

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

2024 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации
конъюгированного билирубина в сыворотке и плазме крови

(Билирубин прямой)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для определения концентрации конъюгированного билирубина в сыворотке и плазме крови «Билирубин прямой» (далее по тексту набор) предназначен для количественного определения концентрации конъюгированного билирубина в сыворотке и плазме крови человека колориметрическим методом с диазотированной сульфаниловой кислотой.

1.2. Набор выпускается в шести вариантах комплектации:

Вариант ком-плектации	Количество определений, от	Расход Р1 на одно определение, мл	Фасовка	Используемый анализатор
1	200	0,50	1×100 мл (P1); 1×30 мл (P2); 1×3,0 мл (P3); 1 фл. (K);	Любой
2	1000	0,50	2×250 мл (P1); 2×75 мл (P2); 2×7,5 мл (P3); 4 фл. (K);	Любой
3	700	0,16	4×40 мл (P1); 4×10 мл (P2); 4×1,0 мл (P3); 2 фл. (K);	MIURA (Миура)
4	3800	0,16	8×82 мл (P1); 4×40 мл (P2); 4×4,0 мл (P3); 4 фл. (K);	ILab Taurus (Таурус)
5	1180	0,20	4×60 мл (P1); 3×20 мл (P2); 3×2,0 мл (P3); 2 фл. (K);	BA400
6	760	0,16	4×36 (P1); 4×10 мл (P2); 4×1,0 мл (P3); 4 фл. (K).	Aspect (Аспект)

Количество определений зависит от объема фасовки (варианта комплектации) расхода реагента 1 (P1), реагента 2 (P2) и реагента 3 (P3) на одно измерение и от технических характеристик используемого биохимического анализатора при сохранении соотношения образец : реагент1: реагент2: реагент 3.

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: нач. отдела биохимии, к.б.н. Г.Е. Яковлевой и научным сотрудником, Н.С. Щербаковой.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Метод определения основан на том, что при взаимодействии билирубина с диазотированной сульфаниловой кислотой в кислой среде образуется азобилирубин красного цвета, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации конъюгированного билирубина в анализируемой пробе и измеряется фотометрически при длине волны 546 (520-560) нм.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- реагент 1 (P1): раствор, содержащий натрий хлористый и ЭДТА; готовый к использованию;
- реагент 2 (P2): раствор, содержащий сульфаниловую кислоту и соляную кислоту;
- реагент 3 (P3): раствор натрия азотистокислого;
- калибратор (K): конъюгированный билирубин с концентрацией в диапазоне 40-60 мкмоль/л, лиофилизированный.

Прослеживаемость аттестованного значения калибратора указана в паспорте.

Состав вариантов комплектации:

- 1) – реагент 1 – 1 флакон (100 мл);
– реагент 2 – 1 флакон (30 мл);
– реагент 3 – 1 флакон (3,0 мл);
– калибратор – 1 флакон.
- 2) – реагент 1 – 2 флакона (по 250 мл);
– реагент 2 – 2 флакона (по 75 мл);
– реагент 3 – 2 флакона (по 7,5 мл);
– калибратор – 4 флакона.
- 3) – реагент 1 – 4 флакона (по 40 мл);
– реагент 2 – 4 флакона (по 10 мл);
– реагент 3 – 4 флакона (по 1,0 мл);
– калибратор – 2 флакона;

для автоматического анализатора MIURA.

- 4) – реагент 1 – 8 флаконов (по 82 мл);
– реагент 2 – 4 флакона (по 40 мл);
– реагент 3 – 4 флакона (по 4 мл);
– калибратор – 4 флакона;

для автоматического анализатора ILab Taurus.

- 5) – реагент 1 – 4 флакона (по 60 мл);

- реагент 2 – 3 флакона (по 20 мл);
- реагент 3 – 3 флакона (по 2,0 мл);
- калибратор – 2 флакона;

для автоматического анализатора ВА400.

- б) – реагент 1 – 4 флакона (по 36 мл);
- реагент 2 – 4 флакона (по 10 мл);
- реагент 3 – 4 флакона (по 1,0 мл);
- калибратор – 4 флакона;

для автоматического анализатора Aspect.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1.* Чувствительность – не более 2,0 мкмоль/л.

3.2.* Линейность в диапазоне концентраций конъюгированного билирубина
3,42-171 мкмоль/л – отклонение не более 7 %.

3.3.* Тест на «открытие» – отклонение не более 7 %.

3.4.* Коэффициент вариации результатов измерений – не более 5 %.

3.5.* Допустимый разброс результатов при параллельных определениях одной пробы
разными наборами одной серии – не более 7%.

3.6. Диапазон измерений – 2-171 мкмоль/л.

3.7. Нормальные величины концентрации конъюгированного билирубина в сыворотке и
плазме крови:

- не более 5,1 мкмоль/л;

Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить диапазон
нормальных величин концентрации конъюгированного билирубина у исследуемого контингента
людей.

3.8. Определению концентрации конъюгированного билирубина в сыворотке и
гепаринизированной плазме не мешают гемоглобин в концентрации не более 0,4 г/л и
триглицериды в концентрации не более 1,0 г/л.

* по ГОСТ Р 51352-2013.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012
№ 4н).

4.2. Набор реагентов предназначен для профессионального применения в клинической
лабораторной диагностике обученным персоналом.

4.3. Реагент 2 содержит соляную кислоту – 170 ммоль/л. Реагент 3 содержит раствор
натрия азотистокислого – 25 ммоль/л. При работе с этими реагентами следует избегать
разбрызгивания и попадания компонентов набора на кожу и слизистые; при попадании

немедленно промыть поражённое место большим количеством проточной воды.

4.4. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

4.5. При использовании набора образуются отходы классов А и Б, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

4.6. Дезинфекцию посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми образцами, следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ:

– биохимический анализатор (длина волны 546 (520-560) нм, кювета с длиной оптического пути не менее 5 мм), поддерживающий температуру жидкости в кювете в процессе анализа $37 \pm 0,5$ °C (для вариантов комплектации 1, 2);

– биохимический анализатор MIURA (для варианта комплектации 3);

– биохимический анализатор ILab Taurus (для варианта комплектации 4);

– биохимический анализатор BA400* (для варианта комплектации 5);

– биохимический анализатор Aspect* (для варианта комплектации 6);

– дозаторы механические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 10-200, 200-1000 мкл;

– пробирки стеклянные вместимостью 10 мл (для вариантов комплектации 1, 2);

– перчатки медицинские диагностические одноразовые;

– таймер (для вариантов комплектации 1, 2);

– термостат (для вариантов комплектации 1, 2);

– вода дистиллированная;

– дезинфицирующий раствор.

* Примечание. Допускается применение оборудования другого типа, по своим характеристикам не уступающего рекомендуемому.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка и гепаринизированная плазма крови человека.

Сыворотку и плазму необходимо защищать от воздействия света. Образцы сыворотки и плазмы крови можно хранить при комнатной температуре от 18 до 26 °C не более 4 ч, при

температуре от 2 до 8 °С не более 1 сут или при температуре минус 20 °С и ниже не более 2 нед. Повторное замораживание образцов сыворотки и плазмы крови не допускается.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

7.1. Приготовление диазореагента.

Перед использованием диазореагент готовить путем смешивания реагента 2 и реагента 3 в соотношении 10:1.

Хранить диазореагент следует в закрытом виде при температуре от 2 до 8 °С не более 7 сут.

7.2. Приготовление калибратора.

Выдержать флакон с калибратором при температуре от 18 до 25 °С в защищенном от света месте в течение 30 мин, затем открыть, не допуская потери лиофилизированного материала. Внести во флакон 1,0 мл дистиллированной воды. Аккуратно закрыть флакон и выдержать его 10 мин для растворения лиофилизата. По истечении указанного времени содержимое перемешать путем вращения флакона вручную, избегая образования пены.

Растворенный калибровочный образец конъюгированного билирубина неустойчив, его необходимо хранить в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С не более 2 сут или при температуре минус 20 °С и ниже не более 2 нед.

7.3. Реагент 1 готов к использованию.

Реагенты после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 25 °С в течение всего срока годности.

7.4. Перед началом работы реагенты нагреть до температуры $37 \pm 0,5$ °С. На протяжении всего анализа поддерживать температуру пробы $37 \pm 0,5$ °С.

7.5. Компоненты реакционной смеси отобрать в количествах, указанных в таблице.

Таблица

Отмерить, мкл	Контрольная (холостая) проба	Опытная проба	Калибровочная проба
Реагент 1	500	500	500
Сыворотка (плазма) крови	—	50	—
Калибратор	—	—	50
Вода дистиллированная	50	—	—
Перемешать, выдержать в течение 5 мин при температуре 37 °С и измерить оптическую плотность опытной (E_{100}) и калибровочной ($E_{1к}$) проб при длине волны 546 (520-560) нм против контрольной (холостой) пробы.			
Диазореагент	125	125	125
Перемешать, выдержать точно в течение 5 мин при 37 °С и измерить оптическую плотность опытной (E_{200}) и калибровочной ($E_{2к}$) проб против контрольной (холостой) пробы. Окраска растворов неустойчива, поэтому измерение оптической плотности проводится точно в указанное время.			

Примечание. Расход реагента 1 (P1) и реагента 2 (P2) на одно измерение зависит от

используемого биохимического анализатора, количество реагента 1, диазореагента и анализируемого образца может быть пропорционально изменено (при сохранении соотношения образец : реагент 1 : диазореагент- 2:20:5).

8. РАСЧЕТЫ

Рассчитать концентрацию конъюгированного билирубина (C , мкмоль/л) в сыворотке (плазме) крови по формуле:

$$C = \frac{E_{2on} - 0,81 \times E_{1on}}{E_{2k} - 0,81 \times E_{1k}} \times C_k,$$

где: E_{1on} и E_{2on} – оптические плотности первого и второго измерения опытной пробы, соответственно, ед. опт. плотн.;

E_{1k} и E_{2k} – оптические плотности первого и второго измерения калибровочной пробы, соответственно, ед. опт. плотн.;

C_k – концентрация конъюгированного билирубина в калибраторе, мкмоль/л;

0,81 – коэффициент коррекции, учитывающий разбавление проб диазореагентом.

9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ

И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1. 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 °С. Допускается транспортирование при температуре от 18 до 25 °С не более 10 суток.

9.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

9.3. Срок годности набора – 24 месяца со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

9.4. Реагенты после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 25 °С в течение всего срока годности.

9.5. Диазореагент можно хранить в закрытом виде при температуре от 2 до 8 °С не более 7 сут.

9.6. Калибратор после растворения необходимо хранить в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С не более 2 сут или при температуре минус 20 °С и ниже не более 2 нед.

9.7. Качество набора может проверяться по отечественным и зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

9.8. Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется использовать механические дозаторы со сменными наконечниками, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования.

Для калибровки можно использовать калибратор на основе сыворотки крови, зарегистрированный в Российской Федерации, аттестованный данным методом относительно сертифицированного референтного материала или референтного метода.

9.9. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

10. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

10.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

10.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

10.3. Производитель обязуется за свой счет 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.

По вопросам, касающимся качества набора «Билирубин прямой», следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630117, г. Новосибирск-117, а/я 492, тел. (383) 227-75-50, тел./факс (383) 252-51-77.

ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

Символ	Наименование символа	Символ	Наименование символа
	Изготовитель		Дата изготовления
	Код партии		Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде
	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Осторожно		Использовать до
	Содержимого достаточно для проведения n тестов		Температурный диапазон
	Не допускать воздействия солнечного света		

Научный сотрудник отдела биохимии
АО «Вектор-Бест»



Н.С. Щербакова

Начальник отдела биохимии
АО «Вектор-Бест», к.б.н.



Г.Е. Яковлева

«СОГЛАСОВАНО»
Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России
д.м.н., профессор



Т.И. Поспелова

_____ 2024 г



Пронумеровано, пронумеровано и
скреплено печатью 8 листов.

Отв. за учет договоров НИР ФГБОУ ВО НГМУ
Минздрава России

Захарова Л.Н.

13 06 2024 г.

