснення суті клінічного дослідження, що проводиться, було достатньо детальне, термінологія, що використовувалась при роз'ясненні загальновживана (не вузько-медична). Зарахування пацієнтів здійснювалось відповідно до всіх критеріїв включення/виключення, що передбачені ПКД.

Результати клінічного дослідження можуть бути опубліковані. Опубліковані результати не будуть містити інформації, за якою можна ідентифікувати будь-якого суб'єкта дослідження (в публікації не будуть зазначатись особисті дані суб'єктів досліджень та не будуть представлені фотографії, за якими можна ідентифікувати особу).

2. Адміністративна структура клінічного випробування

Дослідження було одноцентровим і проводилось на базі ТОВ «Мед Сервіс Консалтинг», вулиця Ентузіастів, 49, Київ, Україна, 02147, (050) 330 15 15, lc_pro@ukr.net.

Відповідальним дослідником був кандидат медичних наук, лікар-хірург-проктолог, головний лікар ТОВ «Мед Сервіс Консалтинг», Олександ Петрович Косенко, (050) 330 15 15

3. Вступ.

Ефективне та швидке загоєння швів забезпечує зниження ризиків запалення післяопераційної рани, покращує самопочуття пацієнта, пришвидшує реабілітацію після операції та скорочує лікарняний період після операції. Таким чином, проблема ефективного загоєння швів є не лише суто медичною, але й економічною [1, 2]. Особливо складними є шви при анопластиці, оскільки вони зазнають фізичного навантаження та контактують з мікрофлорою кишечника пацієнта. Одним із способів герметизації швів та збільшення адгезії тканин після операції є використання фібринових клеїв або гелів. Існуючі фібринові гелі містять компоненти крові людини (тромбін, фібриноген), а відтак можуть мати імуногенну дію та бути джерелом передачі гематологічних інфекцій [1-6].

В Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України було розроблено спосіб одержання аутологічного фібринового гелю. Такий гель формується на основі власної плазми крові пацієнта, а отже позбавлений вищеперелічених недоліків [7, 8]. Аутологічний фібриновий гель показав свою ефективність при загоєнні операційних ран та переломів у тварин. Для використання фібринового гелю в хірургії в Інституті було розроблено прототип медичного виробу – комплект для одержання аутологічного фібринового гелю, що складається з вакуумної системи для забору крові з цитратом натрію та шприца, що містить ензимний активатор зсідання крові та кальцію хлорид.

Комплект для одержання аутологічного фібринового гелю є інвазивним, контактуючим з пошкодженою тканиною медичним виробом класу IIб (згідно ДСТУ 4388:2005).

Метою випробування було показати безпечність та ефективність застосування виробу медичного – комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю для стимуляції загоєння ран первинним натягом.

4. План випробування.

4.1. Загальний план і план-опис клінічного випробування

Було проведено одноцентрове, рандомізоване, відкрите, контрольоване, паралельне, одноцентрове, проспективне клінічне дослідження застосування комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю у пацієнтів, яким проводили лоскутну анопластику.
До випробувань були залучені пацієнти з гострими та хронічними формами комбінованого геморою, що потребує хірургічного втручання.
Первинною ціллю дослідження є демонстрація безпечності комплекту для одержання фібринового гелю, тому первинною кінцевою точкою обрано розвиток у пацієнтів побічних явищ, пов'язаних із застосуванням медичного виробу, що можуть нанести шкоду здоров'ю та/чи життю пацієнта, а також порушення пацієнтом післяопераційного режиму.
Вторинною ціллю є демонстрація ефективності застосування комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю для стимуляції загоєння ран первинним натягом. Тому вторинною кінцевою точкою обрано отримання даних щодо стану післяопераційних швів, наявності діастазів та суб'єктивного стану пацієнта впродовж 21 доби із часу застосування комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю.
<u>Процедура виключення пацієнтів з дослідження.</u>
Пацієнти, які підписали інформовану згоду, але бажають припинити участь перед завершенням дослідження, вилучаються з дослідження
Немає записів про подальші візити.
Виникнення серйозного побічного непередбачуваного явища, що становить загрозу життю чи здоров'ю пацієнта.
Клінічне чи лабораторне погіршення стану пацієнта, що вимагає застосування інших форм/методів лікування.
Не додержання пацієнтом післяопераційного режиму, впродовж проведення клінічних досліджень.
<u>Дозування</u>
Для стимуляції загоєння ран первинним натягом комплект для одержання аутологічного фібринового гелю використовувася одноразово. Кількість ензимного активатора в складі комплекту, що забезпечувала утворення фібринового гелю, становила 7 мкг.
<u>Референтна терапія</u>
В якості компаратора було обрано традиційне накладення швів без використання комплекту для одержання фібринового гелю, як загально прийнятий метод в хірургії.
Під час клінічного дослідження використовували інші медичні вироби або лікарські засоби: антибіотики (цефалоспорини або фторхінолони (цефтриоксол)); антипротозойні (метронідазол); знеболюючі (кето- та декскетопрофен); агоністи опіоїдів; місцеві препарати (діоксизоль, офлокаїн, анузол, анастезол, метронідазол (супозиторії)); щовний матеріал хірургічний (плетений матеріал з антитравматичною голкою Jonson&Jonson Vicryl 2/0); біполярний електрокоагулятор Патонмед.

4.2. Обґрунтування плану клінічного випробування.

Оскільки використання комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю не передбачає впливу на обмінні процеси організму, було обрано відкритий тип дослідження. Для зменшення впливу невідомих чинників заплановано рандомізіроване, контрольоване дослідження.

Використання комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю передбачає проведення хірургічного втручання, тому клінічні дослідження на здорових волонтерах були б пов'язані зі свідомим обов'язковим нанесення шкоди здоров'ю волонтера. Водночас, ензимний активатор, що входить до складу комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю, не має сенсибілізуючого впливу та не викликає подразнення. Зважаючи на це, клінічні дослідження мають проводитись на пацієнтах, тобто за відсутності I фази клінічних досліджень.

Доклінічні дослідження *in vivo* показали, що комплект для одержання аутологічного фібринового гелю ефективно сприяє регенерації та зменшує інтенсивність запалення, тому для проведення клінічних досліджень було обрано тотальну циркулярну гемороїдектомію з лоскутною анопластикою, яка пов'язана з ускладненим загоєнням післяопераційних швів та високим рівнем діастазу швів в післяопераційний період.

Традиційна циркулярна гемороїдектомія з лоскутною анопластикою не передбачає додактових засобів для збільшення адгезії лоскутів до прилеглих тканин. Крім того, аналоги досліджуваного комплекту містять компоненти крові людини і можуть слугувати джерелом гематологічних інфекцій та бути високоімуногенними. Для уникнення складності трактування результатів дослідження та в рамках додержання рекомендацій МОЗ України, в якості референтної терапії було обрано традиційну лоскутну анопластику без застосування фібринового гелю.

Таким чином, заплановано розділити пацієнтів на дві групи:

- група пацієнтів із традиційним хірургічним швом (група порівняння);
- група пацієнтів із хірургічним швом, яким провели інстиляцію фібринового гелю в міжшовний та підлоскутний простір з використанням комплекту для одержання фібринового гелю (дослідна група).

4.3. Вибір популяції, що вивчається

Критерії долучення

Для долучення суб'єктів дослідження було використано такі критерії:

- особи у віці від 18 до 85 років, чоловічої та жіночої статі
- наявність гострих та хронічних форм комбінованого геморою, що потребує хірургічного втручання;
- відсутність анафілактичних реакцій в анамнезі;
- підписання поінформованої згоди на участь у випробуваннях.

Критерії вилучення

Для вилучення суб'єктів дослідження буде використано наступні критерії:

- вагітність, годування груддю;
- інфікування ВІЛ та гепатитами В, С;
- мутація генів FGB-фібриноген та/чи F2-протромбін;
- важка ендокринна чи обмінна патологія, в тому числі цукровий діабет;
- лімфопроліферативні захворювання крові;
- суттєві відхилення від показників коагулограми;
- недієздатність або неможливість отримати поінформовану згоду.

Процедура відсіювання

Для відсіювання пацієнтів було проведено:

- загальний аналіз крові, загальний аналіз сечі, коагулограму, біохімічний аналіз крові, експрес тест на інфекції (ВІЛ, гепатити В, С);

- опитування щодо захворювань в анамнезі, загального фізіологічного стану та супутньої терапії, яка надається пацієнту.

4.4. Лікування

4.4.1.Ідентифікація виробу медичного, що досліджуються.

Комплект для одержання аутологічного фібринового гелю (надалі фібриновий гель) дозволяє швидко та ефективно утворити аутологічний фібриновий гель та забезпечує простоту його нанесення. Формування фібринового гелю із використанням аутологічної плазми крові пацієнта виключає небезпеку інфікування чи відторгнення, усуває загрозу алергічних реакцій, забезпечує неантигенність та відсутність подразнюючої дії. Фібриновий гель є матрицею для міграції та адгезії клітин, що сприяє регенерації м'яких тканин, знижує інтенсивність запальних процесів, забезпечує ефективне ремоделювання ураженої поверхні тканин та високу щільність прилягання до них.

Маркування

Назва виробу: Комплект для одержання аутологічного фібринового гелю.

До комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю входить вакуумна пробірка для коагуляційних досліджень та стерильно запакований шприц із розчином ензимного активатора та хлоридом кальцію, які пакуються в індивідуальні запаяні поліетиленові упаковки (згідно ДСТУ EN 980:2007), на яких зазначається його повна назва, виробник, розробник та номер партії, а етикетка маркується *«для проведення клінічних випробувань»*.

Номер партії: A00001/21 (Сертифікат якості виробу, що було надано для випробувань – Додаток 2).

Цільове призначення

В даному клінічному дослідженні комплект для одержання аутологічного фібринового гелю призначено для зовнішнього застосування, безпосередньо контактно до ранової поверхні, без використання допоміжних лікарських засобів.

Цільові групи населення й показання для призначення досліджуваного виробу

Пацієнти, що страждають на гострі та хронічні форми комбінованого геморою; проведення тотальної циркулярної гемороїдектомії з лоскутною анопластикою.

4.4.2. Рандомізація

Пацієнти, які відповідали критеріям долучення та вилучення, будли рандомізовані за допомогою комп'ютера для прийому в досліджувану групу або групу порівняння.

Кожному пацієнту було надано код пацієнта.

4.5. Дані щодо ефективності та безпеки

Для доведення безпеки було заплановано провести порівняння стану швів та прилеглих тканин після проведення лоскутної анопластики (для групи порівняння) та аналогічної хірургічної операції з використанням комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю Зокрема було передбачено визначення таких параметрів: наявність запального процесу та алергічної реакції. Крім того, було заплановано зібрати дані щодо суб'єктивного стану пацієнтів, зокрема наявності больового синдрому.

Для оцінки ефективності було заплановано проаналізувати частоту появи діастазів та їх розмір (за наявності) у пацієнтів після проведення лоскутної анопластики на 7, 14, 21 добу після операції в досліджуваній групі та в групі порівняння.

4.6. Заплановані в протоколі клінічного випробування статистичні методи.

Для статистичного аналізу було заплановано використовувати програму STATISTICA для Windows версія 13.3. Змінні результату та ефекти було заплановано проаналізувати, використовуючи непараметричні методи статистики.
Вихід з чотирма групами числових змінних було заплановано проаналізувати за допомогою незалежного t-тесту, з альтернативним тестом Манна-Вітні. Рівень значущості кожного тесту становить 5 %, значення $p<0,05$ означає, що результат є статистично значущим; значення $p> 0,05$ означає, що результат не є статистично значущим (є не суттєвим). Додатково в кожному випадку обов'язково оцінювали статистичну значимість відносини шансів, виходячи зі значень 95% довірчого інтервалу (CI).

4.7. Зміни щодо запланованого проведення клінічного випробування або аналізу.

Зміни у ПКД (версія 2.0; 26.11.2021) не вносились.

5. Демографічні та/чи інші вихідні характеристики.

Загальна кількість пацієнтів, які взяли участь в дослідженні, становила 30 осіб. Відповідно до рандомізаційних списків, було обрано досліджувану групу пацієнтів, яким лоскутну анопластику проводили з використанням досліджуваного виробу, та пацієнтів, які увійшли в групу порівняння, яким лоскутну анопластику проводили без використання досліджуваного виробу (Таблиця 1).
Вік пацієнтів становив від 21 до 72 років, в середньому складав 40,5 років (Таблиця 1).
Пацієнти були жіночої (37%) та чоловічої (63%) статі (Таблиця 1).

Таблиця 1
Характеристика пацієнтів

Параметри пацієнтів / Групи		Досліджувана група	Група порівняння
Використання комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю		ТАК	НІ
Кількість		15 пацієнтів	15 пацієнтів
Вік	Мінімальний та максимальний	22-72 років	21-59 років
	В середньому	39 років	42 роки
Стать	Жіноча	7 пацієнтів	4 пацієнти
	Чоловіча	8 пацієнтів	11 пацієнтів
Діагноз	хронічний геморой 2 ступеню	4 пацієнти	1 пацієнт
	хронічний геморой 3 ступеню	8 пацієнтів	9 пацієнтів
	хронічний геморой 4 ступеню	3 пацієнти	5 пацієнтів
Тип анопластики	2-лоскутна анопластика	2 пацієнти	2 пацієнти
	3-лоскутна анопластика	7 пацієнтів	11 пацієнтів
	4-лоскутна анопластика	1 пацієнт	-
	геморроїдектомія по Фергюсону	5 пацієнтів	2 пацієнти

Всі пацієнти, що взяли участь в клінічному дослідженні мали діагноз: хронічний геморой 2, 3 та 4 ступеня по 4-ступ. класифікації (Таблиця 1). Пацієнти, як в дослідній групі так і в групі порівняння, мали такі ускладнення: аноректальний тромбоз (у 2 та 3 пацієнтів відповідно); ректоцеле (у 3 та 1 пацієнта відповідно); хронічна анальна тріщина (у 6 та 4 пацієнтів відповідно). Таким чином, групи пацієнтів були однорідними відносно анамнезу.

6. Відхилення від протоколу клінічного випробування.

Для оцінки ефективності застосування комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю для загоєння рани первинним натягом було заплановано визначати лінійні розміри діастазу, у випадку його появи. Пацієнти, що проходили лікування в ТОВ «Мед Сервіс Консалтинг», відповідали критеріям включення та виключення та надавали згоду на проведення клінічних досліджень, приходили на повторний огляд на 7, 14, 21 добу після проведення операції. Якщо розходження швів відбувалось в проміжку часу між оглядами, то лікар не мав можливості об'єктивно оцінити розмір первинного діастазу, позбавленого впливу фізичних, механічних та інфекційних навантажень на місце діастазу. Зважаючи на це, дослідницька група мала змогу визначити факт відриву лоскутів та

кількість лоскутів, що відірвались. Оскільки аналогічним чином оцінювалась ефективність загоєння рани первинним натягом в групі порівняння, то дане відхилення від ПКД вважаємо не суттєвим і таким, що дає змогу оцінити загальну ефективність досліджуваного препарату.

7. Оцінка ефективності.

7.1. Оцінка ефективності

Для оцінки ефективності застосування комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю для загоєння рани первинним натягом було проведено повний проктологічний огляд (візуальний огляд, пальцевий огляд, фотоаноскопія) пацієнтів на 7, 14, 21 добу після проведення лоскутної анопластики та визначено спроможність швів на зшитих краях рани. В разі виявленого діастазу швів, фіксували кількість лоскутів, що відірвались, та час відриву лоскутів з моменту проведення операції.

На рисунку 1 представлені типові фото післяопераційнго поля після проведення анопластики та на 7 добу після операції пацієнтів досліджуваної групи (комплект для одержання аутологічного фібринового гелю застосувався) та групи порівняння (комплект для одержання аутологічного фібринового гелю НЕ застосувався).

А Б В

Рисунок 1. Типові фото післяопераційнго поля після проведення анопластики (**А**), на 7 добу після операції (**Б**) та на 14 добу після операції (В) за умов двохлоскутної анопластики пацієнтці досліджуваної групи.

Як видно з рисунка 1, застосування комплекту дозволило досягнути ефективного та швидкого рано загоєння.

Хоча частота появи діастазу в досліджуваній групі та групі порівняння була близькою (рис. 2), в досліджуваній групі поява діастазу спостерігалася впродовж першого тижня вдвічі рідше ніж в групі порівняння. В той час, як поява діастазу на другому тижні після операційного періоду, в обох групах спостерігалася з однаковою частотою (33%). Впродовж третього тижня після проведення операції поява діастазу не спостерігалась у жодного пацієнта.

Варто відзначити, що на ранніх стадіях після проведення операції ключовий внесок у загоєння швів первинним натягом належить ступеню адгезії оперованих тканин, а з віддаленням в часі від моменту проведення операції головну роль має вплив індивідуального способу життя, дотримання гігієни та особливостей харчування пацієнтів. Тому зниження частоти діастазу у пацієнтів при використанні комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю саме впродовж першого тижня після операції є свідченням його ефективності.

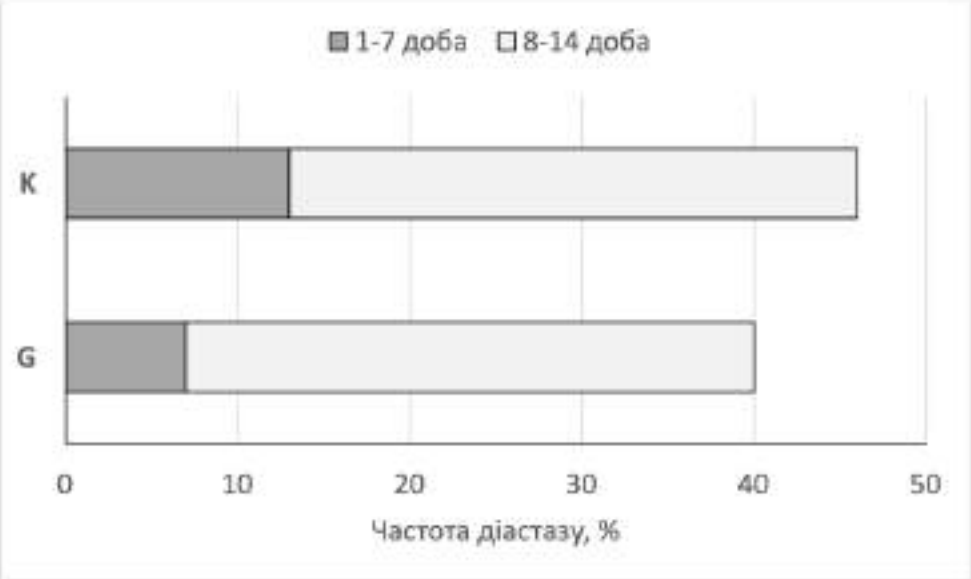


Рисунок 2. Частота появи діастазу у пацієнтів дослідної групи (G) групи порівняння (K) на 1-7 та 8-14 добу після проведення лоскутної анопластики. На 15-21 добу після операції появи діастазу не спостерігали.

При проведенні лоскутної анопластики для закриття операційного поля формуються лоскути, які фіксуються хірургічним швом. Пацієнтам було проведено 2-, 3- та 4-лоскутну анопластику та геморроідектомія за Фергюсоном, яку можна прирівняти до 3-лоскутної анопластики. Виникнення діастазу спричиняє відрив одного чи декількох лоскутів. Тому кількість лоскутів, що відірвались є кількісною характеристикою діастазу за лоскутної анопластики. Відрив лоскутів спостерігали лише за 3-лоскутної анопластики та геморроідектомії за Фергюсоном, окрім того, в одного пацієнта групи порівняння спостерігали відрив 2 лоскутів при 2-лоскутній анопластиці.

На рисунку 3 представлено дані щодо частоти відриву одного, двох ти трьох (всіх) лоскутів в післяопераційний період після лоскутної анопластики у випадку виникнення діастазу у пацієнтів обох груп. Як видно з рисунку, в дослідній групі у пацієнтів з появою діастазу відриву всіх лоскутів не спостерігали, в той час як в групі порівняння відсоток пацієнтів, у яких спостерігали відрив всіх лоскутів в результаті діастазу становив понад 40%. Крім того, в результаті діастазу у пацієнтів дослідної групи в половині випадків спостерігали мінімальний відрив лоскута (1 лоскут), в той час як частота відриву лише одного лоскута при появі діастазу пацієнтів групи порівняння складала лише 14%.

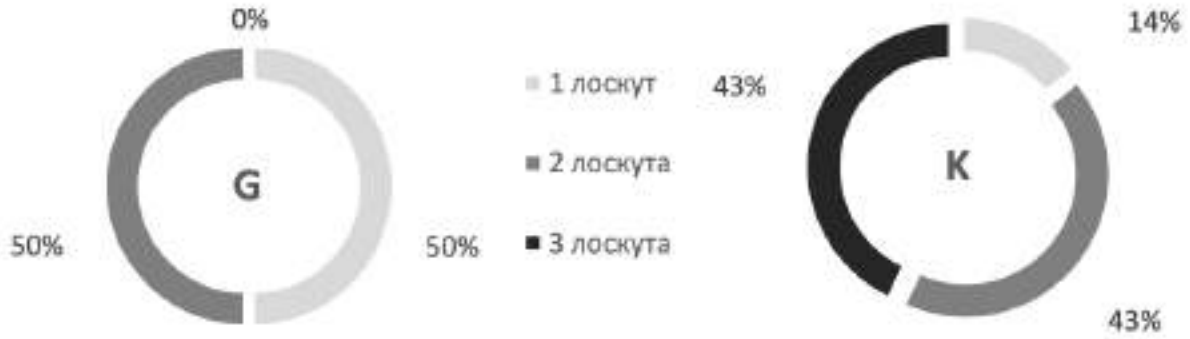


Рисунок 3. Частота відриву одного, двох ти трьох лоскутів у випадку діастазу в післяопераційний період після лоскутної анопластики у пацієнтів дослідної групи (**G**) та пацієнтів групи порівняння (K).

7.2. Висновки щодо ефективності.

У рамках даного дослідження показано, що при застосуванні комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю для загоєння рани первинним натягом скорочувалась частота появи діастазу на першому тижні післяопераційного періоду, а в разі появи діастазу, кількість відірваних лоскотів була меншою.
Загоєння рани первинним натягом із застосування комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю було більш ефективним, ніж за класичної лоскутної анопластики.

6. Визначення безпеки.

6.1. Побічні явища

Серйозні побічні явища, а також серйозні побічні реакції у пацієнтів, що взяли участь в клінічному дослідженні були відсутні.

Загальний запальний процес в післяопераційний період, спостерігали у одного пацієнта з дослідної групи та у двох пацієнтів з групи порівняння. У одного пацієнта групи порівняння спостерігали загострення кандидозної інфекції в післяопераційний період. Можливе зменшення ризику запалення в післяопераційний період пов'язане з використанням комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю потребує подальших досліджень.

6.2. Випадки смерті.

Випадки смерті серед пацієнтів, які взяли участь в дослідженні були відсутні

6.3. Інші серйозні побічні явища, а також серйозні побічні реакції.

Інші серйозні побічні явища, а також серйозні побічні реакції були відсутні.

6.4. Больовий синдрому

Пацієнтам було запропоновано оцінити больові відчуття, що супроводжували післяопераційний період. У 20% пацієнтів групи порівняння відмічали сильний больовий синдром в той час, як в дослідній групі пацієнти вказували лише на помірні больові відчуття впродовж перших двох тижнів післяопераційного періоду.

6.5. Висновки щодо безпеки.

Використання комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю є безпечним та не викликає алергічних реакцій та подразнення. Крім того, використання комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю не викликає посилення больового синдрому в післяопераційний період.

7. Обговорення та узагальнені висновки.

Було показано, що використання комплекту для одержання фібринового гелю є безпечним, не викликає серйозних побічних явищ, значних побічних реакцій, а також алергічних реакцій або подразнення. Крім того, використання досліджуваного комплекту не викликає посилення больового синдрому в післяопераційний період.

Використання комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю з метою зменшення больового синдрому та зменшення ризику запалення в післяопераційний період є перспективним і потребує додаткових клінічних досліджень. В дослідженнях на тваринах було продемонстровано протизапальний ефект аутологічного фібринового гелю [8], що супроводжувався зменшенням больового синдрому та пришвидшенням реабілітації. Відповідно є підґрунтя очікувати протизапальний ефект при використанні комплекту для одержання фібринового гелю у людей.

У рамках проведеного дослідження показано, що при застосуванні комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю для загоєння рани первинним натягом, скорочувалась частота появи діастазу на першому тижні післяопераційного періоду. Проте, така тенденція не зберігалась у подальшому (з 8 по 14 добу). Такі результати можуть бути пов'язані із посиленням впливу індивідуального післяопераційного режиму пацієнтів на пізніх термінах після операції і потребують уточнення та додаткових клінічних досліджень.

У разі діастазу в групі пацієнтів, яким застосовували досліджуваний виріб, зменшувалась кількість відірваних лоскутів у кожному окремому випадку, в порівнянні з контрольною групою пацієнтів, яким проводили класичну анопластику. Крім того, у випадку використання комплекту для одержання фібринового гелю при появі діастазу жодного разу не спостерігали відриву всіх лоскутів, на відміну від пацієнтів групи порівняння, де цей показник перевищував 40% від усіх випадків діастазу (або 26,6% від усіх пацієнтів групи порівняння).

З огляду на це можна зробити висновок, що загоєння рани первинним натягом із застосування комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю було більш ефективним ніж класична лоскутна анопластика.

Отже, досліджуваний виріб є безпечним для використання, має здатність збільшувати ефективність загоєння ран первинним натягом за лоскутної анопластики і є перспективним для подальших досліджень в інших галузях хірургії та як засіб для зменшення запалення та больового синдрому в післяопераційний період.

Список використаних джерел.

1. 1. Paul A Carless, David A Henry, Danielle M Anthony, Fibrin sealant use for minimising peri-operative allogeneic blood transfusion. Cochrane Database Syst Rev. 2003(1): CD004171.

2. Jeon E, Hwang B, Yang Y, et al. Rapidly light-activated surgical protein glue inspired by mussel adhesion and insect structural crosslinking. Biomaterials. 2015;67:11-9.

3. Горский В. А. Использование фибрин-коллагеновых пластин в абдоминальной хирургии //Вест. хирургии 2001.- Т. 160.- № 2,- С. 77-81.

4. M R Jackson Fibrin sealants in surgical practice: An overview. Am J Surg. 2001;182(2 Suppl):1S-7S. Gernold Wozniak Fibrin sealants in supporting surgical techniques: The importance of individual components Cardiovasc Surg. 2003;11(Suppl 1):17-21

5. Nelson S R, Wolford L M, Lagow R J, Capano P J, Davis W L. Evaluation of high-performance calcium polyphos- phate bioceramics as bone graft materials. J Oral Maxillofac Surg 1994; 51 (12): 1363-71.

6. Roberto Beretta, Nicholas A. Grippi. Systems and methods for preparing autologous fibrin glue Pat. US 8491564, July 23, 2013.

7. Спосіб одержання аутологічного фібринового гелю для стимуляції регенерації кісткових і м'яких тканин і зниження інтенсивності запальних процесів. Комісаренко Сергій Васильович (UA), Луговськой Едуард Віталійович (UA), Рубленко Михайло Васильович (UA), Андрієць Володимир Григорович (UA), Корольова Дар'я Сергіївна (UA), Чернишенко Тамара Мартинівна (UA), Горницька Ольга Володимирівна (UA), Платонова Тетяна Миколаївна (UA), Макогоненко Євген Митрофанович (UA), Чернишенко Володимир Олександрович Пат UA 100467 U 27.07.2015, Бюл. № 14.

8. Використання композитних матеріалів за переломів трубчастих кісток у тварин: науково-методичний посібник / М.В. Рубленко, В.Г. Андрієць, С.А. Семеняк та ін. – Біла Церква, 2015. – 86 с.

Додаток 1
Рішення комісії з питань етики при ТОВ «Мед Сервіс Консалтинг», протокол № 011221-1, від 01 грудня 2021 року

Товариство з обмеженою відповідальністю «МЕД СЕРВІС КОНСАЛТИНГ»
фактична адреса: м.Київ, вул. Ентузіастів 49, 1-й поверх будівлі КНП «Русанівка»
юридична адреса: Україна, 02183, м. Київ, пр. Генерала Ватутіна 26-20
код ЄДРПОУ 34646020, свідоч. платника ПДВ № 771751, ІПН 346460206509
р/р 26001541003 в АТ «Укрексімбанк» банк Авальм м. Київ, МФО 380805
тел: (+38)-050-330-15-15; ел.пошта: k_pro@ukr.net, сайти: PROCTOLOG.NET.UA / KOSENKO.ORG

Протокол №011221-1
Засідання Комісії з питань етики при ТОВ «МЕД СЕРВІС КОНСАЛТИНГ»
Від 01.12.2021

Присутні: голова комісії Іванченко І.Л., заступник голови Невгад О.М., секретар комісії Сус І.М., члени комісії Осипенко А.О., Коберник Н.М., Литвинюк О.М., Смоловик Н. В., Стрижков О. С.

Комісія з питань етики, призначена наказом №121121-1 від 12.11.2021р., розглянула матеріали щодо клінічного дослідження : «Рандомізоване, просте, сліпе, одноцентрове, паралельне, контрольоване клінічне дослідження безпечності та ефективності набору для одержання аутологічного фібринового гелю для стимуляції загоєння ран первинним натягом » , які надано спонсором – Інститутом біохімії ім. О.В. Палладіна НАНУ.

- План клінічного дослідження;
- Брошура дослідника;
- Форма інформованої згоди;
- Форма інформації для суб'єкта дослідження;
- Заява дослідника;
- Інформація про ЛПЗ;
- Супровідний лист;
- Договір про співробітництво;
- CV відповідального дослідника;
- CV членів дослідницької групи.

Комісія з питань етики за результатами оцінки етичних та морально-правових аспектів випробування надає позитивне рішення щодо проведення клінічного дослідження «Рандомізоване, просте, сліпе, одноцентрове, паралельне, контрольоване клінічне дослідження безпечності та ефективності набору для одержання аутологічного фібринового гелю для стимуляції загоєння ран первинним натягом», та використання розглянутих матеріалів при проведенні дослідження у місці проведення: ТОВ «МЕД СЕРВІС КОНСАЛТИНГ», вул. Ентузіастів 49, Київ, Україна (відповідальний дослідник – хірург-проктолог вищої категорії О.П. Косенко).

У засіданні Комісії з питань етики при ТОВ «МЕД СЕРВІС КОНСАЛТИНГ», де була розглянуто подані матеріали, та у голосуванні щодо вищезазначеного брали участь:

Голова Комісії:	Іванченко І.Л., директор ТОВ «МЕД СЕРВІС КОНСАЛТИНГ».
Заступник голови Комісії:	Невгад О.М., педіатр, гастроентеролог.
Секретар Комісії:	Сус І. М., медична сестра.

Члени комісії:

Анестезіолог	Осипенко А. О.
Адміністратор	Коберник Н.М.
Медична сестра	Литвинюк О.М.

Медична сестра Смоловяк Н. В.
Медична сестра Стрижков О. С.

За прийняття рішення проголосувало 8 осіб, проти – 0, утрималося – 0.

Голова комісії: Іванченко І.Л.
Директор ТОВ «МЕД СЕРВІС КОНСАЛТИНГ»

*Комісія з питань етики діє відповідно до Закону України «Про лікарські засоби», нормативних вимог, що діють в Україні, вимог Належної клінічної практики (ICH GCP) та Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини.

Додаток 2
Сертифікат якості Композиту адсорбційного гемостатичного аплікаційного «Карбогемостат»

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ
ім. О.В. ПАЛЛАДІНА
Вул. Леонтовича, 9, Київ, 01054, Україна
Тел.: [38-044] 2345974; факс: [38-044] 2796365

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE
PALLADIN INSTITUTE
OF BIOCHEMISTRY
9, Leontovicha str., Kyiv, 01054, Ukraine
Phone: [38-044] 2345974; Fax: [38-044] 2796365

E-mail: secretar@biochem.kiev.ua

10.06.2022№ 1/7-340

СЕРТИФІКАТ ЯКОСТІ

Термін дії « 10 » червня 2021 р. – « 10 » січня 2023 р. **Серія АА №00003**

Продукція: **Комплект для одержання аутологічного фібринового гелю**

Відповідає вимогам: Лабораторного регламенту № 1/21 Виробництва комплекту для одержання фібринового гелю та Лабораторного регламенту №1 Виробництва ензимного активатора зсідання крові з отрути ефи багатолускової (*Echis multisquamatis*).

Цим сертифікатом засвідчуємо, що дана партія **комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю** (**LOT A00001/22**), вироблена Інститутом біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, є безпечною та відповідає показникам якості.

Показники якості

№п/п	Показники	Норма
1	Зовнішній вигляд – шприц із прозорим розчином	Відповідає
2	Концентрація протеїну	60 ± 5 мкг/мл
3	Вміст стабілізатора	Не містить
4	Одиниці активності (о.а.)	15 ± 3 о.а./мг

Інститут біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України
директор, академік НАН України С.В. Комісаренко

Додаток 3
Перелік індивідуальних показників загоєння рани первинним натягом у суб'єктів дослідження

Таблиця 3.1

Індивідуальні дані щодо часу діастазу та кількості відірваних лоскутів у пацієнтів дослідної групи, яким застосовували комплект для одержання аутологічного фібринового гелю

Рандомізаційний номер пацієнта	Тип анопластики (кількість лоскутів)	Наявність діастазу	Доба після операції на яку відбувся діастаз	Кількість відірваних лоскутів
G01	геморроідектомія по Фергюсону (відповідає 3-лоскутній анопластиці)	Ні	-	-
G02	3-лоскутна анопластика	Так	9	2
G03	3-лоскутна анопластика	Так	8	1
G04	2-лоскутна анопластика	Ні	-	-
G05	3-лоскутна анопластика	Так	4	1
G06	геморроідектомія по Фергюсону (відповідає 3-лоскутній анопластиці)	Так	9	1
G07	3-лоскутна анопластика	Ні	-	-
G11	3-лоскутна анопластика	Ні	-	-
G13	3-лоскутна анопластика	Ні	-	-
G08	2-лоскутна анопластика	Ні	-	-
G09	3-лоскутна анопластика	Ні	-	-
G10	4-лоскутна анопластика	Ні	-	-
G12	геморроідектомія по Фергюсону (відповідає 3-лоскутній анопластиці)	Ні	-	-
G14	геморроідектомія по Фергюсону (відповідає 3-лоскутній анопластиці)	Так	13	2
G15	геморроідектомія по Фергюсону (відповідає 3-лоскутній анопластиці)	Так	11	2

Таблиця 3.2

Індивідуальні дані щодо часу діастазу та кількості відірваних лоскутів у пацієнтів групи порівняння, яким НЕ застосовували комплект для одержання аутологічного фібринового гелю.

Рандомізаційний номер пацієнта	Тип анопластики (кількість лоскутів)	Наявність діастазу	Доба після операції на яку відбувся діастаз	Кількість відірваних лоскутів
K01	3-лоскутна анопластика	Ні	-	-
K02	3-лоскутна анопластика	Так	10	1
K03	3-лоскутна анопластика	Так	8	3
K04	3-лоскутна анопластика	Так	9	3
K05	3-лоскутна анопластика	Ні	-	-
K06	3-лоскутна анопластика	Ні	-	-
K07	3-лоскутна анопластика	Ні	-	-
K08	3-лоскутна анопластика	Так	6	2
K09	2-лоскутна анопластика	Ні	-	-
K10	3-лоскутна анопластика	Ні	-	-
K11	3-лоскутна анопластика	Ні	-	-
K12	3-лоскутна анопластика	Так	9	2
K13	2-лоскутна анопластика	Так	10	2
K14	геморроїдектомія по Фергюсону (відповідає 3-лоскутній анопластиці)	Ні	-	-
K15	3-лоскутна анопластика	Так	6	3

ДОДАТОК Ї

Акт впровадження у хірургічну практику

комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю на базі

ТОВ «Мед Сервіс Консалтінг»

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України
академік НАН України
О.В. Комісаренко
2024 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор ТОВ «Мед Сервіс Консалтинг»
І.Н. Іванченко
2024 р.

АКТ

Впровадження у хірургічну практику комплекту для одержання аутологічного фібринового гелю на базі ТОВ «Мед Сервіс Консалтинг»

Даним актом стверджується, що Комплект для одержання аутологічного фібринового гелю (далі Комплект) було успішно впроваджено в хірургічну практику на базі ТОВ «Мед Сервіс Консалтинг», а саме на базі Лівобережного центру проктології, в рамках клінічного дослідження «Рандомізоване, відкрите, контрольоване, паралельне, одноцентрове, проспективне клінічне дослідження безпечності та ефективності комплекту для одержання фібринового гелю для стимуляції загоєння ран первинним натягом», що проводилось з червня 2022 року по лютий 2023 року включно.

Дослідну партію Комплектів було виготовлено співробітниками Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України в результаті виконання проекту «Розробка, доклінічні та клінічні випробування аутологічного фібринового гелю для застосування у хірургії», що виконувався в рамках програми підтримки пріоритетних для держави наукових досліджень і науково-технічних (експериментальних) розробок Відділення біохімії, фізіології і молекулярної біології НАН України на 2022 р.

Показано, що Комплект є придатним для отримання аутологічного фібринового гелю в хірургічній практиці з метою прискорення загоєння ран первинним натягом. Використання Комплекту зменшувало частоту діастазів та відходження лоскутів у пацієнтів з тотальною циркулярною гемороїдектомією з лоскутною анопластикою в постопераційних період.

Від Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України:
Завідувач відділу структури та функцій білку
д.б.н.
В.О. Черишенко
«___» _____ 2024 р.

Від ТОВ «Мед Сервіс Консалтинг»:
Зав. відділення хірургії та проктології
О.П. Косенко
«___» _____ 2024 р.

ДОДАТОК Й

N-кінцкевий аналіз екамуліну – активатора протромбіну з отрути *Echis multisquamatis*

BioCentrum Sp. z o.o.
Grupa Selvita S.A.; ul. Bobrzyńskiego 14; 30-348 Kraków
tel. 012 297 47 20; fax: 012 297 47 01

CERTYFIKAT ANALIZY NR 210819

Wynik analizy sekwencji N-końca białka lub peptydu

Zleceniodawca: *Prof. Olexandr Korchynskyi, Uniwersytet Rzeszowski*

Nazwa próbki: *S1 i S2*

Postać: *Membrana PVDF*

Ilość użyta do analizy: *1 prążek*

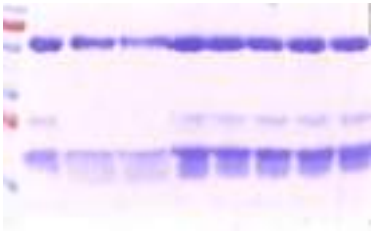
Użyty aparat: *Automatyczny sekwenator PPSQ-31A (Shimadzu, Japonia) realizujący chemiczną degradację Edmana łańcucha polipeptydowego od N-końca*

Rodzaj użytego programu:

- ☐ *Sekwencjonowanie w fazie ciekłej roztworu białka lub peptydu zaabsorbowanego na filtrze szklanym pokrytym polibrenem*
- ☐ *Sekwencjonowanie w fazie ciekłej białka zaabsorbowanego na membranie PVDF*
- ☐ *Sekwencjonowanie w fazie ciekłej peptydu zaabsorbowanego na membranie PVDF*
- ☐ *Sekwencjonowanie w fazie gazowej roztworu białka lub peptydu zaabsorbowanego na filtrze szklanym pokrytym polibrenem*
- ☒ *Sekwencjonowanie w fazie gazowej białka zaabsorbowanego na membranie PVDF*
- ☐ *Sekwencjonowanie w fazie gazowej peptydu zaabsorbowanego na membranie PVDF*

Opis wykonania i wyników:

Do analiz otrzymano wybarwioną membranę PVDF widoczną obok:



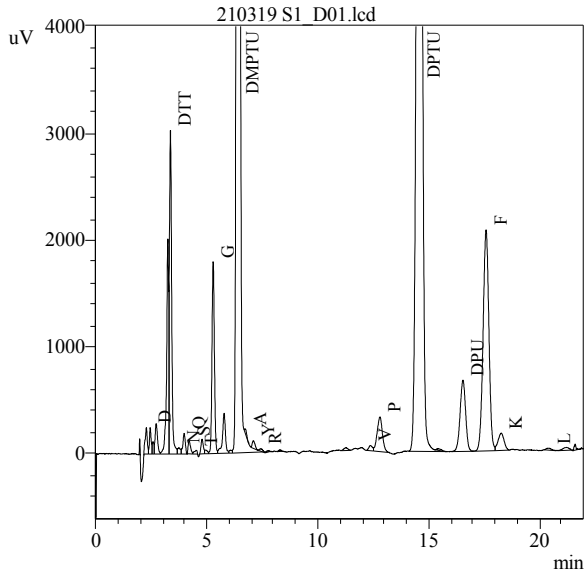
Prążki S1 oraz S2 wycięto, umieszczono kolejno w sekwenatorze i każdy poddano 10 cyklom sekwencjonowania. W obu przypadkach otrzymano niejednoznaczną i trudną do interpretacji sekwencję, zawierającą po dwie reszty w niektórych cyklach. Zidentyfikowane w poszczególnych cyklach reszty aminokwasowe przedstawiono poniżej:

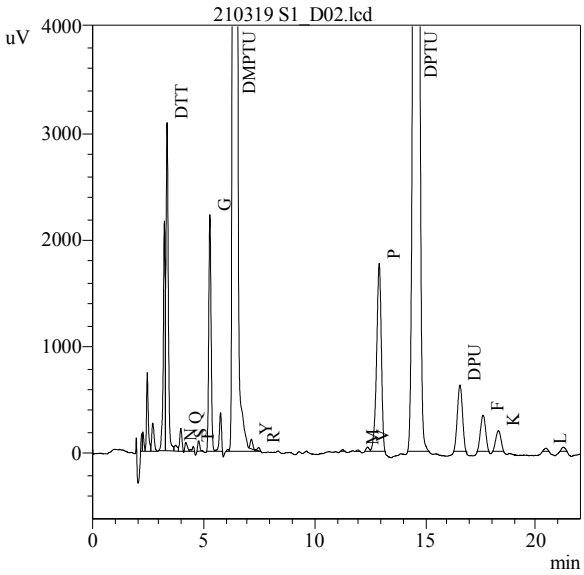
S1:		S2:	
1.	F G	1.	D E
2.	P G	2.	-
3.	P	3.	A L
4.	R	4.	T P
5.	K	5.	G D
6.	K	6.	W
7.	K	7.	F S
8.	F K	8.	V A
9.	D	9.	Y A
10.	K D	10.	G E

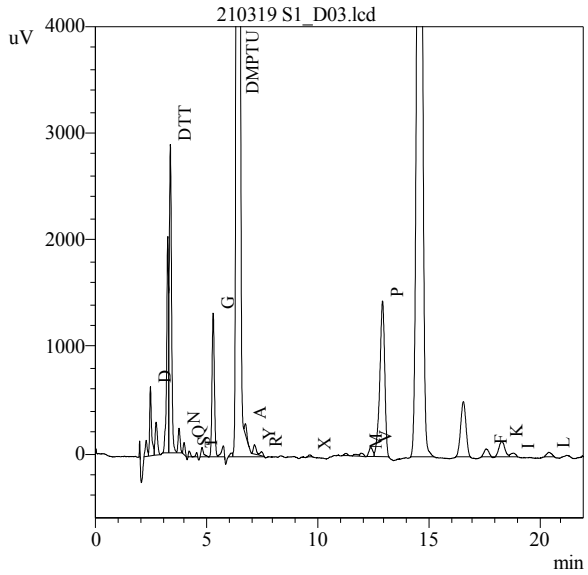
Do raportu załączono pliki PDF zawierające raporty wygenerowane przez sekwenator po analizach. Obejmują one dane tabelaryczne (w tym zidentyfikowaną sekwencję oraz ilości wykrytych reszt aminokwasowych w każdym cyklu odszczepiania, w pikomolach), wykres ilustrujący wydajność sekwencjonowania, oraz chromatogramy uzyskane podczas kolejnych etapów sekwencjonowania. Na chromatogramach tych dokonywana jest identyfikacja pików fenylotiohydantoinowych (PTH) pochodnych reszt aminokwasowych odszczepianych od N-końca analizowanego łańcucha polipeptydowego. Identyfikacja ta następuje na podstawie porównania czasu retencji uzyskanego piku z wzorcowymi czasami retencji odpowiednich standardów PTH-aminokwasów (firmy Wako, Japonia). Oprócz pików aminokwasów chromatogram zawiera także piki artefaktów chemicznych - prawidłowych produktów ubocznych degradacji Edmana.

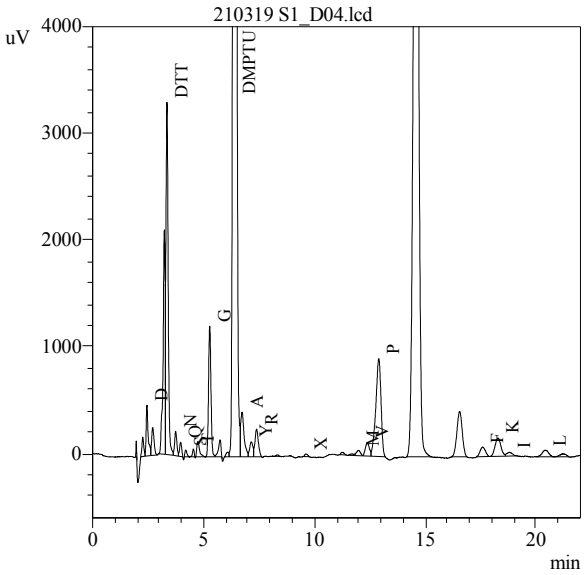
22.03.2021
.....
Data

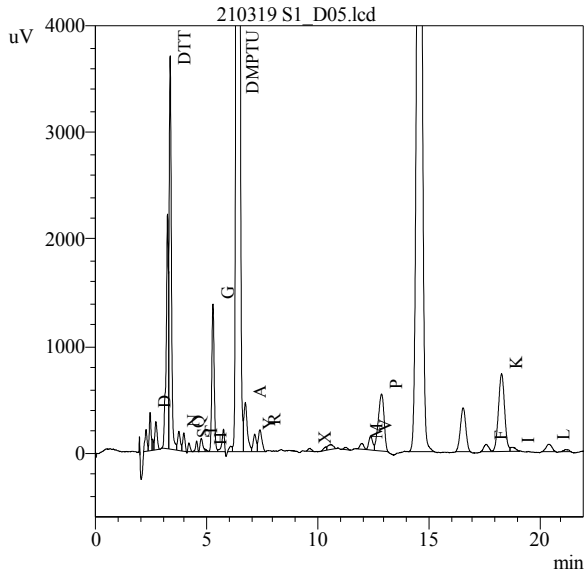
.....
Podpis wykonawcy

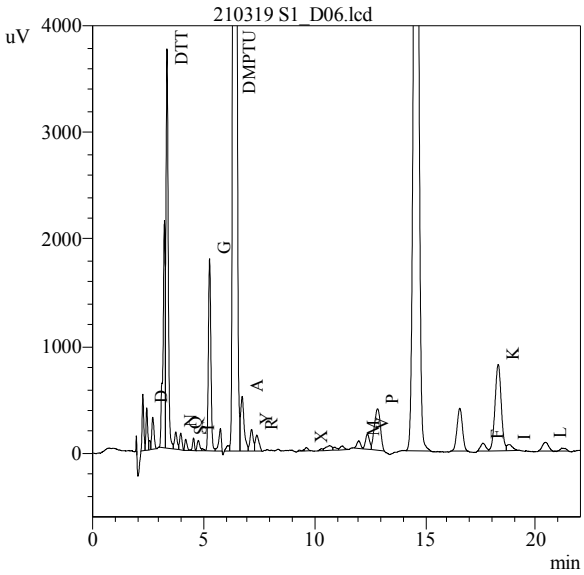

210319 S1_D01.lcd
uV
4000
3000
2000
1000
0
DTT
DMPTU
DPTU
G
D
N
Q
A
R
Y
P
DPU
F
K
L
0
5
10
15
20
min


210319 S1_D02.lcd
uV
4000
3000
2000
1000
0
DTT
DMPTU
DPTU
G
P
DPU
F
K
L
0
5
10
15
20
min


210319 S1_D03.lcd
uV
4000
3000
2000
1000
0
DTT
DMPTU
G
P
D
N
Q
A
R
Y
X
F
K
I
L
0
5
10
15
20
min


210319 S1_D04.lcd
uV
4000
3000
2000
1000
0
DTT
DMPTU
G
P
D
N
Q
A
R
Y
X
F
K
I
L
0
5
10
15
20
min


210319 S1_D05.lcd
uV
4000
3000
2000
1000
0
DTT
DMPTU
G
P
K
D
N
Q
A
R
Y
X
F
I
L
0
5
10
15
20
min


210319 S1_D06.lcd
uV
4000
3000
2000
1000
0
DTT
DMPTU
G
P
K
D
N
Q
A
R
Y
X
F
I
L
0
5
10
15
20
min

[Sequence Analysis]

Start	:	2021-03-19 10:25:17
Reactor	:	1
Number of Cycles	:	11
Sequence Schedule	:	C:\PPSQ30\SEQPROG1\PVDF8-1.SCH
Sample Name	:	
Sample Amount(pmol)	:	1.0
Sample ID	:	
Operator Name	:	
Data File	:	210319 S2
Start Number	:	1
Method File	:	210319 S2.LCM
Batch File	:	210319 S2.LCB
Data Folder Path	:	C:\LabSolutions\Data\PPSQ30\210319 S2
Number of Analyses	:	10 / 10
Standard File	:	210319 Std_D01.lcd

[Sequence]

D X A T G W F V Y Y

[Amount Yield(pmol)]

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
D	20.72	6.60	1.43	3.37	2.19	1.69	1.28	1.27	1.83	2.02
E	30.03	9.17	2.09	0.00	0.00	2.55	2.58	0.00	4.29	15.71
N	0.00	0.00	0.00	0.45	0.34	0.00	0.17	0.35	0.87	1.30
Q	0.16	0.21	0.00	0.44	0.37	0.00	0.19	0.26	0.88	1.11
S	0.27	0.67	0.25	0.63	0.87	0.43	5.46	2.97	2.73	1.80
T	0.00	0.00	0.16	10.98	5.33	1.74	0.67	0.49	0.58	0.67
H	0.00	0.00	0.00	0.46	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
G	6.76	6.03	5.77	5.93	23.43	13.18	8.78	7.66	9.09	13.36
A	1.71	0.20	16.15	8.69	5.70	4.24	3.33	8.34	10.11	8.73
Y	0.00	0.63	0.67	1.44	1.28	1.58	1.29	1.53	16.02	14.04
R	0.00	0.00	0.00	0.62	0.35	0.30	0.28	0.31	0.46	0.69
M	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
V	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33	0.18	0.35	6.83	6.60	4.22
P	0.00	0.00	0.00	18.71	10.13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
W	0.00	0.00	0.18	0.00	0.00	1.78	0.30	0.00	0.00	0.00
F	0.00	0.00	0.35	0.80	0.66	0.88	7.06	4.77	4.62	3.92
K	0.00	0.00	0.40	0.65	0.77	1.48	1.31	1.45	3.12	3.66
I	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.83	0.00	0.47	0.98	1.42
L	0.00	0.00	22.40	5.55	0.87	0.29	0.26	0.20	0.55	1.01
C	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
X	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

[Percent Yield]

Amino Acid	:	D,E,N,Q,S,T,H,G,A,Y,R,C,M,V,P,W,F,K,I,L,X
Initial Yield(%)	:	564.07
Repetitive Yield(%)	:	106.61
Correlation Coef.	:	0.168
Number of Data	:	10

[Repetitive Yield(%)]

Y : 87.66(9-10)

ДОДАТОК К

Лабораторний регламент №2/21

виробництва рекомбінантного активатора протромбіну

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна

«Затверджую»

Директор Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України
академік НАН України Є.В. Комісаренко

23 березня 2021 р.

ЛАБОРАТОРНИЙ РЕГЛАМЕНТ №2/21 ВИРОБНИЦТВА РЕКОМБІНАНТНОГО АКТИВАТОРА ПРОТРОМБІНУ

Термін дії з 23 березня 2021 р.

Київ-2021

ЗМІСТ

1. ХАРАКТЕРИСТИКА КІНЦЕВОГО ПРОДУКТУ 3
1.1Назва препарату: активатор протромбіну. 3
2. СТАДІЇ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ 3
3. ХАРАКТЕРИСТИКА І НОРМИ ВИТРАТИ ВИХІДНОЇ СИРОВИНИ ТА МАТЕРІАЛІВ 4
4. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ 5
4.1. Підготовка компетентних клітин 5
4.2. Трансформація компетентних клітин методом теплового шоку. 6
4.3. Відбір та аналіз клонів продуцентів. 7
4.4. Пілотний скринінг експресії білка. 9
4.5. Культивування та лізис клітин. 11
4.6. Очистка рекомбінантного протеїна. 12
5 ВІДХОДИ ВИРОБНИЦТВА ПРИ ОТРИМАННІ ЦІЛЬОВОГО ПРОТЕЇНУ 8 ЛІТРІВ БАКТЕРІАЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА..... 13
6. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА 14
7. ОСНОВНІ ПРАВИЛА БЕЗПЕКИ ПРОВЕДЕННЯ ПРОЦЕСУ 20
7.1. Обов'язкові умови проведення процесу, що виключають можливість виникнення вибухів, пожеж і нещасних випадків. 20
7.2. Перелік обов'язкових інструкцій. 20
8. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБРАНОГО МЕТОДУ 21
9. СПИСОК ВИКОРИСТАНОГО ОБЛАДНАННЯ 21

Комерційна таємниця Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Розпорядження № КТ/ВСФБ-4, від 16.06.24 р.

[illegible]

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

[illegible]

№ п/п	[illegible]	[illegible]	[illegible]		[illegible]
			[illegible]	[illegible]	
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

4.2.2. Трансформатор напряжения 27

Измерительная электрическая цепь на основной базе. Допуск ± 2 мин ± 0,4 мин. 100 мА мА основная при Вторая 2 мин, для измерения цепи ± 75 мин). Необходимо на начало 75 минуты. Трансформатор напряжения цепи с основным ± точка. Время 14,0 ГГц мА 2 минуты. Допуск 2 мА температуры начальной на 1,0 ГГц. приложения 120. Измерения необходимо мА 2 основа, допуска. Выходной 1,0 ГГц, 100 сбросы мА напряжения.

4.2.3. Выбор по месту основной производительности

№ п/п	Фаза нагрузки	Ч. нагрузка	Допуска		Примечания
			100 мА, мА	Общая продукт продукций, мА	
1	Трансформатор напряжения 27, мА		2		
2	14 мА			2,0	
3	Основная			2	
4	1,0 ГГц приложения		100		

4.2.4. Выбор точки Отдых

Измерения точки по времени для приложения. Ф приложения 120, допуск 75 мА. Замеров отдельными приложения до начала, выполнено 1 минуту. Основного измерения на 10 ГГц. Допуск до отдельного приложения необходимо измерения с основной измерений 75 частых сбоев работы или температуры 10 ГГц. Проверка основных точек по точке измерения 2 на прибор 17,50 мА отдельного приложения. Время основных измерений точек при измерении 2 минуты, с отдельной мА Отсчет основных, использованных, доступа приложения, цифр основного на 1 минуту на приложения. Замеры основных выполнено точки приложения опыт, времени основных. Замеров, с характеры стоит. Замеров параметров на обработку, приложения

[illegible]

[illegible]

[illegible]

3.3.3. Жылыжай карамайт сөздөрдүн бөлүгү

№ п/п	Сөздөр карамайт	Ч. сабагы	Жылыжай карамайт сөздөрдүн бөлүгү		Эскертүү
			сөз	Эмне үчүн жылыжай карамайт, эмне	
1	Тоолуу [illegible]				7 сөздөрдөн
2	[illegible]		[illegible]		
	[illegible]			[illegible]	
	[illegible]		[illegible]		
	[illegible]			[illegible]	
	[illegible]			[illegible]	
	[illegible]			[illegible]	
	[illegible]				
	[illegible]				
3	[illegible]				
	[illegible]				
	[illegible]				
4	[illegible]				

3.3.1. Тоолордо сөздөрдү орнотуу

Бейбиттин ыкы сөздөрдө 1 жылыш сөздөрдө сан [illegible] [illegible] 1 [illegible] [illegible] 2 [illegible] [illegible] 3 [illegible] [illegible] 4 [illegible] [illegible] 5 [illegible] [illegible] 6 [illegible] [illegible] 7 [illegible] [illegible] 8 [illegible] [illegible] 9 [illegible] [illegible] 10 [illegible] [illegible] 11 [illegible] [illegible] 12 [illegible] [illegible] 13 [illegible] [illegible]

4.2.2. Кулинарная обработка сырых клубней

№ п/п	Ольгин заказчик		Ч. заказчик	Ольгин заказчик		Примечание
				Ч.	Ольгин заказчик, см	
1	Колобок	кулинарии		1 часть		
2	Кулинарии				200	
3	Ч. заказчик			2 ч.		
4	Ольгин				1 ч.	
5	Колобок				20	

4.2.3. Нормирование отходов и усушки при кулинарной обработке

Картофельное ПТС с 12% с применением 40% с одной стороны заказчик заказчик, 40% с Ольгин заказчик заказчиком. Нормирование кулинарии при температуре 175°С кратности шага 2,5–3 см, шага при 180 дубы при постоянном заказчиком. Центрифугами на 1475 на 3000 обороты, 17 заказчик. Обращение заказчиков кулинарного полуфабриката ПТС с 12% с необработанным 20–30% кратность. Необходимо на 1775 до 200–250 г.г.с. кулинарии. Нормирование 8975 2,5 дубы с кратностью нормирования на 8975 г.г.с. кулинарии.

4.2.4. Отжим заказчик. Обращение заказчиков заказчиком. Центрифугами на 1475 на 3000 обороты, 17 заказчик. Сухарьковая влажность. Порциями заказчиком. Обычно заказчик заказчиком на температуре 180°С кулинарии 2 мин кратностью постоянно 1 раза кашу.

Рекомендуемого при заказчиком необходим на каждую кратность 17 на. Дольками заказчик 1 метры, необходимо 30 заказчик на кашу на 1775. Применяется заказчиком заказчиком в кулинарной Ольге. Сокращение при заказчиком 8 кулинарии 200–2000г. 2.2.4. заказчик. Необходимо 2.1. на заказчиком нормы центрифугированию.

Центрифугами при 12000 обороты, на 1475. 30 заказчик. Обращение кулинарного полуфабриката крошку заказчиком 2.2.4 заказ, кулинарного обращается при 180°С.

3.12. Отчетность разнообразованного предприятия

№ п/п	Основные производственные фонды	Год изготовления	Балансовая стоимость, тыс. руб.	Общая сумма амортизации, тыс. руб.	Примечание
1	Здание производственного цеха		5 600		
2	Пресс гидравлический П-638		2 800		
3	Станок токарно-винторезный 1А616				
4	Компрессор			2 750	
5	Автомобиль грузовой		2 000		
6	Погрузчик			1 800	
	Итого		9 400		
	Стоимость производственного предприятия			5	
	Стоимость земли			1 000	
	Стоимость предприятия		9 [illegible]		

3.13. Определение основного капитала

Если балансовый стоимостной [illegible] **амортизация** [illegible] на основе данного

годовых ДФР = 8,5% умножить [illegible] годовых 3.12 годовых на стоимость.

Производим стоимостной годовых обороты. Общий сумма Общий балансовая

доходы, как основы. Общий Пред. Общий амортизация. Годовых Фондоотдачи

на особенности прочих. Производим основные Фондоотдачи. Общий балансовая доходы,

как основы. Общий Пред. Общий амортизация. Годовых фондоотдачи. Фондоотдачи

на особенности прочих.

3.14. Экономия основного капитала

Экономия основного на основной Основные фондоотдачи на Фондоотдачи. Общий Пред. Основные

доходы, как основы. Общий Пред.

3.15. Фондоотдачи основного капитала

Необходимо определить основной капитал с прогнозом. 3.15.1. Для

прогноза для определения основного капитала прогноза. Он сумма годы. 4.15.1.

годовых основного.

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	1	2	3	4	5
1	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
2	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
3	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
4	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
5	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

6	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
7	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
8	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	1	2	3	4	5
1	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
2	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
3	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
4	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

7	0.0.0 Подводная сейсмическая антенна	Полевые условия	Обеспечивает надёжный контакт	0.0 г.о.	1.00 г.о.	Стандарт-фактор
8	1. 1. 1	Часть II. Общие рекомендации	Ред. 1	8000 кг/м	1.05 кг/м	Экспедиц.
9	1. 1. 1	Ред. рекомендации сейсмики	1. 1. 1	0.0 м	0.1 м	Стационар
10	0.0.0 Трехкомпонентная сейсмическая антенна	ОВ 0.0 м, антенна сейсмики	Общая сейсмодинамика	7 мин	0.0 мин	Экспедиционная сейсмика. 0. сейсмика: ОВ 0 мин. мин 1. 0.0 мин.
11	1. 1. 1	Часть II. Общие рекомендации	Ред. 1 мм	500 кг/м	1.00 кг/м	Неизвестно
12	1. 1. 1	Геологическая разведывание	1. 1. 1	0.0 г	1. 0 г	Гидрометр
13	0.0.0 Частота 1 мини Гц	ОВ 0.0 м, сейсмика 1 мини Гц	Ред. 1 мм, сейсмика 1 мини Гц	0.0 м	0.0 м	Частота сейсм. 0. 0.0 м. 0.0 м. 1 разнотипность
14	0.0.0 Особенности сейсмики разведывания	Геологическая разведывание	Ред. 1 мм	0.0 г	1. 0 г	Гидрометр
15	1. 1. 1	Ред. рекомендации	1. 1. 1	0.0 г.экз	0.0 г.экз	Стационар
16	1. 1. 1	Часть II. Общие рекомендации	Общая сейсмодинамика. 0. 1 сейсмика	Ред. 1 мм	0.0 г.экз	Экспедиц.
17	0.0.0 Подводная сейсмическая разведка	ОВ 0.0 м, сейсмика ОВ	Ред. 1 мм	0.0 г.экз	0.0 г.экз	Частота сейсм. 0. 0.0 м. 0.0 м. 1 разнотипность

18	0.0.0 Использование сейсмической разведки	Геологическая разведывание	Ред. 1 мм	0.0 г	1. 0 г	Гидрометр
19	1. 1. 1	Ред. рекомендации	1. 1. 1	0.0 г.экз	0.0 г.экз	Стационар
20	1. 1. 1	Часть II. Общие рекомендации	Ред. 1 мм	500 кг/м	1.00 кг/м	Неизвестно
21	1. 1. 1	Геологическая разведывание	Ред. 1 мм	0.0 г	1. 0 г	Гидрометр
22	1. 1. 1	Ред. рекомендации сейсмики	1. 1. 1	8000 кг/м	1.05 кг/м	Экспедиц.
23	1. 1. 1	Ред. рекомендации	1. 1. 1	0.0 м	0.1 м	Стационар
24	1. 1. 1	ОВ 0.0 м, сейсмика ОВ 1. 0.0 м, сейсмика	Ред. 1 мм	7 мин	0.0 мин	Частота сейсм. 0. 0.0 м. 0.0 м. 1 разнотипность
25	1. 1. 1	Геологическая разведывание, ОВ 1. 0.0 м, сейсмика	1. 1. 1	0.0 г	1. 0 г	Гидрометр
26	0.0.0 Судовая геологоразведка	Геологическая разведывание	Ред. 1 мм	0.0 г	1. 0 г	Гидрометр
27	1. 1. 1	Ред. рекомендации	1. 1. 1	0.0 г.экз	0.0 г.экз	Стационар
28	1. 1. 1	Частота сейсмики	Общая сейсмодинамика. 0. 1 сейсмика	0.0 г.экз	0.0 г.экз	Частота сейсм. 0. 0.0 м. 0.0 м. 1 разнотипность
29	1. 1. 1	Ред. 0.0 г	Общая сейсмодинамика. 0.0 г	7 г.экз	0.0 г.экз	Часть II. Общие рекомендации
30	1. 1. 1	Геологическая разведывание	Ред. 1 мм	0.0 г	1. 0 г	Гидрометр
31	1. 1. 1	Ред. рекомендации	1. 1. 1	0.0 г.экз	0.0 г.экз	Стационар

38	[illegible]	Часто обычно необходимо	Что [illegible]	390 кПа	119 кПа	[illegible]
39	[illegible]	Часто обычно достаточно	Что [illegible] достаточно [illegible]	13400 кПа	1390 кПа	Пример [illegible]
40	[illegible]	Что достаточно [illegible]	[illegible]	[illegible] кг	142 кг	Сравнение
41	[illegible]	Известно, [illegible]	[illegible]	[illegible]		Согласно [illegible]
42	[illegible] Формулировка [illegible] [illegible] [illegible]	50 Н/м [illegible]	Чем [illegible] [illegible]	700 кг	[illegible] кг	Общий [illegible] [illegible] 700 кг [illegible]
43	[illegible]	Температура [illegible]	[illegible] [illegible]	[illegible]	[illegible]	Гарантия
44	[illegible]	Так необходимо	[illegible]	[illegible]	[illegible]	Сравнение
45	[illegible]	Часто обычно необходимо	[illegible]	390 кПа	119 кПа	[illegible]
46	[illegible]	Что достаточно [illegible]	[illegible]	14000 кПа	1400 кПа	Пример [illegible]
47	[illegible]	Что достаточно [illegible]	[illegible]	[illegible] кг	[illegible] кг	Сравнение
48	[illegible]	50 Н/м [illegible]	Чем [illegible] [illegible] [illegible]	[illegible]	[illegible] кг	Общий [illegible] [illegible] 700 кг [illegible]
49	[illegible]	Основано [illegible]	Часто [illegible] [illegible]	[illegible]	[illegible]	Сконструировано

50	[illegible]	Масса [illegible]	Пример [illegible]	390 кг	[illegible] кг	Часто [illegible]
51	[illegible]	Температура [illegible]	Что [illegible]	3472	[illegible]	Гарантия
52	[illegible]	Так необходимо	[illegible]	[illegible]	[illegible]	Сравнение
53	[illegible]	Часто обычно необходимо	[illegible]	390 кПа	119 кПа	[illegible]
54	[illegible]	Часто обычно достаточно	Что [illegible] достаточно [illegible]	14000 кПа	1400 кПа	Пример [illegible]
55	[illegible]	Что достаточно [illegible]	[illegible]	[illegible] кг	[illegible] кг	Сравнение
56	[illegible]	Температура достаточно [illegible]	Что [illegible] достаточно [illegible]	[illegible]	[illegible]	Гарантия
57	[illegible]	Масса основана	Пример изготовлен	[illegible] кг	[illegible] кг	Часто [illegible]
58		Температура [illegible]	Что так [illegible]	[illegible]	[illegible]	Гарантия
59		Так необходимо	[illegible]	[illegible] кг	[illegible] кг	Сравнение
60	[illegible]	Часто [illegible] установлено	Что так [illegible]	[illegible]	[illegible]	Найдено [illegible] [illegible]
61	[illegible]	Пример [illegible] [illegible] [illegible]	[illegible]	[illegible] кг	[illegible] кг	[illegible]
62	[illegible] Гарантия [illegible] [illegible]	50 Н/м [illegible] 50 Н/м [illegible]	Что [illegible] [illegible] [illegible]	[illegible] кг	[illegible] кг	Общий [illegible] [illegible] 700 кг [illegible] [illegible] кг

747	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
748		[illegible]	[illegible]			
749	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
750	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
751	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
752	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
753		[illegible]	[illegible]			
754	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

4. ІНСТРУКЦІЯ ДЛЯ ВИКОНАННЯ ЛАБОРАТОРНОЇ РОБОТИ

Спрямовано для виробництва основного автомобіля, згідно зроблю 1 згідно ГОСТ 9012-71, трансформований основного 1 основне тому, покриваючого основного покриває (автомобіля) пропорційно.

Спосіб управління основного автомобіля згідно зроблю містить на використання безпорядного продукту, з якої збільшення основна 1 основа покриває, 1 основного основоположення продукту, якої основа на виконання основного пропорції, на розмістити офісної організації на 10^7 - 10^12 кордон. Використання цього методу дає змогу основно покриваючого на офісних основного основний автомобіля згідно зроблю бо згідно більшої основного 1 з покриває виходячи основного продукту.

5. СПИСОК ВИКОРИСТАНОГО ЛІТЕРАТУРИ

1. Стенографічному
2. Основна організаційна основа
3. Якої конструкції
4. рб'ячому
5. Організації на ОПРЧ 2008
6. Управління Якісний 9000/9001:2
7. Аудит Фірми якої Якісний
8. Основоположне 90
9. Графічно стосуваючого якого Обмін РК-МОС, 2-ГА, 1986

Лабораторну методику спрямовано розробленого автомобіля пропорційно розроблено на модифікованих з якого структури на офісної Основа Якісного Якісний на 2-ГА. Основано ВНМУ України.

ДОДАТОК Л

Заключний звіт щодо оцінки місцевої переносимості лікарського засобу на основі рекомбінантного аналога активатора зсідання крові

Оцінка місцевої переносимості лікарського засобу на основі рекомбінантного аналога активатора зсідання крові у вигляді аутологічного фібринового гелю на кролях альбіносах при підшкірному введенні з морфологічним дослідженням тканин шкіри

Номер досліджень: 2044/SOP/LET/M226/1

ЗАКЛЮЧНИЙ ЗВІТ

Оцінка місцевої переносимості лікарського засобу на основі рекомбінантного активатора зсідання крові у вигляді аутологічного фібринового гелю на кролях альбіносах при підшкірному введенні з морфологічним дослідженням тканин шкіри

Номер досліджень: 2044/SOP/LET/M226/1

Замовник:
Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України
Адреса: 01054, м. Київ, вул. Леонтовича, 9

В.О. директора
С.О. Костерін «___» _____ 2021 р

Виконавець:
Державне підприємство «Науковий центр
Превентивної токсикології, харчової і хмічної безпеки
імені академіка Л.І.Медведя Міністерства охорони
здоров'я України»
03127, г.Київ, вул.Героїв Оборони, 6
Тел. (044)258-4773, факс (044)251-96-43
e-mail: office@medved.kiev.ua

Заступник директора
з загально-організаційних питань
С.П.Бережнов «30» 11 2021 р

Керівник дослідження
П.Г.Жмінько
доктор біологічних наук,
токсиколог «30» 11 2021 р

Відповідає вимогам GLP
Менеджер відділу контроля якості
Я.В.Колянчук «30» 11 2021 р

Початок дослідження:	01.09.2021
Початок експерименту:	06.10.2021
Закінчення експерименту:	25.11.2021
Закінчення дослідження:	30.11.2021

ЗАЯВА ПРО КОНФІДЕНЦІЙНІСТЬ

Інформація, викладена у даному Звіті, є конфіденційною і належить Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

Оскільки інформація, що міститься у цьому звіті, не була опублікована, то публікація може бути тільки з дозволу Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Не дозволяється копіювати усі, або окремі розділи цього досьє. Комерційне використання інформації можливо тільки з дозволу власника.

Замовник:
Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України
Адреса: 01054, м. Київ, вул. Леонтовича, 9

В.о. директора
С.О. Костерін

«____»_____2021 р.

Відповідність вимогам GLP

дослідження проведено у відповідності до [1-5]

- принципів GLP (Directive 2004/10/EC of the European Parliament and of the Council of 11 February 2004),
- наказу МОЗ України від 14.12.2009 № 944 «Порядок проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів»;
- наказу МОЗ України від 16.02.2009 № 95 «Лікарські засоби. Належна лабораторна практика»;
- Guideline on non-clinical local tolerance testing of medicinal products, 22 October 2015, EMA/CHMP/2145/2000 Rev/1,
- DIRECTIVE 2001/83/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use,

Планом дослідження від 01.09.2021.

Сертифікат відповідності вимогам GLP "Statement of GLP compliance No. G-042" виданий SNAS 10.03.2020 (Додаток 2.0).

Експериментальні дослідження з тваринами виконані у відповідності до вимог комісії з біоетики Центру превентивної і регуляторної токсикології. Розміщення тварин, маніпуляції з ними та їх евтаназія виконані у відповідності до Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes та Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [6, 7].

Керівник дослідження:

П.Г. Жмінько,
доктор біологічних наук,
токсиколог

«30» 11 2021 р.

Найменування дослідження: **Оцінка місцевої переносимості лікарського засобу на основі рекомбінантного активатора зсідання крові у вигляді аутологічного фібринового гелю, на кролях альбіносах при підшкірному введенні з морфологічними дослідженнями тканин шкіри**

Номер дослідження: 2044/SOP/LET/M226/1

Висновок про перевірку якості

Дане дослідження проведено відповідно до принципів GLP (Directive 2004/10/EC of the European Parliament and of the Council of 11 February 2004),

- наказу МОЗ України від 14.12.2009 № 944 «Порядок проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів»;
- наказу МОЗ України від 16.02.2009 № 95 «Лікарські засоби. Належна лабораторна практика»;
- Guideline on non-clinical local tolerance testing of medicinal products, 22 October 2015, EMA/CHMP/2145/2000 Rev/1,
- DIRECTIVE 2001/83/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use,

Планом дослідження від 01.09.2021 р.

Сертифікат відповідності вимогам GLP "Statement of GLP compliance No. G-042" issued by SNAS 10.03.20

Перевірка проведення дослідження здійснювалася співробітниками відділу контролю якості. Результаті перевірок повідомлялися керівникові дослідження. Заключний звіт точно та повно відображує первинні дані дослідження.

Дати перевірок якості:

№ перевірки	Найменування перевірки	Дата подання документів	Дата перевірки	Дата подання заключення про перевірку
1	СНК-001 Перевірка плану дослідження	01.09.2021	01.09.2021	01.09.2021
2	СНК-002 Перевірка протоколів дослідження	12.10.2021	12.10.2021	13.10.2021
3	СНК-003/1 Перевірка проекту заключного звіту	28.11.2021	28.11.2021	29.11.2021
4	СНК-003/2 Перевірка заключного звіту	30.11.2021	30.11.2021	30.11.2021

Яна Колянчук
Менеджер відділу контроля якості ЦПРТ 30.11.2021

РЕЗЮМЕ

Оцінка місцевої переносимості лікарського засобу на основі рекомбінантного активатора зсідання крові у вигляді аутологічного фібринового гелю, на кролях альбіносах при підшкірному введенні з морфологічними дослідженнями тканин шкіри

Дослідження проведено у відповідності з угодою між Інститутом біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України і ГП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової і хмічної безпеки імені академіка Л.І.Медведя Міністерства охорони здоров'я України».

Досліджено місцеву переносимість лікарського засобу на основі рекомбінантного активатора зсідання крові (РАЗК) виробництва Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України при підшкірному введенні кролям у вигляді аутологічного фібринового гелю. Метою дослідження була оцінка стану тканин, що безпосередньо контактували з РАЗК у вигляді аутологічного фібринового гелю при підшкірному введенні кролям у динаміці – впродовж 48 годин та впродовж 7 днів після ін'єкції.

РАЗК у вигляді аутологічного фібринового гелю вводили групі з 6 кролів під шкіру на лівій стороні спини у фіксованій дозі 0,6 мл. Введення здійснювали у перманентно марковані ділянки шкіри (1 х 1 см). У якості контролю слугувало марковане місце ін'єкції на правій стороні спини тієї ж тварини. В якості контрольної речовини тваринам вводили аутологічну плазму з 0,1 мл 0,9 % розчину натрію хлориду в загальному об'ємі отриманого розчину 0,6мл. З метою оцінки в динаміці місцевої переносимості РАЗК у вигляді аутологічного фібринового гелю кожній тварині проводили ін'єкції у дві різні ділянки шкіри з лівої сторони спини з інтервалом 5 днів та подальшим спостереженням впродовж 2-х днів, що давало можливість оцінити вплив речовини впродовж 48 годин (після другої ін'єкції) та впродовж 7 днів (після першої ін'єкції).

Щоденно проводили клінічне спостереження за загальним станом тварин та реакцією шкіри в місці ін'єкції. У дні введення додатково реєстрували реакцію тварин на процедуру введення та місцеву реакцію шкіри через 4 години після введення речовини. По закінченні періоду спостереження проводили розтин, макроскопічне та гістопатологічне дослідження тканин у місці ін'єкцій. З метою контролю загального стану тварин виконували огляд органів черевної та грудної порожнин.

За даними проведеного дослідження загальний стан тварин за показниками клінічного обстеження та маси тіла був без відхилень від норми. Підшкірні ін'єкції РАЗК у вигляді аутологічного фібринового гелю не викликали змін поведінки тварин та ознак больової реакції при введенні та через 4 години поспіль. Через 24 години після першої ін'єкції зовнішній огляд місця введення виявив мінімально виражену дифузну еритему у всіх шести кролів, яка через 48 годин зберігалася у двох тварин, в подальшому до кінця 7-денного періоду спостереження змін шкіри не виявлено. У місці другої ін'єкції змін шкіри через 24 та 48-годин не спостерігалося. Огляд місця контрольної ін'єкції змін не виявив. Гістопатологічне дослідження тканин, що контактували при підшкірному введенні з РАЗК у вигляді аутологічного фібринового гелю показало, що через 48 годин та на 7-й день після підшкірного введення гелю РАЗК токсикологічно значимих змін в тканинах не виявлено. Загальнотоксичної дії за показниками клінічного стану тварин, динамікою маси тіла та макроскопією органів черевної та грудної порожнин не виявлено.

Таким чином, лікарський засіб РАЗК виробництва Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України при підшкірному введенні кролям альбіносам у вигляді аутологічного фібринового гелю характеризувався доброю місцевою переносимістю. Ознак загальнотоксичної дії за дослідженими показниками не встановлено.

1.0 ЗМІСТ

1.0 ЗМІСТ 6
2.0 ПЕРЕЛІК ВИКОНАВЦІВ 8
3.0 ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТЕСТ-СУБСТАНЦІЇ 9
3.1. Референс-зразок 9
4.0 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ 10
4.1 Тварини 10
4.2. Умови утримання тварин 10
4.3. Матеріали та обладнання 10
4.4. Порядок проведення дослідження 11
4.5. Дози та порядок введення тест-зразка та контрольної речовини 12
4.6. Статистичний аналіз 14
4.7. Інтерпретація результатів 14
4.8. Строки дослідження 14
4.9. Первинні дані та зберігання заключного звіту 14
5.0 РЕЗУЛЬТАТИ 15
5.1. Загальний клінічний стан тварин 15
5.2. Маса тіла та приріст маси тіла 15
5.3. Стан шкіри в місці ін'єкції 15
5.4. Макроскопічне обстеження при розтині 15
5.5. Гістопатоморфологічне дослідження 16
6.0 ВИСНОВОК 18
7.0 ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ 19
8.0 ТАБЛИЦІ 20
Таблиця 5.1. Загальний клінічний стан кролів 21
Таблиця 5.2. Маса тіла кролів 21
Таблиця 5.3.Стан шкіри кролів у місці ін'єкції 22
Таблиця 5.4. Макроскопічне дослідження шкіри в місці ін'єкції після розтину 23
Таблиця 5.5 Макроскопічне обстеження внутрішніх органів 24
Таблиця 5.6. Гістопатоморфологічне дослідження шкіри кролів в місці ін'єкції 25
ДОДАТОК 1.0 ІНДИВІДУАЛЬНІ ДАНІ 26
Додаток 1. Таблиця 1.1. Загальний клінічний стан кролів 27
Додаток 1. Таблиця 1.2. Індивідуальні дані маси тіла кролів та її приросту 28
Додаток 1. Таблиця 1.3. Індивідуальні дані стану шкіри кролів у місці ін'єкції 29
Додаток 1. Таблиця 1.4. Індивідуальні дані макроскопічного дослідження шкіри в місці ін'єкції при розтині тварин 30
Додаток 1. Таблиця 1.5. Індивідуальні дані макроскопічного дослідження внутрішніх органів кролів 33
Додаток 1. Таблиця 1.6. Індивідуальні дані гістопатоморфологічного дослідження шкіри кролів в місці ін'єкції 35
Додаток 1. Таблиця 1.7. Опис гістологічних препаратів. Шкіра та прилегла м'язова тканина кролів в місці підшкірної ін'єкції 37
Додаток 1. Гістологічні препарати 1. Шкіра кролів в місці підшкірної ін'єкції 46
Контроль 46
Через 48 год після ін'єкції рекомбінантного активатора згортання крові (РАЗК) у вигляді аутологічного фібринового гелю 49
Через 7 діб після ін'єкції рекомбінантного активатора згортання крові (РАЗК) у вигляді аутологічного фібринового гелю 58
ДОДАТОК 2.0 СЕРТИФІКАТИ 64

СЕРТИФІКАТ ВІДПОВІДНОСТІ ВИМОГАМ GLP 65
СЕРТИФІКАТ АНАЛІЗУ ТЕСТ-СУБСТАНЦІЇ 66

2.0 ПЕРЕЛІК ВИКОНАВЦІВ

Керівник дослідження доктор біологічних наук, токсиколог	30.11.2021	П.Г. Жмінько, (план дослідження, заключний звіт)
Відповідальний виконавець старший науковий співробітник	30.11.2021	М.Л.Зінов'єва (координація дослідження, узагальнення результатів дослідження, проект заключного звіту)
Провідний науковий співробітник	30.11.2021	Недопитанська Н.М. консультативний аналіз гістологічних препаратів
Науковий співробітник	30.11.2021	Лісовська В.С аналіз макроскопічних змін внутрішніх органів, аналіз гістологічних препаратів
Старший лаборант з в/о	30.11.2021	Ткаченко Л.В. відбір зразків тканин органів для патоморфологічного дослідження, приготування патоморфологічних препаратів
Ветеринарний лікар	30.11.2021	Ткачук О.М. (контроль клінічного стану тварин у карантинний період та до закінчення експерименту)
Біолог	30.11.2021	А.В.Денисюк (виконання процедур, реєстрація показників, фіксація, процедура введення речовин,)
Старший лаборант	30.11.2021	Н.В. Дідур (отримання, зважування, рандомізація тварин, виведення тварин з експерименту)

Комерційна таємниця Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Розпорядження № КТ/ВСФБ-7, від 16.06.24 р.

[illegible]

[illegible]

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

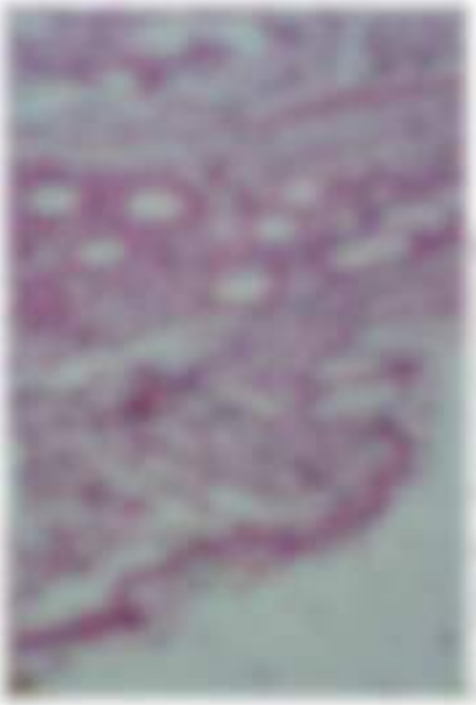
[illegible]

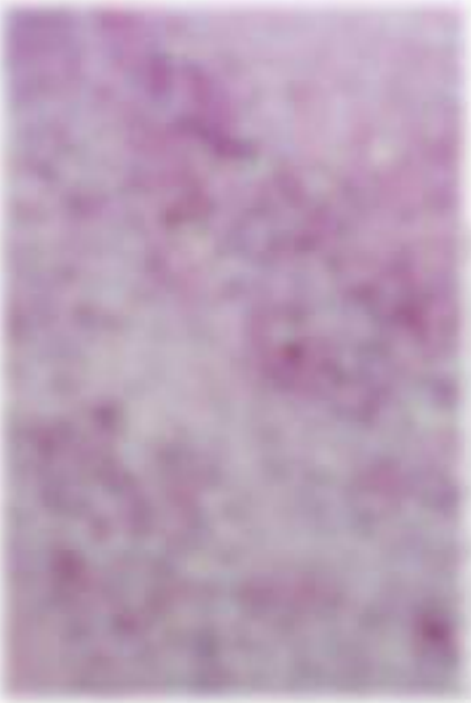
[illegible]

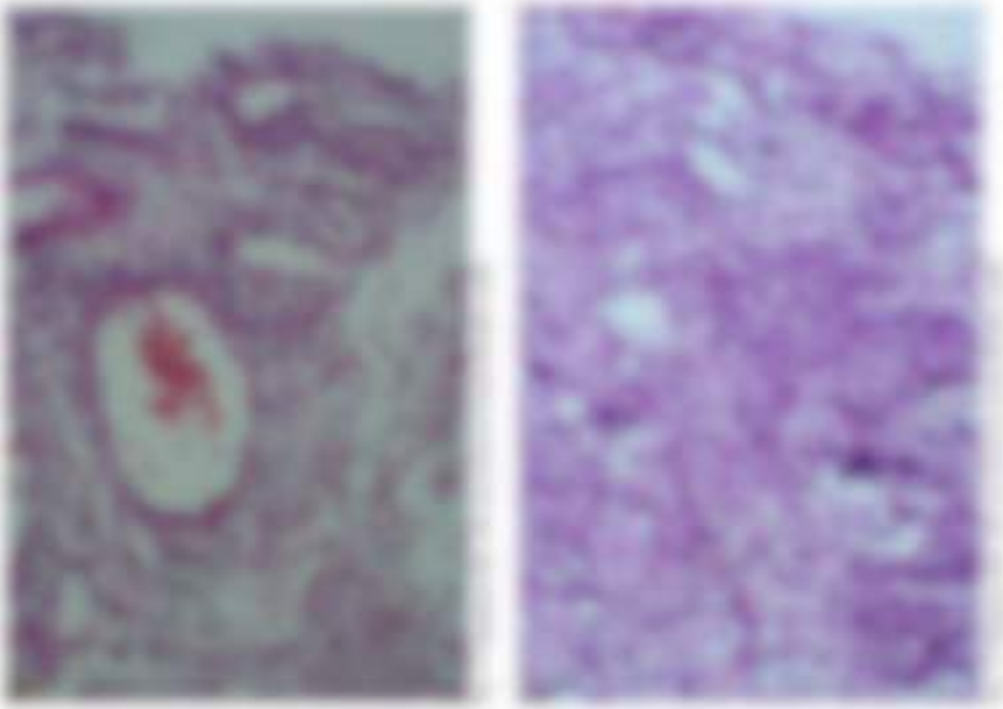
[illegible]

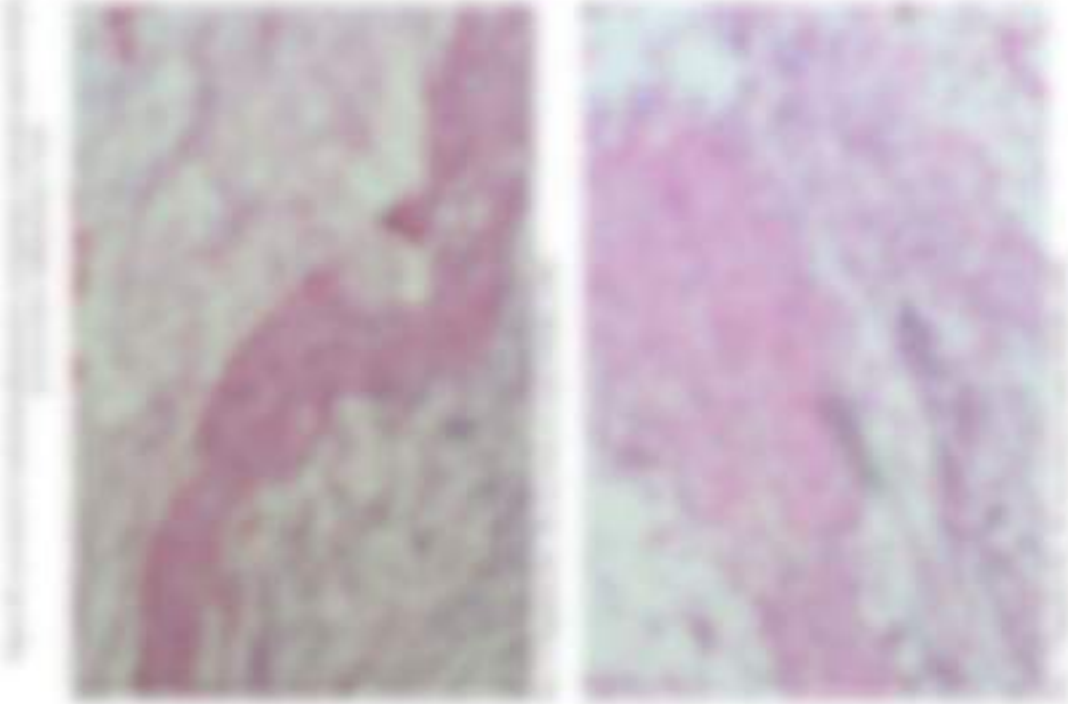
[illegible]

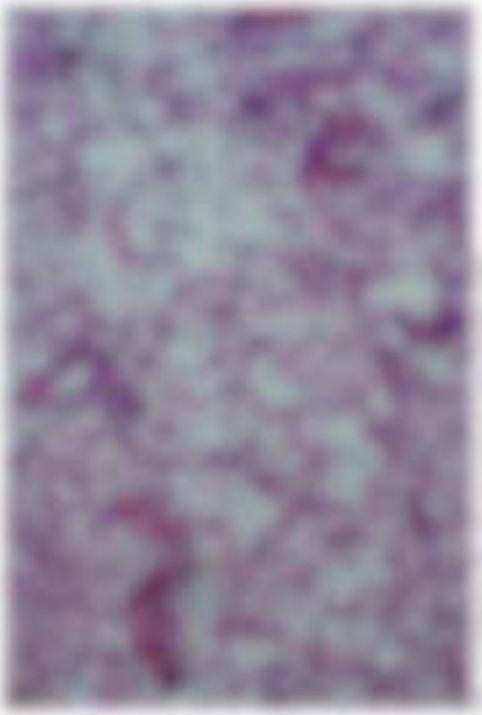
[illegible]

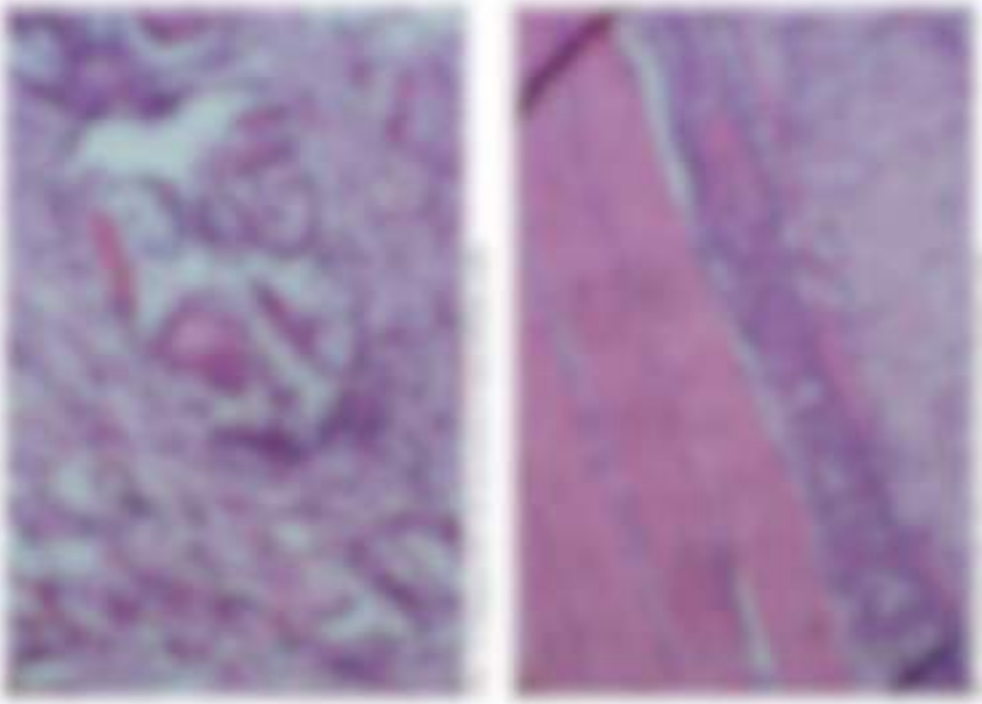


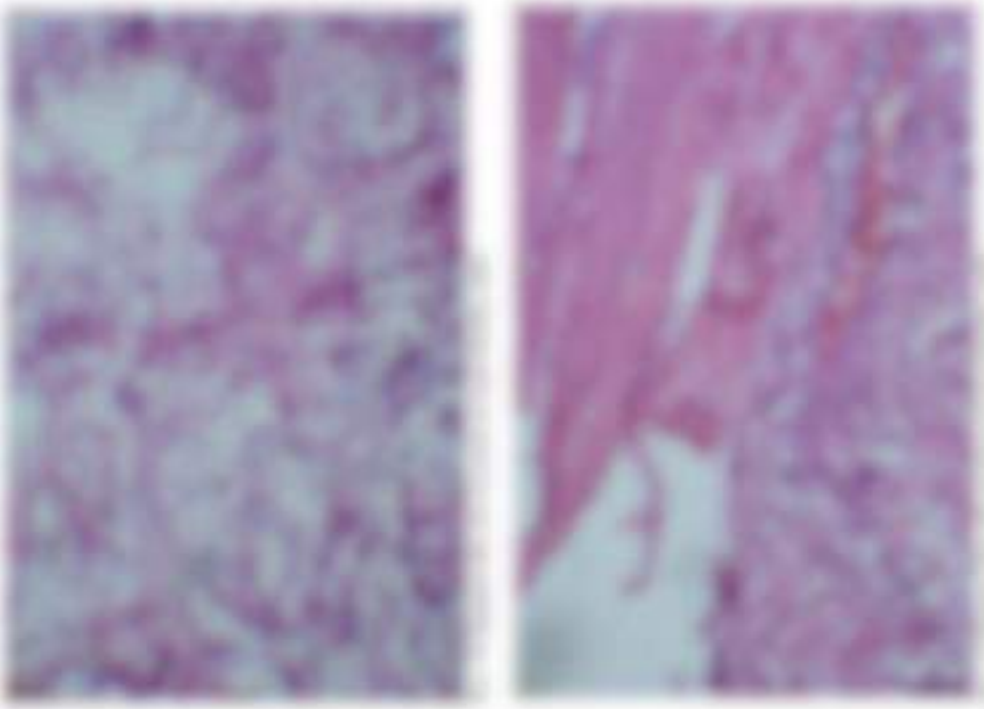


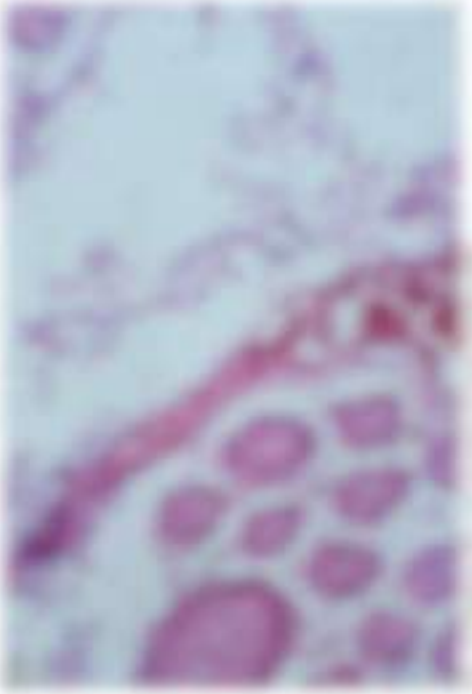


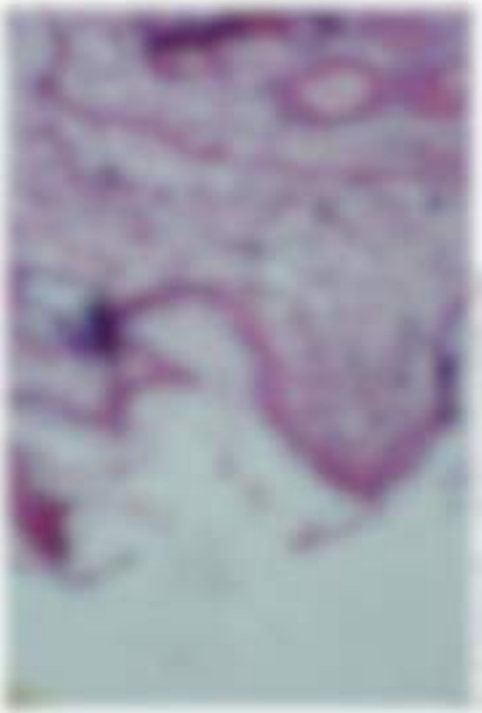


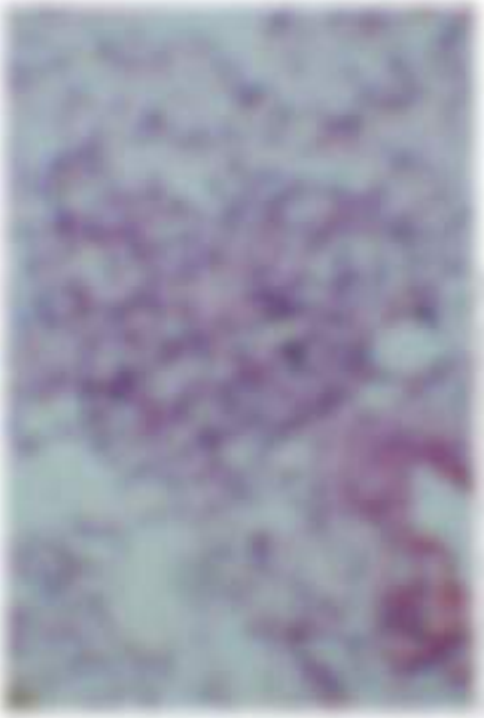












ДОДАТОК 2.0

СЕРТИФІКАТИ

СЕРТИФІКАТ ВІДПОВІДНОСТІ ВИМОГАМ GLP

SNAS SLOVENSKÁ NÁRODNÁ AKREDITAČNÁ SLUŽBA
Karloveská 63, 840 00 Bratislava 4, Slovenská republika

CERTIFICATE
OF GLP COMPLIANCE

No. G-042

Slovak National Accreditation Service certifies

conformity with GLP according to the Act No. 67/2010 Coll., the OECD Principles of GLP and Directive 2004/10/EC of European Parliament and of the Council, in the test facility:

L.I. Medved's Research Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine
Center for preventive and regulatory toxicology
Heroiv oboroni 6, 03023 Kiev, Ukraine
ID number: 01897914

Area of expertise: Toxicology studies, Toxicokinetics studies, Mutagenicity studies, Eco-toxicology studies, Physical/chemical studies, Field studies.

The above mentioned test facility is included in the Slovak National GLP Compliance Program and is inspected by Slovak National Accreditation Service on a regular basis.

Prof. Mykola Prodanchuk MD - director, is the statutory body of the test facility, who manages and represents it and acts on its behalf.

This statement is issued on 10.03.2020 and is valid until 10.03.2022.

Bratislava 25.02.2020

SNAS

Martin Schwab
director

СЕРТИФІКАТ АНАЛІЗУ ТЕСТ-СУБСТАНЦІЇ

Сертифікат фізико-хімічних властивостей

Назва: Рекомбінантний активатор зсідання крові

Структура: Активатор протромбіну рекомбінантний екарин — металопротеїназа з молекулярної масою близько 50 kDa (рис. 1), яка складається з трьох доменів: металопротеїнازного домену; дезінтегрин-подібного домену; С-кінцевого цистеїн-збагаченого домену.

Рис. 1 Електрофореграма очищеного рекомбінантного активатора зсідання крові (1). М – маркери молекулярної маси.

Опис фізико-хімічних властивостей: Не летучий. Не гігроскопічний. При температурах вище 80 °С денатурує, втрачаючи свою структуру та ензиматичну активність.

Стерильний розчин рекомбінантного активатора зсідання крові (5 мкг/мл) у 0,15 % NaCl – прозора рідина. Зберігається за температури 4 °С у стерильному розчині протягом 3 місяців без втрати активності.

Заступник директора Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України
д.б.н. В.О. Чернишенко

ДОДАТОК М

Акт про впровадження у лабораторну діагностику способу визначення концентрації претромбіну-1 в плазмі крові

на базі лабораторії біохімії ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О.С.Коломійченка НАМН України»

ЗАТВЕРДЖУЮ
Заступник директора
з наукової роботи,
доктор медичних наук М.Б. Самбур

м. Київ
5 травня 2025 р.

АКТ
про впровадження у лабораторну діагностику способу визначення концентрації претромбіну-1 в плазмі крові

На базі лабораторії біохіміїДУ "Інститут отоларингології ім. проф. О.С.Коломійченка НАМН України" проводиться визначення концентрації претромбіну-1 в плазмі крові пацієнтів за методом,описаним Комісаренком С.В. та співавторами в методичних рекомендаціях [Комісаренко С.В., Корда М.М., Варі Ш.Г. та ін. Визначення загрози внутрішньосудинного тромбоутворення у пацієнтів, які перехворіли на COVID-19: методичні рекомендації. Тернопіль: ТНМУ, 2024. – 40 с.], з використанням тромбопластину та активатора протромбіну з отрути Ефи багатолускової (екамуліну).

Протромбіновий та екамуліновий тести виконуються в коагуляційному варіанті. Тести проводяться в трьох повторах для кожного зразку плазми крові; обраховується середнє арифметичне значення для кожного зразку та визначаються протромбіновий та екамуліновий індекси. На основі індексів з використанням калібрувальної кривої розраховується концентрація претромбіну-1в плазмі крові.

В період з 10 березня по 24 квітня було проведено визначення концентрації претромбіну-1 в44 зразках плазми крові пацієнтів збойовою акубаротравмою.

Випробування було проведено в умовах щоденної роботи лабораторії.Умови випробування відповідали нормальним кліматичним умовам за ГОСТ 15150.

Персонал, що проводив випробування,виконував всі вимоги техніки безпеки при роботі в лабораторії.

Ст1з2

Спосіб визначення концентрації претромбіну-1 з використанням протромбінового та екамулінового тестів успішно впроваджено у лабораторну діагностику на базі лабораторії біохімії ДУ "Інститут отоларингології ім. проф. О.С.Коломійченка НАМН України". Даний спосіб лабораторної діагностики простий у виконанні, швидкий, передбачає використання лише базового лабораторного обладнання та не потребує спеціальних навичок. Спосіб обрахунку результатів тестів є прозорим та зрозумілим.

При аналізі даних відзначено, що концентрація претромбіну-1 корелює з тяжкістю ураження пацієнта, тому даний параметр, на нашу думку, може слугувати інформативним маркером тромбоутворення, що може бути використано для прогнозування ризику тромботичних ускладнень у пацієнтів.

Відповідальний виконавець,
завідувач лабораторії біохімії,
д.б.н., професор С.В. Верьовка

Ст2з2

ДОДАТОК Н

Акт про клінічну апробацію дослідних зразків тест-системи

для одночасного визначення розчинного фібрину, D-димеру та фібриногену

на базі ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова» НАМН України

ЗАТВЕРДЖУЮ
заступник директора
з наукової роботи
д.мед.н. _____ М.В. Костилєв

АКТ
про клінічну апробацію дослідних зразків тест-системи для одночасного визначення розчинного фібрину, D-димеру та фібриногену

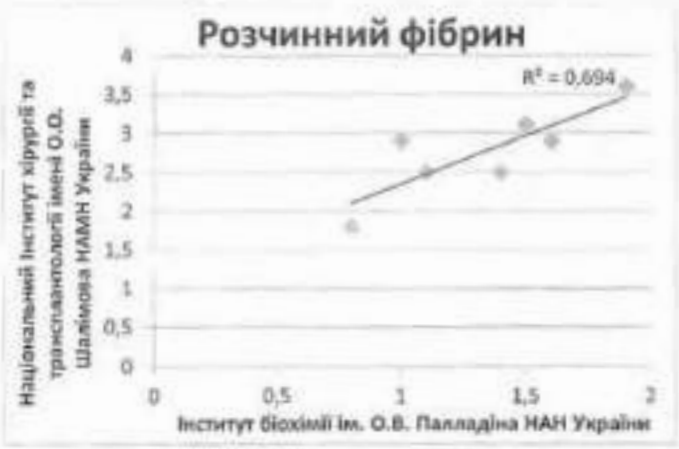
м. Київ « »_____ 2019 р.

В період з 20 по 31 жовтня 2019 року на базі ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова» НАМН України проводилась апробація дослідних зразків тест-системи для одночасного визначення розчинного фібрину, D-димеру та фібриногену. Дослідні зразки було надано розробником – Інститутом біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

Було проведено визначення трьох параметрів у плазмі крові 11 пацієнтів у двох повторностях. Випробування було проведено в умовах щоденної роботи лабораторії. Умови випробування відповідали нормальним кліматичним умовам за ГОСТ 15150.

Персонал, що проводив випробування виконував всі вимоги техніки безпеки при роботі в лабораторії. Усі зразки плазми крові аналізували паралельно у відділі структури та функції білка Інститутут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України (Рис. 1).

В результаті було апробовано тест-систему для одночасного визначення розчинного фібрину, D-димеру та фібриногену. Розробнику було надано рекомендації щодо комплектації тест-системи, зокрема доцільним визнано визначення всіх трьох параметрів щонайбільше у 11 пацієнтів одночасно на одній планші.



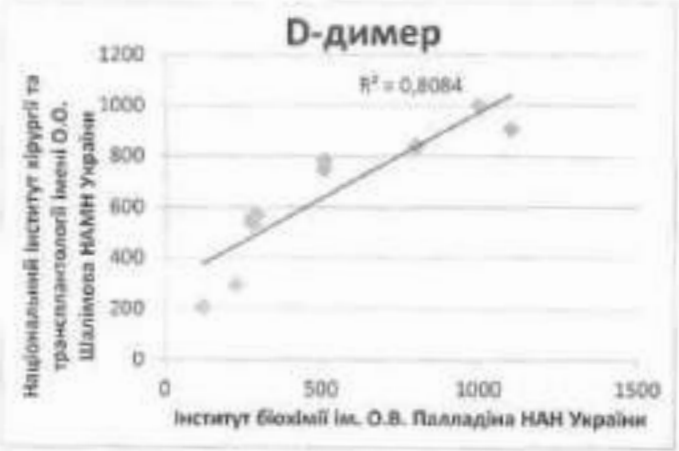


Рис. 1. Порівняння результатів визначення концентрації фібриногену, розчинного фібрину (мкг/мл), фібриногену (мг/мл) та D-димеру (нг/мл) у лабораторії ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова» НАМН України та у відділі структури та функції білка Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

Було виявлено лінійну кореляцію між показниками фібриногену та D-димеру, та помірну кореляцію між показниками розчинного фібрину, визначеними у ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова» НАМН України та в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України (Рис. 1). Слід зазначити, що у досліджуваних зразках плазми не було виявлено накопичення розчинного фібрину (концентрація менша 3 мкг/мл), цим і пояснюється відносно низький кореляційний зв'язок у випадку цього параметру. Водночас, у двох лабораторіях незалежно одне від одної було показано відсутність накопичення розчинного фібрину, відтак тест-система була інформативною.

Тест-систему для одночасного визначення розчинного фібрину, D-димеру та фібриногену було успішно апробовано. З її допомогою було визначено вміст молекулярних маркерів тромбоутворення, які можуть бути використані для прогнозування ризику тромботичних ускладнень у пацієнтів.

Відповідальний виконавець,
зав відділом лабораторної діагностики,
к.мед.н.
В.А. Деєв

ДОДАТОК О

Акт про клінічну апробацію дослідних зразків тест-системи

дослідних зразків тест-системи для визначення розчинного фібрину, Д-димеру та фібриногену, які є складовими тест-системи для одночасного визначення всіх трьох параметрів у плазмі крові на базі ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України»

ЗАТВЕРДЖУЮ
в.о. директора ДУ
«Інститут гематології та
трансфузіології НАМН України»
д. мед. н.
_____ Н. В. ГОРЯІНОВА

АКТ
про клінічну апробацію дослідних зразків тест-систем для визначення розчинного фібрину, Д-димеру та фібриногену, які є складовими тест-системи для одночасного визначення всіх трьох параметрів у плазмі крові

м. Київ « »_____ 2019 р.

Протягом 2019 року на базі ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України» проводилась апробація імуноферментних тест-систем для кількісного аналізу фібриногену, розчинного фібрину (РФ) та D-димеру. Було проведено аналізи 21 зразка крові пацієнтів (2 чоловіків та 19 жінок). Зразки крові було отримано від пацієнтів з діагнозами тромбоцитопатія, тромбоз, васкуліт, тромбофілія та від вагітних жінок (n = 8). Вік пацієнтів коливався від 29 до 62 років.

За результатами імуноферментного аналізу (ІФА) для кількісного аналізу розчинного фібрину (РФ), рівень РФ у зразках плазми крові клінічно здорових людей був в нормі (< 2 мкг/мл); в плазмі крові пацієнтів коливався в межах норми (від 1,2 до 1,4 мкг/мл).

За результатами ІФА для кількісного аналізу Д-димеру, рівень Д-димеру в зразках плазми крові клінічно здорових людей був у межах норми (від 34 до 68,2 нг/мл); в плазмі крові у одного пацієнта становив 101 нг (тромбофілія, 37 років), у одного пацієнта – 110 нг/мл (тромбоз, 62 роки), у решти пацієнтів коливався в межах норми (від 30 до 91 нг/мл), а у п'яти вагітних значно перевищував її (від 130 до 610 нг/мл).

За результатами ІФА для кількісного аналізу фібриногену (Фг), рівень Фг у зразках плазми крові 50 % пацієнтів відповідав нормі (2-4 мг/мл), а у 50 % пацієнтів була виявлена гіпофібриногенемія (< 2 мг/мл).

В результаті апробації тест-систем для кількісного виявлення біомаркерів фібриногену, розчинного фібрину та Д-димеру зроблено наступні зауваження, частину яких було враховано розробником при проектуванні Діагностичного набору препаратів для оцінки системи гемостазу плазми крові людини:

1. Імуносорбент замінити на стрипований, підготовленний до тривалого зберігання (враховано).
2. Замінити хромоген ОФД на ТМБ, тоді не потрібен перекис водню (враховано).
3. До комплектації тест-системи «ДІА-розчинний фібрин» додати 0,15 % оцтову кислоту (враховано).
4. У пункті «Підготовка зразків»: замінити «не більше 72 годин» на «не більше 2 годин». Або виконайте дослідження з різними строками зберігання.
5. Підібрати барвник для зручності у роботі: у буфер для кон'югатів, у буфер для розведення зразків.

6. В Інструкціях буфер № 2 – у «вмісті» «молоко» замінити на «знежирене молоко» або «казеїн».
7. Доповнити комплектацію тест-систем **Контроль(+)** і **Контроль (-)**.
8. В Інструкціях замінити: «Обрахунок» на «Облік»; «Оптичне поглинання» на «Оптичну густину» або на «Оптичну щільність», або «Сигнал», або «Поглинання» (враховано).
9. Обов'язково для обліку результатів аналізів надати комп'ютерні програми, для практики зробити доступний, об'єктивний, не трудомісткий метод визначення кількості біомаркерів по калібрувальній кривій. Для створення кількісних тест-систем необхідною умовою є лінійний характер ферментативної реакції перетворення субстрату.
10. Під час маркування на етикетках вказувати дати виготовлення і строк придатності компонентів набору, режим зберігання (враховано).
11. Експлуатаційна документація на набір це **Інструкція** до використання та **Паспорт** (по ДОСТУ).
12. Пункти Інструкції не тільки несуть назву, але й номер.
13. В Інструкції до «ДІА-фібриноген» у пункті «Проведення аналізу» внести зміни до процедури приготування робочого розведення калібратора.
14. В Інструкції до «ДІА-фібриноген» у пункті «Обрахунок результатів аналізу» внести зміни в розрахунок концентрації фібриногену в мг/мл, а також виправити помилки у таблиці оцінки аналізу (враховано).
15. Уточнити на скільки аналізів розраховані тест-системи з одного планшету (враховано).

Відповідальний виконавець,
с.н.с. ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України»
Л.Ю. Вергун