

ООО «Научно-производственная фирма «АБРИС+»

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «НПФ «АБРИС+»



Марковский В.М.
09. 2019 г

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики in vitro

«НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ОБЩЕГО БИЛИРУБИНА В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ КРОВИ» «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ АБРИС+»

(Документ актуализирован 02.09.2019)

г. Санкт-Петербург

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ

ООО «Научно-производственная фирма «АБРИС+»

ООО «НПФ «АБРИС+»

Адрес предприятия: 196006, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Цветочная, д.16, лит. М, 2-й этаж.

тел./факс: (812) 740-19-92, (812) 740-17-55, (812) 740-17-89, 8-800-333-73-24;

e-mail: abris@abrisplus.ru; <http://www.abrisplus.ru>

1. ВВОДНАЯ ЧАСТЬ

- 1.1. Область применения набора – клиническая лабораторная диагностика.
Потенциальными потребителями набора являются профессиональные медицинские и научные сотрудники. Набор может использоваться различными специалистами, имеющими профессиональный уровень не ниже медицинского лабораторного техника. Набор может использоваться при ручной, полуавтоматической и автоматической постановке.
- 1.2. Билирубин – жёлтый гемохромный пигмент, образующийся в результате распада гемоглобина, миоглобина и цитохромов в ретикулоэндотелиальной системе клеток селезёнки и печени. Он является одним из основных компонентов желчи и содержится также в сыворотке крови в виде двух фракций: прямого (связанного или конъюгированного) и непрямого (свободного или неконъюгированного) билирубина, вместе составляющих общий билирубин крови. Контроль уровня содержания общего билирубина в сыворотке имеет большое клиническое значение для своевременного выявления таких заболеваний печени, как гепатит или цирроз.
- 1.3. Функциональное назначение набора – вспомогательное средство в диагностике гемолитических, гематологических и метаболических заболеваний печени, включая гепатит, цирроз и непроходимость желчных протоков.
- 1.4. Анализируемыми образцами являются свежая сыворотка и гепаринизированная или ЭДТА-плазма крови человека.
- 1.5. Набор рассчитан на проведение 500, 1000 или 2500 анализов при конечном объёме реакционной смеси 240 мкл.

2. НАЗНАЧЕНИЕ

- 2.1. Набор предназначен для количественного определения концентрации общего билирубина в сыворотке и плазме крови методом Йендрашика-Грофа с диазотированной сульфаниловой кислотой.

3. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

- 3.1. Принцип метода
За основу набора взят метод Йендрашика-Грофа с диазотированной сульфаниловой кислотой. В результате реакции между диазотированной сульфаниловой кислотой и билирубином образуется окрашенный комплекс, имеющий максимум поглощения при длине волны 540 нм. Для определения общего билирубина необходима диссоциация неконъюгированного (свободного или непрямого) билирубина, что достигается введением в реакционную смесь акселератора.
- 3.2. Состав набора

Комплектация №1, рассчитана на проведение 500 анализов при конечном объёме реакционной смеси 240 мкл:

- «Реагент 1» – Кофеиновый реагент, 1 флакон объёмом 100 мл;
- «Реагент 2» – Сульфаниловая кислота, 5 флаконов объёмом 5 мл;
- «Реагент 3» – Нитрит натрия, 1 микропробирка объёмом 1 мл;
- «Калибратор» – Билирубин общий, 1 флакон объёмом на 1 мл.

Комплектация №2, рассчитана на проведение 1000 анализов при конечном объёме реакционной смеси 240 мкл:

- «Реагент 1» – Кофеиновый реагент, 1 флакон объёмом 200 мл;
- «Реагент 2» – Сульфаниловая кислота, 5 флаконов объёмом 10 мл;
- «Реагент 3» – Нитрит натрия, 1 микропробирка объёмом 1 мл;
- «Калибратор» – Билирубин общий, 1 флакон объёмом на 1 мл.

Комплектация №3, рассчитана на проведение 2500 анализов при конечном объёме реакционной смеси 240 мкл:

- «Реагент 1» – Кофеиновый реагент, 2 флакона объёмом 200 мл;
- «Реагент 2» – Сульфаниловая кислота, 5 флаконов объёмом 20 мл;
- «Реагент 3» – Нитрит натрия, 1 микропробирка объёмом 1 мл;
- «Калибратор» – Билирубин общий, 1 флакон объёмом на 1 мл.

Комплектация №4, рассчитана на проведение 500 анализов при конечном объёме реакционной смеси 240 мкл:

- «Реагент 1» – Кофеиновый реагент, 1 флакон объёмом 100 мл;
- «Реагент 2» – Сульфаниловая кислота, 5 флаконов объёмом 5 мл;
- «Реагент 3» – Нитрит натрия, 1 флакон-капельница объёмом 1 мл;
- «Калибратор» – Билирубин общий, 1 флакон объёмом на 1 мл.

Комплектация №5, рассчитана на проведение 1000 анализов при конечном объёме реакционной смеси 240 мкл:

- «Реагент 1» – Кофеиновый реагент, 1 флакон объёмом 200 мл;
- «Реагент 2» – Сульфаниловая кислота, 10 флаконов объёмом 5 мл;
- «Реагент 3» – Нитрит натрия, 1 флакон-капельница объёмом 1 мл;
- «Калибратор» – Билирубин общий, 1 флакон объёмом на 1 мл.

Комплектация №6, рассчитана на проведение 2500 анализов при конечном объёме реакционной смеси 240 мкл:

- «Реагент 1» – Кофеиновый реагент, 2 флакона объёмом 200 мл;
- «Реагент 2» – Сульфаниловая кислота, 20 флаконов объёмом 5 мл;
- «Реагент 3» – Нитрит натрия, 1 флакон-капельница объёмом 1 мл;
- «Калибратор» – Билирубин общий, 1 флакон объёмом на 1 мл.

3.3. Анализируемыми образцами являются свежая сыворотка и гепаринизированная или ЭДТА-плазма крови человека, полученные с помощью стандартных процедур. Гемолиз недопустим. Анализируемые образцы необходимо хранить в темноте.

Общий билирубин в анализируемых образцах стабилен не более 7 часов при комнатной температуре (от 18 до 25°C); не более 5 суток при температуре от 2 до 8°C или не более 14 суток при температуре минус 20°C (допускается только однократное размораживание).

3.4. Оборудование и материалы, необходимые при работе с изделием:

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности на длине волны 540 нм, поддерживающий температуру жидкости в кювете в процессе анализа $37 \pm 1,0^\circ\text{C}$;

- дозаторы полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 10-100 мкл, 20-200 мкл, 100-1000 мкл, 1000-5000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования (погрешность не более 3%);

- секундомер (ГОСТ 8.286-78);

- перчатки резиновые хирургические (ГОСТ 52238-2004);

- вода деионизованная (ГОСТ Р 52501-2005);

- термостат, поддерживающий температуру $37 \pm 1,0^\circ\text{C}$, типа ТС-1/20 СПУ (ТУ 9452-002-00141798-97);

- пробирки стеклянные химические вместимостью 5-10 мл (ГОСТ 25336-82 с изменениями 1-4);

- дезинфицирующий раствор.

3.5. Подготовка и стабильность реагентов

3.5.1. Реагент 1 готов к использованию.

3.5.2. Приготовление Диазореагента

Комплектации №№ 1, 2 и 3. Для приготовления Диазореагента смешать Реагент 2 и Реагент 3 в соотношении 100 к 1 и тщательно перемешать.

Комплектации №№ 4, 5 и 6 с флаконом-капельницей. Для приготовления Диазореагента добавить 1 каплю Реагента 3 к 1 флакону Реагента 2 и тщательно перемешать.

Диазореагент стабилен 7 дней при температуре от 2 до 8°C в плотно закрытом флаконе в темноте.

3.5.3. Приготовление калибратора

Выдержать флакон с Калибратором при температуре от 18 до 25°C в течение 30 мин, затем открыть, не допуская потери лиофилизированного материала. Внести во флакон 1,0 мл деионизованной воды комнатной температуры. Аккуратно закрыть флакон и выдержать его 30 мин до полного растворения Калибратора. По истечении указанного времени содержимое перемешать путём переворачивания и вращения флакона вручную, избегая образования пены. Необходимо следить за смачиванием всей сухой массы, постоянно помешивая содержимое флакона круговыми движениями, не допуская потери материала.

Раствор Калибратора можно хранить не более 7 часов при комнатной температуре (от 18 до 25°C); не более 5 суток при температуре от 2 до 8°C или не более 14 суток при температуре минус 20°C (допускается только однократное размораживание). При хранении следует защищать от воздействия света во избежание разрушения билирубина.

Процедура анализа

Внести в пробирку	Опытная проба	Калибратор
Реагент 1, мкл	200	200
Сыворотка (плазма) крови, мкл	15	–
Калибратор, мкл	–	15
Смешать и инкубировать в течение не менее 1 минуты при температуре 37°C. Измерить E_1 при $\lambda = 540$ (520-560) нм и $d = 1$ см против Реагента 1.		
Диазореагент, мкл	25	25
Инкубировать в течение 5 минут при температуре 37°C. Измерить E_2 . Вычислить $\Delta E = E_2 - E_1$.		

Постановка с использованием автоматических и полуавтоматических анализаторов.

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору, и провести анализ.

3.6. Расчёт

Расчёт концентрации общего билирубина для исследуемого материала провести по формуле:

$$C_{\text{сыворотки}} (\text{мкмоль/л}) = (C_{\text{калибратора}} \times \Delta E_{\text{сыворотки}}) / \Delta E_{\text{калибратора}}$$

Расчет концентрации общего билирубина на автоматических и полуавтоматических анализаторах определяется параметрами теста в памяти анализатора.

3.7. Коэффициент пересчёта концентраций: $C (\text{мкмоль/л}) = 17,1 \times C (\text{мг/дл})$.

4. ТЕХНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

4.1. Концентрация общего билирубина в Калибраторе прослеживается к международному стандарту общего билирубина *SRM 1950*, сертифицированному Национальным институтом стандартов и технологии NIST (National Institute of Standards & Technology, USA).

4.2. Диапазон измерения

Диапазон линейности набора находится от 2,0 до 500 мкмоль/л общего билирубина. Отклонение от линейности на данном диапазоне значений концентраций менее 5%.

4.3. Аналитическая чувствительность

Чувствительность набора составляет не более 2,0 мкмоль/л.

4.4. Аналитическая специфичность

Набор имеет высокую аналитическую специфичность.

Гемолиз влияет на результаты анализа, приводя к заниженным значениям общего билирубина. Свежие аналитические образцы также необходимо беречь от солнечного света во избежание ложных низких значений в связи с деградацией общего билирубина. Гемоглобин в концентрации меньше 2,5 г/л (250 мг/дл) и триглицериды в концентрации до 11,40 ммоль/л (1000 мг/дл) не влияют на выявление аналита.

4.5. Точность измерений

Погрешность измерения общего билирубина набором составляет не более 5%.

Воспроизводимость

	Уровень 1	Уровень 2	Уровень 3
Воспроизводимость внутри анализа			
Среднее значение концентрации, мкмоль/л	22,4	84,8	246,3
Среднеквадратическое отклонение (SD)	0,09	0,20	0,43
Коэффициент вариации (CV)%	0,5	0,3	0,2
Количество повторов	20	20	20
Воспроизводимость между анализами			
Среднее значение концентрации, мкмоль/л	20,2	86,6	252,8
Среднеквадратическое отклонение (SD)	0,15	0,98	3,12
Коэффициент вариации (CV)%	2,6	1,7	1,9
Количество повторов	20	20	20

4.6. Коэффициент вариации

Коэффициент вариации результатов определения не более 5%.

4.7. Референтный интервал значений общего билирубина включает значения от 5 до 21 мкмоль/л.

Однако рекомендуется для каждой лаборатории определять свои собственные референтные интервалы значений общего билирубина для отражения возраста, пола, диеты и географического положения исследуемой популяции.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1. Не стерильное медицинское изделие для диагностики *in vitro*.

5.2. Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

(ГОСТ Р 51088-2013, ГОСТ 31508-2012 Приказ МЗ РФ № 4н от 06.06.2012 г. «Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий» (с изменениями от 25 сентября 2014 г.).

5.3. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые медицинские перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусных инфекций.

5.4. Запрещается приём пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

5.5. При работе с исследуемыми образцами необходимо соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР», Москва, 1981 г.

5.6. Меры предосторожности при работе с набором – соблюдение правил «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (Утв. Минздравом СССР 17 января 1991 г.), ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003).

5.7. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ

287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

6. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

- 6.3. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре от 2 до 8°C.
- 6.4. Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя в крытых вентилируемых помещениях, не допуская воздействия прямых солнечных лучей, при температуре от 2 до 8°C в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающий регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры в течение всего срока годности.
- 6.5. Срок годности набора – 18 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности. Дата изготовления, серия, номер по каталогу и срок годности указаны на упаковке набора.
- 6.6. Набор стабилен после вскрытия флаконов при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности при условии достаточной герметизации флаконов.
- 6.7. Для получения надёжных результатов необходимо **строгое соблюдение инструкции** по применению набора!
- 6.8. Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

7. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

- 7.3. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.
Безопасность и качество изделия гарантируется в течение всего срока годности.
- 7.4. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.
- 7.5. Производитель обязуется за свой счёт заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.
- 7.6. «Набор реагентов для количественного определения общего билирубина в сыворотке и плазме крови» «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ АБРИС+» выпускается впервые.
- 7.7. Производство имеет сертифицированную на соответствие требованиям международного стандарта ISO 13485:2003 систему менеджмента качества.
Номер регистрационного удостоверения РЗН XXXX/XXXX от XX.XX.XXXX.

«СОГЛАСОВАНО»

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



П.К. Варнавичус

201__ г.

Прошито и пронумеровано
4 (четыре) лист
Генеральный директор
ООО «НПО «АБРИС+»
В.М. Марковский



ПРОШТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 7 ЛИСТОВ
« 11 » СЕН 2019 года
Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
В.И. Иванов



ООО «НПФ «АБРИС+» Система менеджмента качества	Технические условия ТУ 21.20.23-092-27428909- 2018 Инструкция № 006-2018	ТУ СМК ИН 01-01
		Издание 1
		Дата введения: 10.01.2018 г.
		Страница 1 из 10

ИНСТРУКЦИЯ № 006-2018 ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ МЕТРОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОСЛЕЖИВАЕМОСТИ КАЛИБРАТОРА ОБЩЕГО БИЛИРУБИНА

1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

- 1.1. Настоящая инструкция определяет порядок проведения метрологической прослеживаемости калибратора «Набора реагентов для количественного определения концентрации общего билирубина в сыворотке и плазме крови» «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ АБРИС+» через контрольный лабораторный раствор общего билирубина к международному стандартному референтному материалу.
Требования настоящей инструкции распространяются на отдел технологического контроля (ОТК), отдел биологического и технологического контроля (ОБТК) и отдел разработок (ОР).
- 1.2. Международный стандартный референтный материал представляет собой замороженный жидкий продукт на основе сыворотки крови человека *SRM 1950 Metabolites in Human Plasma* (National Institute of Standards and Technology, США), предназначенный для калибровки измерительных систем в процессе установления аттестованных значений концентрации общего билирубина в контрольном лабораторном растворе общего билирубина (КЛР_{Об}).
- 1.3. КЛР_{Об} представляет собой лиофильно высушенный препарат на основе раствора билирубина и бычьего сывороточного альбумина, предназначенный для калибровки измерительных систем в процессе установления аттестованных значений концентрации общего билирубина в контрольных растворах (КР) общего билирубина и Калибраторе.
- 1.4. Калибратор представляет собой лиофильно высушенный препарат на основе раствора билирубина и бычьего сывороточного альбумина, предназначенный для калибровки измерительных систем в процессе использования набора «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ АБРИС+».
- 1.5. КЛР_{Об}, КР и Калибратор готовят в соответствии с сопутствующими технокартами.
- 1.6. Референтный материал *SRM 1950* хранится при температуре минус 60°C или ниже в оригинальной невскрытой упаковке.
- 1.7. КЛР_{Об}, КР и калибратор хранят при температуре минус 20 в течение 2 лет.

2. ОТВЕТСТВЕННОСТЬ И ПОЛНОМОЧИЯ

- 2.1. Исполнители: сотрудники ОТК, сотрудники ОБТ, технологи ОР.
- 2.2. Ответственные: сотрудник ОТК и/или ОБТК, ответственный за приготовление и аттестацию КЛР_{Об}, КР и Калибратора.

3. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Спектрофотометры Solar (Белоруссия), Beckman DU 520 (США) или другие с аналогичными параметрами.

ООО «НПО «АБРИС+» Система менеджмента качества	Технические условия ТУ 21.20.23-092-27428909- 2018 Инструкция № 006-2018	ТУ СМК ИН 01-01
		Издание 1
		Дата введения: 10.01.2018 г.
		Страница 2 из 10

- Автоматический биохимический анализатор ERBA XL-200 (Чехия) или другие с аналогичными параметрами.
- Дозаторы полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 10-100 мкл, 20-200 мкл, 200-1000 мкл аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования (погрешность не более 3%).
- Дозаторы полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 1000-5000 мкл аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования (погрешность не более 0,3%).

4. АТТЕСТАЦИЯ КОНТРОЛЬНОГО ЛАБОРАТОРНОГО РАСТВОРА ОБЩЕГО БИЛИРУБИНА

4.1. Реактивы:

- Стандартный референтный материал *SRM 1950 Metabolites in Human Plasma* (National Institute of Standards and Technology, США).
- Набор реагентов для определения общего билирубина «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ (BILIRUBIN TOTAL)», «Randox Laboratories Ltd», Великобритания, РУ № ФСЗ 2010/07654.
- Вода деионизованная ГОСТ Р 52501-2005.

4.2. Подготовка к работе

4.2.1. Ответственному за приготовление и аттестацию КЛР_{Об}:

- контролировать процедуру подготовки референтного материала *SRM 1950*;
- контролировать процедуру аттестации КЛР_{Об} и расчёт параметров.

4.2.2. Исполнителям:

- подготовить приборы и оборудование согласно их инструкциям;
- использовать реактивы, прошедшие входной контроль.

4.2.3. Все работы проводить при температуре окружающей среды от 18 до 25°C и относительной влажности не более 75%. Использовать деионизованную воду комнатной температуры от 18 до 25°C.

Все работы проводить при минимально возможном освещении. В качестве источника освещения возможно использование красной лампы. Не допускается использование ламп дневного света и синих ламп!

4.3. Подготовка КЛР_{Об}

Выдержать флакон с КЛР_{Об} при температуре от 18 до 25°C в течение 30 мин, затем открыть, не допуская потери лиофилизированного материала. Внести во флакон 1,0 мл деионизованной воды комнатной температуры. Аккуратно закрыть флакон и выдержать его 30 мин до полного растворения КЛР_{Об}. По истечении указанного времени содержимое перемешать путём переворачивания и вращения флакона вручную, избегая образования пены. Необходимо следить за смачиванием всей сухой массы, постоянно помешивая содержимое флакона круговыми движениями, не допуская потери материала.

ООО «НПФ «АБРИС+» Система менеджмента качества	Технические условия ТУ 21.20.23-092-27428909- 2018 Инструкция № 006-2018	ТУ СМК ИН 01-01
		Издание 1
		Дата введения: 10.01.2018 г.
		Страница 3 из 10

Раствор КЛР_{ОБ} можно хранить не более 7 часов при комнатной температуре от 18 до 25°C; не более 5 суток при температуре от 2 до 8°C или не более 14 суток при температуре минус 20°C (допускается только однократное размораживание).

4.4. Подготовка референтного материала *SRM 1950*

4.4.1. Референтный материал *SRM 1950* хранится при температуре минус 60°C или ниже в оригинальной невскрытой упаковке. Сертифицированные значения не применяются к содержимому ранее открытых флаконов, так как стабильность аналитов не была исследована.

4.4.2. Достать флакон из низкотемпературного морозильника, выдержать его при комнатной температуре от 18 до 25°C не менее 30 минут в защищённом от света месте.

4.4.3. После полного оттаивания материала тщательно его перемешать, избегая образования пены.

4.4.4. Использовать незамедлительно, допустимо хранить при температуре от 2 до 8°C не более 1 суток.

4.4.5. Референтные значения аналита составляют **5.8836 ± 0.3934 мкмоль/л** (0.344 ± 0.023 мг/дл) согласно Сертификату на *SRM 1950*, актуального до **30 сентября 2023 года**.

4.5. Процедура аттестации

4.5.1. Аттестацию проводят на собственной лабораторной базе ООО «НПФ «АБРИС+».

4.5.2. Метрологическая прослеживаемость аттестованных значений концентрации общего билирубина в КЛР_{ОБ} обеспечивается:

- использованием стандартного референтного образца в качестве калибровочной пробы для измерительных систем;
- использованием в составе измерительных систем набора реагента, выбранного в качестве набора сравнения.

4.5.3. В качестве калибратора при аттестации КЛР_{ОБ} использовать стандартный референтный образец *SRM 1950*.

4.5.4. Измерения проводить с использованием набора реагентов для определения общего билирубина «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ (BILIRUBIN TOTAL)», «Randox Laboratories Ltd». Набор применять согласно инструкции фирмы-производителя.

4.5.5. Провести аттестацию на не менее чем трёх приборах и не менее чем двумя исполнителями, так чтобы общее число серий измерений (прибор + исполнитель) составило не менее 6.

4.5.6. В серии измерений выполнять две постановки: в первой и второй половине дня.

В каждую постановку включать холостую и калибровочные пробы; пробы анализируемого образца (КЛР_{ОБ}) (по 3-5 параллельных измерений).

Пробы КЛР_{ОБ} отбирать из трёх флаконов. При выполнении второй постановки в серии использовать другие три флакона КЛР_{ОБ}.

4.6. Статистическая обработка результатов

4.6.1. Определить следующие статистические параметры:

ООО «НПФ «АБРИС+» Система менеджмента качества	Технические условия ТУ 21.20.23-092-27428909- 2018 Инструкция № 006-2018	ТУ СМК ИН 01-01
		Издание 1
		Дата введения: 10.01.2018 г.
		Страница 4 из 10

- среднее арифметическое (среднее) значение концентрации ($\overline{X}_j$) в каждой серии измерений по формуле (1):

$$\overline{X}_j = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_{ij} \quad (1),$$

где X_{ij} – результат i -го измерения в j -й серии,

n – число измерений в серии.

- среднеквадратическое отклонение (s_j) в каждой серии измерений по формуле (2):

$$s_j = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (\overline{X}_j - X_{ij})^2} \quad (2),$$

где $\overline{X}_j$ – среднее арифметическое значение концентрации аналита в j -й серии измерений,

X_{ij} – результат i -го измерения в j -й серии,

n – число измерений в серии.

- общее среднее (среднее средних) значение концентраций ($\overline{\overline{X}}$) по формуле (3):

$$\overline{\overline{X}} = \frac{1}{p} \sum_{j=1}^p \overline{X}_j \quad (3),$$

где $\overline{X}_j$ – среднее арифметическое значение концентрации аналита в j -й серии измерений,

p – число серий измерений.

- среднеквадратическое отклонение средних значений концентраций (s) в совокупности серий измерений по формуле (4):

$$s = \sqrt{\frac{1}{p-1} \sum_{j=1}^p (\overline{\overline{X}} - \overline{X}_j)^2} \quad (4),$$

где $\overline{\overline{X}}$ – общее среднее (среднее средних) значение концентрации аналита,

$\overline{X}_j$ – среднее арифметическое значение концентрации аналита в j -й серии измерений,

p – число серий измерений.

4.6.2. Анализ результатов измерений на наличие выбросов.

- вычислить значение тестовой статистики Кохрена (C) по формуле (5):

$$C = \frac{s_{\max}^2}{\sum_{j=1}^p s_j^2} \quad (5),$$

где s_j – среднеквадратическое отклонение в j -й серии измерений,

$s_{\max}$ – наибольшее значение среднеквадратического отклонения в совокупности серий измерений,

p – число серий измерений.

ООО «НПФ «АБРИС+» Система менеджмента качества	Технические условия ТУ 21.20.23-092-27428909- 2018 Инструкция № 006-2018	ТУ СМК ИН 01-01
		Издание 1
		Дата введения: 10.01.2018 г.
		Страница 5 из 10

Сравнить значение C с 5%-м и 1%-м критическими значениями критерия Кохрена для соответствующего числа серий (p), пользуясь статистическими таблицами.

В случае если значение C не превышает 5%-го критического значения, результаты серии измерений, характеризующейся наибольшим среднеквадратическим отклонением, считать корректными. Если значение C меньше 1%-го критического значения, данную серию измерений считать выбросом и исключить из дальнейших расчётов. Повторить определение $\bar{X}$ по формуле (3) и s по формуле (4).

Если значение C больше 5%-го критического значения и меньше (или равно) 1%-го критического значения, результаты, полученные в данной серии измерений, считать сомнительными и проверить на наличие выбросов с применением критерия Граббса (см. далее).

- проверить совокупность средних значений, полученных в сериях измерений, на наличие одного выброса. Для этого рассчитать следующие статистические параметры:
- значение тестовой статистики Граббса для наибольшего результата (G_1) по формуле (6):

$$G_1 = \frac{(\bar{X}_{\max} - \bar{\bar{X}})}{s} \quad (6),$$

где $\bar{X}_{\max}$ – наибольшее среднее значение концентрации в совокупности серий измерений,

$\bar{\bar{X}}$ – общее среднее (среднее средних) значение концентрации аналита,

s – среднеквадратическое отклонение средних значений концентраций в совокупности серий измерений.

- значение тестовой статистики Граббса для наименьшего результата (G_2) по формуле (7):

$$G_2 = \frac{(\bar{X}_{\min} - \bar{\bar{X}})}{s} \quad (7),$$

где $\bar{X}_{\min}$ – наименьшее среднее значение концентрации в совокупности серий измерений,

$\bar{\bar{X}}$ – общее среднее (среднее средних) значение концентрации аналита,

s – среднеквадратическое отклонение средних значений концентраций в совокупности серий измерений.

Сравнить значения G_1 и G_2 с 5%-м и 1%-м критическими значениями критерия Граббса для соответствующего числа серий (p), пользуясь статистическими таблицами.

Если значение G_1 или G_2 больше 1%-го критического значения, данную серию измерений считать выбросом и исключить из дальнейших расчётов. Повторить определение $\bar{X}$ по формуле (3) и s по формуле (4). Проверить на выброс другие экстремальные значения по формулам (6) и (7).

ООО «НПФ «АБРИС+» Система менеджмента качества	Технические условия ТУ 21.20.23-092-27428909- 2018 Инструкция № 006-2018	ТУ СМК ИН 01-01
		Издание 1
		Дата введения: 10.01.2018 г.
		Страница 6 из 10

В случае если значения G_1 и G_2 не превышают 5%-го критического значения, результаты серий измерений, характеризующихся наибольшим и наименьшим средними значениями, считать корректными. Перейти к анализу результатов на наличие двух выбросов (см. далее).

- проверить совокупность средних значений, полученных в сериях измерений, на наличие двух выбросов. Для этого рассчитать значение тестовой статистики Граббса для двух наибольших результатов (G) по формуле (8):

$$G = \frac{s_{p-1,p}^2}{s_0^2} \quad (8).$$

s_0^2 и $s_{p-1,p}^2$ вычислить соответственно по формулам (9) и (10-11):

$$s_0^2 = \sum_{j=1}^p (\bar{X}_j - \bar{\bar{X}})^2 \quad (9),$$

где $\bar{\bar{X}}$ – общее среднее (среднее средних) значение концентрации аналита,

$\bar{X}_j$ – среднее арифметическое значение концентрации аналита в j -й серии измерений,

p – число серий измерений.

$$s_{p-1,p}^2 = \sum_{j=1}^{p-2} (\bar{X}_j - \bar{\bar{X}}_{p-1,p})^2 \quad (10),$$

где $\bar{X}_j$ – среднее арифметическое значение концентрации аналита в j -й серии измерений,

p – число серий измерений,

$\bar{\bar{X}}_{p-1,p}$ – общее среднее (среднее средних) значение концентраций аналита в совокупности серий измерений, после исключения результатов двух серий с наибольшими $\bar{X}_j$:

$$\bar{\bar{X}}_{p-1,p} = \frac{\sum_{j=1}^{p-2} \bar{X}_j}{p-2} \quad (11).$$

Аналогично вычислить значение тестовой статистики Граббса для двух наименьших результатов.

Сравнить значения G с критическими значениями параметра для двух предельных результатов для соответствующего числа серий (p), пользуясь статистическими таблицами. В случае если значение G для двух наибольших и двух наименьших результатов меньше критического 1%-го значения, результаты соответствующих серий считать выбросами и удалить из дальнейших расчётов. Повторить $\bar{\bar{X}}$ по формуле (3) и s по формуле (4).

В остальных случаях результаты соответствующих серий измерений принять.

ООО «НПФ «АБРИС+» Система менеджмента качества	Технические условия ТУ 21.20.23-092-27428909- 2018 Инструкция № 006-2018	ТУ СМК ИН 01-01
		Издание 1
		Дата введения: 10.01.2018 г.
		Страница 7 из 10

4.6.3. Определить доверительные границы (ε) случайной погрешности среднего значения по формуле (12):

$$\varepsilon = t \frac{s}{\sqrt{p}} \quad (12),$$

где s – среднеквадратическое отклонение, рассчитанное по формуле (4) после анализа на наличие выбросов (п. 4.6.2.),

p – число принятых серий измерений,

t – критическое значение критерия Стьюдента, соответствующее объёму выборки (p) и доверительной вероятности 0,05.

4.6.4. Рассчитать относительную величину (δ , %) случайной погрешности среднего значения по формуле (13):

$$\delta = \frac{\varepsilon}{\bar{X}} \times 100 \quad (13),$$

где ε – доверительная граница случайной погрешности,

$\bar{X}$ – общее среднее (среднее средних) значение концентрации аналита, вычисленное по формуле (3) после анализа на наличие выбросов (п. 4.6.2.).

Относительная случайная погрешность не должна превышать 1,5%.

4.6.5. В случае превышения относительной случайной погрешностью δ предельно допускаемой величины в 1,5% провести дополнительно необходимое число серий измерений.

4.6.6. Среднее значение $\bar{X}$, определённое со случайной погрешностью, не превышающей 1,5%, принять как аттестованное значение концентрации аналита.

5. АТТЕСТАЦИЯ КОНТРОЛЬНЫХ РАСТВОРОВ ОБЩЕГО БИЛИРУБИНА

5.1. Реактивы:

- Контрольный лабораторный раствор общего билирубина (КЛР_{об}) аттестованный по стандартному референтному материалу *SRM 1950*.
- «Набор реагентов для количественного определения общего билирубина в сыворотке и плазме крови» «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ АБРИС+», производства ООО «НПФ «АБРИС+» в любом варианте исполнения.
- Вода деионизованная ГОСТ Р 52501-2005.

5.2. Подготовка к работе

5.2.1. Ответственному за приготовление и аттестацию КР:

- контролировать процедуру подготовки КЛР_{об};
- контролировать процедуру аттестации КР и расчёт параметров.

5.2.2. Исполнителям:

- подготовить приборы и оборудование согласно их инструкциям;
- использовать реактивы, прошедшие входной контроль.

ООО «НПФ «АБРИС+» Система менеджмента качества	Технические условия ТУ 21.20.23-092-27428909- 2018 Инструкция № 006-2018	ТУ СМК ИН 01-01
		Издание 1
		Дата введения: 10.01.2018 г.
		Страница 8 из 10

5.2.3. Все работы проводить при температуре окружающей среды от 18 до 25°C и относительной влажности не более 75%. Использовать деионизованную воду температурой от 18 до 25°C.

Все работы проводить при минимально возможном освещении. В качестве источника освещения возможно использование красной лампы. Не допускается использование ламп дневного света и синих ламп!

5.3. Подготовка КР

Выдержать флакон с КР при температуре от 18 до 25°C в течение 30 мин, затем открыть, не допуская потери лиофилизированного материала. Внести во флакон 1,0 мл деионизованной воды комнатной температуры. Аккуратно закрыть флакон и выдержать его 30 мин до полного растворения КР. По истечении указанного времени содержимое перемешать путём переворачивания и вращения флакона вручную, избегая образования пены. Необходимо следить за смачиванием всей сухой массы, постоянно помешивая содержимое флакона круговыми движениями, не допуская потери материала.

Раствор КР можно хранить не более 7 часов при комнатной температуре от 18 до 25°C; не более 5 суток при температуре от 2 до 8°C или не более 14 суток при температуре минус 20°C (допускается только однократное размораживание).

5.4. Подготовка КЛР_{Об}

Выдержать флакон с КЛР_{Об} при температуре от 18 до 25°C в течение 30 мин, затем открыть, не допуская потери лиофилизированного материала. Внести во флакон 1,0 мл деионизованной воды комнатной температуры. Аккуратно закрыть флакон и выдержать его 30 мин до полного растворения КЛР_{Об}. По истечении указанного времени содержимое перемешать путём переворачивания и вращения флакона вручную, избегая образования пены. Необходимо следить за смачиванием всей сухой массы, постоянно помешивая содержимое флакона круговыми движениями, не допуская потери материала.

Раствор КЛР_{Об} можно хранить не более 7 часов при комнатной температуре от 18 до 25°C; не более 5 суток при температуре от 2 до 8°C или не более 14 суток при температуре минус 20°C (допускается только однократное размораживание).

5.5. Процедура аттестации

5.5.1. Аттестацию проводят на собственной лабораторной базе ООО «НПФ «АБРИС+».

5.5.2. Метрологическая прослеживаемость аттестованных значений концентрации общего билирубина в КР обеспечивается:

- использованием КЛР_{Об} аттестованного по SRM 1950 в качестве калибровочной пробы для измерительных систем;

5.5.3. Провести аттестацию на не менее чем трёх приборах и не менее чем двумя исполнителями, так чтобы общее число серий измерений (прибор + исполнитель) составило не менее 6.

5.5.4. В серии измерений выполнять две постановки: в первой и второй половине дня.

В каждую постановку включать холостую и калибровочные пробы; пробы анализируемого образца (КР) (по 3-5 параллельных измерений).

ООО «НПФ «АБРИС+» Система менеджмента качества	Технические условия ТУ 21.20.23-092-27428909- 2018 Инструкция № 006-2018	ТУ СМК ИН 01-01
		Издание 1
		Дата введения: 10.01.2018 г.
		Страница 9 из 10

Пробы КР отбирать из трёх флаконов. При выполнении второй постановки в серии использовать другие три флакона КР.

5.6. Статистическая обработка результатов

Для всех КР провести статистическую обработку результатов согласно п. 4.6.

6. АТТЕСТАЦИЯ КАЛИБРАТОРА НАБОРА «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ АБРИС+»

6.1. Реактивы:

- Контрольный лабораторный раствор общего билирубина (КЛР_{Об}) аттестованный по стандартному референтному материалу *SRM 1950*.
- «Набор реагентов для количественного определения общего билирубина в сыворотке и плазме крови» «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ АБРИС+», производства ООО «НПФ «АБРИС+» в любом варианте исполнения.
- Вода деионизованная ГОСТ Р 52501-2005.

6.2. Подготовка к работе

6.2.1. Ответственному за приготовление и аттестацию Калибратора:

- контролировать процедуру подготовки КЛР_{Об};
- контролировать процедуру аттестации Калибратора и расчёт параметров.

6.2.2. Исполнителям:

- подготовить приборы и оборудование согласно их инструкциям;
- использовать реактивы, прошедшие входной контроль.

6.2.3. Все работы проводить при температуре окружающей среды от 18 до 25°C и относительной влажности не более 75%. Использовать деионизованную воду температурой от 18 до 25°C.

Все работы проводить при минимально возможном освещении. В качестве источника освещения возможно использование красной лампы. Не допускается использование ламп дневного света и синих ламп!

6.3. Подготовка Калибратора

Выдержать флакон с Калибратором при температуре от 18 до 25°C в течение 30 мин, затем открыть, не допуская потери лиофилизированного материала. Внести во флакон 1,0 мл деионизованной воды комнатной температуры. Аккуратно закрыть флакон и выдержать его 30 мин до полного растворения Калибратора. По истечении указанного времени содержимое перемешать путём переворачивания и вращения флакона вручную, избегая образования пены. Необходимо следить за смачиванием всей сухой массы, постоянно помешивая содержимое флакона круговыми движениями, не допуская потери материала.

Раствор Калибратора можно хранить не более 7 часов при комнатной температуре от 18 до 25°C; не более 5 суток при температуре от 2 до 8°C или не более 14 суток при температуре минус 20°C (допускается только однократное размораживание).

6.4. Подготовка КЛР_{Об}

Выдержать флакон с КЛР_{Об} при температуре от 18 до 25°C в течение 30 мин, затем открыть, не допуская потери лиофилизированного материала. Внести во флакон 1,0 мл деионизованной воды комнатной температуры. Аккуратно закрыть флакон и

ООО «НПФ «АБРИС+» Система менеджмента качества	Технические условия ТУ 21.20.23-092-27428909- 2018 Инструкция № 006-2018	ТУ СМК ИН 01-01
		Издание 1
		Дата введения: 10.01.2018 г.
		Страница 10 из 10

выдержать его 30 мин до полного растворения КЛР_{Об}. По истечении указанного времени содержимое перемешать путём переворачивания и вращения флакона вручную, избегая образования пены. Необходимо следить за смачиванием всей сухой массы, постоянно помешивая содержимое флакона круговыми движениями, не допуская потери материала.

Раствор КЛР_{Об} можно хранить не более 7 часов при комнатной температуре от 18 до 25°C; не более 5 суток при температуре от 2 до 8°C или не более 14 суток при температуре минус 20°C (допускается только однократное размораживание).

6.5. Процедура аттестации

6.5.1. Аттестацию проводят на собственной лабораторной базе ООО «НПФ «АБРИС+».

6.5.2. Метрологическая прослеживаемость аттестованных значений концентрации общего билирубина в Калибраторе обеспечивается:

- использованием КЛР_{Об} аттестованного по *SRM 1950* в качестве калибровочной пробы для измерительных систем;

6.5.3. Провести аттестацию на не менее чем трёх приборах и не менее чем двумя исполнителями, так чтобы общее число серий измерений (прибор + исполнитель) составило не менее 6.

6.5.4. В серии измерений выполнять две постановки: в первой и второй половине дня.

В каждую постановку включать холостую и калибровочные пробы; пробы анализируемого образца (Калибратора) (по 3-5 параллельных измерений).

Пробы Калибратора отбирать из трёх флаконов. При выполнении второй постановки в серии использовать другие три флакона Калибратора.

6.6. Статистическая обработка результатов

Для всех КР провести статистическую обработку результатов согласно п. 4.6.

Прошито и пронумеровано
10 лист 08

Генеральный директор
ООО «ННФ «АБРИС+»
Э. М. Марковский

