«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____ М.Д. Хусаинов
«___» _____ 2020 г.
М.П.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для определения концентрации общего билирубина в сыворотке и плазме крови (Билирубин общий DPD)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для определения концентрации общего билирубина в сыворотке и плазме крови «Билирубин общий DPD» (далее по тексту – набор) предназначен для количественного определения концентрации общего билирубина в сыворотке и плазме крови человека колориметрическим DPD методом.

1.2. Набор выпускается в семи вариантах комплектации:

Вариант комплектации	Количество определений	Расход Р1 на одно определение, мл	Фасовка	Используемый анализатор
1	200	0,500	1×100 мл (**Р1**); 1×20 мл (**Р2**); 1 фл. (**К**);	Любой
2	1000	0,500	2×250 мл (**Р1**); 2×50 мл (**Р2**); 4 фл. (**К**);	Любой
3	740	0,200	4×40 мл (**Р1**); 2×20 мл (**Р2**); 2 фл. (**К**);	Sapphire 400-24 (Сапфир 400-24)
4	550	0,200	6×20 мл (**Р1**); 3×10 мл (**Р2**); 2 фл. (**К**);	Sapphire 400-36 (Сапфир 400-36)
5	720	0,160	4×40 мл (**Р1**); 4×10 мл (**Р2**); 2 фл. (**К**);	MIURA (Миура)
6	3900	0,175	9×82 мл (**Р1**); 4×40 мл (**Р2**); 4 фл. (**К**);	ILab Taurus (Таурус)
7	1900	0,200	8×50 мл (**Р1**); 4×20 мл (**Р2**); 3 фл. (**К**);	BA400

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: нач. отдела биохимии, к.б.н. Г.Е. Яковлевой и зам. начальника отдела, к.б.н. Г.И. Сергеевой.

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Количество определений зависит от объема фасовки (варианта комплектации) и используемого биохимического анализатора при сохранении соотношения образец: реагент1 : реагент 2.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Метод определения основан на том, что при взаимодействии билирубина с 3,5-дихлорфенилдиазониевой солью (DPD) в кислой среде в присутствии детергента образуется азобилирубин красного цвета, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации билирубина в анализируемой пробе и измеряется фотометрически при длине волны 546 (520-560) нм.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

– реагент 1 (Р1): раствор, содержащий тритон Х-100, соляную кислоту; готовый к использованию;

– реагент 2 (Р2): раствор, содержащий 3,5-дихлорфенилдиазониевую соль, тритон Х-100, соляную кислоту; готовый к использованию;

– калибратор (К): общий билирубин с концентрацией в диапазоне 120-140 мкмоль/л, лиофилизированный.

Калибратор прослежен до стандартного референтного материала SRM 916a (NIST, США). Точное значение концентрации общего билирубина указано на флаконе с калибратором.

Состав вариантов комплектации:

1) – реагент 1– 1 флакон (100 мл);
   - реагент 2 – 1 флакон (20 мл);
   – калибратор – 1 флакон.
2) – реагент 1– 2 флакона (по 250 мл);
   - реагент 2 – 2 флакона (по 50 мл);
   – калибратор – 4 флакона
3) – реагент 1– 4 флакона (по 40 мл);
   - реагент 2 – 2 флакона (по 20 мл);
   – калибратор – 2 флакона;

для автоматического анализатора Sapphire 400-24.

4) – реагент 1– 6 флаконов (по 20 мл);
   - реагент 2 – 3 флакона (по 10 мл);
   – калибратор – 2 флакона;

для автоматического анализатора Sapphire 400-36.

5) – реагент 1– 4 флакона (по 40 мл);

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

- реагент 2 – 4 флакона (по 10 мл);

– калибратор – 2 флакона;

для автоматического анализатора MIURA.

6) – реагент 1– 9 флаконов (по 82 мл);

- реагент 2 – 4 флакона (по 40 мл);

– калибратор – 4 флакона;

для автоматического анализатора ILab Taurus;

7) – реагент 1– 8 флаконов (по 50 мл);

- реагент 2 – 4 флакона (по 20 мл)

– калибратор – 3 флакона;

для автоматического анализатора BA400.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

3.2.* Линейность в диапазоне концентраций общего билирубина 4,28-428 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 – 2-428 мкмоль/л.

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

Возраст	Единицы измерения	Недоношенные	Доношенные
0-1 день	мкмоль/л	до 137	24-149
1-2 день	мкмоль/л	до 205	58-197
3-5 день	мкмоль/л	до 274	26-205

Дети старше 5 дней и взрослые 5-21 мкмоль/л.

Нормы приведены в соответствии с Клиническим руководством Тица по лабораторным тестам (Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. Алан Х.Б.Ву, перевод с англ. 4-го издания, 2013, 1216 с).

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

3.8. Определению концентрации общего билирубина в сыворотке и гепаринизированной плазме крови не мешают гемоглобин в концентрации до 7,5 г/л и триглицериды в концентрации до 20 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

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

№ 4н).

2.2. Набор реагентов предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

2.3. Реагент 1 содержит соляную кислоту – 140 ммоль/л, реагент 2 содержит соляную кислоту – 170 ммоль/л. При работе с этими реагентами следует избегать попадания их на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды.

2.4. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г.

2.5. 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».

2.6. Дезинфекцию наборов реагентов, 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±0,5 °С (для вариантов комплектации 1,2);

– биохимический анализатор Sapphire 400-24 (для варианта комплектации 3);

– биохимический анализатор Sapphire 400-36 (для варианта комплектации 4);

– биохимический анализатор MIURA (для варианта комплектации 5);

– биохимический анализатор ILab Taurus (для варианта комплектации 6);

– биохимический анализатор BA400* (для варианта комплектации 7);

– дозаторы механические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 20-200, 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);

– дезинфицирующие раствор;

– вода дистиллированная.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

* 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 крови необходимо защищать от воздействия света. Образцы сыворотки и плазмы крови можно хранить при температуре от 18 до 25 °С не более 8 ч, при температуре от 2 до 8 °С не более 2 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 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 общего билирубина неустойчив, его необходимо хранить при температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте не более 1 недели или при температуре минус 20 °С и ниже не более 3 недель.

7.2. Реагент 1 и реагент 2 готовы к использованию.

Реагент 1 после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 25 °С не более 6 мес. Реагент 2 после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 8 °С не более 6 мес.

7.3. Перед началом работы реагенты нагреть до температуры анализа 37±0,5 °С. На протяжении всего анализа поддерживать температуру пробы 37±0,5 °С.

7.4. 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	–	25	–
Калибратор	–	–	25
Вода дистиллированная	25	–	–
Перемешать, выдержать в течение 5 мин при температуре 37 °С и измерить оптическую плотность опытной (E_1оп) и калибровочной (E_1к) проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 546 (520-560) нм.			
Реагент 2	100	100	100
Перемешать, выдержать в течение 5 мин при температуре 37 °С и измерить оптическую плотность опытной (E_2оп) и калибровочной (E_2к) проб против контрольной (холостой) пробы. Окраска стабильна в течение 1 часа.			

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Примечание. В зависимости от вместимости используемой кюветы объем реагентов и анализируемого образца может быть пропорционально изменен (при сохранении соотношения образец: реагент1 : реагент 2 – 1:20:4).

8. РАСЧЁТЫ

Рассчитать концентрацию общего билирубина (*С*, мкмоль/л) в сыворотке/плазме крови по формуле:

$$C = \frac{E_2on - 0{,}84 \times E_1on}{E_2к - 0{,}84 \times E_1к} \times Cк,$$

где: E_1on и E_2on – оптические плотности первого и второго измерения опытной пробы, соответственно, ед. опт. плотн.;

$E_1к$ и $E_2к$ – оптические плотности первого и второго измерения калибровочной пробы, соответственно, ед. опт. плотн.;

Ск – концентрация общего билирубина в калибраторе, мкмоль/л;

0,84 – коэффициент коррекции, учитывающий разбавление проб реагентом 2.

9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 °С всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут.

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 – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

9.4. Реагент 1 после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 25 °С не более 6 мес.

9.5. Реагент 2 после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 8 °С не более 6 мес.

9.6. Калибратор после растворения необходимо хранить в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С не более 1 нед или при температуре минус 20 °С и ниже не более 3 нед.

9.7. Качество набора может проверяться по отечественным и зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом. Для калибровки можно использовать калибратор на основе сыворотки крови, зарегистрированный в Российской Федерации, аттестованный данным методом относительно сертифицированного референтного материала или референтного метода.

9.8. Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

использовать механические дозаторы со сменными наконечниками, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования.

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 «Билирубин общий DPD» следует обращаться в **АО «Вектор-Бест»** по адресу:

630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово, а/я 121, тел. (383) 363-50-00, 227-75-50, тел./факс (383) 332-94-44.

Заместитель начальника отдела
АО «Вектор-Бест», к.б.н — Г.И. Сергеева

Начальник отдела биохимии
АО «Вектор-Бест», к.б.н. — Г.Е. Яковлева

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Всего прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 7 листов.
Директор по технологии и качеству
АО "Вектор-Бест"

Масяго А.В.
"02" 04 2020 г.

Акционерное общество «Вектор-Бест» ВЕКТОР БЕСТ ОГРН 1025404347550 Новосибирская область, р.п. Кольцово

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU